



KONCEPTY A METÓDY MONITORINGU ŽIVOČÍCHOV V OCHRANE PRÍRODY – VYBRANÉ KAPITOLY



P. Urban et al.

Koncepty a metódy monitoringu živočíchov v ochrane prírody – vybrané kapitoly

Recenzenti

Mgr. Ján Černecký, PhD.

Ing. Vladimír Kláč, PhD.

prof. RNDr. Marcel Uhrin, PhD.

Autori

prof. Ing. Peter Urban, PhD.¹ prof. Mgr. Ivan Baláž, PhD.²; doc. RNDr. Michal Baláž, PhD.³; Mgr. Silvia Bartóková¹; prof. RNDr. Peter Bitušík, CSc.¹; Mgr. Tomáš Hrdý¹; Mgr. Tímea Chamutiová, PhD.¹; Mgr. Radoslava Jánošíková, PhD.²; RNDr. Michal Kalaš¹; Ing. Peter Klinga, PhD.⁴; RNDr. Jakub Košša²; Mgr. Michal Králik⁵; Dr. h. c. prof. Ing. Rudolf Kropil, PhD.⁶; doc. Ing. Peter Lešo, PhD.⁶; Mgr. Veronika Slobodníková, PhD.¹; doc. Ing. Juraj Švajda, PhD.¹

¹Katedra biológie a environmentálnych štúdií, Fakulta prírodných vied, Univerzita Mateja Bela v Banskej Bystrici, Banská Bystrica

²Katedra ekológie a environmentalistiky, Fakulta prírodných vied a informatiky, Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, Nitra

³Katedra biológie a ekológie, Pedagogická fakulta, Katolícka univerzita, Ružomberok

⁴Katedra fytológie, Lesnícka fakulta, Technická univerzita vo Zvolene, Zvolen

⁵HBH Projekt spol. s r. o. – pobočka Banská Bystrica, Banská Bystrica

⁶Katedra aplikovanej zoológie a manažmentu zveri, Lesnícka fakulta, Technická univerzita vo Zvolene, Zvolen

Autori fotografií

Ivan Baláž, Silvia Bartóková, Ervín Hapl, Stanislav Harvančík, Michal Kalaš, Michal Králik, Juraj Švajda, Peter Urban

Grafická úprava a obálka

RNDr. Jakub Košša

Vydavateľ

Belianum. Vydavateľstvo Univerzity Mateja Bela v Banskej Bystrici

Edícia: Fakulta prírodných vied

2025

Vysokoškolská učebnica *Koncepty a metódy monitoringu živočíchov v ochrane prírody – vybrané kapitoly* bola vydaná v rámci riešenia grantu KEGA č. 003UMB-4/2023 *Koncepty a metódy monitoringu živočíchov v ochrane prírody*.

ISBN 978-80-557-2318-1

EAN 9788055723181

<https://doi.org/10.24040/2025.9788055723181>



Táto publikácia je šírená pod licenciou Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International Licence CC BY-NC (uviedenie autora – nekomerčné použitie).

Obsah

Predhovor	3
PodĎakovanie	6
1 Výskum a monitorovanie v ochrane prírody	7
1.1 Výskum a monitorovanie v ochrane prírody na Slovensku	16
2 Výskum a monitorovanie voľne žijúcich živočíchov	21
2.1 Telemetria.....	25
2.2 Fotomonitoring	30
2.3 Akustický monitoring.....	34
2.4 CyberTracker	39
3 Metódy výskumu a monitoringu vodných bezstavovcov	41
4 Vybrané metódy sčítania vtákov	50
4.1 Monitoring vtákov na Slovensku	56
5 Metódy výskumu a monitoringu drobných cicavcov	61
6 Výskum a monitoring líniových bariér a mortality živočíchov na komunikáciách	76
7 Ochrannárske premiestnenia živočíchov – výskum a monitoring	83
8 Monitoring pre potreby tvorby červených zoznamov	98
9 Výskum a monitoring návštevnosti v chránených územiach vo vzťahu k živočíchom	102
10 Občianska veda a výskum živočíchov	106
11 Genetické metódy výskumu a monitoringu živočíchov	113
11.1 Ochrannárska genetika a genomika	114
11.1.1 Genetické metódy v ochrane prírody a manažmente druhov	116
11.1.2 Ochrannárska genomika v manažmente voľne žijúcich živočíchov	121
11.2 Genetická premenlivosť, štruktúra a problémy malých populácií	134
11.2.1 Faktory genetickej premenlivosti a problémy malých populácií	136
11.3 Koncepty, metódy a úskalia zberu genetických vzoriek	154
11.3.1 Invazívne genetické vzorkovanie a biobankovanie zdrojov DNA	154
11.3.2 Neinvazívne genetické vzorkovanie	161
11.4 eDNA: Význam, výhody a obmedzenia.....	184
11.4.1 Úskalia metód eDNA	186
11.5 Etické aspekty ochrannárskej genetiky.....	187
Výkladový slovník	189
Zoznam literatúry	194

Predhovor

Conservation is a state of harmony between men and land.

Aldo Leopold: Conservation (1938)

Planéta Zem je v súčasnosti vystavená tlakom a dopadom environmentálnej krízy. Ľudská populácia rastie, rýchlo a výrazne sa zvyšujú spotrebné a energetické nároky jedincov, rovnako ako aj technické a technologické možnosti človeka. Aktivity ľudí, najmä zmeny vo využívaní krajiny, ničenie, fragmentácia a degradácia biotopov, kontaminácia prostredia, nadmerné a neudržateľné využívanie zdrojov, vrátane intenzívnej spotreby fosilných palív, zavádzanie nepôvodných druhov a pod., vykazujúce v posledných desaťročiach rastúce trajektórie, vedú aj k strate biodiverzity.

Jej základnou príčinou nie je len priame čerpanie (využívanie) prírodných zdrojov, ale úbytok a deštrukcia biotopov, ktoré nasledujú po expanzii ľudskej populácie a jej aktivít. Pritom jednotlivé faktory ohrozenia v súčasnosti len zriedkavo pôsobia samostatne a väčšinou ide o ich kombinovaný (synergický) vplyv. To má okrem značných etických dôsledkov aj negatívny vplyv na fungovanie ekosystémov a následne ohrozuje tiež početné tovary a ekosystémové služby.

Práve posuny v biodiverzite, spoločne so zmenou klímy a znečisťovaním životného prostredia cudzorodými látkami sú hybné sily uvedenej environmentálnej krízy, ohrozujúcej aj kvalitu života ľudí na celej planéte. Navyše jestvujú súvislosti medzi globálnymi tlakmi zmeny klímy a straty biodiverzity a rôznymi chorobami. Konvergencia uvedených, vzájomne prepojených tlakov, vedie k zosilňovaniu ich synergických účinkov. Vplyv človeka prekračuje viaceré planetárne hranice (*planetary boundaries*) bezpečného využívania Zeme, za ktorými môže dôjsť k nežiadúcemu, ťažko predvídateľnému správaniu sa globálneho ekosystému, čo by mohlo vyústiť do globálnej katastrofy. Kým v roku 2009 boli zo siedmich identifikovaných planetárnych hraníc (bodov zlomu) prekročené tri, v roku 2015 boli už prekročené štyri. V roku 2023 došlo k prekročeniu u šiestich a v roku 2025 až u siedmich z identifikovaných deviatich planetárnych hraníc.

Ide o komplexný problém, v ktorom kľúčovú úlohu zohráva práve človek, významne ovplyvňujúci celý globálny ekosystém našej planéty. Vzťah prírody a človeka je kľúčovým filozofickým problémom ochrany prírody. *Homo sapiens sapiens* sa stal v geologicky veľmi krátkom časovom úseku výrazným ekosystémovým tvorcom, pričom ľudská populácia neustále rastie. Aj preto sa termín „Veľké zrýchlenie“ (*Great acceleration*) socio-ekonomického rozvoja spoločnosti používa nielen v prírodných vedách, ale tiež v spoločenských a ekonomických vedách. Jeho najvýraznejším rysom je globalizácia.

Človek je na jednej strane najvýznamnejším evolučným činiteľom súčasného sveta, na druhej strane pre neho aktuálna situácia zároveň predstavuje významné výzvy a príležitosti, na ktoré by mal vhodne a pružne reagovať. Okrem iného aj realizáciou dokonale premyslených a pripravených zásadných a systematických politických, hospodárskych, spoločenských a environmentálnych zmien, ktoré majú byť založené na dosiahnutí konsenzu (kompromis prosto nestačí) a nesmú ísť proti vôli občanov. Zároveň si to vyžaduje aj zmeny pohľadu na dôsledky ľudských činností na prírodu.

Voľne žijúce živočíchy tvoria významnú zložku biodiverzity, ktorá je tiež ohrozená antropogénne podmieneným tlakom. Vplyv človeka na lokálne vyhynutie alebo prudký pokles populácií živočíchov, ktorý niektorí autori nazývajú „antropocénna defaunácia“, sú stále

nedostatočne poznanou formou globálnych environmentálnych zmien. Navyše vyhubenie alebo vyhynutie určitého kľúčového taxónu voľne žijúcich živočíchov (vyznačujúceho sa správaním a aktivitami významnými pre fungovanie celého ekosystému) môže viesť až k úplnej strate daných ekosystémových služieb. Posuny v správaní sa živočíchov sa uplatnia napríklad vtedy, keď sa dané živočichy v dôsledku globálnych zmien, najmä podnebia, ocitnú mimo svojho pôvodného areálu a budú si musieť vytvárať nové väzby s inými organizmami. To môže viesť k ich úhynu a tým aj k strate ekosystémových služieb. Nutné sú preto najmä zmiernenie nadmerného využívania voľne žijúcich živočíchov a zmena využívania pôdy.

Ochrana a manažment voľne žijúcich živočíchov tvoria dôležitú súčasť ochrany prírody (biodiverzity, krajiny) a jej aktivít. Ide o praktickú činnosť, vychádzajúcu z aktuálnych vedeckých poznatkov. Aj preto sa prax i politika ochrany prírody nezaobídu bez výsledkov výskumu, ako aj dlhodobého, pravidelného a štandardnými metódami realizovaného monitoringu. Jednotlivé úrovne biodiverzity sú vzájomne spojené kauzálnymi vzťahmi a spätnými väzbami od génov, cez jedince, druhy, populácie, spoločenstvá a ekosystémy. Prístup k pochopeniu štruktúry a dynamiky biodiverzity musí byť preto multidisciplinárny, čo sa prejavuje aj vo výskume, zahŕňajúcom mnoho rôznych deskriptívnych aj experimentálnych odborov.

Výskum a monitoring (systematický proces zberu, analýzy a interpretácie údajov o stave druhov a ich biotopov) poskytujú potrebné údaje na informované rozhodovanie a efektívnu ochranu živočíchov. Okrem základného výskumu rozšírenia a početnosti jednotlivých druhov, ich taxonómie a fylogenetických vzťahov je potrebné opierať sa aj o výsledky štúdia habitatových preferencií, populačnej a ochranárskej genetiky, potravnjej ekológie, demografických trendov, migrácií a posunov v areáloch jednotlivých druhov a ich ďalších reakciách a adaptáciách na rôzne zmeny prostredia, pretože, sa napríklad aj vplyvom zmeny klímy mení rozloženie druhov a preskupuje sa zloženie ekologických spoločenstiev, v ktorých sa vyskytujú.

Prostredníctvom kontinuálneho monitorovania musí byť hodnotená tiež účinnosť ochranárskych opatrení. Toto monitorovanie je zamerané na hodnotenie dosahovania cieľov ochrany, t. j. či realizované opatrenia vedú k merateľným zlepšeniam v populáciách druhov. Navyše integrácia vedeckého výskumu a údajov z monitorovania do manažérskych praktík umožňuje adaptívne prístupy, riešiacie aj dynamiku ochrany živočíchov. Mimoriadne dôležité sú tiež medziodborová spolupráca, dlhodobé financovanie monitoringu a politická vôľa.

Značný pokrok a rýchly rozvoj v technológiách umožnil nadobudnutie veľkého množstva informácií, čo si vyžaduje nielen znalosti a zručnosti pri ich získavaní, ale aj ich spracovaní, vyhodnotení a interpretácií.

Vyššie uvedené hlavné hnacie sily úbytku biodiverzity a genetickej rozmanitosti, spôsobujúce genetickú eróziu, znižujú nielen početnosť populácií voľne žijúcich živočíchov, ale zmenšujú tiež priestor, ktorý osídľujú (demotop). Vážnym problémom je strata genetickej variability, ktorá okrem iného umožňuje druhom, spoločenstvám a ekosystémom prispôbiť sa prostrediu, odolávať negatívnym vonkajším vplyvom a rozvíjať sa (čo je nevyhnutná podmienka evolučných zmien). Okrem toho pomáha ekosystémom, aby sa po nepriaznivých zásahoch dokázali obnoviť. Pre nastavenie a realizáciu vhodného manažmentu sú dnes preto nevyhnutné výsledky genetických analýz. Genetika a genomika zažívajú v posledných rokoch prudký rozvoj, umocnený pokračujúcim pokrokom v molekulárnej biológii. Ich uplatnenie pri meraní a ochrane biodiverzity na všetkých úrovniach, od adaptívnej variability medzi jednotlivcami až po populácie, druhy a celé ekosystémy, viedlo ku vzniku ochranárskej genetiky (*conservation genetics*), ktorá sa najčastejšie sústreďuje na málopočetné populácie ohrozených taxónov.

Významný rozvoj zaznamenali tiež viaceré na technológiách postavené invazívne (napr. telemetria), ale najmä neinvasívne metódy (akustický monitoring, fotomonitoring, využívanie bezpilotných lietadiel a pod.). Mnohé aplikácie (napr. iNaturalist, Bird Net a pod.) zvýšili možnosť aktívneho zapojenia sa širokej verejnosti do výskumu a monitoringu formou občianskej vedy (*citizen science*), čo zároveň zvyšuje popularizáciu daných aktivít.

Na uvedené skutočnosti potrebujú zareagovať aj vysoké školy. Ako vrcholné vzdelávacie a vedecké ustanovizne majú nielen potenciál realizácie monitoringu pre potreby ochrany prírody, ale tiež poskytujú vysokoškolské vzdelávanie v súlade s potrebami spoločnosti. Snahou vysokých škôl je čo najlepšia príprava absolventov do praxe. V rámci študijných programov zameraných na ochranu prírody, resp. živočíchov, je dôležité venovať pozornosť aj ich výskumu a monitoringu. Výučba, ktorej významnou súčasťou sú aj terénne cvičenia a exkurzie, sa navyše nezaobíde bez systematickej spolupráce s praxou. Vzhľadom na aktuálne dynamické zmeny v štátnej ochrane prírody na Slovensku sa, žiaľ, táto spolupráca stáva čoraz problematickejšia...

Cieľom tejto učebnice je ponúknuť stručný prehľad vybraných kapitol z problematiky výskumu a monitorovania živočíchov v ochrane prírody predovšetkým vysokoškolským študentom a doktorandom rôznych odborov, zameraných na ohrozenie a ochranu fauny, či biodiverzity ako takej, ale tiež pedagógom a kolegom z praxe ochrany prírody. Vzhľadom na značnú šírku i heterogenitu danej problematiky (na ktorú jedna učebnica zďaleka nepostačuje) prináša len vybrané kapitoly, týkajúce sa najmä informácií preberaných v rámci viacerých predmetov na fakultách, odkiaľ pochádzajú jednotliví autori.

Pripravil ju tím pracovníkov Fakulty prírodných vied Univerzity Mateja Bela v Banskej Bystrici, Lesníckej fakulty Technickej univerzity vo Zvolene, Fakulty prírodných vied a informatiky Univerzity Konštantína Filozofa v Nitre, Pedagogickej fakulty Katolíckej univerzity v Ružomberku a firmy HBH Projekt spol. s r. o. v Brne.

Veríme, že učebnica bude zdrojom základných informácií o danej, mimoriadne aktuálnej, ale aj dynamickej a rýchlo sa rozvíjajúcej problematike a prispeje k rozšíreniu znalostí a prehľadu nielen študentov vysokých škôl.

Za autorský kolektív

Peter Urban

V Banskej Bystrici, 25. septembra 2025

Literatúra

Allan *et al.* (2019), Barnoski *et al.* (2011), Breed *et al.* (2019), Buxton *et al.* (2018), Cretois *et al.* (2020), Des Roches *et al.* (2021), Dirzo *et al.* (2014), Exposito-Alonso *et al.* (2022), Haddad *et al.* (2015), Hedberg (2020), Heuertz *et al.* (2023), Hogg *et al.* (2022), IPBES (2019), Kitzmann *et al.* (2025), Liu *et al.* (2020), Mikkonen (2022), Pfenning-Butterworth *et al.* (2024), Plesník (2023, 2024), Primack *et al.* (2011), Richardson *et al.* (2023), Rockström *et al.* (2009a, b), Sabo *et al.* (2020), Steffen *et al.* (2015), UNEP (2025), Willoughby *et al.* (2015), Wilting *et al.* (2025), WWF (2023)

Pod'akovanie

Za inšpiráciu, námety, nápady, diskusie, polemiky, postrehy a pripomienky ďakujeme všetkým, ktorí akýmkoľvek spôsobom pomohli pri tvorbe učebnice, vrátane študentov, testujúcich pracovné podoby niektorých kapitol, resp. overujúcich vybrané metódy v teréne. Naša úprimná vďaka patrí tiež kolegom, ktorí prispeli cennými radami a komentármi. Sú to najmä (uvádzame ich v abecednom poradí): Mgr. Michal Adamec, PhD.; RNDr. Michal Ambros, PhD.; Ing. Jan Andreska, Ph.D.; prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.; Mgr. Matúš Búci; Ing. Martin Ceľuch, PhD.; Mgr. Miroslav Demko; RNDr. Tomáš Flajs; Mgr. Nuno Filipe de Campos Peixoto Guimaraes, PhD.; Ing. Ervín Hapl; prof. Dr. Miklós Heltai, PhD.; Mgr. Pavel Herich; Ing. Vladimír Hruz; Mgr. & Mgr. Karel Chobot, Ph.D.; RNDr. Ján Kadlecík; Mgr. Peter Kaňuch, PhD.; Ing. Šimon Kertys; RNDr. Anton Krištín, DrSc.; Mgr. Tomáš Kušík; Mgr. Jozef Lengyel, PhD.; Mgr. Alena Lenková; Mgr. Denisa Löbbová; René Nauta; Ing. Stanislav Ondruš; Dr. h. c. prof. Ing. Ladislav Paule, PhD.; RNDr. Jan Plesník, CSc.; Ing. Peter Potocký; Ján Rys; Ing. Peter Sabo, CSc.; Ing. Andrej Saxa; RNDr. Marek Sekerčák; RNDr. Andrej Stollmann; prof. Ing. Josef Suchomel, Ph.D.; Ing. Katarína Šatalová; Ing. Jerguš Tesák; Mgr. Filip Tulis, PhD.; RNDr. Jitka Uhlíková, Ph.D.

Za ochotné poskytnutie fotografií veľmi pekne ďakujeme Ing. Ervínovi Haplovi a RNDr. Stanislavovi Harvančíkovi.

Osobitná vďaka patrí recenzentom, Mgr. Jánovi Černeckému, PhD.; Ing. Vladimírovi Klíčovi, PhD.; prof. RNDr. Marcelovi Uhrinovi, PhD., za starostlivé preštudovanie rukopisu a cenné, konštruktívne pripomienky k nemu.

Pod'akovanie patrí tiež grantovej agentúre KEGA za podporu projektu KEGA č. 003UMB-4/2023 Koncepty a metódy monitoringu živočíchov v ochrane prírody.

1 Výskum a monitorovanie v ochrane prírody

Juraj Švajda, Tomáš Hrdý & Peter Urban

Výskum a monitorovanie sú kľúčové pre úspech ochrany prírody. Poskytujú potrebné údaje a informácie na adekvátne rozhodovanie a efektívnu ochranu prírody, vrátane biodiverzity. Monitorovanie sa vzťahuje na systematický proces zberu, analýzy a interpretácie údajov o stave ekosystémov, druhov a biotopov v priebehu času. Od tradičného nesystematického prieskumu sa líši práve opakovaným zberom údajov na vopred vytýčených plochách pri využití rovnakých metód. Táto kapitola skúma kľúčové aspekty výskumu a monitorovania v oblasti ochrany prírody, vrátane definície a podstaty chránených území, implementáciu smerníc Natura 2000, sumarizuje poznatky o stave druhov, ochranné opatrenia a úlohu monitorovania pri hodnotení ich účinnosti. Integráciou výskumu a monitorovania do stratégií ochrany prírody môžu manažéri chránených území a tvorcovia politik zabezpečiť dlhodobú udržateľnosť ekosystémov a biodiverzity.

Ochrana prírody a krajiny

Ochrana prírody a krajiny je dôležitou verejnoprospešnou ľudskou aktivitou. Predstavuje širokú medziodborovú spoločenskú profesijnú činnosť, usilujúcu sa o zachovanie prírody v dlhodobu priaznivom stave. Ide o starostlivosť o prírodné a krajinné dedičstvo, založenú na vedeckých základoch, vykonávanú vo verejnom záujme štátnou a verejnou správou, dobrovoľnými organizáciami a jednotlivcami s cieľom podporiť biodiverzitu a zachovať základné životodarné procesy a funkcie ekosystémov. Je to praktická činnosť, založená na dôkazoch (*evidence-based conservation*) a vychádza z aktuálnych vedeckých poznatkov, ako aj zo skúseností dobrej a zlej praxe. Najmä biológia ochrany prírody (*conservation biology*) by mala poskytovať robustné dôkazy pre jej koncepčný rámec, stratégie, programy a projekty, vrátane každodennej praktickej činnosti.

V strednej Európe sa k prírode, na rozdiel od anglosaského, resp. ruského vymedzenia danej disciplíny, k prírode pridáva aj krajina. V širšom zmysle slova sa preto ochrana prírody chápe ako realizácia aktivít, cieľom ktorých je vytvoriť, zlepšiť, alebo udržiavať dobré vzťahy človeka s prírodou.

Box 1. Príroda a krajina

Príroda je reálny svet, ktorý nás obklopuje a na vzniku ktorého nemal človek podiel, ale je na ňom existenčne závislý (UN 1972). Ide o hmotný svet, ktorý zahŕňa živú aj neživú zložku, ale bez človeka a jeho produktov.

Krajina je životný priestor zložený z prírodných prvkov a ľudských výtvorov (UN 1972). Po náročných diskusiách v Dohovore o krajine Rady Európy (pôvodný názov Európsky dohovor o krajine, prijatý v roku 2000 vo Florencii, zameranom na celkové posilnenie významu krajiny, jej ochrany, manažmentu, plánovania a starostlivosti v celom rozhodovacom procese a v medzinárodnej spolupráci) znamená krajina časť územia, tak ako ju vnímajú ľudia, ktorej charakter je výsledkom činností a vzájomného pôsobenia prírodných a/alebo ľudských faktorov (Council of Europe 2000).

Ochrana prírody prekonala v globálnom, európskom i slovenskom kontexte zaujímavý, ale logický vývoj. Človek síce chránil určité časti prírody od samotného počiatku ľudskej civilizácie, ale dôvody, prečo tak činil sa líšili. Spočiatku boli ochranné snahy riadené najmä hospodárskymi záujmami človeka (ochranou vlastníctva a majetkových vzťahov), svetonázorovými (najmä náboženskými) motívmi, neskôr k nim pristúpil osvietenecko-humanistický záujem. Ako svojbytný odbor ľudskej činnosti vznikla ochrana prírody až začiatkom 19. storočia, kedy začal prevažovať pragmatický prístup založený na vedeckých základoch. Aj inštitucionalizovaná ochrana prírody však prechádzala svojim vývojom (tab. 1 a 2).

Tab. 1. Základné etapy vývoja ochrany prírody a krajiny ako samostatného odboru (podľa Mace 2014, Plesník 2022).

Názov obdobia	Doba trvania	Základný rámec	Hlavné témy
romantické obdobie	1810 – 1880	• romantická príroda	• ochrana mimoriadnych a zaujímavých druhov a javov • zriaďovanie chránených území
obdobie divočiny	1880 – 1950	• divočina • príroda ako pamiatka	• ochrana plôch čo najmenej dotknutých ľudskou činnosťou • úcta k prírode, etika Zeme
konzervačné obdobie	1950 – 1980	• rovnováha v prírode	• vytváranie reprezentatívnej sústavy chránených biotopov/typov prostredia • druhová ochrana zameraná na ohrozené taxóny
obdobie starostlivosti	1980 – 2005	• biodiverzita • udržateľné využívanie	• vytváranie ekologických sietí • všeobecná druhová ochrana • ochrana genofondu, vrátane repatriácie cieľových organizmov a posilňovanie ich populácií • medzinárodná spolupráca • bioinformatika • monitorovanie biodiverzity • dynamická krajinná ekológia
obdobie integrácie	od r. 2005	• ekosystémová integrita • ekosystémové služby a prírodný kapitál	<i>viď nasledujúca tabuľka</i>

Tab. 2. Charakteristika súčasnej etapy vývoja ochrany prírody a krajiny (podľa Plesník 2022, 2023).

Názov obdobia	Doba trvania	Základný rámec	Hlavné témy
obdobie integrácie	od. r. 2005	• ekosystémová integrita	• začlenenie ochrany prírody do činnosti iných rezortov a sektorov
		• ekosystémové služby a prírodný kapitál	• ochrana prírody založená na dôkazoch
			• ekosystémový prístup a „nové“ nerovnovážne poňatie ekosystému
			• adaptívny manažment (adaptívna starostlivosť) o prírodu a krajinu
			• genetické zdroje, génové inžinierstvo, syntetická biológia, molekulárna ekológia
			• priestorová ekológia a územné plánovanie
			• zelená infraštruktúra
			• účastnícky (participatívny) prístup
			• ekológia globálnych zmien
			• využívanie poznatkov spoločenských, ekonomických a politických vied
			• diaľkový prieskum Zeme
			• oživovanie (deextinkcia) vyhynutých druhov
			• nakladanie s inváznymi nepôvodnými druhmi

Aktuálna ochrana prírody a krajiny je (mala by byť) založená na piatich hlavných pilieroch:

1. legislatívnom rámci;
2. vlastnej starostlivosti o prírodu a krajinu, vrátane využitia ekonomických nástrojov;
3. vede, výskume, odbornom prieskume a monitoringu;
4. výchove, vzdelávaní a informovanosti najširšej verejnosti a vybraných skupín obyvateľstva s cieľom získať ich podporu;
5. na rozumnej kombinácii všetkých predošlých štyroch pilierov.

Box 2. Ochrana prírody a krajiny

„Ochranou prírody a krajiny sa podľa tohto zákona rozumie starostlivosť štátu, právnických osôb a fyzických osôb o voľne rastúce rastliny, voľne žijúce živočíchy a ich spoločenstvá, prírodné biotopy, ekosystémy, nerasty, skameneliny, geologické a geomorfologické útvary, ako aj starostlivosť o charakteristický vzhľad a využívanie krajiny. Ochrana prírody a krajiny sa realizuje najmä obmedzovaním a usmerňovaním zásahov do prírody a krajiny vrátane ochrany prírodných procesov, podporou a spoluprácou s vlastníkmi, správcami a užívateľmi pozemkov, ako aj spoluprácou s orgánmi štátnej správy, obcami, samosprávnymi krajmi, štátnymi odbornými organizáciami, vedeckými inštitúciami a mimovládnyimi organizáciami, ktorých predmetom činnosti je ochrana prírody a krajiny. Ochrana prírody a krajiny sa podľa tohto zákona realizuje vo verejnom záujme.“

§ 2 Zákona NR SR č. 543/2002 Z. z. o ochrane prírody a krajiny (v znení neskorších zmien a doplnkov)

Ochrana prírody, resp. biodiverzity predstavuje mimoriadne zložitú problematiku najmä v tom, že musí byť efektívna v kontexte normatívnom (napr. ktorú zložku biodiverzity chrániť a prečo) i vedeckom (napr. ako efektívne a účinne chrániť biodiverzitu v danom území). Tradične sa člení na územnú a druhovú ochranu.

Územná ochrana prírody patrí k najstarším a zároveň najrozšírenejším spôsobom starostlivosti o prírodné a krajinné dedičstvo.

Chránené územia sa počas svojho vývoja stali nenahraditeľnými ekologickými, kultúrnymi, sociálnymi aj ekonomickými entitami. Ich zriaďovanie a vhodné (účinné) manažovanie sa v súčasnosti považuje za kľúčovú stratégiu udržania biodiverzity a život podporujúcich procesov v prírode, ktorých prínosy ľuďstvu sú označované ako ekosystémové služby. Sú dôležité pre dlhodobé zachovanie ekosystémových procesov a podporu vysokej úrovne perzistencie biodiverzity.

Pod chráneným územím sa rozumie jasne vymedzený geografický priestor uznávaný právnymi a inými účinnými prostriedkami, určený a spravovaný tak, aby sa v ňom dosiahla dlhodobá ochrana prírody a s ňou súvisiace ekosystémové služby a kultúrne hodnoty.

Efektívna a účinná územná ochrana by mala prebiehať v štyroch základných fázach:

1. vyhlasovanie chránených území (obr. 1);
2. účinná správa a starostlivosť o tieto územia;
3. ochrannárske opatrenia mimo chránených území, vrátane funkčných biokoridorov;
4. obnova spoločenstiev rastlín a živočíchov v poškodených oblastiach.



Obr. 1. Národná prírodná rezervácia Skalka v Národnom parku Nízke Tatry bola vyhlásená za účelom ochrany ekosystémov montánnej a vysokohorskej glaciálno-hôľnej krajiny (foto © Peter Urban)

Cieľom druhovej ochrany rastlín a živočíchov (ako súčasť moderného integrovaného prístupu k ochrane prírody) je udržanie dostatočne početných a teda aj geneticky kvalitných populácií pôvodných voľne rastúcich rastlín a voľne žijúcich živočíchov, schopných dlhodobej samostatnej existencie, v dostatočne veľkom a minimálne znečistenom prostredí v snahe o zamedzenie ich nadužívania, degradácie, vyhynutia, či vyhubenia. Základom ochrany druhov je ochrana ich biotopov a ekosystémových väzieb.

Vychádza z princípov ekologickej integrity, ktorá vyjadruje mieru neporušenosti, autenticity (pôvodnosti a prirodzenosti usporiadania), funkčnosti, rezistencie (odolnosti) a reziliencie (pružnosti) ekologickeho systému. Ide o schopnosť konkrétneho ekosystému fungovať spontánne na základe pôvodných autoorganizačných a autoregulačných mechanizmov, pri súčasnom zachovaní pôvodnej alebo prirodzenej štruktúry, t. j. o jeho kapacitu podporovať a udržiavať sa ako vyrovnaný, celistvý a adaptívny celok so štruktúrou (druhovým zložením, diverzitou a funkčnou organizáciou) a procesmi porovnateľnými s prírodným ekosystémom príslušnej oblasti.

Určitou nevýhodou aplikácie ekologickej integrity v praxi ostáva otázka, čo môžeme považovať za prírodný ekosystém, rovnako ako aj značná heterogenita, komplexnosť, dynamika ekosystémov, ale tiež vnášanie ľudských predstáv o fungovaní prírody.

Ochranársky manažment musí byť pružný, rýchlo a vhodne reagujúci na dané zmeny. Vyžaduje si adaptívny manažment, t. j. štruktúrovaný, iteratívny proces rozhodovania pri nejistej situácii s cieľom postupne znižovať neistotu prostredníctvom monitorovania systému. Adaptívne riadenie je široko aplikované v ochrane prírody.

Porozumenie stavu druhov a biotopov v chránených územiach je nevyhnutné pre efektívnu ochranu prírody. Inventarizačné prieskumy, priebežné monitorovanie a výskum poskytujú základné údaje potrebné na hodnotenie zdravia ekosystémov. Tieto poznatky tvoria základ na stanovenie cieľov ochrany a implementáciu stratégií prispôbených konkrétnym druhom a biotopom.

Prostredníctvom inventarizačného výskumu, monitorovania druhov a hodnotenia ochranných opatrení môžu ochranári zabezpečiť, že druhy a ekosystémy budú adekvátne chránené. Integrácia vedeckého výskumu a údajov z monitorovania do manažerských praktík umožňuje adaptívne prístupy, ktoré riešia dynamickú a komplexnú povahu ochrany biodiverzity. Pokračujúca investícia do týchto oblastí je kľúčová pre ochranu a obnovu globálnej biodiverzity.

Napriek tomu, že sa v poslednom polstoročí výskum a monitoring v oblasti ochrany biodiverzity v celosvetovom pohľade výrazne zvýšili, v našich aktuálnych poznatkoch o globálnej biodiverzite stále existujú obrovské nedostatky. Okrem iného to súvisí aj so zameraním výskumu na určite preferované ekosystémy (výskumu suchozemských biotopov sa venuje veľká pozornosť, kým výskum vnútrozemských, brakických a morských vôd má aj napriek ich značnému rozšíreniu a ohrozeniu, podstatne nižší podiel) a skupiny organizmov (živočíchy sú viac študované ako rastliny, pričom stavovce sú nadmerne zastúpené v porovnaní s bezstavovcami).

Podobne kvalitné vedecké časopisy uverejňujú častejšie články o populárnych druhoch / taxónoch. Negatívnu úlohu zohrávajú aj pomerne vysoké poplatky za uverejnenie článkov, čo môže vedcov, resp. vedecké tímy z chudobnejších (hoci na biodiverzitu mimoriadne bohatých) štátov odradiť od publikovania v takomto type periodík. Časť vedeckých a odborných prác s cennými informáciami o biodiverzite je publikovaná v inom ako (univerzálnom) anglickom jazyku a k mnohým odborníkom sa preto tieto informácie nedostanú.

V praxi to znamená, že sa nielen výskumníci, ale najmä odborníci a praktickí manažéri v oblasti ochrany prírody musia vysporiadať s nedostatočnými a nereprezentatívnymi údajmi, čo môže viesť k chybám v stanovovaní priorít a plánovaní ochrany a k ťažkostiam s predpovedaním a modelovaním reakcií daných organizmov, populácií, spoločenskí i ekosystémov na prebiehajúce i predpokladané zmeny a tlaky.

Box 3. Výskum, prieskum, monitoring

„Za účelom poznania a ochrany osobitne chránených častí prírody a krajiny sa podporuje ich výskum, prieskum, monitoring a ďalšie činnosti zamerané na zisťovanie výskytu a stavu biotopov európskeho významu, biotopov národného významu, druhov európskeho významu a druhov národného významu a ich biotopov, významných geologických a geomorfologických lokalít a možných vplyvov na ne.“

§ 56 Zákona NR SR č. 543/2002 Z. z. o ochrane prírody a krajiny (v znení neskorších zmien a doplnkov)

Monitorovanie je systematické kontinuálne alebo prerušované opakované pozorovanie a meranie environmentálnych premenných na vopred stanovených plochách, pri využití rovnakých metód, s cieľom zistiť zmeny v čase, resp. testovať mieru zhody s vopred určeným očakávaným štandardom alebo významnosť odchýlky od neho, vyhodnotiť účinnosť opatrení ochrany a podporiť rozhodovanie. Monitorovanie je kľúčové pri detekcii poklesu biodiverzity a zmien biotopov. Aby bolo možné výsledky porovnateľne interpretovať v čase a priestore, monitorovanie musí byť založené na vopred stanovenej, jednotnej a dlhodobo udržateľnej metodike.

Indikátorové druhy sú organizmy, ktorých prítomnosť, absencia alebo zdravotný stav odráža širší ekologický stav biotopu. Tieto druhy sú nevyhnutné pri hodnotení úspešnosti ochrany a celkového stavu ekosystému. Napríklad prítomnosť niektorých obojživelníkov, ako je rosnička zelená (*Hyla arborea*), môže signalizovať kvalitu mokradí, zatiaľ čo populačná dynamika dravých vtákov môže naznačovať stav potravných reťazcov.

Inventarizačné prieskumy sú nevyhnutné na pochopenie špecifických potrieb druhov typických pre daný biotop. Tieto prieskumy sa zameriavajú na kľúčové biotopy, ako sú mokrade, lesy, lúky a pobrežné oblasti. Poznanie rozšírenia a populačných trendov druhov v týchto biotopoch umožňuje vytváranie manažmentových plánov, ktoré zabezpečujú ich trvalú existenciu.

Zubor (*Bison bonasus*) (obr. 2) je vlajkový druh pre lesné ekosystémy východnej Európy. Monitorovaním populačných trendov, reprodukčného úspechu a genetickej rozmanitosti môžu ochranári hodnotiť účinnosť projektov obnovy biotopov a zabezpečiť dlhodobé prežitie tohto druhu v divočine.



Obr. 2. Zubor (*Bison bonasus*) (foto © Stanislav Harvančík)

Pre efektívne využitie poznatkov v praxi je veľmi dôležité spomínané spôsoby vhodne kombinovať a to najmä mapovanie a monitoring. Mapovanie prináša základné kvantitatívne a monitoring špecifické kvalitatívne informácie, pričom tieto sa navzájom dopĺňajú.

Implementácia ochranárskych opatrení – monitorovanie ich účinnosti

Ochranárske opatrenia zahŕňajú širokú škálu aktivít, ako je ochrana biotopov a ich obnova, vytváranie chránených území, presadzovanie zákonov proti nelegálnemu lovu a podpora udržateľného využívania krajiny. Tieto opatrenia sú navrhnuté na zníženie alebo eliminovanie hrozieb pre biodiverzitu a zabezpečenie prežitia druhov a ekosystémov.

Účinnosť ochranárskych opatrení musí byť hodnotená prostredníctvom kontinuálneho monitorovania. To zahŕňa hodnotenie, či sa dosahujú ciele ochrany a či realizované opatrenia vedú k merateľným zlepšeniam v populáciách druhov, podmienkach biotopov a ekosystémových službách.

Adaptívne riadenie je rámec, ktorý zahŕňa monitorovanie údajov na úpravu ochranárskych stratégií v reakcii na meniace sa environmentálne podmienky alebo nečakané výsledky. Neustálym hodnotením výsledkov ochranárskych opatrení adaptívne riadenie zabezpečuje, že opatrenia zostanú účinné pri dosahovaní ochranárskych cieľov.

V Škótskej vysočine boli snahy o obnovu pôvodných lesov doplnené o monitorovacie programy, ktoré sledujú obnovu kľúčových druhov ako tetrov hlucháň (*Tetrao urogallus*). Monitorovanie poskytlo kritické poznatky o úspechu obnovy biotopov a dopade ochranárskych opatrení na biodiverzitu.

Výskum a monitorovanie sú nevyhnutné súčasťou úspešnej ochrany prírody. Prostredníctvom inventarizačného výskumu, monitorovania druhov a hodnotenia ochranných opatrení môžu ochranári zabezpečiť, že druhy a ekosystémy budú adekvátne chránené. Integrácia vedeckého výskumu a údajov z monitorovania do manažérskych opatrení umožňuje adaptívne prístupy, ktoré riešia dynamickú a komplexnú povahu ochrany biodiverzity.

Dizajn monitoringu

Monitorovanie je kľúčovou súčasťou ochrany prírody, ktorá umožňuje vedcom a odborníkom na ochranu prírody hodnotiť účinnosť ochranných opatrení, zisťovať environmentálne zmeny a informovať o adaptívnych manažérskych stratégiách. Dizajn monitorovacieho programu musí byť robustný, integrujúci jasne definované ciele, vhodné priestorové a časové škály a systematický prístup k zberu a analýze dát. Táto kapitola popisuje kľúčové aspekty všeobecného dizajnu monitorovania, so zameraním na proces nastavenia merateľných cieľov, zváženia priestorového dizajnu (vrátane výberu študijných a monitorovacích oblastí) a časového dizajnu potrebného pre efektívne výskumné a monitorovacie programy.

Nastavenie merateľných cieľov

Základom akéhokoľvek monitorovacieho programu je stanovenie jasných, merateľných cieľov. Tieto ciele riadia výber premenných na monitorovanie, ovplyvňujú dizajn priestorového a časového vzorkovania a definujú prístupy k analýze dát. Proces stanovenia cieľov musí zohľadniť celkové ciele ochrany prírody a otázky, na ktoré chce monitorovací program odpovedať.

Pri nastavovaní cieľov by sa mali zväziť nasledujúce kroky:

- Definovanie účelu – monitorovanie môže slúžiť rôznym účelom, vrátane hodnotenia stavu druhov alebo biotopov, hodnotenia úspešnosti ochranných zásahov alebo zisťovania environmentálnych zmien. Identifikovanie účelu pomáha zúžiť zameranie monitorovacieho programu.
- SMART ciele – S – Specific (špecifické, konkrétne), M – Measurable (merateľné), A – Achievable (niekedy Attainable*)* (dosiahnuteľné), R – Relevant (relevantné, významné), T – Time-bound (časovo ohraničené) - efektívne monitorovacie programy musia mať ciele, ktoré sú SMART. To zabezpečuje, že ciele sú nielen jasné a merateľné, ale aj realistické a dosiahnuteľné v kontexte dostupných zdrojov. Napríklad SMART cieľ môže znieť: „Hodnotiť trend populácie ohrozeného druhu X v regióne Y počas nasledujúcich 5 rokov prostredníctvom ročných prieskumov.“
- Formulácia hypotéz – monitorovanie sa často vykonáva na testovanie hypotéz týkajúcich sa vplyvom určitých premenných (napr. vyrušovanie človekom, zmena klímy) na druhy alebo ekosystémy. Tieto hypotézy by mali byť explicitné, testovateľné a podložené ekologickou teóriou. Monitorovanie riadené hypotézami zabezpečuje cieleň zber dát a výsledky využiteľné pri manažérskych rozhodnutiach.
- Výber indikátorov – výber vhodných indikátorov je kľúčovým krokom pri dizajne monitorovacieho programu. Indikátory sú konkrétne premenné, ktoré odrážajú stav alebo trendy objektu štúdie. Pri monitorovaní druhov to môžu byť faktory ako veľkosť populácie, úspešnosť rozmnožovania alebo zdravotný stav. Indikátory by mali byť vybrané na základe ich schopnosti spoľahlivo reprezentovať sledovaný jav a ich merateľnosti v študovanej oblasti.

Priestorový dizajn monitoringu

Priestorový dizajn monitorovacieho programu definuje, kde sa výskum a monitorovanie uskutočnia. Správny priestorový dizajn je nevyhnutný na získanie reprezentatívnych a nestranných dát, ktoré môžu informovať o lokálnych i širších cieľoch ochrany prírody.

Kľúčové faktory priestorového dizajnu zahŕňajú:

- Výber študijných a monitorovacích oblastí – výber monitorovacích lokalít by mal byť založený na cieľoch programu a ekologickom kontexte sledovaného druhu alebo biotopu. Napríklad monitorovanie druhu závislého na určitej kvalite biotopu môže vyžadovať výber oblastí, kde je známy jeho výskyt, alebo oblastí, ktoré predstavujú gradient podmienok biotopu (napr. narušené vs. nenarušené biotopy). Dôležité je tiež zvážiť dostupnosť, potenciál pre rušenie a pravdepodobnosť, že vybrané oblasti reprezentujú širšie ekologické súvislosti.
- Priestorová škála – škála monitorovania môže byť rôzna – od malých, lokálnych oblastí (napr. jednotlivé lesné porasty) po rozsiahle krajinné alebo regionálne územia (napr. celé povodie rieky). Priestorová škála by mala byť zladená s výskumnými otázkami a cieľmi ochrany prírody. Napríklad monitorovanie populácie migrujúceho druhu môže vyžadovať údaje z viacerých miest na širokej geografickej škále na posúdenie migračných vzorcov a využívania biotopov.
- Náhodné vs. stratifikované vzorkovanie – v závislosti od dizajnu štúdie môžu vzorkovacie metódy zahŕňať náhodné vzorkovanie alebo štruktúrované stratifikované vzorkovanie. Stratifikovaný výber vzoriek, kde sa študijná oblasť rozdelí na rôzne ekologické zóny, môže zvýšiť efektivitu monitorovacieho programu tým, že zabezpečí, že všetky relevantné biotopy alebo podmienky budú zastúpené. Náhodný výber vzoriek môže byť uprednostnený, ak je cieľom hodnotiť všeobecné trendy na veľkých, homogénnych plochách. Cieľom stratifikácie a náhodného výberu plôch je využitie zozbieraných údajov pre následnú extrapoláciu na širšie územie (napr. národnú úroveň).
- Ochranné zóny a konektivita biotopov – pri návrhu monitorovacích lokalít je dôležité zohľadniť ekologické procesy a význam konektivity biotopov. Ochrannárske opatrenia sa často zameriavajú na zachovanie alebo obnovenie koridorov, ktoré spájajú fragmentované biotopy. Monitorovacie programy by mali byť navrhnuté tak, aby zachytávali zmeny v konektivite a integrite ochranných zón.

Časový dizajn

Časový dizajn sa zaoberá tým, kedy a ako často sa budú monitorovacie aktivity vykonávať. Časovanie zberu dát musí byť starostlivo zvážené, aby sa zachytili sezónne variácie a dlhodobé trendy.

Časový dizajn zahŕňa nasledujúce kroky:

- Frekvencia monitorovania – frekvencia zberu dát by mala odrážať dynamiku ekologického systému, ktorý sa študuje, a ciele monitorovacieho programu. Napríklad monitorovanie druhu s vysokými reprodukčnými rýchlosťami môže vyžadovať ročné alebo dokonca sezónne prieskumy, zatiaľ čo monitorovanie dlhodobo žijúcich druhov alebo pomaly sa meniaceho biotopu môže byť vykonávané menej často (napr. každých 3 – 5 rokov).
- Trvanie monitorovania – monitorovacie programy by mali byť navrhnuté tak, aby trvali dostatočne dlho na detekciu trendov a zmien v systéme. Krátkodobé monitorovanie nemusí poskytnúť dostatok dát na identifikáciu dlhodobých ekologických zmien, zatiaľ čo dlhodobé monitorovanie umožňuje hodnotenie postupných zmien alebo reakcií na klimatickú zmenu alebo manažmentové opatrenia.

- Časové rozlíšenie – sa týka časových intervalov, počas ktorých sa zbierajú dáta pri každej monitorovacej akcii. Vysoké rozlíšenie dát môže byť potrebné na sledovanie rýchlych zmien, ako sú reakcie na náhle prírodné disturbance (napr. požiar alebo povodeň), zatiaľ čo nižšie rozlíšenie môže postačovať na sledovanie pomalších procesov, ako sú demografické trendy u dlhodobo žijúcich druhov.
- Časovanie vzorkovania – konkrétne časovanie zberu dát je kľúčové pri zachytávaní relevantných životných štádií druhov alebo ekologických procesov. Napríklad monitorovanie úspešnosti rozmnožovania u vtákov by sa malo vykonávať počas hniezdnej sezóny, a hodnotenie stavu biotopov môže byť najlepšie vykonané počas vegetačnej sezóny rastlín alebo po vrcholových dažďoch pre vodné druhy.

Plánovanie výskumu a monitorovania v súvislosti s cieľmi

Po stanovení cieľov, priestorového dizajnu a časového dizajnu sa stáva ďalším kľúčovým krokom plánovanie výskumných a monitorovacích aktivít.

Plánovanie musí zohľadniť nasledujúce oblasti:

- Alokácia zdrojov – efektívne monitorovacie programy si vyžadujú starostlivé rozdelenie finančných, ľudských a technických zdrojov. To zahŕňa zabezpečenie financovania, školenie personálu a zabezpečenie potrebného vybavenia. Obmedzené zdroje treba zohľadniť pri navrhovaní rozsahu monitorovacieho programu. Je potrebné preferovať dlhodobú udržateľnosť na úkor jednorázového robustného zberu dát.
- Správa dát a analýza – silný systém správy dát je nevyhnutný na zabezpečenie kvality a prístupnosti dát. To zahŕňa vypracovanie protokolov pre zber, ukladanie a analýzu dát. Pokročilé štatistické techniky, ako je analýza časových radov alebo priestorové modelovanie, môžu byť nevyhnutné na interpretáciu zložitých ekologických dát. V súčasnosti sa žiadny komplexný systém monitoringu nezaobíde bez využitia IT nástrojov, budovanie databázy s údajmi a ich správou. Pri plánovaní monitoringu je nevyhnutné alokovať dostatok finančných a ľudských zdrojov práve na túto časť.
- Adaptívne riadenie – monitorovanie by malo byť súčasťou adaptívneho manažmentu. Ako sa získavajú nové informácie, monitorovacie stratégie by sa mali upravovať tak, aby odrážali zmeny v ekologických podmienkach alebo cieľoch ochrany prírody. Tento prístup zabezpečuje, že monitorovací program zostáva flexibilný a reaguje na nové problémy alebo zistenia.
- Zapojenie zainteresovaných strán – nakoniec je dôležité zapojiť kľúčových aktérov do monitorovacieho procesu. Miestne komunity, organizácie ochrany prírody a vládne agentúry by mali byť zapojené do definovania cieľov a interpretácie výsledkov. Zapojenie zainteresovaných strán podporuje spoluprácu, zvyšuje pravdepodobnosť dlhodobého úspechu monitorovania a zabezpečuje, že výsledky monitorovania sú relevantné pre širšiu komunitu.

Navrhovanie efektívneho monitorovacieho programu pre ochranu prírody je zložitý proces, ktorý si vyžaduje starostlivé zváženie cieľov, priestorových a časových faktorov a praktických implementačných stratégií. Jasné pochopenie účelu monitorovania, vhodný výber študijných oblastí a správne načasovanie zberu dát sú kľúčové pre získanie spoľahlivých a akčných informácií. Keď je dizajn správny, monitorovanie môže poskytnúť neoceniteľné informácie na podporu ochrany prírody, pomôcť odhaliť včasné signály environmentálnych zmien a umožniť adaptívny manažment na zachovanie biodiverzity a ekosystémových služieb.

1.1 Výskum a monitorovanie v ochrane prírody na Slovensku

V ochrane prírody na Slovensku sa uskutočňuje viacero rôznych prieskumov, mapovaní, výskumov a monitoringov. Aktuálne sa najväčšia pozornosť sústreďuje na monitoring vyplývajúci z dvoch smerníc Európskej komisie v rámci programu Natura 2000.

Natura 2000 je európska sústava chránených území, ktorú členské štáty Európskej únie vyhlasujú podľa jednotných princípov pre zachovanie najcennejších a ohrozených druhov a biotopov Európy. Cieľom tejto sústavy je zabezpečiť ochranu – dosiahnutie a udržanie priaznivého stavu ochrany (*Favourable Conservation Status, FSC*) – tých druhov rastlín, živočíchov a typov prírodných biotopov, ktoré sú z európskeho pohľadu najcennejšie, najohrozenejšie, vzácne, resp. svojim výskytom obmedzené len na určitú oblasť.

Počtom lokalít (nie ich rozlohou) ide o najväčšiu sústavu chránených území na svete, zriaďovaných podľa rovnakých pravidiel. V júni 2023 bolo v rámci EÚ (mimo Spojeného kráľovstva) vymedzených spolu 5 432 chránených vtáčích území a 23 771 území európskeho významu. Výmera suchozemských lokalít je 768 956 km² (18,6 % výmery členských štátov Európskej únie) a morských lokalít 525 920 km².

Výtvorenie sústavy Natura 2000 vyplýva z ustanovení dvoch smerníc Európskej únie:

1. Smernice Rady č. 79/409 EHS o ochrane voľne žijúcich vtákov (smernica o vtákoch), ktorú neskôr nahradila smernica Európskeho parlamentu a Rady 2009/147/ES z 30. novembra 2009 o ochrane voľne žijúceho vtáctva. Chráni voľne žijúce druhy vtákov a dôležité biotopy pre ich zachovanie a na ich ochranu sa vyhlasujú „osobitne chránené územia“ (*Special Protection Areas – SPAs*). Na Slovensku sú to Chránené vtáče územia (CHVÚ) a vymedzujú sa pre 81 druhov vtákov. Implementovať smernicu o vtákoch pomáha Európskej komisii výbor *Ornis Committee*, ktorý okrem iného navrhuje aj zoznam prioritných druhov vtákov, pre ktoré sa majú vypracovať a realizovať záchranné programy a zoznam tzv. lovených druhov, pre ktoré majú byť realizované programy starostlivosti. Prioritnými druhmi sú celosvetovo ohrozené druhy pravidelne sa vyskytujúce na území EÚ.
2. Smernica Rady Európskych spoločenstiev č. 92/43/EHS o ochrane prirodzených biotopov a voľne žijúcich živočíchov a rastlín (tzv. smernica o biotopoch), ktorej cieľom je udržanie/zlepšenie priaznivého stavu európsky významných biotopov a populácií významných druhov rastlín a živočíchov. Na ich ochranu sa vyhlasujú „osobitné územia ochrany“ (*Special Areas of Conservation – SACs*). Na Slovensku sú to Územia európskeho významu (ÚEV) a vymedzujú sa pre 68 biotopov európskeho významu (príloha I smernice), biotopy 49 druhov rastlín európskeho významu a 105 druhov živočíchov európskeho významu. Niektoré z nich sa však považujú za vyhynuté a nie sú pre ne navrhnuté žiadne územia. Na rozdiel od smernice o vtákoch sa ochrana druhov nevzťahuje na všetky druhy prirodzene sa vyskytujúce na území členských štátov EÚ, ale týka sa len druhov uvedených v prílohe II, IV a V smernice, pričom územia sa vyhlasujú len pre druhy z prílohy II, druhy uvedené v prílohe IV ak sa vyskytujú v území, tak sa považujú za prísne chránené a druhy z prílohy V sú druhy, ktoré sú chránené avšak za určitých jasne stanovených podmienok je možné ich zbierať alebo obchodovať s nimi.

Obe smernice v prílohách taxatívne vymenúvajú, pre ktoré druhy rastlín, živočíchov a typy prírodných biotopov majú byť lokality sústavy Natura 2000 vymedzené.

Niektoré druhy či typy prírodných biotopov môžu byť označené ako „prioritné“

(* pred menom). Pre prioritné druhy a typy prírodných biotopov platia prísnejšie kritériá ochrany ako pre ostatné (neprioritné).

Európska komisia uplatňuje tzv. biogeografický princíp, t. j. hodnotenie za jednotlivé biogeografické regióny. V súčasnosti je ich celkový počet v EÚ 9: alpský, atlantický, boreálny, kontinentálny, makaronézsky, mediteránny, panónsky, stepný a čiernomorský (obr. 3). Územie Slovenska sa nachádza v dvoch: alpskom (71 %) a panónskom (29 %).



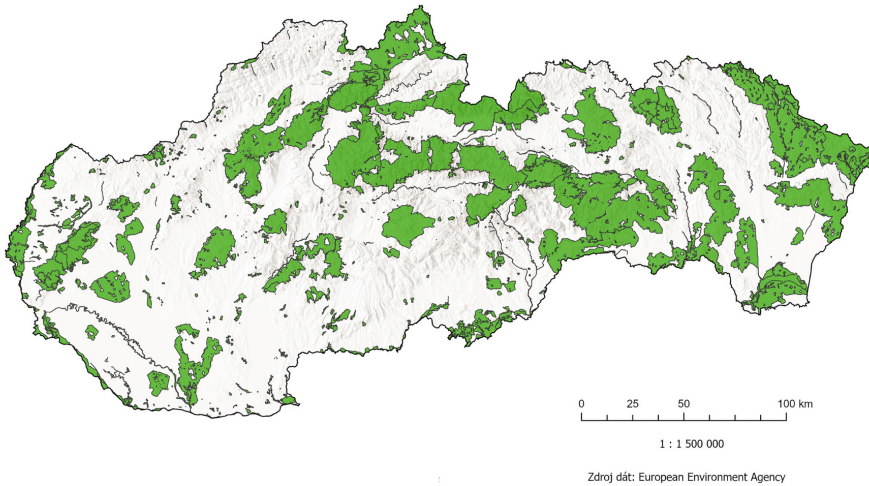
Obr. 3. Biogeografické regióny Európy (zdroj: European Environment Agency, publikované 19. júna 2017, upravené 20. septembra 2024)

Pre jednotlivé biotopy a druhy rastlín a živočíchov sú vypracúvané odporúčané manažmentové opatrenia, ktoré sa stali východiskom pre zásady starostlivosti o biotopy európskeho významu a biotopy druhov európskeho významu v územiach európskeho významu. Zásady starostlivosti o biotopy a druhy európskeho významu v územiach európskeho významu sú dokumentáciou ochrany prírody a krajiny.

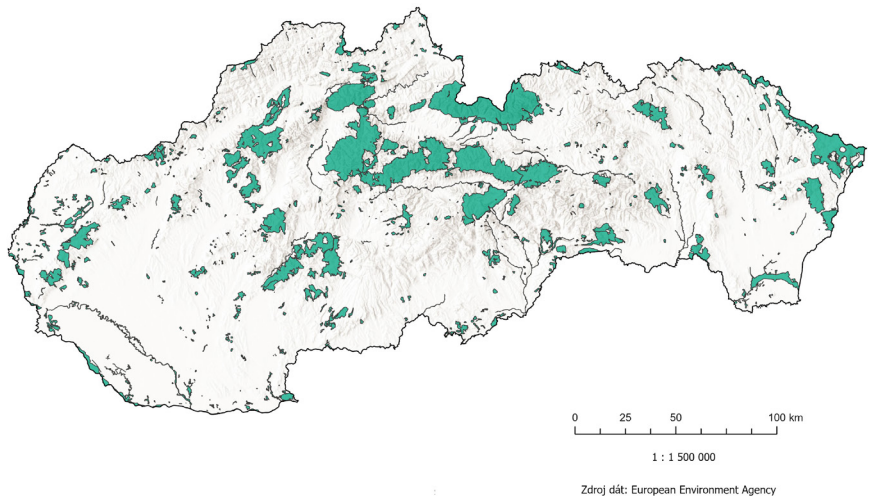
Podľa článku 12 smernice o vtácoch a podľa článku 17 smernice o biotopoch podávajú členské štáty EÚ každých 6 rokov pravidelné správy (reporting) o stave biotopov a druhov v predpísanej databázovej štruktúre a forme. Pravidelný a systematický monitoring je zameraný na pravidelné zisťovanie, hodnotenie a dlhodobé sledovanie stability, zmien a vývojových trendov tohto stavu podľa zadaných parametrov. Jeho základným princípom je systematický zber dát o stave jednotlivých druhov a biotopov vzorkovaním v teréne pri použití rovnakých metód a na tých istých plochách, tzv. trvalých monitorovacích lokalitách (TML). Týmto princípom sa monitoring odlišuje od klasického mapovania v teréne.

Na Slovensku, ktoré sa stalo členským štátom Európskej únie 1. mája 2004, boli obe smernice transponované ešte pred týmto termínom do zákona NR SR č. 543/2002 Z. z. o ochrane prírody a krajiny.

Sústavu Natura 2000 na Slovensku v súčasnosti tvorí 41 chránených vtáčích území (obr. 4) a 644 území európskeho významu (obr. 5). 18. októbra 2023 vláda Slovenskej republiky schválila nariadenie vlády pre národný zoznam ÚEV, obsahujúci všetky lokality, ktoré boli vyhlásené vo viacerých etapách a rôznych obdobiach (2004, 2017, 2018 a 2022). Súčasne došlo ku zlúčeniu 95 ÚEV, ktoré v minulosti rozširovali už existujúce ÚEV (a mali teda rovnaký názov, ale odlišný kód), čím sa počet ÚEV znížil zo 739 na 644 a národný zoznam sa sprehľadnil. Nariadenie vlády Slovenskej republiky č. 451/2023 Z. z., ktorým sa ustanovuje národný zoznam území európskeho významu, nadobudlo účinnosť 1. januára 2024.



Obr. 4. *Chránené vtáčie územia na Slovensku (upravil Tomáš Hrdý)*



Obr. 5. *Územia európskeho významu na Slovensku (upravil Tomáš Hrdý)*

Monitorovací systém bol na Slovensku zavedený v roku 2013 pre 65 biotopov, 146 druhov živočíchov, 49 druhov rastlín (40 druhov vyšších rastlín a 9 druhov machorastov) a od roku 2023 aj pre 236 druhov vtákov (43 metodických skupín). Každý biotop a druh má vlastnú monitorovaciu sieť trvalých monitorovacích lokalít (TML) a metodiku monitoringu. Pre biotopy, rastliny a živočichy je založených celkovo vyše 11 000 TML, pre vtáky viac ako 1500 kombinovaných TML (tieto sú ešte rozdelené na jednotlivé druhy), z toho približne 15 % monitorujú zamestnanci Štátnej ochrany prírody SR alebo správ národných parkov a zvyšné TML sú monitorované s pomocou externých odborníkov. Celkovo do monitoringu bolo doteraz zapojených viac ako 600 odborníkov, preto sa využíva viacstupňový systém ich riadenia prostredníctvom vedúcich skupín. Frekvencia monitoringu závisí od ekológie biotopov a druhov, náročnosti metodiky, dostupnosti expertov a prostriedkov. Zisťované parametre korešpondujú najmä s požiadavkami reportovacej správy EÚ. V prípade druhov sa na každej TML zisťuje veľkosť a kvalita populácie, kvalita biotopu druhu, vyhliadky do budúcnosti, ako aj vplyvy a ohrozenia. Údaje sa vkladajú a vyhodnocujú prostredníctvom Komplexného informačného a monitorovacieho systému (KIMS) ŠOP SR, dostupnom pre verejnosť na portáli www.biomonitoring.sk.

Monitorovanie pre potreby programov starostlivosti a programov záchrany

Ochrana najohrozenejších, prípadne konfliktných druhov sa na Slovensku realizuje na základe opatrení stanovených v tzv. manažmentových plánoch (programoch starostlivosti a programoch záchrany), ktoré predstavujú základnú odbornú dokumentáciu ochrany prírody a krajiny pre ich účinný manažment (starostlivosť).

Programy starostlivosti sú dokumenty na zabezpečenie starostlivosti o vybrané chránené druhy živočíchov, ktoré určujú opatrenia na zachovanie alebo obnovu ich priaznivého stavu.

Programy záchrany sa vyhotovujú v prípade ohrozenia chránených druhov živočíchov a určujú opatrenia potrebné na zlepšenie stavu ich ochrany a odstránenie príčin ich ohrozenia. Dôležitou súčasťou programov starostlivosti a programov záchrany sú aj ciele a opatrenia na ich dosiahnutie v oblasti monitoringu. Pre jednotlivé biotopy a druhy rastlín a živočíchov sú vypracúvané odporúčané manažmentové opatrenia, ktoré sa stali východiskom pre zásady starostlivosti o biotopy európskeho významu a biotopy druhov európskeho významu v územiach európskeho významu. Zásady starostlivosti o biotopy a druhy európskeho významu v územiach európskeho významu sú dokumentáciou ochrany prírody a krajiny.

Od roku 2008 sa na úrovni EÚ vypracovalo niekoľko akčných plánov pre vybrané druhy, napr. sysľa pasienkového (*Spermophilus citellus*), alebo skupiny živočíchov, napr. všetky druhy netopierov v Európskej únii. Akčné plány poskytujú informácie o stave, ohrození a súčasných ochranných opatreniach pre tieto druhy a uvádzajú potrebné činnosti na zlepšenie ich stavu v Európe. Aj ich dôležitou súčasťou je monitoring.

Inventarizačné výskumy

V chránených územiach, resp. v lokalitách navrhovaných na vyhlásenie sa vykonávajú aj inventarizačné výskumy a monitoring živočíchov. Ich výsledky sú podkladom na hodnotenie stavu a vývoja chránených území a ich ochranných pásiem a chránených druhov, ako aj na vypracovanie alebo aktualizáciu projektov ich ochrany alebo dokumentov starostlivosti.

Dáta a databázy v ochrane prírody na Slovensku

Monitorovacie aktivity prinášajú rôzne dáta (informácie), ktoré sú pre ochranu prírody mimoriadne dôležité. Používajú sa na hodnotenie stavu populácií (napr. veľkých šeliem), plánovanie zásahov a ochranu chránených území a druhov, spravovanie chránených území, hodnotenie vplyvov zásahov na krajinu.

Ochrana prírody disponuje rôznymi typmi dát:

- priestorové (GIS dáta), nepriestorové (informačné registre),
- vektorové, rastrové,
- vlastné, prevzaté,
- verejné, neverejné.

Dôležitou súčasťou monitoringu sú nielen zber, vyhodnocovanie a publikovanie získaných informácií, ale aj ich sprístupňovanie orgánom a organizáciám štátnej správy, verejnej správy, vedeckým inštitúciám a verejnosti prostredníctvom informačných systémov.

Databázový systém určený pre zber, spracovanie a poskytovanie botanických, zoologických a biotopových údajov na Slovensku – Informačný systém taxónov a biotopov (ISTB) nahradil v roku 2015 Komplexný informačný a monitorovací systém (KIMS) (www.biomonitoring.sk), dostupný aj verejnosti. Určený je na zlepšenie informovanosti verejnosti, laických pozorovateľov ale aj odborníkov o výskyte a stave druhov a biotopov európskeho významu. Umožňuje ukladanie, selekciu, sprístupnenie a publikovanie verejných údajov verejnosti a zefektívnenie práce odborných zamestnancov štátnej ochrany prírody formou dostupného a ľahkého prístupu k údajom o výskyte a stave chránených druhov alebo biotopov. Obsahuje viacero modulov.

Z hľadiska používateľskej prístupnosti pozostáva z dvoch častí:

- interná časť (intranet) – slúži pre potreby zamestnancov štátnej ochrany prírody – obsahuje moduly pre podpornú činnosť niektorých agend ŠOP SR a správ národných parkov,
- verejná časť – www.biomonitoring.sk – prezentácia výsledkov monitoringu.

Literatúra

Barton & Lindhjem M. (2015), Beier & Brost (2010), Belote *et al.* (2017), Bibby *et al.* (2000), Brauman *et al.* (2020), Cardinale *et al.* (2012), Council of Europe (2000), Doran (1981), Durán *et al.* (2022), Elsen *et al.* (2020), Fletcher *et al.* (2005), Fuller *et al.* (2017), Gaston *et al.* (2008), Gavin *et al.* (2009), Gray *et al.* (2016), Gregory *et al.* (2009), Hilty *et al.* (2020), Hobbs & Harris (2001), IPBES (2019), IUCN SSC (2025), Kareiva *et al.* (2007, 2018), Kremen *et al.* (2006), Legg & Nagy (2006), Lindenmayer & Likens (2010), Llorente-Culebras *et al.* (2023), Mace (2014), Maguire (2004), Marvier (2014 a, b), Marvier & Kareiva (2014), Mills *et al.* (2006), O'Brien *et al.* (2012), O'Connell *et al.* (2000), Pimm *et al.* (2018), Plesník (2010, 2022, 2023, 2025a), Rachlewicz *et al.* (2019), Rohwer & Marris (2021), Saxa (2025), Soulé (1985), Stork & Astrin (2014), Sutherland *et al.* (2004), Turner *et al.* (2003), UN (1972), UNEP (2021), Urban (2019), Watson *et al.* (2014), Wiens (1989), Williams *et al.* (2014), Yoccoz *et al.* (2001)

Kontrolné otázky

- Aké sú hlavné piliere modernej ochrany prírody a krajiny?
- Čo znamená pojem ekologická integrita a aké sú jej hlavné charakteristiky?
- Vysvetlite rozdiel medzi prieskumom, mapovaním, výskumom a monitoringom.
- Aké sú hlavné komponenty pri navrhovaní monitorovacieho programu?
- Čo je cieľom sústavy Natura 2000 a z ktorých dvoch smerníc Európskej únie vychádza?
- Ako fungujú trvalé monitorovacie lokality v slovenskom systéme monitoringu a aké parametre sa na nich zisťujú?

2 Výskum a monitorovanie voľne žijúcich živočíchov

Peter Urban

Výskum a monitorovanie voľne žijúcich živočíchov sa realizuje s cieľom získať dostatok vhodných informácií pre efektívnu ochranu a racionálny manažment daných druhov. Jeho výsledky poskytujú informácie pre rozhodovacie procesy. Dôležitý je preto výber vhodnej monitorovacej schémy (tab. 3) a prepracovanej metodiky, ktoré závisia od cieľa a stupňa špecifickosti dát potrebných na prijatie vhodných rozhodnutí, ako aj ich časovej a finančnej náročnosti.

Tab. 3. Základné rozdiely medzi faunistickým prieskumom a monitoringom (upravené podľa Vlašín & Mikátová 2007, Urban 2015)

	Prieskum	Monitoring
Metódy	Získavanie náhodných a jednorazových faunistických údajov	Jednotná (štandardná), kvantitatívna opakovateľná metodika
Časová náročnosť	Malá, údaje môžu byť aj vedľajším produktom inej činnosti	Dlhodobé, mnoho rokov opakované sledovania
Výsledky	Časovo a priestorovo roztriešené údaje bez možnosti kvantitatívneho hodnotenia, pochádzajúce z veľkého počtu lokalít	Dlhé časové rady spravidla kvantitatívne hodnotiteľných údajov, pochádzajúce z pomerne malého počtu lokalít
Využitie výsledkov	Biogeografické, resp. faunistické atlasy	Odhady početnosti populácií, populačnej dynamiky a zmien rozšírenia

Výskumné aktivity predstavujú komplexný proces, ktorý v sebe zahŕňa viacero činností od voľby výskumnej témy a vymedzenia výskumného problému cez formulovanie hypotéz, plánovanie a realizáciu vlastného výskumu, vyhodnotenie a interpretáciu výsledkov, formulovanie záverov až po publikovanie (zverejnenie) dosiahnutých výsledkov.

