

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra ekologie a životního prostředí



Vliv krajinných parametrů na riziko výskytu klíšťat a jimi přenášených chorob

Bc. Marcel Schichor

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

jako součást požadavků
na získání titulu Mgr. v oboru
Ochrana a tvorba krajiny

Vedoucí práce: RNDr. Tomáš Václavík, Ph.D.

Olomouc 2019

Schichor M.: Vliv krajinných parametrů na riziko výskytu klíšťat a jimi přenášených chorob. [diplomová práce]. Olomouc: Katedra ekologie a ŽP PřF UP v Olomouci. 48 s. 1 příloha. Česky

Abstrakt

Klíšťata jsou v Evropě jedním nejvýznamnějších přenašečů patogenů. V posledních letech dochází k proměnám v jejich geografické distribuci a nárůstu početnosti, jejichž příčinou mohou být změny ve využití krajiny. Tento jev má za následek narůstající počet nakažených osob, kdy navíc mnoho patogenů považovaných za neškodné se začíná projevovat i u člověka. Tato práce zkoumá, jaký je vliv krajinných parametrů na abundanci klíšťat v různých prostorových měřítcích. Krajinné parametry zde představují podmínky prostředí (nadmořská výška, bioklimatické charakteristiky) a krajinné indexy, které kvantifikují krajinnou strukturu. Jejich vliv byl testován pomocí mnohonásobné lineární regrese. Analýza prokázala signifikantní dopad krajinné struktury na abundanci klíšťat ve dvou měřítcích. V měřítku 500 m byl prokázán vliv hustoty okrajů a velikosti plošek. V měřítku 1 km hraje kromě krajinné struktury (hustota stromového pokryvu, Shannonův index) vliv také klima. Dále byly vytvořeny mapy prevalence patogenu *Anaplasma* spp. a *Rickettsia* spp. u klíšťat na zkoumaných lokalitách a následně byla testována závislost prevalence na abundanci klíšťat pomocí jednoduché lineární regrese. Statisticky významný vliv početnosti na prevalenci byl prokázán pouze u *Anaplasmy*.

Klíčová slova: klíšťata, krajinné indexy, prevalence, *Anaplasma*, *Rickettsia*

Schichor M.: Impact of landscape parameters on occurrence of ticks and tick-borne diseases. [Master's thesis]. Olomouc: Department of Ecology and Environmental Sciences, Faculty of Science, Palacky University in Olomouc, 48 pp., 1 Appendix, in Czech.

Abstract

Ticks are some of the most important pathogen vectors in Europe. In recent years, there has been a change in their geographical distribution and a rise in their abundance, potentially caused by changes in landscape use. This phenomenon results in an increasing number of infected people, while, at the same time, many pathogens considered harmless begin to manifest in humans. This work examined the influence of landscape parameters on tick abundance at four spatial scales. Here, landscape parameters represented environmental conditions (elevation bioclimatic characteristics) and landscape metrics that quantify landscape structure. Their effect was tested by multiple linear regression analysis. The results show significant impact of landscape structure on ticks abundance at two spatial scales (500 m and 1 km). At a 500 m scale, the effect of edge density and patch size was demonstrated. At a 1 km scale, climate also plays the role apart from landscape structure (tree cover density, Shannon index). In addition, prevalence maps of the pathogen *Anaplasma* spp. and *Rickettsia* spp. in ticks have been created. Subsequently, the dependence of pathogen prevalence on tick abundance was tested using ordinary linear regression. A statistically significant effect of abundance on pathogen prevalence was found only for the *Anaplasma* genus.

Key words: ticks, landscape metrics, prevalence, *Anaplasma*, *Rickettsia*

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně pod vedením RNDr. Tomáše Václavíka, Ph.D. a jen s použitím citovaných literárních pramenů.

V Olomouci, 29. července 2019

.....

Podpis

Obsah

Seznam tabulek.....	viii
Seznam obrázků.....	ix
Seznam zkratek.....	x
Poděkování.....	xii
1. Úvod.....	1
1.1 Ekologie klíšťat.....	1
1.2 Výskyt klíšťat.....	3
1.3 Patogeny přenášené klíšťaty.....	6
2. Cíle práce.....	8
3. Materiál a metody.....	9
3.1 Studované druhy klíšťat.....	9
3.2 Studované patogeny.....	9
3.3 Sběr materiálu a genetické analýzy.....	10
3.4 Mapy abundance a prevalence.....	10
3.5 Data krajinných parametrů.....	11
3.6 Použité statistické metody.....	15
4. Výsledky.....	17
4.1 Abundance klíšťat.....	17
4.2 Přítomnost patogenů a jejich prevalence v odchycených klíšťatech.....	18
4.3 Vliv krajinných parametrů na abundanci klíšťat.....	21
4.3.1 Buffer 250 m.....	22
4.3.2 Buffer 500 m.....	23
4.3.3 Buffer 1 km.....	24
4.3.4 Měřítko okresů.....	26
4.4 Vliv abundance klíšťat na prevalenci patogenů.....	27

4.4.1	Rickettsia.....	28
4.4.2	Anaplasma.....	28
5.	Diskuze.....	31
5.1	Vliv krajinné struktury na abundanci klíšťat	31
5.2	Přítomnost patogenů a vliv abundance na prevalenci	34
6.	Závěr	36
7.	Literatura	37
8.	Přílohy	46

Seznam tabulek

Tabulka 1: Zdroje dat krajinných parametrů	12
Tabulka 2: Přehled vypočítaných krajinných parametrů a indexů ve všech měřítcích	13
Tabulka 3: Přehled počítaných indexů (McGarigal et al., 2012)	15
Tabulka 4: Prevalence patogenů u jednotlivých stádií	20
Tabulka 5: Výsledky modelu mnohonásobné regrese pro buffer 250 m.....	23
Tabulka 6: Výsledky modelu mnohonásobné regrese pro buffer 500 m.....	24
Tabulka 7: Výsledky modelu mnohonásobné regrese pro buffer 1 km.....	26
Tabulka 8: Výsledky modelu mnohonásobné regrese pro okresy	27
Tabulka 9: Výsledky modelu lineární regrese pro rickettsie	28
Tabulka 10: Výsledky modelu lineární regrese pro anaplasmu	28
Tabulka 11: Výsledky modelu lineární regrese pro anaplasmu u dospělců.....	29
Tabulka 12: Výsledky modelu lineární regrese pro anaplasmu u nymf	29

Seznam obrázků

Obrázek 1: Rozmístění jednotlivých stádií ve vegetaci. Adultní stádia (1), nymfy (2), larvy (3) a svlékající či přezimující klíšťata (4) (Kimmig et al., 2003).	4
Obrázek 2: Porovnání krajinného pokryvu pro vybrané lokality na Karvinsku v různých prostorových škálách: buffer o poloměru 250 m (a), 500 m (b) a 1 km (c). Zdroj dat: CORINE.....	14
Obrázek 3: Celková abundance klíšťat (a), abundance klíšťete obecného (b), abundance klíšťe lužního (c) a abundance pijáka lužního (d) pro rok 2017.....	17
Obrázek 4: Celková abundance klíšťat (a), abundance klíšťete obecného (b) a abundance klíšťe lužního (c) pro rok 2018.....	18
Obrázek 5: Přítomnost patogenu anaplasma (a) a rickettsie (b) na vzorkovaných lokalitách	18
Obrázek 6: Přítomnost patogenu anaplasma u nymf (a) a u dospělců (b) na vzorkovaných lokalitách.....	19
Obrázek 7: Prevalence patogenu anaplasma (a) a rickettsia (b) na vzorkovaných lokalitách	19
Obrázek 8: Prevalence patogenu anaplasma u stádia nymfy (a) a dospělé (b) na vzorkovaných lokalitách.....	20
Obrázek 9: Prevalence patogenu anaplasma (a) a rickettsie (b) pro jednotlivé okresy	21
Obrázek 10: Prevalence patogenu anaplasma u nymf (a) a u dospělců (b) pro jednotlivé okresy	21
Obrázek 11: Korelační matice pro buffer 250 m (zkratky viz tab. 2)	22
Obrázek 12: Korelační matice pro buffer 500 m (zkratky viz tab. 2)	24
Obrázek 13: Korelační matice pro buffer 1 km (zkratky viz tab. 2)	25
Obrázek 14: Korelační matice pro okresy (zkratky viz tab. 2)	27
Obrázek 15: Grafické vyjádření lineární závislosti prevalence rickettsií na abundanci klíšťat ...	28
Obrázek 16: Grafické vyjádření lineární závislosti prevalence anaplasmy na abundanci klíšťat	29
Obrázek 17: Grafické vyjádření lineární závislosti prevalence anaplasmy na abundanci dospělců	30
Obrázek 18: Grafické vyjádření lineární závislosti prevalence anaplasmy na abundanci nymf ..	30

Seznam zkratk

BIO1 – průměrná roční teplota

BIO10 – průměrná teplota nejteplejšího čtvrtletí

BIO11 – průměrná teplota nejchladnějšího čtvrtletí

BIO12 – průměrný roční srážkový úhrn

BIO16 – průměrný srážkový úhrn nejvlhčího čtvrtletí

BIO17 – průměrný srážkový úhrn nejsuššího čtvrtletí

BIO4 – průměrná teplotní proměnlivost

CO_AMN – průměrná velikost plošky krajinného pokryvu

CO_CONT – index rozprostření plošky krajinného pokryvu

CO_ED – hustota okrajů plošek krajinného pokryvu

CO_PARMN – poměr plocha-obvod plošky krajinného pokryvu

CO_PD – hustota plošek krajinného pokryvu

CO_SHDI – Shannonův index diverzity pro krajinný pokryv

ČR – Česká republika

DEMM – průměrná nadmořská výška

DEMMN – minimální nadmořská výška

DEMMX – maximální nadmořská výška

DEMST – směrodatná odchylka nadmořské výšky

FO_CO – index rozprostření plošek listnatých lesů/ostatních ploch

FO_ED – hustota okrajů plošek listnatých lesů/ostatních ploch

FO_PD – hustota plošek listnatých lesů/ostatních ploch

FO_TE – délka okrajů plošek listnatých lesů/ostatních ploch

FOREST_AR – procentuální zastoupení listnatých lesů

GPS – globální polohový systém

GRASS – procentuální zastoupení travnatých ploch

Kap. – kapitola

Obr. – obrázek

PCR – polymerázová řetězová reakce

Tab. – tabulka

TDM – průměrná hustota stromového pokryvu

USA – Spojené státy americké

WWPI – průměrná pravděpodobnost výskytu vody

Poděkování

Tímto bych rád poděkoval především vedoucímu mé diplomové práce RNDr. Tomáši Václavíkovi, Ph.D. za poskytnutá data, vstřícnost, trpělivost, cenné rady a především čas, který mi věnoval. Chtěl bych také poděkoval všem, kteří se podíleli na terénním sběru dat a genetických analýzách. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat rodině, blízkým a přátelům za pomoc a neustálou podporu.

1. Úvod

Klíšťata jsou považována za světově nejvýznamnější ektoparazity. Jednak pro parazitismus obecně a také proto, že jsou vektory mnoha různých patogenů. Ačkoliv jen několik málo druhů je přizpůsobeno pro sání na člověku, jsou pro něj významným přenašečem zoonóz (Estrada-Peña et al., 2013). V Evropě jsou klíšťaty přenášené infekce větším rizikem než nemoci přenášené hmyzem (Gray, 1991).

1.1 Ekologie klíšťat

Klíšťata se řadí do skupiny pavoukovci (Arachnida), konkrétně řád roztoči (Acarida) (Kimmig et al., 2003), podřád klíšťatovci (Ixodida). Všichni zástupci tohoto řádu, až na pár výjimek, jsou obligatorními ektoparazity. Rozlišujeme dvě početné skupiny – klíšťáci (soft ticks) a klíšťata (hard ticks), které zahrnují nejméně 907 druhů. Od hmyzu je lze lehce odlišit, neboť tělo není rozděleno do tří částí, ale skládá se z přední části (gnathosoma) a zadní části (idosoma), na které jsou umístěny končetiny a eventuálně oči (Volf & Horák, 2007). Stejně jako většina pavoukovců má stadium nymfy a dospělce 4 páry končetin, zatímco larva pouze 3 páry (Estrada-Peña et al., 2013).

Ve střední Evropě představují rozhodující roli v šíření zoonóz především klíšťata. Označení „tvrdá klíšťata“ (hard ticks) z anglosaské literatury odkazuje na charakteristický tvrdý štítek (scutum) na hřbetní straně těla dospělců (Volf & Horák, 2007), který obsahuje chitin (Kimmig et al., 2003). U dospělých samic zakrývá třetinu až polovinu elastické idiosomy a u dospělých samců téměř celý povrch (Volf & Horák, 2007). Klíšťatům slouží jako ochrana před rozmáčknutím (Kimmig et al., 2003). U klíšťáků tento štítek nenajdeme, pouze u larev se vyvinula jakási napodobenina (Volf & Horák, 2007).

Dalším nápadným znakem u klíšťat je na gnathosomě umístěný hypostom („kusadla“), který směřuje dopředu a je snadno identifikovatelný z pohledu shora (Kimmig et al., 2003). Ten je opatřen řadami zakřivených zoubků, které napomáhají ukotvení na hostiteli během sání. Ukotvení je u některých druhů navíc podpořeno vyloučením bílkovinné látky zvané "cement" (Volf & Horák, 2007).

Klíšťata vyčkávají na hostitele na povrchu vegetace s doširoka roztaženými předními končetinami. Na prvním páru je pro rozpoznání hostitele umístěno komplikované

smyslové ústrojí tzv. Hallerův orgán. Jedná se o jamku opatřenou brvami, které jsou schopny detekovat zdroj a směr tepelného záření, vydechovaného CO₂, chvění a otřesů. Klíště zachycené na těle hostitele následně vyhledá optimální místo k přísátí pomocí senzorického orgánu tzv. palpy (Volf & Horák, 2007; Daneš, 2003). Tento proces může trvat až několik hodin. Ideální jsou místa s tenkou kůží a vlhkým prostředím. Poté dojde nejprve pomocí chelicer k proříznutí pokožky, následně k zanoření hypostomu (Kimmig et al., 2003).

Vývoj u klíšťat probíhá ve třech vývojových stádiích. Z vajíček se líhnou larvy, pro které jsou charakteristické tři páry končetin. Dalším stádiem je nymfa, která má již čtyři páry končetin. Konečným (adultním) stádiem jsou pohlavně zralí samci a samičky. Klíšťata potřebují k vývoji, tedy pro přechod do dalšího stádia, tři různé hostitele (tzv. tříhostitelský cyklus). Délka vývoje podléhá výkyvům a trvá zpravidla 2–5 let. Některé druhy mohou na hostiteli setrvat i po dokončení sání, pak hovoříme o klíšťatech dvou nebo dokonce jednohostitelských, se kterými se v našich podmínkách nesetkáme (Kimmig et al., 2003). Nezralá stádia po nasátí odpadají a dochází ke svlékání a přechodu na následující stádium. Samičky potřebují sát proto, aby mohly vyprodukovat vajíčka (Randolph et al., 2002). Mezi každým sáním dochází k dlouhodobým prodlevám, díky čemuž se klíšťata adaptovala k hladovění (Kimmig et al., 2003). U samců dochází k pasívní fázi sání. Ta je podstatná pro nalezení samiček ke kopulaci. Následně po kopulaci samci odpadávají a hynou, zatímco oplodněné samičky na hostiteli dále přetrvávají (Kimmig et al., 2003). Hostitel je místo s nejvyšší pravděpodobností vzájemného setkání obou pohlaví (Volf & Horák, 2007).

Pro každé stádium je charakteristický výběr vhodného hostitele. Nejběžnějšími hostiteli larev jsou drobní savci. Klíčová je jejich vysoká početnost a pohyb v blízkosti povrchu (Matuschka et al., 1991). Nicméně drobní savci mohou hostit také nymfy a výjimečně i samičí dospělce (Mihalca et al., 2012). Nymfy zpravidla sají na středně velkých savcích a ptácích a dospělé samice přednostně na velkých savcích. (Marsot et al. 2012). Kromě přítomnosti vhodného hostitele je důležitá i jeho početnost. Pro specializované druhy klíšťat může nedostatečná hustota či nepřítomnost hostitele znamenat jejich vymizení (Pfäffe et al., 2013). Hmotnost hostitele ovlivňuje počty přísátých klíšťat a jedinci s vyšší hmotností bývají parazitováni více klíšťaty (Matuschka et al., 1992). U norníka rudého (*Myodes glareolus*) byla pozorována schopnost vytvořit

si účinnou odolnost při opakovaném sání larev klíšťat, čímž následně snižoval jejich úspěšnost při krmení (Randolph, 1994; Dizij & Kurtenbach et al., 1995).

