

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ
**KATEDRA APLIKOVANÉ GEOINFORMATIKY A ÚZEMNÍHO
PLÁNOVÁNÍ**



**VLIV POTRAVNÍ NABÍDKY A REPRODUKČNÍ ÚSPĚŠNOSTI NA
PŘÍTOMNOST PARAZITŮ RODU *LEUCOCYTOZOON* U DOSPĚLCŮ A
MLÁDAT SÝCE ROUSNÉHO (*AEGOLIUS FUNEREUS*)**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vedoucí práce: doc. Ing. Markéta Zárybnická, Ph.D.

Diplomant: Bc. Tereza Kučerová

2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Tereza Kučerová

Inženýrská ekologie
Ochrana přírody

Název práce

Vliv potravní nabídky a reprodukční úspěšnosti na přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u dospělců a mláďat sýce rousného (*Aegolius funereus*)

Název anglicky

The effect of food abundance and reproductive success on the prevalence of *Leucocytozoon* parasites in the Boreal Owl (*Aegolius funereus*) adults and nestlings

Cíle práce

Cílem studie je:

1. Shromáždit krevní vzorky mláďat a dospělců sýce rousného hnízdících ve studijní oblasti v Krušných horách v letech 2015-2019.
2. Metodou PCR analyzovat shromážděné vzorky pro zjištění přítomnosti krevních parazitů rodu *Leucocytozoon*.
3. Zjistit a porovnat přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u mláďat a dospělců sýce rousného.
4. Vyhodnotit efekt potravní nabídky a reprodukční úspěšnosti (tj. počtu mláďat) na výskyt parazitů rodu *Leucocytozoon* u dospělců a mláďat sýce rousného.
5. Zjištěné výsledky diskutovat s odbornou literaturou.

Metodika

Krevní vzorky budou odebírány mláďatům a dospělcům v hnízdech sýce rousného ve studijní oblasti v Krušných horách. Odběr krve bude prováděn odborným pracovníkem za účasti studentky. Pohlaví mláďat bude stanoveno metodou analýzy DNA. Pro zjištění přítomnosti parazitů v krevních vzorcích bude použita molekulární metoda nested PCR dle Hellgren et al. (2004). Analýzy budou vykonány v laboratoři FŽP. Laboratorní činnosti bude studentka vykonávat samostatně. Potravní nabídka bude zjišťována pomocí odchytů drobných zemních savců (Zárybnická et al. 2017).

Doporučený rozsah práce

30-40 stran

Klíčová slova

sýc rousný, potrava, parazit, predator, hnízdění, reprodukční úspěšnot, Krušné hory

Doporučené zdroje informací

- Drdáková M. 2003. Hnízdní biologie sýce rousného (*Aegolius funereus*) v imisních oblastech Krušných hor. *Sylvia* 39: 35-51.
- Kloubec, B. 2003. Breeding of Tengmalm's Owls (*Aegolius funereus*) in nest-boxes in Šumava Mts.: a summary from the years 1978˗2002 *Buteo* 13: 75˗86.
- Korpimäki, E., and H. Hakkarainen. 2012. *The Boreal Owl: ecology, behaviour and conservation of a forest-dwelling predator*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Mahlerová, K. 2017. Přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u mláďat a dospělců sýce rousného (*Aegolius funereus*) v Krušných horách. DP, ČZU, Praha
- Zárybnická-Drdáková M. 2005. Growth of Tengmalm's Owl offsprings (*Aegolius funereus*) in Krušné hory Mountains. *Buteo* 14: 37–50.

Předběžný termín obhajoby

2019/20 LS – FŽP

Vedoucí práce

Ing. Markéta Zárybnická, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra aplikované geoinformatiky a územního plánování

Konzultant

Mgr. Richard Ševčík

Elektronicky schváleno dne 12. 3. 2020

doc. Ing. Petra Šímová, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 12. 3. 2020

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 23. 06. 2020

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci na téma: Vliv potravní nabídky a reprodukční úspěšnosti na přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u dospělců a mláďat sýce rousného (*Aegolius funereus*) vypracovala samostatně pod vedením doc. Ing. Markéty Zárybnické, Ph.D. a citovala jsem všechny informační zdroje, které jsem v práci použila a které jsem rovněž uvedla na konci práce v seznamu použitých informačních zdrojů.

Jsem si vědoma, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, především ustanovení § 35 odst. 3 tohoto zákona, tj. o užití tohoto díla.

Jsem si vědoma, že odevzdáním diplomové práce souhlasím s jejím zveřejněním podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a to i bez ohledu na výsledek její obhajoby.

Svým podpisem rovněž prohlašuji, že elektronická verze práce je totožná s verzí tištěnou a že s údaji uvedenými v práci bylo nakládáno v souvislosti s GDPR.

V Praze 25. 6. 2020

.....

Poděkování

Ráda bych zde poděkovala doc. Ing. Markétě Zárbynické, Ph.D. za věcné připomínky a ochotu při konzultacích během psaní této diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Richardu Ševčíkovi za pomoc se sběrem dat v terénu, jejich zpracováním a za rady během celé doby vypracovávání diplomové práce. Nakonec patří mé poděkování Ing. Karolíně Mahlerové za konzultace laboratorních prací.

V Praze 25. 6. 2020

.....

Abstrakt

Rod *Leucocytozoon* patří do skupiny obligátních endoparazitů využívajících ptáky jako mezihostitele a jeho přítomnost je ovlivněna mnoha různými faktory. Předložená diplomová práce vyhodnocuje přítomnost krevních parazitů rodu *Leucocytozoon* u mládřat a dospělců sýce rousného (*Aegolius funereus*) v Krušných horách v závislosti na potravní nabídce a reprodukční úspěšnosti (počtu vylíhlých mládřat na hnízdě). Zpracovávána byla data z let 2015–2019. Z krevních vzorků byla izolována DNA metodou Hot Shot. Přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* byla zjišťována dvoufázovou PCR analýzou izolované DNA. Analyzovány byly vzorky celkem 52 dospělců a 232 mládřat sýce rousného. Potravní nabídka byla určena každoročními jarními odchyty drobných zemních savců. Celkově byla v této diplomové práci potvrzena přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u 23 z 52 dospělců (44,23 %) a 19 z 232 mládřat sýce rousného (8,19 %). Vztah potravní nabídky a přítomnosti parazitů rodu *Leucocytozoon* u mládřat sýce rousného byl signifikantní ($P < 0,1$), indikativní ($P > 0,05$). U dospělců však tato hypotéza potvrzena nebyla. Závislost přítomnosti těchto parazitů na počtu mládřat na hnízdě nebyla prokázána.

Klíčová slova:

sýce rousný, potrava, parazit, predátor, hnízdění, reprodukční úspěšnost, Krušné hory

Abstract

The genus *Leucocytozoon* belongs to the groups of obligate endoparasites that use birds as intermediate hosts. This diploma thesis evaluates the presence of blood parasites on the genus *Leucocytozoon* in juveniles and adults of the Boreal owl (*Aegolius funereus*) in the Ore Mountains, depending on the food supply and reproductive success. Data from nesting seasons 2015–2019 were processed. The presence of *Leucocytozoon* parasites was determined by two-phase PCR analysis. Samples from a total of 52 adults and 232 juveniles were analysed. The food supply was determined by annual captures of small rodents. Overall, the presence of *Leucocytozoon* parasites was confirmed in 23 of 52 adults (44,23 %) and 19 of 232 juveniles (8,19 %) of the Boreal owl. The effect of the food supply on the presence of parasites of the genus *Leucocytozoon* in juveniles was significant ($P > 0.1$), indicative ($P > 0.05$). In adults, this hypothesis was not confirmed. The presence of these parasites was not dependent on the reproductive success of the Boreal owl.

Key words:

The Boreal owl, food, parasite, predator, nesting, reproductive success, The Ore Mountains

Obsah

1.	Úvod.....	1
1.	Cíle práce	3
2.	Sýc rousný.....	4
2.1	Taxonomické zařazení.....	4
2.2	Popis druhu.....	4
2.3	Areál a ochrana druhu	6
2.4	Hnízdní biologie	7
2.5	Potrava.....	9
3.	Endoparazité ptáků řádu Haemosporida	10
3.1	Taxonomické zařazení.....	10
3.2	Řád Haemosporida	10
3.2.1	Vektory řádu Haemosporida	10
3.3	Rod <i>Leucocytozoon</i>	11
3.4	Rod <i>Plasmodium</i>	11
3.5	Rod <i>Haemoproteus</i>	12
4.	Přítomnost parazitů rodu <i>Leucocytozoon</i> u sýce rousného	13
5.	Metodika	14
5.1	Charakteristika studijního území.....	14
5.2	Sběr dat.....	14
5.3	Odchyty drobných zemních savců.....	16
5.4	Laboratorní zpracování.....	17
5.4.1	Izolace DNA ze vzorků metodou Hot Shot.....	17
5.4.2	Zjištění přítomnosti parazitů	18
5.5	Statistické analýzy	21
6.	Výsledky práce.....	22
6.1	Odchyty drobných zemních savců.....	22
6.2	Přítomnost parazitů rodu <i>Leucocytozoon</i> u mláďat sýce rousného v letech 2015–2019.....	23
6.3	Přítomnost parazitů rodu <i>Leucocytozoon</i> u dospělců sýce rousného v letech 2015–2019.....	24
6.4	Závislost přítomnosti parazitů rodu <i>Leucocytozoon</i> u mláďat a dospělců sýce rousného na potravní nabídce a reprodukční úspěšnosti.....	25
7.	Diskuse.....	27

8.	Závěr a přínos práce	30
9.	Přehled literatury a použitých zdrojů	31
10.	Seznam obrázků a tabulek.....	35
11.	Přílohy	36

1. Úvod

Hemosporida jsou krevní paraziti patřící do skupiny protist. Početně největší skupinou tohoto řádu jsou rody parazitující na ptácích. Některé z rodů parazitů patřící do řádu Hemosporida jsou nositeli právě ptačí malárie. Většina pozornosti je proto věnována právě studiu rodu *Plasmodium*, který slouží jako modelový organismus pro studium lidské malárie. Symptomy nákazy těmito druhy parazitů u ptáků mohou být například letargie, nechutenství, problémy s dýcháním, anemie či oslabení organismu obecně (Valkiunas 2005). Hemosporida parazitující na ptácích byly v tomto ohledu využívány od 90. let 19. století do 40. let 20. století, kdy se ukázali vhodnějšími modelovými organismy plasmodia parazitující na drobných savcích (Slater 2005). Ptačí hemosporida však mají ve výzkumu lidské malárie stále své místo. Důvodem k jejich stálému využívání v mnoha modelových studiích jsou především nižší náklady na experimenty (Nagao et al. 2008).