Monitorovanie voľne žijúcich živočíšnych druhov, predstavujúce opakovaný, systematický zber údajov na detekciu dlhodobých zmien v ich populáciách, prebieha dlhšie časové obdobie. Umožňuje zaznamenávať zmeny, ktoré prebiehajú počas tohto obdobia. Dlhodobé populačné trendy a zmeny v početnosti jednotlivých skupín živočíchov v závislosti na zmenách prostredia, ako aj zmene klímy, sú základom pre stanovenie (zistenie) ich aktuálnych priaznivých stavov (abundancia, hustota, štruktúra), trendov ďalšieho vývoja populácie aj biotopu i nastavení ich manažmentu. Čím dlhšie sa monitoring daného druhu realizuje, tým lepšie je možné posúdiť jeho vývojové trendy a navrhnúť vhodnú ochranu a starostlivosť.

Kvalitný, systematický a dlhodobý monitoring živočíchov nie je lacnou ani jednoduchou záležitosťou.

Mal by spĺňať niekoľko základných princípov:

- dôveryhodnosť (spolahlivé údaje získané prevažne robustnými vedeckými metódami)
- transparentnosť (metódy, výsledky, interpretácia i následné rozhodnutia sú dostupné na diskusiu širokej verejnosti)
- spolupráca (väčšina monitorovacích programov a projektov si vyžaduje spoluprácu a zapojenie skúsených odborníkov a odborných tímov z rôznych inštitúcií, pri mnohých sa osvedčilo aj zapojenie vyškolených dobrovoľníkov, napr. v rámci občianskej vedy)
- inkluzívnosť
- perspektíva.

Vo výskume a monitorovaní živočíchov sa používa mnoho rôznych metód (niektoré z nich sú predmetom ďalších kapitol tejto učebnice). Líšia sa nielen v závislosti od ich skupín a prostredia, ktoré obývajú, ale aj dôvodu potreby realizácie týchto aktivít a stanovených výskumných otázok a hypotéz. Každá metóda je zvyčajne špecifická, nastavená na zber konkrétneho typu údajov.

Vypracované metodiky monitoringu druhov živočíchov európskeho významu na Slovensku boli vydané v samostatnej príručke (Saxa *et al.* 2015) a zoznam metodík na stiahnutie sa nachádza na portáli www.biomonitoring.sk.

Metódy monitoringu je možné rozdeliť do niekoľkých základných skupín – priame a nepriame, resp. kvantitatívne a kvalitatívne.

- Priame metódy – okrem priamych pozorovaní sa dáta pri nich získavajú spravidla invazívne a pri sledovaní živočícha dochádza ku kontaktu, či manipulácii s danými jedincami. Okrem sčítaní živých alebo mŕtvych jedincov vo vymedzenom území a záznamov o úlovkoch, sú to najmä metódy spätných odchytoch (*capture mark recapture*) a telemetria, spojené s odchytom, imobilizáciou a označením živočíchov. Zamerané sú najmä na denzitu a relatívnu abundanciu.
- Nepriame metódy – dáta sú získavané neinvazívne, nie je nutná manipulácia so živočíchom. Patria k nim hľadanie pobytových znakov, akustický monitoring, fotopasce, chlpové pasce, track stations, metódy diaľkového prieskumu Zeme.
- Kvantitatívne metódy – študujú kvantitatívnu stránku (početnosť, frekvenciu a intenzitu) sledovaného javu či vlastností skúmaných objektov, napríklad veľkosť populácií druhov na nejakom území, resp. častosť ich výskytu. Získava sa obmedzený rozsah informácií o veľkom počte druhov alebo jedincov. Hľadajú sa zvyčajne odpovede na otázky typu „Koľko?“, „Ako často?“, „Ako silno (intenzívne)?“
- Kvalitatívne metódy – zameriavajú sa na kvalitatívnu stránku skúmaného javu alebo predmetu, napr. opis správania nejakého druhu. Spravidla sa získava hodne informácií o malom počte druhov alebo jedincov. Hľadajú sa zvyčajne odpovede na otázky typu „Ako?“, „Prečo?“

Metódy sa líšia aj podľa toho, ako sa získava biologický materiál z voľne žijúcich živočíchov:

- deštruktívne – živočích je usmrtený,
- nedeštruktívne invazívne – živočích je odchytý, odoberie sa mu vzorka krvi, alebo tkaniva a následne je vypustený,
- nedeštruktívne neinvazívne – vzorka zdroja sa dá získať bez akéhokoľvek kontaktu a vyrušovania, t. j. bez potreby odchytu, manipulácie alebo pozorovania živočícha.

Pre potreby ochrany živočíchov sa najčastejšie zisťujú základné populačné charakteristiky (potrebné pre získanie informácií o populačnej dynamike, resp. stave a vývoja spoločenstiev), najmä:

- početnosť (abundancia), jej zmeny a trend – veľkosť populácie, alebo počet jedincov v populácii v určitom čase bez ohľadu na veľkosť priestoru, ktorý obývajú,
- areál (distribúcia) a jeho zmeny – stabilne obsadené územia,
- hustota (denzita) a jej zmeny – počet jedincov na jednotku plochy územia.

Pre monitoring zmien na populačnej úrovni sú potrebné pomerne presné odhady veľkosti a pohlavnej štruktúry populácie a ich dynamiky. Pritom práve odhady veľkosti populácií bývajú mnohokrát nepresné, čo prináša vážne dôsledky v rozhodovacích procesoch (napr. odhady veľkosti populácie medveďa na Slovensku, ktoré sa výrazne líšia).

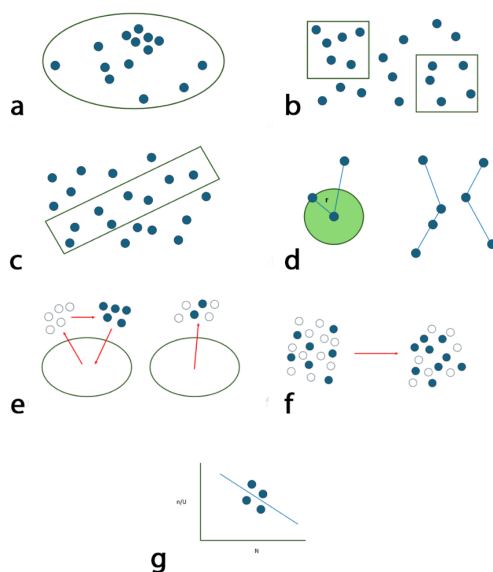
Box 4. Odhad početnosti populácií

Pri odhade početnosti populácií voľne žijúcich živočíchov sa uplatňuje niekoľko základných metód, ktoré využívajú nielen rôznorodosť daných taxónov a ich ekologické nároky, ale aj rôznu veľkosť i tvar študovaných území (obr. 6):

1. **Celková inventarizácia** (vhodná pre nepohyblivé, resp. málo pohyblivé druhy) – spočíva v spočítaní všetkých jedincov (census) v danom ohraničenom území (vykonáva sa len v obmedzených prípadoch, pri malom počte jedincov sesilných živočíchov, resp. pri živočíchoch žijúcich v kolóniách na primerane veľkej ploche).
2. **Metóda vzorkovacích kvadrátov** (vhodná pre nepohyblivé, resp. málo pohyblivé druhy) – vymedzia sa plôšky známych veľkostí, v ktorých sa spočítajú všetky jedince. Počet, veľkosť a rozmiestnenie kvadrátov závisí od viacerých faktorov, najmä taxonomickej príslušnosti, priestorového rozdelenia jedincov a pod. Kvadráty sa môžu voliť náhodne, pravidelne, alebo stratifikovane.
3. **Líniový transekt** (vhodný pre pohyblivé druhy) – spočítavajú sa jedince po oboch stranách línie (študovaná plocha = dĺžka transektu \times šírka pozorovaného pásu).
4. **Metódy založené na vzdialenosti** (vhodné pre nepohyblivé, resp. málo pohyblivé druhy) – merajú sa vzdialenosti od náhodne zvoleného bodu, resp. medzi sebou navzájom (vychádza sa z predpokladu, že plocha, ktorú jedinec obýva, sa rovná kruhu s polomerom daným touto vzdialenosťou. Počet jedincov na ploche = prevrátenej hodnote tejto plochy).
5. **Metódy spätného odchyty** (capture-mark-recapture) – spočítavajú v odchytení určitého počtu jedincov, ich označení a opätovnom vypustení do populácie a následnom určení pomeru populácie (pomer označených a neoznačených zvierat), keď sú označené a neoznačené jedince odchytené neskôr.

Pri populáciách lovených druhov sa využívajú tiež:

1. Metódy založené na zmene pomeru pohlaví (change ratio method)
2. Metódy založené na zmene úlovku na jednotku úsilia (catch per unit effort).



Obr. 6. Schematické znázornenie rôznych metód odhadu početnosti živočíchov (upravené podľa Frouz & Frouzová 2021): a – celková inventarizácia, b – vzorkovacie kvadráty, c – líniový transekt, d – metódy založené na vzdialenosti, e – metódy spätného odchyty, f – metódy založené na zmene pomeru pohlaví, g – metódy založené na zmene úlovku na jednotku úsilia

Klasické metódy monitoringu sú náročné najmä časovo, preto sa v čoraz väčšej miere využívajú nové prístupy a metódy zamerané na efektívny zber údajov. Umožňuje ich rýchly rozvoj a rastúca dostupnosť technologických aplikácií. V posledných rokoch sa aj pri monitorovaní voľne žijúcich živočíchov v ochrane prírody čoraz viac využíva umelá inteligencia (*Artificial Intelligence, AI*), vrátane strojového učenia (*Machine Learning, ML*). Ich aplikácie sa dnes týkajú rozmanitých zložiek biodiverzity, hlavne génov, jedincov, populácií a celých ekosystémov. Významne sa uplatňuje najmä schopnosť určovať a klasifikovať organizmy zachytené na záznamoch vyhotovených buď stálymi snímačmi (fotopasce, bioakustické čidlá, detektory), alebo prostriedkami diaľkového prieskumu Zeme (DPZ). Metódy DPZ, pri ktorých ide o získavanie informácií o objektoch na zemskom povrchu bez priameho kontaktu s ním (telemetria, snímkovanie z družíc, lietadiel, resp. bezpilotných lietadiel), zaznamenali pozoruhodný progres. DPZ zahŕňa kompletný proces, od získania dát, cez ich spracovanie a analýzu až po výslednú vizualizáciu a interpretáciu obrazu. Celá oblasť DPZ sa v posledných rokoch výrazne mení nielen z hľadiska dostupnosti dát, ale aj z hľadiska potenciálu služieb.

Narastajúci trend vykazuje napríklad dostupnosť údajov z radarových družíc (SAR – radar s umelou apertúrou) a ich využívanie pre účely DPZ. Založené sú buď na pokročilých technikách fúzie s optickými údajmi, alebo na radarových dátach.

Moderné bezpilotné technológie prinášajú nové možnosti pre výskum a monitoring živočíchov a ich biotopov. Okrem iného umožňujú detegovať prítomnosť zvierat, sledovať ich priestorovú aktivitu a hodnotiť kvalitu prostredia, ktoré obývajú. Metódy pozemného zberu priestorových údajov zároveň umožňujú podrobnejšie mapovanie vegetačnej štruktúry, úrovně pokryvnosti či zmien biomasy v čase, čo predstavuje dôležitý zdroj informácií pre komplexné posúdenie dynamiky ekosystému.

Literatúra

Bejček & Šťastný (2001), Frouz & Frouzová (2021), Gregar M. (2023), Hutson (2017), Krebs (1999), Paule *et al.* (2008), Plesník & Plesníková (2023), Ryman *et al.* (2019), Saxa *et al.* (2015), Trnka & Grim (2014), Urban (2015), Vlašín & Mikátová (2007), Výbošťok *et al.* (2025), Wu *et al.* (2023)

Kontrolné otázky

- Ktoré základné princípy by mal spĺňať monitoring živočíchov?
- Čo sú priame a nepriame metódy monitorovania živočíchov?
- Aké metódy sa uplatňujú pri odhade početnosti populácií voľne žijúcich živočíchov?

2.1 Telemetria

Michal Kalaš

Telemetria predstavuje kľúčový nástroj modernej ekológie a výskumu správania sa živočíchov. Jej silnou stránkou je schopnosť poskytnúť údaje s presným priestorovým rozlíšením. Ide o metódu, prostredníctvom ktorej získavame údaje o časo-priestorovej aktivite zvierat. Začala sa využívať v 60. rokoch 20. storočia. Samotnému sledovaniu predchádza odchyt zvierat. V prípade veľkých a nebezpečných druhov je nevyhnutná ich imobilizácia, čo si vyžaduje prítomnosť skúseného veterinárneho lekára. Počas manipulácie možno získať rôzne doplňujúce informácie o jedincovi – bežne sa vykonávajú biometrické merania, odbery krvi, vyšetrenia na prítomnosť parazitov a odber biologických vzoriek pre analýzu DNA.

Typy telemetrického vybavenia

V praxi sa uplatňujú dva základné princípy telemetrie:

1. **Rádiová telemetria:** využíva rádiový signál na lokalizovanie zvierat. Vysielač je upevnený na telo živočicha a v pravidelných intervaloch vysiela impulzy na určenej frekvencii. Najčastejšie sa používajú vysoké frekvencie (*Very High Frequency*, VHF) v pásme približne 130 – 174 MHz, ktoré sa relatívne dobre šíria aj v členitom teréne. Dosah signálu závisí od prostredia, zvyčajne je 0,5 – 5 km, v rovinnom teréne aj viac. Rádiová telemetria si vyžaduje aktívne terénne sledovanie a ručné určenie polohy pomocou triangulácie so smerovou anténou. V členitom teréne alebo pri druhoch s veľkým areálom pohybu sa využíva aj letecké sledovanie (malé lietadlá, vrtníky). Signál zachytáva prijímač, ktorý pomocou S-metra zobrazuje jeho silu, z čoho možno odhadnúť vzdialenosť. Výhodou VHF technológie je jej jednoduchosť, nízka energetická náročnosť a dlhá výdrž (mesiace až roky). Je vhodná najmä pre menšie druhy, pretože vysielače sú ľahšie než GPS zariadenia. Moderné GPS zariadenia bývajú často kombinované s VHF vysielačom.
2. **Satelitná telemetria GPS (*Global Position System*)** : základom systému je GPS modul, ktorý určuje polohu zvierat. Okrem napájania môže byť zariadenie doplnené o rôzne moduly — napríklad senzor aktivity, teplotný senzor alebo „drop-off“ mechanizmus na automatické odopnutie obojka. Intervaly určovania polohy možno nastaviť podľa potreby (napr. každú hodinu), a tieto nastavenia možno diaľkovo meniť. Zariadenie ukladá priestorové údaje (vrátane nadmorskej výšky) do pamäte, ktoré sú následne prenášané cez komunikačný modul. Na prenos dát sa využívajú rôzne siete — satelitná (Iridium či systém Argos), UHF (*Ultra High Frequency*) alebo GSM (*Global System for Mobile Communications*)—, ktoré ich odosielajú na server. Dáta sa dajú vizualizovať na mapových portáloch alebo analyzovať v prostredí geografických informačných systémov (GIS). GPS jednotky bývajú doplnené aj o UHF modul, ktorý umožňuje obojsmernú komunikáciu (napr. stiahnutie dát či odopnutie obojka), avšak len na priamu viditeľnosť — ak je medzi zariadením a prijímačom terénna prekážka, signál sa ruší.

Telemetrické vysielače (rádiové alebo GPS) majú v závislosti od cieľového druhu rôzne prevedenie. Pre väčšie druhy terestrických cicavcov sa používajú obojky, vtákom sa nasadzujú tzv. batôžky alebo tzv. chvostovky. Niekedy sa môže jednať aj o implantáty, ktoré sú zavedené do tela chirurgicky. Z hľadiska zabezpečenia komfortu pozorovaného živočicha je okrem spôsobu upevnenia ďalším kľúčovým parametrom aj hmotnosť zariadení, ktorá by nemala presiahnuť 3 – 5 % jeho telesnej hmotnosti.

Uplatnenie v ekológii a ochrane prírody

Telemetria umožňuje získavať údaje o konkrétnych jedincoch. To je dôležité napríklad pri sledovaní zvierat s pozmeneným správaním (napr. synantropné jedince medveďa hnedého), ktoré môžu predstavovať riziko pre človeka. Ak chceme výsledky generalizovať na populáciu, je potrebné označiť väčší počet rôznych jedincov.

Telemetria poskytuje podrobné informácie o využívaní krajiny, preferenciách biotopov, dennej aktivite a veľkosti domovských okrskov, čo možno využiť v prediktívnom modelovaní. V kombinácii s environmentálnymi premennými umožňuje zostaviť modely vhodnosti biotopu a identifikovať kritické migračné koridory. Takéto informácie sú neoceniteľné pri územnom plánovaní, tvorbe ekologických sietí a navrhovaní opatrení na zníženie kolízií s dopravou.

V prípade, že sú telemetrickými zariadeniami vybavené viaceré druhy, možno skúmať aj medzidruhové interakcie.

Analýza údajov

Telemetrické dáta obsahujú priestorové informácie (zemepisná šírka a dĺžka), ale aj dátum, čas, niekedy aj nadmorskú výšku, teplotu či údaje o aktivite. Súčasťou dát býva aj údaj o geometrickej presnosti (DOP) a type určenia polohy (*Fix Type*). Poloha vypočítaná z troch satelitov (2D fix) neobsahuje nadmorskú výšku, zatiaľ čo 3D fix ju má a preto vyžaduje aspoň štyri satelity.

Priestorové dáta môžu mať rôzny formát, často .KML, .KMZ alebo .SHP, s ktorými sa pracuje v GIS. Veľkosť datasetu závisí od cieľov výskumu, počtu označených jedincov a trvania monitoringu. Dáta sa analyzujú vo vzťahu k rôznym faktorom, ako sú charakter prostredia, lesné hospodárstvo, rušivé činitele, doprava, poľovníctvo, turizmus, urbanizácia a pod.

Telemetria v praxi

Typ telemetrie sa volí podľa cieľa výskumu. Ako príklad uveďme výskum medveďa hnedého (*Ursus arctos*) v podmienkach Západných Karpát. Vhodné je použitie GPS obojkov od etablovaných výrobcov, ako sú napríklad Vectronic Aerospace, Lotec, Telonics, Followit či Ecotone. Pred nasadením je nutné vedieť, aké veľké jedince sa plánujú odchytiť, aby sa podľa toho objednala vhodná veľkosť obojkov.

Najčastejšou metódou odchyty je použitie špeciálnych pascí s návnadou (obr. 7). Menej často sa používa priama imobilizácia narkotizačnou puškou na pripravenej lokalite. Táto metóda je vhodná najmä pre synantropné jedince. Odchytové zariadenia (obr. 8) bývajú vybavené systémom, ktorý po aktivácii odošle SMS, často doplnený o MMS fotopascu na vizuálne overenie odchyty.



Obr. 7. *Príprava návnady v odchytovom zariadení na medveďa hnedého. Využívajú sa atraktanty prevažne rastlinného pôvodu (ovocie, kukurica, med), čo minimalizuje riziko prilákania necieľových druhov mäsožravcov (foto © Michal Kaláš)*



Obr. 8. Signalizáciu uzavretia pasce zabezpečuje nezávislý GPS/GSM alarm. MMS fotopasca v tomto systéme plní funkciu vizuálnej poistky a verifikácie. Umožňuje na diaľku rozlíšiť, či sa chytil cieľový jedinec alebo necieľový druh, a zároveň poskytuje cenné dáta o správaní sa zvierat'a a dĺžke jeho váhania pred vstupom do zariadenia (foto © Michal Kalaš)

Po príchode na miesto veterinár odhadne veľkosť jedinca a následne ho imobilizuje. Približne po 10 minútach (v závislosti od použitej látky) je možné s medveďom manipulovať. Odmeria sa obvod krku a nasadí sa obojok, pričom GPS modul musí smerovať nahor (obr. 9). Nesprávna orientácia vedie k oslabeniu signálu. Obojok sa aktivuje odstránením magnetu.



Obr. 9. Imobilizovaný jedinec medveďa hnedého (*Ursus arctos*) tesne po nasadení telemetrického obojka. Manipulácia so zvierat'om pod vplyvom anestetik si vyžaduje ticho a minimalizáciu podnetov, aby sa predišlo zbytočnému fyziologickému stresu a komplikáciám pri prebúdzaní (foto © Michal Kalaš)

Po tomto úkone nasleduje odber biometrických údajov – meranie telesných rozmerov a hmotnosti, ako aj odber biologických vzoriek (napríklad pre účely analýzy DNA alebo výskum parazitov). Počas prebúdzania zvierat'a je nevyhnutné zotrvať na mieste, kým jedinec neopustí lokalitu. Následne začína automatizovaný zber údajov.

Interval záznamu GPS polôh sa nastavuje ešte pred upevnením obojka v závislosti od cieľov výskumu. Tento parameter významne ovplyvňuje dĺžku funkčnosti obojka. Pre bežné sledovanie postačuje interval jednej lokalizačnej vzorky za hodinu (tzv. jeden fix za hodinu), čo znamená 24 pozícií denne. Je však potrebné počítať s tým, že v členitom teréne (napríklad skalnaté rokliny či hlboké údolia so súvislým zápojom vegetácie) môže byť signál GPS nedostupný, čo vedie k poklesu počtu úspešných zaznamenaní údajov o polohe (fixov).

Ak je predmetom výskumu špecifické správanie – napríklad pohyb v okolí frekventovaných komunikácií – hodinová frekvencia záznamov je nedostatočná. V takom prípade je možné využiť funkciu virtuálneho plota (*geo-fence*), ktorá umožňuje prispôbiť interval zberu údajov v závislosti od blízkosti k určitej línii (napríklad cesta). Do GPS modulu obojka sa (aj na diaľku) nahrá línia, ku ktorej sa určí kritická vzdialenosť. Po jej dosiahnutí sa frekvencia záznamov automaticky zvýši, napríklad na 1 záznam za minútu. Tento režim zabezpečí detailné údaje o trajektórii pohybu v exponovanom priestore. Po vzdialení sa zo zóny záujmu sa systém vráti k štandardnému, menej častému záznamu, čím sa šetrí energia batérie.

V období nízkej aktivity zvieratá (napr. počas hibernácie) je tiež vhodné znížiť frekvenciu záznamov – napríklad na jeden fix každých šesť hodín – čo výrazne predlžuje životnosť zariadenia.

Získané dáta sa analyzujú v prostredí GIS. Po ich importovaní nasleduje základná validácia – odstránenie záznamov s vysokou hodnotou DOP (*Dilution of Precision*), zvyčajne nad hodnotu 5, a údajov bez trojrozmerného fixu. Následné spracovanie závisí od konkrétneho výskumného cieľa – napríklad výpočet domovského okrsku (*home range*), analýza využívania habitatov či modelovanie pohybu.

Okrem lokalizačných údajov zaznamenávajú telemetrické obojky aj aktivitové dáta z pohybového senzora. Tie umožňujú sledovať úroveň fyzickej aktivity jedinca. V prípade, že zviera nevykazuje žiadny pohyb (napríklad ani minimálne pohyby hlavy), vyšle obojok tzv. mortalitný signál. Tento signál je cenný napríklad pri zisťovaní začiatku hibernácie medveďa hnedého alebo pri náhlom úhyne. U kopytníkov poskytujú aktivitové dáta informácie o potravnom rytme počas dňa či sezóny. Tieto údaje sa zvyčajne zaznamenávajú v intervale každých 5 minút, čo za celý rok predstavuje rozsiahly dataset. Prenos dát je možný aj na diaľku – pomocou špeciálneho UHF terminálu.

Moderné zariadenia sú vybavené tzv. drop-off mechanizmom, ktorý po vopred nastavenej dobe uvoľní obojok zo zvieratá. Ten následne odpadne a v teréne ho možno vyhľadať pomocou VHF vysieláča a opäť využiť po repasovaní. Za priaznivých podmienok možno obojok použiť opakovane. Treba však objektívne uviesť, že drop-off mechanizmy nemajú stopercentnú spoľahlivosť, a preto je vhodné kombinovať ich s iným systémom, ktorý zabezpečí, aby zviera nebolo dlhodobo vystavené noseniu nefunkčného zariadenia.

Záver

Praktické využitie telemetrie v ekologickom a ochranárskom výskume je mimoriadne široké. Umožňuje sledovanie živočíchov v reálnom čase, odhaľovanie ich migračných trás, preferovaných biotopov, denných rytmov správania, ale aj reakcií na rôzne environmentálne stresory.

Z praxe vyplýva, že hoci je telemetria technicky náročná a finančne nákladná, jej prínos ďaleko prevyšuje tieto nevýhody. Jedným z najvýznamnejších aspektov je, že poskytuje priame dôkazy o využívaní priestoru, ktoré by nebolo možné získať inými metódami (napr. len fotopascami alebo stopovacím monitoringom). Navyše, vývoj miniaturizovaných zariadení a ich čoraz vyššia presnosť rozširujú využiteľnosť telemetrie aj na menšie druhy živočíchov či vtáky.

Medzi hlavné nedostatky patria vysoké náklady na vybavenie a prevádzku, obmedzená životnosť batérií, etické otázky spojené s odchytom zvierat a stále ešte nepostačujúce pokrytie populácií (často sa sleduje len malý počet jedincov).

Literatúra

Arnemo et. al. (2017), Cagnacci et. al. (2010), Hebblewhite & Haydon (2010), Holton et. al. (2021)

Kontrolné otázky

- Akým spôsobom ovplyvňuje výber optimálnej technológie telemetrie charakter krajiny?
- Zohráva vek živočicha a jeho veľkosť nejakú úlohu pre aplikáciu telemetrického výskumu?
- V čom spočíva invazívnosť telemetrického výskumu?



Obr. 10. Špecifikom odchyty rysa ostrovida (*Lynx lynx*) je využitie tzv. priedehových pascí bez použitia návnady. Rys je zvedavá mačkovitá šelma a nemá etologickú bariéru prejsť cez otvorený tunel. Úspešnosť metódy preto nezávisí od atraktantu, ale výlučne od znalosti terénu a precízneho umiestnenia pasce priamo na využívanom migračnom chodníku (foto © Michal Kalaš)



Obr. 11. Mladá samica rysa ostrovida (*Lynx lynx*) označená telemetrickým GPS obojkom (foto © Michal Kalaš)

2.2 Fotomonitoring

Michal Kalas

Fotomonitoring predstavuje v súčasnosti jednu z najrozšírenejších metód získavania údajov o voľne žijúcich živočíchoch. Jeho princípom je automatická dokumentácia jedincov prostredníctvom fotografií alebo videozáznamov, čo umožňuje identifikáciu druhov, prípadne analýzu ich aktivity. Snaha o automatické snímanie živočíchov siaha do konca 19. storočia. Pôvodné systémy fungovali na mechanickom princípe, kedy zviera pohybom narušilo natiahnuté lanko spojené so spúšťou fotoaparátu. Významný technologický posun prinieslo zavedenie pasívnych infračervených senzorov (*Passive Infrared Sensor; PIR*) v kombinácii s elektronicky ovládanými fotoaparátmi. Pri vstupe živočicha do detekčnej zóny senzor zaznamenal zmenu tepelného poľa a aktivoval fotoaparát. Spôľahlivosť týchto ranných zostáv závisela od kvality technického spracovania a použitých komponentov.

Tento pôvodný koncept prepojenia senzora so samostatným fotoaparátom pretrval do súčasnosti. Ide o prípady, kedy je cieľom zhotoviť zábery produkčnej kvality (do publikácií a filmov). Fotografickou jednotkou môže byť špičkový zrkadlový alebo bezzrkadlový fotoaparát s *full-frame* senzorom, vysokým dynamickým rozsahom a citlivosťou ISO, ktorú žiadna fotopasca neprekoná. Takéto produkty ponúkajú špecializované firmy (napr. Camtraptions). Pochopiteľne, zostava má aj patričnú cenu, rádovo vyššiu aj oproti najdrahším fotopasciam. S rastúcou potrebou kontinuálneho a plošného zberu dát však koncom 80. rokov 20. storočia prichádzajú na trh sériovo vyrábané fotopasce – kompaktné zariadenia integrujúce všetky komponenty do jedného celku. Do súčasnosti prešli mnohými vylepšeniami a znižovaním rozmerov. Na Slovensku sa s fotopascami intenzívnejšie pracuje posledných 10 – 15 rokov.

Fotomonitoring v ekológii a ochrane prírody

Fotomonitoring sa uplatňuje v troch základných oblastiach terénneho výskumu. Môže ísť o faunistický prieskum a monitoring, ktorého výsledkom je evidencia živočíšnych druhov, čím pomáha vyhľadávať tzv. horúce miesta (*hot spots*) biodiverzity. Pri druhoch, u ktorých je možná individuálna identifikácia na základe jedinečných vzorov (napr. ich tvar, veľkosť, usporiadanie – škrvnosť u rysa ostrovida) možno pomocou fotomonitoringu robiť odhady veľkosti populácie alebo rozsahov domovských okrskov konkrétnych jedincov. Dnes sa intenzívne pracuje na individuálnej identifikácii jedincov z fotografií prostredníctvom biometrie, čo pri dostatočnom množstve kvalitných záznamov umožní používať fotomonitoring aj na odhady veľkosti populácií u druhov, ktoré nemajú zjavné vonkajšie vzory.

Druhou, častejšie uplatňovanou alternatívnou je etologický výskum. Pomocou fotopascí možno študovať problematiku predácie hniezd vtákov, značkovaciu aktivitu alebo hibernáciu medveďov, kleptoparazitizmus a mnohé iné fenomény. Použitie fotopascí má okrem uvedeného aj tú výhodu, že vďaka snímkom možno sledovať aj stav prostredia a aktivitu necieľových druhov / jedincov. Tým, že fotopasce zaznamenávajú aj niektoré environmentálne charakteristiky či už priamo (napr. teplotu prostredia) alebo ju zobrazia v zábere (prítomnosť snehovej pokrývky, fenologickú fázu rastlín) umožňujú takto získané dáta zapracovať do analýz a vyhodnocovať napríklad reakcie živočíchov na environmentálne zmeny prostredia.

Inou možnosťou nasadenia fotomonitoringu je overovanie funkčnosti opatrení zameraných na praktickú ochranu. Fotopasce sa tak využívajú na sledovanie funkčnosti ekoduktov (nadhody, podchody) a ich selektívne účinky (pozri aj kap. Výskum a monitoring líniových bariér a mortality živočíchov na pozemných komunikáciách), prípadne na aplikáciu ochranných opatrení pred veľkými šelmami (elektrické ohradníky, klietky a pod.).

Fotomonitoring rovnako ako priame pozorovania živočíchov umožňuje analyzovať správanie zvierat. Tento výsledok je zaťažený subjektívnym hodnotením a vždy záleží od skúseností človeka, ktorý výsledky interpretuje. Fotomonitoring však prináša výhodu archivácie zaznamenaných údajov, ktoré môžu byť opätovne analyzované širšou skupinou odborníkov, čo prispieva ku korekcii finálnych výsledkov.

Na dosiahnutie korektných výsledkov je potrebné zvoliť vhodné vybavenie a vzorkovací dizajn. Tieto sa budú líšiť podľa cieľových druhov a účelu výskumu. Fotomonitoring okrem vedeckých dát prináša výhodu jedinečných a pútavých záberov, ktoré sa často využívajú na osvetové kampane a prehlbovanie environmentálneho povedomia verejnosti.

Technická špecifikácia fotopascí

Fotopasca je zariadenie primárne určené na použitie v exteriérových podmienkach, v teréne. Vďaka priemyselným štandardom v procese výroby spĺňa vysoké nároky na vodeodolnosť. Dôležitou vlastnosťou je tiež rezistentnosť voči chladu. Fotopasca pozostáva z kamery, mikrofónu, PIR senzora, osvetľovacej jednotky (najčastejšie v infračervenom spektre), slotu na pamäťovú kartu, displeja, ovládacích tlačidiel a priestoru pre batérie. Na tele fotopasce sa nachádza úchyt na upevňovací popruh a statívový závit. Niektoré modely môžu mať integrovanú polohovaciu pätku, ktorou možno nastavovať sklon fotopasce voči snímanému prostrediu. Fotopasce sú vybavené maskovaným vzorom, ktorý umožňuje splynúť s okolím.

Napájanie a doba prevádzky

Väčšina modelov používa batérie formátu AA v počte 6 – 12 ks. Od počtu závisí doba prevádzky, ktorú možno predĺžiť pomocou konektora slúžiaceho na prepojenie s externou batériou. Iným riešením je pripojenie externého solárneho panelu, prípadne tiež existujú modely, ktoré majú solárny panel integrovaný.

Režim snímania (foto / video)

Súčasná fotopasce ponúkajú oba režimy, prípadne ich kombináciu. Štandardom pri videu je rozlíšenie FHD (1920 × 1080) so snímkovou frekvenciou 30 fps (norma NTSC). Menej sú zastúpené modely s vyššou fps (napr. niektoré modely Browning® ponúkajú 60 fps pri rozlíšení FHD), čo je vhodné pri potrebe spomalenia záberov. Podiel fotopascí s rozlíšením videa UHD (3840 × 2160) je aktuálne nižší, no bude sa rozširovať. Najčastejšie použitý kodek videa je mp4 alebo Avid s rôznou úrovňou komprimácie. V závislosti od toho sa veľkosť nahrávky s dĺžkou 1 min v rozlíšení FHD pohybuje od 50 do 200 MB. Fotopasce zaznamenávajú video zvyčajne s dĺžkou 30 – 60 s, v nočných podmienkach môže byť skrátené na 15 s. Fotorežim ponúka najčastejšie záznam 1 – 3 snímok, niektoré modely majú tzv. „burst“ režim a na jeden poplach uložia vyšší počet záberov (6 – 12). Rozlíšenie fotografií sa pohybuje medzi 3 Mpx až 30 Mpx, vyššie rozlíšenie je dosiahnuté interpoláciou a nemusí prinášať vyššiu kvalitu. Uhol záberu objektívov sa pohybuje v rozmedzí 40° – 150°.

Osvetľovacia jednotka

Fotopasce sú vybavené rôznym typom nočného prívitu. U starších modelov sa využíval infra červený (IR) prívit s vlnovou dĺžkou 850 nm, dnes je to častejšie 940 nm. Táto technológia umožňuje takmer bez rušenia zhotoviť v noci čiernobiele snímky (foto aj video). Niektoré fotopasce sú vybavené stroboskopickým bleskom, pomocou ktorého je možné na rozdiel od technológie IR robiť v nočných hodinách farebné fotografie, nie však videá (obr. 12). Tento problém riešia blesky s bielymi diódami, ktoré produkujú nepretržité jasné svetlo a tak sú použiteľné pri zachytávaní videa. Intenzita IR prívitu je väčšinou nastaviteľná.



Obr. 12. Starší model fotopasce vybavený viditeľným bielym bleskom (stroboskopom). Tento typ prísvitú umožňuje zhotoviť farebné nočné snímky, ktoré sú kľúčové pre spoľahlivú individuálnu identifikáciu druhov s výraznou kresbou na srsti (napr. rys, mačka divá) (foto © Michal Kalaš)

Mikrofón

Popri zázname obrazu možno nahrávať aj zvuk, no jeho kvalita je väčšinou podpriemerná.

PIR senzor

Ide o zariadenie, ktoré aktivuje fotopascu, ak je v jeho zornom poli detegovaná zmena teploty oproti okolitému prostrediu. Niektoré modely umožňujú nastavovať citlivosť / dosah PIR senzora.

Slot pre pamäťovú kartu

So snahou o zmenšovanie rozmerov fotopascí sa postupne mení aj slot na SD karty z klasického rozmeru na mini SD. Zatiaľ však existuje len menšie množstvo modelov podporujúcich vyššiu kapacitu ako 32 GB. Aktuálne najvyššia podporovaná kapacita je 512 GB.

Úskalia fotomonitoringu

Tak ako každá metóda, aj fotomonitoring má svoje limity a výhody, ktoré treba poznať ešte pred realizáciou výskumu. Kontinuálny dlhodobý fotomonitoring produkuje veľký objem dát. Ten sa zvyšuje s dĺžkou monitoringu, ale tiež s počtom nasadených fotopascí. Následná analýza je časovo náročná. Vyžaduje si prezrieť všetky zábery a podľa zacielenia monitoringu vyselektovať tie potrebné. Tu vzniká priestor pre vývoj analytických programov využívajúcich umelú inteligenciu, ktoré dokážu zábery automaticky pretriediť a vytvoriť aj základné štatistiky (napr. Wildlife Insights, Classify Me).

V súčasnej dobe je častou témou nesúhlas verejnosti a vlastníkov pozemkov s umiestňovaním fotopascí bez ich súhlasu. Problematika má globálny rozmer a v Európe podlieha okrem iného GDPR.

Záver

Fotomonitoring ako metóda terénneho výskumu má v súčasnosti ešte nedocenený potenciál a je zrejmé, že jeho uplatnenie v praxi bude priebežne narastať. V období, keď mnohé druhy čelia rôznym výzvam (strata a fragmentácia biotopov, klimatická zmena, priame prenasledovanie) je to dobrá správa.

Literatúra

Burton *et al.* (2015), Caravaggi *et al.* (2017), Espartosa *et al.* (2024), Meek *et al.* (2014), Miele *et al.* (2021), Norouzzadeh *et al.* (2018), Trolliet *et al.* (2014)

Kontrolné otázky

- Z akých základných komponentov sa skladá moderná fotopasca a na akom princípe funguje?
- Pre aký druh výskumu/monitoringu možno fotopasce využiť?



Obr. 13. Záznam telemetricky sledovaného jedinca medveďa hnedého (*Ursus arctos*) v zimnom období. iditeľné označenie na uchu (ušná značka) umožňuje presnú individuálnu identifikáciu konkrétneho zvieratá na snímke (foto © Michal Kalaš)



Obr. 14. Upevnenie fotopasce v teréne si často vyžaduje improvizáciu, najmä na miestach bez vhodných stromov. Na snímke je zariadenie fixované na suchom konári opretom o skalu, čím sa dosiahol optimálny uhol snimaní na inak ťažko monitorovateľnom rysom chodníku (foto © Michal Kalaš)



Obr. 15. Spoliehať sa len na životnosť batérií a voľnú kapacitu karty nestačí. Snímka ukazuje nízko umiestnenú MMS fotopascu, ktorá bola napriek dostatku energie znefunkčnená zasypaním snehom. Bez pravidelnej fyzickej kontroly a údržby v teréne môže monitoring zlyhať vplyvom počasia (foto © Michal Kalaš)

2.3 Akustický monitoring

Michal Kalas

Akustický monitoring je dynamicky sa rozvíjajúci nástroj terénnych biológov, ktorý sa začal rozvíjať v druhej polovici 20. storočia ako súčasť bioakustiky. Najčastejšie sa využíval na štúdium vtáčích spevov či komunikácie cicavcov, čo prinieslo prvé detailnejšie poznatky o vokalizácii živočíchov. Na záznam hlasov sa používali magnetofóny so smerovým mikrofónom (*shotgun*) alebo parabolou. V tomto období sa akustický monitoring vykonával spravidla bez väčšej miery automatizácie, pričom zariadenie obsluhoval človek. V 70. – 80. rokoch dochádza k vývoju spektrogramov. Ich vznik možno považovať za revolúciu v oblasti bioakustiky, nakoľko umožnili zvuk nielen počuť, ale aj „vidieť“. Keďže jednotlivé druhy, či dokonca jedince môžu mať typický hlasový prejav, prostredníctvom tzv. spektrogramovej analýzy v špecializovaných programoch je možné tieto pomerne presne a rýchlo identifikovať.

Akustická komunikácia je u živočíchov dôležitá. Z hľadiska biomonitoringu je potrebné porozumieť, ktoré frekvenčné pásma živočichy využívajú, prečo a aké sú vlastnosti týchto pásiem z hľadiska šírenia, detekcie a prenosu informácií zvukom.

Rozlišujeme tri základné frekvenčné rozsahy:

1. infrazvuk (pod 20 Hz),
2. spektrum počuteľné pre človeka (20 Hz – 20 kHz),
3. ultrazvuk (nad 20 kHz).

Uvedené frekvenčné rozsahy majú svoje špecifiká, ktoré limitujú spôsob ich využitia. Infrazvuk využívajú napr. slony či niektoré veľryby. Vďaka veľkej vlnovej dĺžke (> 20 m) tento signál preniká na veľké vzdialenosti aj v členitom teréne. To umožňuje zvieratám udržať kontakt na vzdialenosť niekoľkých kilometrov, hoci nízka frekvencia neumožňuje prenos veľkého množstva detailných informácií.

V počuteľnom spektre (pre ľudské ucho) je prenos informácií komplexnejší, no s kratším dosahom. Dá sa povedať, že je tu kompromis medzi dosahom a rozlíšením. Zvuky v tomto spektre (vlnová dĺžka 2 cm – 20 m) umožňujú vzájomnú identifikáciu jedincov, môžu vyjadriť svoj stav (podráždenie, úzkosť) či varovanie. Na toto spektrum sa pri love spoliehajú napríklad sovy či psovité a mačkovité šelmy, ktoré využívajú tzv. pasívnu akustickú lokalizáciu koristi.

Ultrazvuk (vlnová dĺžka < 20 mm) je doménou živočíchov využívajúcich aktívnu echolokáciu (netopiere, delfíny). Krátka vlnová dĺžka sa výborne odráža aj od malých objektov, čo umožňuje presnú orientáciu a lov v tme alebo v zakalenej vode, kde absentuje zrakový vnem. Ide o evolučnú adaptáciu, ktorá nahrádza zrak, pričom vysoká frekvencia je často nepočuteľná pre predátorov či koristiť (ak sa u nich nevyvinula špecifická obrana).

Využitie v ekológii a ochrane prírody

Akustický monitoring je vhodným nástrojom, ktorý možno použiť samostatne alebo v kombinácii s inými metódami terénneho zberu dát (napr. vizuálne pozorovania, evidencia pobytových znakov). Uplatňuje sa pri faunistických prieskumoch, ktorých cieľom je identifikovať zastúpenie druhov v určitej oblasti, sledovať frekvenciu ich výskytu a habitatovú preferenciu, dennú alebo sezónnu aktivitu, či dohľadávať druhy so skrytým spôsobom života. Pritom nemusí ísť nevyhnutne o živočichy s nočnou aktivitou ale aj tie, ktoré žijú v hustej vegetácii (napr. aj niektoré druhy bezstavovcov), vysoko v korunách stromov a tým sú obtiažne pozorovateľné vizuálne. Akustický monitoring nemusí byť založený len na pasívnom zázname vokalizácie živočíchov. Prostredníctvom hlasových nahrávok možno úmyselne vyprovokovať

niektoré druhy k aktivite a skúmať ich vnútrodrohové či medzidrohové reakcie. Príkladom môže byť vizuálne sledovanie reakcií kopytníkov na hlasovú nahrávku vlkov (*Canis sp.*), alebo reakcia vtákov na nahrávku hlasu ich predátora (kuvičok vrabčí *Glaucidium passerinum*).

Z uvedeného vyplýva, že akustický monitoring môže mať dve rozličné formy:

1. v teréne inštalujeme vhodné rekordéry a následne len identifikujeme druhy a ich aktivitu na základe zaznamenaných zvukov,
2. využívame hlasové nahrávky na provokovanie druhov a zaznamenávame (vizuálne/akusticky) reakcie druhov.

Nahrávanie zvuku

Rekordéry používané pri bioakustickom monitoringu prešli vývojom, podobne ako špeciálne upravené fotoaparáty smerom k súčasným fotopasciam. V nedávnej minulosti (u nás cca od roku 2008) sa za týmto účelom hojne využívali bežné diktafóny. Nevýhodou boli nízka odolnosť voči klimatickým podmienkam (dážď, chlad) a slabá výdrž batérií (funkčne len v rozsahu hodín). Modely, ktoré neumožnili automaticky spustiť a zastaviť nahrávanie v stanovenom čase boli nepoužiteľné. Na diktafóny sa svojpomocne vyrábali maskovacie puzdra, ktoré zariadenie chránili aj proti nepriazni počasia. Takýto spôsob akustického monitoringu bol relatívne lacný. Dnešné špecializované rekordéry pre bioakustický monitoring sa postupne dostávajú do rovnakej cenovej kategórie a týka sa to nielen zariadení pre počuteľné spektrum, ale aj pre niektoré ultrazvukové rekordéry.

Moderné zariadenia (napr. Wildlife Acoustics, Audio Moth, Pettersson) bežne pracujú v širokom rozsahu frekvencií (0 – 150 kHz) ale existujú aj také, ktoré nahrávajú zvuk len v počuteľnom spektre. Poskytujú bezstratový formát (WAV) a bitovú hĺbku 16–24 bit. Vyznačujú sa dlhou výdržou (niektoré až 100 dní prevádzky), odolnosťou voči klimatickým podmienkam a vysokou flexibilitou nastavení. Rozmerovo ide o malé a nenápadné zariadenia, ktoré sa dajú dobre ukryť. Hlavné prvky akustického rekordéra tvoria: základná doska s procesorom, slot na pamäťovú kartu, mikrofón a slot pre batérie. Niektoré rekordéry umožňujú nastavovanie cez mobilné aplikácie pomocou *Bluetooth*, iné sa pripoja cez rozhranie USB. Telo rekordéra je vyrobené z plastu a je dôsledne utesnené. V teréne sa upevňuje pomocou statívového závitú alebo popruhom.



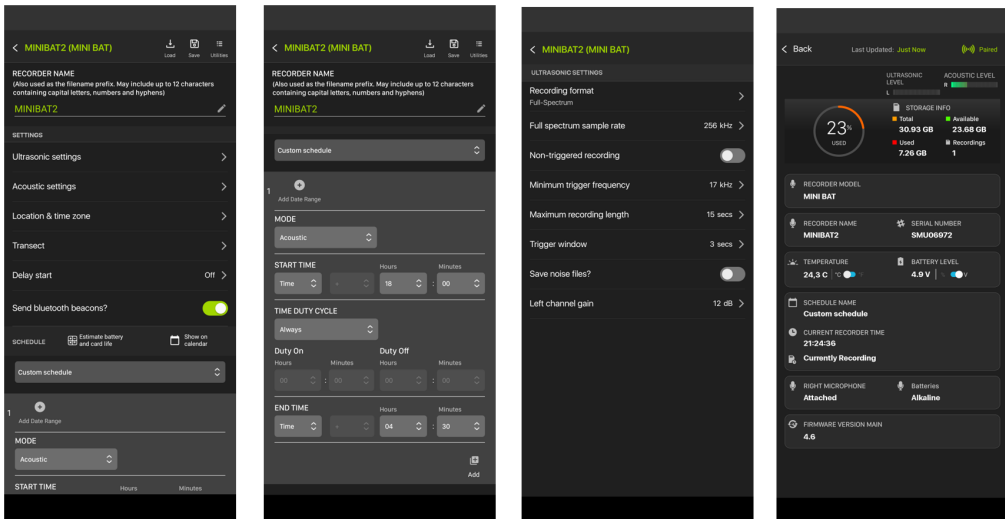
Obr. 16. Zariadenia pre pasívny akustický monitoring (PAM). Vľavo Wildlife Acoustic, vpravo nízkofrekvenčný rekordér Audio Moth. Prístroje slúžia na záznam hlasových prejavov vtákov, obojživelníkov, bezstavovcov a cicavcov, vrátane netopierov. Umiestnenie rekordéra má zásadný vplyv na kvalitu nahrávok (foto © Michal Kalaš)



Obr. 17. Vývoj technického vybavenia. Vľavo: Improvizované riešenie z počiatkov akustického monitoringu využívajúce bežný diktafón (Olympus série DM) v maskovacom puzdre. Hlavnou nevýhodou tohto riešenia bola nedostatočná vodotesnosť a nízka výdrž batérií. Vpravo: Súčasný štandard reprezentuje špecializovaný rekordér (Wildlife Acoustics Song Meter Micro 2). Oproti diktafónom ponúka pri miniatúrnych rozmeroch plnú odolnosť voči poveternostným vplyvom a násobne vyššiu energetickú efektívnosť (foto © Michal Kaláš)

V závislosti od modelov a ich určenia sa líšia flexibilita nastavení. Je možné meniť vzorkovaciu frekvenciu, zisk (dB), priradiť k záznamu súradnice, časovú pečiatku, teplotu prostredia, naplánovať obdobie, kedy bude rekordér nahrávať, prípadne odložiť jeho štart. Aplikácia umožní na základe kapacity použitých batérií a pamäťovej karty odhadnúť obdobie, ako dlho bude rekordér funkčný, na základe čoho sa dá navrhnúť optimálny vzorkovací dizajn a plán kontrol zariadenia v teréne. Nastavenia jednotlivých parametrov treba prispôsobiť cieľovým druhom. Napríklad pre monitoring výra skalného (*Bubo bubo*), ktorého vokalizácia sa pohybuje približne medzi 0,3 – 0,8 kHz postačuje nižšia vzorkovacia frekvencia (32 kHz). Pre spevavce 44,1 až 96 kHz. V prípade netopierov je to až 192 až 384 kHz. Vyššia vzorkovacia frekvencia prináša viac detailov, ale tiež väčšie objemy dát a citlivosť na šum.

Súčasťou nahrávok získaných v teréne sú takmer vždy rôzne ruchy (antropogénne zvuky, zvuky necieľových druhov, zvuk vetra, dažďa), ktoré znižujú kvalitu nahrávok a komplikujú identifikáciu druhov. Okrem optimálneho nastavenia už spomenutej vzorkovacej frekvencie je ďalším nástrojom nastavenie zisku (*gain*, dB). Vysoká hodnota *gain* (+ 18 dB) zosilní veľmi tiché druhy, ale prinesie do záznamu viac šumu a skreslenia silných zvukov. Správne nastavenie tohto parametra je pre kvalitu nahrávky kľúčové. Hodnotu ktorú rekordér ponúka treba prispôsobiť cieľovým druhom, vzdialenosti, na ktorú ich chceme zachytiť a hlukovému pozadiu (šum korún stromov, potok, doprava na ceste). Platí pravidlo, že veľký zisk (12 až 18 dB) možno nastaviť v prípade tichých druhov v prostredí bez hluku, žiadny až nízky zisk (0 až 6 dB) pri hlasných druhoch v hlučnom prostredí alebo v ich blízkosti.



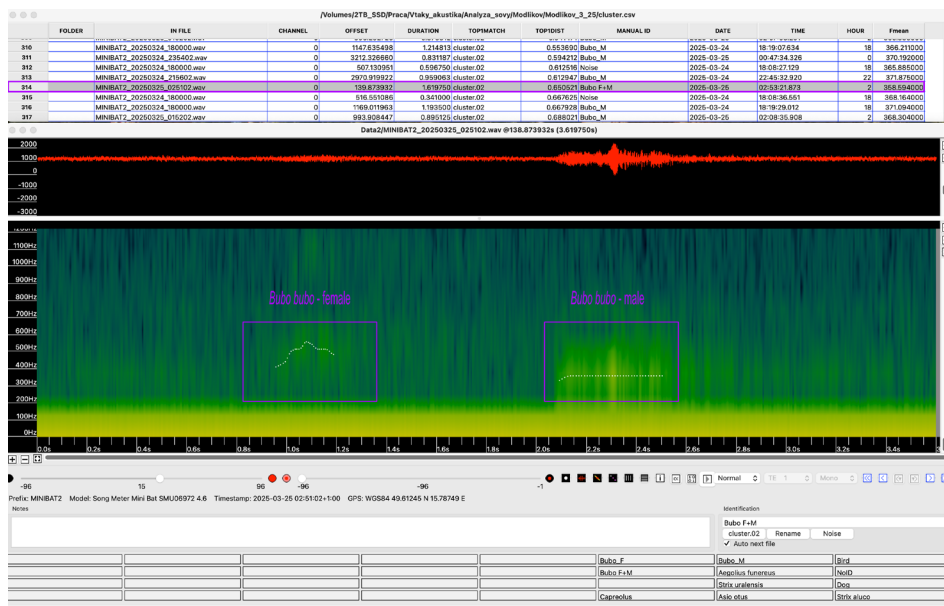
Obr. 18. Moderné rekordéry (napr. od Wildlife Acoustics) využívajú na konfiguráciu mobilnú aplikáciu. Rozhranie umožňuje bezdrôtovo nastaviť časový harmonogram (kedy má prístroj nahrávať), parametre záznamu (napr. vzorkovaciu frekvenciu pre ultrazvuk, zisk) a skontrolovať stav zariadenia (kapacitu batérie a pamäťovej karty) (zdroj Michal Kaláš)

V neposlednom rade je to aj spôsob umiestnenia rekordéra na lokalite či výber vhodného obdobia so stabilným počasím, čo ovplyvňuje kvalitu nahrávok. Nepriaznivé počasie nepredstavuje len zvýšenú úroveň hluku, ale aj zníženú aktivitu živočíchov. Miesto nahrávača volíme v teréne podľa cieľových druhov optimálne tak, aby nezahŕňalo stanovišťa druhov spôsobujúcich nepríjemné rušenie, náveterné strany, tečúcu vodu a podobne.

Spektrogramová analýza

Zo získaných nahrávok možno identifikovať hlasové prejavy živočíchov. Keďže pri akustickom monitoringu vzniká veľký objem digitálnych dát, nie je fyzicky možné tieto záznamy vypočítať celé. Preto sa využíva špecializovaný software, ktorý umožňuje zvuk konvertovať do grafickej podoby a vytvoriť tzv. spektrogram, kde je čas (os X), frekvencia (os Y) a intenzita signálu (farba/jas). To umožňuje záznamy rozčleniť na grafy a nahrávky najskôr skontrolovať vizuálne, čo významne skrátuje vyhodnotenie. Zatiaľ čo vypočítanie minútovej nahrávky si vyžaduje 60 sekúnd, vizuálna kontrola spektrogramu, ktorý reprezentuje rovnako dlhý časový úsek, trvá 2 – 5 s.

Pre druhovú identifikáciu niekedy postačuje len vizuálna kontrola spektrogramov. Ide o prípady, keď majú druhy svoj typický „podpis“ v podobe akustickej stopy a analyzuje ich skúsený človek. V komplikovanejších prípadoch, je možné využiť kombináciu vizuálnej kontroly, zároveň prehrať hlas a odmerať dosahované hodnoty zvuku (min a max frekvencia, vzdialenosť medzi vokalizáciami a podobne). Niektoré jednoduchšie programy umožňujú konvertovať zvuk na spektrogram, iné obsahujú možnosť detailných meraní, respektíve tieto vykonávajú automaticky. Niektoré SW pracujú s rozsiahlymi knižnicami zvukových nahrávok a dokážu okrem merania parametrov na ich základe odhadnúť druh. Po automatickej identifikácii sa odporúča vykonať manuálnu verifikáciu. Výsledkom celého procesu je tabelárny prehľad analyzovaných údajov, ktorý možno ďalej štatisticky spracovať. Existuje celá rada viac alebo menej špecializovaných programov, pomocou ktorých možno analyzovať zvukové nahrávky (Audacity, Raven Lite/Pro, Kaleidoscope Pro, BatSound, AMSrv).



Obr. 19. Pracovné prostredie softvéru Kaleidoscope PRO so zobrazeným spektrogramom nahrávky páru výra skalného (*Bubo bubo*) (zdroj Michal Kalaš). Na spektrograme je zachytená vokalizácia dvoch jedincov výra skalného (*Bubo bubo*) - samca a samice. Na základe súbežného výskytu oboch pohlaví možno lokalitu považovať za obsadenú hniezdnym párom. Identifikácia je pri vývoji relatívne nenáročná. Po úvodnej verifikácii a zadefinovaní frekvenčných parametrov (napr. F mean = 350 až 370 Hz pre samca, samica má hlas položený vyššie) si mapovateľ zapamätá vizuálny tvar volania. Všetky následné detekcie je možné potom triediť vizuálne, len s občasnou akustickou kontrolou, čo výrazne urýchľuje prácu. Tabuľka v hornej časti okna sumarizuje namerané parametre (výber sílpcov je voliteľný) a v poli Manual ID umožňuje vkladať finálnu identifikáciu druhu. V prípade analýzy ultrazvukových nahrávok netopierov software generuje aj stĺpec Auto ID, kde na základe parametrov automaticky navrhuje druh. Táto funkcia však primárne slúži ako pomôcka. Softvér môže chybné identifikovať striduláciu hmyzu ako netopiera, alebo naopak, nejasnú echolokáciu vyhodnotiť ako šum (Noise). Pre elimináciu chýb (nadhodnotenie či podhodnotenie výskytu) je preto nevyhnutné, aby záznamy manuálne skontroloval odborník.

Výhodou akustického monitoringu je jeho neinvazívnosť a podľa zvoleného zariadenia možnosť zaznamenávať zvuky relatívne dlhé obdobie bez potreby prítomnosti človeka. Použitelnosť akustického monitoringu je limitovaná aktivitou cieľových druhov a kvalitou prostredia. Aj napriek pokročilým technológiám pri analýzách zvukov treba pri rozsiahlych datasetoch (záznamy z niekoľkých mesiacov) rátať s významnou časovou náročnosťou.

Literatúra

Blumstein *et al.* (2011), Penar *et al.* (2020), Sugai *et al.* (2019)

Kontrolné otázky

- Vysvetlite rozdiel medzi využitím infrazvuku a ultrazvuku v živočíšnej ríši z hľadiska šírenia signálu a účelu komunikácie.
- Akustický monitoring môže prebiehať dvoma odlišnými spôsobmi. Pomenujte ich a popíšte rozdiel v metodike.
- Prečo nie je možné použiť jedno univerzálne nastavenie rekordéra pre všetky druhy? Uveďte príklad rozdielu v nastavení vzorkovacej frekvencie pre sovu (napr. výra) a pre netopiera.
- Čo je to spektrogram a v čom spočíva jeho hlavná výhoda pri spracovaní rozsiahlych datasetov v porovnaní s klasickým posluhom nahrávok?

2.4 CyberTracker

Michal Králik

Sledovanie a ochrana voľne žijúcich živočíchov sú kľúčovými aspektmi environmentálneho manažmentu a ochrany biodiverzity. Jedným z inovatívnych nástrojov, ktorý umožňuje efektívne zhromažďovanie údajov o pohybe a výskyte zvierat, je systém CyberTracker. Tento systém predstavuje unikátne spojenie technológie a tradičných stopárskych zručností, pričom ponúka vzdelávací program a proces certifikácie stopárov živočíchov.

CyberTracker je ako softvérový, tak vzdelávací systém určený na zaznamenávanie a analýzu údajov o voľne žijúcich živočíchoch. Bol kreovaný v Juhoafrickej republike v 90. rokoch pôvodne na podporu tradičných stopárov, ktorí často nemali formálne vzdelanie, ale disponovali výnimočnými schopnosťami čítať stopy a znaky prítomnosti zvierat.

Vzdelávací proces a certifikácia stopárov:

CyberTracker ponúka formálne vzdelávacie a certifikačné programy, ktoré zabezpečujú, že stopári dosiahnu vysokú úroveň odbornosti.

Proces hodnotenia zahŕňa nasledujúce aspekty:

- identifikácia stôp a znakov – stopári sa učia a zdokonaľujú v rozpoznávaní rôznych druhov stôp, trusu, poškodenia vegetácie, znakov kŕmenia či miesta odpočinku živočíchov.
- sledovanie pohybu zvierat – program zahŕňa techniky sledovania pohybu jednotlivých druhov, od analýzy smeru pohybu až po rekonštrukciu správania zvierat'a.
- ekologické súvislosti – stopári získavajú vedomosti o ekosystémoch, interakciách medzi druhmi a vplyve environmentálnych faktorov na správanie zvierat.

Certifikácia CyberTracker je založená na hodnotení zručností stopárov a udeľovaní rôznych úrovní kvalifikácie, ktorá je rozoznávaná po celom svete ale hlavne v Afrike, Severnej Amerike a Európe.

Význam pre ochranu prírody a výskum

Systém CyberTracker zohráva dôležitú úlohu v ochrane prírody a vedeckom výskume.

Umožňuje:

- získavanie presných dát o výskyte, pohybe a správaní sa zvierat v reálnom čase,
- monitorovanie ohrozených druhov, čím prispieva k ich ochrane a manažmentu ich populácií,
- zapájanie miestnych komún do ochrany prírody a rozvoj občianskej vedy, čo zvyšuje povedomie a angažovanosť,
- využitie v boji proti pytliactvu, keď skúsení stopári môžu odhaliť nelegálnu činnosť.

CyberTracker je nástrojom, ktorý spája tradičné stopárske znalosti s modernými technológiami. Vzdelávací a certifikačný systém nielenže uchováva cenné poznatky o prírode, ale zároveň vytvára nové príležitosti pre ochranu živočíchov a vedecký výskum. Vďaka svojej efektívnosti a jednoduchosti sa CyberTracker stal neoceniteľným pomocníkom pre ekológov, strážcov prírody a nadšencov sledovania divokej prírody po celom svete.



Obr. 20. Skúšajúci školiteľ CyberTracker determinuje pobytový znak počas prebiehajúcej skúšky stopárov (foto © Michal Králik).

Zdroje

<https://cybertracker.org/>

<https://trackercertification.com/>

<https://europeanwildlifetracking.com/>

Kontrolné otázky

- Čo je CyberTracker?
- Čo umožňuje CyberTracker?

3 Metódy výskumu a monitoringu vodných bezstavovcov

Silvia Bartóková, Veronika Slobodníková, Tímea Chamutiová & Peter Bitušik

Úvod

Na území Slovenska sa výskum sladkovodných ekosystémov zaraďuje do oblasti limnológie. Ide o vedeckú disciplínu, ktorá sa sústreďuje na štúdium vnútrozemských vôd, ako sú potoky, rieky, jazerá, či umelé vodné nádrže a rôzne typy mokradí. Limnológia skúma fyzikálne, chemické a biologické charakteristiky týchto vodných systémov a tvorí významnú súčasť širšieho odboru hydrobiológie. Na Slovensku sa tejto problematike venujú odborníci z rôznych inštitúcií, pričom Slovenská limnologická spoločnosť ich združuje a podporuje výmenu poznatkov v oblasti výskumu abiotických a biotických zložiek vodných ekosystémov, ako aj otázok súvisiacich so znečisťovaním vodného prostredia.

V rámci biologického monitoringu a hodnotenia ekologickej kvality vodných útvarov sa na tieto účely popri rozsievkach, makrofytoch, mäkkýšoch a rybách využívajú aj bentické vodné bezstavovce. Vďaka svojej rozmanitosti, ekologickej plasticite a citlivosti na zmeny prostredia predstavujú dôležité bioindikátory, ktoré umožňujú posúdiť dlhodobý vplyv environmentálnych stresorov na vodné ekosystémy. Ich prítomnosť, druhová rozmanitosť a abundancia poskytujú cenné informácie o kvalite vody a vplyvoch antropogénnych činností. Monitorovanie týchto organizmov je preto neoddeliteľnou súčasťou hodnotenia ekologickeho stavu vodných tokov v súlade s Rámcovou smernicou o vodách (2000/60/ES).

Bentické bezstavovce, nazývané aj makrozoobentos alebo bentická makrofauna, sú živočíchy rôznych veľkostí – od drobných (nad 1 mm) až po niekoľkocentimetrové, ktoré žijú na dne vodných biotopov buď po celý život (napr. ploskule, pijavice, máloštetinavce, kôrovce) alebo len v larválnom štádiu (mnohé skupiny hmyzu). Môžu byť pohyblivé alebo prisadnuté. Vďaka relatívne dlhým vývinovým cyklom (od niekoľkých mesiacov po niekoľko rokov) sú schopné dlhodobo reagovať na kvalitu vodného prostredia, čo z nich robí jedny z najspolahlivejších bioindikátorov ekologickeho stavu vôd.

Výber odberového miesta a samotný odber vzoriek

Podľa všeobecne platných noriem STN EN 16150 a STN EN ISO 10870 sa odber vzoriek bentických bezstavovcov uskutočňuje na reprezentatívnych miestach vodného útvaru, ktoré odrážajú typické podmienky daného úseku toku, alebo inej mokrade. Výber miesta závisí od typológie toku, substrátu, prítoku a ďalších hydromorfologických charakteristík.

V prípade brodných tokov sa postupuje podľa noriem STN EN 16150 a STN EN ISO 10870, kde sa vzorky odoberajú naprieč celým priečnym profilom toku. Vo väčších, hlbších tokoch sa vzorkovanie obmedzuje na brehovú (ripálnu) zónu. Najvhodnejšie obdobia pre odber na Slovensku sú na jar a jeseň, mimo extrémnych hydrologických podmienok ako sú povodne, dlhodobé dažde alebo sucho.

Brodné toky

V menších a plytkých tokoch sa uplatňuje multihabitatový prístup. Vzorka pozostáva zo súboru 20 čiastkových vzoriek, pričom sa odoberajú z rôznych typov substrátov podľa ich zastúpenia v 100-metrovom úseku toku. Pri nízkej diverzite substrátov (napr. homogénne dno) postačuje aj 10 čiastkových vzoriek. Pred samotným odberom sa vykonáva vizuálne zhodnotenie prítomných habitatov, aby sa predišlo ich narušeniu.

Zber sa realizuje ručnou sieťkou (500 μm) s rámom veľkosti 25 \times 25 cm (tvar D alebo štvorcový). Postupuje sa proti prúdu – sieťka sa pritlačí ku dnu a substrát sa rozrušuje do hĺbky 5 – 20 cm. Uvoľnené živočíchy prúd strháva do sieťky, v stojatých úsekoch sa voda aktívne vhaňa. Používajú sa aj pomocné nástroje ako kefky či škrabky a pri mäkkých sedimentoch sa sieťka jemne vtlača do dna. Substráty ako korene sa vystavujú prúdu na uvoľnenie živočíchov.

Získaný materiál sa preniesie na podložku, odstráni sa nadbytočný materiál (listie, ihličie, kúsok dreva, resp. väčšie kamienky) a vzorka sa premyje na site (500 μm). Po očistení sa konzervuje v 4 % formaldehyde, prípadne liehu ak je plánovaná genetická analýza a uloží do označenej nádoby.

Hlboké (nebrodné) toky

V hlbších tokoch sa kvôli obmedzenej viditeľnosti a prístupu vykonáva zber vzoriek v ripálnej zóne, prípadne aj zo strednej časti koryta, ak to podmienky umožňujú. Použité metódy sú obdobné ako pri brodných tokoch, avšak upravené pre zložitejšie podmienky prostredia.

Skupiny vodných bezstavovcov ako indikátory kvality vody

Výskum bentických živočíchov sa zameriava na odhad biodiverzity a ekologickú klasifikáciu daného vodného toku. Súčasťou tohto procesu je aj analýza vzťahov medzi fyzikálno-chemickými parametrami vody a prítomnými organizmami na konkrétnom biotope. Tieto bioindikačné druhy, resp. taxóny poskytujú cenné informácie o stave prostredia a môžu signalizovať zmeny spôsobené napríklad organickým, ale najmä chemickým znečistením. Ako už bolo uvedené, rôzne skupiny živočíchov vykazujú rozdielnu citlivosť na environmentálne zmeny – kým niektoré druhy prežívajú aj v silne degradovaných podmienkach vďaka svojej vysokej ekologickej tolerancii, iné, s úzkou ekologickou valenciou, vyžadujú špecifické podmienky pre život. Príkladom sú larvy pošvatiek (Plecoptera) a niektorých druhov podeniek (Ephemeroptera) a potočníkov (Trichoptera), ktoré sú obzvlášť citlivé na koncentráciu kyslíka vo vode.

V ekologickom hodnotení kvality vôd patria biologické indexy k dôležitým nástrojom, ktoré umožňujú posúdiť stav vodného ekosystému na základe zloženia a štruktúry bentického makrozoobentosu.

Jedným z najrozšírenejších indexov hodnotenia kvality vody z hľadiska organického znečistenia je sapróbny index, ktorý rozpracoval Sládeček (1973). Systém je založený na tolerancii jednotlivých indikačných druhov (saprobiontov) k stupňu znečistenia vody ľahko odbúrateľnými organickými látkami. U bezstavovcov sa táto tolerancia viaže predovšetkým na absolútnu hodnotu koncentrácie rozpusteného kyslíka vo vode. Výsledkom hodnotenia je sapróbny index spoločenstva – číselná hodnota na stupnici saprobity (od -0,5 do 8,5), ktorá vyjadruje stupeň znečistenia vody biologicky odbúrateľnými organickými látkami.