Parazitické období, kdy jsou klíšťata přisátá k hostiteli, tvoří méně než 2 % životního cyklu. Délka sání se pohybuje v rozmezí 2–10 dní bez závislosti na abiotických podmínkách (vyjma sání na poikilotermních hostitelích). Naproti tomu téměř celý životní cyklus tráví klíšťata v půdních vrstvách či hrabance, kde dochází k ovlivnění abiotickými podmínkami (Gray, 1991).

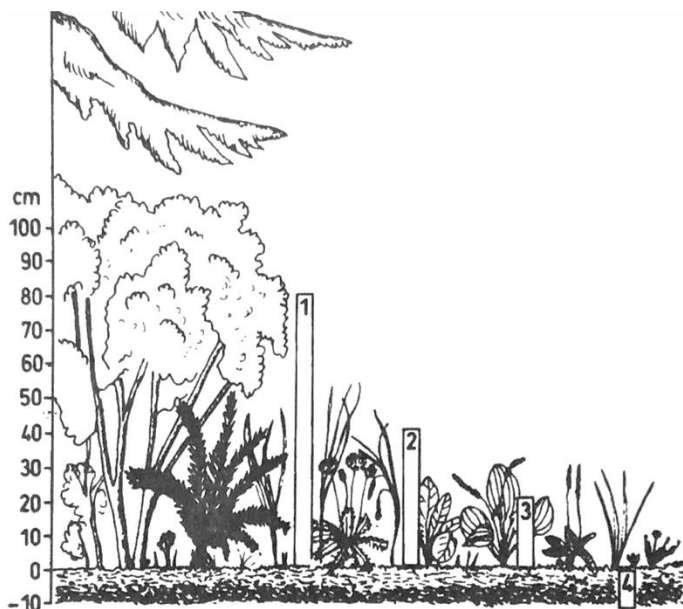
1.2 Výskyt klíšťat

Na území České republiky se s klíšťaty nejčastěji setkáme v listnatých a smíšených lesích (Volf & Horák, 2007). Rozhodující podmínkou je pro výskyt klíšťat, jako pro většinu roztočů, vysoká vlhkost. Prostředí s vhodnou vlhkostí se v lese nachází zpravidla v okolí potoků a řek, v nižším podrostu s travinami, v porostech kapradin, na okrajích lesů a v okolí lesních cest. Kromě lesa mohou klíšťata obývat také zemědělsky obdělávanou krajinu, městské parky a zahrady. Pro výskyt a vývoj klíšťat uvnitř urbanizovaných ploch je rozhodující především přítomnost savčích hostitelů (např. jezci, králíci, veverky či zajáci). Jistou roli mohou hrát i domácí mazlíčci. Neméně důležitý je také historický vývoj městské zeleně během postupné urbanizace. (Rosický & Daniel 1989). Jehličnaté lesy bez podrostu a mokřadní biotopy jsou naopak nevhodným prostředím (Kimmig et al., 2003; Daneš, 2003). Nejhojnější výskyt je vázán na přechodovou zónu mezi biotopy (ekotony). Na výskyt klíšťat má vliv nejen druhové složení vegetace, ale také vysoká diverzita rostlinného pokryvu (Daniel et al., 1998).

Samotná klíšťata jsou schopna pohybu v rámci několika metrů, nemohou proto aktivně vyhledávat nebo osidlovat nová stanoviště. Jejich pohyb je závislý na pohybu hostitele, a to mnohdy i do biotopů, kde nejsou schopna přežít či se dále vyvíjet. Vzhledem k citlivosti na klimatické podmínky se mohou reprodukovat a přežívat na stanovištích s relativně úzkým rozsahem podmínek (Estrada-Peña, 2005). Ve vysokých početnostech se s nimi můžeme setkat v okolí úkrytů divokých zvířat či na místech, kde odpočívají ve stínu hospodářská zvířata (Daneš, 2003). Ptáci mají, díky své vysoké mobilitě, zásadní vliv na rozptyl klíšťat (Olsén et al., 1995).

Poloha ve vegetaci se liší v závislosti na vývojovém stádiu a souvisí s výběrem hostitele (obr. 1). Larvy se zdržují do 10 cm od povrchu z důvodu vyšší vlhkosti. Nymfy

vyčkáávají na hostitele ve výšce do 50 cm a dospělci jsou schopni obývat vegetaci ve výšce okolo 1 m. Ve stromovém patře se klíšťata nevyskytují (Kimmig et al., 2003). Výška vegetace může ovlivnit účinnost odchyty klíšťat metodou tzv. vlajkování. Pokud je vegetace vysoká, plachta se nedostává do kontaktu s nižšími vrstvami vegetace, což může ovlivnit počty odchycených jedinců (Carey et al., 1980).



Obrázek 1: Rozmístění jednotlivých stádií ve vegetaci. Adultní stádia (1), nymfy (2), larvy (3) a svlékající či přezimující klíšťata (4) (Kimmig et al., 2003).

Sezónní aktivitu klíšťat na našem území ovlivňuje především počasí a délka dne (Daneš, 2003). Klíšťata mohou aktivovat od března do listopadu (Volf & Horák, 2007). Během období nízkých teplot a dlouhodobých srážek jsou klíšťata ukryta, naopak při oteplení rychle opouští své úkryty (Daneš, 2003). Různorodost v aktivitě je dána druhem. Klíšťe obecné (*Ixodes ricinus*) začíná aktivovat již při teplotě 2,5 °C a relativní vlhkosti 45 % (Hubálek et al., 2003). Ve střední Evropě vykazuje dvě maxima aktivity, hlavní na jaře a menší na podzim. Na jihu Evropy a v Irsku vykazuje pouze jedno maximum během jara do pozdního léta (Kurtenbach et al., 2006). Během letních měsíců bývají klíšťata aktivnější ráno a večer, neboť se chrání před horkem (Daneš, 2003). Pokles aktivních jedinců u klíšťete obecného byl zaznamenán okolo teploty 24 °C (Schwarz et al., 2009). V sušším a teplejším počasí sestupují klíšťata častěji k povrchu, aby došlo k rehydrataci (Perret et al., 2004).

Pokud teplota během zimního období vystoupá dočasně nad prahovou teplotu, může dojít k dočasné aktivaci kviescentních klíšťat (Randolph et al., 2002). Avšak plýtvání

neobnovitelné energie mimo sezónu může mít za důsledek následnou úmrtnost jedinců (Randolph & Storey, 1999). Obecně jsou však vyšší průměrné teploty v zimním období zodpovědné za nárůst abundance klíšťat, neboť způsobují vyšší míru přežívání, a také se prodlužuje jejich sezonní aktivita (Lindgren et al. 2000).

Vlhkost vzduchu a teplota klesají s rostoucí nadmořskou výškou, přesto mohou klíšťata nacházet vhodné prostředí do cca 2 000 m n. m. (Kimmig et al., 2003; Daneš, 2003). Někteří autoři to přisuzují globální změně klimatu (Daniel et al., 2004). Vertikální hranice výskytu se v evropských zemích liší v závislosti na zeměpisné poloze a stoupá s klesající zeměpisnou šířkou (Danielová et al., 2006). Výskyt v České republice je uváděn od nížin do nadmořských výšek do 700–800 m n. m. (Kimmig et al., 2003; Daneš, 2003). Přítomnost klíšťat byla však pozorována až 500 m nad touto hranicí např. na Šumavě (Danielová et al., 2006).

Lidská činnost působí na početnost klíšťat především skrze změny ve využití půdy či zemědělství (Jones et al., 2013). Vegetace, struktura krajiny a struktura land-use (využití krajiny) ovlivňují okolní mikroklima, a tudíž vhodnost stanovišť (Asghar et al., 2016). Tyto změny působí kromě klíšťat i na jejich hostitele (Lambin et al. 2010). Omezením obdělávání půdy dochází k postupnému zarůstání, čímž vznikají vhodná stanoviště (Medlock et al., 2013). Takto nově vzniklá stanoviště, na místech, kde nebyla klíšťata v minulosti zaznamenána, jsou doložena například na Slovensku (Hrkľová et al., 2008). Naopak z krajiny vlivem intenzifikace zemědělství mizí remízky a dochází k nárůstu velikosti obdělávané plochy. Následkem toho klesá diverzita hostitelů, především mizí druhy s úzkou ekologickou nikou (Michel et al., 2006). Spolu s remízkou mizí i vhodné prostředí pro vývoj klíšťat, neboť na obdělávaných plochách chybí listový opad (Perez et al., 2016).

Fragmentované ekosystémy vykazují vyšší hustotu klíšťat než souvislé plochy (Allan et al., 2003). Klíčovou podmínkou pro výskyt klíšťat na takovýchto stanovištích je vzájemná blízkost a také propojení vhodným typem koridoru, který je vhodný jak pro hostitele, tak pro klíšťata (Lambin et al., 2010). Na vhodných stanovištích, která však leží daleko od této propojené sítě, je abundance klíšťat nízká, nebo tato stanoviště zůstávají neosídlená (Estrada-Peña, 2003). Přestože při fragmentaci dojde ke snížení počtu větších savců, tak je podpořen výskyt savců drobných, konkrétně generalistů (druhy s širokým okruhem potravních zdrojů) (Millán de la Peña N et al., 2003; Logiudice et al.,

2003). V souvislosti s historickým úbytkem lesů v Evropě je v posledních letech usilováno o jejich obnovu a propojení na podporu biodiverzity a přirozených ekologických procesů (Quine et al., 2011). Vznik stanovišť s vhodnými podmínkami pro klíšťata a synantropní hostitele provází také proces suburbanizace, kdy jsou původní biotopy přeměněny na městskou zeleň a parky (Prusinski a kol. 2006). V urbánním prostředí bývají klíšťata nejpočetnější podél ekotonů dřevinatých stanovišť (Hansford et al., 2017).

Výskyt klíšťat na daném místě je tedy závislý na kombinaci místních podmínek prostředí, které napomáhají přežití a kontaktu s hostiteli, a procesů, které umožňují toto dané místo kolonizovat, jako například vhodnost prostředí pro přítomnost hostitelského druhu. Jednotlivé procesy se však projevují v rozdílných měřítcích, které je třeba rozpoznat (Ferrell & Brinkerhoff, 2018).

1.3 Patogeny přenášené klíšťaty

Při sání na hostiteli jsou klíšťata schopna přenášet na své hostitele širokou škálu patogenů (virové, bakteriální a protozoární), které jsou příčinou klíšťaty přenosných infekcí a chorob (Estrada-Peña et al., 2013). Samotná klíšťata nejsou při vývoji patogeny zpravidla poškozena, dochází k tomu vzácně, a zůstávají infikovaná po celý život. Patogen napadá pouze slinné žlázy a vaječníky (Kimming et al., 2003). K přenosu chorob mezi klíšťaty může docházet transovariálně (přes vajíčka na potomky), transstadiálně (přechodem do dalšího stádia) a pohlavně (při kopulaci) (Estrada-Peña et al., 2013). K transovariálnímu přenosu dochází obvykle v méně než 1 % případů (Hubálek & Rudolf, 2007). K infikování klíšťat dochází při sání larev na obratlovcích hostitelích (zpravidla hlodavcích) a přenosu na další hostitele nejčastěji nymfami (Daniel et al., 2015). Rovněž může docházet k horizontálnímu přenosu některých patogenů při společném sání nakažených a nenakažených klíšťat na jednom hostiteli (co-feeding) (Labuda et al. 1993).

Nejvíce případů parazitismu na člověku je spojeno s klíšťaty (napadení klíšťáky bývá méně časté) (Estrada-Peña & Jongejan, 1999). Člověk se nejčastěji dostává do kontaktu s nakaženými klíšťaty při práci, sběru lesních plodů, rekreaci a sportu v jejich přirozeném prostředí (Šumilo et al., 2008; Rosický & Daniel 1989). K nakažení dochází ve většině případů při sání, avšak například k nákaze klíšťovou encefalitidou může dojít (v méně než 1 % případů) při konzumování nezpracovaného (zpravidla kozího) mléka (Kříž et al., 2004).

Výskyt chorob je zpravidla závislý na geografické distribuci vektoru (Estrada-Peña et al., 2013). Pokud jsou klíšťata nejen vektory ale i rezervoáry patogenů, geografické rozšíření klíštěte se shoduje s rozšířením patogenu. V Evropě jsou to například rickettsiózy (Raoult & Roux, 1997). Celosvětově počty případů nakažených stoupají. Existuje rostoucí riziko nákazy více infekcemi během jednoho kousnutí, neboť klíšťata mohou přenášet více patogenů najednou (Nicholson, W.L. et al., 2010; Dantas-Torres, 2007).

Projevy mnoha chorob, které byly dlouhá léta známé u domácích zvířat, se častěji projevují u člověka (Colwell et al., 2011). Prakticky nejsou žádné údaje o distribuci, prevalenci, hojnosti a potenciálním riziku těchto chorob. Také dřívější studie o vlivu krajinných proměnných na distribuci klíšťat byly velmi obecné. Je proto potřeba zaměřit se na místní vliv krajinných charakteristik a uspořádání krajiny, které by mohly ovlivnit početnost klíšťat a v neposlední řadě, v jakém prostorovém měřítku by se tento vliv odehrával.

2. Cíle práce

Hlavním cílem diplomové práce bylo zhodnotit možný vliv vybraných krajinných parametrů na riziko výskytu klíšťat a vliv abundance na jimi přenášené choroby na území České republiky. Dílčími cíli pak bylo:

- 1) zpracovat data sběru klíšťat (za roky 2017–2018) a vytvořit mapy výskytu klíšťat a prevalence klíšťaty přenosných patogenů (rody *Anaplasma spp.*, *Rickettsia spp.*),
- 2) shromáždit data vybraných krajinných charakteristik a vypočítat indexy krajinné struktury v okolí vzorkovaných ploch ve čtyřech prostorových měřících,
- 3) stanovit vliv krajinných parametrů na abundanci klíšťat,
- 4) stanovit vliv abundance klíšťat na prevalenci patogenů pro anaplasmu a rickettsie.

3. Materiál a metody

3.1 Studované druhy klíšťat

Výzkum probíhal v rámci projektu „Skrytá hrozba přírodních ohnisek přehlížených, klíšťaty přenosných infekcí“ a zaměřoval se na tři druhy klíšťat. Nejhojněji zastoupené bylo klíště obecné. Jeho geografický výskyt v Evropě se rozprostírá od Skandinávie po Středozevní moře (Estrada-Peña et al., 2013). Klíště obecné je generalista (nemá specifického hostitele) a může parazitovat na přibližně 240 druzích (Anderson & Magnarelli, 1993). Tento druh často napadá člověka. Společně s klíštětem sibiřským (*Ixodes persulcatus*) jsou zodpovědné za 95 % všech chorob způsobených klíšťaty u člověka (Schwarz et al., 2009). V Evropě je například vektorem lymeské boreliózy, klíšťové encefalitidy, anaplasmózy a bakterie *Rickettsia helvetica* (Estrada-Peña et al., 2013).

Dalším druhem je klíšť lužní (*Haemaphysalis concinna*), který je vázán na listnaté a smíšené lesy s poměrně stálým prostředím. Nymfy tohoto druhu mohou napadat člověka. Nejvyšší stupeň aktivity nastává během května. Samci bývají zpravidla početnější než samice (Estrada-Peña et al., 2013).

Posledním zkoumaným druhem je piják lužní (*Dermacentor reticulatus*), který je charakteristický svým ornamentem. K napadení člověka dochází zřídka (Estrada-Peña et al., 2013). V ČR se tento druh stává se stále běžnějším. Objevuje se na travnatých plochách podél protipovodňových hrází s přítomností okolních křovin či lesů, zpravidla na zaplavovaných stanovištích v nižších partiích toku. Směrem ke středu areálu výskytu se hojně vyskytují také na stanovištích vzdálenějších od vodních toků, například ekotonech na rozhraní lesa a orné půdy (Široký et al., 2011).

3.2 Studované patogeny

První ze dvou studovaných patogenů jsou rickettsie (*Rickettsia spp.*), které byly mnoho let považovány za nepatogenní. Většina druhů rickettsií je závislá na klíšťatech, které jsou jak jejich vektory, tak rezervoáry. K nakažení dochází při sání na hostitelích, zejména malých savcích. K šíření mezi klíšťaty dochází transovariálním přenosem či při společném sání na týž hostiteli. Rickettsie jsou v populaci udržovány díky transstadiálnímu přenosu. V současnosti je v Evropě známo 8 druhů rickettsií, které

způsobují onemocnění i u člověka (Estrada-Peña et al., 2013). Mezi nejznámější onemocnění způsobené rickettsiemi patří klíšťová lymfadenopatie (TIBOLA) (Rozsypal et al., 2013). Prevalence rickettsií v Evropě se do značné míry liší v závislosti na studované lokalitě, roku a druhu klíšťe v rozmezí od 0,5 až téměř 66 % (Oteo & Portillo, 2012).