Zdokonalení metod PCR na konci 20. a především na začátku 21. století vedlo k velkému rozvoji v oblasti výzkumu hemosporid. V dnešní době je již běžná i identifikace parazitů na druhové úrovni. Nejčastěji používaným protokolem je v současné době protokol pro nested PCR dle Hellgrena et al. (2004), který je, s malými změnami, využit i v této diplomové práci. Ale objevují se i nové jednokrokové metody, které zjištění přítomnosti parazitů usnadňují a zrychlují (Ciloglu 2019).

Studium jednotlivých taxonů hemosporid však neprobíhá rovnoměrně. Poznatky o rodu *Leucocytozoon* proto nejsou zdaleka tak rozsáhlé, jako o rodech přenášejících pravou ptačí malárii (Valkiunas 2005).

Detekcí hemosporid a jejich vektorů se v České republice (konkrétně v Krušných horách) věnoval Synek et al. (2016). Ve své studii zkoumal parazity na sýci rousném (*Aegolius funereus*), který je vhodným modelovým druhem díky dlouhému hnízdnímu období, během kterého mohou parazité infikovat hnízda. Nejčastěji byl detekován rod *Leucocytozoon*, a sice ve 3 druzích. U rodů *Plasmodium* a *Haemoproteus* byl rozpoznán jeden druh u každého. Nebylo však výjimkou, že jeden jedinec byl parazitován více druhy najednou.

V přítomnosti parazitů rodu *Leucocytozoon* mohou hrát roli různé faktory. Zkoumán byl například vliv věku a pohlaví sýce rousného. Porovnávána byla přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u mládřat a dospělců sýce rousného v Krušných horách v letech 2017. Prokázán byl pouze vliv věku, a sice u dospělců byla míra parazitace vyšší (52,0 %) než u mládřat (16,9 %). Závislost na pohlaví nebyla prokázána u mládřat ani dospělců sýce rousného (Kučerová 2018). Ke stejným závěrům došla ve své diplomové práci také Mahlerová (2017).

Potravní nabídka hraje u sýce rousného důležitou roli v mnoha ohledech. Od množství kořisti se odvíjí například reprodukční úspěšnost (Zárybnická et al. 2017) či hlasová aktivita sýců rousných (Ševčík et al. 2019). Potravní nabídka v Krušných horách má svá specifika a významnou roli zde hrají především myšice (*Apodemus* sp.), jejichž gradace zde zaznamenali Zárybnická et al. (2017). Vliv potravní nabídky a reprodukční úspěšnosti na přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* dosud nebyl zkoumán.

Tato diplomová práce se zabývá zjištěním přítomnosti parazitů rodu *Leucocytozoon* u mládřat a dospělců sýce rousného v Krušných horách v letech 2015–2019 a zjištění vlivu potravní nabídky a reprodukční úspěšnosti na výskyt těchto parazitů.

1. Cíle práce

1. Shromáždit krevní vzorky mláďat a dospělců sýce rousného hnízdících ve studijní oblasti v Krušných horách v letech 2015–2019.
2. Metodou PCR analyzovat shromážděné vzorky pro zjištění přítomnosti krevních parazitů rodu *Leucocytozoon*.
3. Zjistit a porovnat přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u mláďat a dospělců sýce rousného.
4. Vyhodnotit efekt potravní nabídky a reprodukční úspěšnosti (tj. počtu mláďat) na výskyt parazitů rodu *Leucocytozoon* u dospělců a mláďat sýce rousného.
5. Zjištěné výsledky diskutovat s odbornou literaturou.

2. Sýc rousný

2.1 Taxonomické zařazení

Třída: ptáci (Aves)

Podtřída: letci (Neognathae)

Řád: sovy (Strigiformes)

Čeleď: puštíkovití (Strigidae)

Rod: sýc (*Aegolius*)

2.2 Popis druhu

Sýc rousný (*Aegolius funereus*) je sova menšího vzrůstu podobající se sýčkovi (*Athene* sp.) s výškou těla 22-27 cm a rozpětím křídel 50-62 cm (Bejček et Šťastný 2006). Korpimäki (1987) uvádí, že sýc rousný vykazuje, především v době hnízdění, velký pohlavní dimorfismus v hmotnosti v porovnání s ostatními druhy evropských sov. Hmotnost hnízdící samice je až o 43 % vyšší než hmotnost samce. Průměrná váha během hnízdění je 170 g (samice), 102 g (samci) (Korpimäki 1981).

Barva peří je svrchu hnědá s bílým kropenatým vzorem, u kořene křídla je patrný bílý pruh. Zbarvení spodní části těla je světlejší, bělavé s hnědými pruhy, nohy jsou bíle zbarvené (Hudec et Šťastný 2005). Od sýčka se odlišuje především větší hlavou kulatějšího tvaru a šedobílým závojem okolo očí s černohnědým ohraničením. Žluté oči posazené blízko u sebe tvoří spolu se žlutým zobákem trojúhelník, který je pro sýce typický (Bejček et Šťastný 2006) (Obr. 1, 2).



Obrázek 1: Samice sýce rousného (Aegolius funereus) (foto: Jan Albrecht 2020).



Obrázek 2: Mláďata sýce rousného (Aegolius funereus) (foto: Jan Albrecht 2020).

2.3 Areál a ochrana druhu

Sýc rousný je sova s cirkumpolárním rozšířením v holarktické oblasti. Přírodním areálem jsou tedy jehličnaté lesy Eurasie a Severní Ameriky (Korpimäki et Hakkarainen 2012) (Obr. 3). Populace ve střední a jižní Evropě jsou vázány na smrkové porosty (*Picea abies*), ale obývají také nepůvodní porosty smrku ztepilého či smíšené nebo listnaté lesy, především bučiny (Šťastný et al. 2009).



Obrázek 3: Mapa rozšíření sýce rousného (*Aegolius funereus*) ve světě (oranžová barva) (<http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=22689362>, 2018).

V České republice se populace sýce rousného v současnosti vyskytuje ve všech pohraničních i vnitrozemských pohořích (Šumava, Krkonoše, Krušné a Jizerské hory, Jeseníky, Beskydy, Českomoravská vrchovina) (Šťastný et al. 2009). V dnešní době se tento druh šíří také do nížinných částí České republiky, výskyt byl zaznamenán například na Znojemsku, v jižních či západních Čechách (Hudec et Šťastný 2005). Rozšíření sýce rousného do některých konkrétních nadmořských výšek je limitováno areálem některých ostatních druhů predátorů, například puštíka obecného (*Strix Aluco*) (Flousek et al. 2015). Odhad populace sýce rousného v ČR v letech 2001–2003 čítal 1500-2000 párů (Šťastný et al. 2009).

Ochrana sýce rousného v České republice je zajištěna zákonem o ochraně přírody a krajiny 114/1992 Sb. a zaváděcí vyhláškou 395/1992 Sb., ve kterých je řazen

mezi zvláště chráněné druhy, kategorie silně ohrožený druh. Červený seznam ČR řadí tento druh do kategorie zranitelný (Plesník et al. 2003), Červený seznam IUCN eviduje sýce rousného jako málo dotčený druh (LC) (www.iucnredlist.org, 2020). V Evropské unii se na tento druh vztahuje ochrana zajišťovaná směrnicí o ptácích č. 2009/147/ES (celým názvem Směrnice Evropského parlamentu a rady č. 2009/147/ES z 30. listopadu 2009 o ochraně volně žijících ptáků), ve které je evidován v příloze I.

2.4 Hnízdní biologie

Sýce rousný přirozeně hnízdí většinou v dutinách stromů, které vznikají činností různých druhů šplhavců, zejména datla černého (*Dryocopus martius*), ochotně však obsazuje také uměle umístěné ptačí budky (Zárybnická et al. 2015). Kromě trusu shromažďuje na hnízdech také zbytky potravy a vývržky (Hudec et Šťastný 2005) (Obr. 4). Příležitostně jsou hnízda predována kunou lesní (*Martes martes*) (Zárybnická et al. 2015).



Obrázek 4: Hnízdo sýce rousného (*Aegolius funereus*) se snůškou vajec a zbytky potravy (foto: Štěpán Vorel 2020).

Samice sýce rousného kladou snůšky o velikosti nejčastěji 3–6 vajec v období od března do května (Obr. 4). Rodičovské úlohy samců a samic jsou v tomto případě striktně rozděleny (Korpimäki 1981). Samice setrvávají na hnízdě, které téměř

neopouští od kladení, po celou dobu inkubace vajec (26–31 dní (Bejček et Šťastný 2006)), až po vylíhnutí, poté zahřívají mláďata na hnízdě cca následující tři týdny (Drdáková 2003) (Obr. 5). Samci mají za úkol v období hnízdění obstarávat a donášet potravu samicím i mláďatům do hnízd (Drdáková et Zárýbnický 2003). Hnízdní páry nebývají stálé; samci většinou zůstávají v jednom okrsku několik let, zatímco samice jsou více kočovné. Stálost samců v jejich hnízdním teritoriu je ovlivněna množstvím kořisti v daném okrsku (Hakkarainen et Korpimäki 1998). Samice přitom částečně migrují (Korpimäki et Hakkarainen 2012). Zpravidla páry zahnízdí jednou za sezónu, při vhodných podmínkách však mohou zahnízdit i vícekrát (Zárýbnická 2009).



Obrázek 5: Samice sýce rousného (*Aegolius funereus*) na hnízdě (foto: Jan Albrecht 2020)

Sýc rousný je druh sovy s noční aktivitou, v podmínkách střední Evropy má během noci dva vrcholy aktivity, první při stmívání a druhý při rozednávání (Korpimäki 1981, Drdáková 2008, Zárýbnická et al. 2012).

Mláďata sýce rousného se líhnou asynchronně v rozmezí dvou dnů. Do vylétnutí zůstávají na hnízdě po dobu 27–38 dní od vylíhnutí (Kouba et al. 2015).

2.5 Potrava

Hlavní potravu sýce rousného tvoří drobní hlodavci, především hraboši rodu *Microtus* sp. a *Myodes* sp. a myšice rodu *Apodemus* sp. (Korpimäki 1988, Zárybnická et al. 2013). Pokud jsou stavy hlavní kořisti nízké, zvětšuje se význam alternativní kořisti, kterou jsou většinou rejsci (*Sorex*) a drobní ptáci (Korpimäki 1988, Zárybnická et al. 2013, Šindelář et al. 2015). V severních částech areálu rozšíření jsou nejdostupnější kořisti především hraboši, v temperátních oblastech tvoří hlavní nabídku hraboši a myšice (Zárybnická et al. 2013). Početnost drobných hlodavců v severní Evropě obvykle vykazuje pravidelné 3–4leté cykly (Korpimäki 1992). Dostupnost potravy je zcela zásadním a limitujícím faktorem pro zahnízdění a reprodukční strategii sýce rousného (Korpimäki et Hakkarainen 2012).