Ďalšími dvoma používanými indexmi sú BMWP skóre (*Biological Monitoring Working Party*) a ASPT index (*Average Score Per Taxon*). Tieto indexy zohľadňujú ekologickú citlivosť jednotlivých taxónov (zvyčajne na úrovni čeľadí alebo rodov) na organické znečistenie a predstavujú jednoduchý a efektívny spôsob biomonitoringu najmä v podmienkach strednej Európy. Tieto metódy umožňujú hodnotenie kvality vody bez potreby určovania organizmov až na druhovú úroveň – postačuje určenie do vyšších taxonomických kategórií. Aj pri tomto prístupe je však dôležité rozpoznať základné morfológické znaky, ktoré sú charakteristické pre jednotlivé skupiny bentických bezstavovcov.

Praktická aplikácia

Účinné vykonávanie biomonitoringu vodných ekosystémov si vyžaduje primeranú výbavu, ktorá zabezpečí spoľahlivý zber a identifikáciu organizmov.

Medzi základné vybavenie patrí:

- ručná sieťka na zber vodných bezstavovcov, vybavená pevnou kovovou konštrukciou a sieťovinou z odolného materiálu (napr. UHELON alebo dederón),
- vysoké gumené čižmy na bezpečný pohyb vo vode,
- plastové misky na triedenie vzoriek v teréne,
- zberné nádoby, najčastejšie plastové nádoby so širokým hrdlom a uzáverom, slúžiace na transport organizmov,
- mäkké pinzety a plastové pipety na šetrné manipulovanie so živočíchmi,
- pH meter s teplomerom (voliteľne), ktorý umožňuje merať základné fyzikálno-chemické vlastnosti vody priamo na mieste.

Na determináciu makrozoobentosu je nevyhnutné použiť určovacie kľúče, ktoré pomáhajú priradiť pozorované živočíchy k správnym taxonomickým skupinám. Odporúčanými determinačnými kľúčmi sú Novikmec *et al.* (2018) a Rúfusová *et al.* (2017).

Odber bezstavovcov

Jednou z bežne používaných metód zberu bentických bezstavovcov v tečúcich vodách je tzv. kopacia metóda (*kick-sampling*). Pri jej aplikácii sa dno vodného toku mechanicky narušuje pohybom nôh počas približne piatich minút, pričom tesne pod miestom rozrývania je umiestnená ručná biologická sieťka. Tá musí byť orientovaná proti prúdu a pritláčaná ku dnu, aby zachytila unášaný materiál vrátane živočíchov (obr. 21).



Obr. 21. Odber vzoriek z potoka kopacou metódou (*kick-sampling*)
foto © Silvia Bartóková)

Zozbieraný materiál sa následne dôkladne prepláchne a preniesie do plastovej nádoby (napr. tácky). Tam sa premiešava s čistou vodou s cieľom uvoľniť organizmy, ktoré môžu byť prichytené na substráte. Vzniknutá suspenzia sa potom opatrne prelieva do zberných nádob, pričom sa snažíme získať čo najviac bezstavovcov a zároveň minimalizovať množstvo nepotrebného materiálu.

Pre získanie reprezentatívneho vzorkovania je dôležité odoberať vzorky z viacerých lokalít v rámci skúmaného úseku, najmä v prípade výskytu rôznych typov mikrohabitatov, aby sa zvýšila šanca na zachytenie čo najširšieho spektra druhov.

Po odbere je potrebné vzorky makrozoobentosu starostlivo vytriediť, teda oddeliť jednotlivé druhy alebo taxóny. Súčasťou štandardizovaného postupu je fixácia vzoriek 90 % denaturovaným etanolom, najmä ak sa určovanie odkladá na dlhší čas. Vzorky sa prenášajú do laboratórií v uzatvárateľných nádobách a pozorujú sa pod binokulárnym mikroskopom.

Určovanie bezstavovcov

Pred samotným spracovaním je fixovaný materiál zbavený formaldehydu premytím cez sito s veľkosťou ôk 500 µm.

Stanovenie BMWP skóre a ASPT indexu

BMWP skóre predstavuje súčet hodnotenia jednotlivých taxónov, ktoré sa vyskytujú vo vzorke odobratej z vodného toku. Každému taxónu je na základe jeho citlivosti na organické znečistenie priradené skóre od 1 (veľmi tolerantné druhy) až po 10 (veľmi citlivé druhy) (tab. 4). Taxóny s vysokou citlivosťou, ako napr. larvy podeniiek (Ephemeroptera), pošvatiek (Plecoptera) alebo potočníkov (Trichoptera), získavajú skóre 7 až 10. Odolné taxóny, ako niektoré druhy pijavíc, larvy komárov či pakomárov, dosahujú skóre 1 až 3.

Postup výpočtu:

1. Zo vzorky sa identifikujú všetky prítomné taxóny.
2. Každému zistenému taxónu sa priradí príslušné skóre podľa štandardizovanej BMWP tabuľky.
3. Hodnoty všetkých taxónov sa sčítajú.
4. Výsledný súčet predstavuje celkové BMWP skóre.

Poznámka: Skóre závisí výlučne od prítomnosti daného taxónu, nie od jeho početnosti.

ASPT index (*Average Score Per Taxon*) predstavuje priemerné skóre ekologickej citlivosti taxónov vo vzorke. Slúži ako doplnok k BMWP skóre a zohľadňuje druhovo-taxonomickú rozmanitosť vzorky.

Vzorec výpočtu:

$$\text{ASPT} = \frac{\text{BMWP skóre}}{\text{počet zistených taxónov}}$$

- Vysoký ASPT index (napr. >6) indikuje dominanciu citlivých organizmov a dobrý ekologický stav.
- Nízky ASPT index (napr. <4) signalizuje prevahu tolerantných taxónov, čo môže znamenať zhoršenú kvalitu vody.

Príklad:

Vzorka obsahuje 6 taxónov s bodovými hodnotami: 3, 6, 5, 4, 7, 8

→ BMWP skóre = 33

→ ASPT index = 33 / 6 = 5,5

Využitie v ekologickej hodnote

BMWP skóre a ASPT index sa využívajú najmä pri:

- monitorovaní organického znečistenia vo vodných tokoch,
- klasifikácii ekologickej kvality podľa rámcovej smernice EÚ o vode,

- sledovaní dlhodobých zmien v štruktúre makrozoobentosových spoločenstiev,
- porovnávaní rôznych lokalít, najmä pri hodnotení vplyvu bodových a plošných zdrojov znečistenia.

Ich výhodou je relatívna jednoduchosť, časová nenáročnosť a možnosť aplikácie v terénnych i laboratórnych podmienkach. Pre vyššiu objektivitu sa tieto indexy odporúča kombinovať s ďalšími biologickými, chemickými a fyzikálnymi parametrami sledovaného vodného útvaru.

Výsledky biologických, fyzikálno-chemických a hydromorfologických analýz sa interpretujú pomocou klasifikačných schém, ktoré umožňujú zaradiť vodný útvar do jednej z piatich tried ekologického stavu (tab. 5).

Tieto triedy vyjadrujú mieru odchýlky od prirodzených (referenčných) podmienok. Veľmi dobrý stav predstavuje takmer nenarušený ekosystém, zatiaľ čo zlý stav signalizuje výrazné poškodenie biotopu a zníženie ekologickú funkciu. Cieľom Rámцovej smernice o vodách je, aby všetky vodné útvary dosiahli minimálne dobrý ekologický stav. Táto klasifikácia slúži ako základ pre plánovanie ochranných a obnovných opatrení vo vodnom hospodárstve.

Monitorovanie vodných bezstavovcov podľa noriem STN EN 1615, STN EN ISO 10870 a STN EN 15196 poskytuje spoľahlivé a štandardizované údaje o ekologickom stave vodných útvarov. Tieto metódy sú nevyhnutné pre efektívne riadenie a ochranu vodných ekosystémov, keďže presná identifikácia a hodnotenie druhovej skladby bentických organizmov umožňujú detailnejší pohľad na znečistenie a celkovú kvalitu prostredia.

Pakomáre ako bioindikátory prostredia

Medzi najvýznamnejšie skupiny hodnotené v rámci biologických indexov patria aj pakomáre (Chironomidae), ktoré zohrávajú kľúčovú úlohu ako indikátory ekologického stavu vodných útvarov.

Pakomáre sú najrozšírenejšou skupinou voľne žijúceho holometabolického hmyzu, zástupcov ktorej možno nájsť vo všetkých zoogeografických oblastiach a všetkých klimatických pásmach od tróпов až po polárne oblasti od Antarktídy a sub-antarktických ostrovov až po ostrov Ellesmere v kanadskej Arktíde. V tomto ohľade im môže konkurovať len niekoľko druhov chvostoskokov a roztočov. Larvy a kukly väčšiny druhov obývajú rôzne typy sladkých vôd, ale niektorým druhom sa darí aj v brakickej vode a larvy niekoľkých druhov sú považované za pravé morské živočíchy, čo je medzi hmyzom skutočne výnimočná záležitosť. A napokon, známe sú aj semiterestrické a úplne terestrické druhy.

Pakomáre patria k druhovo najbohatším čeľadiam dvojkrídlovcov (Diptera). Doteraz bolo opísaných viac ako 7 300 druhov (z predpokladaných 10 000) patriacich do takmer 440 rodov a 11 podčeľadí.

Vo väčšine vodných biotopov larvy pakomárov často dominujú v spoločenstvách vodného hmyzu, a to tak počtom jedincov (potenciálne stovky až tisíce lariev na meter štvorcový), tak aj počtom druhov na lokalitu. V niektorých prípadoch je ich druhové bohatstvo vyššie než spoločná diverzita všetkých ostatných skupín bentických bezstavovcov. Larvy dokážu tolerovať extrémne širokú škálu podmienok prostredia, pokiaľ ide o teplotu vody, jej hĺbku, pH, obsah rozpusteného kyslíka, vysychanie biotopu a nakoniec aj gradient ľudských vplyvov, ako je organické znečistenie, modifikácia biotopov a zmeny v povodiach.

Všetky vyššie uvedené atribúty čeľade Chironomidae – doslovná všadeprítomnosť, vysoké druhové bohatstvo a schopnosť znášať rozsiahly gradient podmienok prostredia robia z tejto skupiny vodného hmyzu ideálne biologické indikátory na hodnotenie nielen súčasných vplyvov človeka na vodné ekosystémy, ale aj na historické (paleolimnologické) rekonštrukcie zmien prostredia. V ekologických štúdiách a v programoch biomonitoringu by mohli pakomáre dobre nahradiť ostatné skupiny bentickej makrofauny.

V skutočnosti to však tak nie je. Širšiemu využitiu pakomárov v biomonitoringu bráni, okrem nedostatočne známej autekológie mnohých druhov, hlavne náročná identifikácia lariev. Aj napriek výraznému pokroku v taxonómii v posledných desaťročiach, určovanie lariev na nižšiu než rodovú úroveň je objektívne ťažké, časovo náročné a neprináša požadované výsledky. Výsledkom je, že pakomáre často vstupujú do biomonitorovacích systémov na úrovni podčeľadí alebo sú identifikované iba do obmedzeného počtu rodov, čo nemusí poskytovať užitočné informácie k biomonitoringu.

Vzhľadom na uvedené problémy s identifikáciou lariev, ale aj časovú náročnosť postupov predchádzajúcich samotnej identifikácii bol navrhnutý alternatívny prístup využívajúci exúviu kukiel pre hodnotenie ekologického stavu vôd v biomonitoringu. Samotná myšlienka využitia kukiel ako zdroja informácií o spoločenstvách pakomárov má už vyše 100 rokov, ale prekvapujúco sa začala intenzívnejšie presadzovať až v 70. – 80-tych rokoch minulého storočia pre hodnotenie kvality vody, v štúdiách štruktúry spoločenstiev pakomárov v rôznych typoch vôd, ako aj v štúdiách ekologických procesov.

Výsledky mnohých prác, najmä v západnej Európe, USA (ale aj na Slovensku) vyústili k vytvoreniu metodiky CPET (*Chironomid Pupal Exuviae Technique*), používanie ktorej ukázalo veľký potenciál pre hodnotenie tečúcich a stojatých vôd. V súvislosti s prijatím Rámcovej smernice o vodách (WFD) prevzalo Slovensko európsku normu EN 15196: 2006 „*Water quality. Guidance on sampling and processing of the pupal exuviae of Chironomidae (Order Diptera) for ecological assessment*“ ako svoju normu STN EN 15196 (757756) pre hodnotenie ekologického stavu vôd.

Táto norma špecifikuje metodiku na odber vzoriek plávajúcich exúvií pakomárov z rôznych typov tečúcich a stojatých vôd, ako aj pokyny na preparáciu jedincov pre ich následnú identifikáciu. Získané dáta poskytujú reprezentatívne údaje o relatívnej početnosti druhov, resp. taxónov, ktoré sú vhodné na numerickú analýzu, klasifikáciu a monitoring podmienok prostredia.

Aké boli, resp. sú hlavné dôvody využitia exúvií kukiel pre účely biomonitoringu?

Štádium kukly pakomárov trvá len veľmi krátko, ojedinele viac než 72 hodín. Za tento krátky čas sa musí kukla vyslobodiť z kutikuly posledného larválneho instaru, zabezpečiť optimálne kyslíkové podmienky pre formovanie štruktúr budúceho imága a napokon aj jeho vyletenie do terestrického prostredia (emergenciu). Veľká rôznorodosť morfológických znakov kukly, ktorými sa líšia jednotlivé rody a druhy a na ktorých je založená determinácia, je v podstate odrazom rôznych podmienok, v ktorých kukla žije a funkcií, ktoré plní.

Tesne pred vyľahnutím dospelého jedinca vypláva zrelá kukla k hladine a vďaka hydrofóbnym vlastnostiam kutikuly prerazí povrchovú blanku vody. Imágo sa liahne v priebehu niekoľkých sekúnd. Exúvium kukly zostáva na hladine vďaka zachytenému vzduchu a hydrofóbnej kutikule spravidla 1 – 2 dni (pri nízkych teplotách vody aj dlhšie), potom podlieha bakteriálnemu a hubovému rozkladu a klesne pod hladinu. V tečúcich vodách sa exúviu stávajú súčasťou hladinových plavenín a dráha ich transportu je ovplyvňovaná charakterom prúdenia a v širších tokoch aj silou a smerom vetra. Dĺžka dráhy, ktorú driftujúce exúvium prekoná závisí od stupňa zachytenia o prekážky v toku. Rýchlosť a účinnosť zachytávanie exúvií pozdĺž toku je ovplyvnená šírkou toku, točivosťou koryta, lokálnou topografiou, prítomnosťou prekážok (napr. kmene stromov, vetvy, makrofyty a pod.). V tokoch širokých 1 – 2 m sa až 90% materiálu zachytí na prekážkach vo vzdialenosti 50 – 150 od miesta, kde kukla vyplávala na hladinu a pri šírke 5 – 10 m je táto vzdialenosť 250 – 350 m. V prípade veľkých riek so šírkou nad 100 m môže dĺžka tejto dráhy dosiahnuť 1000 – 2000 m. Tieto údaje sú dôležitým metodologickým východiskom pre vyhodnotenie získaného materiálu. Vzorka plavenín z jedného miesta pozdĺž toku bude teda obsahovať integrovaný súbor exúvií kukiel nahromadených počas predchádzajúcich niekoľkých dní. Tieto exúviu patria druhom, ktoré kolonizovali dostupné

habitaty na krátku vzdialenosť proti prúdu od miesta odberu vzoriek. V prípade stojatých vôd sa predpokladá, že exúviá sú unášané po hladine silou vetra až kým sa nezachytia o breh. Takáto vzorka bude reprezentovať druhy z celej plochy jazera alebo rybníka.

Na zber exúvií je potrebné rovnaké vybavenie bez ohľadu na typ skúmaných vôd. Základom je sieť s hustotou tkaniny 200 – 250 μm a s priemerom rámu do 30 cm (v zásade môže byť priemer aj väčší, ale s veľkými sieťami sa ťažšie manévruje v malých tokoch). Násada na sieť by mala mať nastaviteľnú dĺžku. Nie je to podmienka, ale teleskopická násada umožňuje pracovníkovi dosiahnuť zvolené miesto odberu bez toho, aby vstúpil do vody.

V tečúcich vodách treba postupovať proti prúdu a sieťou zberať z hladiny naplavený materiál za prekážkami: za ponorenými kmeňmi stromov, veľkým balvanmi, v prevísajúcej pobrežnej vegetácii, v porastoch makrofytov, za ukotvenými loďami a pod. V horských tokoch je potrebné venovať zberu viac času a prejsť dlhšiu vzdialenosť než vo väčších riekach a kanáloch, aby sa získal dostatočný počet exúvií (pozri nižšie). V stojatých vodách sa najväčšie akumulácie exúvií nachádzajú popri náveternom brehu.

V miernom pásme severnej pologule vylietajú imága pakomárov v najteplejších 5 – 10 mesiacoch v roku. Zistilo sa, že akákoľvek kombinácia vzoriek získaných z troch odberov v tečúcich vodách medzi aprílom a septembrom poskytuje najmenej 80 % rodov pakomárov z počtu, ktorý sa zistil v 12 po sebe nasledujúcich mesačných vzorkách. V prípade jazier bolo takto získaných 80 % až 90 % druhov zo štyroch odberov medzi aprílom a októbrom.

Opísaným pasívnym zberom nemá pracovník prakticky žiadnu možnosť ovplyvniť obsah vzorky, ovplyvniť môže len počet exúvií vo vzorke svojim úsilím vynaloženým pri zbere.

Získaný materiál sa v teréne spracováva podobným spôsobom, ako odobrané vzorky bentickej makrofauny. Obsah siete sa preniesie pomocou misky do transportných nádob, fixuje 4% roztokom formaldehydu alebo 75% technickým liehom, nádoby sa označia a preniesú do laboratória. Okrem exúvií sa do siete pri zbere často zachytí množstvo plavenín organického pôvodu (lístie, ihličie, kvety a plody drevín, úlomky dreva a pod.). Norma odporúča aspoň 2x preliať vzorku cez sito s veľkosťou očiek ≥ 4 mm, ktoré tieto plaveniny zachytia. Túto činnosť možno vykonať už v teréne alebo sa vzorky takto upravia až v laboratóriu. Napokon, ak plavenín nie je veľa a pracovník usúdi, že nebudú pri vyberaní exúvií prekážať, možno ich vo vzorke ponechať.

V laboratóriu sa vzorka vloží do misky s vodou a celý obsah sa premieša. Časť vzorky sa pomocou jemného sitka preniesie na Petriho misku a pod stereomikroskopom pri malom zväčšení (4 – 7x) sa pomocou jemnej pinzety vyberú všetky exúviá. Podielová vzorka obsahujúca 200 exúvií poskytuje objektívne zastúpenie druhov prítomných v pôvodnej vzorke. Pokiaľ je exúvií menej, opakuje sa celý postup s druhou podielovou vzorkou. Naopak, ak je exúvií zjavne priveľa, mala by sa odobrať menšia podielová vzorka. Vytriedené exúviá sa umiestnia do označených epruviet so 70% alkoholom alebo 4% formaldehydom.

Už pri malých zväčšeniach pod stromikroskopom je možné, po získaní skúseností, exúviá determinovať na úroveň rodov a niektoré až na úroveň druhov. Na identifikáciu druhov je však potrebné väčšie zväčšenie pod svetelným mikroskopom. Exúviá sa môžu montovať do dočasných alebo trvalých mikroskopických preparátov, pričom sa môžu použiť všetky bežné zalievacie médiá. Z dočasných to môže byť 70% alkohol alebo glycerín, z trvalých Euparal alebo Berlese. Postup je jednoduchý a časovo menej náročný než je preparácia lariev. Exúviá sa ukladajú do zalievacieho média na podložné sklo dorzálnou stranou hore. V závislosti od veľkosti exúvií je možné umiestniť pod jedno krycie sklíčko až 30 – 40 exúvií.

Základnou determinačnou literatúrou pre rody a druhy vyskytujúce sa na území Slovenska sú práce Wiederholm *et al.* (1986) a Langton a Visser (2003). Pre praktické použitie analýzy exúvií kukiel v monitoringu kvality vody bol spracovaný prehľadný kľúč (Wilson 1996), neskôr revidovaný a doplnený (Wilson & Ruse 2005).

Údaje získané metódou CPET je možné vyhodnotiť tak jednorozmernými, ako aj viacrozmernými štatistikami. Tými najjednoduchšími je stanovenie druhového bohatstva

a diverzity (v prípade, ak sú k dispozícii spoľahlivé údaje o relatívnej početnosti druhov, čo vyžaduje viac odberov za sezónu), štruktúry trofických skupín, substrátové preferencie a neposlednom rade vyhodnotenie úrovne znečistenia toku. Táto aplikácia vyžaduje zaradiť zistené druhy, resp. taxóny do kategórií tolerancie voči organickému znečisteniu. Druhy/ taxóny sú priradené do kategórií A až D podľa ich schopnosti tolerovať určitý obsah rozpusteného kyslíka vo vode, ktorý je úmerný zaťaženiu systému mikrobiologicky rozložiteľnými látkami. Druhy kategórie A sú polyoxybiontné a intolerantné k znečisteniu, druhy kategórie B sú náročné na obsah kyslíka, ale môžu sa vyskytovať aj v mierne znečistených vodách. Na opačnej strane gradientu sú druhy adaptované na nízky obsah kyslíka v prostredí (napr. prítomnosť hemoglobínu v hemolymfe) a tolerujúce aj silné organické znečistenie (kategória D), resp. druhy tolerantné k znečisteniu s možnosťou výskytu aj v čistejších vodách (kategória C). Pre odhad kvality vody sa dáva do súvislosti podiel intolerantných druhov/ taxónov ku všetkým druhom/ taxónom:

$$\%It = A+B / A+B+C+D$$

Pokiaľ je k dispozícii materiál zozbieraný aspoň v mesačných intervaloch počas sezóny, je možné stanoviť podiel jedincov intolerantných druhov/ taxónov ku všetkým jedincom druhov/ taxónov:

$$\%Ii = A+B / A+B+C+D$$

Druhá metóda je presnejšia, ale získanie materiálu je časovo a finančne náročnejšie.

Získané údaje je možné kombinovať s indexmi diverzity, napr. Menhinickov index (kvalitatívne údaje) alebo Shannon-Weaverov index (semikvantitatívne údaje), aby sme získali predstavu o podmienkach prostredia v toku.

Ak sa kombinujú vysoké hodnoty %I s vysokými hodnotami indexu diverzity, podmienky sa považujú za výborné. Vysoké hodnoty %I kombinované s nízkymi hodnotami indexu diverzity signalizujú dobrú kvalitu, alebo súčasne aj extrémne podmienky prostredia (napr. vysokohorské a horské potoky). Nízke hodnoty %I v kombinácii s vysokými hodnotami indexu diverzity indikujú mierny environmentálny stres, a napokon nízke hodnoty %I a nízke hodnoty indexu diverzity poukazujú na silný environmentálny stres.

Viacrozmernými štatistickými metódami je možné získané vzorky klasifikovať na základe ich taxonomickej podobnosti alebo ordinovať viacerými technikami zvlášť, ak máme k dispozícii namerané základné charakteristiky vodného prostredia (teplota, pH, obsah rozpusteného kyslíka, obsah živín a pod.).

Metódou CPET teda môžeme získať dôležitý zdroj informácií nielen pri hodnotení ekologickej kvality vodných tokov, ale aj hodnotení trofického stavu jazier a nádrží.

Analýza exúvií kúkiel pakomárov je však len jednou z mnohých metód využívaných v limnologickom výskume a monitoringu. V komplexnom hodnotení stavu vôd sa okrem pakomárov uplatňujú aj iné, už spomínané, skupiny vodných bezstavovcov, ktoré slúžia ako bioindikátory prostredia.

Literatúra

Anonymus (2022), Adámek *et al.* (2008), Ferrington (2007), Langton (1995), Langton & Visser (2003), Nicacio & Juen (2015), Novikmec *et al.* (2018), Pape *et al.* (2011), Resh & Rosenberg (2008), Ruse (2010), Růfusová *et. al.* (2017), Shubertová (2018), Sládeček (1973), Wheeler *et al.* (2020), Wiederholm (1986), Wilson (1996), Wilson & McGill (1979), Wilson & Ruse (2005)

Kontrolné otázky

- Vysvetlite, prečo sú benthické vodné bezstavovce považované za spoľahlivé bioindikátory ekologického stavu vodných ekosystémov. Uveďte minimálne tri vlastnosti, ktoré ich na tento účel predurčujú.
- Porovnajcie princíp výpočtu BMWP skóre a ASPT indexu. Aké typy informácií poskytuje každý z týchto indexov a aké su ich hlavné výhody a obmedzenia pri ekologickom hodnotení vodných tokov?
- Opíšte metódu CPET (*Chironomid Pupal Exuviae Technique*). Prečo sú exúviá kukiel pakomárov vhodným materiálom na biomonitoring a aké sú hlavné dôvody ich využitia v porovnaní s určovaním lariev?

Tab. 4. Skóre taxónov podľa BMWP (upravené)

Skupiny bezstavovcov	Čeľaď	Skóre
podenky (Ephemeroptera) pošvatky (Plecoptera) potočníky (Trichoptera) dvojkřídlowce (Diptera)	Siphonuridae, Heptageniidae, Leptophlebiidae, Ephemerellidae, Potamanthidae, Ephemeridae, Taeniopterygidae, Leuctridae, Capniidae, Perlodidae, Perlidae, Chloroperlidae, Phryganeidae, Molannidae, Beraeidae, Odontoceridae, Leptoceridae, Goeridae, Lepidostomatidae, Brachycentridae, Sericostomatidae, Blephariceridae	10
desaťnožce (Decapoda) vážky (Odonata)	Astacidae, Lestidae, Agriidae, Gomphidae, Cordulegasteridae, Aeshnidae, Corduliidae, Libellulidae	8
podenky (Ephemeroptera) pošvatky (Plecoptera) potočníky (Trichoptera)	Caenidae, Nemouridae, Rhyacophilidae, Polycentropodidae, Limmophilidae	7
ulitníky (Mollusca) potočníky (Trichoptera) lastúrníky (Bivalvia) rôznoonožce (Amphipoda) vážky (Odonata)	Neritidae, Viviparidae, Ancylidae, Hydroptilidae, Unionidae, Corophiidae, Gammaridae, Platycnemididae, Coenagrionidae	6
bzdochy (Heteroptera) chrobáky (Coleoptera) potočníky (Trichoptera) dvojkřídlowce (Diptera) ploskavce (Platyhelminthes)	Mesoveliidae, Hydrometridae, Gerridae, Nepidae, Naucoridae, Notonectidae, Pleidae, Corixidae, Haliplidae, Hygrobiidae, Dytiscidae, Gyrinidae, Hydrophilidae, Clambidae, Helodidae, Dryopidae, Elmidae, Chrysomelidae, Curculionidae, Hydropsychidae, Tipulidae, Simuliidae, Planariidae, Dendrocoelidae	5
podenky (Ephemeroptera) vodnárky (Megaloptera) píjavičky (Hirudinea) vodné roztoče (Hydracarina)	Baetidae, Sialidae, Piscicolidae	4
ulitníky (Mollusca) lastúrníky (Bivalvia) píjavičky (Hirudinea) rovnakožce (Isopoda)	Valvatidae, Hydrobiidae, Lymnaeidae, Physidae, Planorbidae, Sphaeriidae, Glossiphoniidae, Hirudidae, Erpobdellidae, Asellidae	3
dvojkřídlowce (Diptera)	Chironomidae	2
obrúčkavce (Annelida)	vodné Oligochaeta	1

Tab. 5. Zaradenie hodnôt BMWP a ASPT do tried kvality vody

Trieda čistoty	BMWP	ASPT	Kvalita
5	0 - 25	1,0 - 2,5	
4	25 - 50	2,5 - 4,0	nízka
3	50 - 100	4,0 - 5,5	stredná
2	100 - 150	5,5 - 7,0	dobrá
1	> 150	> 7,0	výborná

4 Vybrané metódy sčítania vtákov

Rudolf Kropil, Peter Lešo & Michal Baláž

Úvod

Vtáky sú vďaka svojej vysokej bioindikačnej hodnote často používané v ekológii a ochrane prírody na indikovanie stavu biotopov. Okrem toho údaje o ich početnosti sú nevyhnutné aj z pohľadu praktickej ochrany jednotlivých druhov. Preto aj metodika sčítavania vtákov je dobre prepracovaná. Na rozdiel od mnohých skupín živočíchov existuje u vtákov pri kvantitatívnom sledovaní aj niekoľko zjavných výhod. Jednou z nich je pomerne ľahká determinácia, ktorá nám bez veľkých ťažkostí umožní určiť vizuálne alebo akusticky registrované jedince presne na druh, bez použitia deštrukčných metód. Pre uvedené metodiky platí, že ich využitie z pohľadu monitoringu vtákov je podmienené viacročným opakovaním pri dodržaní jednotných metodických postupov. Významným faktom pre výsledky a odhady početnosti sú medziročné porovnania a z nich vyvodzované trendy.

To má prirodzene veľké výhody, pretože populácie môžeme bez zmeny sledovať opakovane, alebo dokonca systematicky. Najväčšou výhodou, predovšetkým v hustých a neprehľadných typoch prostredia, akým je jednoznačne i lesný porast, je možnosť akustického rozlišovania druhov a registrácie jedincov, a to dokonca aj automatizovane s využitím nahrávacích zariadení a hlasových analyzátorov (akustický monitoring). Každý hlas má svoj špeciálny účel. Pri vtákoch rozlišujeme dve základné skupiny hlasov, ide o spev a niektoré ďalšie prejavy charakteristické pre obdobie hniezdenia a hlasy, ktorými sa ozývajú počas celého roka. Okrem sezónnosti v intenzite a kvalite hlasových prejavov môžeme pozorovať i významné rozdiely v priebehu dňa. Najintenzívnejší je napr. spev zavčas ráno a večer, ale existujú i výnimky (napr. v noci aktívne druhy).

Optimálne podmienky pre zisťovanie početnosti u vtákov sú v dobe ich rozmnožovania a to vďaka mimoriadnej hlasovej aktivite a viazanosti na určité územie. Pretože ide o živočíchy s mimoriadnymi schopnosťami pohybu vďaka lietaniu, je viazanie sa na určité územie v priebehu hniezdného obdobia veľkou výhodou. Vtedy u väčšiny druhov rodičovské páry obhajujú svoje teritória, alebo sa pravidelne zdržiavajú v domovských okrskoch, stavajú si tu hniezda, sedia na znáškach a starajú sa o potomstvo. Sú teda určitým spôsobom územne viazané. Kvantitatívne sledovania môžeme síce vykonávať u vtákov i v mimohniezdnom období, ale v dôsledku oveľa voľnejšieho vzťahu s prostredím, v ktorom sa počas tohto obdobia vyskytujú, je možnosť výberu metód slabšia a presnosť podstatne nižšia.

Výber metód je pri zisťovaní početnosti vtákov zásadnou otázkou. I napriek pokusom o určitú štandardizáciu, výsledky zistené tou istou metódou pri použití určitej modifikácie, alebo dokonca len získané iným pozorovateľom, veľakrát nie sú porovnateľné. Štandardizácia sa najlepšie osvedčuje u mapovacej metódy, v dôsledku vlastností prostredia a niektorých ďalších faktorov však nutne musí byť prispôbená daným podmienkam. Vo svete sa vyvinuli mnohé metódy, štandardizáciou, využívaním a rozširovaním ktorých sa zaoberá Európska rada pre sčítanie vtákov (*European Bird Census Council*, EBCC). Najdôležitejšie z nich sú ďalej bližšie rozvedené. Keďže sa jednotlivé metódy líšia presnosťou ale aj prácnosťou, pri výbere sčítacej metódy je potrebné zvažovať najmä účel sčítania z hľadiska jeho efektivity.

Mapovacia technika (metóda mapovania hniezdných okrskov)

Princíp metódy je v mapovaní všetkých hniezdných okrskov jednotlivých druhov vtákov na vybratej ploche. Z toho vyplýva aj jej použitie predovšetkým pre obdobie rozmnožovania a predovšetkým pre druhy s teritoriálnym správaním. Preto je využiteľná najmä pre spevavce,

sovy, d'atľovce a niektoré iné rady. Pre zúbkozobce, bahniaky a niektoré ďalšie vodné vtáky je použiteľnosť pomerne slabá. Mapovacia metóda, ktorá je pri triede vtáky bežne používaná, bola štandardizovaná podľa medzinárodne platných kritérií. Napriek širokému uplatneniu štandardnej podoby bolo vytvorených niekoľko modifikácií základnej verzie, z ktorých za účelom získania čo najpresnejších výsledkov sa v stredo európskych podmienkach aplikuje tzv. kombinovaná verzia mapovacej metódy.

Minimálna veľkosť sledovaného územia je odporúčaná na 10 – 30 ha v lesnom prostredí, v nelesných otvorených biotopoch je to 40 – 100 ha. V obzvlášť hustom a neprehľadnom prostredí, akými sú napríklad trst'ové porasty, postačujú len 1 – 2 ha. Všeobecne možno charakterizovať nároky na veľkosť sledovanej plochy i podľa spektra sledovaných druhov. Uvedené veľkosti slúžia pre zachytenie prevažnej väčšiny zoskupení vtákov. Pre špeciálne účely zisťovania početnosti u d'atľov sa odporúča územie o veľkosti približne 10 km², pre dravce dokonca niekoľko desiatok km². Dôležité je zachovať podmienku, aby plocha výrazne nezasahovala do okraja zvoleného typu prostredia a získané výsledky neboli ovplyvnené okrajovým efektom. Najvýhodnejší tvar plochy je kvadrát, z praktických dôvodov sa niekedy volí obdĺžnik, prípadne, s ohľadom na zachovanie homogénnosti vegetácie, to môže byť aj plocha nepravidelného tvaru. Plocha musí byť presne vyznačená po okrajoch i vo vnútri pomocou orientačnej siete, obvykle sú body vyznačené v spone 100 m v prehľadnom, alebo 50 m v neprehľadnom teréne. Pri značení sa najčastejšie využívajú farebné plastické pásky. V súčasnosti vďaka pokročilej GPS technike je podstatne uľahčená orientácia v teréne. Pre zaznamenávanie akustických i vizuálnych registrácií je potrebné pripraviť špeciálne, tzv. snímkové mapy, ktoré sa pre lesné typy prostredia pripravujú v mierke 1 : 1250 až 1 : 2500, pre otvorenú krajinu v mierke 1 : 2000 až 1 : 5000. Na každej mape sú uvedené identifikačné údaje (lokality, dátum, doba mapovania, meno mapovateľa, počasie a iné poznámky). Do snímkovkej mapy sa počas uskutočnenia návštevy zaznamenávajú všetky zistené registrácie vtákov, k čomu sa využíva systém skratiek pre druhy (obr. 22). Aby na snímke boli správne zaznamenané údaje o správaní jedincov, skratky sa zapisujú vyznačením príslušných zaužívaných symbolov. Pri samotnom mapovaní sčítavateľ prechádza systematicky plochou tak („prečesáva ju“), aby žiadne miesto na ploche nebolo od neho vzdialené ďalej ako 25 m v lesnom a 50 m v otvorenom teréne. Odporúča sa počas jednotlivých kontrol meniť začiatok a koniec trasy. S ohľadom na charakter prostredia a denzitu vtákov sa odporúča stráviť na ploche v priemere 10 – 15 minút na 1 ha plochy.

Samotné mapovanie sa uskutočňuje v období, v ktorom je prevažná väčšina druhov viazaná na plochu. U nás je to predovšetkým v mesiacoch marec až jún, aj keď pri niektorých druhoch existujú určité výnimky. Aby sme získali dostatočný počet registrácií, je potrebné v tomto období uskutočniť 10 – 12 návštev, počas ktorých na ploche zaznamenáme údaje vždy do novej snímkovkej mapy. Veľký vplyv na rozloženie návštev má nadmorská výška lokality, počasie v danom roku a niektoré ďalšie faktory. Je nutné zachovať pravidlo, že počas 10 po sebe nasledujúcich dní môžu byť uskutočnené maximálne 3 návštevy plochy. Uskutočňujú sa prevažne v ranných hodinách (4:00 – 9:00 hod. SEČ), kedy väčšina druhov dosahuje maximum hlasovej aktivity. Niektoré druhy (napríklad drozdy, červienky, sovy a iné) sú oveľa aktívnejšie v podvečer, prípadne tesne po zotmení, preto sa doporučuje uskutočniť minimálne 2 večerné návštevy. Pre návštevy volíme dni s vhodným počasím. Za nepriaznivé sú považované dni s príliš chladným počasím, silným vetrom alebo silným dažďom. Naopak, mierny dážď je priaznivý, pretože počas neho je hlasová aktivita vtákov veľmi výrazná.

Pri získavaní záznamov o výskyte vtákov na ploche aplikáciou kombinovanej verzie mapovacej techniky sa zameriavame na:

1. charakteristické zaznamenávanie podľa medzinárodne prijatých štandardných pravidiel s vytváraním zhukov registrácií,

2. zámerne sa počas snímkovania snažíme získať tzv. súčasné registrácie, ktoré nám pri vyhodnotení pomáhajú rozlíšiť rozdielne hniezdne okrsky,
3. pri druhoch s veľmi vysokou populačnou denzitou, alebo druhoch, ktoré nemajú vyhranené hniezdny okrsky, priamo vyhľadávame hniezda.

Aplikáciou pravidiel uvedených vyššie tak na konci hniezdného obdobia získame 10 – 12 vyplnených snímkových máp, z ktorých prepíšeme registrácie do tzv. druhových máp. Každá druhová mapa obsahuje informácie o všetkých akustických i vizuálnych registráciách druhu v priebehu celého obdobia sledovania.

Pri vyhodnocovaní druhovej mapy a zisťovaní počtu hniezdných okrskov (obr. 23) sledujeme predovšetkým:

1. Zhluky registrácií. Najmä pri bežných druhoch sa na druhovej mape vytvoria zreteľné zhluky registrácií, ktoré predstavujú väčšinou hniezdny okrsky obhajovaný samcom. Ak sú v zhluke minimálne 3 registrácie a ďalšie okrsky sú dostatočne ďaleko, môžeme na druhovej mape vyčleniť tzv. papierové teritórium (hniezdny okrsky). Problémy však môžu nastať u druhov s veľkými teritóriami, preto je výhodné pri včasnom vyhodnocovaní v priebehu sezóny overovať okrsky bez súčasných registrácií ich zámerným vyhľadávaním alebo zámerným prenasledovaním jedincov. Jediná registrácia nálezu hniezda so znáškou alebo mláďatami potvrdzuje hniezdny okrsky.
2. Súčasné registrácie. Ide o dva záznamy získané simultánne. Ak ide o spievajúce samce, nemôžu sa vzťahovať na jeden hniezdny okrsky. Súčasné registrácie sú najdôležitejším kritériom pre vyčleňovanie papierových teritórií, preto sú veľakrát i zámerne vyhľadávané. Zvlášť nevyhnutné sú pri druhoch s rovnomerným rozmiestnením registrácií na mape. Vylučujú tiež problémy u druhov s veľkými teritóriami.
3. Údaje o vyhľadaných hniezdach. Tieto poznatky sú nevyhnutné najmä pri zisťovaní početnosti polokoloniálnych dutinových hniezdičov (mucháriky, škorce), u drozdov, holubov a hrdličiek v oblastiach s vysokou denzitou. Preto je potrebné sa pri snímkaní u spomenutých druhov na nálezy hniezd zamerať. Aby neskôr pri semikoloniálnych druhoch nedochádzalo ku chybám, je nutné uvádzať bližšie údaje o jednotlivých hniezdach (umiestnenie, výška, obsah hniezda atď.).
4. Opätovné pozorovania toho istého jedinca alebo jeho prenasledovanie nám často napomáha vyriešiť problémové hniezdne okrsky.
5. Dvojité registrácie u druhov s veľkými hniezdnymi okrskami musíme vedieť zreteľne odlišiť, rozhodne ich nepovažujeme za súčasné registrácie pokiaľ ich skutočne nezaznamenáme naraz. Často totiž môžeme pozorovať, alebo počuť tie isté jedince, ktoré preleteli na iné miesto.
6. Pokiaľ je to časovo možné, robíme počas sezóny priebežné vyhodnocovanie. Je dôležité najmä pri druhoch, u ktorých sa získava malý počet súčasných registrácií, alebo ich hlasová i pohybová aktivita je nenápadná. Pri zistení nedostatku registrácií takýchto druhov sa môžeme pri nasledujúcich návštevách na ne zamerať.

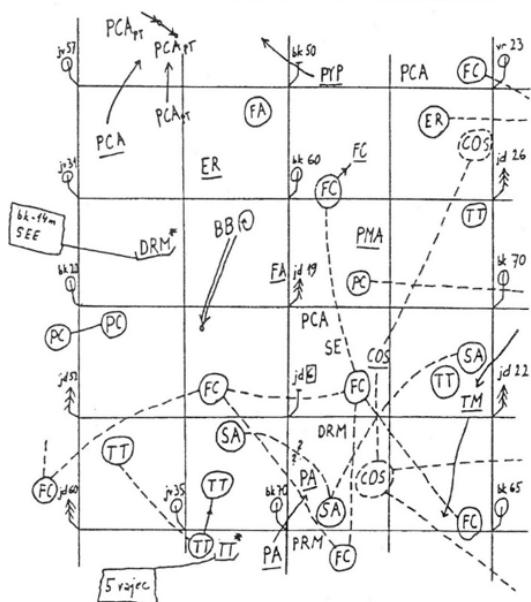
K prednostiam mapovacej techniky možno počítať predovšetkým vysokú presnosť získaných výsledkov, je najpresnejšou z uvedených metód, avšak použiteľná predovšetkým v dobe rozmnožovania (i keď niektoré druhy obhajujú svoje teritória aj na jeseň). V spojitosti s individuálne označenými vtákmi sa presnosť približuje absolútnym výsledkom. Pokiaľ však porovnávame náročnosť a efektívnosť, je jednoznačne najnáročnejšia. Nevýhodou je aj záber menšej rozlohy územia oproti menej náročným metódam. Jej opodstatnenie tak treba vidieť pri potrebe získania presných výsledkov z relatívne malého územia.

ŠPR BADĪNSKY PRALES

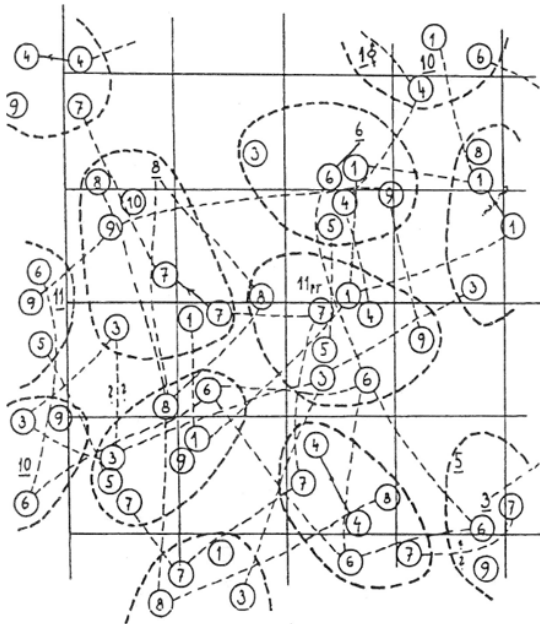
30.05.1990 - K 7D - (16 ha)

5:00 - 9:55 hod., výber 4 ha

polo jasno, viditeľnosť dobrá



Obr. 22. Ukážka praktického záznamu registrácii jedincov počas mapovania. Použité sú zaužívané skratky (podrobne sú skratky vysvetlené v publikácii Kropil 1992).



Obr. 23. Ukážka vyhodnotenia druhovej mapy. Číslo vyjadrujú poradie návštevy.

Líniové metódy

Ide o metódy, pomocou ktorých sa sčítavajú vtáky po jednej alebo oboch stranách dopredu vytýčenej línie. Vzdialenosť vtákov od línie sa zisťuje, alebo sú jedince sčítavané v páse o určitej šírke. Pretože existuje veľké množstvo rôznych modifikácií líniových metód, rozdeľujú sa obyčajne do dvoch základných kategórií, ktorými sú pásové a vlastné líniové metódy.

Pásová metóda

Základným princípom pri pásových metódach je sčítavanie vtákov po oboch stranách línie. Ide o metódy rozšírené najmä v Európe a modifikácie sa vzájomne odlišujú najmä v šírke zvoleného pásu, ktorá býva najčastejšie 25 m na každú stranu v lesných biotopoch (niekedy sa však uprednostňuje 50 m najmä v otvorenej krajine), a v spôsobe vyhodnotenia. Odporúčaná dĺžka línie je minimálne 5 km. Podmienky, za ktorých je vhodné sčítanie uskutočniť sú obdobné ako pri mapovacej metóde. Uprednostňujú sa dni bez výrazných nepriaznivých klimatických faktorov a sčítanie sa uskutočňuje v skorých ranných hodinách. Pomocou skratiek a symbolov zapisujeme všetky vizuálne aj akusticky zistené jedince, pričom je dobré zaznamenávať i jedince mimo pás. Zapisujeme len registrácie vtákov, ktoré odleteli do strany alebo dozadu. Vtáky, ktoré odleteli dopredu by sme totiž mohli opätovne spočítať, čím by dochádzalo ku chybe. Pri spracovaní výsledkov pre hniezdne obdobie prepočítavame pozorované jedince na počet párov. Platí pritom, že pozorovaného alebo akusticky zaregistrovaného samca počítame za pár, taktiež samicu s mláďatami, alebo skupinku mláďat, prípadne objavené hniezdo. Všetky ostatné jedince počítame za 1/2 páru. Získané hodnoty sa prepočítavajú na 1 km dĺžky transektu, alebo na jednotku plochy, pričom veľkosť plochy zistíme násobením šírky pásu a dĺžky zvolenej línie. Niekedy sa využívajú i prepočítavacie koeficienty získané inými metódami, tieto však majú regionálne obmedzenie.

Vlastná líniová metóda

Pri využití tejto metódy sa vychádza zo zistenia pravouhlej vzdialenosti každého pozorovaného jedinca od línie, po ktorej prechádza pozorovateľ. Pri výpočte sa vychádza z predpokladu, že relatívna registrovateľnosť vtákov s ich vzdialenosťou od línie sa znižuje až do určitej kritickej vzdialenosti, kedy už nie je možné ho zaregistrovať, čo sa dá vyjadriť matematicky. Metóda nachádza uplatnenie najmä v severoamerickej oblasti.

Pri súhrnnom hodnotení líniových metód je potrebné zdôrazniť, že k ich veľkým výhodám patrí predovšetkým ich časová nenáročnosť a použiteľnosť v priebehu celého roka. Na druhej strane je ale veľmi významný fakt, že nedosahuje dostatočnú presnosť v dôsledku odhadu šírky pásu i rôznej pochodovej rýchlosti (okolo 60 % druhov nie je touto metódou správne kvantitatívne zachytených), preto je použiteľná najmä v kombinácii s prepočítavacími indexmi alebo pri porovnávaní sezónnej dynamiky, kedy je možné zloženie spoločenstiev porovnať aspoň relatívnymi charakteristikami.

Bodové metódy

Podstatou týchto metód je registrácia vtákov z jedného bodu počas určitej doby, pričom v teréne volíme sieť takýchto bodov. V európskych podmienkach sa aplikujú predovšetkým ďalej uvedené modifikácie bodových metód.

Metóda IPA

Názov je odvodený od francúzskeho „*Indice Ponctuel d'Abondance*”, čo v preklade znamená bodový index početnosti. Pri tejto modifikácii sa zaznamenávajú všetky vizuálne i akusticky registrované jedince z jedného bodu po dobu 5 – 20 minút. Doba zaznamenávania závisí najmä od typu prostredia, v ktorom sa sčítanie uskutočňuje, pričom je možné pred samotným sčítaním odskúšať optimálnu dobu zisťovania početnosti počas 30 minút a zistiť podiel druhov, prípadne jedincov zaznamenaných počas 5, 10, 15, 20, 25 alebo 30 minút. Potom volíme optimálny čas sčítavania. Body v teréne volíme pred samotným sčítaním po dokonalom zoznámení sa s prostredím. Počet bodov sa obyčajne pohybuje okolo 30, prípadne i viac, vzdialené sú od seba minimálne 300 m. Sčítava sa buď do neobmedzenej vzdialenosti, alebo sa používajú rôzne polomery sčítacieho kruhu, z ktorých sa dá vypočítať sčítacia plocha a následne denzita vtákov. Sčítanie sa uskutočňuje za vhodných poveternostných podmienok ako pri iných metódach. Na každom bode sa sčítava 2 krát počas sezóny a pre každý druh pri výpočtoch berieme do úvahy vyššie zistené číslo. Metóda je využiteľná najmä pre spevavce, d'atľovce a holuby, teda pre druhy obhajujúce hniezdne okrsky. Pri vyhodnotení jedince prepočítame na páry, pričom platí, že akusticky alebo vizuálne zaregistrovaný jedinec je 1/2 páru, ale spievajúci samec, dospelý vták na hniezde alebo vyvedené mláďatá platia za 1 pár. Prepočítanými hodnotami potom dostávame bodový index početnosti na bod a sezónu. Ide o výsledky relatívne, avšak boli uskutočnené pokusy o výpočet denzity a teda absolútnych výsledkov pomocou rôznych prepočtových koeficientov získaných mapovacou technikou na tých istých plochách. Zistilo sa, že tieto majú regionálnu platnosť a to s ohľadom na typ prostredia a preto získať spoľahlivé hodnoty takýmto prepočtom je veľmi obtiažne.

Metóda EFP

Je odvodená od predchádzajúcej metódy a názov pochádza zo skratky francúzskeho „*Echantillonnage Fréquentiel Progressif*“. Princípom metódy je zisťovanie frekvencie výskytu jednotlivých druhov vtákov počas doby 5 – 20 minút. Pretože sa pracuje s frekvenciou druhov, nie je možné urobiť grafické znázornenie a optimálnu dobu sčítavania odhadneme alebo použijeme test metódy IPA. Pri sčítaní registrujeme prítomnosť alebo neprítomnosť druhu v priebehu stanovenej doby. Takto získané výsledky umožňujú rýchlo podať kvantitatívne údaje vďaka tomu, že druhová frekvencia výskytu môže byť použitá na základe korelácie s denzitou príslušného druhu ako meradlo početnosti jedincov v spoločenstve.

Bodový transekt

Je metóda, ktorá má široké uplatnenie v národných monitorovacích programoch populácií vtákov, čo platí aj pre Slovensko. V podstate je kombináciou bodových a líniových metód, pretože na zvolenej línii pozorovateľ volí sústavu 20 bodov, z ktorých sa uskutočňuje sčítanie. Doporučuje sa, aby počiatočný a konečný bod transektu ležali v blízkosti, čo má praktické výhody. Na každom transekte volíme body tak, aby boli vzdialené minimálne 300 metrov od seba, pričom odstup medzi jednotlivými bodmi nemusí byť rovnaký. Takto minimalizujeme možnosť, že z toho istého bodu budú registrované tie isté jedince. Taktiež je to optimálna vzdialenosť pri pohybe v teréne peši, väčšie vzdialenosti by zapríčiňovali časové straty. Sčítanie prebieha v období od konca apríla do konca mája, aby tak bola zachytená väčšina hniezdiacich druhov. Možné sú menšie odchýlky v termíne sčítania s ohľadom na výškovú polohu zvolených bodov a klimatické podmienky. Doba sčítania je 5 minút na každom bode. V žiadnom prípade nie je možné zaznamenávať jedince mimo tejto doby alebo počas prechodu k ďalšiemu bodu, i keď ide o zriedkavé druhy. Celková doba sčítania na jednom bodovom transekte tak

v závislosti od konfigurácie terénu trvá približne 3 – 4 hodiny. Na bodoch sa zaznamenávajú všetky akusticky aj vizuálne zaregistrované jedince, pokiaľ sú určené presne na druh. Sčítava sa do neobmedzenej vzdialenosti, pričom sa ale osobitne označujú registrácie do vzdialenosti 100 m. Sčítanie sa uskutočňuje včas ráno za vhodných poveternostných podmienok, ako je to obvyklé i pri iných kvantitatívnych metódach používaných pri vtákoch. Metóda je časovo veľmi nenáročná, ale poskytuje len relatívne údaje, ktoré sú pri použití indexov vhodne využívané na zisťovanie trendu početnosti populácií jednotlivých druhov.

Pri sumárnom hodnotení bodových metód možno podobne ako pri líniových metódach zdôrazniť, že k ich veľkým výhodám patrí predovšetkým ich časová nenáročnosť a použiteľnosť v priebehu celého roka. Presnosť v dôsledku odhadu vzdialenosti je nižšia, preto je použiteľná najmä v kombinácii s prepočítavacími indexmi. Využitie majú i pri porovnávaní sezónnej dynamiky. V praxi sa vďaka menšej časovej náročnosti uplatňujú i pri krajinnom plánovaní a inventarizácii vo veľkoplošných chránených územiach (je možné zachytiť väčšie územie oproti mapovacej metóde). Bodový transekt je veľmi efektívna metóda a má uplatnenie pri veľkých monitorovacích projektoch.

4.1 Monitoring vtákov na Slovensku

Na Slovensku v súčasnosti prebiehajú viaceré monitorovacie programy. Prvou skupinou sú sčítania v rámci medzinárodných monitorovacích programov. Najstarším je Zimné sčítanie vodných vtákov, ktoré na Slovensku v súčasnej podobe prebieha od r. 1991 (v r. 1967 sa začalo v celej Európe a čiastočne aj na Slovensku). Od r. 2005 u nás prebieha Sčítanie bežných druhov vtáctva (toto sčítanie nadväzuje na Program sčítania vtákov na Slovensku, ktorý začal už v r. 1994). K medzinárodným programom je možné zaradiť aj mapovanie vtákov pre európsky atlas hniezdneho rozšírenia vtákov (*European Breeding Bird Atlas*; EBBA).

Druhou skupinou sú sčítania vtákov na národnej úrovni. Po výraznom zvýšení početnosti zimujúcich kormoránov v strednej Európe koncom 90. rokov 20. storočia vznikla potreba získať presnejšie informácie o zimujúcej populácii. Keďže štandardná metodika zimného sčítania vodných vtákov (už spomínaná súčasť medzinárodného sčítania) neumožňuje zistiť veľkosť skutočnej zimujúcej populácie kormoránov, pristúpilo sa k osobitnému sčítaniu tohto druhu. Ako najvhodnejšia sa ukázala metóda sčítania kormoránov na nocoviskách, ktorá prebieha na Slovensku od r. 2005 (v Európe od r. 2003). Významnou aktivitou organizovanou s cieľom získania údajov o výskyte, početnosti a trendoch všetkých hniezdiacich, zimujúcich a migrujúcich druhoch vtákov na celom území Slovenska je mapovanie vtákov pre atlas vtákov Slovenska organizované Slovenskou ornitologickou spoločnosťou (SOS/BirdLife Slovensko). Štátna ochrana prírody SR (ŠOP SR) začala od r. 2022 organizovať komplexný monitoring vtákov Slovenska. Ide o doteraz najrozsiahlejší monitorovací program takmer všetkých hniezdiacich, migrujúcich a zimujúcich vtákov Slovenska.

Zimné sčítanie vodných vtákov

Program sčítania zimujúcich (nehniezdiacich) vodných vtákov je medzinárodným monitoringom, ktorý je v jednotlivých partnerských krajinách organizovaný od roku 1967. Slovensko (v rámci vtedajšieho Československa) patrí medzi krajiny, ktoré sa do realizácie zapojili hneď od začiatku, pričom zhruba od prelomu storočí sa zaradilo medzi lídrov v zmysle množstva monitorovaných lokalít na jednotku plochy. Organizuje ho SOS/BirdLife Slovensko a zapájajú sa doň profesionálni zoológovia, ale aj množstvo amatérskych pozorovateľov vtáctva a milovníkov prírody. Je preto aj jedným z najúspešnejších projektov občianskej vedy v oblasti biológie a ochrany prírody na Slovensku. Ide o každoročne opakované sčítanie všetkých vodných a na vodu viazaných vtákov na tých istých lokalitách použitím tej istej

metodiky. Vtáky sú sčítavané na stojatých aj tečúcich vodách vždy takým spôsobom, aby bol sčítateľom (sčítateľmi) pokrytý celý úsek – pri väčších lokalitách je tok prechádzaný po celej jeho dĺžke a stojaté vody sú sčítavané zo stálych bodov tak, aby bol zabezpečený výhľad na celú plochu hladiny. V oboch prípadoch je postupované tak, aby bolo čo najviac eliminované opakované sčítanie tých istých jedincov. Hlavným cieľom tohto monitoringu je odhadnúť početnosť jednotlivých druhov vtákov pre potreby vyhodnocovania ich populačných trendov. Tie môžu byť stanovované pre územie Slovenska, ale vďaka medzinárodnému charakteru projektu aj pre celú Európu a pri sťahovavých druhoch pre celý palearktisko-afrotropický migračný systém. Ďalšími cieľmi je identifikácia významných migračných zastávok a zimovísk pre potreby územnej aj druhovej ochrany prírody, ako aj popularizácia pozorovania vtákov a jej prostredníctvom zvyšovanie environmentálneho povedomia verejnosti. Hlavným (medzinárodným) termínom sčítania zimujúcich vodných vtákov je vždy víkend najbližšie k stredu januára. SOS/BirdLife Slovensko, dnes v spolupráci so ŠOP SR, však sčítanie realizuje sedemkrát za sezónu – od októbra do apríla s cieľom zachytiť dynamiku zmien nehniedzdiacich vodných vtákov počas mimohniezdnej sezóny a identifikovať lokality významné aj z pohľadu migrujúcich vodných vtákov.



Obr. 24. Zimné sčítanie vodných vtákov na strednom Hrone, lokalita vodná nádrž Veľké Kozmálovce (foto © Peter Urban)

Sčítanie kormoránov na nocoviskách

Sčítanie organizuje Slovenský rybársky zväz (SRZ) v spolupráci so ŠOP SR a SOS/BirdLife Slovensko. Prebieha v termíne sčítania zimujúcich vodných vtákov, väčšinou víkend v strede januára. Princípom sčítania je registrácia vtákov na nocoviskách až v čase, keď sa začínajú kormorány na nocoviská zhromažďovať z denných lovísk. Sčítanie z úkrytu začína preto až o 14:00 hodine. Sčítateľ zapisuje zistené počty jedincov v pravidelných intervaloch (15 – 20 minút) až do zotmenia (17:00).

Sčítanie bežných druhov vtáctva

Sčítanie je súčasťou celoeurópskeho monitoringu bežných druhov vtákov (*Pan European Common Bird Monitoring*, PECBMS), ktorý koordinuje Európska rada pre sčítanie vtákov (*European Bird Census Council*, EBCC). Zapájajú sa do neho takmer všetky európske krajiny. Sčítanie bežných druhov vtáctva organizuje SOS/BirdLife Slovensko, od r. 2023 v spolupráci so ŠOP SR (aj keď ide o samostatný sčítací program, je dôležitou súčasťou komplexného monitoringu vtákov na Slovensku, ktorý organizuje ŠOP SR). Vzhľadom na to, že vtáky sú veľmi vhodná skupina živočíchov na indikovanie stavu životného prostredia, program má za cieľ získať údaje o výskyte a početnosti bežných druhov vtákov (t. j. druhov najčastejšie sa vyskytujúcich na území určitého štátu) z každoročných sčítaní na rovnakých stanovištiach. Tieto údaje je následne možné využiť na zachytenie trendov v početnostiach vtáctva a zasadiť sa neskôr o ochranu druhov, biotopov a území s klesajúcimi stavmi vtáctva. Existujú aj špeciálne ukazovatele, tzv. indikátory, na kvantifikovanie trendov v početnosti vybraných skupín vtákov viazaných na určité typy biotopov. V súčasnosti sa v podmienkach Slovenska využívajú dva národné indikátory na hodnotenie kvality životného prostredia. Indikátor poľnohospodárskych druhov vtákov (*farmland bird indicator*) prostredníctvom indexu hodnotí zmeny v početnosti 20 druhov vtákov viazaných na poľnohospodársku krajinu. Podobne, indikátor lesných druhov vtákov (*forest bird indicator*) využíva početnosť 18 druhov vtákov viazaných na lesnú krajinu na hodnotenie zmien v kvalite lesných biotopov Slovenska. V niektorých európskych krajinách sa používajú aj iné typy indikátorov (pre iné skupiny vtákov).

Sčítanie sa realizuje v hniezdnom období (koniec mája – začiatok júna) využitím metódy bodového transektu, s počtom bodov 20 a dvoma kontrolami za sezónu (viď aj kap. 1.1). Od r. 2023 sa prešlo na bodovú metódu, pričom sčítacie lokality (tzv. trvalé monitorovacie lokality) boli zakladané na základe stratifikovaného náhodného výberu. Vzhľadom na to, že pri bodovej metóde je oproti bodovému transektu sťažený pohyb medzi susednými bodmi (nie sú usporiadané v línii), počet sčítacích bodov bol znížený na 15. Popri novom dizajne sčítania sa stále využívajú aj niektoré staršie transekty (a uplatňuje v nich pôvodná metóda bodového transektu), aby sa nestratili dlhodobé údaje z ich monitoringu.

Atlas hniezdného rozšírenia vtákov

Cieľom je zistiť početnosť vtákov v jednotlivých sčítacích kvadrátoch pokrývajúcich celé územie SR, trendy ich početnosti a rozšírenia. Takéto údaje sú nevyhnutné na zistenie príčin zmien ich početnosti a návrhy opatrení na zlepšenie stavu. Základnou sčítacou jednotkou je kvadrát s veľkosťou 10×10 km v sieti Európskeho pozemného referenčného systému (*European Terrestrial Reference System*, ETRS). Mapovateľ systematicky a reprezentatívne sčítava v celom kvadráte a celom sčítacom období s cieľom zistiť všetky druhy hniezdiace a vyskytujúce sa v kvadráte. Výskyt vtákov sa zisťuje osobitne v hniezdnom a mimohniezdnom období. Pri uvádzaní zistených hniezdiacich druhov sa ich výskyty uvádzajú podľa medzinárodnej stupnice preukaznosti hniezdenia. Výsledkom sčítania je mapa areálu jednotlivých druhov, odhad ich početnosti, areálového aj populačného trendu. Na základe získaných údajov vzniká publikácia obsahujúca aj ďalšie informácie o rozšírení, bionómii, habitatových preferenciách, početnosti a ochrane avifauny SR. Prvýkrát (už skôr bolo rozšírenie vtákov Slovenska alebo v rámci Československa spracované, avšak nie na základe systematického mapovania) bol národný atlas vydaný pod názvom Rozšírenie vtákov na Slovensku (Danko *et al.* 2002). Zahŕňa stav poznatkov v období 1980 – 1999. V r. 2025 prebieha príprava aktualizovaného vydania obsahujúceho poznatky z obdobia 2014 – 2023.

Národný atlas je základom pre európsky atlas hniezdneho rozšírenia vtákov (EBBA, spomínaný vyššie). Doteraz boli publikované 2 knižné vydania tohto atlasu v rámci Európy (EBBA1 v r. 1997, EBBA2 v r. 2020), kde boli zahrnuté aj údaje o hniezdnom rozšírení vtákov na Slovensku. Celú prípravu organizuje Európska rada pre sčítanie vtákov (*European Bird Census Council*, EBCC).

Komplexný monitoring vtákov Slovenska

Impulzom na začatie tohto náročného monitorovacieho programu bola potreba systematického získavania údajov nevyhnutných na podávanie povinných správ (tzv. reporting) členských štátov EÚ, ktoré musia podľa smernice EÚ o vtácoch podávať členské štáty Európskej komisii každých 6 rokov (viď aj kap. 1.1). Inštitúcia zodpovedná za “reporting” na Slovensku je ŠOP SR, ako rezortná odborná organizácia Ministerstva životného prostredia SR. Rozsiahly formulár pre “reporting” obsahuje okrem početnosti, areálového a populačného trendu 236 druhov vtákov SR aj viaceré údaje o kvalite ich biotopov, vplyvoch, ohrozeniach a manažmente biotopov. Keďže doteraz bežiacie monitorovacie programy v SR neposkytujú tak komplexný rozsah informácií o všetkých druhoch vtákov, ŠOP SR pristúpila k spusteniu komplexného monitoringu, ktorého dizajn zodpovedá požadovanej štruktúre reportovaných údajov o vtácoch. Pritom spolupracuje s ostatnými významnými národnými partnermi venujúcimi sa monitoringu vtákov (SOS/BirdLife Slovensko, Ochrana dravcov na Slovensku, Technická univerzita vo Zvolene, Ústav ekológie lesa SAV).

Na základe podobných habitatových preferencií a bionómie boli druhy vtákov rozdelené do 43 skupín. Každá skupina má vypracovanú vlastnú špecifickú metodiku (používa sa bodová, bodový transekt, líniová, plošné mapovanie, priame vyhľadávanie hniezd, pozorovanie hlucháňov na tokaniskách) a svojho národného koordinátora. Pre každú skupinu bola založená sieť trvalých monitorovacích lokalít – TML (pre jednotlivé skupiny od 2 do 190; spolu viac ako 1700 TML). Monitorovacie obdobie predstavuje 6 rokov, počas ktorých sa vykoná monitoring všetkých 43 skupín vtákov (nie všetky skupiny každoročne).

Krúžkovanie vtákov

Krúžkovanie vtákov je metóda výskumu, ktorá sa vo svete používa už od konca 19. storočia, pričom na Slovensku sa dnes krúžkuje zhruba 70 000 vtákov ročne. Spočiatku bolo krúžkovanie realizované s cieľom zistiť zimoviská a migračné trasy sťahovavých druhov vtákov. S týmto zámerom sa krúžkuje dodnes, nakoľko migračné správanie viacerých druhov vtákov je pomerne dynamickým procesom a takto získané poznatky sú mimoriadne cenné pri opise biológie a behaviorálnej ekológie jednotlivých druhov. Okrem toho, vďaka krúžkovaniu boli identifikované mnohé významné migračné trasy, zastávky a zimoviská a niektoré z nich sú práve na základe takto získaných údajov dnes chránenými územiaми. Jedinéčné značenie konkrétnych jedincov vtákov (najčastejšie pomocou krúžkov ale aj iných značiek, či telemetrických a satelitných vysieláčiek) však prináša aj množstvo iných cenných údajov využiteľných aj pre potreby ochrany prírody. Pri samotnom krúžkovaní vtákov sa dnes využíva niekoľko štandardizovaných metód, aby mohli byť výsledky medziročne porovnané a vyhodnocované. Na Slovensku sa na viacerých lokalitách realizuje projekt CES (*Constant effort site*), ktorého hlavným princípom je odchyt rovnakým úsilím (odchyt do rovnakého množstva sietí v rovnakom čase) na rovnakých lokalitách za rovnakých poveternostných podmienok. Ide o monitoring hniezdiacich vtákov, preto sa odchty vykonávajú od začiatku mája do konca júla, tak aby predpísaných 9 odchytov bolo rovnomerne rozložených v jednotlivých dekádach týchto mesiacov. Okrem druhovej identity odchytovaných jedincov, ich pohlavia a veku, sa zaznamenávajú aj viaceré biometrické údaje, vrátane vývinu hniezdných nažín a stavu preperovania. Vďaka tomu je medziročne možné porovnať nielen

početnosť jednotlivých druhov, ale aj fenológiu hniezdenia (na základe kontrol hniezdných nažín a prítomnosti prvých mláďat v odchytoch), nástup obdobia migrácie (na základe stavu preperovania a budovania tukových zásob), či hniezdnu úspešnosť (medziročným porovnaním podielu dospelých a mladých vtákov v odchytoch).

Iným projektom využívajúcim krúžkovanie vtákov je RAS (*Retrapping Adults for Survival*), ktorý ale momentálne na Slovensku nikto oficiálne nerealizuje. Ide o odchytávanie dospelých hniezdiacich jedincov vybraného druhu na rovnakej lokalite viacero hniezdných sezón po sebe. Na základe spätných odchytov je následne možné popísať mieru prežívania hniezdných populácií a identifikovať dôvody ich prípadných zmien – napr. pri poklese početnosti danej populácie nezávisle od hniezdnej úspešnosti.

Okrem toho existuje viacero špecializovaných krúžkovateľských schém, ktoré ustálenými metodikami študujú intenzitu migrácie vtákov na vybraných lokalitách. Používajú sa pritom rôzne atraktanty (najmä akustické – playbacky hlasov jednotlivých druhov) zvyšujúce množstvo odchytovaných vtákov. V prípade dodržania jednotného postupu je možné vyhodnotiť časové zmeny v migrácii počas jednotlivých sezón, ako aj samotnú početnosť konkrétnych druhov vtákov.