Druhým studovaným patogenem je anaplasma (*Anaplasma phagocytophilum*), která způsobuje HGE neboli lidskou granulocytární anaplazmózu, která má obdobné příznaky jako lymeská borelióza. Příznaky se ve většině případů rozvinou přibližně do jednoho týdne po zákusu klíšťe (Havlík et al., 2002). Hlavním přenašečem této bakterie je klíšťe obecné a prevalence se liší mezi regiony a také mezi vývojovými stádii. K přenosu mezi klíšťaty dochází pouze transstadiálně (Estrada-Peña et al., 2013).

3.3 Sběr materiálu a genetické analýzy

Sběr klíšťat probíhal v letech 2017–2018 metodou vlajkování, při níž dochází k přímému kontaktu vlajky připevněné na dřevěné tyči (vyrobené z bílé dřeviny o rozměrech 1 m × 1 m) s vegetací (Široký et al., 2011). Základní odběry probíhaly v blízkém okolí měst s více jak 30 000 obyvateli. Tyto lokality, významné z hlediska veřejného zdraví, tvořily základní síť, která byla doplněna odběry z míst s nízkou hustotou zalidnění mimo aglomerace. Odchyty probíhaly na různých typech stanovišť. U každého místa odchyty byly zaznamenány GPS souřadnice. Získaná klíšťata byla rozdělena podle druhu, pohlaví a vývojového stádia.

Následující genetickou analýzu na přítomnosti patogenů provedli kolegové z Veterinární a farmaceutické univerzity Brno metodou PCR. Metoda byla prováděná v tzv. poolech (směsných vzorcích), vždy po 5 jedincích. Přítomnost patogenu byla zjišťována pouze u klíšťe obecného.

3.4 Mapy abundance a prevalence

Ze získaných terénních dat byly pro přehlednost vytvořeny mapy abundance klíšťat na jednotlivých lokalitách. Ke zpracování byl použit počítačový program ArcMap 10.1 (ESRI, Redlands, CA, USA). U map abundance (a všech následujících) bylo použito Křovákovo zobrazení (S-JTSK 5514). GPS souřadnice byly převedeny manuálně pomocí převodové tabulky. Pro porovnatelnost dat byly vypočítán index abundance, který udává počet jedinců získaný za 1 h vlajkování porostu. Mapy abundance byly vytvořeny pro

jednotlivé roky a abundance klíšťat jsou vyjádřeny souhrnně (pro všechny druhy) a také pro každý druh zvlášť.

Mapy prevalence byly vytvořeny na základě PCR analýz pro všechny roky dohromady (několik dat pochází z roku 2016). V epidemiologii znamená prevalence podíl jedinců v určité populaci, u kterých bylo zjištěno onemocnění (Rothman, 2012). Odhad prevalence byl spočten z celkového počtu testovaných a pozitivních vzorků (Cowling et al., 1999) pomocí webové aplikace (Ausvet, 2019). U anaplasmy byla spočtena pro všechna stádia dohromady, a také zvlášť pro dospělé a zvlášť pro nymfy. Pro rickettsie byla prevalence spočítána pro všechna vývojová stádia dohromady, neboť prevalence u jednotlivých stádií je přibližně shodná (klíšťata jsou rezervoárem patogenu viz kap. 3.2). Prevalence byly spočítány pro jednotlivé vzorkované lokality a využity ve statistických analýzách. Pro přehlednost map byly testované vzorky z lokalit v rámci jednoho města sečteny a prevalence spočtena znova pro města. Výsledkem jsou mapy přítomnosti patogenu, prevalence v jednotlivých městech a také průměrné prevalence v rámci okresů.

3.5 Data krajinných parametrů

Krajinné parametry v této práci představují jak podmínky prostředí (např. nadmořská výška, bioklimatické charakteristiky), tak krajinné indexy popisující prostorovou strukturu krajiny. Data o krajinných parametrech byla převzata z volně stažitelných podkladových vrstev (tab. 1). Informace o reliéfu byly převzaty z EU-DEM. Klimatické proměnné byly převzaty z databáze WorldClim. Byly zvoleny pouze následující proměnné, které by podle ekologie klíšťat mohly mít vliv na jejich početnost: průměrná roční teplota, teplotní proměnlivost, průměrná teplota nejteplejšího čtvrtletí, průměrná teplota nejchladnějšího čtvrtletí, roční srážkový úhrn, srážkový úhrn nejvlhčího čtvrtletí a srážkový úhrn nejsuššího čtvrtletí. Informace o krajinném pokryvu poskytla databáze CORINE Land Cover 2018 (úroveň 2).

Doplňující informace o krajinném pokryvu byly získané ze serveru Copernicus, který poskytuje vrstvy ve vysokém rozlišení pro celou Evropu. Konkrétně informace o typu lesa (Forest Type), hustotě lesního pokryvu (Tree Cover Density), travnatých plochách (Grassland) a informace popisující vlhkostní parametry prostředí (Water & Wetness). Práce s vrstvami probíhala v programu ArcMap 10.1 (ESRI, Redlands, CA, USA).

Tabulka 1: Zdroje dat krajinných parametrů

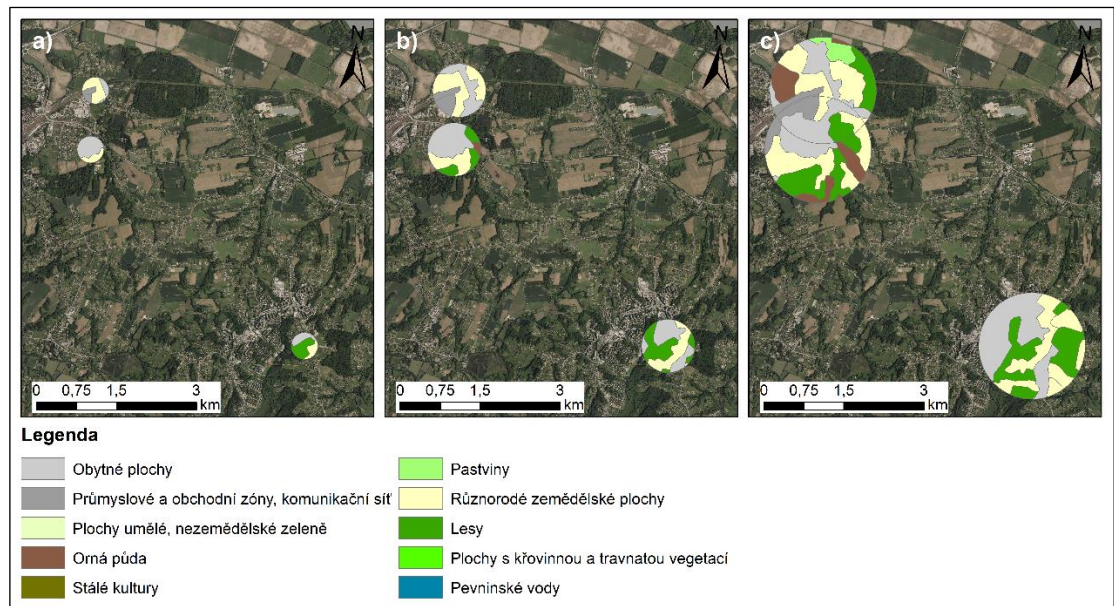
Název	Zdroj
EU-DEM	https://land.copernicus.eu/imagery-in-situ/eu-dem/eu-dem-v1.1
WorldClim	http://worldclim.org/version2
CORINE Land Cover 2018	https://geoportal.gov.cz/php/micka5/page/5b7a9ba5-1f34-4aca-a6ec-5c87c0a80138
Water & Wetness	https://land.copernicus.eu/pan-european/high-resolution-layers/water-wetness/status-maps/2015
Forest Type	https://land.copernicus.eu/pan-european/high-resolution-layers/forests/forest-type-1
Tree Cover Density	https://land.copernicus.eu/pan-european/high-resolution-layers/forests/tree-cover-density
Grassland	https://land.copernicus.eu/pan-european/high-resolution-layers/grassland/status-maps/2015

Pro testování závislosti abundance klíšťat na krajinných parametrech byla zvolena 4 měřítka. Kolem každé lokality byly vytvořeny pomocí nástroje „buffer“ kružnice o poloměru 250 m, 500 m a 1 km (obr. 2). Posledním zkoumaným měřítkem byl okres. Pro každý vytvořený buffer a okresy byly spočítány průměrné hodnoty krajinných parametrů či krajinné indexy (tab. 2).

Pro výpočet průměrných hodnot byl použit nástroj „zonal statistics as table“. Procentuální zastoupení (travnatých ploch a ploch listnatých lesů) bylo vypočítáno vydělením jejich plochy celkovou plochou bufferu či okresu.

Tabulka 2: Přehled vypočítaných krajinných parametrů a indexů ve všech měřících

Zkratka parametru či indexu	Zdroj dat	Popis
TDM	Tree Cover Density	Průměrná hustota stromového pokryvu
DEMM	EU-DEM	Průměrná nadmořská výška
DEMMX	EU-DEM	Maximální nadmořská výška
DEMMN	EU-DEM	Minimální nadmořská výška
DEMST	EU-DEM	Směrodatná odchylka nadmořské výšky
WWPI	Water & Wetness	Průměrná pravděpodobnost výskytu vody
BIO1	WorldClim	Průměrná roční teplota
BIO4	WorldClim	Průměrná teplotní proměnlivost
BIO10	WorldClim	Průměrná teplota nejteplejšího čtvrtletí
BIO11	WorldClim	Průměrná teplota nejhladnějšího čtvrtletí
BIO12	WorldClim	Průměrný roční srážkový úhrn
BIO16	WorldClim	Průměrný srážkový úhrn nejvlhčího čtvrtletí
BIO17	WorldClim	Průměrný srážkový úhrn nejsuššího čtvrtletí
GRASS	Grassland	Procentuální zastoupení travnatých ploch
FOREST_AR	Forest Type	Procentuální zastoupení listnatých lesů
FO_PD	Forest Type	Hustota plošek listnatých lesů/ostatních ploch
FO_TE	Forest Type	Délka okrajů plošek listnatých lesů/ostatních ploch
FO_ED	Forest Type	Hustota okrajů plošek listnatých lesů/ostatních ploch
FO_CO	Forest Type	Index rozprostření plošek listnatých lesů/ostatních ploch
CO_PD	CORINE 2018	Hustota plošek krajinného pokryvu
CO_ED	CORINE 2018	Hustota okrajů plošek krajinného pokryvu
CO_AMN	CORINE 2018	Průměrná velikost plošky krajinného pokryvu
CO_PARMN	CORINE 2018	Poměr plocha-obvod plošky krajinného pokryvu
CO_CONT	CORINE 2018	Index rozprostření plošky krajinného pokryvu
CO_SHDI	CORINE 2018	Shannonův index diverzity pro krajinný pokryv



Obrázek 2: Porovnání krajinného pokryvu pro vybrané lokality na Karvinsku v různých prostorových škálách: buffer o poloměru 250 m (a), 500 m (b) a 1 km (c). Zdroj dat: CORINE.

Pro výpočet krajinných indexů byly vektorové plochy převedeny do rasteru nástrojem „polygon to raster“. Samotný výpočet probíhal v prostředí programu FRAGSTATS (McGarigal et al., 2012). Indexy byly počítány na úrovni krajiny (Landscape metrics), konkrétně pro rozhraní ploch listnatého lesa (s ostatními plochami) a pro krajinný pokryv. Byly použity indexy kvantifikující krajinnou strukturu jak z pohledu složení (kompozice), tak z pohledu prostorového uspořádání (konfigurace) (tab. 3).

Tabulka 3: Přehled počítaných indexů (McGarigal et al., 2012)

Název indexu	Popis indexu	Vzorec
Mean patch area	Průměrná velikost plošky. Proměnlivost plošek je klíčovým aspektem k měření heterogenity krajiny.	$AREA_MN = \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n a_{ij}}{N}$
Total edge	Délka okrajů. Součet délek všech okrajů. Počítá pouze s hranicemi mezi sousedními třídami.	$TE = \sum_k^m e_{ik}$
Edge density	Hustota okrajů. Součet délek všech okrajů na jednotku plochy. Počítá pouze s hranicemi mezi sousedními třídami. Lze porovnávat v rámci různých měřítek.	$ED = \frac{\sum_{k=1}^m e_{ik}}{A} (10\ 000)$
Contagion index	Index rozprostření. Nepřímo úměrný hustotě okrajů. Zahrnuje jak disperzi, tak roztroušenost plošek.	$CONTAG = \left[1 + \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n \left[P_i \frac{g_{ik}}{\sum_{k=1}^m g_{ik}} \right] \left[\ln \left(P_i \frac{\sum_{k=1}^m g_{ik}}{g_{ik}} \right) \right] \right]}{2 \ln(m)} \right] 100$
Patch density	Hustota plošek. Součet plošek na jednotku plochy. Nepočítá s ploškami, které jsou na hranici studované plochy.	$PD = \frac{n_i}{A} (10\ 000)(100)$
Mean perimeter-area ratio	Poměr plocha-obvod. Měřítkem pro složitost tvarů, bez standardizace na euklidovský obrazec. Mění se s velikostí plošky (např. u stejných tvarů).	$PARA_MN = \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n \frac{p_{ij}}{a_{ij}}}{N}$
Shannon's diversity index	Shannonův index diverzity. Měření rozmanitosti krajiny. Citlivý na vzácné typy plošek.	$SHDI = \sum_{i=1}^m P_i \ln(P_i)$

vysvětlivky: a_{ij} – velikost plošky; N – celkový počet plošek; e_{ik} – délka okraje; A – celková plocha; P_i – poměrné zastoupení celkové plochy typem plošky; m – počet typů plošek; g_{ik} – počet sousedních pixelů rozdílných plošek; n_i – počet typů plošek; p_{ij} – obvod plošky

3.6 Použité statistické metody

Statistické analýzy byly počítány pomocí programu R verze 3.5.3 (R Core Team, 2014). Před zahájením statistické analýzy bylo potřeba pro každé měřítko nejprve zjistit, zda jednotlivé parametry odpovídají předpokladům pro lineární regresi a zda mezi sebou nekorelují. K tomu posloužil výpočet Pearsonova korelačního koeficientu (pomocí funkce „cor“). Pokud dosahoval koeficient mezi proměnnými hodnot $p > 0,8$ nebo $p < -0,8$, tak byla jedna z proměnných vyřazena v následujících analýzách. Graficky byly vztahy vyjádřeny korelační maticí pomocí balíčku „corrplot“ (a stejnojmenné funkce) (Wei & Simko, 2017).

Pro statistický test závislosti abundance klíšťat na krajinných parametrech byl zvolen model mnohonásobné lineární regrese (pomocí funkce „lm“). Jako závislá proměnná (y) byla použita abundance klíšťat a jako nezávislá (x) všechny vypočítané

parametry a indexy. Pro ověření statistické signifikance vztahu byla zvolena hladina $P < 0,05$.

Mnohonásobná lineární regrese byla vypočtena následovně:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_n x_n,$$

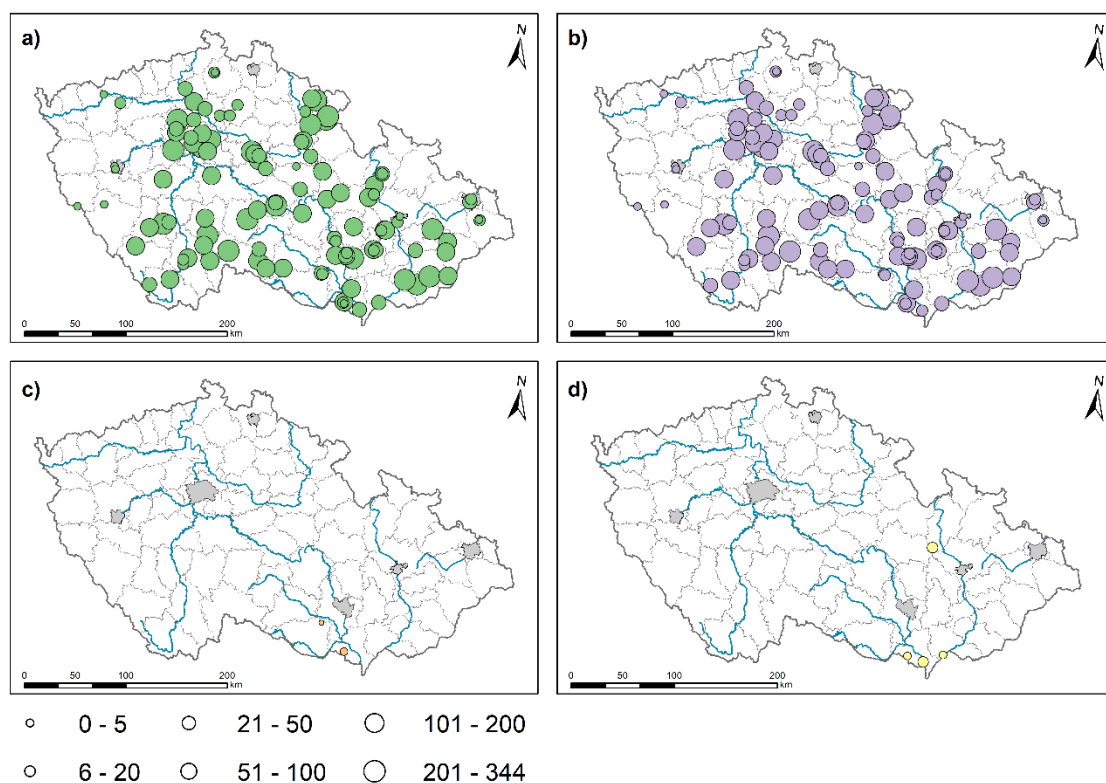
y – závisle proměnná, x_n – nezávisle proměnná, β_0 – průsečík s osou y (intercept), β_n – parciální regresní koeficienty.