Skladba potravní nabídky sýce rousného je ovlivněna také nadmořskou výškou habitatu. S rostoucí nadmořskou výškou roste poměr alternativní kořisti, a naopak klesá míra hlavní kořisti, tedy hrabošů a myšic (Zárybnická et al. 2017).

V Krušných horách je složení potravní nabídky zcela specifické. Zárybnická et al. (2013, 2015) uvádějí, že na rozdíl od severských populací sýce rousného, kde byla zjištěna pozitivní korelace mezi zastoupením hrabošů v potravě a jejich dostupností v terénu (Korpimäki 1988), reprodukční schopnost sov žijících ve střední Evropě je méně závislá na dostupnosti hrabošů. U krušnohorských sov byla zjištěna podobná korelace mezi reprodukčním výstupem a podílem myšic v potravě, stejně jako jejich dostupností v terénu (Zárybnická et al. 2015).

3. Endoparazité ptáků řádu Haemosporida

3.1 Taxonomické zařazení

Kmen: výtrusovci (Apicomplexa)

Třída: krvinkovky (Haematozoa)

Řád: Haemosporida

3.2 Řád Haemosporida

Hemosporida jsou globálně rozšířeným řádem endoparazitů obratlovců řadících se mezi prvoky (Synek et al. 2016).

Fylogeneticky se jedná o zvláštní, oddělenou skupinu obligátních heterogenních parazitů. Tento řád je zkoumán především proto, že se v něm vyskytují původci malárie, která i v dnešní době sužuje některé země s teplejším klimatem. U ptáků mohou být symptomy nákazy parazity tohoto řádu například letargie, nechutenství, problémy s dýcháním, anemie či oslabení organismu obecně (Valkiunas 2005).

Merogonie a tvorba gametocytů probíhá v těle hostitelů z řad obratlovců. Sexuální fáze života hemosporid (přeměna gametocytů v gamety a sporogonie) je vázána na krev sající hmyz řádu dvoukřídlí (Diptera). Zástupci tohoto řádu slouží jako vektory přenosu těchto parazitů. Gametogeneze probíhá vně buněk (Valkiunas 2005).

Řád Haemosporida se skládá ze čtyř čeledí, Plasmodiidae, Garniidae, Haemoproteidae a Leucocytozoidae (Valkiunas 2005). Třemi nejběžnějšími rody hemosporid parazitujících na ptácích jsou rody *Plasmodium* (čeleď: Plasmodiidae), *Haemoproteus* (čeleď: Haemoproteidae) a *Leucocytozoon* (čeleď: Leucocytozoidae) (Hellgren 2004).

3.2.1 Vektory řádu Haemosporida

Identifikace vektorů ptačích hemosporid ve volné přírodě je do dnešní doby velmi komplikovaná, především kvůli migracím ptáků (Valkiunas 2005). Novou éru

v této oblasti otevřely molekulární metody PCR (Hellgren et al. 2004), které se v dnešní době rychle rozvíjejí.

Studiem vektorů hemosporid v České republice se zabýval Synek et al. (2013). Nejfrekventovanějším detekovaným hmyzem byl rod *Culicoides*, patřící do čeledi Ceratopogonidae, která je považována za vektor rodu *Haemoproteus*. U tohoto vektoru byla zjištěna přítomnost až 5 druhů parazitů. Bylo zjištěno, že ptáci jsou tímto rodem napadáni i přímo v ptačích budkách, a to i před opeřením (Synek et al. 2016). U rodu *Plasmodium* byli hlavními vektory zjištěni komáři čeledi Culicidae. Hlavním vektorem rodu *Leucocytozoon* byla určena čeleď Simuliidae. Na jednom jedinci byly detekovány až tři druhy parazitů (Synek et al. 2013).

3.3 Rod *Leucocytozoon*

Rod *Leucocytozoon* je, s výjimkou Antarktidy, celosvětově rozšířená skupina parazitů řádu Haemosporida, která infikuje širokou škálu ptáků.

Parazité rodu *Leucocytozoon* parazitují výhradně v pevných tkáních obratlovců, nikoli v krevních buňkách. Jsou úzce příbuzné rodům *Plasmodium* a *Haemoproteus*, což jsou původci pravé ptačí malárie. Rod *Leucocytozoon* však nevytváří krevní pigment hemozoin, který je ukazatelem pravé ptačí malárie (Valkiunas 2005).

Sexuální fáze života těchto parazitů je vázána na vektory, kterými jsou v případě rodu *Leucocytozoon* téměř výhradně dvoukřídlí čeledi muchničkovití (Simuliidae) a pakomárcovití (Ceratopogonidae) (Morii 1992).

3.4 Rod *Plasmodium*

Rod *Plasmodium* je, spolu s rodem *Haemoproteus*, původcem pravé ptačí malárie. Asexuální fáze čeledi Plasmodiidae napadá kromě pevných tkání i krevní buňky zvířat. Pigment hemozoin, hromadící se v maláriových parazitech, je u tohoto rodu přítomen.

Vektory rodu *Plasmodium* patří do řádu dvoukřídlí (Diptera). Konkrétně se jedná o čeledi komárovití (Culicidae), pakomárcovití (Ceratopogonidae) a „písečné mušky“ (Phlebotomidae) (Valkiunas 2005).

3.5 Rod *Haemoproteus*

Rod *Haemoproteus* je další z původců pravé ptačí malárie. Tento rod napadá buňky pevných tkání, jakými jsou například játra, či krevní buňky hostitele. K rozvoji gametocyt dochází v červených krvinkách obratlovců. V gametocytech je přítomen pigment hemozoin.

Sexuální proces a sporogonie probíhá v zástupcích dvoukřídlého hmyzu z čeledí Hyppoboscidae a Ceratopogonidae (Valkiunas 2005).

4. Přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u sýce rousného

Přítomností parazitů rodu *Leucocytozoon* u sýce rousného v západní části Finska v letech 1991 a 1992 se zabýval Korpimäki et al. (1993). Přítomnost parazitů byla v této studii zjišťována mikroskopickými metodami. Tento výzkum prokázal přítomnost parazitů u dospělých jedinců sýce rousného. Celkem byla zjištěna přítomnost u 97 % dospělých samic (n=97) a 94 % dospělých samců (n=85). V sezóně 1992 byla krev odebrána také 12 mládřatům (průměrný věk 4 týdny, přítomnost parazitů však nebyla zaznamenána u žádného z nich) (Korpimäki et al. 1993).

V České republice se přítomností parazitů rodu *Leucocytozoon* zabýval Synek et al. (2016). Výzkum probíhal v letech 2008–2011 v Krušných horách. Přítomnost parazitů byla zjišťována metodou PCR, konkrétně byl použit protokol pro nested PCR dle Hellgrena et al. (2004). Krev byla odebrána celkem 28 dospělým samicím, 29 dospělým samcům a 113 mládřatům. Přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* byla prokázána u 71 % dospělců (n=57) a 41 % mládřat (n=113). V této studii byla věnována pozornost také vektorům parazitů rodu *Leucocytozoon*. Hmyz byl odchytáván pomocí pastí umístěných v ptačích budkách. Jako vektory byly determinovány druhy pakomárců (*Culicoides*) a dva druhy muchniček (*Simulium (Nevermannia) vernum* and *Simulium (Eusimulium) angustipes* (Synek et al. 2016). Dále ve výzkumu přítomnosti parazitů rodu *Leucocytozoon* v Krušných horách pokračovala Mahlerová (2017), která ve své diplomové práci zjistila přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* v letech 2015–2016 u 53 % dospělců (n=8) a 1,5 % mládřat (n=2). V roce 2017 byla potvrzena přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* v Krušných horách u 52 % (n=25) dospělců a 17 % (n=71) mládřat sýce rousného (Kučerová 2018).

5. Metodika

5.1 Charakteristika studijního území

Studijní oblast se nachází ve východní části Krušných hor, v okolí vodní nádrže Fláje, v nadmořské výšce 735–765 m n. m. Toto území bylo dlouhodobě vystaveno emisím z tepelných elektráren a chemických továren v podhůří (Drdková 2004). Kromě toho nástup průmyslu způsobil také vytěžení většiny původních porostů buku lesního, jedle bělokoré a smrku ztepilého. Dnes je krajina studovaného území tvořena mozaikou rozvolněných ploch. Jedná se o vzrostlé porosty smrku ztepilého, náhradní porosty smrku pichlavého, bříz (*Betula* sp.), modřínu opadavého (*Larix decidua*) a jeřábu ptačího (*Sorbus aucuparia*), se solitérními dřevinami, především buky. Na pasekách, kterých v této oblasti v poslední době přibývá, je převažujícím druhem třtina chloupkatá (*Calamagrostis villosa*) (Zárybnická 2008). Tyto biotopy se ukázaly vhodným prostředím pro hnízdění sýce rousného.

Na studijní ploše o rozloze cca 120 km² bylo v roce 2015 rozmístěno 233 hnízdních budek, v letech 2016 a 2017 zde bylo umístěno 246 budek, v roce 2018 237 budek a v roce 2019 244 hnízdních budek pro sýce rousné.

5.2 Sběr dat

Analyzována byla data z let 2015 až 2019. V průběhu hnízdních sezón 2015–2019 (březen–srpen) probíhaly pravidelné kontroly obsazených budek a byla dohledávána hnízda. Kontrola obsazených hnízd probíhala pravidelně každých 7 až 10 dní. V případě zahnízdění byly při každé kontrole zaznamenávány tyto údaje: velikost snůšky, počet vylíhlých a vylétlých mlád'at, informace o nalezené kořisti na hnízdech a případné predaci hnízda. Samice byly odchyťávány přímo na hnízdě s pomocí žebříku a podběráku. Odchyt samečů probíhal v noci za pomoci ornitologické sítě umístěné před budkou. Samec byl do sítě chycen v momentě, kdy přinášel potravu mlád'atům a samici do hnízda. U všech vylíhlých mlád'at byl dále během opakovaných kontrol dokumentován jejich růst (konkrétně hmotnost těla a délka křídla) od vylíhnutí až do vylétnutí z hnízda.