Literatúra

Bibby *et al.* (1992), Blondel (1975, 1977), Blondel *et al.* (1970), Danko *et al.* (2002), Du Feu & Mcmeeking (2004), Enemar (1959), Ferry (1974), IBCC (1970), Janda & Řepa (1986), Järvinen *et al.* (1978), Kampichler & Van Der Jeugd (2011), Krebs (1989), Kropil (1992, 1994, 1996, 2010), Lešo *et al.* (2025), Marchant (1983), ŠOP SR (2025), Tomialojć (1980)

Kontrolné otázky

- V čom spočíva výhoda pri sčítaní väčšiny druhov vtákov oproti iným skupinám živočíchov?
- Aké vlastnosti vtákov ich predurčujú na ich využívanie ako bioindikátorov kvality životného prostredia?
- Od čoho závisí voľba konkrétnej metodiky sčítania vtákov?
- Aké sú výhody a nevýhody jednotlivých kvantitatívnych metodík v ornitológii?
- Ktorá metodika poskytuje najpresnejšie výsledky o kvalitatívno-quantitatívnej štruktúre zoskupení vtákov?
- Aké najvýznamnejšie monitorovacie programy vtákov na Slovensku prebiehajú? Ktoré metodiky sa pri nich využívajú?

5 Metódy výskumu a monitoringu drobných cicavcov

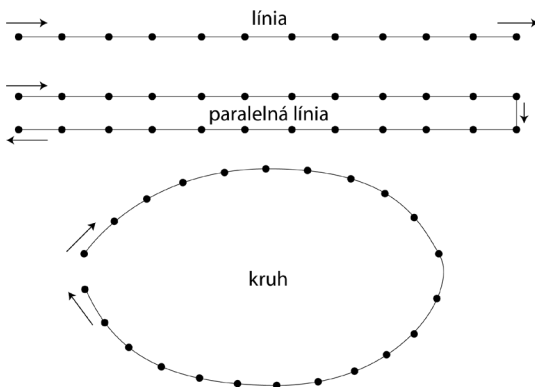
Ivan Baláž, Radoslava Jánošíková & Jakub Košša

Metódy výskumu drobných cicavcov

Metódy odchyту drobných cicavcov a zisťovanie vlastností populácií

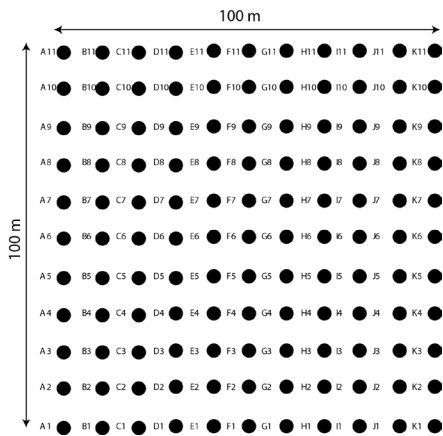
Základom praktickej zoológie je zber primárnych údajov o výskyte jednotlivých druhov živočíchov. Zber takýchto údajov je hlavným zameraním faunistiky. Faunistika je odvetvie zoológie, ktoré sa venuje vyhľadávaniu, určovaniu a evidovaniu živočíšnych druhov na určitom území, resp. je vednou disciplínou, ktorej úlohou je registrovať všetky taxóny živočíchov vyskytujúce sa na danom území. Pracovnými pomôckami faunistiky je zoznam zistených taxónov, katalóg lokalít, tabuľka a prípadne mapa rozšírenia taxónov na danom území. Prítomnosť drobných cicavcov v študovanej oblasti zisťujeme odchytom do sklapovacích, živolovných a zemných pascí rôznych veľkostí použitím líniovej a kvadrátovej metódy. Výber konkrétnej metódy je podriadený cieľu výskumu. Výskum môžeme realizovať v určitom vybranom biotope (homogénne prostredie), v sérii biotopov (transekt cez viaceré typy prostredia) alebo na rozhraní biotopov (ekotonálny efekt). Pasce sa v zásade inštalujú dvoma spôsobmi. Podstatou biologickej metódy je kladenie pascí na miesta očakávaného výskytu drobných cicavcov – k norám, do trsov trávy, do koreňov stromov a k padnutým kmeňom stromov, okolo múrov, k stohom slamy, k obytným a hospodárskym budovám. Druhovo pestrý úlovok je možné získať pozdĺž tokov, ktoré cicavce využívajú k migráciám. Pri ekologických výskumoch je potrebné získať úlovky za porovnateľných štandardných podmienok. V tomto prípade sa používa štatistický spôsob kladenia pascí, umožňujúci objektívne porovnať výsledky rôznych pracovníkov aj z odlišných období.

Pri líniovej metóde (obr. 25) sú drobné cicavce zvyčajne odchyťované do sklapovacích pascí (50 chytacích bodov, v 10-metrových rozstupoch). Pasce sú exponované počas 3 až 4 kontinuálnych dní a kontrolované v 24-hodinových intervaloch. Ako návnada pri líniovej metóde sa používa malý štvorček tkaniny (filc, flauš) namočený v zmesi viacnásobne použitého stolového oleja a pomletých orechov. Knôt napustený zmesou tuku a praženej múky, prípadne knôt napustený zmesou tuku a orechov, je univerzálna návnada (menej selektívna a atraktívna pre veľký počet druhov). Úlovky sa zberajú do plátenných vreciek. Lína by mala byť exponovaná v homogénnom type prostredia. Odchyt drobných cicavcov do živolovných pascí sa líniovou metódou realizuje pri zisťovaní ekotonálneho efektu.



Obr. 25. Inštalácia pascí do línie

Pri kvadrátovej metóde (obr. 26) sa odchyt realizuje pomocou živolovných pascí. Najspoľahlivejším a metodologicky najkorektnjším spôsobom odhadu veľkosti populácie je metóda založená na porovnávaní počtu celkom označených jedincov s ich zastúpením v opätovne odchytenej vzorke (*capture mark recapture* CMR). Táto metóda je však na určovanie denzity piskorov úplne nevhodná, keďže ulovené piskory hynú v pasciach. Metóda opätovného odchytu do živolovných pascí sa používa napríklad pri štúdiu vnútrodruhovej a medzidruhovej konkurencie piskorov. Interval 2 hodín medzi kontrolami pascí je vhodnejšie skrátiť na 1½ hodiny, na zníženie mortality odchytených piskorov. Pri rozlohe 0,56 ha odchytočných kvadrátov sa v lesných biocenózach dosahujú spoľahlivé výsledky.



Obr. 26. Inštalácia pascí do kvadrátu

Zemné pasce sú veľmi efektívne pre odchyt malých druhov drobných cicavcov (najmä zástupcov radu Eulipotyphla a z hlodavcov najmä *Micromys minutus*), ktoré sa súčasne z dôvodu malej telesnej hmotnosti ťažko odchyťujú do sklápacích a živolovných pascí (obr. 27). Pri kvantitatívnom prieskume spoločenstva drobných cicavcov pre podmienky strednej Európy sa ako najefektívnejšie odporúča kombinácia jednej zemnej a dvoch sklápavacích pascí na každý chytací bod. Niektorí autori pri porovnaní sklápacích a zemných pascí považujú za efektívnejšie sklápacie pasce. Napriek tomu vo všeobecnosti tvrdia, že obraz o drobných cicavcoch je kompletnejší použitím zemných pascí. Do zemných pascí sa ľahšie chytajú zástupcovia Soricidae v porovnaní s druhmi a jedincami podčeleďade Arvicolinae, ale najmä Murinae.



Obr. 27. Typy pascí – sklápavacia, zemná, živolovná (foto © Ivan Baláž)

Čo sa týka vnaďenia pascí, pri kvadrátovej metóde je odporúčané pri vedeckovýskumnej práci k ekologickým cieľom skôr použitie kombinácie návnad ako použitie len jednej návnady, akokoľvek univerzálnej. Pre piskory sa odporúča pasce vnaďiť kožou zo slaniny

alebo samotnou slaninou, tvrdou salámou, prípadne kúskami údeného alebo i surového mäsa. Hraboše (ako aj hryzce) sa najlepšie odchyťávajú na koreňovú zeleninu. Pri odchyte pľchov je osvedčeným vnaďidlom ovocie, prípadne ovocný džem. Za univerzálnu návnadu sa pokladá (menej selektívna a atraktívna pre veľký počet druhov) knôt napustený zmesou tuku a praženej múky, prípadne knôt napustený zmesou tuku a orechov.

Pri kvantitatívnom výskume drobných cicavcov slúžia k porovnávaní výsledkov zberov rôznych autorov indexy ako napr. „počet úlovkov za 100 nocí chytania“, keďže rôzni pracovníci v rôznych podmienkach používajú nerovnaký počet pascí a tieto exponujú v priebehu rôzneho počtu nocí. Index sa používa na vyjadrenie relatívnej hustoty drobných cicavcov pre ekologické účely. Tento index možno vyčísliť a porovnávať z 2 až 5 nocí, pričom index z jednej noci treba považovať za nedostatočný. Počas troch nocí sa odchytom odčerpá stála, miestna populácia a následne nastáva imigrácia jedincov drobných cicavcov zo širšieho okolia. Populácie drobných cicavcov nie sú v priestore rozložené rovnomerne, bohaté a pestré spoločenstvá vykazujú styčné zóny. Súčasne použitá metóda (kvadrátová alebo líniová) nemá vplyv na reprezentáciu dominant drobných cicavcov vo vzorkách.

Pri lovení pascami ponechanými na jednom mieste po viac nocí sú rozdiely v celkovom úlovku drobných cicavcov za prvú a druhú noc odchyty štatisticky nepreukazné. Pomer veľkosti úlovku medzi prvou a druhou nocou chytania u toho istého druhu je rozdielny v jednotlivých ročných obdobiach.

Veľmi dôležitou súčasťou teriologického prieskumu určitého územia je stanovenie hustoty populácie. Stanoviť hustotu populácie možno iba odhadom a to predovšetkým na základe uskutočneného odchyty. V tomto prípade je dôležitým faktorom správneho odhadu hustoty populácie, voľba vhodnej a účinnej metodiky odchyty. Ako presnejšiu metódu k stanoveniu hustoty drobných cicavcov je hodnotený odchyt do živolovných pascí. Značkovanie a opätovný odchyt jedincov sú z ekologického hľadiska najvýhodnejšie. K stanoveniu populačnej hustoty drobných cicavcov je efektívnejšie použiť kvadrátovú metódu. Súčasne, čím sú potravné zdroje drobných cicavcov bohatšie, tým menšia je aj ich prebiehavosť (populačná hustota je väčšia) a tým hustejšie by sa mali pasce klásť. Metodika určovania hustoty populácie pomocou línie pascí je problematickejšia. Odporúča sa pre založenie línie plochu dostatočne širokú, aby bolo na každej strane línie aspoň 20 – 30 m rovnorodého porastu. Dĺžka línie sa odporúča minimálne 100 m a pasce sa odporúča klásť v pravidelných rozstupoch po 50 m. So stúpajúcou hustotou populácie sa znižuje pohyblivosť cicavcov. Zisťovanie hustoty populácií veľmi úzko súvisí s reprodukčnou činnosťou drobných cicavcov, čo je už problematika ekologických, resp. populačno-dynamických procesov. Rozhodujúcimi faktormi vplývajúcimi na dĺžku reprodukcie sú vnútro populačné faktory, predovšetkým hustota populácie.

O správnosti zvolenej metodiky sa môžeme presvedčiť zostrojením krivky úlovku. Krivka úlovku by mala mať klesajúci priebeh, čo je dôkazom postupného vychytávania a úbytku jedincov populácie. Čím je krivka strmšia, tým je odchyt úspešnejší a rýchlejší. Naopak vodorovný priebeh krivky svedčí o nesprávnej voľbe metodiky odchyty. Najspohľadlivejším a metodologicky najkorektnejším spôsobom odhadu veľkosti populácie je metóda založená na porovnávaní počtu celkovo označených jedincov s ich zastúpením v opätovne odchytenej vzorke – tzv. CMR.

Súčasťou populačno-ekologických štúdií v teriológii je stanovenie pomeru pohlavia drobných cicavcov, keďže je to jeden zo základných atribútov synúzie. Vyhodnocovanie a posudzovanie pomeru pohlavia u cicavcov sa realizuje na základe testovania frekvencie pomocou χ^2 (χ^2 -test). V závislosti od veľkosti χ^2 (resp. smerodajnej odchýlky s) a hladiny významnosti, môže byť rozdiel nulový (pomer pohlaví v populácii je vyrovnaný) alebo je rozdiel preukazný, resp. vysoko preukazný (pomer pohlaví v populácii nie je pravdepodobne vyrovnaný). Pri stanovení pomeru pohlavia treba brať do úvahy selektivitu odchyty jedincov (u drobných cicavcov

majú v období rozmnožovania samce väčšiu priestorovú a časovú aktivitu ako samice – väčší podiel samcov v úlovku), väčšiu prirodzenú úmrtnosť u pohlavne aktívnych samcov (pohlavne dospelé samce opúšťajú hniezda a vstupujú do teritória iných samcov, ktorí ich napádajú a oni hynú) a ďalšie, napr. genetické príčiny.

Metóda určovania osteologických zvyškov drobných cicavcov z potravy sov a dravcov

Doplňujúce informácie o kvalitatívnej skladbe drobných cicavcov určitého územia možno doplniť napríklad rozborom osteologických zvyškov drobných cicavcov z potravy (vývržkov) sov a dravcov (obr. 28). Táto metóda predstavuje neinvazívnu metódu výskumu drobných cicavcov. Pri tejto metóde sú často potvrdzované zriedkavé a chránené druhy drobných cicavcov, ktorých potvrdenie výskytu klasickými odchytovými metódami by bolo časovo a ekonomicky náročné. Vývržky sú spracované buď ručne, pričom pomocou pinzety a jemného štetca sú odstraňované zvyšky srsti a peria od kostrového materiálu, alebo chemicky. Pri chemickom postupe sa odstraňovanie organických prímies uskutočňuje najčastejšie pomocou 5 % roztoku hydroxidu sodného. Zo sov sa najčastejšie vyhodnocujú vývržky plamienky driemavej (*Tyto alba*), výra skalného (*Bubo bubo*), sovy lesnej (*Strix aluco*) a myšiarky ušatej (*Asio otus*). Vývržky dravcov môžu rovnako obsahovať zvyšky kostí drobných cicavcov, tie sú však často silne natrávené a ich determinácia je ťažšia. Sovy svoju korisť väčšinou prehltnú na rozdiel od dravcov, ktoré ju zvyknú trhať. Vo vývržkoch dravcov možno nájsť len asi 5 % zožratej koristi, vo vývržkoch sov približne 70 až 90 %. Analýza vývržkov sov je vhodná metóda nielen na zistenie potravných ekologických vtákov, ale aj na dokladovanie výskytu niektorých zriedkavejších druhov mikromamalií. Uvedená metóda predstavuje doplňujúcu metódu na zistenie celkového spektra drobných cicavcov pri teriologickom prieskume určitého územia. Pri mapovaní výskytu cicavcov na Slovensku sa zohľadňujú aj nálezy determinované z vývržkov sov, pričom je potrebné uviesť, či ide o recentné alebo fosílné nálezy.



Obr. 28. Vývržky sov a ich spracovanie (foto © Ivan Baláž)

Telemetrické sledovanie drobných cicavcov

Jednou z možností telemetrického sledovania živočíchov je využitie vysokofrekvenčných trackerov (VHF), ktoré predstavujú bežnú technológiu na získavanie terestrických priestorových údajov. Pôvodne boli VHF zariadenia určené len pre veľké druhy kvôli veľkosti (hmotnosti) vysieláčiek. V súčasnosti však došlo k výraznému zníženiu ich hmotnosti, pričom najľahší komerčne dostupný VHF obojok váži len 0,19 g. VHF zariadenia preto majú využitie pri telemetrickom sledovaní drobných cicavcov (obr. 29).



Obr. 29. Vysielačka s hmotnosťou 1,5g používaná na drobné cicavce (foto © Ivan Baláž)

S tým súvisí využitie komplexného rádiotelemetrického systému (ARTS) s vysokofrekvenčnými (VHF) trackermi (obr. 30), ktoré vysielajú s frekvenciou 868 MHz a majú hmotnosť iba 1,5 g. Tieto vysielачky vynikajú svojou vysokou stabilitou frekvencie a času, dosahujúcou presnosť 1 ppm (častí na milión), a sú schopné fungovať v širokom teplotnom rozpätí od -20°C do 80°C . Signál je pravidelne vysielaný počas 1 minúty, s intervalmi, ako napríklad každých 5 minút, čo umožňuje efektívne monitorovanie správania a pohybu týchto malých zvierat v prírodnom prostredí.



Obr. 30. Rádiotelemetrický systém ARTS (foto © Ivan Baláž)

Tento systém funguje na princípe dvoch až troch rádio-telemetrických veží, každá vybavená cirkulárne polarizovanými summa-delta anténami. Tieto antény eliminujú nepresnosti a umožňujú mimoriadne presné meranie, dosahujúce presnosť menej ako jeden stupeň. Každá veža sa otáča o 360° , neustále monitorujú priestor a zaznamenávajú silu signálu zo sledovaných vysieláčov. Tento proces sa opakuje v pravidelných intervaloch, synchronizovaných s vysielaním signálov. Po každom cykle sa identifikuje najsilnejší signál, ktorý poskytuje informáciu o smere vysielачa. Spojením údajov zo smerových meraní a známej polohy veží sa vypočíta presná pozícia sledovaného jedinca. Všetky tieto dáta sú odosielané do centrálného počítača, kde sa spracujú a vizualizujú, čím umožňujú presné sledovanie a záznam pohybu zvierat a v reálnom čase. Na základe získaného bodového mračna, ktoré reprezentuje výskyt sledovaných jedincov v čase, získame podrobné informácie o ich priestorovej aktivite a pohyboch v sledovanom území.

Behaviorálna ekológia drobných cicavcov

Z etológie (veda o správaní zvierat) sa vyčlenil odbor tzv. behaviorálnej ekológie, ktorá sa zameriava na správanie ovplyvňujúce prežitie a reprodukciu a skúma, ako živočíchy prispôbujú svoje správanie v reakcii na ekologické tlaky, ako je napríklad expanzia do nových oblastí. Etologický výskum zvierat je zameraný na pochopenie funkcií, príčin a vývoja ich správania zvyčajne so zameraním na správanie v prirodzených podmienkach a tiež evolučné dôsledky správania zvierat. Správanie zvierat zahŕňa všetky spôsoby interakcie zvierat s inými organizmami a fyzickým prostredím. Aby sme plne porozumeli určitému správaniu, chceme vedieť, čo ho spôsobuje, ako sa u jednotlivca vyvíja, ako prospieva organizmu a ako sa vyvinul. V mnohých prípadoch má správanie vrodenu aj naučenú zložku a mnohé spôsoby správania priamo zvyšujú kondíciu organizmu, to znamená, že mu pomáhajú prežiť a rozmnožovať sa. Tento fakt vyvoláva otázky, ako a z akých dôvodov sa jedinci líšia v spôsobe, akým reagujú na potenciálne riziká, zvládajú novinky alebo komunikujú s inými druhmi. Štúdium týchto rozdielov osobností zvierat má význam pre pochopenie ekologických a evolučných procesov, napr. v súvislosti s expanziou areálov a adaptáciou na nové prostredia. Navyše, nadobudnuté poznatky majú praktické využitie v ochrane prírody, najmä pri hodnotení správania druhov počas reintrodukčných programov, pri chove v zajatí, ako aj v manažmente invazívnych druhov a ekosystémových štúdiách.

Osobnosť zvierat a definujeme ako behaviorálne a fyziologické rozdiely medzi jedincami toho istého druhu, ktoré sú stabilné v čase a konzistentné v rôznych kontextoch. V tomto prípade „konzistentné“ neznamená, že hodnoty znakov sa nemôžu meniť s vekom alebo podmienkami prostredia, ale že rozdiely medzi jednotlivcami sa do značnej miery zachovávajú.

Osobnostné črty formujúce osobnosť rozdeľujeme do piatich kategórií:

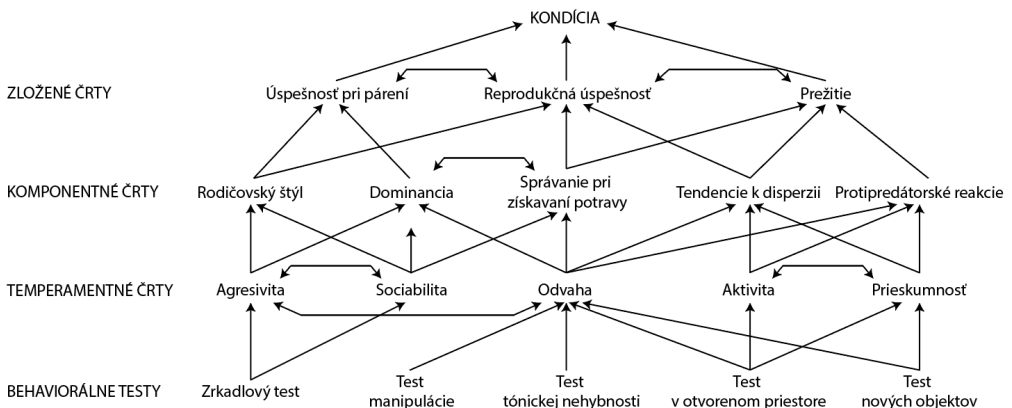
1. Plachosť/odvaha – reakcia jedinca na akúkoľvek rizikovú situáciu, ale nie na nové situácie.
2. Prieskumnosť – reakcia jedinca na nové situácie. Patrí sem správanie voči novému biotopu, novej potrave alebo novým predmetom.
3. Aktivita – všeobecná úroveň aktivity jedinca.
4. Agresivita – agonistická reakcia jedinca voči konšpecifikám.
5. Sociabilita – reakcia jedinca na prítomnosť alebo neprítomnosť konšpecifik. Spoločenský jedinci vyhľadávajú prítomnosť konšpecifických jedincov, zatiaľ čo nesociálni jedinci sa im vyhýbajú.

Pre štúdium a porozumenie evolučných mechanizmov je v kontexte štúdia osobnostných črt zvierat dôležitá prítomnosť (obr. 31):

- A) Fenotypovej variability, ktorá znamená, že medzi jedincami existujú rozdiely v prejavocho určitého znaku, čo je predpokladom pre pôsobenie prirodzeného výberu. Bez tejto variability by výber nemal na čo pôsobiť, a teda by sa nemohla odohrávať adaptívna evolúcia.
- B) Opakovateľnosti, ktorá vyjadruje mieru, do akej je správanie jedinca konzistentné v priebehu času a v rôznych kontextoch. Služi ako indikátor potenciálnej genetickej alebo environmentálnej zložky znaku, pričom vyššia opakovateľnosť naznačuje, že správanie je menej ovplyvňované prechodnými faktormi. Pri testovaní prieskumnosti a ochoty podstupovať riziko (odvaha), napríklad pomocou testov *dark-light* a *open-field*, opakovateľnosť znamená, že jedinec, ktorý pri prvom kole vykazuje priemernú úroveň odvahy, by mal medzi ostatnými jedincami dosahovať približne rovnaké výsledky aj v ďalších opakovaných kolách testovania = konzistencia.
- C) Dedičnosti, ktorá predstavuje genetický základ pre variabilitu znaku a určuje, do akej miery sú rozdiely v znaku medzi jedincami podmienené genetickými faktormi. Z evolučného

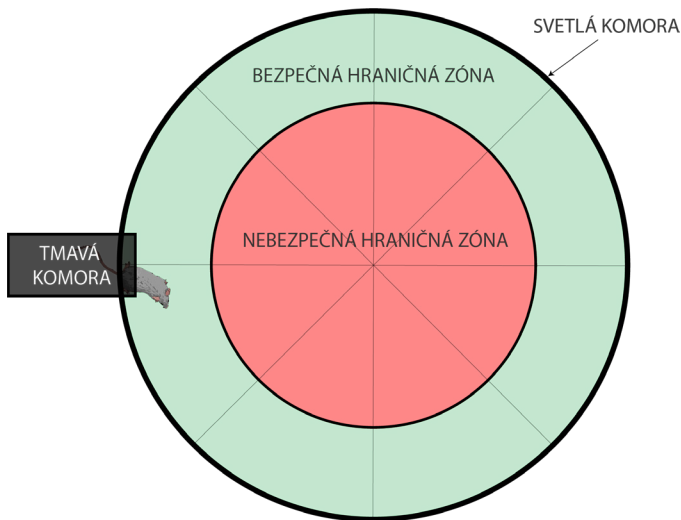
hľadiska je dedičnosť nevyhnutná na to, aby prirodzený výber mohol tvarovať populáciu prostredníctvom generačných zmien. Ak osobnostné črty, ako je odvaha alebo prieskumnosť, vykazujú dedičnosť, potom jedince s výhodnejšími prejavmi môžu zanechať viac potomstva, čím sa tieto znaky šíria v populácii. Takéto znaky často priamo ovplyvňujú fitness jedincov, napríklad prostredníctvom úspešnosti v párení alebo vyhýbania sa predácii. Poznatky o individuálnych rozdieloch a behaviorálnej plasticite vytvárajú základ pre pochopenie výsledkov testov, ako sú *dark-light* test a *open-field* test, ktoré umožňujú testovať odvahu, prieskumnosť a aktivitu drobných cicavcov v prirodzených podmienkach. Odvaha je osobnostná črta, ktorá sa vyznačuje individuálnymi rozdielmi v ochote riskovať v rôznych kontextoch. Tu definujeme ochotu riskovať ako správanie vyjadrené v rizikovej situácii a odvahu ako konzistentné individuálne rozdiely v správaní pri prijímaní rizika. Je dobre známe, že odvaha má dôsledky pre fitness, je dedičná a podlieha selekcii. Okrem toho je spojená s rozhodnutiami o životnej dráhe, ako napr. rozptyl, hľadanie potravy, správanie voči predátorom a párenie.

Prieskumnosť definujeme ako zhromažďovanie informácií o prostredí a priestorovú exploráciu označujeme ako konzistentné individuálne rozdiely v exploračnom správaní v kontexte priestoru a v súvislosti s pohybom. Pre lokomóciu používame termín všeobecná aktivita. Explorácia predstavuje dedičnú zložku, ovplyvňuje prežívanie a reprodukčný úspech, čo naznačuje, že interindividuálne rozdiely v prieskume by mohli byť cieľom selekcie. Okrem toho sa predpokladá, že uľahčuje rozširovanie areálu a inváziu do nových biotopov.



Obr. 31. Znáznornenie hierarchických vzťahov medzi testami, osobnostnými črtami a ich vplyvom na zdatnosť (kondíciu) zvierat. V spodnej časti obrázku sú vymenované špecifické behaviorálne testy (zrkadlový test, test manipulácie, test tónickej nehybnosti, test v otvorenom priestore, test nových objektov) používané na hodnotenie jednotlivých osobnostných črt (agresivita, sociabilita, odvaha, aktivita, prieskumnosť). Tretia vrstva tzv. komponentných črt predstavuje zložitejšie formy správania (rodičovský štýl, dominancia, správanie pri získavaní potravy, tendencie k disperzii, protipredátorské reakcie) a štvrtá vrstva tzv. zložených črt predstavuje vyššie úrovne správania, ktoré integrujú komponentné črty (úspešnosť pri párení, reprodukčná úspešnosť, prežitie), zatiaľ čo vrchná vrstva tzv. kondícia je konečným ukazovateľom evolučného úspechu a je určený schopnosťou organizmu prežiť a rozmnožovať sa, ktorá je práve ovplyvnená nižšími úrovňami črt a správania. Tieto vzťahy teda demonštrujú kaskádový vplyv individuálneho správania na celkovú kondíciu organizmu. Zdroj: Réalé et al. 2007 (upravené, Košša J.).

Test *dark-light* (obr. 32) meria ochotu jedincov opustiť tmavý a uzavretý úkryt a vstúpiť do neznámeho, svetlého a potenciálne rizikového priestoru (aréna *open-field* testu). Test bol vyvinutý s cieľom zamerať sa špeciálne na hľadanie, ich averziu voči jasne osvetleným a otvoreným priestorom a otaxiu, t. j. tendenciu zostať v blízkosti periférie namiesto toho, aby sa nachádzali v otvorenom priestore, pravdepodobne s cieľom znížiť možnosť predácie.



Obr. 32. Výkonanie dark light testu, pozostávajúceho z nepriehľadnej trubice, ktorej zakončenie v aréne open field testu je zabezpečené ovládacími dvierkami. Vyznačený je aj bezpečný priestor (okraj arény) a nebezpečný priestor (stred arény). Zdroj Animal Ecology at Potsdam University (upravené, Košša J.)

V *open-field* teste (obr. 33) sa kvantifikuje prieskumná aktivita jedinca a jeho sklon k podstupovaniu rizika tým, že aréna vykazuje rôzne úrovne vnímaného rizika. Tento test bol pôvodne vytvorený na hodnotenie úrovne lokomotorickej aktivity a úzkosti u hlodavcov, ale v poslednom čase sa častejšie používa v štúdiách osobnosti zvierat. Meria antipredačnú zložku na osi plachosť – odvaha, pričom uskutočnené merania správania (napr. latencie vstupu do bezpečného a nebezpečného priestoru a úrovne aktivity) odrážajú nápadnosť zvierat'a ako potenciálnej koristi pred predátormi. Keďže malé hlodavce sú zraniteľné pred pozemnými aj vzdušnými predátormi, ich pohyb a aktivita v *open-field* aréne sú dôležitými indikátormi ochoty jedinca skúmať neznáme prostredie a jeho schopnosti vyrovnávať sa s rizikom.

Zostava kombinujúca test *dark-light* a test *open-field* je v testovaní v prírodných podmienkach upravená tak, aby sa vykonávala bez predchádzajúcej manipulácie so zvieratami, čím sa vylúči možný vplyv stresu z manipulácie na behaviorálne prejavy. Testovacie zariadenie (*dark-light test*) pozostáva z tmavej plastovej trubice (Ø 10,5 cm × dĺžka 32 cm) pripojenej ku kruhovej PVC aréne (*open field test*) (Ø 130 cm, výška 30 cm). Na začiatku každého testu sa zvieratá bez priamej manipulácie presunú z pasce do trubice, kde zostanú po dobu 60 sekúnd, aby sa aklimatizovali na tmavé prostredie, ktoré bude v nasledujúcej časti predstavovať bezpečný priestor, v ktorom zvieratá menej ochotné riskovať pretrvávajú, zatiaľ čo viac ochotné riskovať zvieratá tento priestor opúšťajú.

Po 60 sekundách sa otvoria dvere vedúce do arény a merajú sa nasledovné ukazovatele sklonu k riskovaniu (odvaha):

- latencia vysunutia hlavy zvierat'a von z trubice (moment, kedy zviera vysunie hlavu von z trubice po prvýkrát),
- latencia vstupu zvierat'a do arény (počíta sa vystúpenie celého tela, bez chvosta, čo znamená, že ten môže zostať určitou časťou svojej dĺžky v trubici, ale latencia sa zaznamená).



Obr. 33. Aréna open-field testu pozostávajúca z rôznych úrovni rizika v podobe okrajovej časti arény, ktorá predstavuje bezpečnú zónu a stredovej časti, ktorá predstavuje rizikovú časť (foto © Ivan Baláž)

Tieto premenné sú sledované po dobu najviac 5 minút, vždy sa zaznamená čas latencie a v prípade, že zviera sa rozhodne nevysunúť hlavu a teda ani vystúpiť celým telom von z trubice (*dark-light test*), latencia bude v oboch prípadoch 5 minút. Následne sú zvieratá bez priameho kontaktu s pozorovateľom povzbudené do vstupu do arény (*open-field test*), v ktorej strávia testovaním prieskumnosti a aktivity 5 minút.

Bezprostredne po vstupe jedinca do arény sa zatvoria dvierka trubice a merajú sa nasledovné premenné:

- latencia vstupu do centrálnej časti arény (na zaznamenanie tejto latencie musí zviera vstúpiť do centrálnej, potenciálne nebezpečnej, časti arény s celým telom bez chvosta, čo znamená, že ten môže zostať určitou časťou svojej dĺžky v okrajovej časti arény, ale latencia sa zaznamená),
- počet prechodov jedinca medzi centrálnou a okrajovou časťou (počet vstupov do centrálnej časti, nemusí to byť nutne celým telom),
- počet jednotlivých sekcií, v ktorých sa jedinec pohybuje (aréna obsahuje 16 sekcií, tu sa zaznamená počet, koľko z nich zviera navštívilo),
- počet výskokov (výskokom sa rozumie, že žiadna zo 4 končatín sa nedotýka zeme),
- aktivita každých 10 s (znamená maximálne 30 záznamov, či sa zviera pohybuje, teda je aktívne, alebo zostáva nehybné a je neaktívne).

Po skončení testovania sa zvieratá odstránia z arény tak, že sa im ponúkne známa pasca ako úkryt a testujúca zostava sa vyčistí 70 % etanolom pre odstránenie pachovej stopy pre ďalšieho testovaného jedinca.

Hlodavce, vrátane druhov rodu *Apodemus*, sú vhodnými modelmi na behaviorálne analýzy, pretože zdieľajú rôznorodé kognitívne funkcie s vyššími živočíchmi. Behaviorálne metódy výskumu malých cicavcov prinášajú cenné poznatky pre ekologický výskum a praktické aplikácie. Výsledky behaviorálnych analýz, ako napríklad testov prieskumnosti a odvahy, umožňujú lepšie porozumieť individuálnym rozdielom, ktoré zohrávajú kľúčovú úlohu v súčasnej rýchlej urbanizácii, ktorá so sebou prináša rozširovanie mestských hraníc na úkor prirodzených biotopov a biodiverzity. Zvieratá sú tak vystavené výzvam, na ktoré ich evolučná

minulosť nemusela pripraviť a v takto zmenenom prostredí kontakt jedincov s rôznymi typmi novniiek môže podporiť ich vytrvalosť tým, že ovplyvní a upraví ich kognitívne alebo behaviorálne vlastnosti, čím zvýši ich schopnosť adaptácie. Medzi mestskými a vidieckymi populáciami *Apodemus agrarius* boli zistené významné rozdiely v správaní, pričom mestské jedince vykazovali vyššiu odvahu, flexibilitu a schopnosť skúmania priestoru, čo naznačuje ich lepšiu schopnosť prispôbiť sa urbanizovanému prostrediu. Predmetom výskumu bol aj vplyv sezónnych zmien na správanie hlodavcov, kde bolo preukázané, že jedince v prostrediach s vyšším sezónnym rizikom (napríklad zvýšená aktivita predátorov v zime) vykazovali nižšiu prieskumnosť, čo takisto naznačuje prispôbovanie zvierat environmentálnym zmenám. Podobne ako výskum na etablovanej populácii *Apodemus agrarius*, v porovnaní s expandujúcimi populáciami odhalil, že jedince v expandujúcich populáciách vykazovali pomalšie prieskumné správanie v testovacej aréne, pričom ich úroveň odvahy bola porovnateľná s jedincami z už etablovaných populácií. Toto naznačuje, že pomalšia prieskumná stratégia môže byť adaptívnou odpoveďou na výzvy spojené s expanziou do nových prostredí. Tieto výsledky sú dôležité nielen pre porozumenie ekologických procesov, ale aj pre ochranu biodiverzity a manažment populácií.

Monitoring európsky významných drobných cicavcov

V súlade s čl. 11 smernice Rady 92/43/EHS o ochrane biotopov, voľne žijúcich živočíchov a voľne rastúcich rastlín (smernica o biotopoch) sú členské štáty povinné sledovať stav biotopov a druhov, na ktoré sa vzťahuje Zmluva. Článok 1 uvedenej smernice definuje stav a priaznivý stav biotopu (resp. stav a priaznivý stav druhu) z hľadiska ochrany prírody. Priaznivý stav druhu, biotopu a časti krajiny sú premietnuté do § 5 zákona č. 543/2002 Z. z. o ochrane prírody a krajiny. V roku 2004 ŠOP SR zabezpečila vypracovanie vedeckých podkladov pre stanovenie priaznivého stavu druhov a biotopov európskeho významu. Cieľom monitoringu je pravidelné zisťovanie, hodnotenie a dlhodobé sledovanie stability, zmien a vývojových trendov tohto stavu.

Druhy európskeho významu, spolu s druhmi národného významu, druhmi vtákov a prioritnými druhmi sú druhy, na ktorých ochranu sa vyhlasujú chránené územia (príloha č. 4 Vyhlášky č. 24/2003 Z. z. – Vyhláška Ministerstva životného prostredia Slovenskej republiky, ktorou sa vykonáva zákon č. 543/2002 Z. z. o ochrane prírody a krajiny, do ktorého sa transponovala smernica o biotopoch).

Pri monitoringu európsky významných druhov sa hodnotia: početnosť, hustota populácie; štruktúra populácie; populačný trend; veľkosť a kontinuita areálu, trendy jeho zmien; stav reprodukčného biotopu; ohrozenia biotopu a populácie druhu.

Monitorujú sa nasledovné druhy hlodavcov: *Castor fiber*, *Cricetus cricetus*, *Dryomys nitedula*, *Marmota marmota latirostris*, *Alexandromys oeconomicus mehelyi*, *Microtus tatraicus*, *Muscardinus avellanarius*, *Sicista betulina*, *Sicista subtilis*, *Spermophilus citellus*.

Monitoring hraboša poľného

Hraboš poľný (*Microtus arvalis*) je všeobecne rozšírený herbivorný druh, ktorý je významnou súčasťou trávnatých ekosystémov. Patrí k sociálne žijúcim hlodavcom. Vyznačuje sa extrémne rýchlym somatickým a pohlavným vývojom. Samice môžu vstupovať do rozmnožovania už od 13. dňa veku. Samice vo veku 14 dní sú už plne schopné párenia a rodenia neobyčajne veľkých vrhov, pričom dĺžka gravidity je v rozmedzí 19 – 21 dní. Populačná dynamika hraboša poľného je nestabilná a vykazuje veľkú sezónnu a viacročnú (medziročnú) premenlivosť s periodicitou 2 – 4 roky. Tieto nepravidelné medziročné fluktuácie sú podmienené množstvom faktorov. Okrem vnútorných faktorov predstavených vyššie sú to aj faktory, ako veľkosť potravinovej základne, predačný tlak, parazitácia, ochorenia, meteorologické a klimatické vplyvy, štruktúra

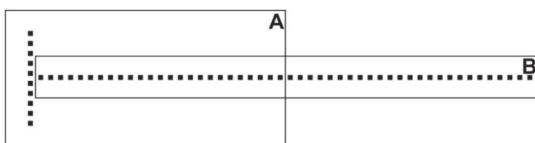
populácie, využívanie krajiny a i. Otázkou stále zostáva, prečo v prírode dochádza k tak „neekonomickému“ javu, kedy určitý druh vynaloží obrovské množstvo energie na vytvorenie biomasy, ktorá vzápätí príde v prevažnej miere nazmar.

Viacročné fluktuácie populačnej početnosti sú na našom území dostatočne známe. Rozoznávame 4 fázy populačného cyklu hraboša poľného: 1. zostupnú fázu, ktorú nazývame retrogradácia, 2. v období nízkej denzity fázu pesima, 3. nasledovanú rýchlou vzostupnou fázou – progradácia a 4. vrcholovú fázu – gradácia.

Počas svojich gradačných fáz spôsobuje škody na poľnohospodárskych plodinách naprieč celým areálom jeho rozšírenia. Z tohto dôvodu je hraboš poľný v usmernení Európskeho úradu pre bezpečnosť potravín o hodnotení rizík označený ako všeobecný ohniskový bylinožravý drobný cicavec, považovaný za akútne a chronické ohrozenie pre všetky relevantné druhy plodín. Monitoring abundancie hraboša poľného v čase a na veľkých územiach sa ukazuje ako kritický aspekt pre návrh adekvátneho manažmentu a predpovedanie jeho gradačných fáz. Od 90. rokov však na území Slovenska abscentuje kontinuálny plošný monitoring druhu.

Priame metódy sledovania početnosti hraboša poľného

Pri odchyte do sklápovacích pascí na vybranom poli je aplikovaná kombinácia dvoch metód. Prvá metóda jednodňovej odchytovej udalosti (*SCE – single capture trapping events*) pozostáva z 35 pascí, inštalovaných do „T“ konfigurácie (10 pascí inštalovaných na okraj poľa a 25 pascí inštalovaných vo vnútri poľa) v 2 m intervaloch (obr. 34A). Pasce sú očíslované a odchyty pre každú pascu sú zaznamenávané. Do analýzy sú zahrnuté pasce č. 1 až 35. Inštalované sú dve „T“ konfigurácie. Vyhodnocované sú 2 ukazovatele: MAPT (*Microtus arvalis per Trap* / hraboš poľný na pascu), t.j. abundanciu hraboša poľného prepočítanú na 1 pascu a OMPt (*Other Mammals per Trap* / ostatné cicavce na pascu), t. j. počet ostatných drobných cicavcov na 1 pascu. Metóda umožňuje aj porovnávanie MAPT či OMPt na okraji poľa (pasce č. 1 – 10) a vo vnútri poľa (pasce č. 11 – 35). Pri druhej líniovej metóde (obr. 34B) sú rovnako inštalované dve línie pozostávajúce z 50 pascí (pasce č. 11 – 60). Pasce boli rovnako očíslované a odchyty pre každú pascu sú zaznamenávané. Keďže obe línie (2 x 50 pascí) pozostávajú z pascí vzdialených v 2 m intervaloch, predstavuje línia dlhá sto metrov plochu 200 m². Šírka je daná vzdialenosťou 1 m na každú stranu od osi línie. Sumárny počet odchytených jedincov sa násobí číslom 25 (10 000 m² / 400 = 25). Výstupom je poznanie početnosti hraboša na jednotku plochy 1 ha. Pri oboch metódach sú pasce inštalované 24 hodín.



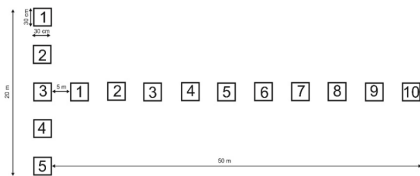
Obr. 34. Schéma inštalovaných sklápacích pascí. A. prvá metóda – 35 pascí v „T“ konfigurácii, pasce č. 1 až 35; B. druhá metóda – 50 pascí v línií, pasce č. 11 – 50

Veľkosť populácie hraboša sa zisťujú tiež odchyty do živolovných pascí, usporiadaných do kvadrátu s veľkosťou 1 ha. Počas 5 dní je exponovaných 121 pascí (11 x 11) v 10 m vzdialenosti (*CMR = capture mark recapture*), najpresnejšie údaje o veľkosti populácii hraboša poľného. Získame najpresnejšiu informáciu o počte hrabošov na plochu 1 ha.

Nepriame metódy sledovania početnosti hraboša poľného

Tu je možné aplikovať rovnako dve metódy. Prvá metóda je sledovanie pobytových znakov v „T“ konfigurácii (*VAS – vole activity signs*). Metóda pozostáva zo sledovania pobytových znakov v 15 kvadrátoch 30 x 30 cm, ktoré sú inštalované v „T“ konfigurácii (rovnako umožňuje

sledovať okraj a vnútro porastu). Kvadráty sú od seba vzdialené 5 m (obr. 35). Sledované boli nasledujúce pobytové znaky: a) čerstvé exkrementy dĺžky 2–5 mm so zaoblenými okrajmi a zelenavou farbou (staršie sú hnedosivé); b) ohryzky – nahromadená zelená vegetácia (napr. lucerna naťahaná do nory); c) výhrabky. Pre každý kvadrát sa určuje iba prezencia/absencia pobytových znakov (nie počet znakov). Výsledný súčet všetkých kvadrátov sa vydelením počtom sledovaných kvadrátov (15). Tak sa získajú hodnoty v intervale od 0 po 1, kde 0 = minimum, pobytové znaky nie sú zistené vôbec a 1 = maximum, t. j. pobytové znaky sú v každom z kvadrátov. Pobytové znaky sa vyhodnocujú zvlášť pre celú „T“ konfiguráciu (*VAS total*), pre okraj „T“ konfigurácie (*VAS edge*), a pre vnútro poľa „T“ konfigurácie (*VAS field*).



Obr. 35. Schéma zisťovania početnosti hraboša poľného v „T“ konfigurácii metódou *VAS* (*vole activity signs*) – (upravené podľa Jareňo et al. 2014).

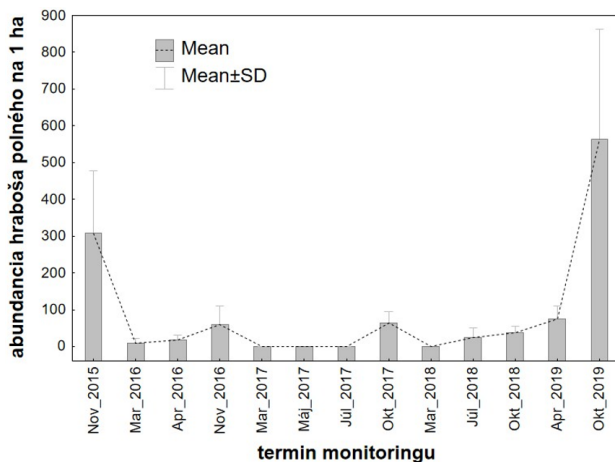
Druhou nepriamou metódou bolo sledovanie aktívnych nôr. Na ploche 1 ha sa prvý deň označia a následne uzavrujú (zašliapnu) a pomocou GPS (RTK GNSS GPS Rover značka TOPCON) s presnosťou 1 cm zamerajú všetky nory drobných cicavcov do podzemných chodieb (obr. 36). Na druhý deň sa všetky novovzniknuté a novoobjavené, t. j. aktívne diery spočítajú a opätovne zamerajú pomocou GPS prístroja. Vyhodnocuje sa celkový počet dier na 1 ha (1. deň) a počet aktívnych dier na 1 ha (2. deň). Nory (diery) drobných cicavcov sú sledované vždy na totožnom kvadráte s výmerou 1 ha.



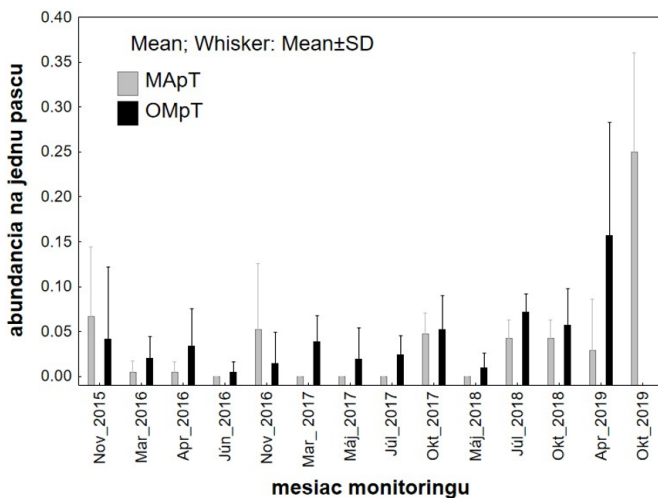
Obr. 36. Označenie aktívnej diery (foto © Ivan Baláž)

V priebehu monitoringu populácií hraboša poľného v Trnavskom kraji v rokoch 2015 až 2019 bolo zaznamenaných viacero fáz populačného cyklu hraboša poľného (obr. 37, 38) s opätovným vrcholom v roku 2019 (po kulminácii v roku 2014). Vyššia početnosť hraboša poľného na jeseň 2015 môže predstavovať jesennú osciláciu alebo pretrvávajúcu retrogradáciu druhu. V období pesima, po drastickej retrogradácii býva jarná populačná hustota hraboša poľného menšia ako 1 ks/ha a vznik nových generácií je spomalený. Dôvodom je jednak vyčerpanosť preživších jedincov, po prekonaní stresu z gradačnej fázy, ako aj tzv. Alleeho efekt, keď je hustota populácie tak nízka, že pre jedinca schopného párenia je náročné nájsť partnera (Zapletal et al., 2000). Zatiaľ čo fáza pesima trvala takmer dva roky, fázu progradácie sme pozorovali počas roka 2018, resp. na jar 2019. Výsledky z jesene 2019 zaznamenali najvyššiu hodnotu početnosti hraboša poľného a naznačujú, že progradácia sa rýchlo zmenila na gradačnú fázu,

ktorá v lete 2019 spôsobila v sledovanom území veľké škody na úrode. Celkovo sú nepravidelné fluktuácie v 3 – 5 ročných intervaloch pre sledovaný druh v našich podmienkach typické. Za príčiny týchto premnožení sa považujú fyzikálne faktory (cyklické klimatické vplyvy), účinky predátorov, účinky patogénov (šírenie infekčných ochorení v populácii s vysokou hustotou), účinky rastlín, štruktúra populácie (vekové zloženie, starnutie populácie), materské účinky, genetické vplyvy. Hustota populácie hraboša poľného kolíše aj počas jedného roka, od jarného minima po jesenné maximum.



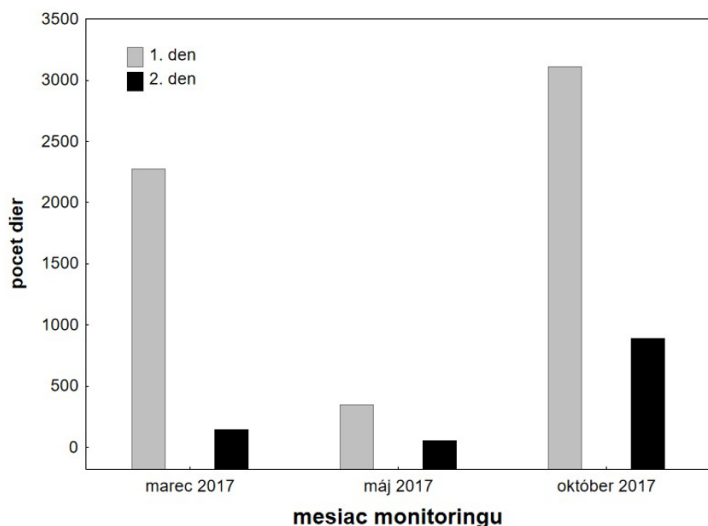
Obr. 37. Priebeh 4 fáz populačného cyklu hraboša poľného zaznamenaného v priebehu rokov 2015 až 2019 na lokalitách Trnavského kraja vyhodnotené metodikou Zapletalová et al. (2000) – priemer ± SD; x os vyjadruje mesiac monitoringu, označenie je tvorené prvými tromi písmenami mesiaca a rokom, hodnoty sú oddelené podržníkom.



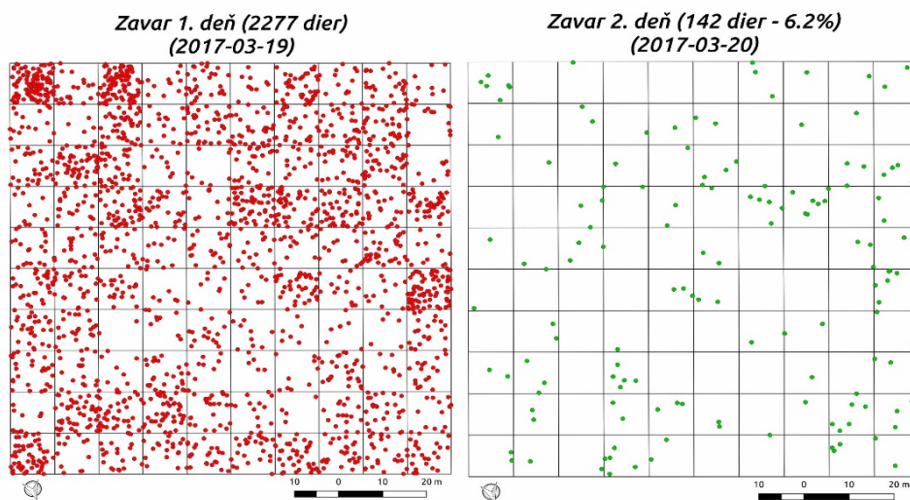
Obr. 38. Zmeny relatívnej početnosti populácie hraboša poľného (MApT) a ostatných druhov drobných cicavcov (OMpT) v priebehu rokov 2015 až 2019 na lokalitách Trnavského kraja vyhodnotené metodikou SCE podľa Jareňa et al. (2014) – priemer ± SD; x os vyjadruje mesiac monitoringu, označenie je tvorené prvými tromi písmenami mesiaca a rokom, hodnoty sú oddelené podržníkom.

Nepriame metódy

Počítaním aktívnych dier na viacročných porastoch lucerny sietej počas fázy pesima životného cyklu hraboša poľného bol počet aktívnych dier vždy nižší, pričom rozdiel v počte všetkých a aktívnych dier varioval medzi sledovanými obdobiami (obr. 39). Pri porovnaní 1. a 2. dňa monitoringu sa prejavil výrazný pokles počtu aktívnych dier a zároveň zmena ich priestorového rozloženia v rámci plochy (obr. 40).



Obr. 39. Zmeny v početnosti všetkých dier (1. deň) a aktívnych dier (2. deň) na lokalite PD Zavar



Obr. 40. Zmeny v početnosti a priestorovej distribúcii všetkých dier (1. deň) a aktívnych dier (2. deň) na lokalite PD Zavar počas monitoringu v marci 2017.

Od 90. rokov na Slovensku úplne absentuje pravidelný monitoring hraboša poľného. Práve pomocou pravidelného monitoringu môžeme získať všeobecnú predstavu ako sa sledovaná populácia vyvíja v priebehu času, či dochádza k jej rastu, poklesu či stagnácii. Keďže je správny odhad početnosti populácie pre populačnú ekológiu, ochranu a manažment prírody kľúčovým krokom, odporúča sa kombinácia viacerých priamych aj nepriamych metód súčasne. Kombináciou dvoch metód možno získané údaje porovnať s údajmi z viacerých regiónov Česka a Slovenska z minulosti, ako aj sledovať okraj porastu a jeho vnútro. Vhodnejšie je odchty realizovať vždy pred kosbou viacročných plodín. Vo vyššej vegetácii je hraboš poľný aktívnejší a viac času trávi na povrchu, ako na plochách s nízkym porastom, kde veľkosť svojho domovského okrsku znižuje s cieľom minimalizovať riziko predácie. Výhodou priamych metód je práve jasná deklarácia relatívnej početnosti konkrétneho druhu, čo pri nepriamych metódach nie je vždy možné.

Nepriame metódy poskytujú rýchly, časovo a finančne nenáročný spôsob monitoringu. Nevýhodou metódy je, že osoba vykonávajúca monitoring musí mať minimálne poznatky o rozlišovaní čerstvých pobytových znakov (trus, „naľahaná“ lucerna do nory, čerstvý výhrabok). Nie každá nora („diera“) totiž predstavuje aktívnu dieru. To je problém najmä viacročných porastov, na čo upozornila aj naša metóda počítania aktívnych dier. Z tohto pohľadu sa vhodne javí aplikácia VAS metódy v jednoročných porastoch. Naopak z pohľadu detekovania rizikových plodín je vhodné metódu VAS realizovať tak v jednoročných plodinách, ako aj viacročných plodinách, a to hneď po kosbe. Pre potreby zachytenia väčšej plochy je možné prejsť z VAS 15 (15 sledovaných kvadrátov) na VAS 35, kde na okraji poľa je sledovaných 10 kvadrátov a vo vnútri porastu je sledovaných 25 kvadrátov. Použitie metódy počítania aktívnych dier je pre potreby monitoringu práčne a získané údaje sú z hľadiska náročnosti zberu nerelevantné. Tieto údaje sú vhodné na štúdie venujúce sa priestorovej ekológii druhu.

V kontexte klimatických zmien a pravidelných kulminácií hraboša poľného je potrebný pravidelný plošný monitoring druhu tak, aby bolo možné predikovať dlhodobjší vývoj jeho populácie.

Literatúra

Ambros (1998), Ambros & Gajdoš (1988), Anděra & Horáček (2005), Archer (1973), Baláž (2015), Baláž *et al.* (2012, 2013), Bell & Gonzalez (2009), Blair (1941), Breed & Moore (2022), Crews (2013), Červený & Obuch (1999), Dammhahn (2012), Dingemanse & Dochtermann (2013), Duckworth & Badyaev (2007), Dudich & Štollmann (1985), Dudich *et al.* (1987), Eccard *et al.* (2022), EFSA (2009), Engeman (2005), Falconer (1996), Gosling (2001), Gould *et al.* (2009), Hamilton & Brigman (2015), Habib *et al.* (2014), Hascoët & Bourin (2009), Herde & Eccard (2013), Heroldová *et al.* (2004), Horáček (1984), Hummell *et al.* (2022), Hutton (1989), Jacob & Hempel (2003), Jareño *et al.* (2014), Kays *et al.* (2015), Kenward (2001), Kratochvíl & Gaisler (1964), Kropil & Sládek (1990), Lapierra *et al.* (2017), Lynch (1998), Májský (1987), Mazza *et al.* (2020), Mazza & Guenther (2021), Michielsen (1966), Mošanský *et al.* (2000), Obdržálková *et al.* (2007), Obuch (1995, 2000), Pankakoski (1979), Pelikán (1975, 1976, 1984), Pelikán *et al.* (1977), Pelikán & Zejda (1962), Réale *et al.* (2007), Rehage & Sih (2004), Rezková & Kolář (2010), Rödl (1974), Rychlik *et al.* (2010), Řepa (1975), Saxa *et al.* (2015), Schirmer *et al.* (2019), Sih *et al.* (2020), Stanko *et al.* (1999), Tkadlec (2008), Tkadlec & Zejda (1995), Turček (1957, 1967), Zapletal *et al.* (2001), Zejda *et al.* (1977), Zukal & Gaisler (1992), Wallace *et al.* (2022), Watters & Meehan (2007), Wolf & Weissing (2012), Young & Johnson (1991)

Kontrolné otázky

- Aké sú základné metódy odchyту drobných cicavcov a v čom sa líšia líniová a kvadrátová metóda?
- Prečo je metóda „capture-mark-recapture“ (CMR) považovaná za najspoľahlivejšiu na odhad veľkosti populácie a prečo nie je vhodná pre piskorovité cicavce?
- Aké faktory ovplyvňujú presnosť stanovenia hustoty populácie drobných cicavcov a aký je význam krivky úlovku pri hodnotení metodiky odchyту?
- Ako sa využíva analýza osteologických zvyškov z vývržkov sov a dravcov pri doplňujúcom zisťovaní spektra drobných cicavcov?
- Čo je behaviorálna ekológia a aké osobnostné črty drobných cicavcov sa dajú skúmať pomocou testov *dark-light* a *open-field*? Ako tieto črty ovplyvňujú adaptáciu jedincov na zmeny prostredia?

6 Výskum a monitoring líniových bariér a mortality živočíchov na komunikáciách

Michal Králik

Úvod

Problematika výskumu a monitoringu líniových bariér je značne široká, pretože existuje množstvo rôznych typov týchto bariér (napr.: pozemné – cesty, diaľnice, železnice, vodné – vodné kanály, vzdušné – elektrické vedenie a pod.). Zároveň sa vplyvy z týchto štruktúr dotýkajú širokého spektra skupín živočíchov (od bezstavovcov až po veľké cicavce). Špecifiká jednotlivých prípadov a ich kombinácií sú také rozsiahle, že by si zaslúžili samostatnú publikáciu.

V tejto kapitole sa preto sústredíme na hlavné, dostupné a používané metódy, najmä v podmienkach strednej Európy a uvedieme hlavné rámce postupov formou základného prehľadu. Ťažisko obsahu sa bude venovať pozemným komunikáciám (cestám) a cicavcom.



Obr. 41. Cestná ekológia študuje ako sa mení život pre rastliny a živočíchy v blízkosti cesty a dopravy, pričom sa termín „road ecology“ bežne pripisuje ekológovi Richardovi Formanovi (od 90. rokov dvadsiateho storočia), hoci to bol preklad nemeckého neologizmu „Straßen-Ökologie“ ktorý používal Heinz Ellenberg už v roku 1981 (foto © Michal Králik)

Monitorovanie a hodnotenie vplyvu dopravnej infraštruktúry na biotu

Monitorovanie a hodnotenie sú činnosti vykonávané s cieľom posúdiť:

- účinnosť zmierňujúcich opatrení pri dosahovaní cieľov, pre ktoré boli navrhnuté,
- vplyv projektu na ciele ochrany.

Monitorovanie a hodnotenie účinnosti opatrení musí vychádzať z určenia počiatočného, alebo východiskového stavu biodiverzity, ktorý poskytuje dostatočne presné informácie a je prispôbené kontextu, ktorý bude existovať po realizácii hodnoteného opatrenia. Napríklad meranie účinnosti príchodov pre živočíchy sa často zameriava len na poskytnutie zoznamu

druhov, ktoré priechod využívajú, a určenie ich dennej alebo mesačnej početnosti. V takomto prípade bude k dispozícii len málo údajov na posúdenie toho, či počet jedincov využívajúcich danú štruktúru môže zaručiť dlhodobú ochranu populácie cieľového druhu. Ak sa má účinnosť priechodu pre voľne žijúce živočíchy na úrovni populácie merať napríklad z hľadiska toku génov, potom sa musí genetika populácií na oboch stranách priechodu vyhodnotiť pred vybudovaním dopravnej infraštruktúry a po jej vybudovaní počas obdobia primeraného dĺžke života príslušných druhov.

Výskumné štúdie predstavujú typ monitorovania a hodnotenia, ktorý presahuje bežnú prax tým, že realizuje pokročilejšie analýzy na posúdenie súvislostí alebo príčinnej súvislosti vplyvu, napríklad na populácie voľne žijúcich živočíchov, biotopy alebo ekosystémy. Tieto štúdie môžu priniesť cenné poznatky nielen o tom, čo funguje a čo nie, ale aj o tom, prečo je to tak a čo je kľúčové pre efektívne uplatnenie nápravných opatrení.

Hodnotenie

Hodnotenie je proces, ktorý kriticky posudzuje, testuje a meria návrh, realizáciu a výsledky plánu, projektu alebo zmierňujúceho opatrenia vo vzťahu k jeho cieľom. Môže sa vykonávať kvalitatívne aj kvantitatívne s cieľom určiť rozdiel medzi skutočným a požadovaným výsledkom. V dopravnej ekológii je cieľom tohto procesu overiť, či projekt a použité zmierňujúce opatrenia splnili svoje ciele z hľadiska zníženia negatívnych vplyvov.

Hodnotenie vplyvu dopravnej infraštruktúry na prírodu pomocou monitorovania znamená:

- definovanie jasných cieľov a metód, ktoré sa majú použiť,
- zber údajov o biotopoch a o prítomnosti, početnosti a rozmanitosti druhov a populácií pred výstavbou, počas výstavby a aspoň v prvých fázach prevádzky (napr. v niektorých krajinách EÚ je povinné monitorovanie počas obdobia 3 rokov, ale v niektorých podmienkach môže byť potrebné dlhodobé monitorovanie).

Monitorovanie

Monitorovanie je proces riadený cieľmi hodnotenia, ktorý kombinuje opakované pozorovania a merania vykonávané v priebehu času, zvyčajne na posúdenie časovej zmeny parametra alebo v reakcii na narušenie/intervenciu alebo na kvantifikáciu výkonnosti plánu, projektu alebo zmierňujúceho opatrenia na základe súboru vopred stanovených ukazovateľov, kritérií alebo cieľov.

V rámci dopravnej ekológie je monitorovanie kľúčovým nástrojom, ktorý sa začína návrhom plánu monitorovania (projektu monitorovania).

Monitorovanie nadväzuje na proces biologického prieskumu vykonávaného vo fáze plánovania (EIA, dokumentácia pre územné a stavebné konanie) a poskytuje výsledky na ďalšie hodnotenie po dlhšom období prevádzky (napr. 3 roky počas prevádzky). Opis zmien ekosystémov, biotopov a rozšírenia či hustoty druhov počas projektovania, výstavby a prevádzky poskytuje informácie o vplyve dopravnej infraštruktúry na voľne žijúce živočíchy. Pri návrhu plánu monitorovania je potrebné zohľadniť všetky relevantné skupiny druhov, ako aj biotopy.

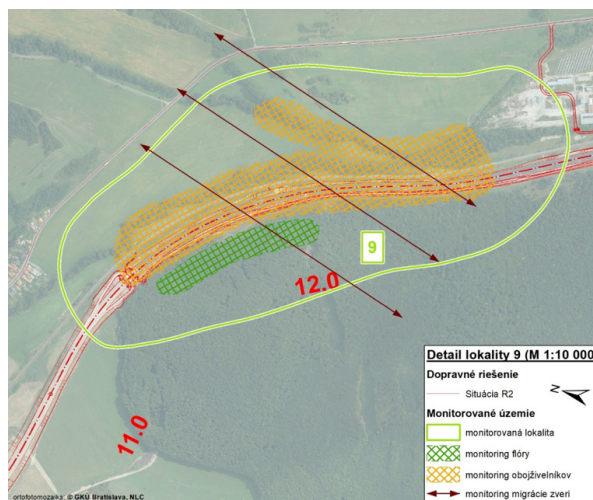
Návrh plánu monitorovania zahŕňa výber a organizáciu schém alebo protokolov, metód a techník. Schéma (nazývaná aj projekt monitoringu) je podrobný plán, ktorý vysvetľuje, ako sa musia zbierať a analyzovať údaje, aby sa zodpovedala výskumná otázka.

Zahrňa:

- Plán výberu vzorky, ktorý definuje postupy výberu a zberu prvkov, ktoré sa majú skúmať.
- Metódy a techniky, ktoré sa majú použiť.
 - Metódu možno definovať ako logický postup zameraný na dosiahnutie všeobecného cieľa (napr. odhad veľkosti populácie prostredníctvom organizovaného zberu údajov). Metóda teda mobilizuje jednu alebo viacero techník na získavanie údajov v teréne a je súčasťou štandardizovanej schémy.
 - Technika sa vzťahuje na súbor špecifických zručností, postupov a nástrojov, ktoré sa používajú na zber údajov súvisiacich s parametrom, ktorý sa má pozorovať, alebo ekologickým faktorom, ktorý sa má zohľadniť.
- Postupy aplikácie (napr. trvanie, frekvencia, faktory vplyvu, ktoré sa majú registrovať, a iné).

Na zabezpečenie porovnateľnosti a opakovateľnosti monitorovacích činností je dôležité dodržiavať tieto zásady pri zbere údajov z terénnych prieskumov:

- Na získanie porovnateľných údajov počas celého obdobia monitorovania a hodnotenia sa počas tohto obdobia nesmú meniť zavedené schémy a metódy.
- Na monitorovanie zmierňujúcich opatrení alebo cieľov v oblasti biodiverzity v rôznych študovaných lokalitách používajte rovnakú, štandardizovanú schému a metódy a rovnaké metriky. Tým sa získajú porovnateľné údaje, ktoré sa môžu použiť na hodnotenie a na prijímanie rozhodnutí v iných situáciách s podobnými podmienkami.



Obr. 42. Príklad určených lokalít monitoringu v projekte monitoringu rýchlostnej cesty R2 pred, počas a po výstavbe (zdroj © Michal Králik)

Jednou z odporúčaných celkových schém (dizajn) hodnotenia vplyvov a účinnosti opatrení je metóda BACI – *before-after-control-impact*, t. j. kontrola dopadov (vplyvov) pred a po výstavbe.

Schéma BACI sa odporúča používať v ekologických štúdiách a ide o nerandomizované metódy, ktoré môžu využívať rôzne štatistické testy. Existuje niekoľko variantov metodiky BACI v závislosti od priestorovej alebo časovej mierky, pričom najkomplexnejšou metódou je BDACI (D ako „During“, čo je monitorovanie, ktoré sa má uplatňovať počas zásahu: napr. výstavby infraštruktúry).

Metóda BACI zahŕňa zber dát z lokalít, kde sa skúma vplyv, rovnako aj z referenčnej lokality (kontrolnej lokality) a to niekoľkokrát pred a po výskyte samotného vplyvu. BACI dizajn je zvyčajne najsilnejším dizajnom sledovania vplyvov a mal by sa realizovať vždy, ak je to možné. Tak ako mnohé iné metódy, aj táto metóda má niekoľko obmedzení (napr. pre dlhé líniové projekty môže byť z dôvodu heterogenity miestnych podmienok ťažké nájsť referenčnú lokalitu z hľadiska počtu a aj reprezentatívnosti), má však výhodu vo vysokom stupni kvality kontroly vplyvu na biotu.

V praxi sa v našich podmienkach stretávame s trojfázovým monitoringom, kde okrem obdobia pred a po výstavbe monitorujeme aj obdobie počas výstavby, pričom nie je vždy možné jednoznačne určiť kontrolnú lokalitu. Avšak v prípadoch, kedy je to možné, odporúčame držať sa aspoň základných princípov metodiky BACI. Je to vhodné pre skoršie zjednotenie výsledkov prípadne pre súhrnné vyhodnotenie nazbieraných údajov vo väčšom meradle (napr. na úrovni štátu alebo EÚ).