Závislost prevalence na abundanci klíšťat byla testována modelem jednoduché lineární regrese (pomocí funkce „lm“), neboť je z epidemiologie známo, že promořenost může stoupat s vyšší abundancí vektoru (Stafford et al., 1998). Čím více vektoru, tím snadněji se mohou nakazit od hostitelů, např. při tzv. společném sání (co-feeding) (Labuda et al. 1993). Před analýzou byly odstraněny díky nepřesnosti hodnoty, kdy prevalence dosahuje 100 %. Neboť metodika (Cowling et al., 1999) nedokáže odhadnout prevalenci, pokud jsou všechny testované pooly pozitivní a automaticky udává hodnotu 100 %, ale ta může být mnohem nižší. Jako závislá proměnná (y) byla použita prevalence klíšťat patogeny a jako nezávislá proměnná (x) abundance klíšťat (u jednotlivých stádií jejich abundance). Pro ověření statistické signifikance vztahu byla zvolena hladina $P < 0,05$. Pro grafické znázornění regresní křivky byl použit balíček „ggplot2“ (pomocí funkce „ggplot“) (Wickham, 2016).

4. Výsledky

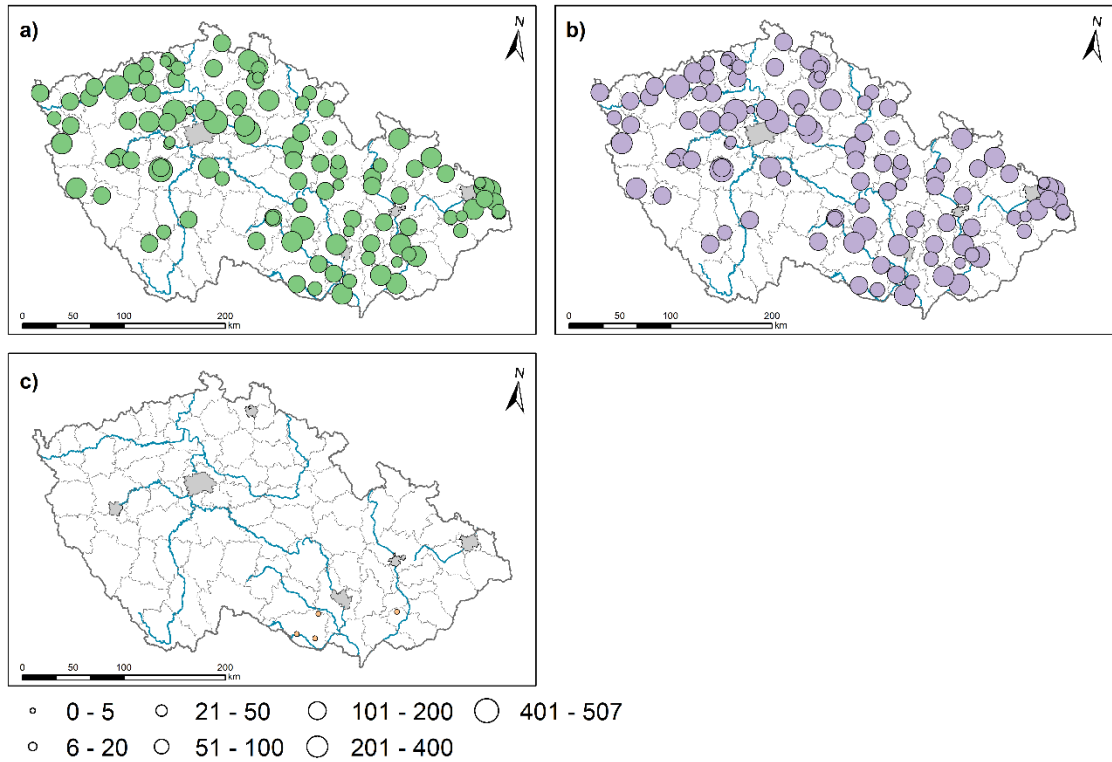
4.1 Abundance klíšťat

V rozmezí od dubna do května 2017 bylo nasbíráno celkem 8336 klíšťat na 110 lokalitách. Během odchyty se podařilo získat jedince klíštěte obecného, klíště lužního a pijáka lužního. Nejčastěji zastoupeným druhem bylo klíště obecné. Nejvyšší hodnota abundance za hodinu vylajkování je 344 klíšťat (obr. 3).



Obrázek 3: Celková abundance klíšťat (a), abundance klíštěte obecného (b), abundance klíště lužního (c) a abundance pijáka lužního (d) pro rok 2017.

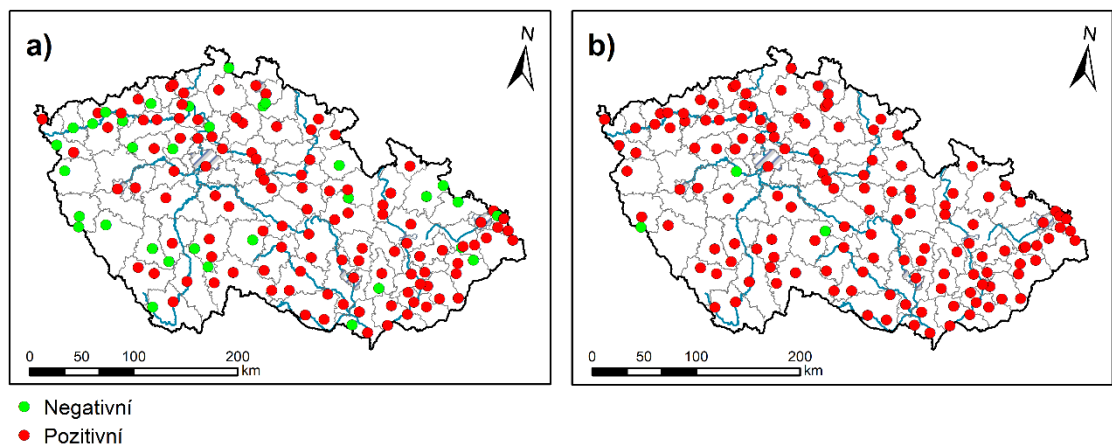
V roce 2018 probíhal sběr od dubna do května a potom krátce během září a října. Celkem bylo nasbíráno celkem 8967 klíšťat na 109 lokalitách. Tentokrát mezi druhy chybí piják lužní. Rovněž je nejpočetněji zastoupené klíště obecné. Nejvyšší hodnota indexu abundance činí 507 klíšťat (obr. 4).



Obrázek 4: Celková abundance klíšťat (a), abundance klíštěte obecného (b) a abundance klíště lužního (c) pro rok 2018.

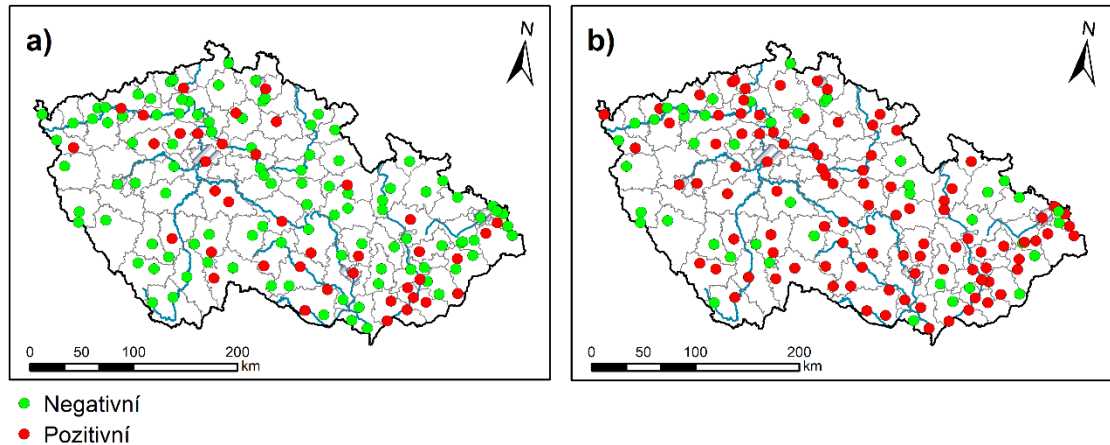
4.2 Přítomnost patogenů a jejich prevalence v odchycených klíšťatech

Celkem bylo na přítomnost anaplasmy a rickettsií testováno 13 360 jedinců klíštěte obecného v rámci 142 obcí (196 lokalit). Rickettsie byly, až na pár výjimek (3 obce), přítomny ve všech zkoumaných obcích napříč územím ČR. Anaplasma je přítomna méně často a nevyskytuje se zpravidla u pohraničí (nezaznamenána ve 33 obcích) (obr. 5).



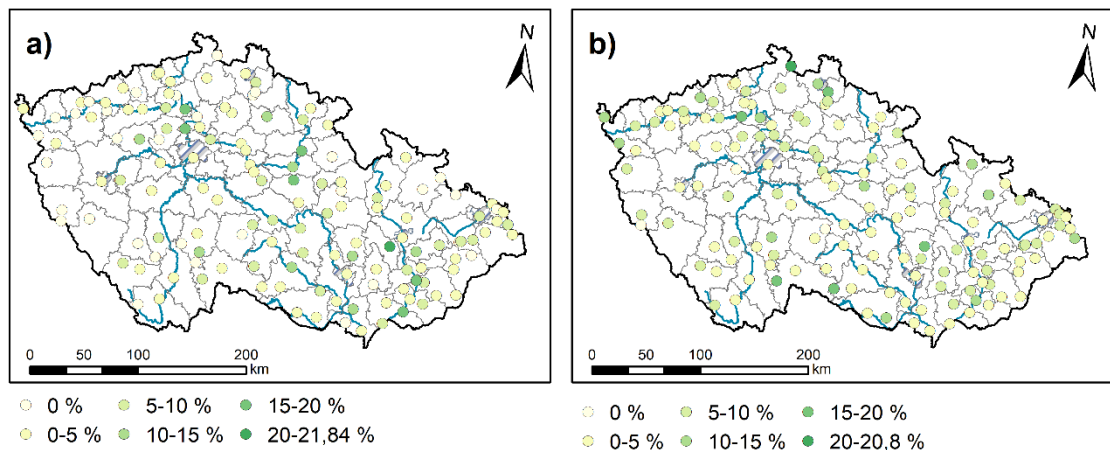
Obrázek 5: Přítomnost patogenu anaplasma (a) a rickettsie (b) na vzorkovaných lokalitách

Přítomnost anaplasmy se viditelně liší u vývojových stádií. U larev nebyla prokázána přítomnost ani na jedné lokalitě. U dospělců je přítomnost častější než u stádia nymfy (obr. 6).



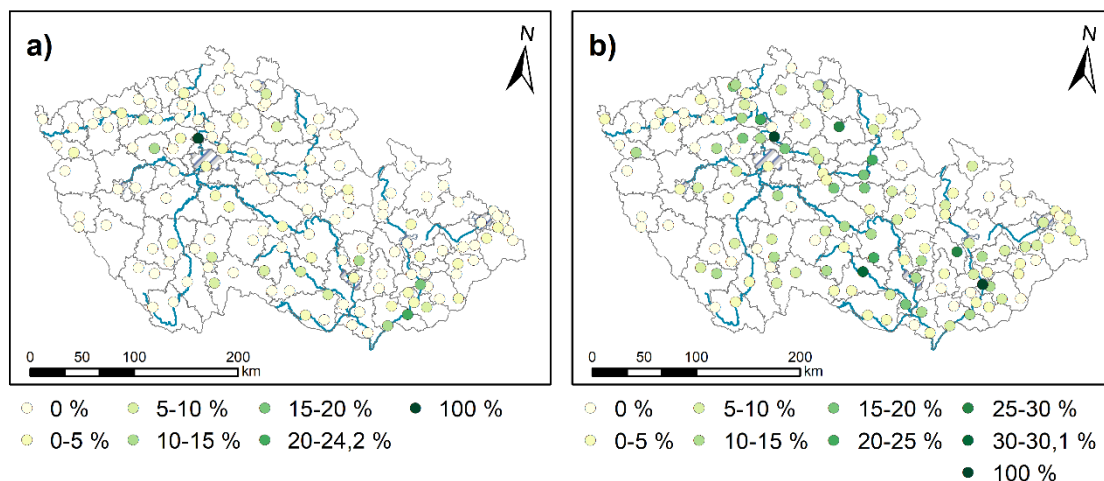
Obrázek 6: Přítomnost patogenu anaplasma u nymf (a) a u dospělců (b) na vzorkovaných lokalitách

Odhadovaná hodnota prevalence na území České republiky činí pro anaplasmu 3,71 %. U rickettsie je o něco vyšší, prevalence činí 5,32 %. Prevalence se liší v rámci jednotlivých měst a maximum se pohybuje okolo 20 % (obr. 7).



Obrázek 7: Prevalence patogenu anaplasma (a) a rickettsia (b) na vzorkovaných lokalitách

Zatímco u rickettsií se liší hodnoty u jednotlivých stádií v rozmezí 1 %, u anaplasmy prevalence s vyšším vývojovým stádiem roste (tab. 4). Maximální prevalence dosahuje hodnoty 100 % u obou patogenů (obr. 8). Tato hodnota může být zavádějící díky metodice výpočtu z poolovaných vzorků (kap. 4.6)

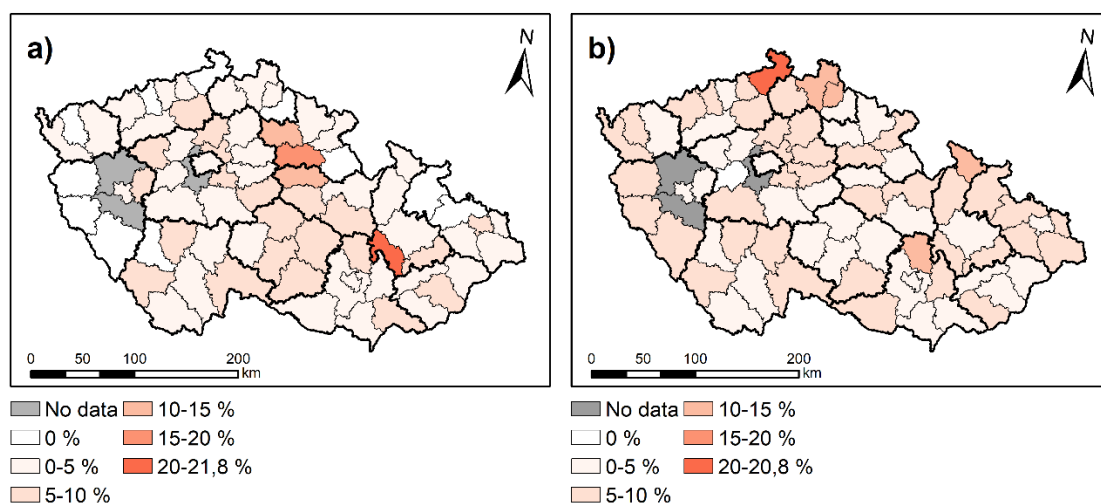


Obrázek 8: Prevalence patogenu anaplasma u stádia nymfy (a) a dospělé (b) na vzorkovaných lokalitách

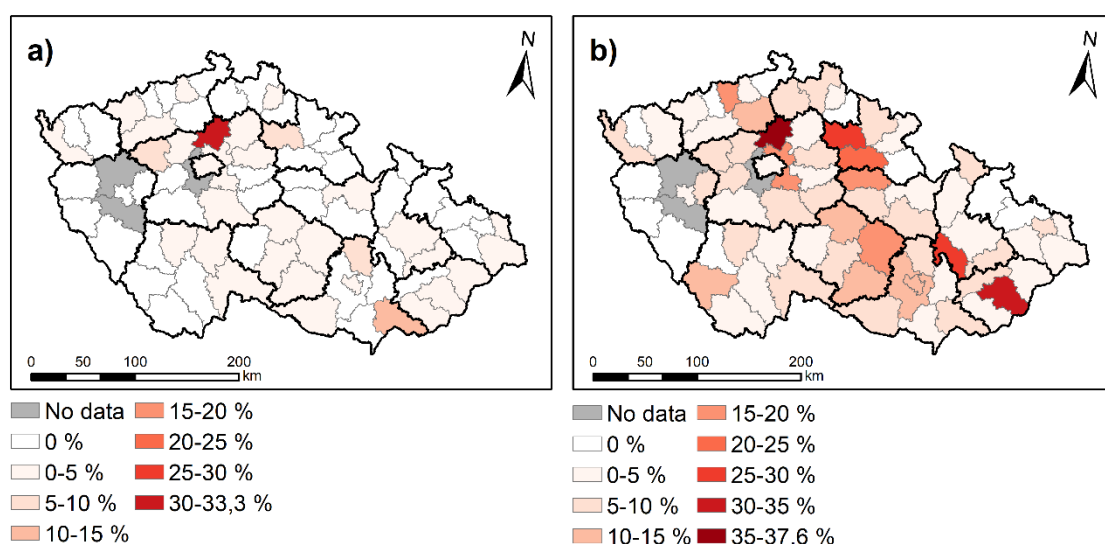
Tabulka 4: Prevalence patogenů u jednotlivých stádií

Vývojové stádium	Prevalence anaplasma [%]	Prevalence rickettsia [%]
Dospělci	5,54	5,72
Nymfy	1,59	4,73
Larvy	0,0	5,7

Průměrná hodnota prevalence spočtena pro jednotlivé okresy u obou patogenů (obr. 9). Nejvyšší hodnoty prevalence dosahuje anaplasma v okresech Prostějov a Hradec Králové. Rickettsia má nejvyšší hodnotu prevalence v okrese Děčín. Maximální hodnota prevalence anaplasmy činí pro stádium nymfy 33,3 % a pro dospělé 37,6 % v okrese Mělník (obr. 10). Hodnoty prevalence pro jednotlivé okresy viz v příloze A.