Dospělcům i mláděatům byla při odchycích odebírána krev z brachiální žíly. Nejprve byla brachiální žíla narušena jehlou (1", 0,5 x 25 mm) (Obr. 6). Kapilárou (průměr cca 0,8 mm, objem 50 µl) bylo poté každému jedinci odebráno méně než 50 µl krve (Obr. 7). Vzorky s odebranou krví byly dále zakonzervovány v označených zkumavkách Eppendorf (dále jen eppendorfka) s 96 % etanolem, o objemu 1,5 ml a následně zamrazeny při teplotě -20°C. V této teplotě byly udržovány až do doby laboratorního zpracování.

Mláděatům sýce rousného byla krev odebírána jednou až čtyřikrát v různém věku. V roce 2015 byla krev takto odebrána 113 mláděatům. V této sezóně byl odběr proveden u každého jedince pouze jednou. Roku 2016 proběhly odběry krve u 21 mláděat a 15 dospělců. V hnízdní sezóně 2017 byla krev odebrána 71 mláděatům a 25 dospělcům, průměrně byla každému mláděti odebrána 2,06krát. V roce 2018 proběhly odběry u 5 juvenilních jedinců a 3 dospělců, průměrně 2,4krát u každého mláděte. V sezóně 2019 byla krev odebrána 21 mláděatům a 11 dospělým jedincům, průměrně byla mláděatům v tomto roce krev odebrána 1,76krát. Vzorky odebrané krve byly dále zpracovávány a analyzovány v laboratoři. Data z let 2015 a 2016 byla již zpracována a poskytnuta školitelkou.



Obrázek 6: Odběr krve z brachiální žíly sýce rousného (*Aegolius funereus*) – narušení brachiální žíly jehlou (foto: Tereza Kučerová 2020).



*Obrázek 7: Odběr krve z brachiální žíly sýce rousného (*Aegolius funereus*) – odběr krve kapilárou (foto: Jan Albrecht 2020)*

5.3 Odchyty drobných zemních savců

Pomocí odchyťů drobných zemních savců na území studijní oblasti v letech 2015 až 2019 byla zjišťována potravní nabídka sýce rousného. Odchyty proběhly vždy v červnu na 3 kvadrátech umístěných v reprezentativních habitatech dané oblasti (B – N50°40.276', E13°33.708', C – N50°39.652', E13°32.463', D – N50°38.939', E13°31.870').

Drobní zemní savci byli odchyťováni pomocí nastražených sklapovacích pastí, které byly pokládány do kvadrátů o ploše 1 ha (vždy 11x11 pastí v pravidelných rozestupech na 1 kvadrát). Pasti byly takto nastraženy po dobu 3 nocí a kontrolovány pravidelně každé ráno. Návnada byla tvořena kousky širokého knotu potřenými směsí rozpuštěného tuku s kousky uzeného masa a mouky. Každý rok bylo takto položeno po dobu 3 nocí celkem 1089 pastí na všech kvadrátech (vyjma roku 2017, kdy bylo položeno celkově 726 pastí z důvodu rozsáhlé těžby dřeva, která probíhala na kvadrátu D).

Po odchycení byl každý jedinec drobného zemního savce zařazen do druhu a výsledné počty byly dále převedeny na počet odchycených jedinců/100 pastí/nocí (celkový počet odchycených jedinců / (celkový počet pastí na jeden kvadrát * počet položených kvadrátů * 3 noci) * 100 nocí; vzorec byl použit dle Zárybnické et al. 2013. Do dalších analýz byly použity pouze vybrané druhy odchycené potravy, a sice druhy rodů myšice (*Apodemus* sp.) a hraboši (*Microtus* sp.).

5.4 Laboratorní zpracování

Během laboratorního zpracování se vycházelo především z podrobných protokolů uvedených v přílohách diplomové práce Mahlerové (2017), protokolu pro dvoufázovou nested PCR dle Hellgrena et al. 2004 a návodu k LA Hot Start Master Mixu.

Nejprve byla v laboratoři ze vzorků krve sýce rousného, které byly po odběrech zakonzervovány v 96 % etanolu a uloženy v mrazáku při teplotě -20 °C, izolována DNA metodou Hot Shot. Následně byla pomocí dvoufázové metody PCR a gelové elektroforézy zjištěna přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u vzorků DNA mláďat i dospělců sýce rousného.

5.4.1 Izolace DNA ze vzorků metodou Hot Shot

Při izolaci DNA byl využit podrobný protokol uvedený v přílohách diplomové práce Mahlerové (2017).

Metoda Hot Shot využívaná v této diplomové práci k izolaci DNA spočívá v postupném přidávání roztoků A (NaOH, 0.2 mM EDTA) a B (TRIS – MCl, pH=5,0) k odebraným vzorkům krve za určitých podmínek. Nejprve bylo z rozmražených vzorků krve skladovaných při nízké teplotě (-20 °C) pipetou odebráno 50 µl krve smíchané s ethanolem (bez větších kusů usazené krve) a přepipetováno do předem připravených a označených eppendorfek. Ty byly následně stočeny na centrifuze (T=5 minut, otáčky: RPM=3000–5000) a poté z nich byl ručně pipetou odsán přebytečný etanol. Do každé eppendorfky bylo přidáno 40 µl roztoku A. Dále došlo k jejich zahřátí

na teplotu 95 °C po dobu 12 minut, následnému prudkému zchlazení na 4 °C a okamžitému přidání 40 µl roztoku B, který zde má funkci neutralizačního činidla.

5.4.2 Zjištění přítomnosti parazitů

Přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* byla zjišťována pomocí dvoufázové PCR analýzy. První reakcí této analýzy je iniciální PCR, při které dochází k namnožení úseku charakterizujícího řád Haemosporida. Následnou reakcí je nested PCR, ve které je amplifikován úsek DNA určující rod *Leucocytozoon*. Při analýzách byla využita kombinace protokolu pro dvoufázovou nested PCR dle Hellgrena et al. 2004 a návodu k LA Hot Start Master Mixu.

Testovány byly vzorky s izolovanou DNA dospělců a mláďat sýce rousného. Každý vzorek byl testován nejméně dvakrát a vždy byla testována jedna negativní (dH₂O) a jedna pozitivní (z předchozích analýz) kontrola.

Vyhodnocení výsledků bylo provedeno pomocí horizontální gelové elektroforézy a následného prosvícení gelu pod UV světlem.

5.4.2.1 Iniciální PCR

Při iniciální PCR jsou využity vnější primery Haem NF1 a Haem NR3, amplifikující počáteční bázový úsek genu pro cytochrom b u všech tří rodů řádu hemosporid (rod *Plasmodium*, *Haemoproteus* a *Leucocytozoon*). Primer Haem NF1 amplifikuje úsek [5'- CATATATTAAGAGAAITATGGAG-3'] a primer Haem NR3 úsek [5'- ATAGAAAGATAAGAAATACCATTC-3'] (Hellgren 2004).

Nejprve je namíchán premix skládající se z následujících chemikálií: LA Hot Start Master Mix, dH₂O, primer Haem NF1 a primer Haem NF3. Chemikálie jsou v premixu obsaženy v poměru 12,5:9,5:1:1. Do předem označených stripů je nepipetováno vždy 24 µl premixu a 1 µl izolované DNA. Takto napipetované stripy jsou vloženy do nastaveného termocyklu.

Fáze iniciální PCR analýzy (nastavení termocyklu):

1. Hot start (95 °C, 15 min)
2. Denaturace (94 °C, 30 s)

3. Annealing (50 °C, 90 s)
4. Amplifikace – extension (72 °C, 45 s)
5. Návrat ke 2. kroku a opakování 19x
6. Konečná amplifikace – final extension (72 °C, 10 min)
7. Zchlazení na cca 15 °C, čas neomezený...

Po skončení iniciální PCR do stripů přidáme 90 µl dH₂O (naředíme v poměru 1:9).

5.4.2.2 Nested PCR

Pro nested analýzu se využívá vnitřních primerů Haem FL a Haem R2L, amplifikujících konkrétně bázové úseky mitochondriální DNA rodu *Leucocytozoon*. Primer Haem FL cílí na úsek [5' - ATGGTGTTTTAGATACTT ACATT-3'] a primer Haem R2L na úsek [5'-CATTATCTGGATGAGATAATGGIG C-3'] (Hellgren 2004).

Pro namíchání premixu pro nested analýzu jsou třeba následující chemikálie: LA Hot Start Master Mix, dH₂O, primery Haem FL a Haem R2L. Tyto chemikálie jsou v premixu obsaženy opět v poměru 12,5:9,5:1:1.

Do označených stripů se nepipetuje vždy 24 µl premixu a 1 µl templátu (produkt z iniciální PCR). Takto připravené stripy se vkládají do připraveného termocyklu.

Fáze nested PCR (nastavení termocyklu):

1. 94 °C, 3 min
2. Denaturace (94 °C, 30 s)
3. Annealing (50 °C, 30 s)
4. Amplifikace – extension (72 °C, 45 s)
5. Návrat ke 2. kroku a opakování 34x
6. Konečná amplifikace – final extension (72 °C, 10 min)
7. Zchlazení na 15 °C na neomezenou dobu

Po vyjmutí z termocyklu jsou vzorky uloženy do lednice a následně do mrazáku až do doby vyhodnocení elektroforézou.

5.4.2.3 Vyhodnocení pomocí elektroforézy

Výsledky předchozích PCR analýz byly vyhodnocovány pomocí horizontální gelové elektroforézy. Během té probíhá agarozovým gelem elektrický proud. Tímto způsobem se gelem posouvají úseky DNA ve směru elektrického proudu, podle jejich hmotnosti, korespondující s jejich délkou.

První fází elektroforézy je namíchání 0,8 % agarozového gelu. K jeho přípravě je nutné nejprve rozpustit agar s příslušným množstvím TBE (Tris-borát-EDTA) pufru v mikrovlnné troubě (T=cca 100 s, P=80 W). Následuje zchlazení gelu v proudu studené vody a přidání ethidium bromidu (1,5 μ l do malé vany, 3 μ l do velké vany). Takto připravený roztok je nalit do skleněné vany. Do té jsou následně vloženy plastové hřebeny (příslušné dle velikosti vany), které zajišťují vytvoření rovnoměrných jamek.

Po ztuhnutí agarozového gelu jsou odebrány hřebeny a vana s gelem je vložena do elektroforegramu. Do něj je následně dolit running buffer po značku FULL. Do jamek v gelu jsou postupně napipetovány vždy 3 μ l vzorků DNA po nested PCR analýze, smíchané vždy s 1 μ l bromfenolové sledovací barvy. Do jedné z jamek je napipetováno 2,5 μ l „žebříku“ (DNA standard pro srovnání) a do dalších dvou jamek jsou napipetovány kontroly, jedna negativní (dH₂O) a jedna pozitivní (ověřená z předchozích analýz). Když je gel takto připraven, tak se elektroforegram zavře, zapojí a spustí (T=35 min, U=110 V).