Pri záverečnom hodnotení je dôležité určiť, či môžu nesúvisiace faktory ovplyvňovať výsledky monitorovania. Medzi tieto typy faktorov patrí napr. nelegálny lov alebo vyrušovanie (poškodzovanie) ľuďmi, rovnako tak mimoriadne prírodné udalosti a disturbancie či znečistenie z iných zdrojov ľudskej činnosti – sú to teda faktory, ktoré nesúvisia s vplyvom cestnej komunikácie. Tieto faktory musia byť monitorované hlavne preto, aby sa zabránilo skresleniu výsledkov negatívnym účinkom mimo samotného monitorovaného vplyvu.

V praxi sú hlavnými cieľmi hodnotenia a monitorovania zvyčajne:

- identifikovať a zmerať, aké účinky má infraštruktúra na biodiverzitu.
- vyhodnotiť, či použité zmierňujúce opatrenia zabezpečujú dlhodobé zmiernenie alebo kompenzáciu pre dotknuté druhy a biotopy.
- Zistiť chyby v inštalácii, výstavbe alebo údržbe zmierňujúcich opatrení, ktoré znižujú ich účinnosť. V prípade zistenia nedostatkov je potrebné uplatniť nápravné opatrenia a tiež vyhodnotiť, či sú účinné.

Vhodné monitorovanie a hodnotenie počas životného cyklu infraštruktúry je preto nevyhnutné na dosiahnutie nasledujúcich prínosov:

- Zabezpečenie dlhodobej životaschopnosti populácií voľne žijúcich živočíchov a zachovanie zdravých ekosystémov a služieb, ktoré poskytujú.
- Zlepšenie budúceho návrhu a údržby dopravnej infraštruktúry, identifikácia opatrení s optimálnym pomerom nákladov a efektívnosti a zabránenie opakovaniu chýb a používaniu neúčinných opatrení.
- Zabezpečenie efektívnejšieho využívania finančných prostriedkov investovaných do zmierňujúcich opatrení.

Terénne techniky používané pri monitorovaní voľne žijúcich živočíchov

Plány (projekty) monitorovania dopravnej infraštruktúry sa v závislosti od kontextu môžu zameriavať na širokú škálu tém, cieľových druhov, biotopov a ekosystémov. Cieľom tejto časti nie je podrobne opísať metódy použiteľné vo všetkých týchto rôznorodých situáciách, ale ukázať rozmanitosť techník, ktoré možno v teréne využiť na zber údajov. Hoci sú uvedené najbežnejšie techniky, nejde o vyčerpávajúci zoznam. Tieto techniky sa rýchlo vyvíjajú a preto je potrebné, aby odborní ekológovia určili, ktoré z nich sú najvhodnejšie pre konkrétne ciele a zámery každého monitorovacieho plánu v čase jeho tvorby.

Najčastejšie ciele monitorovania v priestore dopravnej infraštruktúry a v ďalších dotknutých oblastiach zahŕňajú:

- zoznamy biotopov a druhov (prítomnosť/nepítomnosť),
- rozšírenie a početnosť druhov,
- pohyby živočíchov, migračné vzorce a iné behaviorálne štúdie (napr. využívanie priechodov pre zver na prekonanie ciest a železníc, letové trasy v blízkosti elektrických vedení),
- genetickú diverzitu na úrovni populácií alebo krajiny (DNA sa využíva aj na potvrdenie prítomnosti druhov),
- demografiu (zmeny vo veľkosti alebo štruktúre populácií ovplyvnených bariérami infraštruktúry),
- úmrtnosť živočíchov spôsobenú dopravou alebo infraštruktúrou: identifikáciu druhov a ohnisk (*hotspots*) úmrtnosti.

Používané techniky sa líšia podľa druhov alebo taxonomických skupín (tab. 6) a v závislosti od cieľa monitorovania aj podľa použitej technológie a ďalších premenných.

Tab. 6. Zhrnutie najbežnejšie používaných techník (upravené podľa Guinard et al. 2023).

Technika	Bezstavovce	Ryby a iná akvatická fauna	Obojživelníky	Plazy	Vtáky	Drobné cicavce	Stredné cicavce	Veľké cicavce	Semiakvatické cicavce	Netopiere
Polia na stopy (jemný piesok alebo podobný materiál)	–	–	?	?	o	?	o	o	?	–
Umelé úkryty/hniezda s priamym pozorovaním	●	–	●	●	●	●	●	–	o	●
Terénna inventarizácia/ priame pozorovanie	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Stopovanie na snehu	–	–	–	–	–	–	o	o	o	–
Zachytávače srsti/peria	–	–	–	–	●	●	●	●	●	–
Fotopasce (PIR/pohybový senzor)	?	–	?	?	o	o	●	●	●	o
Fotopasce (časozber)	o	–	●	●	–	●	●	●	o	?
Termo kamera	–	–	?	?	o	o	●	●	●	o
Drony so senzormi	?	?	?	?	●	?	o	●	●	o
Spätný odchyt (Capture Mark Recapture)	–	–	o	o	o	●	●	●	●	●
Bioakustické zariadenia	●	●	●	–	●	●	●	●	●	–
Radiotracking	o	●	●	●	●	●	●	●	●	?
Techniky na základe satelitov	–	–	–	o	●	●	●	●	●	●
eDNA	●	●	●	o	o	o	●	●	●	o

Legenda:

- – optimálne
- o – používa sa s určitou úpravou
- „-“ – nevhodné
- ? – neznáme

Mortalita živočíchov na pozemných komunikáciách

Kolízie so živočíchmi a ich mortalita predstavujú jeden z najviditeľnejších a najpriamejších vplyvov ciest na voľne žijúce živočíchy. Ovplyvňuje biodiverzitu, ekosystémy aj bezpečnosť cestnej premávky. Priamy úhyn jedincov po zrážke s dopravným prostriedkom vedie k poklesu početnosti populácií, čo zvyšuje riziko ich lokálneho vyhynutia, najmä u druhov s nízkou reprodukčnou schopnosťou alebo malými populáciami. Taktiež môžu byť narušené potravinové reťazce a funkčnosť ekosystémov. Z hľadiska bezpečnosti na cestách prítomnosť živočíchov na vozovke zvyšuje riziko nehôd, ohrozujú zdravie vodičov alebo spôsobujú materiálne škody.

Z výskumov v Spojených štátoch amerických vyplýva, že v databázach dopravných nehôd, teda v oficiálnych údajoch, je zaznamenaných len asi 42 – 50 % kolízií s kopytníkmi. Podobne aj vo Švédsku bolo v roku 2004 uvedené, že polovica stretov s kopytníkmi nebola evidovaná vôbec.

Odhad miery úhynu zvierat na cestách však môžeme získať pravidelným sledovaním určitého úseku cesty a sčítaním (nálezom) uhynutých zvierat. Takýto systematický podrobný zber bol podkladom pre mnoho vedeckých prác. Napriek pravidelnému monitorovaniu, napríklad každodennou pochôdzkou, však nemusíme zaznamenať všetky telá zvierat. Všeobecne platí, že najnižšiu úspešnosť zaznamenávania dosahujeme pri obojživelníkoch, vyššiu pri vtákoch a najvyššiu pri cicavcoch. S väčšou hmotnosťou a veľkosťou zvierat tak rastie aj pravdepodobnosť, že ho nájdeme.

Existujú štúdie, ktoré potvrdzujú vyššiu efektívnosť nálezu kadáverov s použitím psa pri vyhľadávaní, prípadne také, ktoré potvrdzujú vyššiu úspešnosť pri pešom zbere údajov oproti zberu z pohybujúceho sa auta.

Hlavné rozdiely sa ukazujú v schopnosti zahrnúť do prehľadávania aj okolitú vegetáciu (niekde tiež cestnú zeleň). Pri pešej pochôdzke, prípadne s použitím psa je však efektívnosť omnoho nižšia, čo sa týka dĺžky zmonitorovaného úseku za jeden deň.

Navyše vďaka pôsobeniu mrchožrútov môže byť skutočná úmrtnosť živočíchov na cestách 12- až 40-násobne vyššia, než naznačujú nálezy tiel. Navyše, u mnohých menších živočíchov často ani nedôjde k priamemu stretu s vozidlom. Telá týchto malých zvierat sú neraz odhodené turbulenciou ďalej do vegetácie pri krajnici.

Pri väčšine skupín stavovcov bolo zistené, že telá pri krajniciach rýchlo ubúdajú medzi prvým a piatym dňom po strete. Napríklad dohľadávanie tiel obojživelníkov, hadov či malých cicavcov po viac ako troch dňoch už nemá význam, zatiaľ čo u ježkov, zajacov, šeliev či dravých vtákov stačí interval kontrol osem až desať dní.

Ukazuje sa preto, že určenie skutočného počtu uhynutých zvierat na cestách je zložitý. Na získanie aspoň približného odhadu celkového počtu uhynutých stavovcov sa preto využíva matematické modelovanie. Na to sú potrebné čo najpresnejšie údaje o počte všetkých uhynutých živočíchov na určitom úseku cesty za dané obdobie, získané z monitoringu. Čím viac takýchto údajov je k dispozícii, tým presnejšie sú odhady skutočného počtu uhynutých živočíchov.

Monitoring kolízií živočíchov s dopravnými prostriedkami počas prevádzky

Využíva sa najmä pre zisťovanie funkčnosti navrhnutých opatrení. Má svoje obmedzenia v nastavenom metodickom rámci a nie vždy je vhodná na kvantifikáciu vplyvu výstavby a prevádzky cestnej komunikácie.

Dôležité je najmä určenie cieľov monitoringu mortality a zaznamenávaných druhov. To znamená druhov, pre ktoré v rámci projektovej prípravy boli navrhnuté opatrenia na zabránenie vniknutia na vozovku. Mortalitu je bežne potrebné sledovať najmä na kritických úsekoch, kde je predpoklad stretov živočíchov s dopravnými prostriedkami. Frekvenciu tohto monitoringu je taktiež potrebné určiť predovšetkým na základe sledovaného druhu.

V prípade, že neexistujú žiadne vstupné dáta o mortalite na riešenom úseku cestnej komunikácie, sa odporúča nasledovný metodický postup:

- Na základe kontrol (pešie obhliadky riešeného úseku dva až maximálne štyrikrát ročne), zároveň na základe informácií od správcu komunikácie, identifikovať problémové úseky s mortalitou živočíchov.
- V prípade identifikovania kritického úseku (alebo technického nedostatku) navrhnuť dodatočné opatrenia, prípadne zvýšiť intenzitu monitorovania mortality daného úseku.
- Zber by mal prebiehať štandardizovanou metódou napríklad zápisom do mobilnej aplikácie (dátum, poloha, druh, fotografia a pod.) – výstupom tak bude ucelený jednotný súbor dát, vhodný na akékoľvek ďalšie štatistické spracovanie a vyhodnotenie.

Mortalitu je najvhodnejšie zisťovať formou pešej terénnej pochôdzky alebo automatizovaným systémom (TP 050, 2022). Automatizované systémy sú v súčasnosti založené na videozázname z idúceho vozidla po sledovanom úseku cesty, pričom buď simultánne alebo počas spracovania sa analyzujú záznamy pomocou softwarového strojového učenia. Takto automatizovaný systém dokáže analyzovať buď prítomnosť kadáveru na zábere, alebo v prípade vyššej kvality a rozoznatelnosti, vie systém priradiť nález priamo k živočíšnemu druhu.



Obr. 43. Záznam úhynu vydry riečnej na kamere z idúceho vozidla. Obsahuje automaticky, dátum, čas aj polohu (foto © Michal Králik)

Literatúra

Barrientos *et al.* (2018), Bíl & Bartonička (2022), Ellenberg *et al.* (1981), Guinard *et al.* (2012, 2023), Marcoux & Riley (2010), Romin & Bissonette (1996), Santos *et al.* (2015), Seiler (2004), Slater (2002), Stewart-Oaten *et al.* (1986), Teixeira *et al.* (2013)

Kontrolné otázky

- Aký je hlavný princíp metódy hodnotenia vplyvov známej ako BACI (*Before-After-Control-Impact*)?
- Pre ktorú skupinu stavovcov je úspešnosť zaznamenania uhynutých jedincov na cestách najnižšia?
- Prečo je dôležité dodržiavať štandardizované schémy a metódy počas celého obdobia monitorovania a hodnotenia?
- Čo predstavuje jednu z najväčších výziev pri určovaní skutočného počtu živočíchov usmrtených na cestách?

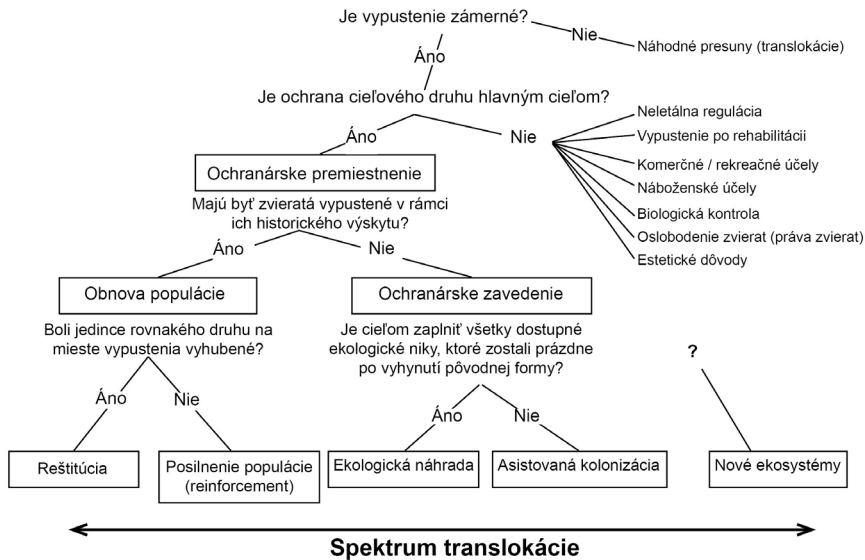
7 Ochránárske premiestnenia živočíchov – výskum a monitoring

Ivan Baláž, Peter Urban & Peter Klinga

Úvod

Cieľom ochrany prírody je zaistiť, aby čo najviac pôvodných druhov zostalo súčasťou fauny konkrétnych území. Nevyhnutnou súčasťou manažmentu chránených druhov živočíchov sú preto aktivity zamerané na nápravu rôznych zásahov do populácií niektorých živočíšnych druhov (resp. iných taxonomických skupín) z minulosti. Patria k nim tiež tzv. ochránárske premiestnenia (*conservation translocations*), t. j. človekom sprostredkované presuny živých organizmov z jednej do inej oblasti. Snažia sa o zvrátenie poklesu druhov spôsobeného ľudskou činnosťou. Ako pomerne účinný nástroj ochrany prírody sa využívajú už viac ako storočie. Ich konečným cieľom je sebestačná populácia, ktorá už nevyžaduje žiadny dodatočný zásah.

„Translokačná biológia“ („*reintroduction biology*“) sa vzťahuje na relatívne novú oblasť výskumu zameranú na zlepšenie ochránárskej praxe – zámerného pohybu (presunu) organizmov z jedného miesta na druhé s cieľom zachovať druhy a obnoviť ekosystémy. Ochránárske premiestnenia zahŕňajú pomerne široké spektrum aktivít (obr. 44).



Obr. 44. Klasifikácia rôznych typov ochránárskych premiestnení v spektre od reštitúcie až po introdukciiu (upravené podľa Seddon et al. 2012).

Všeobecne jestvujú tri základné spôsoby ochranných premiestnení živočíchov:

1. Posilňovanie (doplňanie, suplementácia) populácií (*augmentation, restocking*) – vypúšťanie jedincov do existujúcej populácie s cieľom zvýšenia jej početnosti (veľkosti) a genofondu. Môže pomôcť znížiť negatívne účinky príbuzenského párenia, ktoré je bežné v malých, izolovaných populáciách s nízkou efektívnou veľkosťou populácie (N_E), zahŕňajúcou len jedince zúčastňujúce sa reprodukcie, čím je vždy nižšia ako skutočná veľkosť populácie.
2. Reštítúcie (*restitution*) – premiestnenie jedincov vychovaných v ľudskej starostlivosti, resp. odchytených inde vo voľnej prírode na ekologicky vhodné miesta v rámci ich historického areálu, na ktorých v súčasnosti daný druh nežije. Zamerané sú na obnovenie vyhynutých pôvodných populácií z vhodného genetického zdroja za predpokladu, že príčiny vyhynutia (vyhubenia) boli odstránené. Opätovné zavedenie druhov je relatívne nedávna aktivita, ktorá sa vyvinula v dôsledku rastúceho globálneho povedomia o potrebe zachovať biologickú rozmanitosť v súvislosti s vymieraním druhov.

Box 5. Reštítúcia rýsa ostrovida

*V sedemdesiatych rokoch 20. storočia bol zo Slovenska reštítuovaný rys ostrovid (*Lynx lynx*) do Jury, Dinárov, Álp, Šumavy a francúzskych Vogéz (obr. 45). Genetickým skríningom bol zaznamenaný pokles genetickej premenlivosti v týchto novozaložených populáciách. V dôsledku malého počtu zakladajúcich jedincov (efekt zakladateľa) a ich dlhodobej izolácie sa prejavili negatívne dôsledky príbuzenského párenia spojené s výskytom srdcových väd samcov, rodením slepých mláďat, náchylnosťou na prašivinu. Na zlepšenie životaschopnosti populácií rysov sa obnovili translokačné programy, ktorých súčasťou má byť aj dlhodobý genetický monitoring oboch zdrojových aj zachraňovaných populácií.*



Obr. 45. *Vypúšťanie reštítuovaného rýsa zo Slovenska. Výskumníci, ochranári, poľovníci, lesníci a dobrovoľníci pomohli zrealizovať systematický monitoring slovenskej populácie rýsa pomocou fotopascí, a GPS telemetrie s následným odchytom a presunom limitovaného počtu jedincov do geneticky málo premenlivých populácií v Európe (foto © Stiftung Natur und Umwelt)*

3. Introdukcie (*introduction*) – premiestňovanie jedincov vychovaných v zajatí, resp. odchytených inde v prírode na nové lokality, mimo ich historického areálu.

Pri druhom a treťom spôsobe ide o zakladanie nových populácií. Tieto programy sa tiež označujú ako znovuzakladanie (*reestablishment*), obnovenie (*restoration*) a premiestnenie (*translocation*).

Box 6. Ach tá terminológia...

Kým v cudzojazyčnej (napr. anglickej, či českej) literatúre sa vysadenie (zavedenie) pôvodného druhu (taxónu) na miesto, na ktorom sa vyskytoval, ale vyhynul, resp. bol vyhubený, označuje termínom „reintroduction“, resp. „reintrodukcce“, na Slovensku sa označuje ako „reštitúcia“, resp. „repatriácia“, pretože pod termínom „reintrodukcia“ sa u nás chápe opakovaná introdukcia. V súčasnosti nie je navrhnutá obsahovo a jazykovo vyhovujúca alternatíva, čo vedie k (čiastočne mätúcemu) používaniu oboch termínov.

Pre ich plánovanie vypracovala odborná pracovná skupina Komisie pre prežitie druhov (*Species Survival Commission*) Medzinárodnej únie pre ochranu prírody (IUCN) odporúčenia pre reštitúcie a ďalšie ochrannárske translokácie (IUCN/SSC 2013). Riadené premiestnenia významne prispievajú k ochrane biodiverzity a obnove ekologickej rovnováhy. Naopak, náhodné translokácie a vedecky nepodložené záchranné programy bývajú zväčša neúspešné. Ako príklad môžeme uviesť vyše 24 záchranných programov hlucháňa hôrneho v Európe, z ktorých ani jeden nebol úspešný bez neustálej suplementácie jedincov a teda aj potreby nekonečných finančných zdrojov.

Genetická kontrola populácie

Táto manažérska technika odstraňuje niektorých jedincov z populácie s cieľom zlepšiť životaschopnosť zostávajúcich jedincov a je vhodná pre hospodárske druhy. Napríklad v liahňach rýb sú často implementované kontrolované reprodukcie populácie rýb, čím sa zabráni dominancii jednej rodiny a umožníme udržanie viacerých genetických línií v potomstve. Tieto prístupy nie sú cenné iba pre ochranu prírody. Dobrý manažment hospodársky významných druhov, ako sú ryby a poľnohospodárske plodiny, môže v budúcnosti zlepšiť ich genetické zdravie, podporiť odolnosť, prispôsobivosť populácií a tým prispieť k našej potravinovej bezpečnosti.

Mimoriadne dôležitou aktivitou je ochrana a zlepšenie biotopov a konektivity (prepojenosti) populácií (obr. 46). Ochrannárska obnova (revitalizácia) zahŕňa opatrenia na zlepšenie ekologických podmienok biotopov a je zásadná pre udržanie genetickej premenlivosti a prežitie druhov ako sú napr. habitatoví špecialisti hlucháň hôrny (*Tetrao urogallus*) a syseľ pasienkový (*Spermophilus citellus*). Strata biotopov je vo väčšine prípadov identifikovaná ako hlavná príčina poklesu početnosti ich populácií. Ochrana, obnova a rozšírenie vhodného biotopu sa ukazuje ako kľúčové opatrenie.



Obr. 46. Manažment pasienkov – vhodného biotopu sysľa pasienkového odstraňovaním krovín a obnovou pastvy (foto © Ervín Hapl)

Ochranárske premiestnenia sú už niekoľko desaťročí základným nástrojom v manažmente a ochrane voľne žijúcich živočíchov a ich konečným cieľom je sebestačná populácia, ktorá už nevyžaduje žiadny dodatočný zásah. Prežitie jedincov v procese translokácie závisí najmä od ich správania sa v čase po vypustení. Premiestnené zvieratá môžu čeliť situácii, keď sa stretnú s úplne novým prostredím. Vtedy by sa ich počiatočné behaviorálne reakcie mali spoliehať na evolučnú históriu druhu a na minulé skúsenosti každého jednotlivca (napr. pôvod v chovoch alebo vo voľnej prírode), ktoré riadia rozhodnutia o rozptýlení z miesta úniku, rýchlosť učenia sa a prispôsobovania sa rozdielom medzi zdrojovým a novým prostredím. Je pravdepodobné, že počiatočné behaviorálne reakcie nebudú v novom prostredí optimálne. Mali by sa zmeniť, keď zvieratá nadobudnú skúsenosti v novom prostredí, ktorým sa bude časom prispôbovať.

Ochranárske premiestnenia sú zložité, náročné na logistiku a financie. Majú za sebou pomerne dlhý záznam neúspešných pokusov, čo podnietilo viaceré prehodnotenia použitých metód. Preto musia byť aktuálne podporené nielen dobrým plánovaním, ale aj výsledkami vedeckého výskumu a monitoringu.

Riadenie (manažovanie) premiestnenia (translokácie) je cyklický proces realizácie, monitoringu, spätnej väzby a nastavenia biologických a nebiologických aspektov, do času, kým sa nedosiahnu stanovené ciele, alebo pokiaľ nie je translokácia prehlásená za neúspešnú.

Vzhľadom na vysoké náklady na projekty ochranárskych premiestnení spolu s ich zložitosťou je nevyhnutné, aby sa maximalizovali šance premiestnení na úspech. To si okrem iného vyžaduje aj poučenie sa z minulých úspechov i neúspechov týchto aktivít. Každý translokačný projekt (úspešný aj neúspešný) zvyšuje znalosti o translokačných praktikách. Preto je potrebné využiť tieto poznatky na to, aby každý nový translokačný projekt mal väčšiu šancu na úspech ako tie predošlé. Autori sa však vždy nepriznávajú (publikujú práce) k neúspešným translokáciám. V prácach o úspešných programoch sa často neuvádzajú všetky problémy, s ktorými sa manažéri stretávajú. Aj preto vydala IUCN v r. 1998 odporúčenie pre reštitúcie rastlín a živočíchov (*IUCN Guidelines for Re-introductions*) odbornej pracovnej skupiny Komisie pre prežitie druhov (*Species Survival Commission*) IUCN, súčasťou ktorého bola aj definícia termínov a v r. 2013 odporúčenia pre reštitúcie a ďalšie ochranárske premiestnenia (*Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations*).

Na maximalizovanie pravdepodobnosti úspechu musia manažéri voľne žijúcich živočíchov:

- disponovať rozsiahlymi znalosťami o ekológii a správaní sa (etológii) vypustených druhov,
- disponovať informáciami z ochranárskej genetiky,
- zabezpečiť nepretržité financovanie,
- koordinovať aktivity medzi mnohými zainteresovanými stranami,
- získať podporu miestnych komunít,
- monitorovať výsledky v rámci adaptívneho manažmentu.

Monitoring ochranárskych premiestnení

Neexistuje len jedna metrika na hodnotenie konečného úspechu ochranárskych premiestnení. Všeobecne možno premiestnenie považovať za úspešné, keď veľkosť a dynamika populácie podporujú jej pretrvávanie počas niekoľkých generácií. Na správne vyhodnotenie premiestnení sú nevyhnutné dlhodobé súbory údajov po vypustení. Preto je zásadný monitoring vývoja ochranárskeho premiestnenia podľa smerníc IUCN (IUCN/SSC 2013). Tvorí kľúčovú súčasť aktívneho programu ochrany prírody, ktorá môže poskytnúť posúdenie použitých metód, pomôcť pri stanovovaní vhodných protokolov a predstavovať referenčnú hodnotu pre ďalšie projekty vo svete. Všetky tieto aktivity potrebujú tak dlhodobú podporu vo výskume a monitoringu, ako aj množstvo času a financií.

Tab. 7. Typy genetickej translokácie na ochranu a obnovu populácií (podľa Weeks et al. 2011).

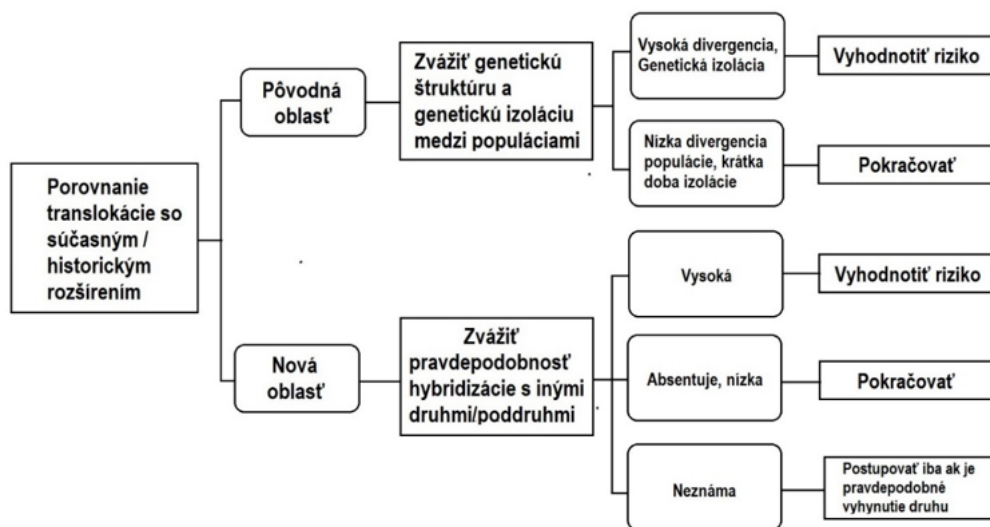
Druh translokácie	Primárna akcia, introdukcia/ augmentácia	Výsledok	Sekundárna akcia, veľkosť populácie/ genetica	Výsledok	Použiteľnosť	Zvýšenie evolučného potenciálu	Uplatiteľnosť pre kategórie IUCN
Genetický odchyt	20 – 50 chovných jedincov	zachytenie >95 % genetickej premenlivosti zdrojovej populácie	zvýšenie efektívnej populácie na N_E >1000 v rámci budúcich generácií	zachovanie >90 % genetickej premenlivosti z pôvodnej populácie	chov v ľudskej starostlivosti, translokácia do nového prostredia	krátkodobé	CR, EN
Genetická záchrana	20 % nových jedincov z celkového počtu prijímajúcej populácie	zníženie genetického zaťaženia (<i>genetic load</i>), zníženie inbrídingu, udržanie alel prispôbených lokálnym ekologickým podmienkam, zvýšenie genetickej diverzity (premenlivosti)	–	–	pri populácii trpiacej príbuzenskou plemenitbou, pri drastickej strate genetickej variability	krátkodobé	EN, VU
Genetická obnova	20 % nových jedincov z celkového počtu prijímajúcej populácie	zníženie genetického zaťaženia, zníženie príbuzenskej plemenitby, udržanie alel prispôbených daným podmienkam, zvýšenie genetickej variability	sústavný tok nových génov do prijímajúcej populácie	zvýšenie genetickej variability	pri populácii trpiacej príbuzenskou plemenitbou, pri drastickej strate genetickej rôznorodosti	krátko až strednodobé	EN, VU, NT
Genetická adaptácia (do určitej populácie)	20 % nových jedincov z celkového počtu prijímajúcej populácie zabezpečenej z jednej alebo viac zdrojových populácií	zvýšenie genetickej rôznorodosti a adaptačného potenciálu, introdukcia nových alel prispôbených pre zmenu životného prostredia	sústavný tok nových génov do prijímajúcej populácie až do dosiahnutia efektívnej populácie >1000 jedincov	maximalizácia efektívnej populácie na dlhodobý vývoj	opätovné prepojenie fragmentovaných populácií, translokácie do nového prostredia	dlhodobé	VU, NT, ktoré v blízkej budúcnosti pravdepodobne postihnú zmeny životného prostredia
Genetická adaptácia (na nové prostredie)	introdukcia do nového prostredia	generovanie genetickej variability, ktoré zvýši adaptáciu na nové a budúce prostredie	–	maximalizácia genetickej variability	založenie novej populácie mimo územia pôvodného výskytu	dlhodobé	LC, zmeny životného prostredia, kľúčová populácia na obnovu

Pre-translokačný genetický skríning

Analýza genetickej diverzity je základnou zložkou pri výbere vhodných kandidátov na translokáciu, pretože zvyšuje pravdepodobnosť vytvorenia odolných populácií v novom prostredí. Posúdením genetickej premenlivosti v rámci potenciálnych zdrojových populácií a medzi nimi môžu ochranári identifikovať jedincov a populácie, ktoré majú nielen vysokú úroveň genetickej diverzity, ale tiež predstavujú jedinečné evolučné línie.

Napr. v prípade reštitúcie oryxa do Čadu naznačili rozsiahle genetické štúdie potrebu zahrnúť jednotlivcov z rôznych prostredí, aby sa maximalizoval evolučný potenciál reštituovanej populácie. Tento prístup je ďalej podporovaný zisteniami v premiestneniach losov, ktoré odhaľujú, ako sa aklimatizácia líši medzi jednotlivcami a ovplyvňuje dynamiku populácie v priebehu času.

Analýza genetickej diverzity teda informuje nielen o výbere zakladateľa, ale tiež pomáha pri predpovedaní dlhodobej adaptívnej kapacity u premiestňovaných druhov, čo v konečnom dôsledku podporuje snahy o ochranu (obr. 47).



Obr. 47. Zjednodušený rozhodujúci diagram, ktorý posudzuje riziká pri translokáciách (podľa Weeks et al. 2011).

Cieľom premiestnenia je zachrániť geneticкую variabilitu novej populácie translokáciou 20 až 50 chovných jedincov, či už z voľnej prírody alebo z chovu v ľudskej starostlivosti. Zachovanie genetickej variability populácií je obzvlášť dôležité v prípadoch, keď existuje vysoká miera klonality alebo príbuzenskej plemenitby. Potrebne je zabezpečiť vyvážený podiel genetickej výbavy medzi zdrojovou a prijímajúcou populáciou v nasledujúcich generáciách.

V niektorých prípadoch, najmä pri ohrozených druhoch, môžu byť translokácia a introdukcia do nových oblastí jediným spôsobom, ako obmedziť problémy spojené s malou veľkosťou populácií a stratou biotopu. Dlhodobý úspech translokácie bude závisieť od schopnosti dosiahnuť efektívnu veľkosť populácie ≥ 500 . Toto číslo sa považuje za minimálny prah na udržanie primeraného adaptačného potenciálu a životaschopnosti populácie v súvislosti so zmenami životného prostredia.

Aj keď niektoré druhy môžu prežiť s malou efektívnou veľkosťou populácie, ich dlhodobá životaschopnosť môže byť ohrozená. Ak sa efektívna veľkosť populácie nedá zvýšiť nad 500 jedincov v nasledujúcich generáciách po translokácii, odporúča sa augmentáciou (posilňovaním) zabezpečiť kontinuálny tok génov zo zdrojovej do prijímajúcej populácie, pričom by mala prebehnúť aspoň jedna translokácia jedincov za generáciu. Vo voľne žijúcich fragmentovaných populáciách je potrebný aspoň jeden efektívny migrant (reproduktívny) za generáciu.

Zdrojová populácia by mala mať minimálne 500 reproduktívnych jedincov alebo byť prepojená s inými subpopuláciami, ktoré presahujú tento počet. Ak to nebude dodržané, môžu sa objaviť problémy spojené s malými populáciami, ako sú hromadenie genetických defektov a inbrídingová depresia.

Dôležité je zohľadniť aj genetickú výbavu zdrojových populácií, aby translokácia jedincov raz za generáciu neohrozila ich genetickú diverzitu. Tok génov zo zdrojovej populácie do prijímajúcej by nemal presiahnuť 20 %, pretože vyššie percento by mohlo viesť k strate adaptovanej genetickej variability spojenej so zánikom prípadných lokálnych adaptácií v prijímajúcej populácii. Toto pravidlo platí aj pri zmenách životného prostredia, kde by translokácie nemali prekročiť 20 % toku génov, aby sa predišlo ohrozeniu genetickej výbavy prispôbenej konkrétnemu prostrediu.

Pre úspešné ochranárske premiestnenie je potrebné zvážiť nasledovné kvantitatívne parametre:

1. Zdrojové populácie by mali mať efektívnu veľkosť populácie aspoň 500 ($N_E = 500$) alebo byť prepojené so subpopuláciami presahujúcimi hodnotu 500, aby sa zabránilo genetickým defektom a inbrídingovej depresii.
2. Ak cieľová populácia nemôže dosiahnuť hodnotu 500 v priebehu niekoľkých generácií, odporúča sa kontinuálny tok génov prostredníctvom pravidelných translokácií formou augmentácie – posilňovania.
3. Tok génov zo zdrojových populácií by nemal presiahnuť 20 %, aby sa ochránil adaptívny potenciál prijímajúcej populácie.
4. Pre udržanie adaptačného potenciálu je potrebné zabezpečiť aspoň jedného efektívneho migranta (reproduktívneho) za generáciu.

Prioritou pri výbere zdrojových populácií je zohľadnenie evolučného genetického potenciálu a genetickej adaptácie, aby sa zaistila schopnosť ohrozených populácií prispôbiť sa aktuálnym a potenciálnym budúcim environmentálnym zmenám. Primárnym predpokladom je spoločný fylogeografický pôvod populácií, ktorý skúmame z celého genómu populácií alebo aspoň z mitochondriálneho genómu. Metódy celogenómového sekvenovania nám umožňujú získavať informácie na úrovni chromozómov a tak odhaliť signály selekcie.

Tento aspekt je obzvlášť dôležitý vzhľadom na rastúci výskyt invázií druhov, akcelerujúce zmeny životného prostredia, globálna zmena klímy, poškodzovanie a fragmentáciu biotopov, ktoré majú zásadný vplyv na ekologické a evolučné procesy. Je pravdepodobné, že mnohé v súčasnosti bežné druhy sa v budúcnosti ocitnú v kategórii ohrozených. V takýchto situáciách môže byť augmentácia (posilňovanie) a genetická záchrana rozhodujúce pre posilnenie adaptačných schopností druhov na súčasné a budúce podmienky prostredia, ako aj pre obnovu toku génov v rámci fragmentovaných území.

Integrácia jedincov z rôznych populácií žijúcich v rovnakých environmentálnych podmienkach za účelom zvýšenia genetickej premenlivosti podporuje adaptačný potenciál voči rôznym evolučným zmenám a zároveň zvyšuje životaschopnosť translokovaných populácií. Augmentáciami z rôznych zdrojov sa častokrát zameriavame len na zvyšovanie adaptačného potenciálu druhov a pritom zabúdame, že posilňované populácie môžu mať v dôsledku dlhodobej izolácie a genetického driftu vyvinuté adaptácie na lokálne podmienky prostredia.

Tento faktor predstavuje zásadné riziko ovplyvňujúce úspešnosť translokačných projektov. Preto pri výbere jedincov pre záchranné translokačné programy je potrebné brať do úvahy adaptívnu genetickú variabilitu zachraňovaných a zdrojových populácií.

Post-translokačný monitoring

Monitorovanie a hodnotenie premiestnených populácií je kľúčové, najmä preto, že tieto metriky priamo informujú o stratégiách manažmentu populácií. Inovatívne genetické metódy ponúkajú robustný rámec na hodnotenie dynamiky týchto populácií a umožňujú nám analyzovať genetickú premenlivosť a štruktúru medzi transponovanými jedincami a ich zdrojovými populáciami.

Použitie genetických markerov sa stalo základným nástrojom na hodnotenie dlhodobého úspechu ochranárskych translokácií, pretože poskytuje pohľad na genetickú diverzitu a populačnú dynamiku. Využitím markerov jednonukleotidového polymorfizmu (SNP) a mikrosatelitných lokusov môžu výskumníci zhodnotiť genetické zdravie novovytvorených populácií v priebehu času, čo je rozhodujúce pre informované rozhodnutia manažmentu. Napríklad štúdie o korytnačke Muhlenbergovej (*Glyptemys muhlenbergii*) ukázali, že translokácie viedli k zvýšeniu genetickej premenlivosti, hoci zisky boli menej významné, ako sa očakávalo, čo naznačuje potrebu zvládania genetického driftu a rizík outbrídingovej depresie spojených s translokovanými jedincami.

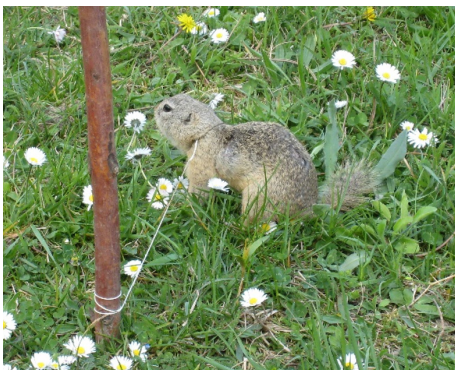
Repatriácia sysľa pasienkového v strednej Európe a na Slovensku

Sysel pasienkový je jedným z mála druhov našich cicavcov, ktorých areál sa v priebehu uplynulých 50 rokov markantne zmenšil. Pokiaľ chceme zachovať súčasný areál rozšírenia tohto stepného druhu a priblížiť ho k pôvodným rozmerom, mali by sme zmeniť spôsob hospodárenia. Aplikáciou prvkov tradičného hospodárenia (pasenie, kosenie lúk a pasienkov) možno prispieť k trvalo udržateľnej existencii sysľa pasienkového na Slovensku. Prvky tradičného hospodárenia treba integrovať prostredníctvom krajinno-ekologického plánovania do územno-plánovacej dokumentácie alebo pozemkových úprav v jednotlivých regiónoch Slovenska. Ďalšou možnosťou je realizácia reštitúcií (repatriácií) na lokality ich pôvodného výskytu. Reštitúcia (repatriácia) je prinavrátenie organizmov na miesto ich pôvodného výskytu, kde vyhynuli. Väčšina sysľov k reštitúcii pochádzala z letísk v Bratislave a v Košiciach. Vysoká populačná hustota sysľa na letiskách je výsledkom absencie výraznejšieho antropického vplyvu, pravidelná kosba a absencia chemických prípravkov, možnosť priestorového rozšírenia mladých jedincov pred hibernáciou a regulácia predačného tlaku.

Proces repatriácie sysľa pozostáva z nasledujúcich krokov:

1. odchyt jedincov,
2. príprava novej lokality,
3. vypustenie jedincov na novej lokalite,
4. starostlivosť o vypustené jedince,
5. posilňovanie populácie.

Odchyt jedincov sysľa pasienkového k reštitúcii, resp. k transferu bol realizovaný na Letisku M. R. Štefánika v Bratislave a na Letisku v Košiciach. Prípadne na lokalitách, na ktorých bolo nutné uskutočniť asanáciu druhu z dôvodu investičných zámerov. Sysle sa odchyťovali pomocou slučky (oka), čo je metóda odchyty, zaručujúca odchyt dostatočného množstva jedincov pre účely transferu na iné lokality. V prvej fáze sa viditeľne označili aktívne nory drevenými kolíkmi (1 m vysokými, aby označenie nory bolo zďaleka viditeľné aj na ploche zarastenej vyšším porastom bylinnej vegetácie). K inštalovaným kolíkom sa priviazal koniec slučky (obr. 48).



Obr. 48. Sysel' odchytený do slučky (oka) uviazaného ku kolíku (foto © Ivan Baláž).

K identifikačným znakom používanej nory sa zaraďuje čerstvý východ z nory, ktorého steny sú vychodené, nezarastajú korenkami rastlín a nie sú zatiahnuté pavučinami. Prítomnosť sysľa v nore indikujú tzv. kýmne stolčeky, t. j. miesta so zvyškami nazhromaždenej potravy a trusu okolo východov z nôr (obr. 49). Od nory k nore sú vyšliapané chodníčky, pri východe z nôr je špecifický sysľi zápach (sysle majú zvyk močiť pri vchode do nôr). Od roku 2007 sa sysle odchyťovali do živolovných pascí (obr. 50), ako návnada bol použitý kúsok jablka. Odchyt do slučiek aj do živoloviek bol realizovaný v súlade s výnimkou Ministerstva životného prostredia SR. Termíny odchyty boli prispôsobené bionómii druhu, t. j. odchyt ešte pred rodením gravidných samíc, resp. po osamostatňovaní sa mladých jedincov.



Obr. 49. Inštalácia slučky (oka) k aktívnej diere (foto © Ivan Baláž)



Obr. 50. *Odchytený sysel' do živolovnej pasce (foto © Ivan Baláž)*

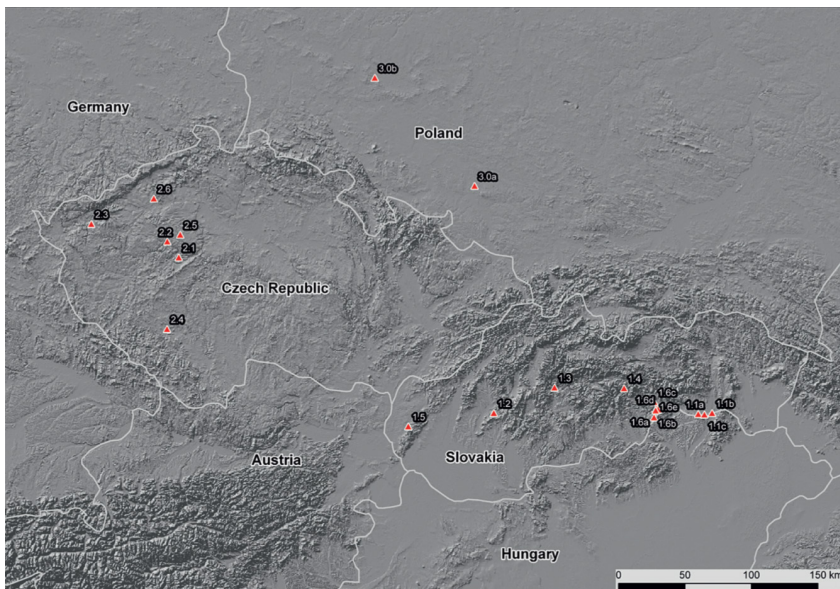
Odchytené zvieratá boli umiestnené do prepraviek, v ktorých sa prevážali na určenú lokalitu reštitúcie. Výber lokalít podliehal prísnyim kritériám. Predovšetkým boli vyberané lokality, na ktorých sa sysel' v minulosti vyskytoval. Druhou dôležitou podmienkou bol optimálny manažment s perspektívnym výhľadom (pastva hovädzieho dobytku, oviec a kôz). Na vybranej lokalite boli predvrtané diery, do ktorých sa jedince umiestňovali. Skupina dier bola prikrytá klietkou (ohrádkou) z dôvodu, aby sysle boli nútené hrabať podzemné chodby a z uvedených klietok sa podhrabať. To zabraňuje okamžitému opusteniu lokality a zaisťuje syslom väčšiu obranyschopnosť pred predátormi. Po vypustení je vhodné lokalitu fyzicky strážiť aspoň jeden týždeň kvôli predátorom. Na lokalite je v ďalšom období potrebné zabezpečiť pasenie alebo kosenie, inak sysel' postupne vymizne. Sto jedincov je optimálny počet vhodný pre repatriáciu na jednej lokalite. Novo vzniknuté syslie kolónie sú izolované, bez možnosti vzájomného kontaktu alebo kontaktu s inými existujúcimi kolóniami. Za týchto podmienok je migrácia zvierat medzi populáciami nepravdepodobná a potenciálny úbytok v početnosti populácie nemôže byť kompenzovaný imigrantami. Dlhodobá existencia takýchto populácií je menej pravdepodobná ako existencia populácií v rámci metapopulácie. Nové kolónie by mali byť zakladané v blízkosti už existujúcich kolónií s možnosťou vytvoriť funkčný metapopulačný systém. Dôležité odporúčanie je tiež vedenie detailnej dokumentácie repatričných metód a pravidelný monitoring novo založených populácií, aj s ohľadom na budúce transfery na nové lokality so známou provenienciou prenášaných jedincov.



Obr. 51. *Sysel' pasienkový (Spermophilus citellus) pred vypustením do vhodného biotopu (foto © Ervín Hapl)*

Príklady úspešnej repatriácie sýsľa pasienkového

Od roku 1989 bolo v strednej Európe viac ako 3200 jedincov sýsľa vypustených na 15 rôznych miestach za účelom repatriácie. Na piatich ďalších miestach bola časť týchto jedincov použitá pre posilnenie pôvodných populácií (obr. 52). V siedmich prípadoch bolo zaznamenané osídlenie lokality sýsľami a reprodukcia vypustených jedincov, čo považujeme za úspešnú repatriáciu. Počet dlhodobo existujúcich reštituovaných populácií je však ešte nižší. Na siedmich lokalitách repatriácia zlyhala. Najslabším bodom všetkých realizovaných repatriácií sa zdá byť nízky počet vypustených jedincov. Len v troch prípadoch, ktoré zároveň patria medzi úspešné, bolo na lokalitu vypustených viac ako sto jedincov.



Obr. 52. *Prehľad lokalít, na ktorých v rokoch 1989 až 2010 prebiehalo vypúšťanie sýsľov pasienkových. Vysvetlivky: Slovensko: 1.1a Buzica, 1.1b Milhost', 1.1c Perín-Chým, 1.2 Breziny, 1.3 Jakub, 1.4 Biele vody, 1.5 Kuchyňa, 1.6a Bezvody, 1.6b Kečovské líky, 1.6c Kružná, 1.6d Nilaše, 1.6e Silická ladnica; Česko: 2.1 Zlatý kůň, 2.2 Novina, 2.3 Vítkův vrch, 2.4 Řepické rybníky, 2.5 Velká Dobrá, 2.6 Písečný vrch; Poľsko: 3.0a Kameń Śląski, 3.0b Głębocze (Matejů et al. 2010)*

Poľsko

Aj keď posledné správy o výskyte sýsľa pasienkového v Poľsku boli publikované v 70. rokoch 20. storočia, v roku 2000 bol spustený projekt jeho opätovného zavedenia:

1. Transfer sýsľov na lokalitu Kamień Śląski a Kamionek (Opolské vojvodstvo) v rokoch 2005 až 2008, kde bola ešte v roku 1973 zaznamenaná bohatá kolónia sýsľov. Do zoologickej záhrady v Poznani boli dovezené sýsle z letísk z Maďarska a Slovenska a z chovnej kolónie v zoologickej záhrade v Berne (Švajčiarsko). Aj keď sa v populácii sýsľov reprodukcia vyskytuje pravidelne, nízka početnosť zatiaľ nezaručuje dlhodobé prežitie kolónie.
2. V roku 2008 bol realizovaný projekt repatriácie v blízkosti obce Głębowice (Dolnosliezске vojvodstvo). Výsledok repatriácie zatiaľ nie je istý z dôvodu malého počtu jedincov v kolónii.

Česká republika

V Českej republike bolo realizovaných tiež niekoľko repatričných projektov:

1. Záchrana sýsľa v Chránenej krajinskej oblasti Český kras v rokoch 1988 až 1992. Projekt bol neúspešný z dôvodu malého počtu vypustených jedincov.
2. Projekt repatriácie sýsľa v Chránenej krajinskej oblasti Křivoklátsko v rokoch 1994 až 1998. Projekt bol neúspešný z dôvodu malého počtu vypustených jedincov a dlhým obdobím medzi jednotlivými transfermi.
3. Projekt repatriácie v Chránenej krajinskej oblasti Slavkovský les v rokoch 2000 a 2001. Výsledky repatričného projektu nemožno jednoznačne klasifikovať ako pozitívne alebo negatívne. Jedinca migrujú z miesta vypustenia do oblastí, ktoré poskytujú lepšie podmienky, najmä pravidelnú údržbu trávnatých plôch. Zdá sa, že jedince, ktoré opustili Vítkův vrch, sa pravdepodobne presunuli na neďaleké medzinárodné letisko. Táto domnienka, že nová populácia na Medzinárodnom letisku Karlovy Vary je výsledkom repatričného projektu, bola potvrdená analýzou DNA.
4. Projekt repatriácie v oblasti Strakoníc na lúke pri Řepických rybníkoch v roku 1989 a 1990. Projekt bol neúspešný z dôvodu malého počtu vypustených jedincov.
5. Reštitúcia sýsľa na ploche letiska Veľká Dobrá v roku 2007. Projekt bol úspešný, aj keď kolónia je tvorená len malým počtom jedincov.
6. Transfer sýsľa na Písečný vrch pri prírodnej pamiatke Milé v roku 1992. Transfer bol neúspešný kvôli absencii starostlivosti o lokalitu.

Slovenská republika

Na Slovensku bolo realizovaných niekoľko projektov na záchranu a repatriáciu sýsľa. Prvý záchranný transfer prebiehal v rokoch 1992 až 1993 v Košickej kotline (Slovenská agentúra životného prostredia a odbor Ochrany prírody a krajiny, Prešov). Sýsle boli premiestňované za účelom posilnenia populácie sokola rároha – *Falco cherrug*. Keďže chýbajú údaje o vývoji populácie po roku 1995, zdá sa, že reštitúcia nebola úspešná, nakoľko postupne ubúdali jedince. Prípadne jedince mohli migrovať do iných lokalít.

Projekt repatriácie v Chránenej krajinskej oblasti Ponitrie ŠOP SR bol realizovaný v rokoch 2003 až 2006. Jedinca boli odchyťované na letisku M.R. Štefánika v Bratislave, nakoľko na tomto letisku bola najväčšia populácia tohto druhu na Slovensku. Cieľovou bola lokalita Breziny pri Klátovej Novej Vsi v pohorí Tribeč. Projekt bol zameraný na ochranu orla kráľovského (*Aquila heliaca*). Tento repatričný projekt bol neúspešný. Príčinou mohla byť slabá saturácia lokality sýsľami, čas medzi prvým a druhým transferom bol príliš dlhý, lokalita nebola vhodne vybraná, veľký predačný tlak a nedostatočný monitoring vypustených zvierat.

Repatričný projekt v Národnom parku Nízke Tatry bol realizovaný v rokoch 2005 až 2006. Jedinca sýsľa pochádzali z letiska v Košiciach. Cieľovou bola lokalita Jakub v juhozápadnej

časti Nízkych Tatier. Tento projekt bol rovnako neúspešný kvôli nevyrovnanému pomeru pohlaví (iba 30 % samíc), nedostatočnej príprave lokality a manažmentu územia.

Ďalší projekt repatriácie prebiehal v rokoch 2000 až 2009 v Národnom parku Muránska planina za účelom posilnenia potravinnej bázy pre sokola rároha. Sysle boli transportované z letiska v Košiciach a tiež z lokality Drienovec z Národného parku Slovenský kras. Lokalita sa nachádza 3 km od obce Muráň, nazývaná Biele vody, Spišské a Pod Cigánkou. Spolu sa uskutočnilo 23 transferov a prenesených bolo 1057 sysľov. Vytvorila sa stabilná populácia, ktorej početnosť stále rastie. Avšak geografická izolácia lokality môže mať vplyv na trvalú udržateľnosť populácie.

Repatriácia v Chránenej krajinej oblasti Malé Karpaty bola realizovaná v rokoch 2004 až 2010 na lokalite pri obci Kuchyňa za účelom ochrany sokola rároha a orla kráľovského. Sysle pochádzali z letiska M. R. Štefánika v Bratislave. Počas projektu bolo uskutočnených 16 transferov a vypustených bolo 950 jedincov sysľa. Tento projekt sa zdá byť nie príliš úspešný, nakoľko kolónia je tvorená len asi 10 % vypustených jedincov. Trvalá existencia kolónie je ohrozená.

Posilnenie populácie sysľa v Národnom parku Slovenský kras bolo realizované v rokoch 2004 až 2008, pričom sysle boli transportované z letiska v Košiciach, Turne, Moldavy nad Bodvou a Drienovca. Cieľovými lokalitami boli Bezvody, Nilaše, Silická ladnica, Kečovské lúky a Kružná. Výsledok projektu nemožno jednoznačne klasifikovať ako pozitívny alebo negatívny. V porovnaní so založením novej populácie v rámci štandardného repatriáčného projektu sa uvoľňovanie jedincov na už obývané miesto javí ako zložitejšie. Veľký počet jedincov vypustených na predtým obývané miesto narúša sociálne vzťahy v kolónii, čo spôsobuje výrazný sociálny stres. Rôzne populácie sysľov hostia rôzne druhy alebo kombinácie druhov parazita *Eimeria*, takže novo vypustené jedince môžu zaviesť nové parazity a choroby do už usadenej populácie. Jedince z geograficky vzdialených lokalít môžu narušiť miestny génový fond.

Z dôvodu zabezpečenia dostatočného množstva jedincov sysľa pasienkového pre ďalšie plánované reštitúcie a neistej budúcnosti populácie na letiskách (sysel' je na letisku nežiaduci element), pristúpili sme k vytvoreniu umelého odchovu tohto vzácneho prvku našej fauny v ZOO Bojnice (zriadenie chovu sysľa v zajatí). V roku 2007 bolo zriadené špeciálne chovné zariadenie (obr. 53) pozostávajúce z dvoch častí a po úspešnej hibernácii a následnej reprodukcii 15 exemplárov bola v roku 2008 vybudovaná expozícia sysľa pre návštevníkov ZOO Bojnice (obr. 54). V roku 2021 bola táto voliéra nahradená novým reprodukčným zariadením na chov sysľa v Národnej ZOO Bojnice v rámci projektu Ochrana sysľa pasienkového (*Spermophilus citellus*) – LIFE19 NAT/SK/001069.



Obr. 53. Špeciálne chovné zariadenie vybudované v ZOO Bojnice (foto © Ivan Baláž)



Obr. 54. Budovanie expozície sysla pre návštevníkov ZOO Bojnice (foto © Ivan Baláž)

Box 7. Projekt záchrany kolónií sysľa pasienkového

Projekt záchrany kolónií ohrozeného sysľa pasienkového zahŕňa ekologickú obnovu (zlepšovanie biotopov), geneticky riadené translokácie a post-translokačný genetický monitoring. Genetickým skríningom kolónií sysľa sa identifikovali geneticky najviac erodované kolónie, ktoré potrebujú podporu z kolónií s vyššou genetickou premenlivosťou. Takisto sa identifikovali kolónie, v ktorých sa vyskytujú adaptácie na lokálne podmienky prostredia ako sú dlhotrvajúce sucha alebo potreba dlhšej hibernácie v dôsledku dlhotrvajúcej snehovej pokrývky. Tieto izolované a geneticky erodované kolónie potrebujú záchranné translokácie do max 20 % počtu jedincov za generáciu, aby nedošlo k porušeniu adaptívnej časti genetickej variability. Takisto odhalená genetická štruktúrovanosť kolónií podporila realizáciu translokácií v rámci regiónov.

Literatúra

Allendorf *et al.* (2010), Allendorf & Luikart (2007), Ambros (1999), Ambros *et al.* (2007), Armstrong & Seddon (2008), Baláž *et al.* (2008), Bell (2016), Broadhurst *et al.* (2008), Even *et al.* (2012), Evans *et al.* (2023), Fischer & Lindenmayer (2000), Frankham *et al.* (2017), Germano *et al.* (2014), Golemansky & Koshev (2007), Griffith *et al.* (1989), Hapl *et al.* (2006), Hedrick & Fredrickson (2010), Hunter-Ayad *et al.* (2021), IUCN (1998), IUCN/SSC (2013), Klinda (2000), Letty *et al.* (2007), Matějů *et al.* (2010), May *et al.* (2016), Męczyński (1985), Mills & Allendorf (1996), Morris *et al.* (2021), Primack *et al.* (2011), Ralls *et al.* (2018), Rice & Emery (2003), Seddon *et al.* (2007, 2012), Schooler, (2011), Taylor *et al.* (2017), Weeks *et al.* (2011), Whiteley *et al.* (2015), Willi *et al.* (2006)

Kontrolné otázky

- Aké sú tri základné spôsoby ochranných premiestnení živočíchov a aké sú ich hlavné ciele?
- Prečo je dôležitý genetický skríning pri ochranných translokáciách a aké genetické kritériá by mali byť splnené pri výbere zdrojových populácií?
- Aké problémy môžu vzniknúť pri záchranných programoch neudržaných suplementáciou jedincov, a aký je príklad takéhoto neúspešného programu?
- Popíš hlavné kroky a požiadavky úspešnej repatriácie sysľa pasienkového (*Spermophilus citellus*) a vysvetli, prečo je dôležité zachovať genetickú diverzitu týchto populácií.

8 Monitoring pre potreby tvorby červených zoznamov

Peter Urban

Úvod

Významným nástrojom stanovujúcim priority ochranárskych aktivít a prinášajúcim prehľad o aktuálnom stave ohrozenia druhov, resp. iných taxonomických jednotiek organizmov podľa ich jednotlivých taxonomických, resp. ekologických/funkčných skupín, najnovšie už aj ekosystémov, sú ich červené zoznamy. Označované sú aj za „barometre života“. Vznikli z iniciatívy súčasnej Medzinárodnej únie pre ochranu prírody (*International Union for Conservation of Nature, IUCN*) a v rôznych podobách sú vydávané od začiatku 60. rokov dvadsiateho storočia. Odvtedy prekonali pozoruhodný, rýchly a mimoriadne progresívny vývoj a od taxónov sa rozšírili aj na ekosystémy.

Aj napriek niektorým nedostatkom sú najkomplexnejším vedecky podloženým informačným zdrojom o stave druhov, resp. iných taxonomických jednotiek, či ekologických skupín organizmov z hľadiska ich ohrozenia vyhynutím alebo vyhubením.

Ich rozšírené odborné-populárne verzie vo forme červených kníh sú určené pre širokú verejnosť.

Červené zoznamy druhov

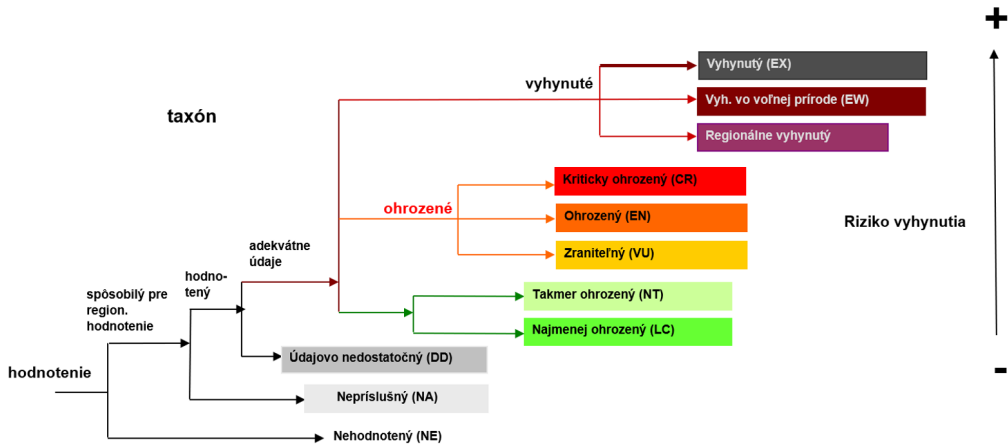
Cieľom červených zoznamov ohrozených druhov je poskytnúť čo najobjektívnejší názor na stupeň ohrozenia hodnoteného druhu/taxónu vyhynutím alebo vyhubením. Až do začiatku deväťdesiatych rokov 20. storočia bola tvorba červených zoznamov a kníh založená na názoroch a poznatkoch jednotlivých špecialistov a pre hodnotenie druhov sa používali rôzne, tzv. „sosiekologické“ indexy. Zoznamy rovnakých taxonomických skupín z rôznych kontinentov, či štátov preto častokrát neboli porovnateľné. V snahe o čo najväčšiu elimináciu subjektívnych prístupov prijala IUCN v roku 1994 nové kategórie pre zaraďovanie druhov do červených zoznamov spoločne s objektívnejšími a vedecky prísnejšími kritériami. Po intenzívnej diskusii a overovaní bola výsledná verzia schválená v roku 2000 a rok neskôr oficiálne publikovaná, pričom sa naďalej pracuje na jej spresňovaní. Vydané boli tiež odporúčania pre aplikáciu daných kategórií a kritérií. Vzhľadom na pomerne vysokú rýchlosť zmien by sa mali červené zoznamy v určitých časových intervaloch aktualizovať.

Kategórie a kritériá IUCN pre červené zoznamy majú za cieľ:

1. poskytnúť systém, ktorý môže byť používaný zhodne rôznymi hodnotiteľmi;
2. poskytnúť jasný návod pre užívateľov (spracovateľov) ako hodnotiť rôzne činitele ovplyvňujúce nebezpečenstvo vyhubenia alebo vyhynutia a zlepšiť tak ich objektivitu;
3. poskytnúť systém podporujúci porovnanie medzi značne rozdielnymi taxónmi;
4. umožniť ľuďom využívajúcim ohrozené druhy lepší prehľad o tom, ako boli jednotlivé druhy hodnotené.

Aktuálne sa používa 11 kategórií (obr. 55), do ktorých môže byť zaradený z hľadiska hrozby vyhynutia každý taxón (okrem mikroorganizmov), z toho dve sa používajú len v regionálnom hodnotení:

- vyhynutý (*extinct* – EX), vyhynutý v prírodnom prostredí (*extinct in the wild* – EW), regionálne vyhynutý (*regionally extinct* – RE),
- kriticky ohrozený (*critically endangered* – CR), silne ohrozený (*endangered* – EN), zraniteľný (*vulnerable* – VU),
- takmer ohrozený (*near threatened* – NT), menej dotknutý (*least concerned* – LC),
- nedostatočne známy (*data deficient* – DD), nehodnotený (*not evaluated* – NE) a nepríslušný (*not applicable* – NA).



Obr. 55. Štruktúra kategórií hodnotenia druhov pre zaradenie do červeného zoznamu (upravené podľa IUCN 2001)

Tieto kategórie sú určené jasne sformulovanými, kvantitatívnymi a vierohodnými kritériami, ktoré sa používajú na zistenie rizika ohrozenia taxónu a sú podkladom pre jeho zaradenie do niektorej z kategórií ohrozenia. Podľa ich kvantitatívnych hodnôt sa rozhoduje, či je taxón ohrozený a pokiaľ áno, do ktorej kategórie spadá (kriticky ohrozený – CR, silne ohrozený – EN, zraniteľný – VU). Pokiaľ nespĺňa kritériá pre zaradenie do niektorej z troch kategórií ohrozenia, treba rozhodnúť o priradení kategórie takmer ohrozený (NT) alebo menej dotknutý (LC).

Kritériá vychádzajú v podstatnej miere z početnosti populácie a jej ďalších vlastností tak, aby postihovali zmeny veľkosti populácie priamo (veľkosť populácie, jej pokles, fragmentácia, demografické charakteristiky) aj nepriamo (areál hodnotený ako oblasť osídlenia, alebo oblasť výskytu).

Kritériá preto hodnotia stav druhu v akejkoľvek z piatich situácií:

1. pokles početnosti populácie;
2. malý areál a úbytok alebo kolísanie početnosti populácie;
3. nízka početnosť populácie a jej úbytok;
4. veľmi nízka početnosť populácie a obmedzený areál;
5. matematické modelovanie životaschopnosti populácie.

Tab. 8. Stručná charakteristika kategórií IUCN pre zaraďovanie druhov do červených zoznamov (Chobot & Plesník 2017, IUCN 2019)

Kategória	Charakteristika druhu
vyhynutý, alebo vyhubený (EX)	druh, pre ktorý rozsiahle prieskumy nespochybňujú skutočnosť, že posledný jedinec uhynul
vyhynutý, alebo vyhubený vo voľnej prírode (EW)	prežíva len v ľudskej starostlivosti (kultivácie, pestovanie, chov)
kriticky ohrozený (CR)	čelí výnimočne vysokému nebezpečenstvu vymiznutia vo voľnej prírode
ohrozený (EN)	čelí veľmi vysokému nebezpečenstvu vymiznutia vo voľnej prírode
zraniteľný (VU)	čelí vysokému nebezpečenstvu vymiznutia vo voľnej prírode
takmer ohrozený (NT)	druh, ktorý sa zatiaľ neradí medzi kriticky ohrozené, ohrozené alebo zraniteľné, ale je blízko tejto klasifikácie, resp. pravdepodobne bude už v blízkej budúcnosti zaradený do jednej z týchto kategórií
málo dotknutý (LC)	rozšírený a početný druh
nedostatočné údaje (DD)	druh, pre ktorý nie sú k dispozícii informácie, ktoré by umožnili vyhodnotiť, akému nebezpečenstvu vymiznutia čelí
nevyhodnotený (NE)	zatiaľ nebol hodnotený podľa kritérií IUCN

Primárnym zámerom IUCN bolo publikovať globálne zoznamy ohrozených druhov, umožňujúce porovnávať celosvetový stupeň ohrozenia jednotlivých druhov. Z praktických dôvodov však ešte koncom 20. storočia začali vznikať červené zoznamy pre jednotlivé štáty. Preto Komisia pre záchranu druhov (*Species Survival Commission*, SSC) IUCN iniciovala vypracovanie zásad pre hodnotenie na nižšej ako celosvetovej úrovni (kontinenty, ich časti, štáty, resp. ich administratívne a geograficky vymedzené jednotky), ktoré sa tiež priebežne vylepšujú.

Problémom býva častokrát nedostatok informácií pre korektné zaradenie daného taxónu do niektorej kategórie ohrozenosti a preto je zaradený do kategórie DD.

Pre korektné zaraďovanie druhov do jednotlivých kategórií je potrebné vychádzať zo skutočnej genetickej diverzity druhu a jeho populácií, nielen zo samotnej početnosti. Vo fragmentovaných areáloch môže veľkosť populácií dosiahnuť podlimitné hodnoty, čím dosiahnu kategórie zriedkavosti a ohrozenosti iný zmysel. Hoci IUCN intenzívne podporuje rozvoj ochranárskej genetiky, zatiaľ jej kritériá pre zaraďovanie druhov do jednotlivých kategórií neberú do úvahy genetickú rozmanitosť.

Červené zoznamy ekosystémov

Problematika červených zoznamov sa už dlhší čas netýka len druhov, resp. iných taxonomických jednotiek ale v posledných rokoch aj ekosystémov (v rôznych kontextoch označovaných tiež ako biotopy, habitaty alebo prírodné stanovišťa), hoci pri snahe o ich hodnotenie z hľadiska životaschopnosti jestvuje oveľa viac problémov. Ako ekosystém, t. j. štruktúrny a funkčný celok, zložený zo všetkých živých organizmov (bioty) a neživého (abiotického) prostredia v určitom časopriestore, je možné vymedziť akúkoľvek časť prostredia osídlenú organizmami, vrátane umelého, vytvoreného človekom. Ekosystémy sú koncepčné entity, ktoré v prírode väčšinou neexistujú ako presne vymedzené jednotky. Určenie konkrétneho ekosystému býva preto mnohokrát vyslovene účelové a nemusia sa pri ňom zachytiť skutočne existujúce celky v prírode.

Hodnotenie určitého ekosystému sa začína syntézou dostupných informácií o ňom. Ide o jeho opis, napr. prostredníctvom charakteristických druhov, procesov, funkcií a ďalších znakov, ale aj mapové podklady o jeho minulom, súčasnom a predpokladanom budúcom rozšírení, určenie

hlavných faktorov z vonkajšieho prostredia (hnacích síl), ktoré ovplyvňujú priestorová dáta a indikátory trendov ekologickej integrity (stavu, kedy sú v ekosystéme udržiavané zloženie a funkčné vzťahy zodpovedajúce prírodnej biodiverzite). Preto postihuje kapacitu ekosystému podporovať a udržiavať vyrovnaný, celistvý a adaptívny celok s druhovým zložením, priestorovou štruktúrou a prebiehajúcimi procesmi, porovnateľnými s prírodným ekosystémom príslušnej oblasti.