Obrázek 9: Prevalence patogenu anaplasma (a) a rickettsie (b) pro jednotlivé okresy



Obrázek 10: Prevalence patogenu anaplasma u nymf (a) a u dospělců (b) pro jednotlivé okresy

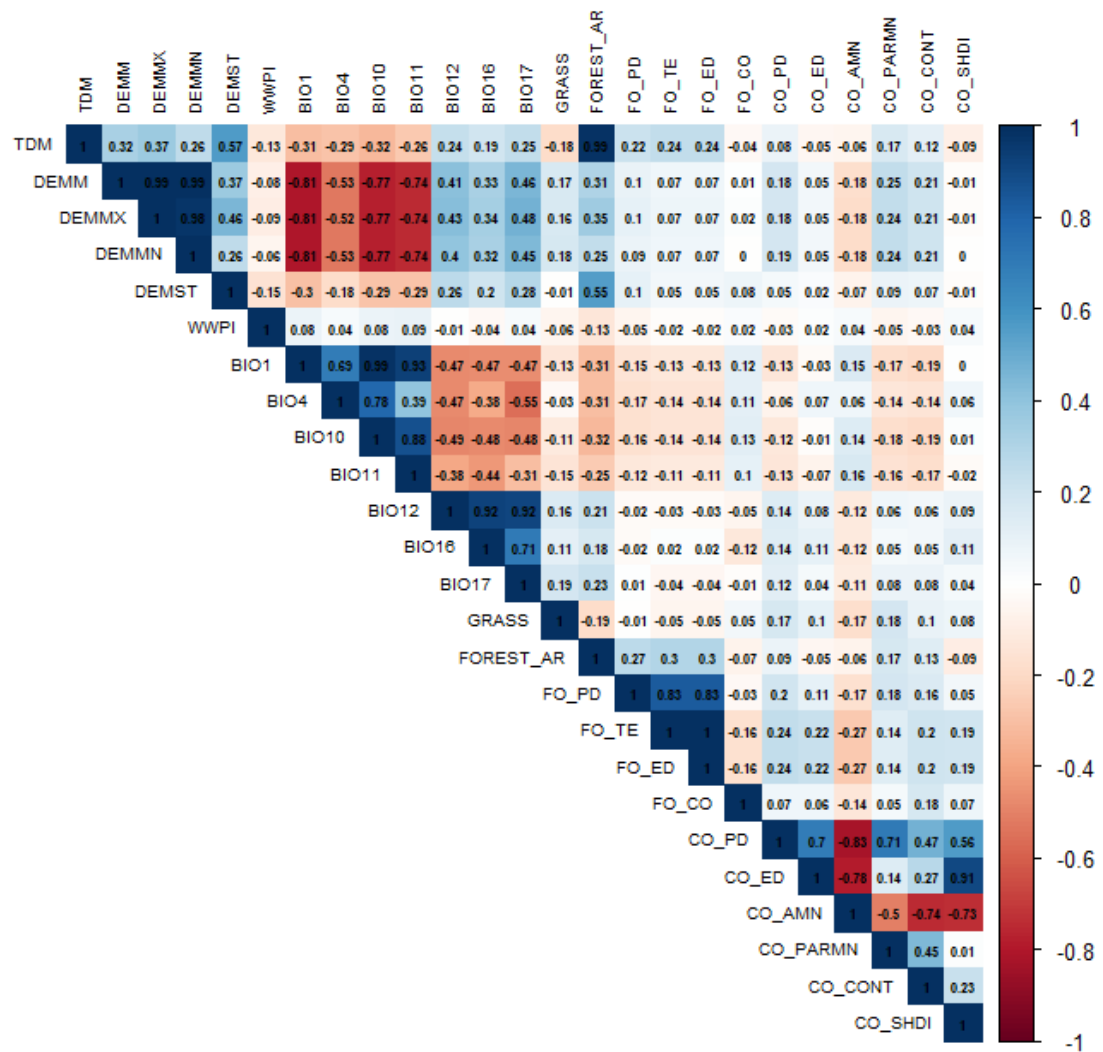
4.3 Vliv krajinných parametrů na abundanci klíšťat

V okolí každé lokality (celkem 219) byly spočítány průměrné hodnoty krajinných parametrů a krajinné indexy ve 3 měřících (v součtu pro 657 bufferů). Stejně parametry a indexy byly spočteny navíc pro 76 okresů a hlavní město Praha. Před statistickou analýzou bylo zjišťováno, zda neexistuje korelační vztah mezi proměnnými. V pozitivním případě byla jedna ze vzájemně korelujících proměnných pro následující analýzy vyloučena. Následně proběhla analýza mnohonásobnou lineární regresi. Výsledek je prezentován pouze pro signifikantní proměnné.

4.3.1 Buffer 250 m

Pro vzájemnou korelaci byly vyřazeno 11 proměnných (obr. 11): maximální nadmořská výška, minimální nadmořská výška, průměrná roční teplota, průměrná teplota nejchladnějšího čtvrtletí, průměrný srážkový úhrn nejvlhčího čtvrtletí, průměrný srážkový úhrn nejsuššího čtvrtletí, procentuální zastoupení listnatých lesů, hustota plošek listnatých lesů/ostatních ploch, délka okrajů listnatých lesů/ostatních ploch, průměrná velikost plošky krajinného pokryvu a Shanonnův index diverzity pro krajinný pokryv.

Výsledky regresní analýzy (tab. 5) ukazují, že velmi slabý pozitivní ale nesignifikantní vliv na abundanci klíšřat má index rozptřeni plošek listnatých lesů/ostatních ($P < 0,1$). Model vysvětluje navíc malou část celkové variability. Dokazuje to nízká hodnota koeficientu determinace R^2 , která je necelé 2 %.



Obrázek 11: Korelační matice pro buffer 250 m

Tabulka 5: Výsledky modelu mnohonásobné regrese pro buffer 250 m

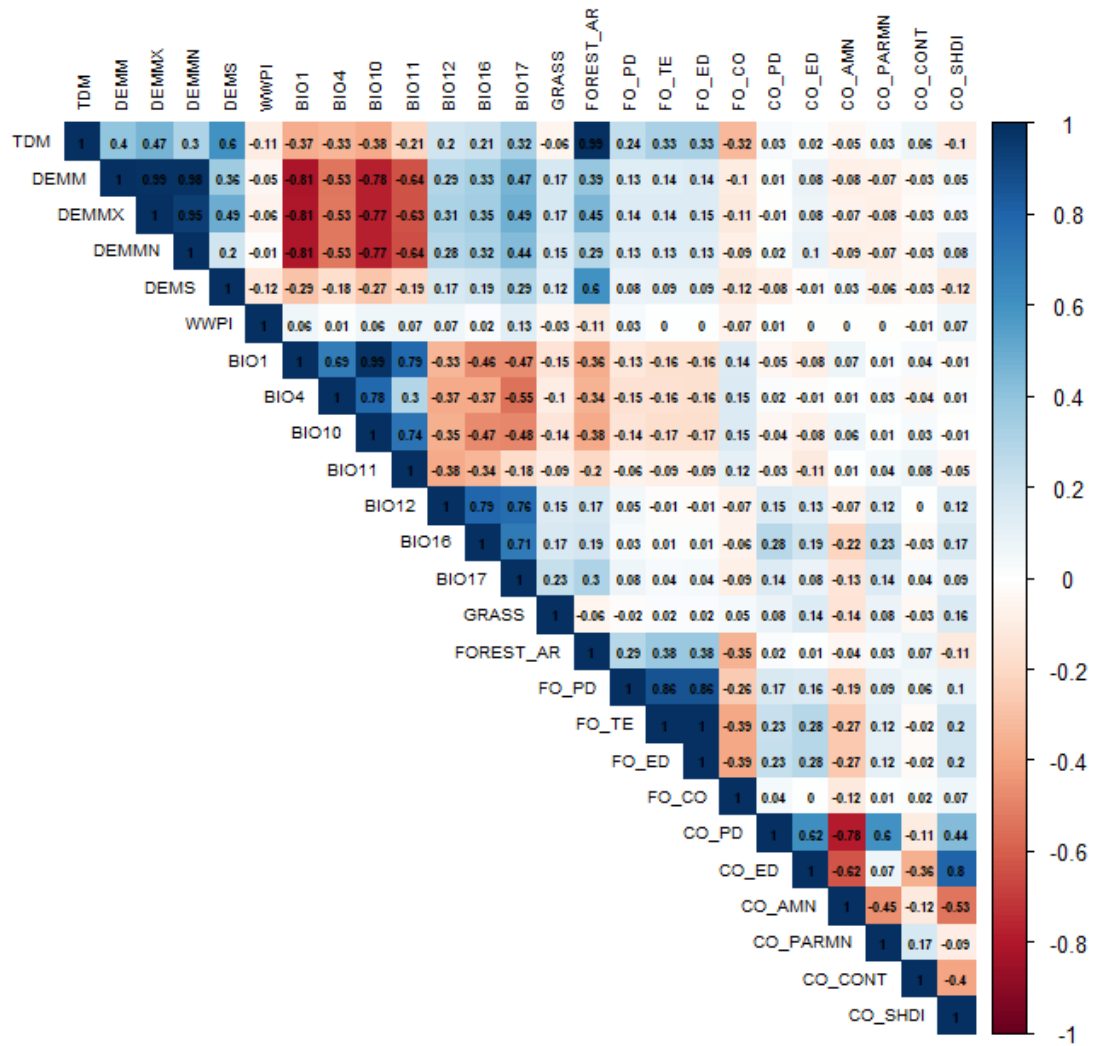
	Estimate	Pr(> t)
(Intercept)	119,3823	<,0001
FO_CO	0,5194	0,0587

Koeficient determinace $R^2 = 0,01757$ (1,76 %)

4.3.2 Buffer 500 m

V tomto měřítku existuje vzájemná korelace mezi 7 proměnnými (obr. 12): maximální nadmořská výška, minimální nadmořská výška, průměrná roční teplota, procentuální zastoupení listnatých lesů, hustota plošek listnatých lesů/ostatních ploch, délka okrajů listnatých lesů/ostatních ploch a Shanonnův index diverzity pro krajinný pokryv.

Regresní analýzou (tab. 6) byl tentokrát dokázán velmi silný signifikantní vliv ($P < 0,05$), a to pro 4 proměnné. Pozitivně ovlivňuje abundanci rostoucí hustota okrajů plošek listnatých lesů/ostatních ploch a hustota plošek krajinného pokryvu. Negativně působí hustota okrajů plošek krajinného pokryvu a poměr plocha-obvod plošky krajinného pokryvu. Model v tomto měřítku vysvětluje 11 % variability.



Obrázek 12: Korelační matice pro buffer 500 m

Tabulka 6: Výsledky modelu mnohonásobné regrese pro buffer 500 m

	Estimate	Pr(> t)
(Intercept)	95,39442	<,0001
FO_ED	0,85418	0,0003
CO_PD	17,51268	0,0002
CO_ED	-0,05578	0,0016
CO_PARMN	-0,04810	0,0007

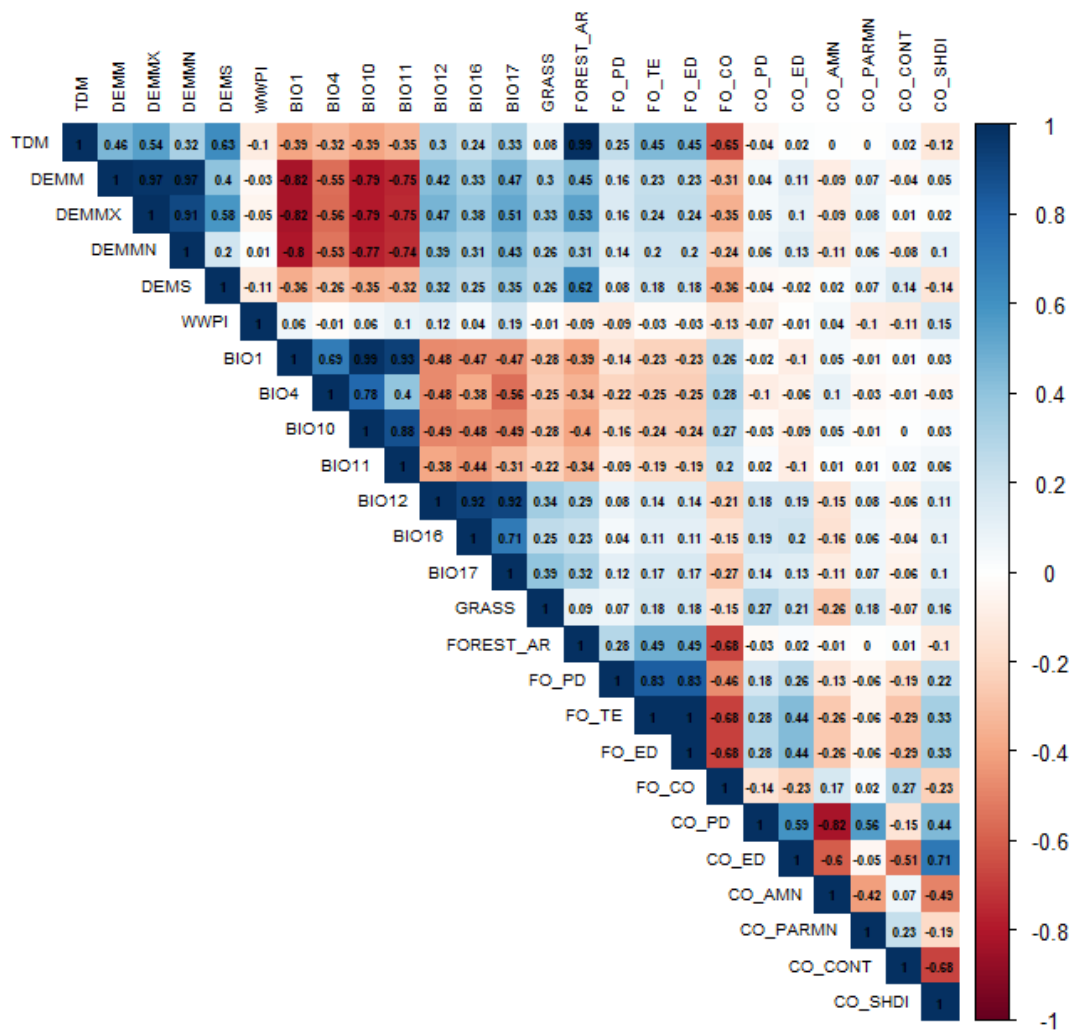
Koeficient determinace $R^2 = 0,1107$ (11,07 %)

4.3.3 Buffer 1 km

Ve vzájemné korelaci v tomto měřítku je 10 proměnných (obr. 13): maximální nadmořská výška, minimální nadmořská výška, průměrná roční teplota, průměrná teplota nejméně chladnějšího čtvrtletí, průměrný srážkový úhrn nejméně chladnějšího čtvrtletí, průměrný

srážkový úhrn nejsuššího čtvrtletí, procentuální zastoupení listnatých lesů, hustota plošek listnatých lesů/ostatních ploch, délka okrajů listnatých lesů/ostatních ploch a průměrná velikost plošky krajinného pokryvu.