Po ukončení elektroforézy je gel vyndán z elektroforegramu a opatrně přendán do čtecího zařízení, kde jsou pomocí UV světla zobrazeny výsledky. Právě díky UV světlu, které prosvítí gel a přítomnosti ethidium bromidu, který se dostane do struktury DNA, můžeme vidět roztrídění úseků DNA podle velikosti (Jones et al. 1998).

Pozitivní výsledek se pod UV světlem ukázal v podobě jednoho proužku, u negativního výsledku nebyl vidět proužek žádný (Příloha 1).

5.5 Statistické analýzy

Vzorky jedinců, kterým byla krev odebrána byly rozřazeny dle kategorií mládě/dospělec a přiřazeny k určité budce. Dále byla určena míra parazitace, jako poměr parazitovaných jedinců v určité kategorii ke všem jedincům v dané kategorii na budce. U jedinců, kterým byla krev odebrána vícekrát v jedné sezóně, byly odstraněny duplikátní záznamy. Od těchto jedinců byly použity vzorky odebírané nejpozději. Každý jedinec byl tedy započítán pouze jednou.

Potravní nabídka (vyjádřena počtem myšic rodu *Apodemus* sp. a hrabošů rodu *Microtus* sp.) byla přepočítána na kusy odchycených jedinců vybraných druhů drobných zemních savců za 100 past'onocí (Zárybnická et al. 2013). Reprodukční úspěšnost byla určena jako počet vylíhlých mláďat v budce v určitém roce.

Statistické analýzy proběhly v programu R Studio. Testovány byly tyto nulové hypotézy: H_0 : Přítomnost parazitů u mláďat sýce rousného není závislá na potravní nabídce., H_0 : Přítomnost parazitů u dospělců sýce rousného není závislá na potravní nabídce., H_0 : Přítomnost parazitů u mláďat sýce rousného není závislá na reprodukční úspěšnosti (počtu mláďat na hnízdě), H_0 : Přítomnost parazitů u dospělců sýce rousného není závislá na reprodukční úspěšnosti. K testování těchto hypotéz byly použity zobecněné lineární modely GLMM s funkcí *glmer*. Vzhledem ke struktuře dat bylo použito Poissonovo rozdělení. Vysvětlujícími proměnnými byla potravní nabídka (viz předchozí odstavec) a počet vylíhlých mláďat na hnízdě. Vysvětlovanou proměnnou byla míra parazitace mláďat/dospělců v budce (= poměr parazitovaných jedinců ke všem jedincům v dané kategorii na hnízdě). Hnízdní budka byla v modelech použita jako náhodný efekt.

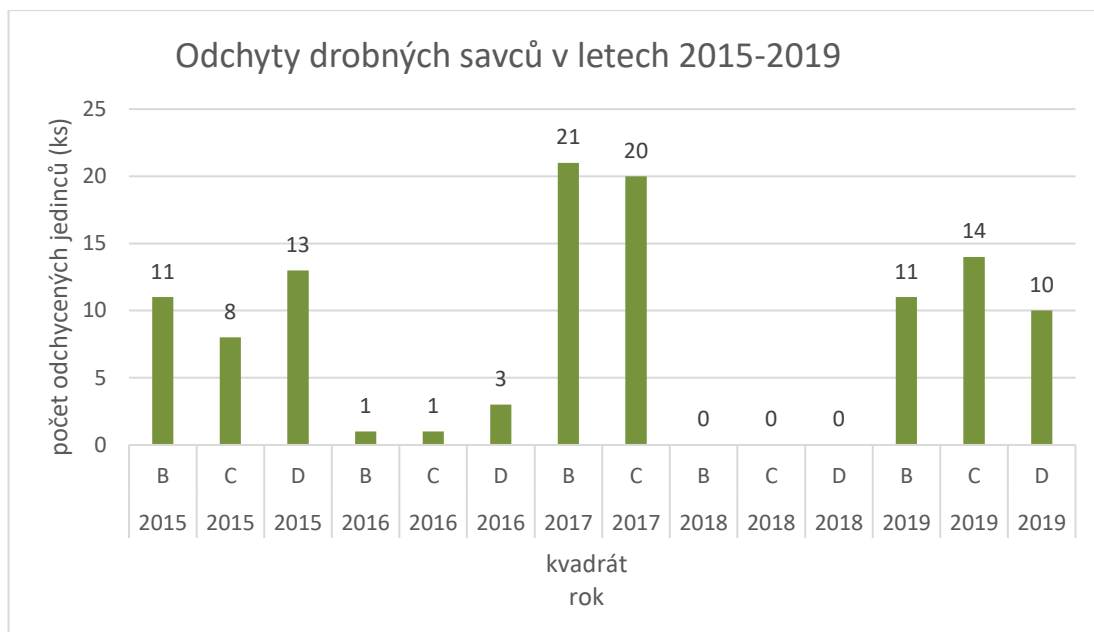
6. Výsledky práce

6.1 Odchyty drobných zemních savců

Za celé období 2015–2019 byly odchyceny tyto druhy drobných zemních savců: hraboš mokřadní (*Microtus agrestis*), hraboš polní (*Microtus arvalis*), norník rudý (*Myodes glareolus*), myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus*), myšice lesní (*Apodemus flavicollis*), rejsek obecný (*Sorex araneus*) a rejsek malý (*Sorex minutus*). V roce 2015 bylo na jaře odchyceno 24 myšic (*Apodemus* sp.) a 8 hrabošů (*Microtus* sp.). Průměrně bylo v tomto roce odchyceno 2,93 ind./100 past'onocí (SD = 0,69). V hnízdní sezóně 2016 bylo odchyceno 5 hrabošů a žádný zástupce rodu *Apodemus* sp. Průměrně bylo v roce 2016 odchyceno 0,46 ind./100 past'onocí (SD = 0,32). V roce 2017 bylo odchyceno 40 myšic a 1 hraboš. V tomto roce probíhaly odchyty pouze na dvou kvadrátech. Průměr odchycených jedinců byl v této sezóně 5,65 ind./100 past'onocí (SD = 0,19). V roce 2018 nebyl odchycen žádný jedinec vybraných druhů drobných savců. V roce 2019 bylo chyceno 32 myšic a 3 hraboši, průměrně 3,21 ind./100 past'onocí (SD = 0,57). (Tab.1; Obr. 8)

rok	<i>Microtus agrestis</i> (ks)	<i>Microtus arvalis</i> (ks)	<i>Myodes glareolus</i> (ks)	<i>Apodemus sylvaticus</i> (ks)	<i>Apodemus flavicollis</i> (ks)	<i>Sorex araneus</i> (ks)	<i>Sorex minutus</i> (ks)
2015	7	1	5	0	24	2	1
2016	5	0	3	0	0	1	0
2017	1	0	14	0	40	1	0
2018	0	0	0	0	0	0	0
2019	3	0	0	5	27	0	0

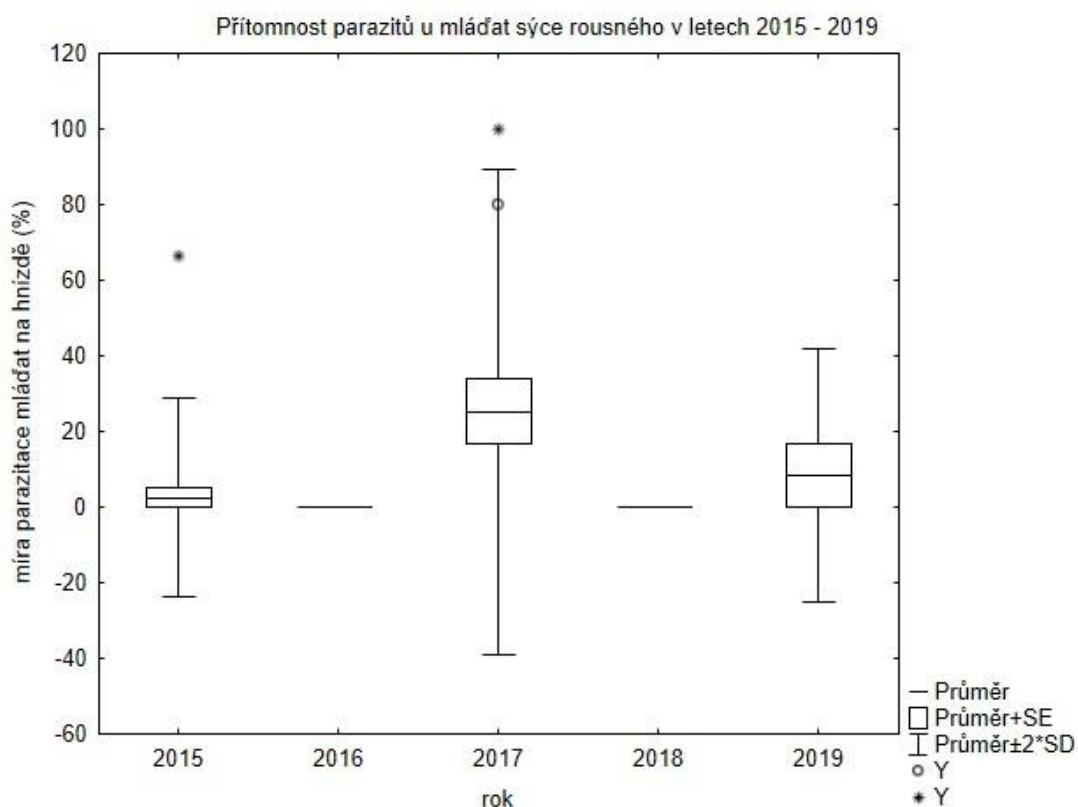
Tabulka 1: Počty odchycených drobných savců: hraboše mokřadního (*Microtus agrestis*), hraboše polního (*Microtus arvalis*), norníka rudého (*Myodes glareolus*), myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*), myšice lesní (*Apodemus flavicollis*), rejška obecného (*Sorex araneus*) a rejška malého (*Sorex minutus*) v Krušných horách v letech 2015–2019.



Obrázek 8: Odchyty myšic (*Apodemus sp.*) a hrabošů (*Microtus sp.*) v Krušných horách v letech 2015–2019. V roce 2017 proběhly odchyty pouze na dvou kvadrátech B a C.