Pre kategorizáciu ohrozenosti ekosystémov bol navrhnutý formálny systém kvantitatívnych a kvalitatívnych kritérií, podobný systému pre hodnotenie druhov. Prvý návrh bol uverejnený v roku 2011. Až po ďalších úpravách schválila Rada IUCN metodiku hodnotenia a neskôr boli spracované obsiahle pokyny pre aplikáciu kritérií a kategórií v rôznej priestorovej mierke.

Získané údaje sú hodnotené podľa nasledovných piatich kritérií:

1. zmenšenie zemepisného rozšírenia ekosystému (kvantitatívny úbytok ekosystému);
2. obmedzené zemepisné rozšírenie ekosystému;
3. zhoršenie stavu neživej (abiotickej) zložky ekosystému v podobe poškodenia prostredia;
4. narušenie biotických procesov alebo vzájomných väzieb odrážajúce zhoršenie stavu živej zložky ekosystému;
5. kvantitatívny rozbor možného zániku (vymiznutia, zrútenia) ekosystému.

Kritériá sú zamerané na priestorové rozšírenie hodnoteného ekosystému, prvky ekosystémovej integrity v minulosti (najmenej päťdesiatročná história), prítomnosti a budúcnosti (výhľad 50 rokov). Pretože sa rôzne typy ekosystémov môžu rôzne meniť, poškodenie ekosystému sa hodnotí pomocou veličín špecifických pre určitý ekosystém a vzťahnutých k jeho zrúteniu. V lesoch môže byť napr. integrita kvantifikovaná podielom dlhovekého alebo pralesovitého porastu, v koralových útesoch plochou pokrytou koralmi a početnosťou rýb, v riekach hydrologickými prietokmi, v sladkovodných jazerách prostredníctvom rozsahu vodného kvetu. Pre kvantitatívne hodnotenie možného zániku daného ekosystému sú nevyhnutné pravdepodobnostné (stochastické) matematické modely dynamiky ekosystémov.

Splnenie akéhokoľvek kritéria kvalifikuje daný ekosystém pre zaradenie do príslušného stupňa ohrozenia. Každý ekosystém by však mal byť hodnotený všetkými kritériami, pre ktoré sú k dispozícii údaje, pričom by mali byť využité najlepšie dostupné dáta.

Uvedenú metodiku je možné použiť pre hodnotenie suchozemských, vnútrozemských vodných, morských a pobrežných ekosystémov v rôznej priestorovej mierke (v globálnej, v rámci kontinentu, v celoštátnej i lokálnej).

Literatúra

Bland *et al.* (2016, 2017), Dudley (2008), Gärdenfors (2001), Gärdenfors *et al.* (2001), IUCN (2003, 2012a, b, 2024 a, b), IUCN Standards and Petitions Committee (2022), Jedlička *et al.* (2007), Karr *et al.* (2022), Pimentel *et al.* (2000), Plesník (2003, 2010a, b, 2015, 2023, 2025b), Plesník & Chobot (2017), Roth (2018), UNEP (2022a, b), Urban (2019, 2023, 2025)

Kontrolné otázky

- Na čo slúžia červené zoznamy?
- Čo je cieľom kategórií a kritérií IUCN pre červené zoznamy?
- Ktoré kategórie ohrozených druhov sa aktuálne používajú?

9 Výskum a monitoring návštevnosti v chránených územiach vo vzťahu k živočíchom

Juraj Švajda

Úvod

Chránené územia zohrávajú kľúčovú úlohu pri ochrane biodiverzity tým, že chránia ekosystémy a druhy. Avšak, rastúci počet návštevníkov týchto oblastí predstavuje príležitosť aj výzvy pre ich ochranu. Turizmus v chránených územiach, hoci podporuje osvetu a ochranu, môže tiež viesť k negatívnym vplyvom na faunu a integritu biotopov. Preto je nevyhnutné monitorovať počet návštevníkov spoločne s populáciami živočíchov a ich správaním, aby sa zabezpečilo, že budú vyvážené potreby kvalitného zážitku návštevníkov a priaznivého stavu ekosystémov. Táto kapitola ponúka stručný pohľad na metodiky a význam monitorovania počtu návštevníkov a ich potenciálnych dopadov na faunu v chránených územiach.

Úloha monitorovania návštevníkov v ochranárskom manažmente

Počet návštevníkov v chránených územiach sa globálne zvýšil v dôsledku rastúceho záujmu o turizmus, ktorý je založený na prírode. Porozumenie vzťahu medzi tlakom návštevníkov a voľne žijúcimi druhmi je kľúčovým aspektom moderných ochranárskych stratégií. Monitorovanie počtu návštevníkov umožňuje odhadnúť rozsah ľudskej činnosti v chránených územiach a prispôbiť podľa toho manažmentové plány. Monitorovanie návštevníkov môže zahŕňať priamu metódu, ako je počítanie jednotlivcov alebo vozidiel, a nepriamu metódu, ako je analýza sociálnych sietí alebo údajov z ubytovacích zariadení.

Vplyv návštevníkov na faunu

Prítomnosť návštevníkov v chránených územiach môže mať rôzne vplyvy na správanie a populačnú dynamiku živočíchov. Negatívne účinky zahŕňajú narušenie biotopov, rušenie živočíchov, ich aktivity, najmä počas doby oddychu alebo rozmnožovania, následný zvýšený stres, zmenené potravné vzorce a vytesnenie druhov z kritických oblastí. Napríklad veľký počet turistov v blízkosti hniezdnych lokalít môže spôsobiť opustenie hniezd vtákmi, čo vedie k zníženiu úspešnosti rozmnožovania. Blízkosť ľudí k voľne žijúcim živočíchom môže tiež zvýšiť pravdepodobnosť konfliktov, najmä s veľkými predátormi alebo bylinožravcami.

Napriek týmto výzvam môžu zodpovedné nástroje manažmentu tieto účinky zmierniť a zabezpečiť, že živočíchy aj návštevníci budú profitovať. Zavedením obmedzení kapacity návštevníkov, zónovaním územia a vzdelávaním návštevníkov môžu chránené územia udržiavať svoju ekologickú integritu a zároveň ponúkať príležitosti na zapojenie sa verejnosti do poznávania prírodných hodnôt.

Metódy monitorovania počtu návštevníkov

Monitorovanie počtu návštevníkov v chránených územiach sa dosahuje kombináciou tradičných a moderných technológií. Tradičné metódy zahŕňajú manuálne počítanie zo strany pracovníkov ochrany prírody alebo použitie vstupných/výstupných brán na vchodoch do chránených území (najmä v zahraničí). Tieto metódy sú užitočné na pochopenie celkových vzorcov návštevnosti, ale nemusia poskytovať podrobné informácie o rozložení návštevníkov alebo úrovniach ich aktivít v rámci parku.

Pokročilejšie techniky zahŕňajú použitie technológie diaľkového snímania, ako sú GPS lokátory, infračervené senzory a kamery. Tieto systémy poskytujú reálne časové údaje o pohybe návštevníkov, čo pomáha výskumníkom hodnotiť rozloženie návštevníkov v rôznych oblastiach

chráneného územia a ich blízkosť k biotopom fauny. Okrem toho môžu sociálne médiá a mobilné aplikácie, ktoré sledujú recenzie a fotografie návštevníkov, slúžiť ako neformálne zdroje údajov o návštevníkoch. Integrácia týchto údajov s monitorovaním živočíchov umožňuje komplexnejší prístup k manažmentu ľudí aj živočíšnych druhov.

Integrácia monitorovania návštevníkov a živočíchov

Integrácia údajov o monitorovaní návštevníkov s monitorovacími systémami fauny je nevyhnutná na pochopenie vplyvov prítomnosti ľudí na voľne žijúce živočíchy. Automatizované kamery, akustické senzory a telemetria poskytujú cenné informácie o pohyboch zvierat, ich správaní a využívaní biotopov, ktoré sa môžu porovnávať so vzorcami návštevnosti ľudí. Napríklad, ak vysoká hustota návštevníkov zodpovedá poklesu výskytu určitých druhov fauny alebo zmenám správania, manažéri chránených území môžu zväziť zavedenie stratégií riadenia toku návštevníkov, ako je presmerovanie návštevníkov z citlivých oblastí počas kritických období.

Aby sa tieto účinky vyhodnotili, je dôležité vykonávať longitudinálne štúdie, ktoré sledujú ako počet návštevníkov, tak aj stav živočíchov počas dlhšieho obdobia. Tieto údaje môžu informovať o adaptívnych riadiacich stratégiách, ktoré zabezpečia splnenie cieľov ochrany fauny bez nadmerného obmedzovania prístupu verejnosti.

Viaceré chránené územia po celom svete integrovali monitorovanie návštevníkov a živočíchov na účely efektívneho manažmentu. V Krugerovom národnom parku v Juhoafrickej republike výskumníci študovali vzťah medzi hustotou návštevníkov a správaním slonov. Ich zistenia naznačujú, že pohybové vzorce slonov sú ovplyvnené prítomnosťou turistov, pričom sa slony vyhýbajú oblastiam s vysokou návštevnosťou. Tieto informácie viedli k vypracovaniu špecifických pokynov pre návštevníkov, vrátane regulovaného časového vstupu do citlivých oblastí, s cieľom minimalizovať ich vyrušovanie.

V Yellowstonskom národnom parku v Spojených štátoch amerických použitie diaľkových kamier a GPS obojkov poskytlo kritické údaje o interakciách medzi bizónmi a návštevníkmi. Pochopením priestorového prekryvu pohybov bizónov a návštevníckych trás mohli manažéri parku upraviť prístup návštevníkov, aby minimalizovali potenciálne konflikty a podporili ochranu tohto druhu.

Výzvy a budúce smerovanie

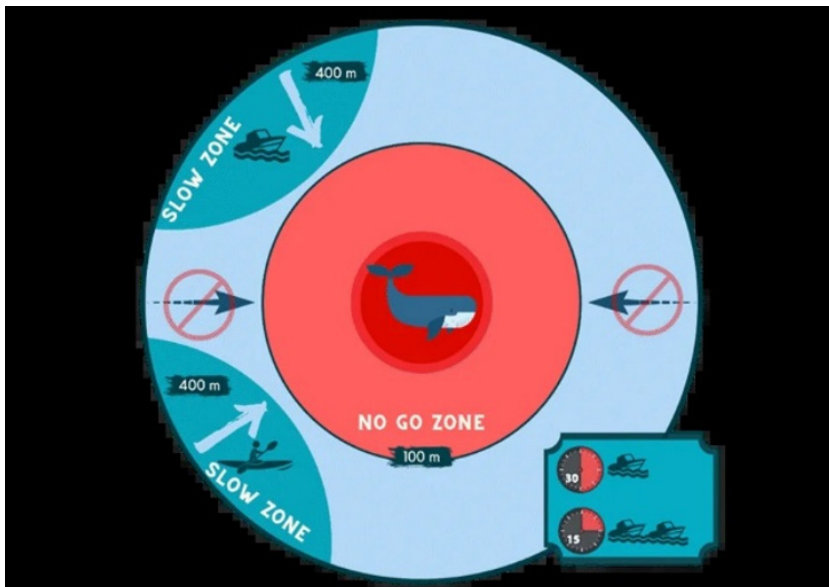
Jednou z významných výziev v monitorovaní návštevníkov aj živočíchov je zložitosť interpretácie údajov z rôznych zdrojov. Pohyby návštevníkov sú dynamické a ovplyvnené faktormi ako počasie, sezóna a špeciálne podujatia, čo komplikuje predpovedanie presných vplyvov na faunu. Okrem toho všetci návštevníci neprispievajú rovnako k vyrušovaniu druhov. Správanie jednotlivých turistov alebo skupín sa môže veľmi líšiť a ovplyvňuje rozsah narušenia živočíchov.

Pokroky v umelej inteligencii (AI) a strojovom učení (ML) ponúkajú nádej na riešenie týchto výziev. Systémy AI môžu spracovať obrovské množstvo údajov ako od návštevníkov, tak aj zo systémov monitorovania fauny a identifikovať vzory a trendy, ktoré nemusia byť okamžite zrejmé výskumníkom. Napríklad AI môže predpovedať oblasti s vysokým konfliktom medzi návštevníkmi a faunou a navrhnúť alternatívne trasy alebo stratégie návštevnosti.

Monitorovanie počtu návštevníkov a pochopenie ich vzťahu k faune sú integrálnymi zložkami moderných stratégií ochrany v chránených územiach. Kombinovaním tradičných a inovatívnych monitorovacích metód môžu ochranári zmierniť negatívne účinky ľudskej činnosti na živočíšne druhy a ekosystémy. Integrácia údajov o návštevníkoch a živočíchoch poskytuje komplexný prístup k riadeniu chránených území, ktorý zaručuje ich životaschopnosť ako pre ochranu fauny, tak aj pre zapojenie verejnosti. S pokrokom technológie sa budúcnosť



Obr. 57. Kamzik vrchovský tatranský je klasickým príkladom druhu, ktorý je priamo ovplyvnený vysokou návštevnosťou turistov a výsledkom môže byť skrátenie únikovej vzdialenosti alebo naopak vytlačanie jedincov do menej optimálnych biotopov (foto © Juraj Švajda)



Obr. 58. Na Azorských ostrovoch platia prísne a legislatívne zakotvené pravidlá pre pozorovanie veľrýb a delfínov, ktoré upravujú najmä vzdialenosť a smer priblíženia plavidiel s cieľom minimalizovať ich vyrušovanie (zdroj <https://orca.org.uk>)

10 Občianska veda a výskum živočíchov

Ivan Baláž & Peter Urban

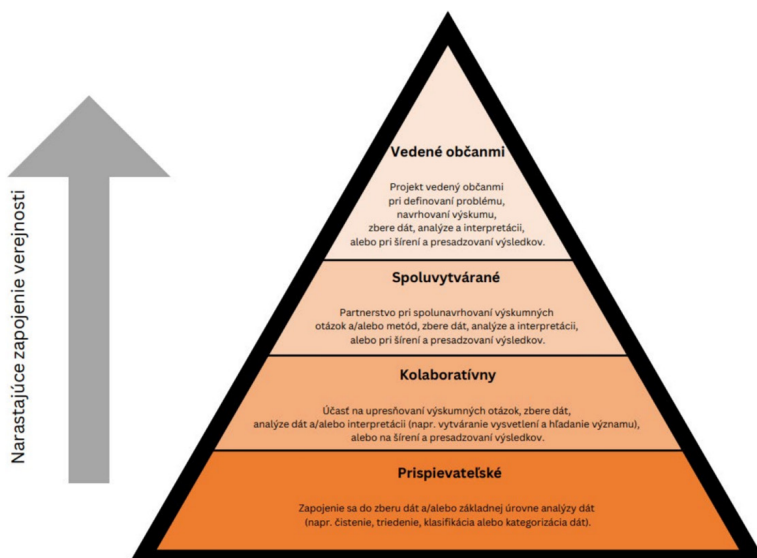
Občianska veda je široký a komplexný koncept, ktorý aktívne zapája širokú verejnosť do jednotlivých fáz výskumu, čím môžu byť jednotlivé vedecké oblasti obohatené o rozsiahle štatistické údaje a o iné perspektívy, či pohľady laickej verejnosti.

Verejnosť sa v úlohe dobrovoľných občianskych vedcov podieľa na zbere rôznych výskumných údajov v relatívne krátkom čase, v rámci národných a medzinárodných projektov, ktoré sú obvykle zastrešené vedeckými inštitúciami. Ide o „prostriedok zapojenia verejnosti do vedy v rovine jednotlivých experimentov, čím sa vytvára jedinečná kombinácia participácie, monitorovania a sociálnej transformácie“.

Na občianskej vede sa podieľajú dve skupiny ľudí:

- amatérski (neprofesionálni) vedci, ktorí sa danej problematike spravidla venujú ako hobby;
- široká laická verejnosť, využívajúca najmä dostupné aplikácie.

Pyramídu občianskej vedy tvoria štyri úrovne charakterizované zvyšujúcou sa úrovňou zapojenia verejnosti do výskumu (obr. 59).



Obr. 59. Štyri modely občianskej vedy charakterizované zvyšujúcou sa úrovňou zapojenia verejnosti do výskumného procesu (upravené podľa Den Broeder et al. 2018, English et al. 2018, Marks et al. 2022, Urban 2024)

Hoci prvýkrát bol termín „*citizen science*“ v podobe, v akej sa používa v súčasnosti, publikovaný vo vydaní MIT Technology Review z januára 1989, aktivity spadajúce do jej konceptu sú oveľa dlhšie. Podľa niektorých zdrojov je tu občianska veda už od roku 1700. Pred tým, ako sa koncom 19. storočia veda sprofesionalizovala, takmer všetok vedecký výskum vykonávali amatéri, ktorí boli uznávanými odborníkmi vo svojom odbore, no neboli platení ako vedci, a ktorí sa zväčša venovali výskumu z dôvodu vrodeneho záujmu o konkrétne témy alebo otázky. Počiatky občianskej vedy siahajú aj ďaleko mimo Európu, a teda podľa niektorých zdrojov dvorní zapisovatelia v japonskom Kjóte zaznamenávajú dátumy tradičného

festivalu kvitnúcich čerešní už 1 200 rokov. V Číne občania aj úradníci sledujú výskyt kobyliek už najmenej 3 500 rokov. Za jeden z prvých zaznamenaných projektov občianskej vedy sa považuje veľké vianočné počítanie vtákov v USA, ktoré zorganizoval Thomas Jefferson v 70. rokoch 19. storočia. Slávne mená ako Alfred Russell Wallace, Thomas Edison a Gregor Mendel sa považujú tiež za jedných z hlavných historických občianskych vedcov.

Od zavedenia internetu sa občianska veda presunula do online prostredia, čím umožnila dosah a interakciu s oveľa širším publikom ako kedykoľvek predtým. V danom prípade výskumníci používajú aj termín online občianska veda alebo digitálna občianska veda, ktorá je „rozšírením občianskej vedy, kde úlohy, ktoré sa majú splniť, sú podporované alebo sprostredkované prostredníctvom internetu“. Zapojenie zahŕňa predkladanie údajov, poskytovanie rozsiahlych datasetov na analýzu; sprístupnenie nástrojov na podporu zapojenia občianskych vedcov, umožnenie komunikácie medzi občianskymi vedcami a zabezpečenie väčšieho dosahu k širšiemu publiku.

Občianska veda prechádza procesom profesionalizácie, čo dokladujú aj viaceré spoločnosti, ktorých cieľom je spájať ľudí zaoberajúcich sa občianskou vedou. Je to napr. „*Association for Advancing Participatory Sciences, AAPS*“ (<https://participatorysciences.org/about/>) (pôvodne „*Citizen Science Association*“), sídliaca v USA, ponúkajúca globálne členstvo. Okrem iného vydáva aj časopis „*Citizen Science: Theory and Practice*“ (<https://theoryandpractice.citizenscienceassociation.org/>). Podobne funguje aj „*European Citizen Science Association, ECSA*“ (<https://www.ecsa.ngo/>), založená v roku 2014, ktorej cieľom je zvýšiť demokratizáciu vedy, podporiť rast občianskej vedy v Európe a podporiť účasť širokej verejnosti na výskumných procesoch v celej Európe.

Občianska veda využíva rôzne platformy na účely zberu alebo analýzy údajov, či už ide o aplikácie s rôznymi interaktívnymi nástrojmi alebo tzv. *open-source* webové stránky, na ktorých sa údaje zvereňujú. Okrem zberu dát pomocou fotodokumentácie, existujú aj iné formy mapovania, kde pozorovatelia odpovedajú na rôzne otázky a zaznamenávajú svoje poznatky, alebo použitie rôznych senzorov, či už v mobilných zariadeniach alebo špecializovaných prístrojoch na zber dát. Tieto technológie umožňujú presné a efektívne sledovanie environmentálnych zmien. Takéto kolektívne úsilie by mohlo priniesť nielen cenné údaje na monitorovanie biodiverzity, sledovanie účinkov klimatických zmien, ale aj na zaznamenávanie nových, nie dostatočne známych invázných druhov. Nákladová efektívnosť údajov občianskej vedy ponúka potenciál na riešenie výskumných otázok založených na veľkých objemoch dát, resp. časopriestorových mierkach, ktoré sú náročné alebo príliš nákladné na to, aby sa dosiahli bez účasti dobrovoľníkov.

Občianska veda môže nájsť uplatnenie vo formálnom a neformálnom vzdelávaní, môže aktívne zapojiť študentov do vedeckého výskumu a tiež aj do rôznych terénnych prác. Občianska veda pomáha objavovať širšie súvislosti, spojené najmä s environmentálnymi problémami spôsobenými ľudskou činnosťou, ktoré majú za následok pokles biodiverzity v konkrétnych lokalitách. Mnohé štúdie sa pri zbere regionálnych údajov spoliehajú na občianskych vedcov a študenti tak v rámci edukácie môžu vo väčšej miere skúmať svoje okolie. To im umožňuje získať globálny pohľad na tieto problémy tým, že lokálne údaje sú zintegrované a vizualizované na globálnych mapách. Práve spájanie týchto údajov s rôznymi súvislosťami môže pomôcť odhodiť pôvod problémov, ktoré sa môžu dať v budúcnosti riešiť alebo sa môžu postúpiť reálne kroky na zmiernenie negatívnych dopadov. Tieto metódy podporujú širšie porozumenie a presnejšie odhady potrebné na plánovanie efektívnych krokov na ochranu prírody.

Občiansku vedu je možné využiť pri výskume živočíchov. Nakoľko sú živočíchy súčasťou druhej diverzity, je nutné zdôrazniť potrebu mať tzv. biodiverzitnú gramotnosť z angličtiny *biodiversity literacy*, v slovenčine zrozumiteľnejšie povedané „gramotnosť v oblasti biodiverzity“. Táto gramotnosť je jedna z foriem vedeckej gramotnosti, zahŕňa kľúčové procesy

uvedomovania si a chápania biodiverzity. Gramotnosť v oblasti biodiverzity je schopnosť pochopiť a porozumieť konceptu biodiverzity a zároveň mať vedomosti o konkrétnych činnostiach, ktoré vedú k ochrane biodiverzity. Niektorí autori definujú aj „druhovú gramotnosť“, ktorá je neoddeliteľnou súčasťou biodiverzitnej gramotnosti, zahŕňa získavanie hlbokých znalostí o druhoch prostredníctvom ich identifikácie, výskumu a pozorovania. Pochopenie a rozpoznávanie druhov môže pomôcť vytvoriť spojenie medzi študentmi a ich prostredím, pričom dôkladné poznanie viacerých druhov môže zlepšiť porozumenie interakcií medzi druhmi v rámci ekosystémov. Druhovú gramotnosť preto tvorí základ pre pochopenie biodiverzity a zvyšuje pravdepodobnosť zapojenia sa do ochrany prírody. Druhovú gramotnosť je zvyčajne vyššia u profesionálov ako u širšej verejnosti, ktorej povedomie o otázkach ochrany prírody môže byť nedostatočné. Na zlepšenie druhovej gramotnosti môžu byť účinnými riešeniami nástroje ako online biologické zbierky a aplikácie občianskej vedy.

Pokiaľ sú projekty občianskej vedy správne navrhnuté, dizajnované, vykonané, vyhodnotené a interpretované, môžu efektívne získavať kvalitné údaje a pomáhať riešiť viaceré aktuálne problémy a výzvy. Je však potrebné dbať na to, aby sa potreby vedy a zapojenia verejnosti zhodovali. Projekty občianskej vedy potrebujú zabezpečovať dostatočnú kvalitu získavaných údajov. To si okrem iného vyžaduje nielen ich vhodné metodické nastavenie, ale aj systematickú kontrolu dodávaných informácií, od efektívnych nástrojov hodnotenia projektov až po manažment získaných dát.

Box 8. Ach, tie chyby...

Najčastejšie chyby pri projektoch občianskej vedy:

- účastníci nedodržiavajú protokoly zberu údajov,
- protokoly zberu údajov nezodpovedajú cieľom projektu ani pravdepodobnosti počtu účastníkov,
- protokoly zberu údajov sú nesprávne implementované,
- protokoly zberu údajov nie sú komplexné a používajú ich zainteresované strany s rôznymi úrovňami očakávanej kvality údajov,
- použité údaje nie sú vhodné na daný účel.

Platformy občianskej vedy

Niektoré mobilné aplikácie používané na účely ochrany biodiverzity, ako napríklad iNaturalist, Natusfera, Observation.org a Pl@ntNet, umožňujú používateľom nahrávať neidentifikované pozorovania. Tieto pozorovania sa potom môžu identifikovať dvoma spôsobmi: automatickým rozpoznávaním, t. j. identifikáciou pomocou algoritmov, alebo identifikovaním inými používateľmi s rôznymi odbornými znalosťami, ktorí potvrdia alebo opravia identifikáciu občianskych vedcov.

Pre výber už konkrétnej mobilnej aplikácie či platformy je možné na začiatku vyhľadávať podľa tém zamerania projektov občianskej vedy na rôznych webových stránkach, na „multi-projektových platformách“, ktoré zhromažďujú a triedia projekty z rôznych krajín. Napríklad Zooniverse sústreďuje projekty predovšetkým z Veľkej Británie, Österreich Forscht sa zameriava na Rakúsko a Citizen Science.cz na projekty z Českej republiky. Na Slovensku sa využíva platforma OpenScience.sk, zatiaľ čo SciStarter pokrýva projekty z USA a umožňuje filtrovanie podľa lokality. Európske projekty sú dostupné aj na platforme Eu-citizen.science a Spotteron poskytuje projekty z rôznych krajín. Ďalšie platformy: iNaturalist, Biocollect, CitSci, Conserve.io, CyberTracker, DataCertus, Epicollect5, Ispot, Just One Giant Lab (JOGL), nQuire, Pybossa, World Community Grid. Projekty sa dajú tiež vyhľadať napríklad cez National Geographic platformu, ktorá sa zameriava na konkrétne druhy a výskumné otázky s nimi spojené.

Platformy občianskej vedy využiteľné pri monitoringu a výskume živočíchov

Na Slovensku už existujú projekty s vypracovanými edukačnými programami, ako sú napríklad GLOBE (DAPHNE), Hurá von s Pl@ntNetom (Živica) a „Clean-up“ dni s TrashOut (*Teaching Green*). Niektoré platformy, či aplikácie občianskej vedy majú nižšiu úroveň participácie, tzv. *Crowdsourcing*, ale stále majú veľký potenciál pre budovanie edukačných programov alebo rôznych ďalších aktivít, ako napríklad iNaturalist, ktorá umožňuje užívateľom zaznamenávať a identifikovať rastliny a živočíchy. Takéto aplikácie môžu byť skvelým praktickým komplementárnym nástrojom v edukačných programoch, najmä na základných a stredných školách. Existujú však aj aplikácie s vysokou úrovňou participácie tzv. *Extreme participation*, ktoré však viac zapájajú odborníkov, napríklad farmárov, včelárov, laboratórnych pracovníkov či lekárov.

Integrácia občianskej vedy môže prispieť k transformácii vyučovania predmetov ako geografia, biológia, chémia a ďalších, čím sa zlepši ich atraktivnosť a efektívnosť, a aj preto vidíme na Slovensku potenciál v implementácii občianskej vedy práve do formálneho vzdelávania cez environmentálnu gramotnosť.

Vlastnosti platformy (tab. 9):

- popis platformy (PP) – platforma je buď zameraná na identifikáciu, monitorovanie, rôzne zaznamenávanie, či dokumentovanie istých javov,
- spôsob využívania (SV) – platforma je určená na [*indoor*(OUT)/*outdoor*(IN)/*no binded to any location*(ANY)/virtuálne prostredie(VRT)] využívanie, v závislosti od jej špecifikácie,
- typ platformy (TP) – je dostupná ako [webová stránka(WEB)/mobilná aplikácia(APP)] alebo ako kombinácia oboch,
- krajina používania (KV) – platforma je dostupná [globálne(GLB)/na území Európy(EU)/vo vybraných krajinách(SR,CZ..)],
- úroveň zapojenia (interaktivity, UZ):
 1. občania sa podieľajú na zbere dát, pričom fungujú ako senzory
 2. občania poskytujú interpretácie alebo návrhy na identifikáciu, ktoré sú následne overované
 3. občania sa podieľajú na definovaní výskumných otázok, zbieraní údajov a ich interpretácii
 4. občania sú zapojení do všetkých aspektov výskumu vrátane návrhu experimentov, zberu a analýzy dát a tvorby záverov
- potrebné vybavenie (PV) – platforma môže vyžadovať [mobilné zariadenie/počítač/špeciálne senzory], ktoré môžu byť zakúpené alebo poskytnuté zdarma v rámci projektu,
- náročnosť témy (NT) – [Jednoduchá/stredne náročná/komplexná], v závislosti od špecifikácie a rozsahu výskumu.

Tab. 9. Platformy využiteľné pri monitoringu a výskume živočíchov (podľa Haklay 2013; Skokanová 2024).

Platforma	PP	SV	TP	KV	UZ	PV	NT
 iNaturalist	identifikácia rastlín a živočíchov	OUT	APP	GLB	2	mobilný telefón	jednoduchá
 Map of Life	identifikácia rastlín a živočíchov	OUT	APP	GLB	1	mobilný telefón	jednoduchá
 ObsIdentify	identifikácia rastlín a živočíchov	OUT	APP	EU	2	mobilný telefón	jednoduchá
 Spot-a-Bee	monitoring populácií včiel, ich správania a preferencií biotopov	OUT	APP	GLB	1	mobilný telefón	jednoduchá
 eBMS	monitoruje motýle v Európe	OUT	APP	GLB	1	mobilný telefón	jednoduchá
 Project Noah	dokumentovanie pozorovaní voľne žijúcich živočíchov na celom svete	OUT	WEB + curriculum	GLB	1	počítač	jednoduchá
 eBird	databáza pozorovaní vtákov a zaznamenávanie výskytu voľne žijúcich vtákov	OUT	APP	GLB	2	mobilný telefón	jednoduchá
 eMammal	dokumentovanie populácií cicavcov prostredníctvom fotopascí, využívaných na zaznamenávanie prítomnosti predátorov a koristi	OUT	WEB	GLB	2	fotopasce, počítač	stredná
 Marine Debris Tracker	hlásenie odpadu a morského znečistenia, ktoré môže byť požitá morskými vtákmi a morskými cicavcami	OUT	APP	GLB		mobilný telefón	stredná
 VISITOR	sleduje rozšírenie, početnosť a ekológiu nepôvodných rastlín a živočíchov	OUT	APP	Slovakia	1	mobilný telefón	jednoduchá
 Invasive Alien Species Europe	monitoring a manažment invázných nepôvodných druhov v Európe	OUT	APP	EU	2	mobilný telefón	stredná

Skratky vysvetlené v texte vyššie (Vlastnosti platformy).

Občianska veda na Slovensku so zoologickým zameraním

Občianska veda na Slovensku je stále v počiatočnom štádiu a zatiaľ nemá tak rozvinutú systematickú podporu. V júni 2021 však vláda SR schválila „Národnú stratégiu pre otvorenú vedu na Slovensku na roky 2021 – 2028“, ktorá začala prvým Akčným plánom otvorenej vedy na roky 2021 – 2022, druhú fázu implementácie predstavuje Akčný plán pre otvorenú vedu na rok 2024.

Existuje niekoľko slovenských projektov občianskej vedy, ktoré na Slovensku už bežia niekoľko rokov, a ktoré sa tak neidentifikujú, ako napríklad projekt Bocian, pretože v čase ich vzniku sa tento pojem ešte bežne nepoužíval. Slovenskí občianski vedci však v spolupráci s univerzitami a mimovládnyimi organizáciami používajú v rôznych projektoch OV, najmä medzinárodné platformy ako napríklad iNaturalist, GLOBE Observer, Pl@ntNet, BioBlitz. Podľa webu Otvorenaveda.sk (2024) na Slovensku aktuálne funguje a je aktívnych 22 projektov občianskej vedy, z toho len 7 využíva ako platformu na zber dát mobilnú aplikáciu, zatiaľ čo iné využívajú formu zasielania, resp. zberu dát na emailovú adresu, či cez webové elektronické formuláre.

Box 9. Projekty občianskej vedy zamerané na živočíchy:

- *BARS (súťaž + výskum) je celoslovenská prírodovedná súťaž pre stredné školy, kde víťazný tím získa ako odmenu expedíciu s občiansko-vedným výskumom, organizátorom súťaže je Peter Vršanský (Ústav zoológie SAV).*
- *Projekt eBMS (s vlastnou aplikáciou) monitoruje motýle v Európe pomocou dobrovoľníkov zo širokej verejnosti. Koordinátorom projektu na Slovensku je Lucia Benešová.*
- *Ekovýchovný program Bocian (online databáza) monitoruje bociany biele na Slovensku dobrovoľnými pozorovateľmi bocianov v spolupráci so školami, múzeami a Štátnou ochranou prírody. Organizátorom a koordinátorom projektu je RNDr. Miroslav Fulín, CSc., v spolupráci so ŠOP vo Varíne.*
- *Projekt Hľadajú sa modlivky (e-mail) skúma posun biotopov modlivky zelenej (Mantis religiosa) na Slovensku v súvislosti s globálnym otepľovaním. Zapojiť sa môže verejnosť zasielaním fotografií a polôh nálezu, organizátormi sú Adrián Purkart a Alica Kubeková z Prírodovedeckej fakulty UK v Bratislave.*
- *Projekt Kutavky na Slovensku (e-mail) monitoruje výskyt nepôvodných druhov kutaviiek (samotárskeho rodu Sceliphron) v rôznych regiónoch Slovenska, pomocou zasielania údajov verejnosťou. Organizátorom je Lucia Glajšeková z Prírodovedeckej fakulty UK v Bratislave.*
- *Projekt Mačka divá (webový formulár + e-mail) skúma mačku divú na území SR a ČR a analyzuje genetickú rôznorodosť s domácimi mačkami. Projekt je určený pre verejnosť, ktorá môže hlásiť pozorovania alebo nálezy na cestách. Organizuje ho Národná zoologická záhrada Bojnice, Ústav biologie obratlovců AV ČR a Hnutí DUHA Olomouc.*
- *Projekt Life Metamorphosis (e-dotazník + e-mail) sa zameriava na mapovanie chránených motýľov, konkrétne žltáčka zanoväťového v oblastiach na západe SR. Projekt je určený pre verejnosť. Organizátorom je ochrannárske združenie BROZ.*
- *Ortoptera.sk (email + FB skupina) je projekt pre mapovanie rovnokrídlavcov (kobyliiek a koníkov) na Slovensku, ktorý využíva údaje od verejnosti. Organizátorom projektu je Ústav ekológie lesa vo Zvolene, konkrétne RNDr. Anton Krištín, DrSc.*
- *COLOSS (Limesurvey e-dotazník) a INSIGNIA-EU (online formulár) projekty skúmajú zimné úhny včelstiev a hľadajú ich príčiny, ako aj druhovú pestrosť peľu. Cieľovou skupinou sú včelári z celej Európy, ktorí prispievajú k monitoringu a vývinu metód. Organizátorom je Róbert Chlebo z SPU v Nitre.*
- *Visitor (vlastná aplikácia) mapuje šírenie nepôvodných druhov na Slovensku zaznamenávaním ich výskytu, dobrovoľníkmi, vrátane vysokoškolských študentov, ktorí sa zapájajú prostredníctvom médií a sociálnych sietí. Projekt vedie Centrum biológie rastlín a biodiverzity SAV.*
- *Vtáčia hodinka (e-formulár) monitoruje počet vtákov na zimných krmidlách. Dobrovoľníci, počas jedného vikendu v januári vykonávajú hodinové pozorovania a zapisujú počet vtákov na krmidlách. Organizátorom je Slovenská ornitologická spoločnosť – BirdLife Slovensko.*

- *Výskyt užovky stromovej (FB skupina) skúma rozšírenie tohto druhu hada na Slovensku (v Bratislave). Cieľovou skupinou sú verejní prispievatelia, ktorí poskytujú údaje cez FB skupinu. Organizátorom je Katedra zoológie Prírodovedeckej fakulty UK v Bratislave, konkrétne Mgr. Petr Papežík.*
- *Kliešťolovci (FB skupina) vznikol na podnet klimatických zmien, ktoré spôsobujú rozšírenie kliešťov do oblastí, kde sme ich doteraz nemali možnosť zaznamenať.*
- *Cicavce na Slovensku a ich ochrana (FB skupina) je zameraná na zdieľanie pozorovaní, informácií a fotografií voľne žijúcich cicavcov na Slovensku.*
- *Zimné sčítanie vodného vtáctva (platforma Aves-Symfony) skúma početnosť a druhové zloženie vodného vtáctva Slovensku počas zimy. Pozorovania sú vykonávané dobrovoľníkmi. Organizátorom je SOS – BirdLife Slovensko pod vedením doc. RNDr. Michala Baláža, PhD.*
- *Žabie taxi Prietrž (email) projekt sa zameriava na pomoc pri migrácii obojživelníkov prekonať bariéry, ako sú cesty, a dostať sa k vodným plochám. Cieľovou skupinou sú žiaci ZŠ, skauti a aktívni občania zo Senice a okolia. Údaje sú poskytované Štátnej ochrane prírody pre návrh biokoridorov. Projekt je zastrešený enviro programom „Sme na jednej lodi“, koordinátorom je Ondrej Odokienko.*

Občianska veda so zameraním na biodiverzitu sa vo väčšine prípadov orientuje na monitoring a analýzu dát o biodiverzite, čím prispieva k jej ochrane. Ochrana biodiverzity si však nevyžaduje len monitorovanie, ale aj zmenu postojov smerom k udržateľnejšiemu a zodpovednejšiemu správaniu vo vzťahu k životnému prostrediu.

Literatúra

Aldhebiani (2018), Bonney *et al.* (2009), Cox & Gaston (2015), Curtis (2014), Dawson *et al.* (2020), Den Broeder *et al.* (2018), Dickinson *et al.* (2010), Doyle *et al.* (2019), ESCA (2015), English *et al.* (2018), Graham *et al.* (2011), Haklay (2013), Hooykaas *et al.* (2019), Hooykaas *et al.* (2020), Chandler *et al.* (2017), Jensen *et al.* (2017), Kerson (1989), Kotecký (2021), Marks *et al.* (2022), Moss *et al.* (2014), Nov *et al.* (2011), Porter (1978), Primack *et al.* (2011), Roth (1992), Shirk *et al.* (2012), Schneiderhan-Opel & Bogner (2020), Skokanová (2024), Stein *et al.* (2023), Tian *et al.* (2011), Urban (2024), Vetter (2011), Vohland *et al.* (2021), Zhang *et al.* (2023)

Kontrolné otázky

- Čo je občianska veda a aké sú jej hlavné charakteristiky?
- Aká je história občianskej vedy a ako sa vyvíjala s nástupom technológií?
- Aké sú úrovne zapojenia verejnosti do projektov občianskej vedy?
- Prečo je občianska veda dôležitá pre výskum biodiverzity a ochranu životného prostredia?
- Aké platformy a nástroje sa využívajú v občianskej vede, najmä pri výskume živočíchov?
- Aký je stav a podpora občianskej vedy na Slovensku?
- Aké sú výzvy a obavy spojené s kvalitou dát v občianskej vede?
- Ako občianska veda prispieva k vzdelávaniu a demokratizácii vedy?

11 Genetické metódy výskumu a monitoringu živočíchov

Peter Klinga

Jednou z kritických hrozieb pre globálnu biodiverzitu je poškodzovanie biotopov, ktoré vedie k fragmentácii populácií a súvisiacim genetickým problémom. Fragmentované populácie sa zmenšujú a stávajú sa izolovanými, čo vedie k nedostatku výmeny jedincov a génov.

Genetická premenlivosť – základný pilier biodiverzity – globálne klesá u všetkých suchozemských aj vodných organizmov. S poklesom genetickej premenlivosti populácie strácajú schopnosť prispôbovať sa meniacim podmienkam prostredia a súvisiacim hrozbám, ako sú patogény a klimatická zmena, čo môže viesť až k vyhynutiu.

Ochranárska genetika (*conservation genetics*) je vedný odbor, ktorý sa snaží aplikovať genetické metódy do ochrany a obnovy biodiverzity. Jedince sa navzájom líšia svojou DNA v dôsledku mutácií, ktoré ovplyvňujú ich genetickú premenlivosť a tým schopnosť prežitia a prispôbenia sa meniacim podmienkam prostredia, ako sú teplotné výkyvy alebo suchá.

V posledných rokoch sa tento odbor rozširuje vďaka pokrokom v technológiách a súvisiacich disciplínach, pôvodne vyvinutých pre medicínske účely a ochranu ľudského zdravia. Rozlišujeme genetické prístupy, ktoré poskytujú informácie prostredníctvom malého množstva neutrálnych markerov, od genomických prístupov, ktoré poskytujú informácie vyplývajúce z jednonukleotidového polymorfizmu (SNP) sledovaného na veľkom množstve úsekov genómu. Prechod od genetiky do oblasti genomiky nastáva, keď je analyzovaná vysoká hustota nukleotidov z celého genómu, zvyčajne v tisícoch markerov.

Hoci oba súbory genetických a genomických dát môžu byť použité na odhadovanie genetickej diverzity, populačnej štruktúry a demografickej histórie, dáta na úrovni genómu s vyššou hustotou markerov môžu poskytnúť presnejšie odhady týchto parametrov, čo niekedy vedie k spoľahlivejším odporúčaniam pre ochranárske opatrenia.

Genomika je štúdiom štruktúry, funkcie a evolúcie genómu – celej zbierky dedičných informácií pre daný organizmus – ako aj interakcií medzi génmi. Poznatky o genetickej premenlivosti využívame na pomoc malým populáciám, pri odhadoch ich veľkosti, zlepšovaní prepojenia (konektivity) v rámci populácií a medzi nimi, pri záchranných programoch, hodnotení genetického zdravia, ako sú neželaná hybridizácia a príbuzenské párenie, pri podpore lokálnych ekoforiem alebo plemien hospodársky významných druhov a pri diverzifikácii poľnohospodárstva.

V tejto kapitole poskytujeme súbor nástrojov a postupov dôležitých pre ochranu biodiverzity využitím molekulárnych technológií. Nakoľko ochranárska genomika je rozšírením ochranárskej genetiky, v textoch a názvoch statí používame termín genetika, ak sú uplatniteľné oba prístupy. Nakoniec sa zaoberáme niektorými výzvami a budúcimi perspektívami v tejto oblasti. Nachádzame sa v dobe takmer neobmedzených výpočtových kapacít, technológií a umelej inteligencie, preto neuvádzame základné matematické vzorce a výpočty, ale snažíme sa sústrediť pozornosť čitateľa na pochopenie princípov, správnu interpretáciu niektorých genetických javov a praktické riešenie problémov využitím metód ochranárskej genetiky a genomiky v manažmente druhov.

11.1 Ochránárska genetika a genomika

Ochránárska genetika vychádza z bohatých teoretických základov evolučnej biológie. Princípy evolúcie a genetiky sa uplatňovali na riešenie problémov ochrany prírody dávno predtým, ako bola známa úloha DNA v dedičnosti. Napríklad Charles Darwin si pred viac ako 150 rokmi všimol, že správcovia anglických panstiev často presúvali jelene medzi poľovnými pozemkami, aby sa vyhli „škodlivým účinkom príbuzenskej plemenitby“, čo je jav, ktorý sa neskôr stal známy ako inbrídingová depresia a je jedným z mnohých problémov, ktorými sa zaoberá moderná genetika ochrany prírody. Darwin si ďalej všimol, že neprispôsobenie sa zmenám prostredia môže viesť k vyhynutiu, čo je prvé poznanie dôležitosti evolučného potenciálu pre životaschopnosť populácie. V 20. storočí boli Darwinove myšlienky matematicky zosúladené s Mendelovou teóriou dedičnosti v Modernej syntéze 20. storočia, ktorá vytvorila hlboký teoretický základ evolučnej biológie. V 60. rokoch 20. storočia boli vyvinuté molekulárne metódy, ktoré umožnili priamo merať genetickú variabilitu. Podobne sa vyvinuli teoretické a štatistické prístupy potrebné na interpretáciu genetických údajov. Zásadná práca Soulého, Franklina a ďalších v oblasti ochránárskej biológie v 70. až 80. rokoch 20. storočia ukázala, že genetické faktory môžu ovplyvňovať rast populácií, a preto majú priamy význam pre zachovanie biodiverzity. Napríklad genetická variabilita je kľúčovým faktorom ovplyvňujúcim adaptáciu. Predpokladá sa, že geneticky premenlivejšie populácie budú mať vyššiu životaschopnosť a lepšie odolávať zmenám prostredia v porovnaní s populáciami s nízkou genetickou premenlivosťou.

Genetické analýzy sa používajú na meranie a ochranu biodiverzity na všetkých úrovniach, od adaptívnej variability medzi jedincami až po populácie, druhy a celé ekosystémy. Genetická štruktúra populácií sa určuje na základe frekvencií alel jedincov populácie. Vo vzájomne dlhodobo izolovaných populáciách alebo populáciách dlhodobo vystavených odlišným faktorom prostredia sa frekvencie alel môžu líšiť. Frekvencie alel sa môžu líšiť aj u geograficky vzdialených jedincov v rámci jednej populácie za predpokladu vyššej pravdepodobnosti reprodukcie medzi geograficky menej vzdialenými jedincami. Populačné genomické prístupy umožňujú identifikáciu a vymedzenie vnútrodruhových ochránárskych jednotiek (*Conservation units*, CU), ako sú evolučne významné jednotky (*Evolutionarily significant units*; ESU), manažmentové jednotky (*Management units*; MU) a adaptívne jednotky (*Adaptive units*; AU). ESU je definovaná ako populácia alebo skupina populácií, ktoré vykazujú značnú reprodukčnú izoláciu a adaptívnu diferenciáciu, predstavujú samostatnú evolučnú líniu druhu. Na rozdiel od toho, MU označuje lokálnu populáciu, ktorá je spravovaná ako samostatná jednotka kvôli svojej demografickej nezávislosti (minimálna migrácia so susednými jednotkami). MU sú založené na konektivite, genetickej diverzite a efektívnej veľkosti populácie. Jedna ESU môže pozostávať z viacerých MU a môže byť ďalej rozdelená na základe špecifickej adaptívnej variácie v rámci každej jednotky na AU. V dôsledku dlhodobej izolácie populácie v špecifických environmentálnych podmienkach môžu postupom času v populácii vzniknúť adaptácie na lokálne podmienky. AU je založená na identifikácii funkčnej genetickej variability – génov, ktoré prinášajú výhody v rôznych podmienkach – a environmentálnych faktorov, ktoré túto variabilitu ovplyvňujú. Identifikácia AU poskytuje nový rozmer informácií pre ochranu druhov. Identifikácia génov zapojených do adaptácie na lokálne podmienky môže pomôcť pri ochránárskych translokáciách, posúdení možnosti genomickej záchrany pre geneticky ochudobnené populácie, stratégiách asistovaného toku génov a kvantifikácii odolnosti voči klimatickým zmenám.

Informácie o genetickej odlišnosti (diferenciácii) medzi skupinami hospodársky využívaných populácií zvery a rýb možno použiť na odhadnutie vplyvu lovu na ich životaschopnosť. Metriky genetickej diverzity sa používajú aj v záchranných programoch na identifikáciu zdrojových

populácií, prioritizáciu populácií vyžadujúcich si ochranárske opatrenia a na lepšie plánovanie genetických záchranných programov v podobe ekologickej obnovy, translokácií (ochranárskych premiestnení), suplementácií alebo reštitúcií. Molekulárne analýzy sú neoddeliteľnou súčasťou záchranných programov, aby sa zadefinovali konkrétne opatrenia a kvantifikovala ich intenzita (napr. zadefinovanie minimálneho počtu translokovaných jedincov na založenie životaschopnej populácie). Molekulárna ekológia môže slúžiť aj ako hodnotiaci nástroj pre manažmentové plány špecifické pre určitú populáciu; môže napríklad vyhodnotiť príspevok umelého chovu v zajatí (*ex-situ*) k obnove populácie alebo účinky umelého výberu pri zakladaní chovného krdľa alebo stáda. Využitím ochranárskej genetiky vieme identifikovať kryptické druhy a systémy, kvantifikovať ich evolučný potenciál a identifikovať súčasne aj historické procesy, ktoré formovali základy súčasnej premenlivosti druhov a následne navrhnúť najvhodnejšie ochranárske opatrenia pre konkrétny druh.

Integrácia ekologickej a evolučnej genetiky do ochranárskej genetiky spôsobila revolúciu v oblasti a to tromi dôležitými spôsobmi:

1. Celogenómové sekvenovanie nám umožňuje nahliadnuť do genetickej variability v celom genóme, vrátane premenlivosti sekvencií vo funkčných génoch a ich regulátoroch.
2. Transkripčné analýzy aktivity génov uľahčujú štúdium mechanizmov, ktoré sú zapojené do (mal)adaptácie (neschopnosti adaptácie) v ohrozených populáciách.
3. Genomické prístupy umožňujú prechod z populačnej úrovne, na ktorú sa zameriava ochranárska genetika, na úroveň spoločenstiev a druhov, čo je sféra metagenomiky.

Ochranárska genomika a jej význam pri zachovaní biodiverzity

Oblasť ochranárskej genetiky sa stala kľúčovým nástrojom v úsilí o zachovanie biodiverzity, najmä v rámci živočíšnych populácií. Využitím genomických údajov môžeme lepšie porozumieť genetickej diverzite a zdraviu druhov, čo umožňuje identifikáciu populácií ohrozených vyhynutím. Integrácia referenčných genómov zohráva v tomto prístupe kľúčovú úlohu, poskytujúc rámec na hodnotenie genetickej variability a evolučných vzťahov medzi druhmi.

Analýzou genetickej diverzity môžeme identifikovať základné populačné parametre, ako sú príbuznosť a adaptívne genetické varianty, ktoré sú životne dôležité pre odolnosť druhov voči environmentálnym zmenám. Toto pochopenie vylepšuje stratégie manažmentu populácií, ako je dopĺňanie a asistovaná migrácia. Genetický monitoring môže tiež pomôcť pri identifikácii chránených území, čím sa zabezpečí zachovanie genetickej diverzity druhov naprieč biotopmi. Poznatky získané z genetického monitorovania tak nielen prispievajú k okamžitým ochranárskym opatreniam, ale tiež podporujú hlbšie pochopenie interakcií druhov a dynamiky ekosystémov.

Využitím pokročilých genomických technológií môžeme získať poznatky o štruktúre populácií a fitness, ktoré sú nevyhnutné pre opatrenia založené na údajoch. Prijatie komplexného prístupu k ochrane prírody, vrátane faktorov ako evolučná história a správanie druhov, zabezpečuje, že manažerske postupy sú nielen vedecky podložené, ale aj eticky zodpovedné. V konečnom dôsledku integrácia genetiky do ochranárskych snáh predstavuje sľubnú cestu v boji proti strate biodiverzity v rýchlo sa meniacom svete.

Vynález techník sekvenovania nukleotidov genómu umožňuje zbierať informácie o genetickej variabilite na úrovni celého genómu namiesto odhadov premenlivosti založených na obmedzenom súbore markerov nemodelových druhov, ktorých údaje o referenčnom genóme a transkriptóme sú nedostupné. Informácie o premenlivosti tisícok markerov jedného nukleotidu (*single nucleotide polymorphism*, SNP) umožňujú identifikovať signály selekcie a adaptácie na prostredie. SNP markery pod vplyvom selekcie môžu byť skúmané v malých populáciách,

čo pomáha pri hodnotení rovnováhy medzi genetickým driftom a selekciou. Celogenómové sekvenovanie umožňuje štúdium génovej expície namiesto štúdia premenlivosti sekvencií. Transkriptomické štúdie sekvencií RNA pomáhajú identifikovať gény s adaptívnym účinkom a výrazne prispievajú k skúmaniu mechanizmov inbrídingovej depresie a lokálnych adaptácií vo vzťahu k prostrediu.

Dôležitou úlohou ochranárskej genetiky a genomiky je určiť mieru ohrozenia malých populácií v dôsledku genetických a evolučných procesov:

1. Reprodukciu medzi dvomi blízko príbuznými jedincami (inbríding) predstavuje okamžité genetické riziko, ktoré môže zredukovať veľkosť populácie. Spôsobuje pokles životaschopnosti a plodnosti (*fitness decline*) potomstva v dôsledku homozygotnosti recesívnych deletujúcich (škodlivých) alel označovaných termínom inbrídingová depresia.
2. Stratou schopnosti adaptácie na meniace podmienky prostredia v dôsledku genetického driftu (náhlej straty alel). Vo všeobecnosti sa predpokladá pokles aditívnej genetickej variability s klesajúcou efektívnou veľkosťou populácie (N_E). V malých populáciách dochádza k nárastu frekvencie škodlivých mutácií, akumulácii genetickej záťaže (*genetic load*). Poznáme rôzne typy genetickej záťaže (segregačná záťaž, fixačná, mutačná a balančná záťaž), ktoré môžu mať negatívny vplyv na životaschopnosť populácie.
3. Okrem evolučných faktorov tieto procesy môžu byť ovplyvnené aj recentnými ekologickými faktormi súvisiacimi s fragmentáciou a stratou biotopov, ktoré narúšajú konektivitu medzi populáciami, pričom migrácia prináša nové genetické varianty (alely), ktoré môžu zmierniť okamžité negatívne účinky príbuzenského križenia, zvýšiť N_E a zvýšiť genetickú variabilitu.

11.1.1 Genetické metódy v ochrane prírody a manažmente druhov

Ochranárska genetika zohráva dôležitú úlohu pri sledovaní zmien genetickej variability a konektivity v priestore a čase, ktoré môžu súvisieť so zmenou využívania krajiny človekom a rozvojom infraštruktúry. Ochranárska genetika poskytuje dáta, ktoré sú podkladom pre aktívne manažmentové opatrenia v populáciách s negatívnym trendom vývoja početnosti a genetickej variability, kde je vysoké riziko negatívneho účinku evolučných procesov ohrozujúcich životaschopnosť populácií a druhov (ak sú postihnuté všetky populácie druhu).

Pri posudzovaní, či je druh ohrozený, berie IUCN do úvahy najmä počet dospelých jedincov, rozsah, v akom druh zaberá svoj pôvodný areál výskytu, a rýchlosť, akou sa tento areál znižuje (alebo obnovuje) (viď kap. Monitoring pre potreby červených zoznamov). Genetická diverzita (premenlivosť) je jedna z troch úrovní biodiverzity. Genetická premenlivosť vyjadrená hodnotou efektívnej veľkosti populácie N_E je súčasťou reportingu v rámci Smernice o biotopoch (*Habitat Directive*). Genetické parametre na úrovni populácií ako N_E , signály výskytu *bottlenecku* a inbrídingu sú častokrát študované u veľkého množstva ohrozených druhov. Parametre genetickej diverzity sa odhadujú a porovnávajú väčšinou na vnútrodruhovej úrovni, pretože v dôsledku odlišnej evolučnej histórie každého druhu významne varirujú medzi druhmi. Dĺžka homozygotných úsekov na genóme jedinca (*runs of homozygosity*, ROH) je parameter individuálnej genetickej premenlivosti porovnateľný aj medzidruhovo.

Identifikácia ochranárskych jednotiek

Genetické prístupy sú kľúčom aj ku taxonomickej klasifikácii (druhy a poddruhy) a identifikácii populácií, ktoré predstavujú podstatnú zložku biodiverzity v rámci druhu, a teda si vyžadujú samostatný prístup. Taxonomické označenia sú často kontroverzné a môžu podstatne ovplyvniť politiku ochrany prírody. Napríklad neidentifikovanie samostatného druhu, pretože sa javí ako morfológicky podobný iným druhom, môže viesť k absencii ochrany

a potenciálnej strate biologickej diverzity. Naopak, rozdelenie druhov alebo poddruhov na príliš veľa jednotiek môže spôsobiť, že rozdelenie zdrojov na ochranu prírody bude menej efektívne. Jednou z výhod genetických prístupov je, že dokážu odhaliť divergenciu medzi druhmi, ktoré sú si morfológicky veľmi podobné. To niekedy vedie k rozdeleniu druhov, ktoré boli predtým definované ako jedna jednotka na základe morfológie. Napríklad tradične sa uznával len jeden druh žiráf s deviatimi poddruhmi. Genomické štúdie však identifikovali štyri odlišné línie žiráf, čo naznačuje existenciu štyroch samostatných druhov. Tieto zistenia by sa mohli využiť na účinnejšiu ochranu žiráf, napríklad spravodlivejším prerozdelením ochranárskeho úsilia medzi štyri hlavné línie žiráf alebo zameraním sa len na tie, ktoré sú obzvlášť ohrozené.

Hierarchické usporiadanie ochranárskych jednotiek:

1. Druh: Najširšia kategória pre ochranárske plánovanie.
2. Populácia: Základný koncept ochrany a manažmentu, kde je skupina organizmov (populácia) v rámci druhu uznaná za samostatnú entitu pre manažment, so zameraním na jej jedinečné genetické zloženie, demografickú stabilitu alebo ekologickú úlohu pri zachovaní biodiverzity, maximalizácii evolučného potenciálu a usmerňovaní účinných ochranárskych opatrení, ako je monitorovanie, stanovovanie cieľov a predchádzanie vyhynutiu.
3. Evolučne významná jednotka: Najväčšia jednotka pod úrovňou druhu. ESU predstavujú historicky izolované a nezávisle sa vyvíjajúce populácie alebo skupiny populácií. Sú definované na základe významných celkových genetických rozdielov a predstavujú kľúčovú súčasť evolučného dedičstva druhu. ESU sú často zákonne uznávané na účely ochrany. Identifikácia evolučne významných jednotiek sa používa na určenie, ktoré populácie by sa mali zachovať izolované z dôvodu, že izolácia je súčasťou ich evolúcie. ESU sú vysoko geneticky diferencované pravdepodobne preto, že sa nachádzajú na odlišných evolučných a potenciálne adaptačných trajektóriách ako ostatné populácie. Na ich identifikáciu sa využíva súbor obsahujúci adaptívne aj neutrálne lokusy.
4. Manažmentová jednotka (*Management Unit, MU*): MU existujú v rámci ESU. Predstavujú populácie, ktoré sú demograficky nezávislé, čo znamená, že miera ich natality a mortality je v rovnováhe a ich tok génov je obmedzený od iných MU. MU sa používajú na krátkodobé, praktické manažérske ciele, ako je monitorovanie veľkostí populácie, stanovenie kvót na lov alebo plánovanie obnovy lokálnych populácií. Na identifikáciu MU sa analyzujú iba neutrálne lokusy pomocou (napr. klastrovacích metód a genetických vzdialeností).
5. Adaptívna jednotka (*Adaptive Unit, AU*): AU môžu existovať v rámci ESU aj MU. AU je populácia alebo skupina populácií, ktorá je identifikovaná špecifickou, ekologicky dôležitou adaptívnou premenlivosťou, ako je napríklad adaptívny lokus ovplyvňujúci migráciu rýb, vodný režim organizmu, hibernáciu. AU sú identifikované pomocou genomických údajov, ktoré sa konkrétne zameriavajú na gény ovplyvňujúce adaptívne znaky. Dôležité je, že AU nemusí byť demograficky dostatočne izolovaná, aby sa kvalifikovala ako samostatná MU, ale jej genetická jedinečnosť ju robí životne dôležitou pre dlhodobé prežitie. Pre identifikáciu AU sa používajú metódy na vyhľadávanie signálov lokálnej adaptácie (*Genome Environment Analysis, GEA*). Ďalej možno vykonať *genome-wide association* štúdie (GWAS) na identifikáciu genomových lokusov pre adaptívne znaky a preskúmať ich distribúciu medzi populáciami. Avšak pre mnohé druhy ohrozené z hľadiska ochrany chýbajú fenotypové údaje a často nie sú známe fenotypové znaky zapojené do lokálnej adaptácie. Kľúčovým predpokladom pre spoľahlivú identifikáciu vzťahu genómu a fenotypu organizmu alebo lokálnych podmienok prostredia je informácia o pozíciách chromozómov na genóme.

Manažmentové jednotky aj adaptívne jednotky sú menšie podjednotky, ktoré sa môžu nachádzať v rámci ESU. MU je založená na demografii a nedávnom obmedzenom toku génov, zatiaľ čo AU je založená na ekologicky významných adaptívnych genetických rozdieloch.

ESUs sa často krátkrát prekrývajú s glaciálnymi refúgiami druhu, na ktorých preživali populácie počas ľadových dôb. V dôsledku dlhodobej izolácie mohli vzniknúť ekoformy kryptických druhov prispôbených lokálnym environmentálnym podmienkam. Príkladom je populácia hlucháňa hôrneho, v rámci ktorej bola definovaná spoločná ESU na Balkánskom polostrove v pohoriach Bulharska a na Pyrenejskom polostrove (Pyreneje, Kantabrijské hory) odlišná od populácií na sever od Pyrenejí a Starej Planiny. Táto spoločná fylogenetická línia formujúca ESU pre hlucháňa vznikla v dôsledku spoločného glaciálneho refúgia izolovaného od populácií žijúcich napr. v boreálnych lesoch, Alpách, Karpatoch, ktoré tvoria samostatnú fylogenetickú líniu.

Identifikácia manažmentových jednotiek v rámci populácií druhov je dôležitým nástrojom pre manažment autochtónnych aj invázných druhov. Často sú tieto jednotky nesprávne odlišené len na základe administratívneho členenia krajiny, v lepšom prípade berú do úvahy aj prírodné hranice (rieky, vysoké pohoria a pod.). V svetle poznatkov 21. storočia by mali rešpektovať biologické vlastnosti cieľových druhov. Fragmentácia krajiny prírodnými bariérami a výstavbou infraštruktúry, rozširovaním sídel a priemyselných aglomerácií vedie k rozdeleniu populácií. Procesom vyhynutia často predchádza rozdelenie kontinuálnej populácie na menšie izolované a geneticky diferencované jednotky, ktoré sa postupne zmenšujú a v dôsledku negatívneho pôsobenia inbrídingu postupne zanikajú. Jednou z výhod genetických prístupov je schopnosť odhaliť odlišnosť medzi populáciami jedného druhu, ktorá vzniká v dôsledku obmedzenej výmeny génov spôsobenej izoláciou vzájomnou geografickou vzdialenosťou alebo nevhodným prostredím a tým obmedzenými možnosťami pohybu jedincov v krajine. Migrácia jedincov medzi dvoma manažmentovými jednotkami väčšinou nepresahuje 10 %. Napríklad v Quebecu (Kanada) bola väčšina populácií hospodársky významných druhov sladkovodných rýb podrobená analýze genetickej štruktúry a tak boli zadefinované manažmentové jednotky pre rybolov. Ak v rámci jedného vodného toku, alebo dokonca vodnej nádrže identifikujeme geneticky odlišné skupiny, s rôznou populačnou dynamikou, môžeme prijať včasné ciele opatrenia v čase a priestore, tak aby sme ochránili konkrétnu populáciu, ktorá má lokálny problém a predišli tak neskorším fatálnym dôsledkom na populáciu a/alebo celoplošným obmedzeniam, ktoré by neboli akceptované verejnosťou.

Genetické metódy v záchranných programoch

Jedince sa navzájom líšia svojou DNA v dôsledku mutácií. Tie ovplyvňujú ich genetickú premenlivosť a teda aj schopnosť prežitia a prispôsobenia sa populácií meniacim podmienkam prostredia, ako sú napríklad teplotné a zrážkové výkyvy. Genetická premenlivosť je základným pilierom biodiverzity. Strata biodiverzity sa zrýchľuje, čím ohrozuje druhy, ekosystémy a dokonca aj zdravie ľudí. Ochrannárske premiestnenia (translokácie) – introdukcia a reštitúcia sú efektívne nástroje na zvrátenie poklesu genetickej premenlivosti a dokonca jej zvýšenie.

Cieľom genetickej translokácie je zlepšenie reprodukčnej zdatnosti, ktorá zahŕňa vitalitu a plodnosť, ktoré by mali viesť ku genetickej záchrane daného druhu a tak isto k zvyšovaniu genetickej variability vedúcej ku genetickej obnove druhu. Genetická záchrana druhu nastane, ak introdukcia nových génov do malej populácie prevyší tlak genetickej záťaže škodlivých génov, ktoré sa vyskytujú v pôvodnej populácii, kde genetická obnova je v podstate zameraná na zvyšovanie úrovne genetickej variability a adaptačného potenciálu daného druhu.

Genetický manažment zohráva dôležitú úlohu pri ochrane a obnove populácií voľne žijúcich živočíchov. Pochopenie vplyvu zásahov na genetickú premenlivosť a zdatnosť (fitness) populácií je kľúčové pre zabezpečenie ich dlhodobej životaschopnosti. Výskumy ukazujú, že

správne opatrenia dokážu znížiť negatívne dôsledky príbuzenského kríženia a mutačnej záťaže, čím sa zvyšuje šanca na prežitie ohrozených druhov. Tieto poznatky sú základom pre efektívne plánovanie a realizáciu stratégií na ochranu biodiverzity. Oblasť ochrannárskej biológie čoraz viac uznáva význam genetických metód pri zvyšovaní účinnosti translokácií. Genetické prístupy sú kľúčové na pochopenie dynamiky populácií, najmä v scenároch zahŕňajúcich viacero translokácií z rôznych zdrojov, pretože môžu významne ovplyvniť genetickú premenlivosť a adaptabilitu.

Genetické metódy v poľovníctve a rybárstve

Genetikou môžeme získať údaje o pohybe zvierat a ich schopnosti prekonávať bariéry, vzťahoch medzi rodičmi a potomkami, odhady veľkosti populácie a denzity. Praktická aplikácia genetických metód v poľovníctve a rybárstve môže byť rozdelená do dvoch kategórií.

Prvá kategória rieši problematiku odhadov pohlavnej štruktúry, početnosti (abundancie), denzity (počet jedincov na určitej ploche). Odhady početnosti sú založené na identifikácii genotypov jedincov v určitom území v konkrétnom časovom intervale, ktoré reprezentuje ekologické a časovo-priestorové nároky študovanej populácie. Skupina využíva nové genetické nástroje na odhady početnosti aplikovateľné najmä pre druhy, ktorých jedince nevieme odlíšiť morfológicky. Tieto metódy spochybnili tradičné metódy založené na vizuálnom a akustickom monitoringu. Na rozdiel od parametrov genetickej premenlivosti nám parametre abundancie alebo denzity neposkytujú priamo informáciu o životaschopnosti populácie a sú náročné na systematický zber veľkého počtu neinvazívnych vzoriek s cieľom zachytiť všetky jedince v študovanom území. Z počtu jedincov máme len obmedzené možnosti dedukcie miery ohrozenia a problémov typických pre malé populácie trpiace príbuzenským krížením, izoláciou, prípadne medzidruhovou hybridizáciou. Poznanie početnosti, hustoty a pohlavnej štruktúry je dôležité pre plánovanie loveckých kvót.

Druhá kategória je zameraná na parametre genetickej premenlivosti a súvisí s lepšou identifikáciou problémov spojených s evolučnými mechanizmami ovplyvňujúcimi životaschopnosť populácií. To zahŕňa problémy redukcie genetickej diverzity spôsobené umelým výberom vrátane trofejového lovu, výskytom katastrof, fragmentáciou krajiny. Parametre genetickej premenlivosti sú priame indikátory životaschopnosti populácií a odzrkadľujú zmeny populačnej dynamiky v čase. Potrebná je analýza 10 – 30 jedinečných genotypov za predpokladanú študovanú subpopuláciu, alebo kolóniu. Napríklad ak študujeme kolónie svišť'a alebo sysľa na Slovensku potrebujeme analyzovať minimálne 10 – 30 jedincov za kolóniu. Ak študujeme genetickú premenlivosť populácie medveďa potrebujeme 10 – 30 jedincov za pohorie s dostatočným pokrytím genómu, za predpokladu že v rámci vzorkovanej územnej jednotky (pohoria) je umožnený voľný pohyb jedincov a tok génov, a teda môžeme vychádzať z predpokladu, že evolučné faktory pôsobia na všetky jedince rovnako. Počet študovaných jedincov sa líši od použitej molekulárnej metódy poskytujúcej informácie o genóme. Vo všeobecnosti platí pravidlo, že 30 jedincov za populáciu je všeobecne postačujúcich pre kvantifikáciu väčšiny parametrov genetickej premenlivosti.