Výsledky regresní analýzy (tab. 7) ukazují silný signifikantní vliv 3 proměnných ($P < 0,05$). Pozitivní vliv má průměrná hustota lesního pokryvu a Shannonův index diverzity pro krajinný pokryv. Negativně na abundanci působí průměrný roční srážkový úhrn. Tento model vysvětluje necelých 10 % variability.



Obrázek 13: Korelační matice pro buffer 1 km

Tabulka 7: Výsledky modelu mnohonásobné regrese pro buffer 1 km

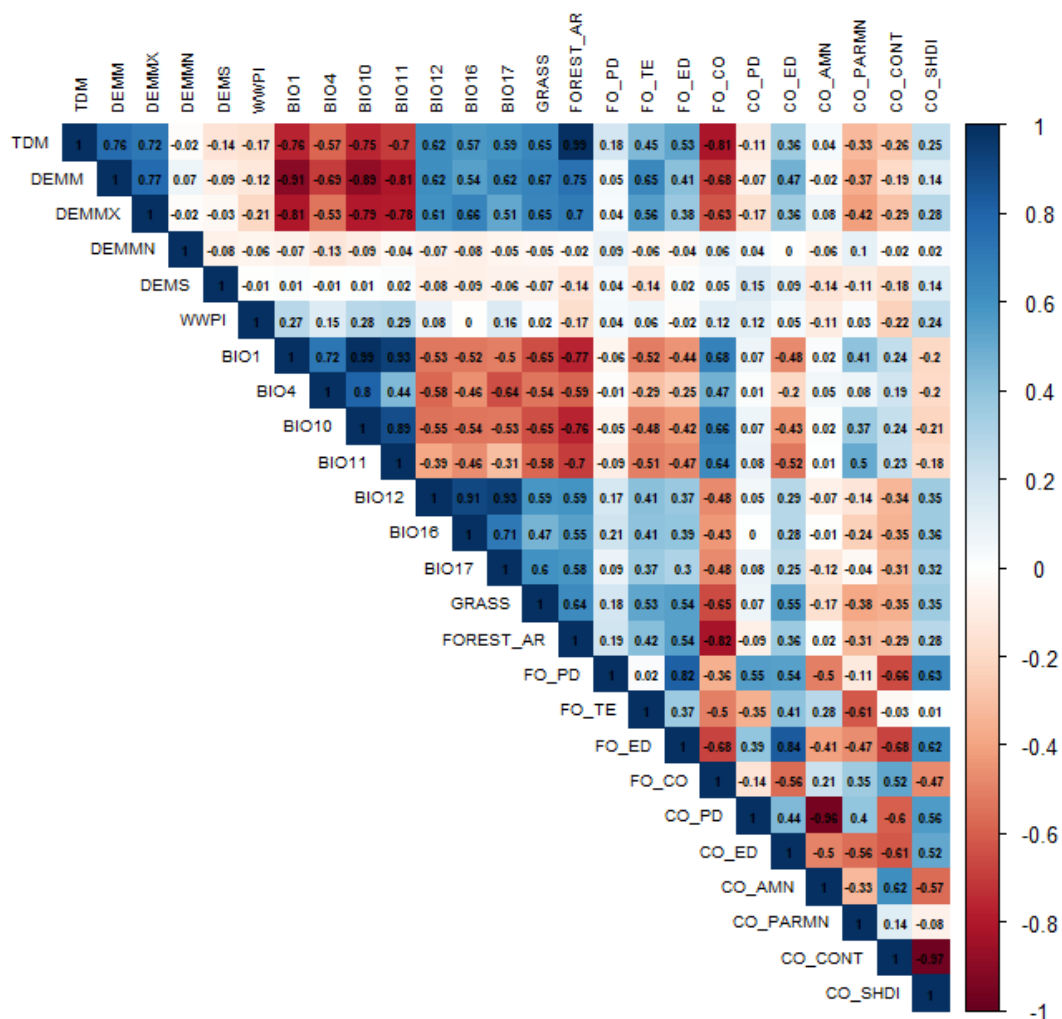
	Estimate	Pr(> t)
(Intercept)	110,986	0,0201
TDM	1,812	0,0001
BIO12	-0,167	0,0196
CO_SHDI	79,408	0,0007

Koeficient determinace $R^2 = 0,09602$ (9,60 %)

4.3.4 Měřítko okresů

Na úrovni okresů je ve vzájemné korelaci 11 proměnných: průměrná roční teplota, průměrná teplota nejteplejšího čtvrtletí, průměrná teplota nejchladnějšího čtvrtletí, průměrný srážkový úhrn nejvlhčího čtvrtletí, průměrný srážkový úhrn nejsuššího čtvrtletí, procentuální zastoupení listnatých lesů, hustota plošek listnatých lesů/ostatních ploch, index rozprostření plošek listnatých lesů/ostatních ploch, hustota okrajů plošek krajinného pokryvu, průměrná velikost plošky krajinného pokryvu a index rozprostření plošek krajinného pokryvu (obr. 14).

Regresní analýza na úrovni okresů (tab. 6) zjistila slabý nesignifikantní vliv proměnných ($P < 0,1$). Negativní vliv na abundanci klíšťat má rostoucí hustota plošek krajinného pokryvu a průměrný srážkový úhrn. Model vysvětluje 7 % variability.



Obrázek 14: Korelační matice pro okresy

Tabulka 8: Výsledky modelu mnohonásobné regrese pro okresy

	Estimate	Pr(> t)
(Intercept)	229,73813	<,0001
CO_PD	-54,95118	0,0538
BIO12	-0,10654	0,0627

Koeficient determinace $R^2 = 0,07136$ (7,14 %)

4.4 Vliv abundance klíšťat na prevalenci patogenů

Prevalence patogenů byly spočítány pro jednotlivé lokality a byly porovnány s počty klíšťat na těchto lokalitách. U anaplasmy byla prevalence spočítána navíc zvlášť pro stádium nymfy a dospělé a porovnána s abundancí jednotlivých stádií.

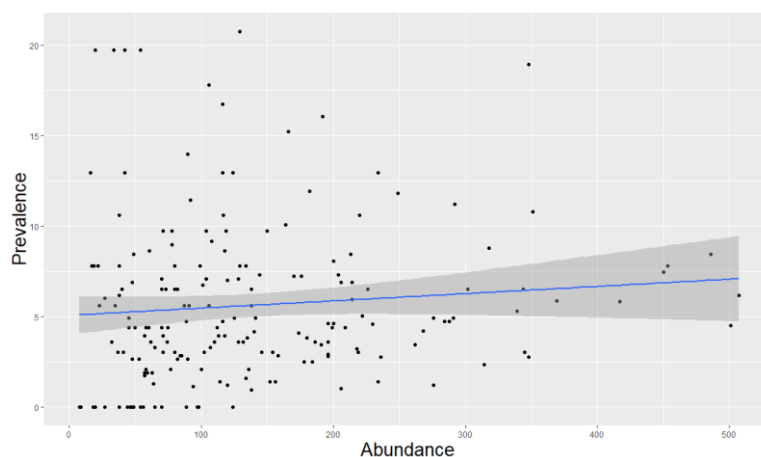
4.4.1 Rickettsia

Model lineární regrese pro rickettsie (tab. 9) neprokázal statistickou závislost prevalence u klíšťat na jejich abundanci. Pokud zobrazíme závislost graficky, lze pozorovat mírně rostoucí tendenci (obr. 14).

Tabulka 9: Výsledky modelu lineární regrese pro rickettsie

	Estimate	<i>Pr(> t)</i>
(Intercept)	5,0521	<,0001
AB_H	0,0040	0,201

Koeficient determinace $R^2 = 0,008652$ (0,87 %)



Obrázek 15: Grafické vyjádření lineární závislosti prevalence rickettsií na abundanci klíšťat

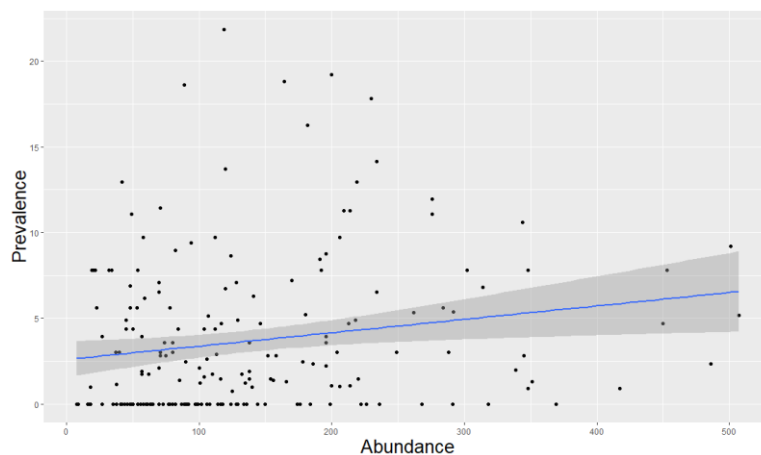
4.4.2 Anaplasma

Model lineární regrese pro anaplasmu (tab. 10) prokázal signifikantní závislost prevalence u klíšťat na jejich abundanci ($P < 0,05$; $R^2 = 0,03$). Rostoucí tendenci lze opět pozorovat v grafickém vyjádření (obr. 15).

Tabulka 10: Výsledky modelu lineární regrese pro anaplasmu

	Estimate	<i>Pr(> t)</i>
(Intercept)	2,5899	<,0001
AB_H	0,0078	0,0121

Koeficient determinace $R^2 = 0,03231$ (3,23 %)



Obrázek 16: Grafické vyjádření lineární závislosti prevalence anaplasmy na abundanci klíšťat

U dospělců (tab. 11) a stádia nymf (tab. 12) vychází signifikantní závislost prevalence na abundanci ($P < 0,05$). Grafy opět znázorňují rostoucí tendence (obr. 16 a 17)

Tabulka 11: Výsledky modelu lineární regrese pro anaplasmu u dospělců

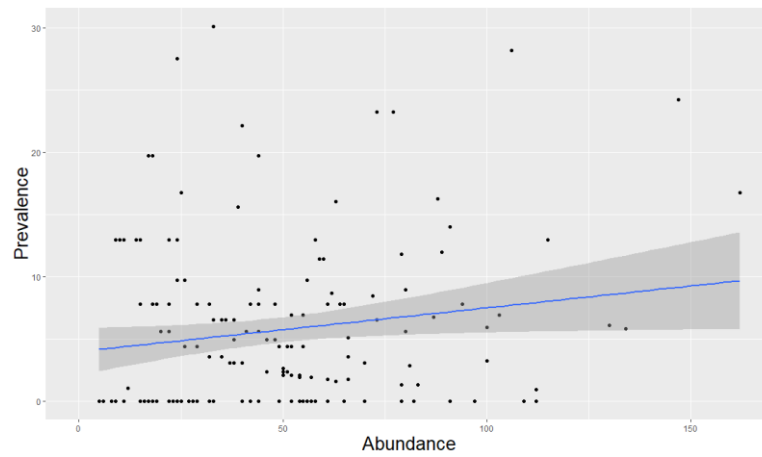
	Estimate	<i>Pr(> t)</i>
(Intercept)	3,9676	<,0001
AB_H	0,0352	0,0364

Koeficient determinace $R^2 = 0,02658$ (2,66 %)

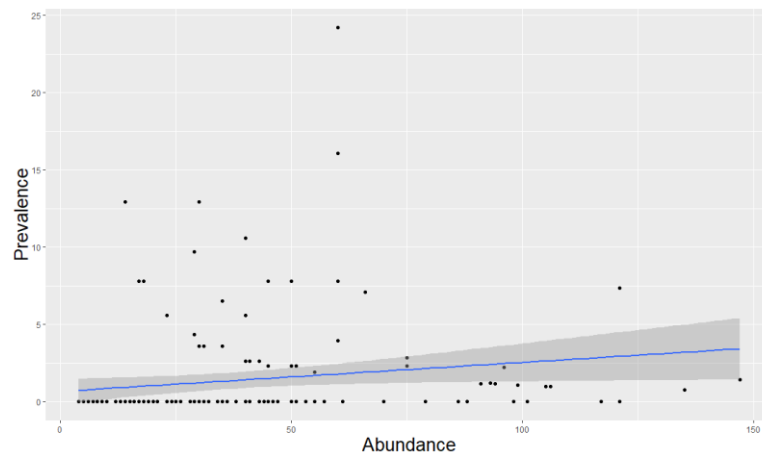
Tabulka 12: Výsledky modelu lineární regrese pro anaplasmu u nymf

	Estimate	<i>Pr(> t)</i>
(Intercept)	0,6582	0,1085
AB_H	0,0188	0,0336

Koeficient determinace $R^2 = 0,02862$ (2,86 %)



Obrázek 17: Grafické vyjádření lineární závislosti prevalence anaplasmy na abundanci dospělců



Obrázek 18: Grafické vyjádření lineární závislosti prevalence anaplasmy na abundanci nymf

5. Diskuze

5.1 Vliv krajinné struktury na abundanci klíšťat

Během let 2017–2018 se podařilo na 219 lokalitách posbírat v součtu 17 303 klíšťat. Nejhojněji zastoupeným druhem bylo klíště obecné, které je nejběžnějším druhem v celé Evropě (Parola & Raoult, 2001). Kromě něj se podařilo získat několik jedinců pijáka lužního a klíště lužního. Kolem každé lokality byly vytvořeny buffery o různých poloměrech, pro které spolu s okresy byly spočítány průměrné hodnoty podmínek prostředí a krajinných indexů popisujících strukturu krajiny. Jejich potencionální vliv na abundanci klíšťat byl zjišťován pomocí modelu mnohonásobné lineární regrese, ze které byly postupně vyřazovány nesignifikantní proměnné. Statisticky se podařil prokázat vliv krajinné struktury na abundanci klíšťat napříč prostorovými měřítky.

Výsledky práce naznačují, že ze čtyř aplikovaných měřítek má krajinná struktura největší vliv na abundanci klíšťat v měřítku bufferu s poloměrem 500 m ($P < 0,05$; $R^2 = 0,11$), kde byl zjištěn signifikantní vliv u 4 proměnných. Pozitivně ovlivňuje početnost hustota okrajů mezi listnatými lesy a ostatními habitaty a hustota plošek krajinného pokryvu. Negativně je početnost ovlivněna hustotou okrajů a poměrem obvod-obsah ploch krajinného pokryvu. Zpravidla se vysoké počty klíšťat nacházejí podél ekotonů (Estrada-Peña, 2001; Lindström & Jaenson, 2003; Semtner et al., 1971), především na pomezí lesa a travnatých ploch (Meade & Emch, 2010), což potvrzuje pozitivní vliv okrajů. Ten lze také vysvětlit tak, že s rostoucí délkou lesních okrajů, která koreluje s hustotou okrajů, roste abundance drobných hlodavců (důležitých hostitelů nezralých stádií) (Schlinkert et al., 2016), například myšice (*Apodemus spp.*). Naopak početnost norníka rudého s rostoucí délkou okrajů klesá (Perez et al., 2016). Okraje lesů jsou rovněž vhodným stanovištěm pro srnce obecného (*Capreolus capreolus*), především samice, které mají menší domovský okrsek a nalézají zde úkryt a potravu (Saïd & Servanty, 2005; Tufto et al., 1996). Pro porovnání, jiné studie zjistily negativní vztah mezi početností klíšťat a hustotou/celkovou délkou okrajů například v USA u klíštěte jeleního (*Ixodes scapularis*) (Ferrell & Brinkerhoff, 2018). Podobně klesala s rostoucí délkou okrajů početnost larev klíštěte obecného ve Francii (Perez et al., 2016). Hustota plošek krajinného pokryvu spolu s hustotou okrajů lesa mohou vypovídat o fragmentaci krajiny. Studie z USA naznačují, že fragmentace pozitivně ovlivňuje početnost drobných

savců, což se pozitivně odráží na početnosti klíšťat (Allan et al., 2003; Brownstein et al., 2005; Ferrell & Brinkerhoff, 2018). Negativní vliv na početnost má hustota okrajů a poměr obvod-obsah ploch krajinného pokryvu. Zde můžeme předpokládat, že ačkoliv okraje lesních ploch jsou vhodným biotopem pro klíšťata, rozhraní ploch jiného krajinného pokryvu už klíšťatům vyhovovat nemusí.