6.2 Přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u mlád'at sýce rousného v letech 2015–2019

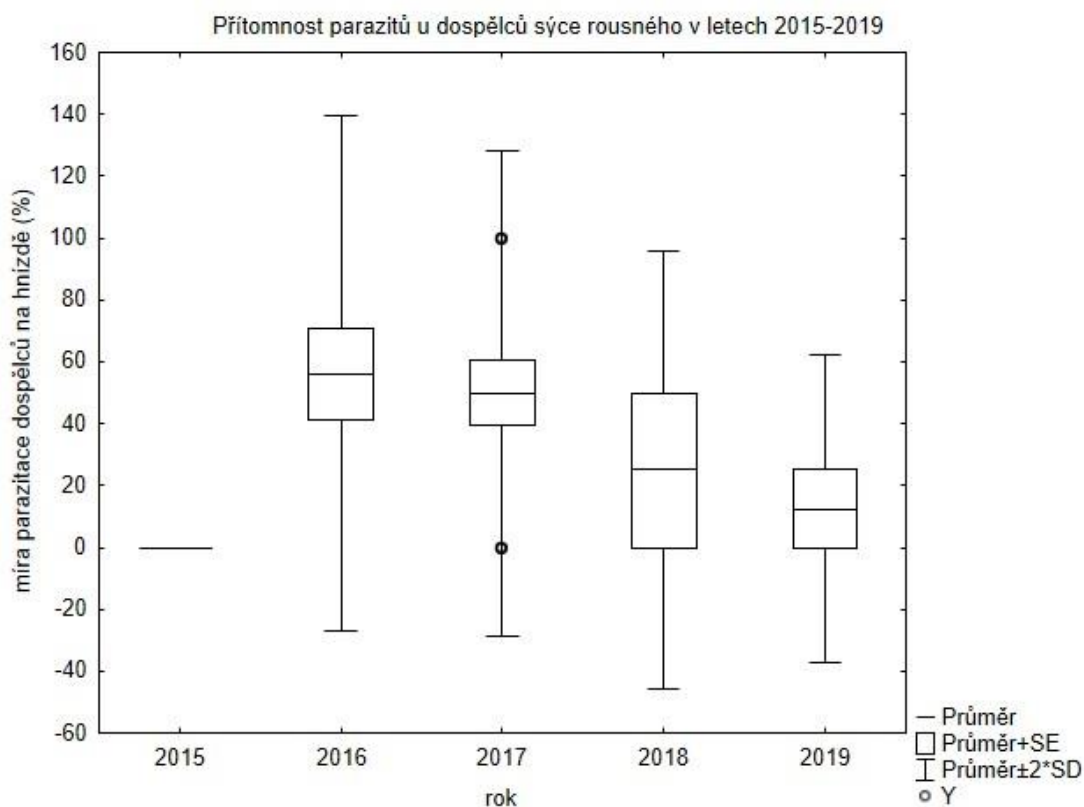
V roce 2015 byla krev odebrána celkem 113 mlád'atům sýce rousného, přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* byla prokázána u dvou mlád'at (1,77 %). V roce 2016 byly vzorky krve odebrány 21 mlád'atům, u žádného z nich nebyla přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* prokázána. V hnízdní sezóně 2017 byla krev odebrána celkem 71 juvenilním jedincům, pozitivní se ukázalo 15 jedinců (21,13 %). V roce 2018 nebyla přítomnost parazitů prokázána u žádného z 5 mlád'at, kterým byla krev odebrána. V roce 2019 byla krev odebrána 22 mlád'atům, z nichž 2 byla pozitivní (9,09 %) (Obr. 9).



Obrázek 9: Krabicové grafy popisující přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u mláďat sýce rousného v Krušných horách v letech 2015–2019. Zobrazen je průměr, střední chyba průměru, směrodatná odchylka a odlehlé body.

6.3 Přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u dospělců sýce rousného v letech 2015–2019

V roce 2016 byla přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* prokázána u 8 z 15 dospělých jedinců, kterým byla krev odebrána (53,33 %). V hnízdní sezóně 2017 bylo parazitováno 13 z 25 dospělců sýce rousného (52 %). V roce 2018 byla krev odebrána 3 dospělcům sýce rousného a přítomnost parazitů byla v tomto roce potvrzena u 1 dospělého (33,33 %). V sezóně 2019 proběhly odběry krve u 9 adultních jedinců, parazité rodu *Leucocytozoon* se vyskytovaly u 1 z nich (11,11 %). V roce 2015 nebyla krev odebrána žádnému dospělému jedinci (Obr. 10).



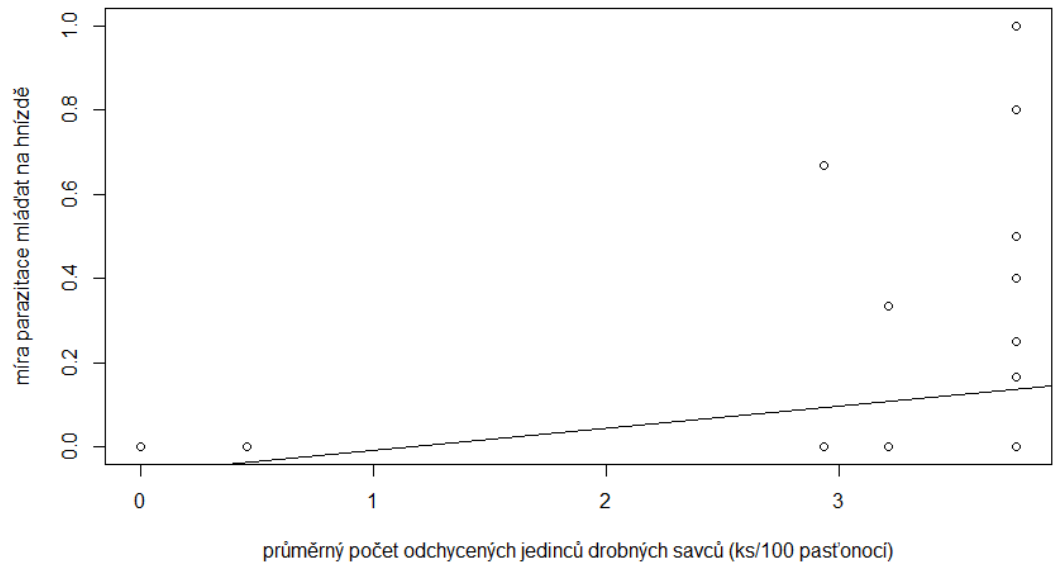
Obrázek 10: Krabicové grafy popisující přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u dospělců sýce rousného v Krušných horách v letech 2015–2019. Zobrazen je průměr, střední chyba průměru, směrodatná odchylka a odlehlé body.

6.4 Závislost přítomnosti parazitů rodu *Leucocytozoon* u mlád'at a dospělců sýce rousného na potravní nabídce a reprodukční úspěšnosti

Závislost přítomnosti parazitů rodu *Leucocytozoon* u mlád'at sýce rousného na potravní nabídce (myšice a hraboši) byla signifikantní na hladině významnosti $\alpha = 0,1$ a indikativní na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($P = 0,0816$, $SE = 1,528$, Estimate = 2,661, z value = 1,141) (Obr. 11). Přítomnost parazitů u mlád'at nebyla závislá na reprodukční úspěšnosti (tj. počtu vylíhlých mlád'at na hnízdě) ($P = 0,8358$, $SE = 0,2624$, Estimate = 0,0544, z value = 0,207).

U dospělců nebyla potvrzena žádná ze zkoumaných závislostí (potravní nabídka: $P = 0,5731$, $SE = 0,2329$, Estimate = -0,1313, z value = -0,564; reprodukční úspěšnost: $P = 0,9322$, $SE = 0,1654$, Estimate = 0,0141, z value = 0,085).

Závislost přítomnosti parazitů u mláďat sýce rousného na potravní nabídce



Obrázek 11: Přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u mláďat sýce rousného (*Aegolius funereus*) v závislosti na potravní nabídce.

7. Diskuse

Celkově byla v této diplomové práci potvrzena přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u 23 z 52 dospělců (44,23 %) a 19 z 232 mláďat (8,19 %) sýce rousného. Pozitivní přítomnost byla tedy častěji zjištěna u dospělých jedinců než mláďat. Vyšší přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u dospělců než mláďat sýce rousného byla prokázána i v předchozích studiích (Mahlerová 2017, Kučerová 2018). Naopak dle Korpimäkiho et al. (1993) není věk jedinců určující.

Výsledky této diplomové práce potvrzují hypotézu, že přítomnost parazitů u mláďat sýce rousného závisí na potravní nabídce drobných zemních savců. Tento výsledek je signifikantní na hladině významnosti $P < 0,1$ (indikativní charakter na hladině významnosti $P > 0,05$). Dle pozitivního vztahu procentuálního zastoupení parazitovaných mláďat na hnízdě a potravní nabídky je možné říci, že se zvyšujícím se množstvím potravy roste i míra přítomnosti pozitivních mláďat na hnízdě. Tento výsledek by mohl souviset se specifickým složením potravní nabídky sýce rousného v Krušných horách. Z drobných savců zde totiž hrají významnou roli především myšice (*Apodemus* sp.), jejichž gradace zde zaznamenali Zárybnická et al. (2013). Myšice s sebou přinášejí velké množství parazitů (Čondlová et al. 2019, Beser et al. 2020). Některé druhy parazitů na myšicích dosud nebyly zkoumány a nedá se tedy vyloučit ani přítomnost hemosporid a rodu *Leucocytozoon*. V případě přítomnosti těchto parazitů by byla podpořena hypotéza, že se zvyšujícím se množstvím kořisti roste i riziko nákazy. Nicméně, výsledky této práce mohou být spojeny i dalšími faktory, které nebyly hodnoceny v rámci této práce, např. struktura habitatu a klimatické podmínky, zejména teplota a srážky. Dle Zárybnické et al. (2017) se početnost myšic a norníků rudých (*Myodes glareolus*) zvyšuje rok po horkém a suchém létu. Na rozdíl od hrabošů (*Microtus* sp.) byly u myšic (a norníků rudých) zaznamenány značné meziroční výkyvy odvíjející se od množství bukvic. Lze proto předpokládat i nepřímou souvislost potravní nabídky s početností vektorů přenášejících parazity rodu *Leucocytozoon*, ačkoliv bližší informace nejsou známy. V podobné souvislosti bylo zjištěno, že výskyt a aktivita dosud známých vektorů — kterými jsou v případě rodu *Leucocytozoon* především dvoukřídlí čeledi muchničkovití (Simuliidae) a pakomárcovití (Ceratopogonidae) (Valkiunas 2005) — pozitivně koreluje s teplotou a vlhkostí okolního prostředí (Oforka et al. 2019). Stejnou

korelaci objevili Hlôška et al. (2016) u drobných savců ve Vysokých Tatrách. Ověření této spekulace může být vhodným tématem pro některou z budoucích studií.