Využitie genetiky v kvótovaní

V súčasnosti je nevyhnutné pochopiť komplexný vzťah medzi genetikou a reguláciou populácií vo voľnej prírode, najmä v kontexte lovu, ktorý môže ovplyvniť demografickú a reprodukčnú dynamiku populácií. Kvótovacie stratégie, založené na časovo podmienenej intenzite lovu a vekovo-pohlavnej selektivitve jedincov, sa ukázali ako kritické pri formovaní populácií veľkých predátorov. Dynamika a reprodukčný úspech kvótovaných populácií sú v podstatnej miere ovplyvnené selektívnym lovom, ktorý sa zameriava na dospelé jedince v reprodukčnom veku. V prípade jeleňovitých, ako je európsky jeleň (*Cervus elaphus*), môže nadmerný lov narušiť genetickú premenlivosť a ovplyvniť životný cyklus druhov,

čím dochádza k zmene pohlavnej a vekovej štruktúry v populácii. Pokiaľ je pomer samcov k samiciam po love drasticky znížený na menej ako 15 : 100, hrozí obmedzenie adaptačného potenciálu populácie v dôsledku zníženia efektívnej veľkosti populácie. Lov (cielená selekcia) zameraný na dospelé jedince v reprodukčnom veku môže vyvolať umelú selekciu vedúcu k skoršiemu dosahovaniu reprodukcie v mladšom veku. Typickými prejavmi narušenej vekovej a pohlavnej štruktúry sú napríklad nepravá ruja jelenej zveri, alebo celoročné chrutie diviacej zveri. Narušená pohlavná a veková štruktúra spôsobuje nástup reprodukcie v mladšom veku, čo vedie k zníženiu životaschopnosti potomstva. V prípade rýb napríklad povinné púšťanie všetkých dospelých jedincov nad stanovený veľkostný limit môže viesť k umelej selekcii berúc do úvahy fakt, že vek a veľkosť tela jedinca v dospelosti majú genetický základ. Preto pre zníženie rizika rybárstvom indukovanej evolúcie je v prípade geneticky zdravých populácií vhodné loviť menšie a v malej miere aj väčšie dospelé jedince.

Box 10. Identifikácia poľovných oblastí

*Príkladom je využitie genetiky pre identifikácie manažmentových jednotiek (poľovných oblastí) introdukovaného jeleňa sambar (*Rusa unicolor*) v Austrálii. Nakoľko ide o poľovný druh, zdrojom DNA sa stali vzorky svaloviny z ulovených jeleňov, ktoré boli doplnené vzorkami trusu z oblastí kde sa neloví, tak aby za každú oblasť bolo analyzovaných 20–30 jedincov. Z dôvodu využitia invazívnych a neinvazívnych vzoriek bola použitá analýza krátkych neutrálnych fragmentov jadrovej DNA (mikrosatelitov). Z dôvodu opakovaných záchytov jedincov vo vzorkách trusu sa počet identifikovaných jedincov z niektorých lokalít ustálil na počte 11–12 analyzovaných jedincov, čo sú minimálne prahové hodnoty pre analýzu genetickej štruktúry. Na základe odlišných frekvencií alel priradila klastrovacia analýza genotypy jedincov do troch genetických skupín. Výsoká genetická odlišnosť (diferenciácia) medzi tromi skupinami bola potvrdená aj párovými genetickými vzdialenosťami. Identifikované tri genetické skupiny predstavujú tri manažmentové jednotky medzi ktorými nedochádza k toku génov (prenosu genetickej informácie), ale tok génov prebieha len v rámci skupín v dôsledku ich izolácie krajinou. Následne bolo poľovnícke plánovanie upravené pre každú manažmentovú jednotku resp. chovateľskú oblasť, pretože genetiky bola potvrdená uzavretosť a teda minimálna výmena jedincov medzi oblasťami.*

Genetické metódy vo forenznej biológii

Na podporu vyšetrovaní nelegálnych činností súvisiacich s voľne žijúcimi druhmi, ako je pytliactvo a ilegálny obchod, sa pracovníci ochrany prírody spoliehajú na vedeckú odbornosť z rôznych oblastí, ktoré zahŕňajú balistiku, veterinárne vedy, morfológiu, chémiu a predovšetkým molekulárne aplikácie. Identifikácia druhov a pôvodu zhabaného biologického materiálu sa stala rutinou analýzou molekulárnej ekológie. Zatiaľ, čo morfológické analýzy sú zvyčajne rýchle a lacné, metódy DNA barkódovania, sú vhodnejšie pri práci s nejasnými alebo neúplnými vzorkami.

Okrem druhovej identifikácie, DNA *barcoding* umožňuje vypočítať pravdepodobnosť náhodnej zhody vzoriek so známymi referenčnými vzorkami na základe odhadovaných frekvencií alel. Nie všetky druhy sú chránené v celom areáli rozšírenia, ale častokrát sú chránené len lokálne populácie. Preto je pri riešení pôvodu trofejí alebo iného biologického materiálu potrebné identifikovať geografický pôvod jedinca. Ten vieme zistiť podľa identifikovanej populačnej štruktúry referenčných vzoriek naprieč areálom rozšírenia druhu, a teda priradením skúmanej vzorky do identifikovanej genetickej skupiny referenčných vzoriek lokálnej populácie alebo druhu alebo identifikáciou úsekov DNA špecifických pre konkrétny druh, poddruh, ekoformu alebo populáciu. Takýmto spôsobom metódy forenznej genetiky nadväzujú na výsledky základného výskumu populačnej genetiky.

11.1.2 Ochrannárska genomika v manažmente voľne žijúcich živočíchov

Rozvíjajúca sa oblasť ochrannárskej genomiky sa stala kľúčovým nástrojom pri riešení výziev, ktorým čelia živočíšne populácie v období rýchlych environmentálnych zmien. Využívaním pokročilých genomických techník môžeme hlbšie preniknúť do genetickej diverzity, štruktúry populácií a adaptačného potenciálu druhov, ktoré sú nevyhnutné pre účinné ochrannárske opatrenia. Integrácia genomických údajov s tradičnými metódami ochrany prírody prehľbuje chápanie problematiky genetickeho zdravia a prepojenosti medzi populáciami, čím informuje manažmentové stratégie. S napredovaním ochrannárskej genomiky sa jej integrácia do udržateľného manažmentu voľne žijúcich živočíchov stáva čoraz dôležitejšou, najmä pri pochopení a zmierňovaní ekologických hrozieb. Táto disciplína ponúka nástroje na hodnotenie genetickej diverzity, ktorá je kľúčová pre udržiavanie odolných populácií v podmienkach straty biotopov, klimatickej zmeny a tlaku inváznych druhov. Využitím genomiky môžu manažéri voľne žijúcich živočíchov získať poznatky o správaní zvierat, fyziológii a charakteristikách životného cyklu, čím sa zefektívnia ochrannárske opatrenia. Tieto poznatky sú nevyhnutné pre zabezpečenie dlhodobého prežitia ohrozených druhov a zachovanie biodiverzity pre budúce generácie.

Krajinárska genomika

Krajinárska genomika je vedná subdisciplína ochrannárskej genomiky, ktorá analyzuje zmeny v distribúcii frekvencií molekulárných markerov, ako sú jednonukleotidové polymorfizmy (SNP), vo vzťahu k rôznym environmentálnym faktorom. Inými slovami, v tomto prístupe hľadáme významné rozdiely vo frekvencii alel medzi populáciami cieľového druhu, ktoré naznačujú, že jedince v populácii sú vystavené selekčnému tlaku, pravdepodobne v reakcii na zmenu niektorého environmentálneho faktora, ako sú zmeny v type pôdy, žiarení, strese suchom a teplote. SNP sa bežne používajú v štúdiách lokálnej adaptácie voľne žijúcich organizmov, pretože ich lokalizácia a funkčné anotácie sú známe a sú široko distribuované v celom genóme. Prostredníctvom využitia krajinnej genomiky je tak možné nájsť korelácie medzi genomickými regiónmi a variabilnými environmentálnymi charakteristikami. Tento prístup sa používa na identifikáciu environmentálnych zmien v prírode, ktoré ovplyvňujú ekológiu druhu (napr. klimatické zmeny) a môžu ovplyvniť jeho adaptívny genetický potenciál. Prístup krajinnej genomiky je tak užitočný pri predpovedaní reakcií druhov na environmentálnu heterogenitu a variabilné faktory krajiny.

Antropogénne aktivity menia prírodné systémy a environmentálne podmienky spôsobom, ktorý predstavuje hlavnú hrozbu pre globálnu biodiverzitu. Tie môžu viesť k fragmentácii a strate biotopov alebo k zmenám klimatických podmienok. Druhy reagujú na takéto zmeny v prirodzenom prostredí (i) fenotypovou plasticitou, (ii) migráciou z ich prirodzených biotopov pri hľadaní podmienok vhodných pre prežitie a s dostatkom zdrojov, alebo (iii) adaptáciou na nové prostredie, aby sa vyhlí lokálnemu vyhynutiu (lokálna adaptácia).

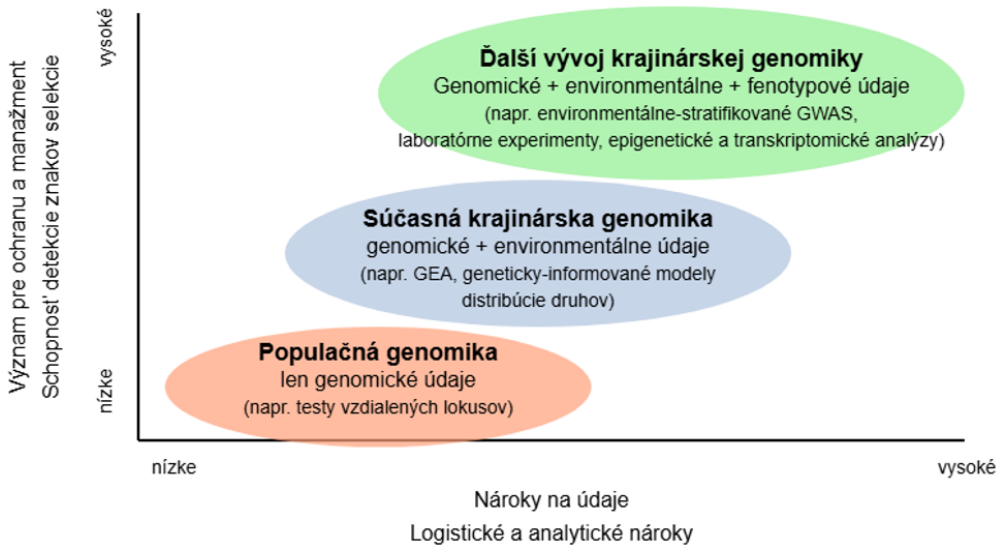
Populácii sa hovorí, že vykazuje lokálnu adaptáciu, keď jedince na určitej lokalite v špecifických podmienkach majú v priemere lepšiu fitness ako vo svojom domácom prostredí v rámci ekologického optima. Lokálna adaptácia je teda riadená pôsobením prirodzeného výberu, ktorý pôsobí na fenotypy jedincov a určuje charakteristiky, ktoré budú zvýhodnené za určitých environmentálnych podmienok. V štúdiách krajinárskej genomiky sa na hodnotenie lokálnej adaptácie v populáciách používa metóda vzdialených lokusov (*outlier loci*) v spojení s metódou genóm-environmentálnych asociácií (*genome-environment associations*, GEA). Pri metóde vzdialených lokusov sa identifikujú zmeny v distribúcii frekvencií alel/lokusov medzi populáciami, ktoré sa významne líšia od tých pozorovaných v neprítomnosti prirodzeného výberu, a tieto odlišné resp. vzdialené alely/lokusy sa považujú za vystavené tlaku selekcie. V GEA analýze sa výskyt vysokej korelácie medzi frekvenciami alel s jednou alebo viacerými

environmentálnymi premennými považuje za indikátor lokálnej adaptácie. Keďže metóda vzdialených lokusov nešpecifikuje environmentálne sily pôsobiace na lokus pod selekciou, štúdie využívajúce prístup krajinárskej genomiky používajú výsledky GEA na určenie príčinného environmentálneho faktora. Metóda vzdialených lokusov, ktorá sa používa na identifikáciu adaptívnych variácií v populáciách, má niekoľko slabín. Po prvé, existuje riziko falošných pozitív, čo znamená, že môže identifikovať lokusy, ktoré nie sú skutočne adaptívne. Po druhé, táto metóda sa zameriava na malý počet lokusov, čo môže viesť k prehliadaniu dôležitých variant. Taktiež, zložitosti vzťahov medzi lokusmi a environmentálnymi faktormi môžu sťažovať interpretáciu výsledkov. Navyše, nedostatočné zohľadnenie populačnej štruktúry môže skresliť výsledky, a identifikácia lokusov neznamená, že sú funkčne relevantné. Preto sa častejšie používajú RDA (*Redundancy Analysis*) a pRDA (*partial Redundancy Analysis*) len na určenie potenciálnych environmentálnych faktorov, ktoré by mohli byť vo vzťahu ku genotypom jedincov. RDA skúma vzťah medzi environmentálnymi faktormi a genetickou variabilitou, čím identifikuje, ktoré faktory najviac ovplyvňujú adaptívne mechanizmy populácií. Na druhej strane, pRDA umožňuje kontrolovať vplyv iných premenných, čím poskytuje presnejší obraz o špecifických interakciách. Samostatnou kategóriou je použitie celogenómových asociácií (*genome-wide associations*, GWAS), ktoré môže poskytnúť komplexnejší pohľad na adaptívnu premenlivosť. GWAS sa zameriavajú na identifikáciu genetických variantov spojených s fenotypovými vlastnosťami alebo ochoreniami, prípadne environmentálnymi podmienkami. Analyzujú SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) v celom genóme a pre krajinársku genomiku boli prinesené z oblasti genómovej medicíny na zistenie genetických predispozícií k ochoreniam.

Lokálna adaptácia je základnou stratégiou prežitia pre druhy žijúce v rôznych typoch prostredia. Vzťah medzi genetickou a environmentálnou premenlivosťou v priestore môže vzniknúť, ak je pohyb jedincov obmedzený v dôsledku silnej ekologickej selekcie. Alternatívne môže tok génov pôsobiť tak, že znižuje schopnosť populácií geneticky reagovať na meniace sa podmienky prostredia. Lokálna adaptácia sa môže vyskytnúť v podobe, ktorá by mohla brániť toku génov prostredníctvom selekcie proti imigrantom. V tomto prípade sa budú populácie odlišovať na adaptívnych aj neutrálnych lokusoch.

Idealizované populácie sú diskkrétne ohraničené a vnútorne panmiktické (existuje náhodné párenie). Keď nepôsobia mutácie, selekcia, náhodný genetický drift, tok génov alebo meiotický pohon v populácii sa uplatňuje Hardy-Weinbergová rovnováha, ktorá hovorí, že frekvencia alel a genotypov zostáva z generácie na generáciu konštantná. Reálne populácie pravdepodobne porušujú jeden alebo viac z týchto predpokladov. Aj v panmiktickej populácii môže dochádzať k poklesu panmixie v dôsledku vyššej pravdepodobnosti párenia medzi priestorovo bližšie žijúcimi jedincami ako tými vzdialenejšími. Hovoríme o izolácii vzdialenosťou (*isolation by distance*, IBD). Pôvodne panmiktické populácie v rovnovážnom stave sú častokrát vystavené fragmentácii a strate habitatov a dochádza k obmedzeniu náhodného párenia, príbuzenské kríženie spôsobuje zvýšenie homozygotnosti a genetický drift v malých populáciách spôsobuje náhodné zmeny vo frekvencii alel. Genetické účinky fragmentácie vznikajú v dôsledku rezistencie krajiny, keď jednotlivé krajinné prvky bránia toku génov rôznou mierou priepustnosti resp. odporu pre pohyb organizmu. Hovoríme o izolácii rezistenciou (*isolation by resistance*, IBR) bariérami s rôznou mierou priepustnosti. Treťou príčinou obmedzenia prenosu genetickej informácie je izolácia nepriepustnými bariérami a môžu byť prirodzeného alebo antropogénneho pôvodu (napr. dopravná infraštruktúra, rieky, vysoké pohoria). Izolované populácie sú častokrát „uväznené“ v určitých environmentálnych podmienkach odlišných od ekologického optima a prežijú len tie jedince, ktoré sa dokážu adaptovať. Prirodzený výber v týchto populáciách vedie k zvýšenej životaschopnosti lokálnych genotypov a môže dochádzať k vzniku lokálnych ekoforiem. Krajinná heterogenita vystavuje populácie rôznym selekčným

tlakom prostredia, ktoré v závislosti od vzájomného pôsobenia selekcie a toku génov môžu viesť k adaptácii na lokálne podmienky prostredia. Toto zdôrazňuje skutočnosť, že kompletný obraz funkčne adaptívnej genetickej premenlivosti nakoniec závisí od identifikácie činiteľov selekcie, ktorými sú environmentálne faktory v krajine spôsobujúce fenotypickú a genetickú diferenciáciu nielen od identifikácie faktorov, ktoré korelujú s populačnou štruktúrou.



Obr. 60. Analytické prístupy k porozumeniu lokálnej adaptácie (elipsy). Ich relatívne nároky na údaje a analýzu (os x) a ich význam a využiteľnosť pre ochranu a manažment (os y) sa pohybuju od relatívne nízkych po relatívne vysoké (Forester et al. 2018).

Metódy celogenómových asociačných štúdií (GWAS) v ochranárskej genomike

Genómové asociačné štúdie (GWAS) predstavujú významný míľnik v modernej ochranárskej genomike. Prinášajú revolučný prístup k pochopeniu základných princípov adaptácií a prežitia voľne žijúcich druhov rastlín a živočíchov. Táto metóda pôvodne vznikala ako súčasť biomedicínskeho výskumu s primárnym cieľom identifikovať genetické varianty asociované s výskytom komplexných ochorení u ľudí. Narastajúca popularita GWAS analýz viedla k ich postupnej integrácii do ďalších odvetí akými sú poľnohospodárska výroba, kde sa využívajú pri šľachtení hospodársky významných druhov alebo do ochrany prírody za účelom štúdiá evolučného potenciálu a prežívania druhov vo voľnej prírode. Základom GWAS analýz je hľadanie asociácií medzi genetickými markermi (napr. jednonukleotidové polymorfizmy, štruktúrne varianty) a fenotypovými charakteristikami (napr. hmotnosť tela, sfarbenie srsti, hladiny hormónov). Prostredníctvom takýchto asociácií dokážeme identifikovať alely, ktoré sú pod vplyvom selekcie a môžu ovplyvňovať fyziologické procesy dôležité pre prežitie (napr. odolnosť voči patogénom, metabolické procesy) ako aj schopnosť organizmov adaptovať sa meniacim podmienkam ich životného prostredia. Po základnej štatistickej asociácii je ďalším krokom v rámci GWAS anotácia signifikantných variantov, ktorá je dôležitá pre biologickú interpretáciu výsledkov — teda aby sme pochopili, ako a prečo daný variant ovplyvňuje fenotyp. Pri signifikantných variantoch poznáme typ alely ako aj ich pozíciu na chromozómoch, čo nám umožňuje využitie biologických databáz uchovávajúcich informácie o štruktúre, lokalizácii a funkciách génov. Anotovanie signifikantných variantov v prípade nemodelových organizmov so sebou prináša značné výzvy. Pri takýchto organizmoch často

nepoznáme kódujúce úseky genómu a nedokážeme určiť, či daný variant môže ovplyvňovať expresiu génov a daný fenotyp. Databázy referenčných genómov ako napríklad GenBank a Ensembl obsahujú anotované genómy naprieč rôznymi taxónmi. V prípade nemodelových organizmov sa pre anotovanie variantov bežne používajú referenčné genómy blízko príbuzných druhov. Ako príklad možno uviesť referenčný genóm myši domovej (*Mus musculus*, GRCm39), ktorý má popísaných viac ako 50 000 génov a je často používaný v rámci GWAS analýz chovateľov. Po anotácii dokážeme určiť či významný variant ovplyvňuje expresiu génov (funkčný variant), zvyšuje fitness v konkrétnom prostredí (adaptívny variant) alebo neovplyvňuje fenotyp (neutrálny variant). V praxi nám GWAS umožňuje pochopiť ako genetická variabilita ovplyvňuje fitness jedincov s prihliadnutím na vonkajšie (napr. prostredie, patogény) a vnútorné (napr. reprodukčná zdatnosť, metabolické procesy) faktory. Interpretácia výsledkov by mala zohľadniť komplexnú povahu fenotypových znakov a možné interakcie medzi génmi a prostredím. Lokálne adaptácie by mali byť zohľadnené pri plánovaní efektívneho manažmentu ochrany druhov. Príkladom implementácie výstupov GWAS sú ochranné translokácie, kedy poznanie genetických základov lokálnych adaptácií môže výrazne ovplyvniť úspech týchto opatrení. Častým odporúčaním bývajú translokácie jedincov v rámci regiónov s prihliadnutím na potenciálne adaptácie na lokálnu mikroklímu. Pokiaľ sú jedince zo zdrojovej a prijímajúcej populácie geneticky vzdialené okrem rizika outbrednej depresie hrozí aj strata unikátnych génových variantov, čo sa môže prejavovať zníženým fitness jedincov a neúspechom ochranných opatrení. Integrácia GWAS analýz s inými genomickými prístupmi a tradičnými ochrannými metódami vytvára základ pre efektívny manažment druhov s cieľom zabezpečiť dlhodobé a stabilné prežívanie organizmov vo voľnej prírode.

Prístupy sekvenovania genómov populácií

Rozhodovanie o prístupe k sekvenovaniu genómu pre nový projekt môže byť náročné. Voľba závisí predovšetkým od otázok výskumu, ale aj od obmedzení, ktoré stanovuje financovanie, existencia referenčného genómu, veľkosť vzorky, charakteristiky genómu a bioinformatické znalosti výskumného tímu.

Hlavné kategórie prístupov sekvenovania genómov populácií zahŕňajú:

1. Celogenómové de novo sekvenovanie dlhých čítaní (*Long-Read sequencing*) genómu

Čítajú sa fragmenty dlhé tisíce a až desiatky tisíc bázových párov (bp). Technika pre tvorbu referenčného genómu.

2. Celogenómové resekvenovanie (*Whole genome resequencing*, WGS)

Podľa hĺbky pokrytia (sequencing depth) rozlišujeme dva prístupy:

- Re-sekvenovanie celého genómu jedincov s vysokým pokrytím (*High Coverage individual Whole-genome re-sequencing*, hcWGS)

Celogenómové re-sekvenovanie (WGS) je proces, pri ktorom sa sekvenujú celé genómy viacerých jedincov a mapujú sa na zostavený referenčný genóm s cieľom porovnať variabilné miesta medzi jednotlivcami alebo populáciami. Vysokopokryvné (>20x každý úsek genómu každého jedinca) sekvenovanie dokáže s vysokou dôverou nájsť zriedkavé varianty. Tento prístup je považovaný za „zlatý štandard“ pre resekvenovanie DNA, pretože zahŕňa všetky typy variantov. Tento typ si vyžaduje nefragmentovanú DNA z tkanív alebo krvi.

- Re-sekvenovanie celého genómu jedincov s nízkym pokrytím (*Low coverage individual WGS, lcWGS*)

Re-sekvenovanie celých genómov mnohých jedincov s nízkou hĺbkou pokrytia (<5× každý úsek genómu každého jedinca) neumožňuje spoľahlivo priradiť jednotlivé genotypy. Namiesto priradenia konkrétnych genotypov si lcWGS vyžaduje pravdepodobnostné analýzy, ktoré zohľadňujú neistotu o skutočnom genotype a môžu túto neistotu začleniť do všetkých sekvenovaných vzoriek. Tento prístup je užitočný v prípadoch, keď sú výskumné otázky zamerané na úroveň populácie. Lc WGS sa úspešne používa pri analýzach neinvasívnych vzoriek s fragmentovanou DNA.

3. Sekvenovanie s redukovanou reprezentáciou (*Reduced-representation sequencing*)

Ako naznačuje názov, tento prístup má za cieľ sekvenovať zredukovanú časť genómu naprieč viacerými jedincami so stredným až vysokým pokrytím pre objavovanie variantov a genotypovanie s vysokou spoľahlivosťou. Fragменты genómu môžu byť vybrané náhodne alebo prostredníctvom cieľenej analýzy sond (*targeted probe assays*).

Variácie tohto typu sekvenovania zahŕňajú:

- RADseq/Genotypovanie pomocou sekvenovania (*Restriction sites associated dimorphism/ Genotyping by sequencing, RADseq/GBS*)

Zahŕňa sekvenovanie podmnožiny genómových oblastí náhodne rozložených po genóme, často pomocou reštrikčných enzýmov.

Ak začíname výskumný program určitého druhu, ktorý nemá žiadne genómové zdroje, čiže chýba referenčný genóm študovaného taxónu, môžeme začať s de novo RADseq, aby sme pochopili základnú štruktúru populácie a genetickú diverzitu. Následne, keď bude zostavený referenčný genóm ideálne s informáciami o pozíciách chromozómov, môžeme prejsť na sekvenovanie celého genómu (WGS) s vysokým alebo nízkym pokrytím. Vhodné je vybrať kvalitnú vzorku tkaniva/krví jedinca na zostavenie referenčného genómu prostredníctvom sekvenovania dlhých úsekov (*Long read whole genome sequencing*), následne vykonať resekvenovanie celého genómu s vysokým pokrytím (hcWGS) niekoľkých ďalších jedincov, ktorí reprezentujú variabilitu genómu v študovanom taxóne, a následne vykonať WGS na mnohých ďalších jedincoch s nízkym pokrytím (lcWGS). Jedinca s vysokým pokrytím môžu byť užitočné na doplnenie chýbajúcich genotypov vo vzorkách s nízkym pokrytím.

- Metódy zachytávania cieľených sekvencií (*Targeted capture methods*)

Metódy zachytávania sekvencií používajú súbor sond navrhnutých na základe a priori znalostí o genóme, ktoré umožňujú cieľené sekvenovanie stoviek až desiatok tisíc špecifických lokusov. Niekoľko prístupov zachytávania pre nemodelové druhy môže využiť iné sekvenačné stratégie na navrhnutie sond zodpovedajúcich genómovým oblastiam (napríklad sekvenovanie celého exómu (*whole exome sequencing, WES*), sekvenovanie exprimovaného exómu (*Expressed Exome Capture Sequencing, eecSeq*).

4. Sekvenovanie zmesi jedincov (*pooled individuals, Poolseq*)

Sekvenovanie zmesi jedincov poskytuje informácie o frekvenciách alel na úrovni celej populácie. Pri tejto metóde sa nevyberajú špecifické oblasti genómu, ale sekvenujú sa všetky dostupné sekvencie. Tento prístup je vhodný najmä pre exploratívne štúdie a objavovanie nových genetických variantov v populáciách. Hlavnou výhodou Random Pool-Seq je schopnosť

zachytiť všetky genetické varianty v sekvenovanom materiáli bez nevyhnutnej potreby predchádzajúcich znalostí o sekvenciách z referenčného genómu. Random Pool-Seq sa často využíva pri štúdiu nových organizmov, kde nemáme k dispozícii referenčný genóm. Poznanie referenčného genómu na úrovni chromozómov konkrétneho druhu alebo aspoň príbuzných druhov je kľúčové pre presnú identifikáciu adaptívnych variantov a takisto väčšieho pokrytia genómu.

Celogenómové sekvenovanie (*Whole Genome Resequencing*, WGS)

Celogenómovým sekvenovaním získame informácie o kódujúcich aj nekódujúcich regiónoch genómu.

Samozrejme, dostupný referenčný genóm, ktorý obsahuje informácie o presnom usporiadaní chromozómov v genóme organizmu (chromosome-level assembly) umožňuje:

1. Presnú identifikáciu génov a ich umiestnenia – Chromozómová úroveň poskytuje detailné informácie o tom, kde sa jednotlivé gény nachádzajú, čo je kľúčové pre pochopenie funkcie génov.
2. Lepšiu analýzu genetickej diverzity – Umožňuje presné porovnanie medzi jednotlivcami alebo populáciami, čo je dôležité pri štúdiu evolúcie, biodiverzity a adaptácie.
3. Detekciu genetických variantov – Pomáha identifikovať mutácie, hybridizáciu alebo zmeny v genóme, ktoré môžu ovplyvniť zdravie alebo adaptabilitu organizmov.
4. Využitie v ochrane druhov – Chromozómová úroveň zostavenia je užitočná pri ochrane ohrozených druhov, pretože poskytuje údaje na plánovanie genetickej záchrany a znižovanie inbrídingu.
5. Vývoj lepších nástrojov pre genetické inžinierstvo – Poskytuje presné referenčné genómy, ktoré môžu byť použité v biotechnológii, napríklad pri CRISPR úpravách.
6. Štúdium komplexných biologických procesov – Pomáha pochopiť mechanizmy, ako sú regulácia génov, epigenetika alebo interakcie medzi génmi.

Princíp celogenómového sekvenovania

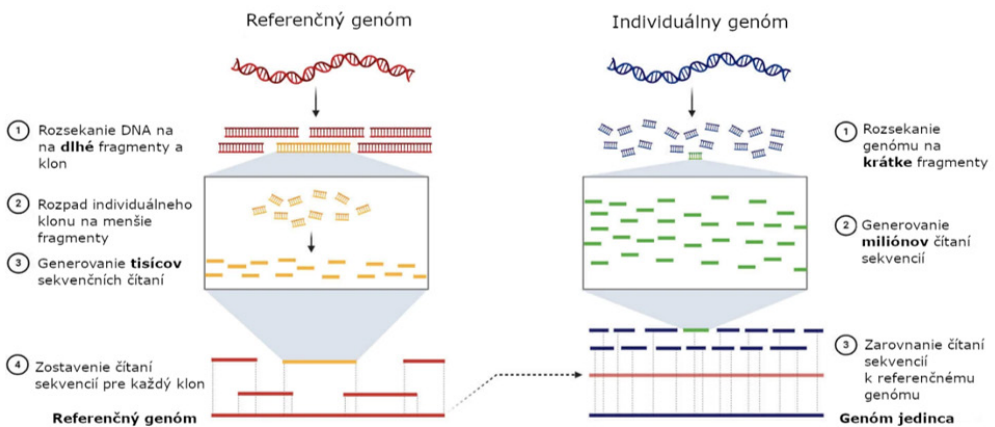
Princíp sekvenovania celého genómu zahŕňa prečítanie kompletnej sekvencie DNA genómu organizmu vrátane nekódujúcich oblastí. Poskytuje podrobné informácie o génoch, regulačných prvkoch a variantoch v genóme. Proces zahŕňa extrakciu DNA z organizmu, konštrukciu sekvenčnej knižnice, sekvenovanie DNA fragmentov a analýzu sekvenčných údajov na identifikáciu genetických variantov.

Techniky čítania DNA fragmentov:

- Jednosmerné sekvenovanie (*Single-End Sequencing*) – sekvenovanie jedného konca DNA fragmentu. Pre každý DNA fragment sa generuje jeden čítací záznam. Sekvenčné údaje sú obmedzené na jeden smer fragmentu. Je to jednoduchšie a rýchlejšie ako párované sekvenovanie, ale poskytuje menej kontextu na mapovanie čítaní na referenčný genóm. Je vhodné pre aplikácie, ako je profilovanie gébovej expresie (RNA-Seq) alebo jednoduché zisťovanie variantov.
- Párové sekvenovanie koncov (*Paired-End*) zahŕňa sekvenovanie oboch koncov každého DNA fragmentu. Výsledkom sú dva čítacie rámce (*reads*) pre každý fragment, ktoré sú navzájom spárované, čím sa získava informácia o vzdialenosti medzi nimi. Poskytuje viac informácií a umožňuje presnú rekonštrukciu DNA sekvencie, a čo je najčastejšie používanou stratégiou pre de novo sekvenovanie alebo re-sekvenovanie genómu eukaryotických organizmov. Umožňuje detekciu inzercie, delécie a štruktúrálnych variácií.

Sekvenovanie celého genómu možno rozdeliť do dvoch kategórií:

1. De novo sekvenovanie dlhých čítaní (*Long-Read sequencing*) genómu – používa sa na zostavenie nových referenčných genómov. Táto technika číta fragmenty dlhé tisícky a až desiatky tisíc bázových párov (bp). Používajú sa platformy PacBio alebo Oxford Nanopore. Je obzvlášť užitočná na sekvenovanie novo študovaných druhov alebo genómov, ktoré sú vysoko variabilné. Poskytuje základné sekvenčné údaje potrebné na ďalšie genomické štúdie a používa sa na vytvorenie referenčných genómov pre nové druhy. Tento proces môže byť náročný kvôli komplexnosti genómu a potrebe rozsiahlych bioinformatických zdrojov a odbornosti.
2. Re-sekvenovanie krátkych čítaní celého genómu (*whole genome resequencing*) – táto technika číta krátke fragmenty 50 – 300 bp zvyčajne pomocou Illuminy. Zahŕňa sekvenovanie genómu jedinca alebo populácie a porovnanie s existujúcou referenčnou sekvenciou genómu na mapovanie čítaní a identifikáciu variantov. Štandardne sa používa na identifikáciu genetických variantov a štúdium genetickej diverzity.



Obr. 61. Princíp celogenómového sekvenovania pre zostavenie referenčného genómu z čítania dlhých fragmentov sekvencií (*Long read WGS*) a zostavenia sekvencií genómu jedinca z čítania krátkych fragmentov sekvencií genómu (*Short read WGS*) (Bogan et al. 2023).

Proces sekvenovania celého genómu (WGS)

1. Príprava vzorky a extrakcia DNA

- Prvým krokom v procese sekvenovania celého genómu (WGS) je príprava vzorky, ktorá zahŕňa extrakciu vysoko kvalitných nukleových kyselín ich purifikáciou.

2. Zostavenie knižnice

- Po purifikácii nukleových kyselín nasleduje zostavenie knižnice vzoriek obsahujúcej krátke fragmenty DNA.
- Dlhé molekuly DNA sa fragmentujú na kratšie časti požadovanej dĺžky mechanickým trhaním alebo enzymatickým trávením.
- *Metódy mechanického trhania:*
 - Sonikácia: DNA sa umiestni do roztoku a vystaví sa vysokofrekvenčným ultrazvukovým vibráciám, ktoré spôsobujú kavitáciu (vytváranie malých bubliniek), čo vedie k fragmentácii DNA. Výhodou je presná kontrola veľkosti fragmentov.
 - Hydrodynamické trhanie: DNA sa pretlačí cez úzke kapiláry alebo trysky, čo spôsobí jej rozbitie na menšie fragmenty.
 - Nebulizácia: DNA sa rozpraší cez jemnú trysku pomocou stlačeného plynu (napr. dusíka)

a vytvárajú sa náhodné fragmenty DNA.

- Mikrofluidné zariadenia: DNA sa fragmentuje v špeciálnych mikrofluidných čipoch, kde sa využívajú šmykové sily. Táto metóda umožňuje presnú kontrolu veľkosti fragmentov.
- Fyzické trhanie (*Bead Beating*): DNA sa vloží do skúmavky s malými guľôčkami, ktoré sa rýchlo pohybujú a rozbíjajú DNA mechanickým nárazom.
- *Metódy enzymatického trávenia:*
 - Štiepenie DNA pomocou reštrikčných enzýmov (endonukleáz): endonukleázy rozpoznávajú špecifické sekvencie DNA a štiepia ju na presne definovaných miestach.
 - Výber konkrétneho prístupu závisí od požadovanej veľkosti fragmentov, typu vzorky a dostupného vybavenia. Mechanické trhanie je preferované, pretože nevyžaduje chemické látky, ktoré by mohli poškodiť DNA.
 - Fragmentovaná DNA prechádza opravou koncov, po ktorej nasleduje ligácia adaptérov na konce fragmentov DNA. Tieto adaptéry obsahujú sekvencie potrebné na sekvenovanie. Knižnica s ligovanými adaptérmi sa obohacuje (*enrichment*), aby sa zabezpečila vysoká koncentrácia fragmentov DNA na sekvenovanie. Kvalita vytvorenej knižnice sa validuje tak, aby vyhovovala požiadavkám sekvenačných prístrojov. Obohacovanie genomovej knižnice je proces, ktorý zahŕňa zvýšenie koncentrácie alebo výber špecifických fragmentov DNA v knižnici pred sekvenovaním.

Tento proces je dôležitý na zabezpečenie dostatočného množstva a kvality DNA fragmentov potrebných pre analýzu a zvyčajne zahŕňa nasledujúce kroky:

- PCR Amplifikácia:
Používa sa polymerázová reťazová reakcia (PCR) na amplifikáciu fragmentov DNA obsahujúcich sekvencie adaptéra. Tento krok zvyšuje množstvo fragmentov, ktoré sú pripravené na sekvenovanie.
- Selektívne obohacovanie cieľových oblastí (*target enrichment*):
Ak je cieľom sekvenovať špecifické oblasti genómu (napr. exómy alebo určité gény), používajú sa metódy ako hybridizácia so sondami alebo PCR s primérmi špecifickými pre tieto oblasti. Tým sa obmedzí množstvo nežiaducich sekvencií a zvýši sa pokrytie cieľových oblastí.
- Odstránenie nežiaduceho materiálu:
Počas obohacovania sa odstraňujú kontaminanty, ako sú diméry adaptéra, krátke fragmenty DNA alebo iné nežiaduce produkty. Na tento účel sa často používajú magnetické guľôčky s viazaním na veľkosť fragmentov (napr. AMPure XP).
- Normalizácia knižnice:
Knižnica sa môže normalizovať, aby sa zabezpečila rovnomerná koncentrácia fragmentov DNA, čo je dôležité pre rovnomerné sekvenovanie.
- Kontrola kvality (QC):
Po obohacovaní sa vykonáva kvantifikácia (napr. fluorometria zariadením Qubit) a analýza veľkosti fragmentov (napr. pomocou Bioanalyzera alebo TapeStation). Tento krok slúži na overenie, že knižnica spĺňa požiadavky na sekvenovanie.

Cieľom obohacovania je pripraviť knižnicu tak, aby obsahovala dostatočné množstvo relevantných fragmentov DNA, čím sa zvyšuje efektívnosť sekvenovania a kvalita získaných dát.

3. Sekvenovanie

- Pripravená knižnica sa naloží na zvolenú sekvenačnú platformu.

- Existuje viacero technológií sekvenovania. V súčasnosti sú pre WGS populárne platformy novej generácie (NGS), ako Illumina, PacBio a Oxford Nanopore.
- NGS platformy dokážu generovať obrovské množstvá krátkych čítaní rôznych dĺžok pre jeden genóm.
- Výstupy sekvenovania sú formátované do štandardizovaných súborov, ktoré sa následne používajú na zarovnanie (alignment) a ďalšiu analýzu.

4. Zarovnanie a zostavenie (*Alignment and Assembly*)

- Proces zarovnania mapuje krátke nukleotidové čítania na referenčný genóm. Tento krok je výpočtovo náročný a časovo náročný kvôli veľkému počtu možných pozícií v referenčnom genóme.
- Zostavenie sekvencie rekonštruje sekvencie genómu do veľkých súvislých segmentov. Existujú dva hlavné spôsoby zostavenia sekvencie: zostavenie na základe referencie (*reference based assembly*) a de novo zostavenie (*de novo based assembly*).
- Zostavenie sekvencie na základe referencie zarovnáva čítania na existujúcu sekvenciu referenčného genómu a produkuje sekvenciu, ktorá sa blíži k referencii. Vyžaduje menej výpočtových zdrojov, ale nedokáže generovať nové sekvencie, ktoré nie sú prítomné v referenčnom genóme.
- De novo zostavenie sekvencie používa výpočtové metódy na zarovnanie prekrývajúcich sa čítaní a ich zostavenie do kontigov. Nespolieha sa na referenčný genóm. Táto metóda je nevyhnutná na objavovanie nových sekvencií a vyžaduje značné výpočtové zdroje na spracovanie a zostavenie veľkého množstva údajov.

5. Kontrola kvality (*Quality control*)

- Sekvenačné platformy môžu generovať chyby, vrátane nekvalitných čítaní, chýb pri určovaní báz a duplikátov PCR. Kontrola kvality zabezpečuje minimalizáciu chýb sekvenovania, čo vedie k presnejším biologickým analýzám.
- Proces kontroly kvality zahŕňa kontrolu surových údajov sekvenovania na rôzne metriky kvality, vrátane dĺžky čítania, kontaminácie primermi, kontaminácie adaptermi a kvality čítania. Nekvalitné čítania a tie, ktoré obsahujú adaptéry, sa identifikujú a odstraňujú.
- Na hodnotenie kvality zostavených genómov sa používajú rôzne metriky, vrátane štatistiky N50 alebo N90, veľkosti zostavenia, počtu kontigov a počtu nesúládov (*mismatches*).

6. Detekcia variantov (*Variant calling*)

- Proces detekcie variantov identifikuje rozdiely medzi sekvenovaným genómom a referenčným genómom s cieľom detekovať genetické varianty, čo je užitočné pre štúdium ich asociácií s rôznymi chorobami a na detekciu mutácií.
- Nástroje na detekciu variantov možno kategorizovať podľa typu variantov, ktoré detegujú, ako sú jednonukleotidové polymorfizmy (SNP), inzercie alebo delécie (*indels*), štrukturálne varianty (SV) a počet kópií variantov (*copy number variations*, CNV).

7. Anotácia (*Annotation*)

- Anotácia zahŕňa pridávanie biologických informácií k sekvenovaným údajom a identifikovaným variantom.
- Štrukturálna anotácia predpovedá polohy a štrukturálne komponenty génov a ďalších genómových prvkov mapovaním týchto segmentov na známe sekvencie génov z existujúcich databáz. To zahŕňa identifikáciu otvorených čítacích rámcov (*open reading frames*, ORF), ktoré sú genómovými oblasťami kódujúcimi proteíny. Bežne používané nástroje na štrukturálnu anotáciu zahŕňajú AUGUSTUS a GeneMark.
- Funkčná anotácia priradzuje funkcie predpokladaným genóm porovnaním s existujúcimi databázami. Bežne používané nástroje zahŕňajú BLAST a InterProScan. Táto analýza

poskytuje informácie o funkciách génov a regulačných prvkoch.

- Na anotáciu variantov je k dispozícii niekoľko nástrojov, ako sú ANNOVAR, VAT (*Variant Annotation Tool*), GATK (*Genome Analysis Toolkit*) a VEP (*Variant Effect Predictor*).

8. Analýza

- Tento posledný krok zahŕňa rôzne analýzy na validáciu zistení procesu anotácie a pochopenie významu identifikovaných variantov a ich interpretácia do zmysluplných biologických poznatkov.
- Analýza dráh identifikuje biologické dráhy a používa sa na pochopenie funkčného dopadu variantov pomocou databáz ako KEGG a Reactome.
- Populačná genetika analyzuje genetickú diverzitu a poskytuje informácie o evolučnej histórii a genetických rizikových faktoroch pre choroby.
- Komparatívna genomika porovnáva genómy a konštruuje fylogenetické stromy na štúdium evolučných vzťahov pomocou nástrojov ako OrthoMCL, MEGA a PhyML.
- Analýza génovej expresie používa RNA-seq údaje na štúdium vzorcov génovej expresie, zatiaľ čo epigenetická analýza skúma modifikácie, ako je metylácia DNA, pomocou techník ako ChIP-seq.

Výhody sekvenovania celého genómu:

- Detekuje širokú škálu genetických variácií a mutácií vrátane tých, ktoré sú prehliadnuté cieľovými technikami. *Single nucleotide variants* (SNV) a malé indely sú detekované s vysokou presnosťou, čo poskytuje spoľahlivé údaje pre genetickú analýzu.
- Detekuje varianty v proteín-kódujúcich aj nekódujúcich oblastiach, čím poskytuje informácie o expresii génov a regulačných mechanizmoch.
- Poskytuje veľké objemy údajov rýchlo, čo je užitočné pri zostavovaní nových genómov a genetických analýzach.
- Umožňuje rýchlu identifikáciu a sledovanie patogénov počas epidémií.

Obmedzenia sekvenovania celého genómu:

- Často generuje mnoho variantov s nejasným významom.
- Niektoré oblasti genómu, ako napríklad tie s opakujúcimi sa prvkami, nemusia byť presne analyzované, čo vedie k možným medzerám v genómových údajoch.
- Napriek výraznému zníženiu nákladov je sekvenovanie celého genómu stále drahé.
- Veľké množstvo údajov generovaných sekvenovaním celého genómu vyžaduje výkonné výpočtové zdroje na spracovanie a analýzu údajov.

Aplikácie sekvenovania celého genómu:

- Porozumenie genetickým variantom ako sú SNP, indely, štruktúrne varianty a počet kópií variantov. Tieto genetické varianty môžu ovplyvniť riziko bežných aj zriedkavých ochorení.
- Identifikácia nových génov alebo mutácií spojených so zriedkavými ochoreniami alebo rôznymi typmi rakoviny.
- Detekcia infekčných organizmov alebo patogénov v klinickom prostredí. WGS umožňuje personalizovanú alebo špecifickú liečbu zriedkavých ochorení.
- Pomáha identifikovať gény spojené s požadovanými vlastnosťami, ako je odolnosť voči chorobám a tolerancia voči suchu, čo môže byť využité pri vývoji zlepšených odrôd plodín, ochranárskych translokáciách.
- Ochrana ohrozených druhov poskytnutím údajov o parametroch genetickej premenlivosti a diferenciácii populácií.

Tab. 10. Zhrnutie výhod a nevýhod piatich prístupov sekvenovania genómu (Bogam et al. 2023).

Ciele	hcWGS	lcWGS	RADseq	Poolseq	Targeted Capture seq
Výhody	<p>poskytuje vysokokvalitné genotypy s hustým pokrytím genómu; môže byť použitý na zlepšenie vývoja referenčného genómu</p>	<p>poskytuje husté pokrytie genómu za znížených nákladov</p>	<p>všobecne lacnejší prístup na vzorku, hustota genotypov môže byť prispôbena výskumnej otázke, nevyžaduje referenčný genóm</p>	<p>mnoho jedincov môže byť zmiešaných za nízke náklady na prípravu knižnice, niekedy jediná možnosť pre niektoré larválne štúdie</p>	<p>umožňuje konzistentné zachytávanie cieľových lokusov, dobré pre sekvenovanie cieľových oblastí naprieč mnohými vzorkami</p>
Nevýhody	<p>najdrahší prístup na vzorku, vyžaduje referenčný genóm, náročný na výpočtovú kapacitu</p>	<p>vyžaduje referenčný genóm, produkcia falošných heterozygotov, zmeny v kvalite, pokrývajúce alebo kontaminácie skupín vzoriek spracovaných v rámci jedného cyklu (batch effect), nevhodné napr. na detekciu štrukturálnych variantov, využitie sa zvyšuje zarovnaním k referenčným vzorkám s vysokým pokrytím</p>	<p>pokrýva iba 1-5% genómu, čo obmedzuje štúdie adaptívnej genetickej premenlivosti GWAS</p>	<p>vyžaduje vyššiu hĺbku sekvenovania, takže môže byť drahší ako RAD, žiadne informácie o individuálnych genotypoch, vyžaduje referenciu, vyžaduje niektoré replikáty na zohľadnenie batch efektov</p>	<p>drahé na začatie nového projektu a vyžaduje referenčný genóm (pokial' nepoužívate metódu ako eecSeq), poskytuje iba informácie o cieľových regénoch genómu, čo môže viesť k chybám a odchýlkam</p>

Tab. 11. Uplatnenie metód sekvenovania genómu v ochrannárskej genomike (Bogan et al. 2023).

Ciele	hcWGS	lcWGS	RADseq	POOLseq	Targeted Capture seq
Populačná štruktúra, genetická diverzita	skvelé, ale lacnejšie metódy fungujú takmer rovnako	dobré, ale obmedzené na populačno-genetické analýzy založené na pravdepodobnostiach genotypov, využité sa zvyšuje zarovnaním k referenčným vzorkám s vysokým pokrytím	vhodné najmä pre veľký počet tkanivových vzoriek	dobré pre metódy, ktoré používajú iba frekvencie alel, nebude fungovať pre metódy založené na genotypoch jedincov (napr. Admixture)	odchýľky vzniknuté sekvenovaním vybraných regiónov spôsobujú nepresnosti najmä pre merania neutrálnej genetickej premenlivosti
Demografia (intenzita migrácie, dynamika populácie v čase)	skvelé, ak sa integrujú metódy založené na haplotypoch	dobré, využítie sa zvyšuje zarovnaním k referenčným vzorkám s vysokým pokrytím	dobré pre metódy založené na distribúcii frekvencií alel v populácii (site frequency spectrums, SFS) ale nie ideálne pre metódy používajúce rozšírené haplotypy alebo fázovacie informácie (phasing info)	aktívna oblasť vývoja metód, ale stále nie bežné, okrem prípadov viacerých časových vzoriek	pravdepodobne nie je vhodné kvôli pokrytiu iba cieľených oblastí genómu
Znaky selekcie, GWAS	skvelé	dobré	vhodné ak poznáme pozície chromozómov na genóme a pokiaľ genóm nie je príliš veľký,	dobré, ak pokrýva väčšinu genómu	funguje iba pre cieľové oblasti
Fylogenetická inferencia	výpočtovo náročné, ale dobré na všetkých úrovniach divergencie	dobré pre tvary fylogenetických stromov, ale nie dĺžky vetiev	dobré na plytké až stredné úrovne divergencie, ale potrebné skúšať rôzne parametre filtrovania	obmedzené, ale možné	lepšie oproti RAD, pretože bude menej chýbajúcich dát medzi vzorkami
Genetické kríženia/mapovacie panely	drahé	skvelé	skvelé, pretože umožňuje mnoho jedincov	možno	slabé
Molekulárna evolúcia	najlepšie	slabé	slabé	slabé	dobré, ak sa zaujímate iba o cieľené oblasti

Presnosť Genomického Sekvenovania: Úloha Coverage a Read Depth

Pokrytie (*coverage*) a hĺbka čítania (*Read Depth*) a sú pojmy, ktoré sa často používajú v sekvenovaní genómu a sú úzko prepojené.

1. Dĺžka čítania:

- Označuje počet krát, kedy je konkrétny nukleotid v genóme pokrytý sekvenčnými čítaniami.
- V praxi to znamená, že ak máme napríklad *read depth* 10, znamená to, že daný nukleotid bol sekvenovaný 10-krát.
- Vyššia hĺbka pokrytia znamená, že každá báza bola prečítaná viackrát, čo zaručuje, že sekvencia je čítaná s dostatočnou presnosťou určenia báz a pomáha znižovať chyby a šum.
- Chyby v pokrytí môžu vzniknúť z rôznych faktorov, vrátane chýb v sekvenovaní, pri príprave knižnice a v dôsledku odchýlok pri čítaní.

2. Pokrytie:

- Pokrytie je miera, ktorá udáva, akú časť celkového genómu pokrývajú sekvenčné čítania.
- Môže byť vyjadrené ako percento alebo pomer celkovej dĺžky čítaní k dĺžke referenčného genómu.
- Vyššia šírka pokrytia znamená, že väčšia časť genómu bola prečítaná, bez ohľadu na to, koľkokrát bola každá báza prečítaná, čím zaručuje, že všetky regióny cieľovej sekvencie sú zastúpené.

3. Vypočítanie pokrytia:

- Pokrytie vypočítame pomocou vzorca:

$$\text{Coverage} = \frac{\text{Read depth}}{\text{Dĺžka referenčného genómu organizmu}}$$

- Kde „Dĺžka referenčného genómu“ je celkový počet nukleotidov v referenčnom genóme.

Príklad

- Predpokladajme, že máme 1 000 čítaní, pričom každé čítanie má dĺžku 150 nukleotidov.
- Read depth bude: $1\,000 \times 150 = 150\,000$ nukleotidov
- Ak je dĺžka referenčného genómu 3 milióny nukleotidov, pokrytie bude:

$$\text{Pokrytie} = \frac{150\,000}{3\,000\,000} = 0,05 = 5\%$$

Príklad

Ak sekvenujeme genóm s 1000 bázovými párami.

- Vysoká šírka, nízka hĺbka:

Ak je pokrytých 900 z 1000 báz, ale každá báza je prečítaná iba raz, šírka pokrytia je vysoká (90 %), ale hĺbka je nízka ($1\times$), čiže chybovosť je vysoká.

- Nízka šírka, vysoká hĺbka:

Ak je pokrytých iba 500 z 1000 báz, ale každá z týchto báz je prečítaná 10-krát, šírka pokrytia je nízka (50 %), ale hĺbka je vysoká ($10\times$), čiže chybovosť je menšia.

- Vysoká šírka, vysoká hĺbka:

Ak je pokrytých 950 z 1000 báz a každá báza je prečítaná 20-krát, šírka pokrytia je vysoká (95 %) aj hĺbka je vysoká ($20\times$), chybovosť je malá.

11.2 Genetická premenlivosť, štruktúra a problémy malých populácií

Genetická premenlivosť

DNA je základná molekula nesúca genetickú informáciu, ktorej sekvencia určuje dedičné vlastnosti organizmu. DNA je v bunke organizovaná do chromozómov, ktoré zabezpečujú jej stabilitu, replikáciu a segregáciu počas bunkového delenia. Na chromozómoch sa nachádzajú gény, definované ako funkčné úseky DNA kódujúce proteíny alebo funkčné RNA. Jednotlivé gény môžu existovať vo viacerých sekvenčných variantoch, tzv. alelách, ktoré vznikajú mutáciami v DNA. Rozdiely v alelách medzi jedincami a ich frekvencie v populácii predstavujú genetickú premenlivosť, ktorá je základným predpokladom evolučných procesov, adaptácie a dlhodobého prežitia populácií. Genetická premenlivosť v rámci druhu sa zvyčajne nazýva genetická diverzita. Zjednodušene genetická premenlivosť vzniká preto, že gény uložené na chromozómoch majú rôzne alely, ktoré sa líšia v sekvencii DNA. Napríklad populácia s mnohými rôznymi alelami na jednom chromozómovom lokuse má vysokú mieru genetickej premenlivosti. Genetická premenlivosť je nevyhnutná pre prirodzený výber, pretože prirodzený výber môže iba zvyšovať alebo znižovať frekvenciu alel, ktoré už existujú v populácii.

Zdroje genetickej premenlivosti

Duplicitné gény, mutácie alebo iné procesy môžu vytvárať nové alely génov. Alely sú fyzicky uložené na chromozómoch a ich frekvencie a kombinácie u jedincov určujú genetickú premenlivosť populácie. Nová genetická premenlivosť sa môže vytvárať v rámci generácií v populácii, takže populácia s veľkým reprodukčným potenciálom (*reproduction rate*) bude pravdepodobne mať vysokú genetickú variabilitu. Avšak existujúce gény môžu byť usporiadané novými spôsobmi v dôsledku prekríženia chromozómov (*crossing over*) a rekombinácie počas sexuálnej reprodukcie. Celkovo sú hlavnými zdrojmi genetickej variability vznik nových alel, zmena počtu alebo polohy génov, rýchla reprodukcia a sexuálna reprodukcia.

Genetická premenlivosť je výsledkom evolučných procesov:

1. mutácia
2. náhodné párenie medzi organizmami (*panmixia*)
3. náhodné oplodnenie
4. *crossing over* (alebo rekombinácia) medzi chromatídami homologických chromozómov počas meiózy.

Genetická variabilita je výhodná, pretože umožňuje niektorým jedincom v populácii prispôbiť sa meniacemu sa prostrediu. Prirodzený výber pôsobí priamo iba na fenotyp a väčšia genetická variabilita v populácii zvyčajne umožňuje väčšiu fenotypovú variabilitu. Niektoré nové alely zvyšujú schopnosť organizmu prežiť a reprodukovať sa, čo následne zabezpečuje prežitie alely v populácii. Iné nové alely môžu byť okamžite škodlivé (napríklad deformovaný proteín prenášajúci kyslík) a organizmy nesúce tieto nové mutácie vyhynú. Neutrálne alely nie sú selektované pozitívne ani negatívne a zvyčajne zostávajú v populácii.

Niektoré druhy vykazujú geografickú variabilitu, ako aj variabilitu v rámci populácie. Geografická variabilita, alebo rozdiely v genetickej štruktúre rôznych populácií, sa často vyskytujú, keď sú populácie geograficky oddelené environmentálnymi bariérami alebo keď sú vystavené selekčným tlakom z iného prostredia. Jedným príkladom geografickej premenlivosti je klínálna premenlivosť, čo je plynulá zmena fenotypových znakov alebo frekvencií alel populácií pozdĺž environmentálneho gradientu, napríklad nadmorskej výšky alebo zemepisnej šírky spôsobená rozdielnym selekčným tlakom.

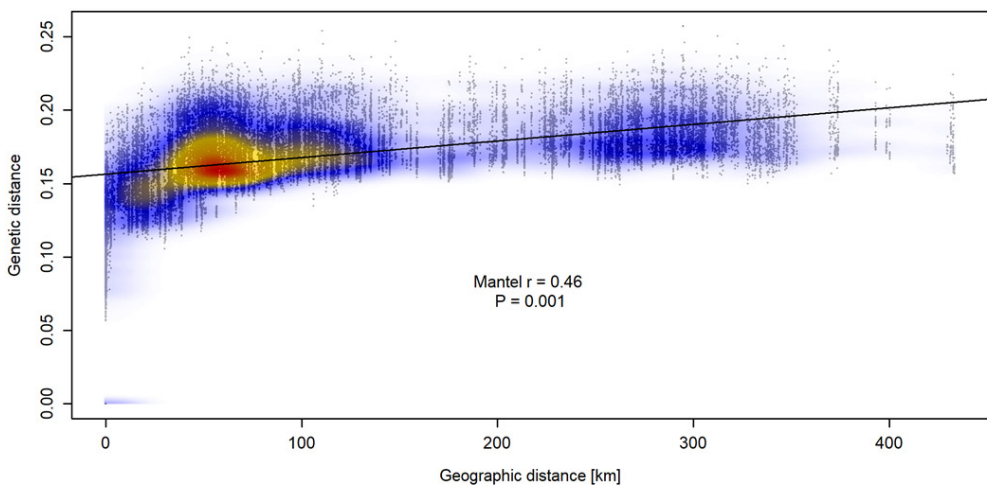
Genetická diferenciácia

Genetická diferenciácia sa vzťahuje na variabilitu medzi populáciami jedného druhu, ktorá je spôsobená rozdielmi v genetickej štruktúre. Genetická diferenciácia je základom pre evolúciu nových druhov (speciácia) a môže ovplyvniť adaptáciu populácií na rôzne prostredia. Môže byť vyjadrená pomocou rôznych genetických parametrov, ako sú alelické frekvencie a genetické vzdialenosti.

Genetickú diferenciáciu meriame pomocou F-štatistiky (ANOVA). Genetické vzdialenosti (napr. F_{ST}) sa používajú na meranie genetickej diferenciácie medzi populáciami. Medzi jedincami môžeme merať napr. proporciu spoločných alel D_{PS} . Rozpoznanie genetickej diferenciácie populácií je dôležité pre ochranu a manažment druhov, aby sa predišlo strate genetickej premenlivosti.

Genetická diferenciácia resp. štruktúrovanosť populácií vzniká v dôsledku:

- Geografickej izolácie, pri ktorej sú populácie odlišené pôsobením geografickej vzdialenosti, pričom menej geograficky vzdialené jedince a populácie sú vzájomne príbuznejšie v dôsledku vyššej pravdepodobnosti vzájomného párenia ako medzi geograficky vzdialenejšími populáciami a jedincami (obr. 62).
- Environmentálnej vzdialenosti jedince a populácie oddelené fyzickými bariérami (napr. pohoria, rieky), majú obmedzené možnosti migrácie, čo vedie ku genetickým rozdielom.
- Selekcie keď rôzne ekologické podmienky môžu viesť k rôznym selekčným tlakom na genóm, čo ovplyvňuje genetickú štruktúru populácií. Selekciou alel vznikajú adaptácie na rôzne podmienky prostredia.
- Príbuzenského párenia (inbrídingu) u malých populácií, čo znižuje ich genetickú variabilitu a zvyšuje diferenciáciu.



Obr. 62. Príklad znázornenia izolácie vzdialenosťou. Graf znázorňuje štatisticky významný nárast genetickej diferenciácie so stúpajúcou Euklidovskou geografickou vzdialenosťou. Genetická diferenciácia bola meraná párovými genetickými vzdialenosťami medzi jedincami a geografická vzdialenosť bola meraná párovými euklidovskými vzdialenosťami medzi jedincami (zdroj © Peter Klinga).

11.2.1 Faktory genetickej premenlivosti a problémy malých populácií

Genetická premenlivosť populácie je výsledkom pôsobenia evolučných faktorov: mutácií, rekombinácie, toku génov, genetickeho driftu, prirodzeného výberu a efektívnej veľkosti populácie.

Mutácie predstavujú primárny zdroj genetickej variability, pretože vytvárajú nové alely prostredníctvom zmien v sekvencii DNA.

Rekombinácia počas meiózy vedie k novým kombináciám alel v genotypoch potomstva, čím zvyšuje genetickú rozmanitosť jedincov bez vzniku nových alel.

Tok génov, sprostredkovaný migráciou jedincov medzi populáciami, zabezpečuje prenos alel a prispieva k zvyšovaniu genetickej premenlivosti v prijímajúcich populáciách. Súčasne však znižuje genetickú diferenciáciu medzi populáciami.

Genetický drift spôsobuje náhodné zmeny frekvencií alel, najmä v malých populáciách, a často vedie k úbytku genetickej variability v dôsledku straty alel.

- Prirodzený výber mení genetickú štruktúru populácií zvýhodňovaním alel, ktoré zvyšujú reprodukčný úspech jedincov; v závislosti od typu selekcie môže genetickú premenlivosť znižovať alebo udržiavať.
- Pohlavné rozmnožovanie prispieva k genetickej variabilite neustálym miešaním genetickej informácie rodičov a tvorbou nových genotypových kombinácií.
- Veľkosť populácie, vyjadrená efektívnou veľkosťou populácie, ovplyvňuje mieru genetickej premenlivosti. V malých populáciách má genetický drift a inbríding výraznejší účinok, zatiaľ čo veľké populácie si udržiavajú vyššiu genetickú diverzitu.

Evolučné faktory závisia aj od biologických vlastností druhu (areál výskytu, schopnosť disperzie, reprodukčné stratégie) a od ľudskej činnosti (fragmentácia biotopov, introdukcia nepôvodných druhov, zber a lov). Miera ich vplyvu súvisí s efektívnou veľkosťou populácie. Malé populácie sú obzvlášť citlivé na genetické výkyvy spôsobené náhodnými environmentálnymi udalosťami. Populácie vo fragmentovanom prostredí typicky vykazujú nižšiu genetickú diverzitu a často sa u nich pozoruje efekt zakladateľa (*founder effect*) a efekt hrdla fľaše (*bottleneck effect*). Obmedzené pohyby medzi fragmentmi navyše zvyšujú riziko príbuzenského kríženia.

Hardy-Weinbergova rovnováha je teoretický model ideálnej populácie, ktorý slúži ako referenčný bod. Ukazuje, čo by sa stalo, keby nepôsobili žiadne evolučné faktory – genetická variabilita by sa nemenila medzi generáciami. Tento stav by nastal iba v nekonečne veľkej populácii s náhodným párením, bez mutácií, selekcie a migrácie. Všetky reálne populácie sa od tohto ideálu odchyľujú. Pretože náhodný výber môže odstrániť, ale nie nahradiť alelu, a pretože náhodné poklesy alebo nárasty vo frekvencii alel ovplyvňujú očakávané rozdelenia alel pre nasledujúcu generáciu, genetický drift posúva populáciu smerom k genetickej uniformite v priebehu času. Keď alela dosiahne frekvenciu 1 (100 %), hovorí sa, že je alela v populácii fixovaná, a keď alela dosiahne frekvenciu 0 (0 %), je stratená. Akonáhle sa alela stane fixovanou, genetický drift pre túto alelu sa zastaví a frekvencia alely sa nemôže zmeniť, pokiaľ nie je do populácie zavedená nová alela prostredníctvom mutácie alebo prenosu génov (napr. migráciou alebo iným prísunom nových jedincov). Takže, aj keď je genetický drift náhodným, bezcieľným procesom, pôsobí na pokles genetickej premenlivosti v priebehu času.

Malé populácie sú definované ako skupiny organizmov v obmedzených geografických oblastiach s nízkou genetickou premenlivosťou. Sú zraniteľné genetickým driftom a environmentálnymi výkyvmi. Bottleneck a efekt zakladateľa znižujú genetickú premenlivosť, čo vedie k zníženej adaptabilite a vyššiemu riziku vyhynutia.

V malých populáciách dochádza k nárastu frekvencie škodlivých mutácií a k akumulácii genetickej záťaže (*genetic load*).

Typy genetickej záťaže:

1. Segregačná záťaž – vzniká segregáciou alel pri pohlavnom rozmnožovaní. Heterozygotné jedince môžu prenášať škodlivé recesívne alely, ktoré sa pri krížení heterozygotov ($Aa \times Aa$) prejavajú u 25 % potomstva ako homozygotné jedince s nevýhodnými alelami (aa).
2. Fixačná záťaž – vzniká pri nahrádzaní menej výhodných alel výhodnejšími v evolučnom procese; predstavuje „cenu“ adaptácie na meniace sa prostredie.
3. Mutačná záťaž – spôsobená neustálym vznikom nových mutácií; väčšina spontánnych mutácií je škodlivá. Rovnováha medzi vznikom mutácií a ich elimináciou selekciou umožňuje evolučnú flexibilitu.
4. Balančná záťaž – vzniká udržiavaním polymorfizmu (napr. heterozygotnou výhodou, heteróznym efektom), ktorý umožňuje udržať nevýhodné alely v populácii.

Box 11. Kosáčikovitá anémia

Kosáčikovitá anémia – dedičná genetická porucha hemoglobínu – heterozygoti (AS) sú odolní voči malárii v dôsledku balansujúcej selekcie, homozygoti (SS) majú anémiu. V populácii sa udržiavajú aj nevýhodné alely, pretože heterozygoti majú selekčnú výhodu v prostredí s maláriou. Dôsledky genetickej záťaže pre populácie: znížený fitness homozygotov môže ovplyvniť reprodukčný potenciál a zdravie populácie; dlhodobo môže viesť k evolučnej zmene frekvencií alel. Genetická záťaž sama o sebe zriedka spôsobí úplné vyhynutie, pokiaľ populácia má dostatočnú veľkosť a tok génov. Skôr sa prejavuje lokálnym poklesom fitness alebo zvýšenou náchylnosťou na environmentálny stres.

Genetický drift a prirodzený výber

Teória genetického driftu je dôležitá pre pochopenie evolučných procesov a má významné využitie pri ochrane biodiverzity a analýze genetickej variability. Genetický drift je náhodný proces zmeny vo frekvenciách alel, nezávislý od fitness jedince a prispieva k divergencii medzi populáciami, vzniku lokálnych ekoforiem a prispieva k procesu speciácie. Jeho účinok je výraznejší v malých a izolovaných populáciách. Pri reprodukcii sa niektoré alely môžu náhodne prenášať z jednej generácie do nasledujúcej, čo vedie k fluktuáciám v ich zastúpení a k strate genetickej variability.

Teória prirodzeného výberu tvrdí, že jedince s vyššou fitness sa reprodukujú častejšie, zatiaľ čo jedince s nižšou fitness prenesú menej génov do nasledujúcej generácie. Napríklad silný samec jeleňa sa spáruje s väčším počtom samíc, a preto sa jeho gény častejšie prenesú do potomstva, čo postupom času zvyšuje frekvenciu alel spojených s veľkosťou a silou v populácii. Naopak, ak z populácie odstraňujeme najsilnejších jedincov, môžeme zmeniť frekvencie alel proti prirodzenému výberu a umožniť šírenie génov slabších jedincov. Na rozdiel od prirodzeného výberu, genetický drift popisuje vplyv náhody na frekvencie alel v populácii v neprítomnosti selekčného tlaku. Náhodné prežitie a reprodukcia slabších jedincov môže spôsobiť, že určité alely sa šíria alebo strácajú nezávisle od toho, či ich nositelia majú vyššiu alebo nižšiu fitness. Napríklad samec jeleňa nemusí byť najväčší alebo najsilnejší, aby sa jeho gény preniesli do ďalšej generácie – stačí, že je náhodne prítomný, keď je samica pripravená na párenie. Genetický drift teda predstavuje posun vo frekvenciách alel v populácii v dôsledku náhodných udalostí, najmä v malých populáciách.

Dôsledky pôsobenia genetického driftu

Strata genetickej variability: môže viesť k zníženej schopnosti populácie prispôbiť sa meniacim sa podmienkam prostredia.