Vliv krajinné struktury hraje roli také v bufferu s poloměrem 1 km ($P < 0,05$, $R^2 = 0,096$), kde má na abundanci pozitivní vliv Shannonův index diverzity pro krajinný pokryv a hustota stromového pokryvu. Mimo krajinnou strukturu má negativní vliv průměrný roční srážkový úhrn. Shannonův index diverzity vyjadřuje hojnost a pravidelnost různých typů plošek (McGarigal et al., 2012), což v tomto případě znamená, že s rostoucí hodnotou indexu roste heterogenita krajiny. V heterogenní krajině bývají zpravidla početnější bezobratlé organismy (Marino & Landis, 1996), konkrétně u klíšťat je abundance vyšší v porovnání s homogenní lesní krajinou (Pfäffle et al., 2013), a to především díky vyšší nabídce hostitelů (Jones et al., 2011). Mozaikovitou krajinu preferují také 2 nejrozšířenější druhy velkých savců v ČR – srnec obecný a prase divoké (*Sus scrofa*), jedni z nejdůležitějších hostitelů samičích dospělců (Kříž et al., 2014). Ti hrají s největší pravděpodobností klíčovou roli v hojnosti, neboť do značné míry určují místo, kde se nasáté samice pustí a nakladou vajíčka (Gray et al., 1992). Pozitivní vliv byl zjištěn u hustoty stromového pokryvu, která koreluje s podílem listnatých lesů. Pozitivní vliv proporce lesů v zemědělské krajině na početnost larev klíštěte obecného byl prokázán ve Španělsku (Perez et al., 2016). Hustota pokryvu ovlivňuje množství opadu, který poskytuje klíšťatům v neparazitické fázi vlhké prostředí (Gassner et al. 2009; Randolph & Storey 1999). Naopak studie ze Švédska prokázala negativní vliv podílu listnatých lesů na abundanci. Tento negativní vliv s rostoucím měřítkem slábnul a v měřítku 1 km již nebyl signifikantní (Asghar et al., 2016). Zjištěný negativní vliv srážek je poměrně zajímavý, protože pro přežití klíšťat je klíčová vysoká relativní vlhkost, která je z velké části ovlivněna srážkami. Na jihu Německa došlo nárustem srážek k vyšší míře přežívání klíšťat a v severní části měl pokles srážek tlumící účinky na přežívání (Süss et al., 2008). Mimo jiné vyšší úhrn jarních srážek pozitivně ovlivnil, avšak s dvouletým zpožděním, hustotu nymf klíštěte jeleního v USA (Ostfeld et al. 2001). Jedním z vysvětlení může být, že ve větším měřítku srážky nevyovídají o vlhkosti lokálního prostředí. Zato pozitivně koreluji s nadmořskou výškou (Svoboda et al., 2014), kde jsou nižší teploty a obecně méně příznivé podmínky pro klíšťata.

Vliv krajinných parametrů ve zbylých dvou prostorových měřících nebyl prokázán. V měřítku s bufferem 250 m ($P < 0,1$; $R^2 = 0,02$) má pozitivní vliv na abundanci klíšťat index rozprostření plošek listnatých lesů a ostatních ploch. V měřítku okresů ($P < 0,1$; $R^2 = 0,07$) má negativní vliv na početnost průměrný roční srážkový úhrn a hustota plošek krajinného pokryvu, která měla v měřítku bufferu s poloměrem 500 m pozitivní vliv. Hodnoty abundance jsou průměrem abundancí lokalit v příslušném okresu. V rámci jednoho okresu se ale může v některých případech nacházet pouze jedna vzorkovaná lokalita, což může značně ovlivnit výsledek. Mimo jiné je důležité poznamenat, že i rozlohy jednotlivých okresů jsou rozdílné, což ovlivňuje výsledek analýzy. Příčinou neprůkazného výsledku v měřítku 250 m mohou být vstupní data, která jsou mnohdy v hrubém rozlišení (viz dále).

Při porovnání měřítek lze konstatovat, že největší vliv krajinné struktury je v měřítku 500 m. S rostoucím měřítkem vliv struktury krajiny slábne, ale je průkazný ještě v měřítku 1 km. Je možné předpokládat, že různá měřítka mohou vysvětlovat variabilitu početnosti pro jiná vývojová stádia. Vycházíme-li z předpokladu, že vliv krajinné struktury na klíšťata probíhá přeneseně skrze hostitele, neboť samotná klíšťata se příliš nevzdalují od míst svého výskytu v krajině (Bunnell et al., 2003). Tedy jak bylo zmíněno výše, v měřítku 500 m může krajinná struktura ovlivňovat početnosti především drobných savců, na které jsou vázaná nezralá stádia, zatímco v měřítku 1 km může ovlivnit hojnost velkých savců a tímto by byla vysvětlena variabilita dospělců.

Přesto ani jeden z modelů nevysvětluje více jak 12 % variability v početnostech klíšťat. To může být zapříčiněno v první řadě samotným počtem nasbíraných klíšťat. Počty nasbíraných klíšťat odvíjí od množství číhajících jedinců, kteří představují jen část z celkového počtu klíšťat na dané lokalitě (Dobson, 2013). Mimo to podíl číhajících jedinců silně závisí na počasí (Schulz et al., 2014). Účinnost vlajkování se rovněž odvíjí od výšky vegetace, tedy pokud je vegetace vysoká, plachta se nedostává do kontaktu s nižšími vrstvami, kde vyčkávají nezralá stádia (Carey et al., 1980). V neposlední řadě se délka vlajkování v jednotlivých lokalitách lišila, proto byl pro srovnání použit přepočet na index abundance, který vyjadřuje počet odchycených klíšťat za hodinu vlajkování.

Dalším vysvětlením, jak již bylo zmíněno u měřítka 250 m, může být určité zkreslení výsledků v důsledku hrubého rozlišení vstupních dat. Například velikost zrna (pixelu) je u krajinného pokryvu (CORINE) 25 ha a u bioklimatických proměnných

(Worldclim) přibližně 100 ha. Abundance klíšťat nemusí být také plně vysvětlena pomocí vstupních proměnných. Lze předpokládat, že nebyly zohledněny další vlivné faktory, které mohou mít různý vliv v různých prostorových měřících. Jedná se kupříkladu o konkrétní typ vegetace (Jaenson et al., 2009), množství slunečního záření (Fabbro et al., 2015) nebo sklonitost terénu (Jouda et al., 2004). V neposlední řadě by bylo vhodné, jak vyplývá z výsledků, zahrnout informace o hojnosti hostitelů, zejména vysoké zvěře či drobných savců (Kiffner et al., 2010; Ostfeld et al., 2006; Perez et al., 2016; Tkadlec et al., 2019).

5.2 Přítomnost patogenů a vliv abundance na prevalenci

Na přítomnost zkoumaných patogenů bylo celkem metodou PCR otestováno 13 360 jedinců klíštěte obecného. Rickettsie byly přítomny téměř ve všech testovaných lokalitách, zatímco anaplasma nebyla přítomna v cca 20 % z nich. Odhadovaná hodnota prevalence anaplasmy u všech vývojových stádií činí 3,71 % a u rickettsií 5,32 %. Maximální hodnoty prevalence na testovaných lokalitách u obou patogenů činí okolo 20 %. Pro porovnání, ve studii z Bádensko-Württemberska v sousedním Německu hodnota prevalence činí 1,9 % pro anaplasmu a 8,9 % pro rickettsie (Hartelt et al. 2004). Ve studii z Ostravska byla zjištěna prevalence rickettsiemi 0,4 % v urbánním prostředí a 4,4 % v přirozeném ekosystému. U anaplasmy činila 9,4 % v urbánním prostředí a 1,9 % v přirozeném ekosystému (Venclíková et al., 2014).

Prevalence rickettsií u jednotlivých stádií klíštěte je přibližně stejná (rozdíl cca 1 %). Vysvětlením je nespíš to, že klíšťata jsou nejen vektory ale taky rezervoáry patogenu (Estrada-Peña et al., 2013). Naproti tomu prevalence anaplasmy byla rozdílná mezi jednotlivými stádii. U larev byla zjištěna nulová prevalence, jelikož larvy byly sbírány z vegetace (tedy před prvním sáním) a k přenosu patogenu dochází pouze transstadiálně (Estrada-Peña et al., 2013). Prevalence u nymf je 1,59 % a u dospělců 5,54 %. Růst prevalence u vyšších vývojových stádií dokládají i jiné studie (Venclíková et al., 2014; Schorn et al., 2011).

Závislost prevalence na abundanci se statisticky nepodařila prokázat u rickettsií. V grafu můžeme vidět, že s rostoucí abundancí prevalence mírně roste. Vysoká dynamika klíšťat v heterogenním prostředí může zapříčinit, že prevalence patogenu nekoreluje s abundancí vektoru (Ostfeld et al., 1995). U anaplasmy byla naopak signifikantní

závislost na abundanci prokázána ($P < 0,05$; $R^2 = 0,032$). Stejně je tomu tak u závislosti prevalence nymf a dospělců na jejich početnosti.

6. Závěr

Klíšťata jsou nejvýznamnějším vektorem patogenů v Evropě. Jelikož jejich početnost a počty nakažených osob každoročně stoupají, vzrůstá také potřeba získat informace o jejich distribuci, prevalenci a zároveň faktorech, které je ovlivňují. V této diplomové práci se podařilo prokázat vliv krajinné struktury na abundanci klíšťat ve dvou prostorových měřících (buffer 500 m a 1 km), díky čemuž jsme zas o krok dál v pochopení složité dynamiky klíšťat. Zjištěné výsledky mohou v budoucnu sloužit jako předpoklad pro tvorbu map rizik klíšťových infekcí. Vzhledem k tomu, že model zcela nevysvětluje variabilitu, v dalších studiích je třeba přidat další vysvětlující proměnné či použít přesnější dostupná data. Nabízí se také možnost testování vlivu na abundanci jednotlivých vývojových stádií. Součástí práce jsou také mapy prevalence pro patogeny rodu *Anaplasma spp.* a *Rickettsia spp.* Ty byly v minulosti považovány za neškodné, ale stále častěji se začínají projevovat u člověka. Mapy slouží ke zvýšení povědomí o těchto patogenech a podávají informaci o potenciálním riziku nákazy. U anaplasmy je zároveň riziko nákazy vyšší na místech s vysokými počty klíšťat, neboť se podařilo prokázat pozitivní vliv abundance na prevalenci.

7. Literatura

- Allan BF, Keesing F, Ostfeld RS. 2003. Effect of forest fragmentation on Lyme disease risk. *Conservation Biology* 17(1):267–272.
- Anderson JF, Magnarelli, LA. 1993. Epizootiology of Lyme disease-causing borreliae. *Clin. Dermatol.* 11:339–351.
- Asghar N, Petersson M, Johansson M, Dinnetz P. 2016. Local landscape effects on population dynamics of *Ixodes ricinus*. *Geospatial health* 11(3):487.
- Ausvet. 2019. Epitools: Pooled prevalence for fixed pool size and perfect tests. [online]. URL: <http://epitools.ausvet.com.au/content.php?page=PPFreq1>.
- Brownstein JS, Skelly DK, Holford TR, Fish D. 2005. Forest fragmentation predicts local scale heterogeneity of Lyme disease risk. *Oecologia.* 146(3):469–475.
- Bunnell JE, Price SD, Das A, Shields TM, Glass GE. 2003. Geographic information systems and spatial analysis of adult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in the Middle Atlantic region of the USA. *Journal of Medical Entomology.* 40(4): 570–576
- Carey AB, Krinsky WL, Main AJ. 1980. *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) and associated ixodid ticks in south-central Connecticut, USA. *J. Med. Entomol.* 17:89–99.
- Colwell DD, Dantas-Torres F, Otranto D. 2011. Vector-borne parasitic zoonoses: emerging scenarios and new perspectives. *Vet. Parasitol.* 182:14–21.
- Daneš L. 2003. Přírodně ohniskové nákazy. Praha: Karolinum.
- Daniel M, Danielová V, Kříž B, Kott I. 2004. An attempt to elucidate the increased incidence of tick-borne encephalitis and its spread to higher altitudes in the Czech Republic. *Int. J. Med. Microbiol.* 293 (37):55–62.
- Daniel M, Kolár J, Zeman P, Pavelka K, Sádlo J. 1998. Predictive map of *Ixodes ricinus* highincidence habitats and a tick-borne encephalitis risk assessment using satellite data. *Exp. Appl. Acarol.* 22:417–433

- Daniel M, Malý M, Danielová V, Kříž B, Nuttall P. 2015. Abiotic predictors and annual seasonal dynamics of *Ixodes ricinus*, the major disease vector of Central Europe. *Parasites & Vectors*. 8(1):478.
- Danielová V, Rudenko N, Daniel M, Holubová J, Materna J, Golovchenko M, Schwarzová L. 2006. Extension of *Ixodes ricinus* ticks and agents of tick-borne diseases to mountain areas in the Czech Republic. *Int J Med Microbiol*. 296(40):48–53.
- Dantas-Torres F. 2007. Rocky Mountain spotted fever. *Lancet Infect. Dis*. 7:724–732.
- Dizij A, Kurtenbach K. 1995. *Clethrionomys glareolus*, but not *Apodemus flavicollis*, acquires resistance to *Ixodes ricinus* L, the main European vector of *Borrelia burgdorferi*. *Parasite Immunol*. 17:177–83.
- Dobson ADM. 2013. Ticks in the wrong boxes: assessing error in blanket-drag studies due to occasional sampling. *Parasites & Vectors*. 6(1):344
- Estrada-Peña A. 2003. The relationships between habitat topology, critical scales of connectivity and tick abundance (*Ixodes ricinus*) in a heterogeneous landscape in northern Spain. *Ecography*. 26: 661–671.
- Estrada-Peña A, Farkas R, Jaenson T, Koenen F, Madder M, Pascucci I, Salman M, Sousa R, Walker A. 2013. Ticks and Tick-borne Diseases Geographical Distribution and Control Strategies in the Euro-Asia Region.
- Estrada-Peña A, Jongejan F. 1999. Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting *Ixodoidea* with special reference to pathogen transmission. *Exp. Appl. Acarol*. 23:685–715.
- Estrada-Peña A. 2001. Distribution, abundance, and habitat preferences of *Ixodes ricinus* (Acari: *Ixodidae*) in northern Spain. *Journal of Medical Entomology*. 38(3):361–70.
- Estrada-Peña A. 2005. Effects of habitat suitability and landscape patterns on tick (acarina) metapopulation processes. *Landscape Ecology*. 20(5):529–541.
- Fabbro SD, Gollino S, Zuliani M, Nazzi F. 2015. Investigating the relationship between environmental factors and tick abundance in a small, highly heterogeneous region. *Journal of vector ecology*. 40(1):107–116.

- Ferrell AM, Brinkerhoff RJ. 2018. Using Landscape Analysis to Test Hypotheses about Drivers of Tick Abundance and Infection Prevalence with *Borrelia burgdorferi*. *International journal of environmental research and public health*. 15(4):737.
- Gassner F, van Vliet AJH, Burgers SLGE, Jacobs F, Verbaarschot P, Hovius EKE, Mulder S, Verhulst NO, van Overbeek LS, Takken W. 2011. Geographic and temporal variations in population dynamics of *Ixodes ricinus* and associated *Borrelia* infections in the Netherlands. *Vector borne and zoonotic diseases*. 11(5):523–532
- Gray JS, Kahl O, Janetzki C, Stein J. 1992. Studies on the ecology of Lyme disease in a deer forest in County Galway, Ireland. *Journal of Medical Entomology*. 29(6):915–920.
- Gray JS. 1991. The development and seasonal activity of the tick *Ixodes ricinus*: a vector of Lyme borreliosis. *Rev Med Vet Entomol*. 79:323–33.
- Hansford K, Fonville M, Gillingham E, Coipan E, Pietzsch M, Krawczyk A, Vaux A, Cull B, Sprong H, Medlock J. 2017. Ticks and *Borrelia* in urban and peri-urban green space habitats in a city in southern England. 8.
- Hartelt K, Oehme R, Frank H, Brockmann SO, Hassler D, Kimmig P. 2004. Pathogens and symbionts in ticks: prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* (*Ehrlichia sp.*), *Wolbachia sp.*, *Rickettsia sp.*, and *Babesia sp.* in Southern Germany. *International journal of medical microbiology*. 293(37):86–92.
- Hrkľová G, Nováková M, Chytra M, Kostova CBP, 2008. Monitoring the distribution and abundance of *Ixodes ricinus* ticks in relevance of climate change and prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in Northern Slovakia (Liptovska valley). *Folia Vet*. 52:62–3.
- Hubálek Z, Halouzka J, Juricova Z. 2003. Host-seeking activity of ixodid ticks in relation to weather variables. *J. Vector Ecol*. 28:159–165.
- Hubálek Z, Rudolf I. 2007. *Mikrobiální zoonózy a sapronózy*. Brno. s176
- Jaenson TGT, Eisen L, Comstedt P, Mejlun HA, Lindgren E, Bergström S, Olsen B. 2009. Risk indicators for the tick *Ixodes ricinus* and *Borrelia burgdorferi sensu lato* in Sweden. *Medical and Veterinary Entomology*. 23(3):226–37

- Jones B, Grace D, Kock R, Alonso S, Rushton J, Said MY, Mckeever D, Mutua F, Young J, McDermott J, Pfeiffer D. 2013 Zoonosis emergence linked to agricultural intensification and environmental change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 110(21).
- Jones EO, Webb SD, Ruiz-Fons FJ, Albon S, Gilbert L. 2011. The effect of landscape heterogeneity and host movement on a tick-borne pathogen. *Theoretical Ecology*. 4(4):435–448.
- Jouda F, Perret JL, Gern L. 2004. *Ixodes ricinus* density, and distribution and prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* infection along an altitudinal gradient. *Journal of medical entomology*. 41:162–169.
- Kiffner C, Lödige C, Alings M, Vor T, Rühle F. 2010. Abundance estimation of Ixodes ticks (Acari: Ixodidae) on roe deer (*Capreolus capreolus*). *Experimental & applied acarology*, 52(1):73–84.
- Kimmig P, Hassler D, Braun R. 2003. Klíšťata: Nepatrné kousnutí s neblahými následky. Praha: Pragma.
- Kříž B, Beneš C, Danielová V, Daniel M. 2004. Socio-economic conditions and other anthropogenic factors influencing tick-borne encephalitis incidence in the Czech Republic. *Int J Med Microbiol*. 293: 63–68.
- Kříž B, Daniel M, Beneš C, Malý M. 2014. The role of game (wild boar and roe deer) in the spread of tick-borne encephalitis in the Czech Republic. *Vector Borne Zoonotic*. 14(11):801–7.
- Kurtenbach K, Hanincová K, Tsao JI, Margos G, Fish D, Ogden NH. 2006. Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. *Nature*. 4:660–669.
- Labuda M, Jones LD, Williams T, Danielova V, Nuttall PA. 1993. Efficient transmission of tick-borne encephalitis-virus between cofeeding ticks. *J Med Entomol*. 30:295–9.
- Lambin EF, Tran A, Vanwambeke SO, Linard C, Soti V. 2010. Pathogenesis landscapes: Interactions between land, people, disease vector, and their animal hosts. *Int. J. Health Geogr*. 9:54.