Pozitivní vztah mezi potravní nabídkou a přítomností parazitů rodu *Leucocytozoon* u dospělých jedinců sýce rousného nebyl prokázán. Odlišný výsledek u mládřat a dospělců by mohl být zapříčiněn malým množstvím dat týkajících se adultních jedinců v porovnání s mládřaty; celkově byla v letech 2015–2019 krev odebrána 232 mládřatům a 52 dospělcům. Dále také odlišným způsobem života dospělců a mládřat, které po celou dobu zůstávají na hnízdě spolu s kořistí a riziko infekce tak může být vyšší než u dospělců.

Vztah mezi reprodukční úspěšností sýce rousného a přítomností parazitů rodu *Leucocytozoon* nebyl prokázán. Stejný výsledek byl zaznamenán například v diplomové práci Synka (2009), která se týkala studia hýla rudého (*Carpodacus erythrinus*). Pigeault et al. (2018) zjistili významný vliv přítomnosti hemosporid na reprodukční úspěšnost sýkory koňadry (*Parus major*). Tento výsledek se může lišit právě proto, že zde byl sledován jiný cílový druh, který se liší v mnoha vlastnostech, jakými jsou například složení potravy, hnízdní a reprodukční strategie či struktura a vlastnosti hnízda. Jedná se o řád pěvců Passeriformes, zatímco sýc rousný spadá do řádu sovy Strigiformes. V případě sýkory koňadry bylo také zkoumáno více druhů hemosporid a jejich společný výskyt, který se ukázal určujícím. Neprůkazný se ukázal být i vliv počtu mládřat na hnízdě na přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u mládřat sýce rousného.

Výsledky této studie rozšiřují znalosti o přítomnosti krevních parazitů rodu *Leucocytozoon* u střeoevropské populace sýce rousného lokalizované v imisemi poškozených oblastech Krušných hor a zároveň poukazují na stále vysokou míru neznalosti v této oblasti vzdělání. V budoucnu by bylo zejména účelné se zaměřit studie zkoumající výskyt parazitů rodu *Leucocytozoon* především na vliv environmentálních faktorů, jako je teplota, vlhkost okolního prostředí a celkový typ habitatu. Větší prohloubení znalostí je potřeba také u vektorů, které krevní parazity přenášejí. Na rozdíl od jejich ptačích protějšků jsou tyto skupiny prozkoumány mnohem méně (Kim et al. 2009). Stejně tak je třeba zaměřit se i na další rody a druhy parazitů řádu Haemosporida a vlivy výše zmíněných faktorů na

jejich společný výskyt. Právě koexistence více druhů a rodů těchto krevních parazitů může být pro ptáky nejnebezpečnější (Pigeault et al. 2018). V Krušných horách se však přítomnost dalších druhů hemosporid zatím neprokázala (Synek et al. 2016). Všechny hypotézy byly testovány jen v kategoriích mláďata a dospělci pomocí PCR metod.

8. Závěr a přínos práce

Cílem této diplomové práce bylo zjistit přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u mláďat a dospělců sýce rousného v Krušných horách v letech 2015–2019 a zjistit závislost výskytu parazitů na potravní nabídce a reprodukční úspěšnosti sýce rousného. Analýza zjištění přítomnosti parazitů proběhla dvoufázovou analýzou PCR (Hellgren et al. 2004). Potravní nabídka byla pro každý rok určena pomocí jarních odchytů drobných zemních savců.

Vliv potravní nabídky na přítomnost parazitů u dospělců sýce rousného nebyl potvrzen. U mláďat sýce rousného byl prokázán signifikantní vztah ($P < 0,1$) potravní nabídky a přítomnosti parazitů rodu *Leucocytozoon*. Počet vylíhlých mláďat na hnízdě neovlivnil míru parazitace mláďat ani dospělců sýce rousného. Tyto výsledky přinesly nový poznatek především pro následující směřování výzkumu, který by se kromě konkrétnějšího zaměření na parazity drobných zemních samců, jako potencionálních vektorů parazitů rodu *Leucocytozoon*, měl zaměřit také na další související faktory prostředí.

9. Přehled literatury a použitých zdrojů

Bejček V., Šťastný K., 2006: Encyklopedie ptáci. Rebo productions. Dobřejovice.

Beser J., Bujila I., Wittesjo B., Lebbad M., 2020: From mice to men: Three cases of human infection with *Cryptosporidium ditrichi*. Infection, Genetics and Evolution 78: 104–120.

Ciloglu A., Ellis V. A., Bernotienė R., Valkiūnas G., Bensch S. 2019: A new one-step multiplex PCR assay for simultaneous detection and identification of avian haemosporidian parasites. Parasitology Research 118: 191–201.

Čondlová Š., Horčíčková M., Sak B., Květoňová D., Hlásková L., Konečný R., Stanko M., McEvoy J., Kváč M., 2019: *Cryptosporidium apodemi* sp n. and *Cryptosporidium ditrichi* sp n. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in *Apodemus* spp. European Journal of Protistology 69: 1–13.

Drdáková - Zárybnická M., 2003: Hnízdní biologie sýce rousného (*Aegolius funereus*) v imisních oblastech Krušných hor. Sylvia 39: 35–51.

Drdková-Zárybnická M., 2004: Sýc rousný-úspěšný druh imisních holin. Živa 3: 128–130.

Drdáková-Zárybnická M., 2008: Circadian activity of the Tengmalm's Owl (*Aegolius funereus*) in the Krušné hory Mts.: the effect of different parental roles. Sylvia 44:51–61.

Drdáková - Zárybnická M., Zárybnický J., 2003: Noční aktivita samice sýce rousného (*Aegolius funereus*) v Krušných horách: předběžné výsledky. Zoologické dny Brno 2003, Sborník abstraktů z konference 13.-14. února 2003: 137–138.

Flousek J., Gramsz B., Telenský T., 2015: Birds of Krkonoše Mts. – the atlas of breeding distribution in 2012–2014. Správa KRNAP Vrchlabí, Dyrekcja KPN Jelenia Góra.

Hakkarienen H., Korpimäki E. 1998: Why do territorial male Tengmalm's owls fail to obtain a mate?. Oecologia 114: 578582.

Hellgren O., Waldenström J., Bensch S., 2004: A new PCR assay for simultaneous studies of *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, and *Haemoproteus* from avian blood. J Parasitol 90:797–802.

Hlůška L., Chovancová B., Chovancová G., Fleischer P., 2016: Influence of climatic factors on the population dynamics of small mammals (Rodentia, Soricomorpha) on the sites affected by windthrow in the High Tatra Mts. Folia Oecologica 43: 12–20.

Hudec K., Šťastný K., 2005: Fauna ČR Ptáci 2/II. Akademie věd České republiky. Praha.

Kim K. S., Tsuda Y., Sasaki T., Kobayashi M., Hirota Y., 2009: Mosquito blood-meal analysis for avian malaria study in wild bird communities: laboratory verification and application to *Culex sasai* (Diptera: Culicidae) collected in Tokyo, Japan. *Parasitol Res* 105:1351–1357.

Korpimäki E., 1981: On the ecology and biology of Tengmalm's Owl *Aegolius funereus* in southern Ostrobothnia and Soumenselkä, western Finland. *Biol* 13: 1–84.

Korpimäki E., 1987: Timing of breeding of Tengmalm's Owl *Aegolius funereus* in relation to vole dynamics in western Finland. *Ibis* 129 (1): 58–68.

Korpimäki E., 1988: Diet of breeding Tengmalm's Owls *Aegolius funereus*: long-term changes and year-to-year variation under cyclic food conditions. *Ornis Fenn* 65:21–30.

Korpimäki E., 1992: Diet composition, prey choice and breeding success of long-eared owls: effects of multiannual fluctuations in food abundance. *Canadian Journal of Zoology* 70: 2373–2381.

Korpimäki E., Hakkarainen H., 2012: The Boreal Owl. Ecology, Behaviour and conservation of a Forest-Dwelling predator. Cambridge University Press, Cambridge.

Korpimäki E., Hakkarainen H., Bennett G., F., 1993: Blood parasites and reproductive success of Tengmalm's owls: detrimental effects on females but not on males. *Funct Ecol* 7:420–426.

Kouba M., Bartoš L., Šťastný K., 2015. Factors Affecting the Duration of Nestling Period and Fledging Order in Tengmalm's Owl (*Aegolius funereus*): Effect of Wing Length and Hatching Sequence. *PLoS ONE* 10(3): e0121641. doi:10.0121371/journal.pone.0121641.

Kučerová T., 2018: Přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u mládřat a dospělců sýce rousného (*Aegolius funereus*) v Krušných horách v roce 2017."nepublikováno". Bakalářská práce FŽP ČZU v Praze: "Dep.: Česká zemědělská universita"

Mahlerová K., 2017: Přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u mládřat a dospělců sýce rousného (*Aegolius funereus*) v Krušných horách."nepublikováno". Diplomová práce FŽP ČZU v Praze: "Dep.: Česká zemědělská universita"

Morii T., 1992: A review of *Leucocytozoon caulleryi* infection in chickens. *Journal of protozoology research*. Říjen 1992, stránky 128–133.

Nagao E., Arie T., Dorward D. W., Fairhurst R. M., Dvorak J. A., 2008: The avian malaria parasite *Plasmodium gallinaceum* causes marked structural changes on the surface of its host erythrocyte. *Journal of Structural Biology* 162: 460–467.

Oforika L. C., Adeleke M. A., Anikwe J. C., Makanjuola W. A., 2019: Population Fluctuations and Effect of Climatic Factors on the Relative Abundance of *Simulium damnosum* Complex (Diptera: Simuliidae). *Environmental Entomology* 48: 284–290.

Plesník J., Hanzal V., Brejšková L. [eds], 2003: Červený seznam ohrožených druhů České Republiky Obratlovci. *Příroda* 22: 1–184.

Pigeault, R., Cozzarolo, C. S., Choquet, R., Strehler, M., Jenkins, T., Delhaye, J., Bovet, L., Wassef, J., Glaizot, O., Christe, P. 2018: Haemosporidian infection and co-infection affect host survival and reproduction in wild populations of great tits. *International Journal for Parasitology* 48: 1079–1087.

R Core Team 2019: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Slater L. B., 2005: Malarial Birds: Modeling Infectious Human Disease in Animals. *Bulletin of the History of Medicine* 79: 261–294.

Směrnice Evropského parlamentu a rady č. 2009/147/ES z 30. listopadu 2009 o ochraně volně žijících ptáků (kodifikované znění).

Synek P., 2009: Původci ptačí malárie a ostatní hemosporida hýla rudého (*Carpodacus erythrinus*). Diplomová práce PŘF UK v Praze: "Dep.: Univerzita Karlova".

Synek P., Munclinger P., Albrecht T., Votýpka J., 2013: Avian haemosporidians in haematophagous insects in the Czech Republic. *Parasitol Res* 112: 839–845.

Synek P., Popelková A., Koubínová D., Šťastný K., Langrová I., Votýpka J., Munclinger P., 2016: Haemosporidian infections in the Tengmalm's Owl (*Aegolius funereus*) and potential insect vectors of their transmission. *Parasitol Res* 115: 291–298.

Ševčík R., Riegert J., Šindelář J., Zárybnická M., 2019: Vocal activity of the Central European Boreal Owl population in relation to varying environmental conditions. *Ornis Fennica* 96:1–12.

Šindelář J., Kubizňák P., Zárybnická M., 2015: Sequential polyandry in female Tengmalm's owl (*Aegolius funereus*) during a poor rodent year. *Folia Zool* 64: 123–128.

Šťastný K., Bejček V., Hudec K., 2009: Atlas hnízdního rozšíření ptáků v České republice 2001–2003. Aventinum s. r. o. Praha.

The IUCN Red List of Threatened Species 2015: <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 23 June 2020

Valkiunas G., 2005: Avian malaria parasites and other haemosporidia. CRC Press. New York.

Vyhláška č. 395/1992 Sb. ministerstva životního prostředí České republiky, kterou se provádějí některá ustanovení zákona České národní rady č. 114/1992 Sb, v platném znění.

Zárybnická M., 2009: Parental investment of female Tengmalm's Owls *Aegolius funereus*: correlation with varying food abundance and reproductive success . Acta Ornithol 44: 81–88.

Zárybnická M., Korpimäki E., Griesser M., 2012: Dark or short nights: differential latitudinal constraints in nestling provisioning patterns of a nocturnally hunting bird species. PLOS One 7:e36932.

Zárybnická M., Riegert J., Šťastný K., 2013: The role of *Apodemus* mice and *Microtus* voles in the diet of the Tengmalm's owl in Central Europe. Population Ecology 55: 353–361.

Zárybnická M., Riegert J., Kouba M., 2015: Indirect food web interactions affect predation of Tengmalm's Owls *Aegolius funereus* nests by Pine Marten *Martes martes* according to the alternative prey hypothesis. International journal of avian science 157: 459–467.

Zárybnická M., Kloubec B., Obuch J., Riegert J., 2015: Fledgling Productivity in Relation to Diet Composition of Tengmalm's Owl *Aegolius funereus* in Central Europe. Ardeola 62: 163–171.

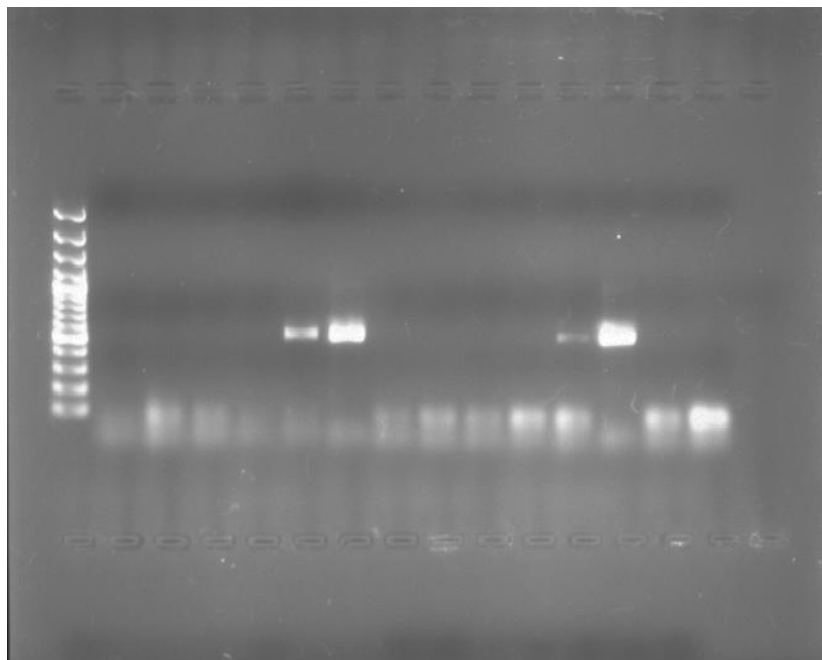
Zárybnická M., Riegert J., Kloubec B., Obuch J., 2017: The effect of elevation and habitat cover on nest box occupancy and diet composition of Boreal Owls *Aegolius funereus*. Bird Study 64: 222–231.

Zárybnická M., Riegert J., Bejček V., Sedláček F., Šťastný K., Šindelář J., Heroldová M., Vilímová J., Zima J., 2017: Long-term changes of small mammal communities in heterogenous landscapes of Central Europe. European Journal of Wildlife Research 63: 89: doi.10.1007/s10344-017-1147-9

10. Seznam obrázků a tabulek

- Obrázek 1:** Samice sýce rousného (*Aegolius funereus*) (foto: Jan Albrecht 2020). ... 5
- Obrázek 2:** Mláďata sýce rousného (*Aegolius funereus*) (foto: Jan Albrecht 2020). . 5
- Obrázek 3:** Mapa rozšíření sýce rousného (*Aegolius funereus*) ve světě (oranžová barva) (<http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=22689362>, 2018). 6
- Obrázek 4:** Hnízdo sýce rousného (*Aegolius funereus*) se snůškou vajec a zbytky potravy (foto: Štěpán Vorel 2020). 7
- Obrázek 5:** Samice sýce rousného (*Aegolius funereus*) na hnízdě (foto: Jan Albrecht 2020) 8
- Obrázek 6:** Odběr krve z brachiální žíly sýce rousného (*Aegolius funereus*) – narušení brachiální žíly jehlou (foto: Tereza Kučerová 2020)..... 15
- Obrázek 7:** Odběr krve z brachiální žíly sýce rousného (*Aegolius funereus*) – odběr krve kapilárou (foto: Jan Albrecht 2020) 16
- Obrázek 8:** Odchyty myšic (*Apodemus* sp.) a hrabošů (*Microtus* sp.) v Krušných horách v letech 2015–2019. V roce 2017 proběhly odchyty pouze na dvou kvadrátech B a C. 23
- Obrázek 9:** Krabicové grafy popisující přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u mláďat sýce rousného v Krušných horách v letech 2015–2019. Zobrazen je průměr, střední chyba průměru, směrodatná odchylka a odlehlé body. 24
- Obrázek 10:** Krabicové grafy popisující přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u dospělců sýce rousného v Krušných horách v letech 2015–2019. Zobrazen je průměr, střední chyba průměru, směrodatná odchylka a odlehlé body. 25
- Obrázek 11:** Přítomnost parazitů rodu *Leucocytozoon* u mláďat sýce rousného (*Aegolius funereus*) v závislosti na potravní nabídce..... 26
- Tabulka 1:** Počty odchycených drobných savců: hraboše mokřadního (*Microtus agrestis*), hraboše polního (*Microtus arvalis*), norníka rudého (*Myodes glareolus*), myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*), myšice lesní (*Apodemus flavicolis*), rejska obecného (*Sorex araneus*) a rejska malého (*Sorex minutus*) v Krušných horách v letech 2015–2019.....22

11. Přílohy



Příloha 1: Výsledný elektrogram ukazující přítomnost parazitů (foto: Kučerová 2017).

year	box	prop_juv	sum_juv	prop_adult	food
2015	59	0	4	0	2,938475666
2015	63	0	7	0	2,938475666
2015	73	0	7	0	2,938475666
2015	79	0	4	0	2,938475666
2015	403	0	4	0	2,938475666
2015	410	0,666666667	3	0	2,938475666
2015	594	0	7	0	2,938475666
2015	676	0	4	0	2,938475666
2015	800	0	4	0	2,938475666
2015	848	0	5	0	2,938475666
2015	856	0	5	0	2,938475666
2015	1319	0	6	0	2,938475666
2015	1325	0	4	0	2,938475666
2015	1335	0	3	0	2,938475666
2015	1337	0	2	0	2,938475666
2015	1350	0	5	0	2,938475666
2015	1381	0	2	0	2,938475666
2015	1383	0	5	0	2,938475666
2015	1385	0	2	0	2,938475666
2015	1387	0	5	0	2,938475666
2015	1431	0	5	0	2,938475666
2015	13116	0	3	0	2,938475666
2015	13135	0	5	0	2,938475666

2015	13140	0	4	0	2,938475666
2015	13144	0	2	0	2,938475666
2015	13156	0	6	0	2,938475666
2016	61	0	4	1	0,459136823
2016	603	0	2	0,5	0,459136823
2016	1390	0	0	0	0,459136823
2016	1392	0	3	1	0,459136823
2016	1396	0	2	1	0,459136823
2016	1422	0	2	0,5	0,459136823
2016	1516	0	3	0,5	0,459136823
2016	13141	0	2	0	0,459136823
2016	13153	0	3	0	0,459136823
2017	59	0,4	5	0	3,764921947
2017	848	0,166666667	6	0,5	3,764921947
2017	1309	0	7	1	3,764921947
2017	1325	0,5	6	1	3,764921947
2017	1340	0	4	1	3,764921947
2017	1346	0	5	0	3,764921947
2017	1381	0,166666667	6	0,5	3,764921947
2017	1386	0,25	8	0,5	3,764921947
2017	1408	0	3	0,5	3,764921947
2017	1413	0	0	0	3,764921947
2017	1414	0,25	4	0,5	3,764921947
2017	13107	0	6	0	3,764921947
2017	13139	0	4	0,5	3,764921947
2017	13142	0,8	5	0	3,764921947
2017	13144	1	1	1	3,764921947
2018	856	0	3	0	0
2018	1309	0	2	0,5	0
2019	63	0,333333333	6	0	3,213957759
2019	848	0	7	0,5	3,213957759
2019	1318	0	0	0	3,213957759
2019	13139	0	5	0	3,213957759
2019	13140	0	4	0	3,213957759

Příloha 2: Tabulka s mírou parazitace mláďat a dospělců sýce rousného (*Aegolius funereus*) parazity rodu *Leucocytozoon* a potravní nabídkou sýce rousného v Krušných horách v letech 2015-2019.