- Li S, Hartemink N, Speybroeck N, Vanwambeke SO. 2012. Consequences of landscape fragmentation on Lyme disease risk: a cellular automata approach. PLoS ONE. 7(6).
- Lindgren E, Talleklint L, Polfeldt T, 2000. Impact of climatic change on the northern latitude limit and populations density of the disease-transmitting European tick *Ixodes ricinus*. Environ. Health Perspect. 108:119–123.
- Lindström A, Jaenson TGT. 2003. Distribution of the common tick, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae), in different vegetation types in southern Sweden. Journal of Medical Entomology. 40:375–378.
- Logiudice K, Ostfeld RS, Schmidt KA, Keesing F. 2003. The ecology of infectious disease: effects of host diversity and community composition on Lyme disease risk. P Natl Acad Sci USA. 100:567–71.
- Marino PC, Landis DA. 1996. Effect of landscape structure on parasitoid diversity and parasitism in agroecosystems. Ecological Applications. 6(1):276–284.
- Marsot M, Henry P-Y, Vourc'h G, Gasqui P, Ferquel E, Laignel J, Grysan M & Chapuis J-L. 2012. Which forest bird species are the main hosts of the tick, *Ixodes ricinus*, the vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, during the breeding season?. International journal for parasitology. 42(8):781–8.
- Matuschka FR, Fischer P, Musgrave K, Richter D, Spielman A. 1991. Hosts on which nymphal *Ixodes ricinus* most abundantly feed. Am J Trop Med Hyg. 44:100–7.
- Matuschka FR, Fischer P, Rücke M, Richter D, Spielman A. 1992. Capacity of European animals as reservoir hosts for the Lyme disease spirochete. Journal of Infectious Diseases 165(3):479–483.
- McGarigal K, Cushman SA, Ene E. 2012. FRAGSTATS v4: Spatial Pattern Analysis Program for Categorical and Continuous Maps. Computer software program produced by the authors at the University of Massachusetts, Amherst. URL: <http://www.umass.edu/landeco/research/fragstats/fragstats.html>.
- Meade MS, Emch M. 2010. Medical geography. Guilford, New York. s.135
- Medlock JM, Hansford KM, Bormane A, Derdakova M, Estrada-Pena A, George JC, Golovljova I, Jaenson TG, Jensen JK, Jensen PM, Kazimirova M, Oteo JA, Papa

- A, Pfister K, Plantard O, Randolph SE, Rizzoli A, Santos-Silva MM, Sprong H, Vial L, Hendrickx G, Zeller H, Van Bortel W. 2013. Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasites Vectors*. 6:1.
- Mihalca AD, Dumitrache MO, Sándor AD, Magdaş C, Oltean M, Györke A, et al. 2012. Tick parasites of rodents in Romania: host preferences, community structure and geographical distribution. *Parasit Vectors*. 5:266.
- Michel N, Burel F, Butet A. 2006. How does landscape use influence small mammal diversity, abundance and biomass in hedgerow networks of farming landscapes? *Acta Oecologica*. 30:11–20.
- Millán de la Peña N, Butet A, Delettre Y, Paillat G, Morant P, Le DL, Françoise B. 2003. Response of the small mammal community to changes in western French agricultural landscapes. *Landscape Ecology*. 18(3):265–278.
- Nicholson WL, Allen KE, McQuiston JH, Breitschwerdt EB, Little SE. 2010. The increasing recognition of rickettsial pathogens in dogs and people. *Trends Parasitol*. 26:205–212.
- Olsén B, Jaenson TG, Bergström S. 1995. Prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato*-infected ticks on migrating birds. *Appl. Environ. Microbiol*. 61:3082–308
- Ostfeld RS, Canham CD, Oggenfuss K, Winchcombe RJ, Keesing F. 2006. Climate, deer, rodents, and acorns as determinants of variation in lyme-disease risk. *PLoS biology*. 4:1058–1068
- Ostfeld RS, Schaubert EM, Canham CD, Keesing F, Jones C, Wolff JO. 2001. Effects of acorn production and mouse abundance on abundance and *Borrelia burgdorferi* infection prevalence of nymphal *Ixodes scapularis* ticks. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*. 1(1):55–63.
- Oteo JA, Portillo A. 2012. Tick-borne rickettsioses in Europe. *Ticks and tick-borne diseases*. 3:270–277.
- Parola P, Raoult D. 2001. Tick-borne bacterial diseases emerging in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*. 7(2):80–3.

- Perez G, Bastian S, Agoulon A, Bouju A, Durand A, Faille F, Lebert I, Rantier Y, Plantard O, Butet A. 2016. Effect of landscape features on the relationship between *Ixodes ricinus* ticks and their small mammal hosts. *Parasites & Vectors*. 9(1).
- Perret J-L, Rais O, Gern L. 2004. Influence of climate on the proportion of *Ixodes ricinus* nymphs and adults questing in a tick population. *J. Med. Entomol.* 41:361–365.
- Pfäffle M, Littwin N, Muders SV, Petney TN. 2013. The ecology of tick-borne diseases. *Inter. J. Parasitol.* 43:1059–1077.
- Prusinski MA, Chen H, Drobneck JM, Kogut SJ, Means RG, Howard JJ, Oliver J, Lukacik G, Backenson PB, White DJ. 2006. Habitat structure associated with *Borrelia burgdorferi* prevalence in small mammals in New York State. *Environ. Entomol.* 35:308–319.
- Quine CP, Cahalan C, Hester A, Humphrey J, Kirby K, Moffat A, Valatin G. 2011. Chapter 8: Woodlands. In: Watson R, Albon S. *UK National Ecosystem Assessment: Technical Report*. Cambridge. 241–95.
- R Core Team. 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Randolph SE, Green RM, Hoodless AN, Peacey MF. 2002. An empirical quantitative framework for the seasonal population dynamics of the tick *Ixodes ricinus*. *Int J Parasitol.* 32:979–89.
- Randolph SE, Storey K, 1999. Impact of microclimate on immature tick-rodent interactions (Acari: *Ixodidae*): implications for parasite transmission. *J. Med. Entomol.* 36:741–748.
- Randolph SE. 1994. Density-dependent acquired resistance to ticks in natural hosts, independent of concurrent infection with *Babesia microti*. *Parasitology.* 108:413–9.
- Raoult D, Roux V. 1997. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clin Microbiol.* 10:694–719.
- Rosický B, Daniel M. 1989. *Lékařská entomologie a životní prostředí*. Praha: Academia.
- Rothman KJ. 2012. *Epidemiology: An Introduction*. Oxford University Press. s 53.

- Rozsypal H, Holub M, Kosáková M. 2013. Infekční nemoci ve standardní a intenzivní péči. Praha: Karolinum.
- Said S, Servanty S. 2005. The influence of landscape structure on female roe deer home-range size. *Landscape Ecology*. 20(8):1003–1012.
- Semtner PJ, Howell DE, Hair JA, 1971. The ecology and behavior of the lone star tick (Acarina: *Ixodidae*): I. The relationship between vegetative habitat type and tick abundance and distribution in Cherokee Co., Oklahoma. *Journal of Medical Entomology*. 8(3):329–35.
- Schlinkert H, Ludwig M, Batary P, Holzschuh A, Kovács-Hostyánszki A, Tschardt T, Fischer C. 2016. Forest specialist and generalist small mammals in forest edges and hedges. *Wildlife Biology*. 22:86–94.
- Schorn S, Pfister K, Sennhenn-Reulen H, Mahling M, Manitz J, Thiel C, Silaghi C. 2011. Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* in Bavarian public parks, Germany. *Ticks and tick-borne diseases*. 2:196–203.
- Schulz M, Mahling M, Pfister K. 2014. Abundance and seasonal activity of questing *Ixodes ricinus* ticks in their natural habitats in southern Germany in 2011. *Journal of vector ecology*. 39:56–65.
- Schwarz A, Maier WA, Kistemann T, Kampen H. 2009. Analysis of the distribution of the tick *Ixodes ricinus* L. (Acari: *Ixodidae*) in a nature reserve of western Germany using Geographic Information Systems. *International journal of hygiene and environmental health*. 212:87–96.
- Stafford KC 3rd, Cartter ML, Magnarelli LA, Ertel SH, Mshar PA. 1998. Temporal correlations between tick abundance and prevalence of ticks infected with *Borrelia burgdorferi* and increasing incidence of Lyme disease. *Journal of clinical microbiology*. 36:1240–4.
- Süss J, Klaus C, Gerstengarbe F-W, Werner PC. 2008. What Makes Ticks Tick? Climate Change, Ticks, and Tick-Borne Diseases, *Journal of Travel Medicine*. 15(1):39–45.
- Svoboda, Vojtěch & Máca, Petr & Hanel, Martin & Pech, Pavel. 2014. Spatial correlation structure of monthly rainfall at a mesoscale region of north-eastern Bohemia. *Theoretical and Applied Climatology*. 121(1–2).

- Široký P, Kubelová M, Bednář M, Modrý D, Hubálek Z, Tkadlec E. 2011. The distribution and spreading pattern of *Dermacentor reticulatus* over its threshold area in the Czech Republic-How much is range of this vector expanding?. *Veterinary Parasitology*. 183(1–2):130–5.
- Šumilo D, Bormane A, Asokliene L, Vasilenko V, Golovljova I, Avsic-Zupanc T, Hubálek Z, Randolph SE. 2008. Socio-economic factors in the differential upsurge of tick-borne encephalitis in Central and Eastern Europe. *Reviews in Medical Virology*. 18:81–95.
- Tkadlec E, Václavík T, Široký P. 2019. Rodent Host Abundance and Climate Variability as Predictors of Tickborne Disease Risk 1 Year in Advance. *Emerging Infectious Disease*.
- Tufto J, Andersen R, Linnell J. 1996. Habitat use and ecological correlates of home range size in a small cervid: the roe deer. *Journal of Animal Ecology*. 65(6):715–724.
- Venclíkova K, Rudolf I, Mendel J, Betášová L, Hubálek Z. 2014. Rickettsiae in questing *Ixodes ricinus* ticks in the Czech Republic. *Ticks and tick-borne diseases*. 5(2):135–8.
- Volf P, Horák P. a kol. 2007. *Paraziti a jejich biologie*, Vyd. 1. Praha: Triton.
- Wei T, Simko V. 2017. R package "corrplot": Visualization of a Correlation Matrix (Version 0.84) [online]. URL: <https://github.com/taiyun/corrplot>.
- Wickham H. 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, New York.

8. Přílohy

Příloha A: Prevalence zkoumaných patogenů v rámci jednotlivých okresů.....	47
--	----

Příloha A: Prevalence zkoumaných patogenů v rámci jednotlivých okresů

Název okresu	rickettsia [%]	anaplasma [%]	anaplasma (u nymf) [%]	anaplasma (u dospělců) [%]
Benešov	3,69	2,03	1,70	6,47
Beroun	0,00	3,93	0,00	9,71
Blansko	11,85	6,19	5,29	7,11
Brno-město	2,09	4,47	1,53	10,07
Brno-venkov	2,53	2,53	0,00	12,05
Bruntál	8,92	0,00	0,00	0,00
Břeclav	3,65	4,26	0,00	5,00
Česká Lípa	7,79	3,04	0,00	5,11
České Budějovice	3,93	1,89	0,00	3,29
Český Krumlov	4,49	1,24	0,00	1,52
Děčín	20,76	0,00	0,00	0,00
Domažlice	8,78	0,00	0,00	0,00
Frýdek-Místek	7,57	3,35	1,32	3,59
Havlíkův Brod	1,73	7,79	2,64	10,87
Hlavní město Praha	4,88	0,72	0,30	1,11
Hodonín	4,51	9,51	13,02	7,31
Hradec Králové	8,08	19,23	0,00	24,21
Cheb	9,08	1,80	0,78	5,33
Chomutov	6,85	0,65	0,34	0,70
Chrudim	7,76	8,99	0,00	8,99
Jablonec nad Nisou	11,46	2,80	2,80	2,80
Jeseník	11,81	3,04	0,00	7,79
Jičín	4,90	11,09	7,09	27,52
Jihlava	2,40	5,64	3,89	8,92
Jindřichův Hradec	9,63	6,35	4,86	6,51
Karlovy Vary	4,79	1,19	0,00	1,37
Karviná	5,41	2,04	0,53	2,35
Kladno	3,91	2,59	0,49	9,86
Klatovy	5,59	0,00	0,00	0,00
Kolín	9,21	3,66	0,00	4,14
Kroměříž	4,97	4,19	0,00	5,23
Kutná Hora	3,63	5,02	0,00	9,41
Liberec	10,42	3,29	0,00	7,79
Litoměřice	8,77	7,23	0,00	10,59
Louny	4,49	2,76	2,80	2,18
Mělník	6,09	5,94	33,33	37,65
Mladá Boleslav	6,48	2,19	0,36	3,44
Most	6,01	0,00	0,00	0,00
Náchod	6,73	1,21	0,00	1,28
Nový Jičín	7,71	4,46	0,00	4,96
Nymburk	7,96	4,71	1,16	5,52
Olomouc	3,77	2,41	0,38	3,09
Opava	9,71	0,00	0,00	0,00

Ostrava-město	2,89	6,17	0,00	6,17
Pardubice	4,36	11,27	0,00	16,74
Pelhřimov	1,38	4,32	0,00	4,32
Písek	6,51	7,46	4,36	8,19
Plzeň-jih	–	–	–	–
Plzeň-město	2,64	2,64	0,00	4,78
Plzeň-sever	–	–	–	–
Praha-východ	7,79	7,79	3,93	15,59
Praha-západ	–	–	–	–
Prachatice	5,02	5,02	0,00	10,70
Prostějov	9,71	21,84	0,00	28,23
Přerov	5,04	7,86	1,52	9,51
Příbram	6,51	1,28	0,00	1,47
Rakovník	2,64	5,97	6,47	5,71
Rokycany	3,29	5,11	0,00	6,89
Rychnov nad Kněžnou	3,29	0,00	0,00	0,00
Semily	1,37	0,00	0,00	0,00
Sokolov	8,64	0,00	0,00	0,00
Strakonice	2,83	0,00	0,00	0,00
Svitavy	2,78	5,55	0,00	5,82
Šumperk	5,13	4,02	0,00	4,21
Tábor	5,88	3,82	1,40	4,71
Tachov	5,87	0,00	0,00	0,00
Teplice	3,31	3,31	0,00	16,34
Trutnov	3,13	4,50	0,00	6,67
Třebíč	8,40	5,86	2,00	12,37
Uherské Hradiště	6,90	3,13	3,24	2,08
Ústí nad Labem	5,38	2,16	1,73	2,47
Ústí nad Orlicí	5,40	3,04	0,94	2,24
Vsetín	2,28	1,72	1,19	2,03
Vyškov	6,69	1,79	0,00	1,79
Zlín	4,58	8,14	4,91	30,93
Znojmo	7,13	4,48	3,07	5,57
Žďár nad Sázavou	2,82	9,28	1,10	17,52