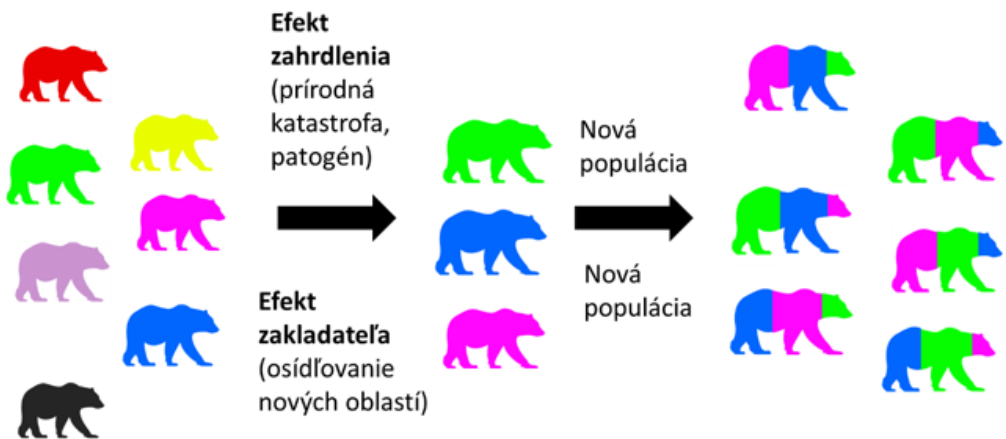
S tým súvisí:

- Fixácia alel: Niektoré alely môžu byť fixované (stávajú sa 100 % prítomné), zatiaľ čo iné môžu úplne vymiznúť.
- Divergencia populácií: Genetický drift môže viesť k zmene frekvencii alel v populácii a tým k divergencii medzi populáciami, vzniku lokálnych ekoforiem a prispieť k procesu speciácie, najmä v izolovaných populáciách.
- Uniformita populácie: Princíp Hardy-Weinbergovej rovnováhy spočíva v tom, že v dostatočne veľkých populáciách sa frekvencie alel z jednej generácie na druhú nemenia, pokiaľ nie je rovnováha narušená migráciou, genetickou mutáciou alebo selekciou.

Evolučné faktory ovplyvňujúce genetický drift:

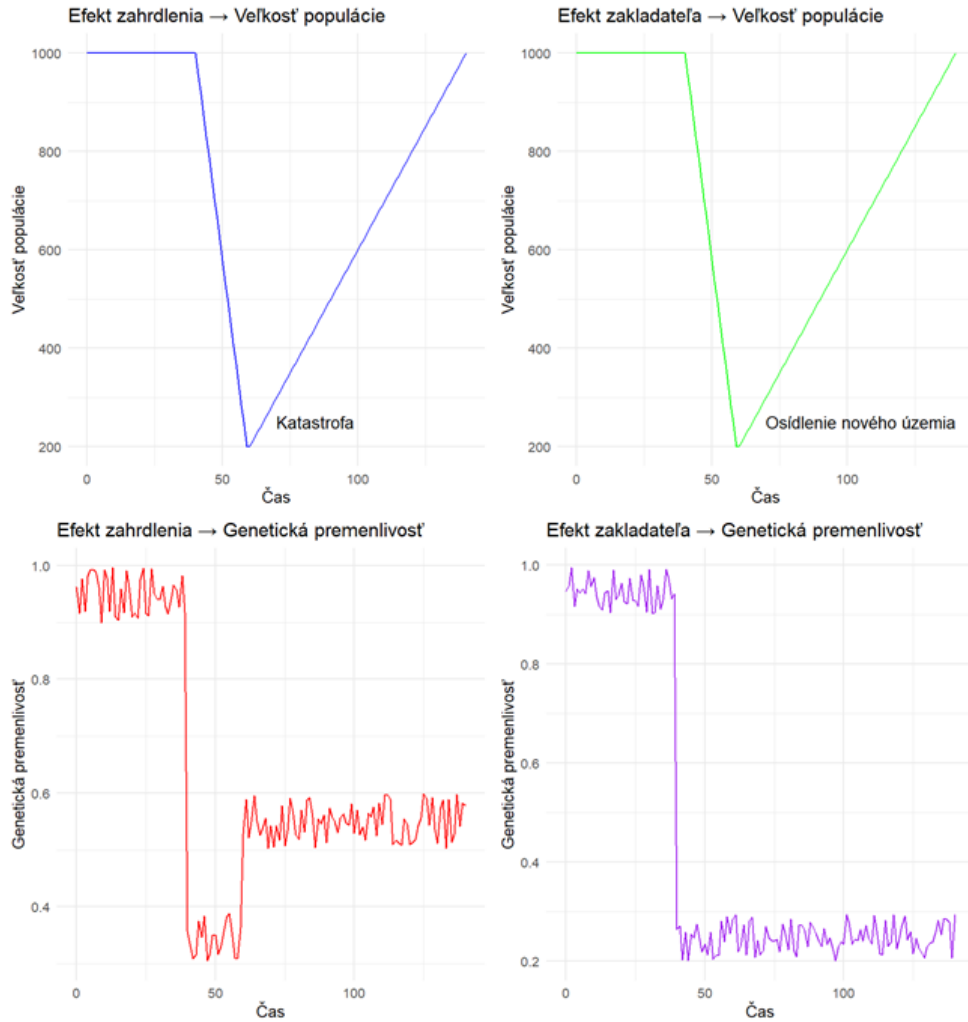
1. **Efekt zahrdenia populácie:** Udalosti ako prírodné katastrofy alebo choroby, ktoré náhodne zabijú veľkú časť populácie môžu náhodne ovplyvniť, ktoré jedince prežijú a reprodukovujú sa, čím sa zmení genetická skladba (štruktúra) populácie. Efekt zahrdenia nastáva, keď prežije len niekoľko jedincov, ktorí sú nositeľmi určitých alel a iba tie sa prenášajú do následných generácií, čo znižuje variabilitu v genofonde populácie. Genetická štruktúra preživších jedincov sa stáva genetickou štruktúrou celej populácie, ktorá môže byť veľmi odlišná od populácie pred katastrofou a môže dochádzať k akumulácii škodlivých mutácií počas generácií (obr. 63, obr. 64). Takéto mutácie môžu vytvoriť „expanzný náklad“, ktorý negatívne ovplyvňuje fitness jedincov v novo kolonizovaných biotopoch. Faktory prospievajúce k efektu zahrdenia zahŕňajú selektívne tlaky pôsobiace počas zmenšenia počtu jedincov v populácii, ktoré môžu zosilniť dopad genetického driftu a znížiť adaptívny potenciál populácie v priebehu času. Nakoniec, dôsledky takýchto demografických zahrdení majú trvalé dôsledky pre ochranu a evolučné procesy. Efekt zahrdenia predstavuje kritické riziko v oblasti ochranárskej biológie, pretože znížená genetická premenlivosť môže zvýšiť riziko vyhynutia a brániť dlhodobej životaschopnosti populácie. Napríklad štúdia genetickej variability vlkov ukázala, že talianske a iberijské vlky sú geneticky odlišné od ostatných populácií vlkov v Európe práve v dôsledku silného genetického driftu počas efektu zahrdenia a genetická štruktúra populácií neodráža fylogenetické vzťahy medzi líniami, ktoré vznikli počas postglaciálnej kolonizácie. Podobne, história populácie kamzíka vrchovského tatranského (*Rupicapra rupicapra tatraca*) naznačuje drastický pokles z tisícov na niekoľko desiatok jedincov, čo vysvetľuje rýchle zníženie genetickej premenlivosti a zvýšenie rizika vyhynutia izolovanej populácie kamzíka v Tatrách, čo je dôsledkom efektu zahrdenia. Tieto príklady zdôrazňujú nevyhnutnosť pochopenia efektu zahrdenia, ktorý tu zohráva kľúčovú úlohu pri formovaní životaschopnosti populácie a je potrebné ho zohľadniť v ochranárskych opatreniach.
2. **Efekt zakladateľa** je významný evolučný proces, ktorý sa vyskytuje, keď malá skupina jedincov zakladá novú populáciu. V novej populácii sa vyskytujú alely zakladajúcich jedincov, čiže aj v nasledujúcich generáciách sú jedince s odlišnými frekvenciami alel ako v pôvodnej populácii, čo vedie k zníženej genetickej premenlivosti v porovnaní s pôvodnou populáciou. Tento fenomén sa zvyčajne vyskytuje v dôsledku izolácie týchto zakladateľských jedincov, ktorí nesú iba obmedzenú podmnožinu genetickej premenlivosti prítomnej vo väčšej zdrojovej populácii (obr. 64). V priebehu času, ako táto nová populácia rastie, genetické znaky zakladateľov sa stávajú dominantnými, potenciálne sa zosilňujú škodlivé alely, čím vzniká tzv. expanzná záťaž (*expansion load*) a obmedzuje sa adaptačný

potenciál v meniacich sa prostredia. Okrem toho, genetická diferenciácia pozorovaná v izolovaných populáciách, ako napríklad populácia hlucháňa na Slovensku, zdôrazňuje dopad efektu zakladateľa a následnej izolácie západokarpatskej populácie pôvodom z populácie vo Východných Karpatoch. Pochopenie efektu zakladateľa je nevyhnutné pre pochopenie adaptívneho potenciálu a odolnosti malých populácií v meniacich sa podmienkach prostredia. Okrem toho, môže nerovnováha v genetickej štruktúre brániť reakciám na selekčné tlaky, čo zdôrazňuje kritickú interakciu medzi genetickým driftom a neadaptívnymi znakmi v malých populáciách. Efekt zakladateľa sa považuje za kľúčový faktor v genetickej histórii populácie Afrikáncov, potomkov holandských osadníkov v Južnej Afrike. Dokazujú to mutácie, ktoré sú bežné medzi Afrikáncami, ale zriedkavé vo väčšine iných populácií. To pravdepodobne súviselo s tým, že vyšší ako normálny podiel zakladateľských holandských kolonistov mal tieto mutácie. V dôsledku toho populácia Afrikáncov vykazuje nezvyčajne vysokú incidenciu Huntingtonovej choroby (HD) a Fanconiho anémii (FA), genetickej poruchy známej tým, že spôsobuje abnormality kostnej drene, dokonca aj rakovinu.



Obr. 63. Ilustratívne znázornenie efektu zahrdlenia a zakladateľa. Farebne odlišené jedince znázorňujú genetickú premenlivosť populácie s tým, že každý jedinec je nositeľom rôznych alel. Po zmenšení populácie v dôsledku prírodnej katastrofy alebo osídlenia novej oblasti je nová mikropopulácia založená len z malého počtu jedincov a teda aj genetická premenlivosť novej populácie odráža premenlivosť preživších alebo zakladajúcich jedincov (zdroj © Peter Klinga).

- 3. Veľkosť populácie:** Genetický drift má väčší dopad na malé populácie, kde môže viesť k rýchlej strate alel. Ak jeden jedinec populácie desiatich jedincov náhodou zahynie v mladom veku predtým, ako zanechá potomkov pre nasledujúcu generáciu, všetky jeho gény (1/10 genofondu populácie) sa náhle stratia. V populácii 100 jedincov tento jedinec predstavuje iba 1 percento celkového genofondu; preto má genetický drift oveľa väčší dopad na genetickú štruktúru malej ako väčšej populácie.



Obr. 64. Znáznornenie vplyvu efektu zahrdenia a efektu zakladateľa na veľkosť populácie a jej genetickú diverzitu. V prípade prírodnej katastrofy vidíme možnosť čiastočnej obnovy genetickej premenlivosti prostredníctvom toku génov imigráciou jedincov z populácií nezasiahnutých katastrofou, zatiaľ čo pri osídlení nového izolovaného územia dochádza k trvalému zníženiu genetickej premenlivosti v novej populácii, pokiaľ nedôjde k translokácii alebo imigrácii nových jedincov (zdroj © Peter Klinga).

Dôsledky pre ochranársku biológiu

Efekt zahrdenia aj efekt zakladateľa ilustrujú zložitú interakciu medzi demografickou históriou a genetickou premenlivosťou. Pochopenie dynamiky populácií, najmä účinkov efektu zahrdenia a zakladateľa, je kľúčové pre efektívnu ochranársku biológiu. Napríklad dlhodobá izolácia a demografické fluktuácie vlkov v Európe viedli k nízkej genetickej variabilite lokálnych populácií, čo naznačuje, že aj dlhodobé selekčné tlaky môžu vzniknúť z historických zahrdení. Tieto poznatky zdôrazňujú význam integrácie evolučnej histórie do ochranárskeho manažmentu, čo umožňuje efektívnejší prístup k zachovaniu genetickej premenlivosti v malých, zraniteľných populáciách.

Stratégie na zmiernenie účinkov efektu zahrdenia a efektu zakladateľa

Riešenie problémov, ktoré spôsobujú efekt zahrdenia a efekt zakladateľa v malých populáciách, si vyžaduje efektívne manažérske stratégie, ktoré prioritizujú genetickú premenlivosť. Jedným z kľúčových prístupov je implementácia techník optimalizácie párenia do chovov ex-situ, ktoré zahŕňajú znižovanie inbrídingu výberom párov s nižšou príbuznosťou. Druhou možnosťou je obnova konektivity a zároveň obnova a zlepšenie toku génov medzi fragmentovanými populáciami. Ak obnova konektivity nie je možná, prichádzajú do úvahy translokácie, ktorým musí predchádzať genetický prieskum. Identifikujeme vhodné zdrojové kolónie s minimálnou mierou inbrídingu adaptované na rovnaké podmienky prostredia ako aj prijímajúca populácia. Tieto stratégie môžu zmierniť stratu genetickej premenlivosti, čím sa zlepši životaschopnosť populácií.

Inbrídingová depresia

Tento jav sa prejavuje znížením životaschopnosti a reprodukčnej zdatnosti potomstva, ktoré vzniklo križením príbuzných jedincov. V prírodných populáciách zohráva významnú úlohu pri regulácii populačnej dynamiky a evolučných procesoch. Škodlivé alely sú v genóme rozptýlené nerovnomerne a niektoré chromozómové oblasti vykazujú vyššiu citlivosť na inbríding, avšak medzi druhmi existujú významné rozdiely v distribúcii škodlivých alel.

Inbrídingová depresia vzniká prostredníctvom dvoch hlavných genetických mechanizmov:

1. Hypotéza dominancie
 - Zvýšenie homozygotnosti škodlivých recesívnych alel
 - Odhalenie škodlivých mutácií, ktoré boli v heterozygotnom stave maskované
2. Hypotéza straty heterozygotnosti
 - Zníženie heterozygotnosti v lokusoch s nadmernou dominanciou
 - Strata výhody heterozygotného stavu

Inbrídingová depresia sa môže prejavovať v rôznych štádiách životného cyklu:

- Znížená životaschopnosť embryí
- Zvýšená úmrtnosť mláďat
- Znížená plodnosť dospelých jedincov
- Morfológické abnormality
- Znížená odolnosť voči chorobám

Populačné dôsledky

V populačnom meradle inbríding vedie k:

- Zníženiu priemernej fitness populácie
- Zmenšeniu efektívnej veľkosti populácie
- Zvýšeniu rizika lokálneho vyhynutia
- Zníženiu adaptívneho potenciálu

V priebehu generácií môže dochádzať k prirodzenému odstráneniu škodlivých alel z populácie čistením genetickej záťaže (purging selection):

- Proces je účinnejší proti silne škodlivým mutáciám
- Vyžaduje viacero generácií
- Efektivita závisí od veľkosti populácie a intenzity selekcie

Behaviorálne adaptácie

Mnohé druhy vyvinuli mechanizmy na predchádzanie inbrídingu ako sú pohlavne špecifická migrácia, rozpoznávanie príbuzných jedincov, preferenčný výber nepríbuzných partnerov, hierarchia alebo sociálne usporiadanie, ktoré podporuje výmenu genetického materiálu medzi rôznymi skupinami, reprodukčné stratégie (polygamia a promiskuita), behaviorálne signály a genetická kontrola (napríklad imunitné reakcie voči príbuzenským partnerom).

Pre ochranu ohrozených druhov je kľúčové monitorovanie genetickej variability, udržiavanie dostatočnej veľkosti populácie, zabezpečenie genetickej konektivity medzi populáciami a implementácia programov genetického manažmentu. V prípadoch silnej inbrídingovej depresie môže byť potrebná genetická záchrana, ktorá zahŕňa introdukciiu nepríbuzných jedincov, asistovanú migráciu medzi populáciami alebo umelé kríženie na zvýšenie genetickej premenlivosti.

Hybridizácia a outbrídingová depresia

Hybridizácia predstavuje kríženie medzi geneticky odlišnými populáciami alebo druhmi. Zatiaľ čo v niektorých prípadoch môže viesť k pozitívnym efektom (heteróznym efekt), často môže spôsobiť outbrídingovú depresiu – zníženie fitness hybridného potomstva. Efekty hybridizácie sa často prejavujú v dlhšom časovom horizonte. Výskumy ukazujú, že negatívne dopady sa môžu akumulovať počas viacerých generácií, pričom druhá generácia (F2) často vykazuje výraznejšie príznaky outbrídingovej depresie než prvá generácia hybridov. Riziká outbrídingu môžu byť porovnateľné s rizikami inbrídingu, čo je dôležité pri manažmente malých populácií.

Mechanizmy outbrídingovej depresie

Outbrídingová depresia sa môže prejavovať dvoma hlavnými mechanizmami:

1. Narušením lokálnych adaptácií – keď sa krížia populácie adaptované na rozdielne podmienky prostredia
2. Genetickou inkompatibilitou – pri kombinovaní vzdialene príbuzných genómov, čo môže viesť k narušeniu ko-adaptovaných génových komplexov.

Pri hodnotení rizík outbrídingovej depresie je potrebné zvážiť:

- Geografickú vzdialenosť populácií
- Ekologické rozdiely medzi habitatmi
- Genetickú vzdialenosť medzi populáciami
- História toku génov medzi populáciami.

Metodologický postup v prípade, že sa v ochranárskych programoch rozhodneme pre kríženie geneticky vzdialených populácií:

1. Systematické hodnotenie rizík pred realizáciou kríženia
2. Dlhodobý monitoring hybridných populácií
3. Postupné testovanie kompatibility na malých vzorkách pred rozsiahlym krížením.

Literatúra

Crnokrak & Roff (1999), Flanagan *et al.* (1999), Flaxman (2013), Frankham *et al.* (2011), Hedrick & Garcia-Dorado (2016), Hindrikson *et al.* (2017), Charlesworth & Willis (2009), Keller & Waller (2002), Lande (1988), Ilenddorf & Hard (2009), Luenser *et al.* (2005), Peischl & Excoffier (2016), Ralls *et al.* (2020), Whitlock *et al.* (2000), Wright (1943), Zemanová *et al.* (2015)

Kontrolné otázky

- Definujte genetickú premenlivosť a vysvetlite jej význam pre prežitie druhov.
- Aké sú hlavné zdroje genetickej premenlivosti? Vysvetlite každý z nich.
- Čo je to geografická premenlivosť a klinálna premenlivosť? Uveďte príklady.
- Vysvetlite rozdiel medzi efektom hrdla fľaše (*bottleneck*) a efektom zakladateľa.
- Charakterizujte Hardy-Weinbergovu rovnováhu a podmienky jej platnosti.
- Aký je rozdiel medzi genetickým driftom a prirodzeným výberom?
- Vysvetlite rôzne typy genetickej záťaže a ich význam pre populácie.
- Čo je inbrídingová depresia a aké sú jej hlavné prejavy?
- Charakterizujte outbrídingovú depresiu a jej mechanizmy.
- Aké sú hlavné problémy malých populácií z genetického hľadiska?

11.2.2 Monitoring genetickej premenlivosti

Genetická premenlivosť je jedným zo základných pilierov biodiverzity a je nevyhnutná pre udržanie schopnosti organizmov prispôbovať sa meniacim podmienkam prostredia. V priebehu evolúcie umožnili rozdiely medzi jedincami a prírodný výber prežiť len geneticky najlepšie vybaveným jedincom, ktorí sú schopní prispôbovať sa zmenám životného prostredia. Napriek takémuto veľkému významu, genetická diverzita a jej pravidelný monitoring stále nie sú bežnou súčasťou monitorovacích schém v ochrane prírody.

Rastliny a živočíchy žijúce predovšetkým na okrajoch areálu sú vystavené väčšiemu tlaku klimatických zmien ako populácie žijúce v ekologickom optime. Ich prežitie stále viac závisí od schopnosti odolať extrémnym teplotám, dlho trvajúcim obdobiam sucha a invázii nových druhov, ktoré osídľujú danú oblasť.

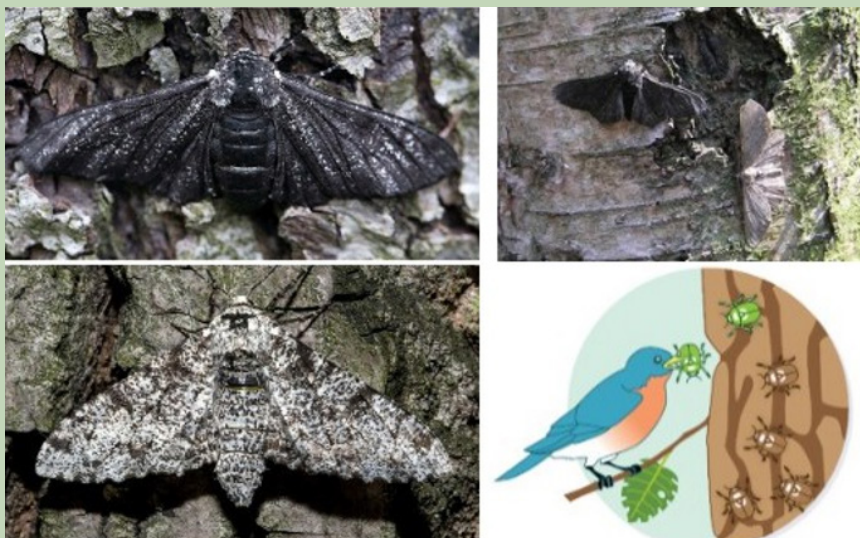
Genetickým monitoringom populácií v uvedených oblastiach získame informácie o schopnosti druhov adaptovať sa a odolávať nepriaznivým účinkom klimatických zmien. Pre odhalenie prípadného poklesu genetickej variability je potrebný systematický dlhodobý genetický monitoring, ktorého výsledkom by sa mal následne prispôbiť adaptívny manažment druhov naprieč celým klimatickým gradientom výskytu.

Okrem úzkej sústredenej pozornosti na vlajkové druhy, ako sú veľké šelmy, sa monitoring musí rozšíriť aj na menej charizmatické organizmy (obojživelníky, lesné dreviny, vtáky a iné), ktoré pravdepodobne zažívajú vážne dôsledky klimatických zmien v Európe.

Box 12. Evolúcia a prispôsobenie motýľov piadiviek na znečistené prostredie

Motýle piadivka, ktoré majú prevládajúcu bielu farbu krídel sa prispôbili tmavému pozadiu spôsobenému exhalátmi. Piadivky odpočívajú počas dňa na lišajníkoch na stromoch, pretože ich pôvodná biela forma krídel splyvala s bielosivou farbou lišajníka. V dôsledku znečisteného ovzdušia lišajníky vyhynuli a na ich miestach ostala tmavá kôra stromov, s ktorou splyvali lepšie jedince s čiernou formou krídel. V priebehu niekoľkých generácií, v dôsledku prirodzeného výberu v znečistenej oblasti prevládali čiernokrídle motýle, pretože boli menej nápadné na tmavom povrchu. Svojou kamuflážou sa účinnejšie vyhýbali predátorom, a preto lepšie preživali ako pôvodne bežné bielo sfarbené varianty (obr. 65). Táto farebná vlastnosť sa prenáša z rodičov na potomstvo prostredníctvom genetickej dedičnosti, ktorá je založená na genetickej premenlivosti. Genetická premenlivosť je základným prvkom premenlivosti jednotlivcov v rámci druhu a predstavuje surovinu pre evolúciu.

Teraz si predstavme, že akýkoľvek iný druh živočícha čelí klimatickým zmenám. Ako sa prispôbi meniacemu sa prostrediu, keď nemôže priamo regulovať teplotu svojho tela, ktorá sa v prostredí mení? Nadmerne vysoké teploty alebo dlho trvajúce suchá môžu byť smrteľné. Podobne ako v prípade tmavých a bielych „farebných variantov“, pravdepodobne existujú aj „suchu rezistentnejšie varianty“, pričom niektoré jedince dokážu lepšie odolávať vysokým teplotám a suchám ako iné. Je nepravdepodobné, že by tieto „teplu alebo suchu odolné“ varianty boli rovnomerne rozšírené v celom geografickom areáli druhu, ale sú najčastejšie v tých oblastiach, ktoré sú už v súčasnosti o niečo teplejšie. Genetické monitorovanie umožní lepšie predpovedať účinky klimatických zmien na šance druhov prežiť a poskytne cenné informácie pre zlepšenie ich ochranného manažmentu.



Obr. 65. Znáznomenie prírodného výberu na čiernokrídlu a bielokrídlu variantu motýľov piadivka (podľa <https://evolution.berkeley.edu/evolution-at-different-scales-micro-to-macro/what-is-microevolution/>, <https://askabiologist.asu.edu/activities/peppered-moth>).

Genetický monitoring definujeme ako kvantifikáciu zmien v genetických metrikách populácie alebo iných populačných údajoch generovaných pomocou molekulárnych markerov v čase. Monitoring musí mať zadanú časovú škálu pravidelných systematických meraní na rozdiel od prieskumu, ktorý odráža okamžitý pohľad na charakteristiky populácie v jednom časovom bode. Termíny monitoring a prieskum sa nesprávne považujú za synonymá a je potrebné ich odlišovať. Napríklad ak zhodnotíme genetickú premenlivosť hlucháňov za obdobie 7 rokov, považujeme to za prieskum, pretože údaje z obdobia siedmich rokov boli skombinované na poskytnutie jedného odhadu genetickej premenlivosti. Ale ak by sme hodnotili časové trendy zmeny genetickej premenlivosti hlucháňov za sedem rokov tak, že

porovnávame premenlivosť v dvoch alebo viacerých časových obdobiach, napríklad v rokoch 2010, 2012, 2014, 2016 môžeme hovoriť o monitoringu.

Genetický monitoring delíme do troch kategórií:

Kategória I zahŕňa použitie diagnostických molekulárnych markerov na tradičné monitorovanie populácií prostredníctvom identifikácie jedincov, populácií, druhov ich abundancie a denzity, zatiaľ čo Kategória II zahŕňa použitie genetických markerov na monitorovanie genetických parametrov premenlivosti, štruktúry a diferenciacie populácií. Kategória III zahŕňa použitie markerov v alebo pri adaptívnych génoch na odhad vplyvu environmentálnych zmien, epizootických ochorení alebo iných stresorov na adaptívnu odpoveď populácie.

1. Kategória I. Monitorovanie populácií založené na identifikácii jedincov

Diagnostické testy, ktoré používajú molekulárne markery, môžu identifikovať jedincov, populácie, druhy a iné taxonomické úrovne. Rozlišujeme metódy používajúce molekulárne markery na identifikáciu jedincov (Kategória Ia) od tých, ktoré identifikujú druhy alebo iné skupiny (rody, poddruhy alebo populácie; Kategória Ib). Parametre monitoringu kat. I nám neposkytujú priame indikátory o životaschopnosti populácií na rozdiel od parametrov monitoringu kat. II, ktorá sa zameriava na hodnotenie genetickej premenlivosti.

• Kategória Ia. Identifikácia a diagnostika jedincov

Na identifikáciu jednotlivcov v populácii sa používa molekulárna identifikácia jedinečných genotypov namiesto fyzických značiek alebo odlišností fenotypov jedincov.

Denzita a početnosť

Najbežnejšou metrikou používanou na monitorovanie populácií zvierat je denzita. Denzita môže byť tiež odhadnutá prostredníctvom analýz viacnásobných odchytoch (*capture mark recapture*, CMR). Tradične to vyžadovalo fyzický odchyt jedincov, ich označenie, vypustenie a následne opätovný odchyt označených jedincov. Pretože každý jedinec má jedinečný, prirodzene sa vyskytujúci genetický kód (genotyp), genotypovanie neinvazívne získaných vzoriek srsti, exkrementov, peria, alebo iných materiálov môže byť použité na viacnásobnú identifikáciu jedincov, čím sa eliminuje potreba fyzického chytania a označovania jedincov. Preto sa genetická CMR analýza zvyčajne používa na druhy, ktoré sú vzácne, ťažko chytateľné, nebezpečné alebo nákladné na odchyty.

CMR a SCR genotypov:

Odhady hustoty zvierat sú kľúčové pre posúdenie trendov, vyhodnotenie dynamiky populácií vo vzťahu k prírodným a antropogénnym disturbanciam a následne prijatie manažmentových opatrení. Modely opätovných záchytov (*capture mark recapture*, CMR) sú už dlhé roky štandardom na získavanie robustných odhadov hustoty zvierat. Tieto údaje môžu byť použité na odhadovanie pravdepodobnosti detekcie z viacnásobných záchytov identifikovaných genotypov jedincov, čo umožňuje štatisticky presné odhady hustoty (denzity) zvierat. Neinvazívne genetické vzorkovanie prostredníctvom individuálnych genotypov „zachytených“ zo vzoriek trusu, srsti alebo peria môže byť efektívnou alternatívou k živolovným odchytoch. Neinvazívne genetické vzorkovanie v kombinácii s CMR sa používa na odhadovanie hustôt pre mnohé nezvyčajné alebo ťažko zachytiteľné druhy, vrátane jaguárov, medved'ov, vlkov, rosomákov, hlucháňov a mnoho iných druhov, ktorých jedince nevieme odlíšiť a spočítať na základe vonkajších fenotypových znakov. Pre druhy, ktoré sa ťažko chytajú, genetické vzorkovanie často poskytuje robustnejšie vzorky a je nákladovo efektívnejšie ako chytanie do živolovných pascí, následné označenie a vypustenie, pretože trus a iné zdroje neinvazívnej DNA sú ľahko

zbierateľné. DNA sa extrahuje z chlpuv, peria alebo trusu a jedince sú zvyčajne identifikované na základe jedinečného genotypu. Tento prístup založený na identifikácii jedinečných genotypov umožňuje neinvazívne odhadovanie veľkosti a hustoty populácií, ktorý bol neskôr rozšírený o priestorové odhady (*Spatial Capture Recapture*, SCR). SCR sú rozšíreniami CMR a sú založené na analýze časového sledu zachytení konkrétnych jedincov v určitej časovej perióde. Genetické vzorkovanie získava ďalšiu (a často veľkú) výhodu v terénnych nákladoch, najmä na ťažko prístupných miestach, keď je časový sled odchytení jedincov pre analýzy CMR zostavený z údajov DNA zozbieraných počas jednej návštevy miesta. Počas jednej vzorkovacej periódy, môžu zvieratá zanechávať svoje genetické vzorky na viacerých miestach „pasciach“, čím sa generujú priestorové histórie zachytenia analogické časovým históriám zachytenia z živolovných pascí prípadne fotopascí.

Pri plánovaní časového dizajnu monitoringu početnosti poznáme dva prístupy:

1. Monitoring uzavretej populácie: potrebujeme zbierať vzorky v období, keď už prebehla najväčšia mortalita mláďat a nedochádza k rodeniu/liahnutiu mláďat, čím splníme základné predpoklady uzavretosti populácie,
2. Monitoring otvorenej populácie: ak nevieme dodržať podmienky uzavretosti populácie a vzorky sú zbierané dlhodobo aj počas rodenia/liahnutia mláďat, musíme použiť štatistické modely pre otvorené populácie (*Spatial capture recapture open population models*).

Získanie spoľahlivých odhadov populácie pomocou neinvazívneho vzorkovania závisí nielen od počtu genetických vzoriek zozbieraných v teréne, ale aj od podielu vzoriek, ktoré poskytujú správne genotypy. Aby sa minimalizovali chyby genotypovania a laboratórne náklady, musí byť terénne vzorkovanie navrhnuté tak, aby sa zabezpečilo, že genetické vzorky sú čerstvé a úspešnosť genotypovania vysoká.

Aj potom môžu nastať dva typy chýb: (1) v genotypovaní— falošné alely (*false alleles*) a (2) vypadávanie alel (*allelic dropout*) v dôsledku nízkej kvality a množstva DNA dostupnej z neinvazívnych vzoriek. Oba typy chýb môžu falošne “nafúknuť” počet identifikovaných jedinečných genotypov, čo vedie k odhadom hustoty, ktoré sú nadhodnotené. Tieto chyby v genotypovaní môžu byť znížené opakovanou amplifikáciou genetických vzoriek a reanalýzou vzoriek s veľmi podobnými genotypmi. Alternatívne môže byť hustota podhodnotená, ak je počet a variabilita molekulárnych markerov použitých v genotypovaní nedostatočná na rozlíšenie jedincov, čo môže vyžadovať vzorkovanie viacerých lokusov na odlišenie aj úzko príbuzných jedincov, čo opäť zvyšuje laboratórne náklady. Automatizované genotypovanie SNP markerov eliminuje chyby spôsobené falošnými alelami a vypadávaním alel, čím sa odbúrava potreba veľkého počtu opakovaní rovnakej vzorky fragmentačnou analýzou mikrosatelitov.

Náklady na laboratórne spracovanie sa hromadia na základe počtu genotypovaných vzoriek. Genetické prieskumy na odhadovanie hustoty sa primárne používajú pre vzácne alebo ťažko chytateľné druhy, kde táto metóda poskytuje zjavné výhody oproti odchytom živolovnými pascami.

Prežívanie (*vital rates, survival*)

Natalita a mortalita ovplyvňujú dynamiku populácie v priebehu času a sú základom pre populačnú ekológiu. Schopnosť používať molekulárne údaje na sledovanie geneticky identifikovaných jedincov môže nahradiť alebo doplniť tradičné metódy značkovania. Napríklad DNA z prirodzene vypadnutého peria hlucháňov hôrných môže byť použitá na identifikáciu jedincov, sledovanie obratu populácie a odhad medziročného prežívania počas viacerých rokov. Výsledky ukážu, či miery populačného obratu (*population turnover*) sa ročne líšili, a či kumulatívne prežitie bolo nižšie, ako sa očakávalo; takéto informácie sa nedajú ľahko

získať tradičnými prístupmi. Očakávame, že genetický monitoring vitality a prežívania sa stane bežnou súčasťou ochranných translokácií. Tieto údaje môžu byť tiež použité na analýzu rodičovstva na monitorovanie reprodukcie. Komplikáciou je zozbieranie všetkých jedincov na danom území pred a po minimálne jednom období reprodukcie a uzavretosť populácie bez imigrácie a emigrácie.

Pohlavná štruktúra

Pohlavná štruktúra populácií je kľúčovým demografickým parametrom, ktorý významne ovplyvňuje životaschopnosť populácií. Molekulárne metódy umožňujú neinvazívne určovanie pohlavia pomocou pohlavne špecifických markerov, čo je obzvlášť dôležité pri monitoringu ohrozených druhov. Pri cicavcoch sa najčastejšie využívajú markery viazané na Y chromozóm (SRY gén) v kombinácii s autozomálnymi kontrolnými markermi. U vtákov sa využíva rozdiel v CHD génoch na Z a W chromozómoch.

Dlhodobý monitoring pohlavnej štruktúry môže odhaliť:

1. Odchýlky od očakávaného pomeru pohlaví
2. Vplyv environmentálnych faktorov na pomer pohlaví
3. Efektivitu reprodukcie v populácii

Narušená pohlavná štruktúra môže urýchliť vymieranie malých populácií. Monitoring pohlavnej štruktúry mal byť súčasťou komplexného genetického monitoringu spolu so sledovaním efektívnej veľkosti populácie a genetickej variability.

• Kategória Ib. Identifikácia druhov a iných skupín

Druhovo špecifické diagnostické genetické markery alebo barkódy môžu byť použité na identifikáciu druhov alebo iných skupín (napr. geneticky diferencované populácie, poddruhy alebo rody) nie jedincov. Kombinácia neinvazívneho genetického vzorkovania a nových nástrojov na identifikáciu druhov vrátane využitia metabarkódingu environmentálnej DNA (eDNA) umožňuje monitorovanie (i) zmien v geografickom rozšírení taxónu; (ii) prítomnosti hybridov; a (iii) výskytu patogénov alebo inváznych druhov.

Obsadenosť lokalít a geografické rozšírenie

Zmeny v pomere a priestorovej distribúcii lokalít, kde je druh pozorovaný, sa bežne monitorujú na objasnenie účinkov environmentálnych zmien na šírenie druhu. Tieto štatistiky môžu byť obmedzené nízkou pravdepodobnosťou detekcie druhu v dôsledku jeho skrytého spôsobu života a falošnými identifikáciami spôsobenými napr. nesprávnym určením pobytočných znakov a stôp, ktoré sa objavujú, keď je vizuálna identifikácia kryptická alebo druh zanecháva stopy, ktoré sa ľahko zamieňajú so stopami iných druhov. Pretože identifikácia druhov prostredníctvom DNA je spoľahlivá a relatívne lacná, použitie environmentálnej DNA a neinvazívnych vzoriek tvorí základ pre výskumy distribúcie druhov. Jedna z prvých štúdií tohto typu bola realizovaná už v roku 1998. Použitím neinvazívneho genetického vzorkovania na 44 miliónoch hektárov bol pomocou oterových staníc na zber chlpov identifikovaný výskyt pomocou fragmentov mitochondriálnej DNA (mtDNA).

Hybridizácia

Pravidelný monitoring s molekulárnymi markermi môže poskytnúť včasné zistenie hybridizácie. Napríklad bola potvrdená hybridizácia vlka dravého × psa, mačky divej × mačky domácej, kamzíka vrchovského tatranského × kamzíka vrchovského alpského v Nízkych Tatrách.

Patogény a parazity

Choroba je jednou z najväčších hrozieb pre prežitie populácií. Molekulárne genetické markery, vrátane DNA barcoding markerov, majú obrovský potenciál na monitorovanie prítomnosti, prevalencie a prenosu patogénnych organizmov. Celé genómy a sekvencie génov sú dostupné pre čoraz väčší počet patogénov, čo uľahčuje vývoj markerov. Napríklad brucelóza a tuberkulóza, obe spôsobené bakteriálnymi patogénmi, patria medzi najproblematickejšie choroby u kopytníkov a niektorých mäsožravcov; očkovania a protipandemické opatrenia sú nákladné a genomika prispela ku lepšiemu pochopeniu ich patogenity a mechanizmov rezistencie bakteriálnych kmeňov.

2. Kategória II. Monitorovanie genetických parametrov populácie

Monitoring genetickej premenlivosti populácie môže poskytnúť poznatky o demografických a evolučných procesoch v populáciách voľne žijúcich druhov aj hospodárskych zvierat in-situ aj ex-situ, ktoré je tradičnými metódami nemožné získať, alebo sa dajú získať len ťažko. Tento typ monitoringu môže hodnotiť charakteristiky podmieňujúce životaschopnosť populácie (napr. efektívnu veľkosť populácie, N_E , inbríding alebo konektivitu). Využitie DNA z archívneho materiálu a múzejných preparátov (napr. kožky z múzeí, rybie šupiny alebo trofeje) nám umožňuje „retrospektívne monitorovanie“ na hodnotenie trendov zmien genetickej premenlivosti a teda aj životaschopnosti populácií v čase. Tento prístup bol použitý aj pri hodnotení zmien genetickej premenlivosti populácie hlucháňa v Karpatoch pričom bola analyzovaná DNA z muzeálnych vzoriek z obdobia 1960 – 1990 a z neinvazívnych vzoriek z obdobia 2011 – 2015. Silnejší signál genetickej štruktúry v súčasných vzorkách naznačoval, že procesy negatívne ovplyvňujúce konektivitu a tým tok génov stále prebiehajú. Kombinácia časových, ekologických a genetických údajov predstavuje účinný varovný nástroj pre ochranu a manažment voľne žijúcich druhov.

Parametre genetickej premenlivosti

Genetický monitoring populácie často hodnotí zmeny v dynamike populácie vyplývajúce zo zmien v genetickej premenlivosti (napr. očakávaná heterozygotnosť, H_e), frekvencie alel (napr. časové zmeny vo frekvencii alel, $F_{temporal}$), efektívnej veľkosti populácie (N_E), koeficiente inbrídingu F_{ROH} meranom ako súčet dĺžok homozygotných úsekov chromozómov (ROH) vydelený súčtom dĺžok všetkých chromozómov okrem pohlavných X a Y v čase.

Efektívna veľkosť populácie

Efektívna veľkosť populácie (N_E), definovaná ako veľkosť ideálnej populácie, ktorá zažíva rovnaké množstvo genetického driftu a nárastu inbrídingu ako reálna populácia. Je jedným z najdôležitejších parametrov pre hodnotenie dlhodobej životaschopnosti druhov. V roku 2022 sa efektívna veľkosť populácie stala základom hlavného indikátora pre monitorovanie a vykazovanie genetickej diverzity v rámci Dohovoru OSN o biologickej diverzite (*Convention on Biological Diversity*, CBD). V dôsledku toho je efektívna veľkosť populácie v súčasnosti prijímaná vládnymi orgánmi a tvorcami environmentálnych politík vrátane národných kontaktných miest pre CBD. Okrem toho bola efektívna veľkosť populácie zahrnutá do relevantných základných premenných (*Essential Biodiversity Variables*, EBVs) pre unifikovaný globálny monitoring populácií druhov v priestore a čase.

Monitorovanie N_E sa zvyčajne zakladá na zmene frekvencií alel. Odhadovanie N_E umožňuje priame testy na zmeny vo veľkosti populácie. Keďže na jeden časový odhad N_E sú potrebné dve vzorky, monitorovanie zmien v N_E pomocou časovej (temporálnej) metódy vyžaduje vzorky z najmenej troch časových období. Monitorovanie N_E môže byť tiež založené na gametickej nerovnováhe (*linkage disequilibrium*, LD), pričom sa vyžaduje len jeden bodový odhad N_E

v každom časovom období. Iné štúdie tiež použili kombináciu súčasných a historických vzoriek na získanie viacerých časových odhadov N_E . Napríklad v štúdiu hlucháňa v Karpatoch bolo zistené z dvoch bodových odhadov metódou LD pre obdobia 1960 – 1990 a 2011 – 2015, že efektívna veľkosť karpatskej populácie v posledných rokoch poklesla, a temporálna metóda pre odhady v 1960, 1990, 2015 potvrdila, že efektívna veľkosť populácie v Západných Karpatoch bola nízka už od 1960, čiže minimálne posledných päť desaťročí.

S konceptom efektívnej veľkosti populácie súvisí pravidlo 50/500. Súčasnú usmernenia odporúčajú minimálnu efektívnu veľkosť populácie 50, aby sa predišlo krátkodobému inbrídingu a 500 jedincov, aby sa zachoval dlhodobý adaptívny potenciál. Pre hospodárske zvieratá by mali platiť skôr hodnoty 100/1000. Vyššia N_E vedie k lepšiemu zachovaniu genetickej diverzity alebo nižším úrovniam inbrídingu a rýchlejšej odpovedi na prirodzený výber, a tým aj k adaptácii na environmentálne zmeny. Preto sa očakáva, že populácie s vyššou N_E budú mať vyššiu pravdepodobnosť prežitia.

Metódy založené na momentoch (*Linkage Disequilibrium*, LD) odhadnú NB, temporálne metódy odhadujú N_E . V prípade použitia metód založených na LD je potrebné zohľadniť vplyv najjemnejšej priestorovej genetickej štruktúry na odhady N_E a následne odhadujeme N_E pre jednotlivé genetické skupiny zvlášť. Efektívna veľkosť populácie je v podstate evolučným analógom cennej veľkosti (N_C), pričom N_E často predstavuje 10 – 30 % z N_C . Efektívna veľkosť populácie citlivo reaguje na stratu heterozygotnosti a fixáciu alebo stratu alel. Cenčná veľkosť populácie do veľkej miery koreluje s parametrami genetickej premenlivosti rastlín a živočíchov. Negatívny vzťah medzi stratou habitatov a fragmentáciou alebo nadmerným lovom a genetickou premenlivosťou sa prejavuje menšou telesnou veľkosťou jedincov takto ovplyvnenej populácie.

Genetická štruktúra populácií a tok génov

Účinná ochrana a akýkoľvek manažment populácie často závisí od identifikácie manažmentových jednotiek, a včasných informácií o účinkoch prírodných a antropogénnych faktorov na pohyb živočíchov a tok génov medzi týmito priestorovými jednotkami. Hoci niekoľko genetických metód poskytuje jednorázové bodové odhady toku génov, systematický monitoring, ktorý produkuje časovú sériu hodnôt indexov toku génov vyjadrených napríklad hodnotami genetických vzdialeností F_{ST} , môže poskytnúť poznatky o trendoch toku génov v čase, z ktorého vieme odvodiť, či sa tok génov zlepšuje alebo zhoršuje, čím môžeme odhaliť zmeny v genetickej diferenciácii medzi populáciami. Genetickú diferenciáciu môžeme monitorovať párovými vzdialenosťami medzi populáciami alebo medzi jedincami. Vo všeobecnosti monitoring na úrovni jedincov má spoľahlivejšie výsledky.

Napríklad genetický monitoring škótskeho jeleňa (*Cervus elaphus*) preukázal, že jemná genetická štruktúra samíc klesala stabilným tempom počas 24-ročného obdobia. Na základe demografických údajov zozbieraných počas rovnakého časového obdobia autori dospeli k záveru, že tento pokles bol spôsobený kombináciou rastúcej veľkosti populácie a poklesom polygynie (forma polygamie, keď jeden samec oplodní viacero samíc).

Jedným z najplodnejších využití genetického monitorovania je pravdepodobne kvantifikácia zmien toku génov v dôsledku narušenej konektivity, ako je fragmentácia biotopu, ktorá môže vyústiť do vzniku malých populácií neschopných vyrovnávať sa s dynamickými zmenami prostredia. Genetický monitoring je užitočným nástrojom na hodnotenie kumulatívnych účinkov fragmentácie biotopu a pôsobenia evolučných faktorov.

Miera admixie a genetickej diferenciácie v populáciách

Analýza admixie populácií odhaduje podiely jedincov v populácii, ktoré pochádzajú z dvoch alebo viacerých geneticky diferencovaných skupín resp. zdrojov. Hoci analýza

admixie populácií (a detekcia hybridov) môže byť založená na diagnostických testoch, často je potrebné použiť pravdepodobnostné prístupy založené na frekvenciách alel alebo genotypov. Pri štúdiu admixie je kľúčové pochopenie časového rámca miešania populácií. Moderné genetické analýzy dokážu odhadnúť, kedy k admixii došlo, pričom využívajú skutočnosť, že rekombinácia postupne rozrušuje pôvodné genetické bloky. Štúdie ukazujú, že väčšina významných admixných udalostí v ľudských populáciách sa odohrala v rozmedzí 7 až 160 generácií dozadu (približne 200 až 4400 rokov).

Genetická diferenciácia sa najčastejšie meria medzi populáciami pomocou fixačných indexov (F_{ST} , G_{ST} a θ) a pomocou alelických vzdialeností, ako je napríklad proporcia spoločných alel medzi jedincami, ktoré poskytujú rozdielne, ale komplementárne informácie o populačnej štruktúre. Fixačný index F_{ST} kvantifikuje mieru genetických rozdielov medzi populáciami. Hodnoty F_{ST} sa môžu pohybovať od 0 (žiadna diferenciácia) po 1 (úplná diferenciácia). Genetické vzdialenosti medzi jedincami a populáciami sa dajú analyzovať pomocou fylogenetických stromov založených na genetických vzdialenostiach. Tieto analýzy umožňujú nielen určiť mieru príbuznosti medzi populáciami, ale aj identifikovať historické trasy toku génov a admixie. Následne dokážeme rozlíšiť medzi rôznymi scenármi populačnej histórie a kvantifikovať príspevky rôznych zdrojových populácií k súčasným admixovaným populáciám.

Globálne meta-analýzy temporálnych zmien genetickej diverzity ukazujú znepokojujúci trend poklesu genetickej premenlivosti v prirodzených populáciách. Tento pokles môže viesť k zvýšenej genetickej diferenciácii medzi izolovanými populáciami a k zníženiu ich adaptívneho potenciálu. Monitoring týchto zmien je preto kľúčový pre včasnú identifikáciu ohrozených populácií

3. Kategória III. Monitoring signálov adaptívnej premenlivosti

Tento typ monitoringu možno realizovať prostredníctvom asociácií genómu s prostredím (*genome environment associations*, GEA) a celogenómových asociácií (*genome wide associations*, GWAS), ktoré sú navzájom komplementárne. Úlohou GEA je identifikácia genetických variantov, ktoré sú asociované s environmentálnymi premennými (napr. klíma, nadmorská výška, znečistenie, typ pôdy). Hľadá sa korelácia medzi frekvenciou alel na špecifických lokusoch a environmentálnymi faktormi, často v kontexte prírodných populácií a ich adaptácie na lokálne podmienky. Úlohou GWAS je identifikácia špecifických genetických variantov (ako sú jednonukleotidové polymorfizmy – SNP, inzercie, delécie a iné), ktoré sú štatisticky asociované s určitým znakom alebo ochorením (fenotypom) prípadne environmentálnou premennou. Skúma sa celý genóm u veľkého počtu jedincov, aby sa našli genetické markery, ktoré sa častejšie vyskytujú u jedincov s daným znakom v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Monitoring vzniku signálov adaptácie možno realizovať ovzorkovaním rovnamej populácie vo viacerých časových obdobiach. Myšlienkou je testovať lokus-špecifické účinky stresu spôsobeného prostredím napríklad klímy alebo zamerať sa na genotypovanie lokusu s alelou, u ktorej sa očakáva rýchla zmena frekvencie v dôsledku stresovej udalosti. Napríklad, mohli by sme sledovať SNP lokus v blízkosti génu imunitného systému (*Major Histocompatibility Complex*, MHC) za účelom detekcie nadmernej zmeny vo frekvenciách alel (v porovnaní s neutrálnymi lokusmi) pred a po vypuknutí choroby. Okrem tohto prístupu identifikácie kandidátskych génov, by sme mohli vykonať celogenómový skrining zahŕňajúci genotypovanie tisícov lokusov na monitorovanie genetických signálov spojených s vypuknutím chorôb (alebo inými stresmi či selekčnými udalosťami).

Monitorované gény by mali byť relevantné pre konkrétny environmentálny stresový faktor, aby sa selekcia testovala porovnaním s pozorovaným alebo očakávaným genetickým

driftom, a aby posuny vo frekvenciách alel zodpovedali zmenám očakávaným v reakcii na daný environmentálny stresový faktor alebo zmenu prostredia. V ideálnom prípade, pre ďalšie overenie selekcie ako príčiny evolučných zmien, by sme mohli vykonať experimenty, napr. stresové testy, či dochádza k očakávaným zmenám vo frekvencii alel špecifických pre lokus. Napríklad, testovanie zvýšenia frekvencie alely pre toleranciu vysokých teplôt počas experimentu s vysokou teplotnou záťažou. Ak nie sú experimenty možné, je užitočné testovať rovnaký posun vo frekvencii alel po environmentálnej zmene vo viacerých nezávislých populáciách.

Hoci genomické prístupy predstavujú veľký prísľub pre charakterizáciu a monitorovanie adaptívnej genetickej premenlivosti u nemodelových druhov, nemusia byť vždy zmysluplným využitím zdrojov, v závislosti od ochranných cieľov a potenciálnych manažmentových opatrení. Prvým krokom je určiť, či lokálna adaptácia môže ovplyvniť prežívanie populácie. Ak áno, ďalším krokom je starostlivo navrhnuť postupy odberu vzoriek a genotypovania a vykonať štúdiu na identifikáciu adaptívnej premenlivosti. Na základe týchto výsledkov je ďalším krokom prijať manažmentové rozhodnutia a podniknúť uvážené kroky. Ak sa rozhodneme, že monitorovanie adaptívnej premenlivosti podporí ciele ochrany, ďalšou fázou je navrhnuť a implementovať monitorovací program. Výsledky monitorovania sa potom vyhodnotia, čo môže viesť k novým manažmentovým opatreniam. Dôležitým aspektom adaptívneho manažmentu je, že počas celého cyklu genetického monitoringu môže byť potrebné upraviť plán, aby bolo zabezpečené zlepšenie ochrany populácie alebo druhu.

Napríklad genetický monitoring populácie sysľa pasienkového zistil silnú genetickú diferenciáciu medzi kolóniami. V kolóniách lokalizovaných na severe Slovenska boli identifikované signály selekcie vo vzťahu k výške snehovej pokrývky a v lokalitách na juhovýchode Slovenska zase signály adaptácie na suchu. Takisto hodnotením FRoH boli identifikované geneticky najviac erodované kolónie. Na základe týchto výsledkov genetického prieskumu boli prijaté opatrenia na ochranné translokácie s cieľom podpory genetickej premenlivosti. Na základe priradenia kolónií do väčších genetických skupín reflektujúcich historický tok génov a berúc do úvahy lokálne adaptácie boli sysle translokované v rámci regiónov s podobnými klimatickými podmienkami. Jedince boli translokované z geneticky najmenej erodovaných kolónií do geneticky najerodovanejších kolónií, pričom v kolóniách so signálom adaptácií podiel imigrantov neprekračoval 20 % veľkosti populácie, aby nedošlo k narušeniu genetickej integrity týchto populácií a zároveň sa zlepšila ich genetická premenlivosť.

Obmedzenia a úskalia genetického monitoringu

Genetický monitoring ponúka niektoré z najlepších príležitostí na sledovanie populácií v priebehu času a na hodnotenie, kedy populácie dosahujú kritické prahové hodnoty, ktoré indikujú potrebu manažérskych opatrení. Kategória I genetického monitorovania má mnoho výhod tradičného monitorovania početnosti, rozšírenia, pohlavnej štruktúry s pridanou výhodou väčších a v niektorých prípadoch reprezentatívnejších vzoriek vďaka relatívnej jednoduchosti neinvazívneho genetického vzorkovania. Kategória II monitoringu meria genetickú variabilitu, ktorá je surovinou evolúcie a ovplyvňuje dlhodobý stav životaschopnosti populácie.

1. Chyby pri genotypovaní, ak nie sú dostatočne kontrolované, bránia presným odhadom mnohých metrik. Mnohonásobné nadhodnotenia abundancie (Kategória I) môžu nastať, ak sú miery chýb pri genotypovaní vysoké; naopak, efektívne veľkosti populácií odhadnuté z časovej metódy (Kategória II) budú často smerovať k podhodnoteniu, ak sú bežné chyby pri genotypovaní, pretože chyby budú interpretované ako drift. Tieto chyby sa vyskytujú aj vzhľadom na potrebu retrospektívneho monitorovania pomocou archívnych muzeálnych vzoriek, ktoré často poskytujú nízku kvalitnú DNA.

2. Genetický monitoring založený na neinvazívnych vzorkách má viacero limitov v dôsledku fragmentovanej DNA, a preto je vždy potrebné mať referenčné vzorky tkanív s kvalitnou DNA. Z tohto dôvodu by systematické biobankovanie tkanív nájdených uhynutých živočíchov spadajúcich do kategórie chránených alebo dôležitých vlajkových druhov malo byť povinnosťou zainteresovaných inštitúcií ukotvenou v legislatíve.
3. Nakoniec, možno hlavné obmedzenie je, že genetické zmeny spojené s poklesom populácie alebo fragmentáciou sú najľahšie detekovateľné po vážnych disturbanciách a s časovým oneskorením vzhľadom na rýchlosť generačnej výmeny konkrétneho druhu. Toto obmedzenie je možné do určitej miery prekonať použitím väčších vzoriek alebo viacerých lokusov, čo zvyšuje štatistickú silu na detekciu aj slabších genetických signálov.

Kritériá pre návrh monitoringu genetickej premenlivosti

Podľa príručky IUCN pre návrh genetického monitoringu z roku 2022 je odporúčaný nasledovný postup plánovania a výberu druhov pre monitoring genetickej premenlivosti:

1. Definovanie účelu a geografického rozsahu
2. Výber stratégie monitorovania (molekulárne nástroje)
3. Návrh schém odberu a skladovania vzoriek
4. Zabezpečenie finančných zdrojov a partnerstiev
5. Zváženie druhovo-špecifických charakteristík
6. Zapojenie zainteresovaných strán

Kategória A výberu druhov (Základné kritériá):

- Druhy ovplyvnené ľudskými zásahmi (zber, lov, obchod)
- Druhy kľúčového ekologického významu
- Geneticky odlišné populácie
- Druhy už podliehajúce iným formám monitorovania

Kategória B výberu druhov (Prispôsobiteľné kritériá):

- Druhy zraniteľné zmenou klímy
- Chránené alebo druhy zaradené v Červenom zozname
- Široké taxonomické zastúpenie naprieč tromi ríšami; živočíchy (stavovce a bezstavovce), rastliny (cievnaté a necievnaté), huby (vreckaté a bazídiové)
- Kultúrne hodnotné, vlajkové a charizmatiké druhy, ktoré zvýšia záujem verejnosti a tvorcov politik o monitorovanie genetickej diverzity.
- Druhy často využívané v ochrane/obnove prírody a/alebo poskytujú ekosystémové
- Druhy/populácie ohrozené nežiaducim tokom génov, ako napríklad hybridizáciou s nepôvodnými druhmi v dôsledku veľkoplošného vypúšťania alebo iných ľudských činností.
- Druhy kľúčové pre stabilitu ekosystému – môžu byť vzácne, stredne početné alebo bežné.
- Druhy, pre ktoré sú k dispozícii zbierky tkanív (a kde už prebiehajú populačno-genetické projekty), poskytujúce možnosť pokračujúceho monitorovania genetickej diverzity.
- Druhy reprezentujúce rôzne typy biotopov
- Pôvodné voľne žijúce príbuzné druhy domestikovaných hospodárskych zvierat a plodín

Zhrnutie

Genetický monitoring predstavuje kľúčový nástroj pre sledovanie biodiverzity a životaschopnosti populácií. Delí sa do troch hlavných kategórií:

1. Monitoring založený na identifikácii jednotlivcov (Kategória I)
 - Umožňuje identifikáciu jedincov a druhov
 - Sleduje abundanciu, denzitu a pohlavnú štruktúru
 - Využíva neinvazívne metódy zberu vzoriek (trus, srst', perie)
2. Monitoring genetických parametrov populácie (Kategória II)
 - Sleduje genetickú premenlivosť a efektívnu veľkosť populácie
 - Hodnotí tok génov a genetickú štruktúru
 - Umožňuje retrospektívne analýzy pomocou muzeálnych vzoriek
3. Monitoring adaptívnej premenlivosti (Kategória III)
 - Identifikuje signály selekcie a lokálnej adaptácie
 - Sleduje zmeny vo frekvenciách alel v čase
 - Hodnotí odpovede populácií na environmentálne zmeny
 - Kľúčové prínosy
 - Umožňuje včasnú detekciu ohrozenia populácií
 - Poskytuje podklady pre manažmentové rozhodnutia
 - Hodnotí účinnosť ochranných opatrení
 - Pomáha pri identifikácii prioritných oblastí ochrany
 - Hlavné obmedzenia
 - Vyššie náklady na DNA analýzy
 - Možné chyby pri genotypovaní
 - Obmedzenia pri práci s neinvazívnymi vzorkami
 - Časové oneskorenie v detekcii zmien

Genetický monitoring je napriek svojim obmedzeniam nenahraditeľným nástrojom pre dlhodobé sledovanie životaschopnosti populácií a ich adaptačného potenciálu, najmä v kontexte klimatických zmien a fragmentácie biotopov.

Literatúra

Allendorf & Ryman (2002), Allendorf *et al.* (2010), Convention on Biological Diversity (CBD) (2022), Cook & Saccheri (2010), Frankham (1996), Frankham *et al.* (2014), Griffiths *et al.* (1998), Hellenthal *et al.* (2014), Hoban *et al.* (2022, 2024), Hvilsom *et al.* (2022), Cheng *et al.* (2017), Jost *et al.* (2018), Leigh *et al.* (2024), Leimu *et al.* (2006), Luikart *et al.* (2003), Medina *et al.* (2022), Paz-Vinas *et al.* (2024), Perez-Espona & ConGRESS Consortium (2017), Peter (2016), Rivera-Ortíz *et al.* (2015), Schwartz *et al.* (2007), Twining *et al.* (2022), Waits & Paetkau (2005), Wang *et al.* (2021), Waples (2022, 2024), Wright (1931)

Kontrolné otázky

- Definujte pojem genetická premenlivosť a vysvetlite jej význam pre prežitie druhov.
- Aký je rozdiel medzi genetickým prieskumom a genetickým monitoringom?
- Vysvetlite koncept efektívnej veľkosti populácie (N_e) a jej význam v ochrane prírody.
- Čo je CMR analýza a ako sa využíva pri genetickom monitoringu?
- Aké sú hlavné výhody a nevýhody neinvazívneho genetického vzorkovania?
- Vysvetlite rozdiel medzi Kategóriou I a Kategóriou II genetického monitoringu.
- Čo je selektívne vymetanie (selective sweep) a ako súvisí s adaptívnou evolúciou?
- Prečo je dôležité monitorovať genetickú premenlivosť na okrajoch areálu rozšírenia druhov?

11.3 Koncepty, metódy a úskalia zberu genetických vzoriek

11.3.1 Invazívne genetické vzorkovanie a biobankovanie zdrojov DNA

Správny zber a uchovávanie tkanív je základom pre izoláciu jadrovej a mitochondriálnej DNA, RNA a potenciálne proteínov vhodných pre genomiku, keďže tieto materiály sú náchylné na rýchlu degradáciu po smrti alebo po odbere tkaniva zo živých vzoriek. Vysokokvalitná DNA uľahčuje de novo zostavenie celých genómov, zatiaľ čo životaschopné bunkové kultúry a RNA sú kľúčové pre experimentálne molekulárne a bunkové výskumy, fyzické mapovanie génov na chromozómoch, analýzy transkriptómu a anotáciu genómu. Štandardy na kvalitu materiálu sa líšia podľa metódy odberu, dostupnosti vzoriek, uskutočniteľnosti, typu tkaniva a cieľového množstva a kvality DNA. Rámcové štandardy boli vytvorené za účelom motivácie získať čo najkvalitnejšie a najširšie využiteľné vzorky. Taktiež je potrebné brať do úvahy množstvo otázok súvisiacich s výberom a dokumentáciou jednotlivých vzorkovaných zvierat vrátane príslušných právnych a etických aspektov.

Tkanivové vzorky svaloviny, vaječnej membrány, bioptické tkanivá a pod. sú cenným zdrojom DNA, ktorá je nefragmentovaná a slúži ako referenčná vzorka pre optimalizáciu metód monitoringu z neinvazívnych vzoriek trusu, peria a srsti. Pre analýzy s najvyššími nárokmi na vzorky svalovinu odoberáme do skúmaviek bez konzervačného roztoku a hneď mrazíme, alebo do skúmaviek s 96 % etanolom. Pri odbere nesmie dôjsť ku kontaminácii vzorky so vzorkou pochádzajúcou od iného jedinca (napr. použitím rovnakého noža). Nôž je možné sterilizovať etanolom z jednej skúmavky a následným opálením plameňom (napr. zapalovača). Ak nemáme skúmavky s etanolom, vzorku svaloviny uložíme do mikroténového vrečka a čo najskôr zamrazíme. Vzorky krvi odoberáme do skúmaviek s roztokom EDTA, a uskladňujeme v mrazenom stave. Dôležité je vzorky viacnásobne nerozmrazovať.

Rozlišujeme tri kategórie na klasifikáciu využiteľnosti tkanív a DNA:

- Prvá kategória poskytuje dostatočné množstvo bleskovo zmrazeného tkaniva, alebo okamžitá extrakcia DNA poskytujúca minimálne 1 mg DNA (napr. dostatok DNA na minimálne dva pokusy sekvenovania celého genómu), viacero tkanív vhodných na RNA sekvenovanie a analýzu transkriptómu;
- Druhá kategória – zmrazené tkanivo poskytujúce 700 µg DNA;
- Tretia kategória – v etanole konzervované tkanivo pre 700 µg DNA vysokej, alebo zmiešanej kvality (niektoré vysoko alebo mierne degradované) a DNA nedostatočného množstva (< 700 µg), ale potenciálne hodnotné pri dopĺňaní sekvencií vzoriek celého genómu vyššieho pokrytia. V tejto najnižšej kategórii nie sú pokusy o vytvorenie dostatočne dlhých sekvencií celého genómu pravdepodobne úspešné bez referenčných genómov a výrazne vyšších nákladov. Sú vhodné pre sekvenovanie kratších úsekov. Tieto štandardy majú významné dôsledky pre kvalitu a množstvo údajov pre budúce projekty de novo genomiky stavovcov.

Nároky na čerstvosť vzoriek tkanív:

1. Čerstvé vzorky (najvyššia kvalita):

- Živé alebo čerstvo usmrtené jedince poskytnú minimálne 1 mg DNA z približne 1cm³ tkaniva
- Poskytujú najkvalitnejšiu DNA a RNA
- Vhodné pre bunkové kultúry
- Umožňujú získanie transkriptómov

2. Náhodne nájdené mŕtve zvieratá:

- Musia byť „mimoriadne čerstvé“, aby poskytli približne 700 µg DNA z 1 cm³ tkaniva. Inak nie sú vhodné pre hodnotenie transkriptómov a prípravu bunkových kultúr. Stále sú cenným materiálom pre celogenómové sekvenovanie kratších fragmentov DNA
- Poskytujú len 5 – 20% kvality DNA v porovnaní s čerstvým tkanivom
- Výsledkom sú malé fragmenty DNA
- Vysoký podiel mitochondriálnej DNA

3. Dlhodobu skladované vzorky:

- Vyššie riziko degradácie
- Vyššie riziko kontaminácie
- Obmedzený objem tkaniva
- Typicky skladované v etanole alebo iných konzervačných látkach

4. Mumifikované vzorky:

- Všeobecne nevhodné pre sekvenovanie
- Nevhodné pre zostavenie de novo genómu
- Môžu byť použité len v špeciálnych prípadoch (napr. vyhynuté druhy)
- Vyžadujú individuálne posúdenie a špeciálne protokoly

Kľúčové odporúčanie je odobrať a spracovať vzorky čo najskôr po smrti organizmu, aby sa zachoval čo najkvalitnejší genetický materiál.

Sterilné podmienky a manipulácia so vzorkami:

- Všetky odbery musia prebiehať v sterilných podmienkach
- Vzorky sa musia skladovať oddelene
- Pri celých exemplároch treba odstrániť žalúdok a črevá
- Nikdy nemiešať vzorky z rôznych jedincov
- Používať sterilné a autoklávané nástroje
- Používať jednorazové rukavice a nástroje
- Zabrániť kontaminácii ľudským tkanivom

1. Najlepšie zdroje DNA:

- Semenníky – najvyššia výťažnosť
- Pečeň – druhá najlepšia voľba (vyhnúť sa žľzníku)
- Krv – dobrý zdroj DNA (3 ml môže poskytnúť až 1 mg DNA)
- Iné mäkké tkanivá: mozog, obličky, slezina, srdce, vaječníky

2. Špecifická tkanivá:

- Mäkké tkanivá (pečeň, slezina, pankreas) sa rýchlejšie rozkladajú, musia byť ihneď zmrazené
- Tvrdšie tkanivá (svaly, obličky, srdce) sú stabilnejšie
- Kostrové svaly poskytujú menej kvalitnej DNA, ale DNA pomalšie degraduje

3. RNA sekvenovanie:

- Preferované sú vzorky z viacerých orgánov
- Zahŕňa: svaly, slezinu, srdce, krv, obličky, žalúdok, reprodukčné orgány, pečeň, mozog, oči, pľúca
- Kostí a mozgové tkanivo sú odolnejšie voči degradácii

Transport:

- Pre vzorky určené na sekvenovanie dlhých úsekov DNA je preferovaný tekutý dusík, alternatívne suchý ľad
- Pre bunkové kultúry používať kryoprotektant pred zmrazením
- Ak žiadnu z uvedených podmienok neviem splniť, je vhodné vzorku do 3 hodín prepraviť v chlade do mraziacich podmienok -20 °C,
- pre dlhodobé skladovanie sa odporúča -70 °C a nerozmrazovať. Treba mať na pamäti, že čím menej podmienok dodržíme, tým viac obmedzíme metodiku spracovania týkajúcu sa dĺžky študovaných úsekov genómu a tým menej informácií získame. Vo všeobecnosti platí, že aj nedokonale uskladnená vzorka je lepšia ako žiadna vzorka.
- Tkanivo konzervované v etanole sa môže považovať za štandard, keďže k degradácii môže stále dochádzať. Pre tieto zbierky používame optimálnu koncentráciu etanolu 95 – 99 %.

Spôsoby odberu vzoriek tkanív

Odber vzoriek by sa nikdy nemal vykonávať holými rukami, pretože ľudská DNA môže interferovať s niektorými analýzami, najmä pri určovaní pohlavia cicavcov. Vhodnejšie je používať latexové alebo nitrilové rukavice (najmä ak analýza bude zahŕňať určovanie pohlavia).

Iba vyškolený a skúsený personál (alebo osoby pod priamym dohľadom) by mal odberať tkanivové vzorky zo živých zvierat. Odber z rozkladajúcich sa mŕtvych zvierat môže byť tiež vhodným zdrojom DNA, kde je možné odobrať už vysušený materiál.

Ušné značky

Najlepšou technikou na získanie kvalitnej vzorky tkaniva cicavcov je značkovanie uší, ktoré poskytuje vzorky tkaniva aj srsti. Značkovanie uší vyžaduje manipuláciu so zvierateľom a vykonáva sa vyrezaním malého kúska ucha jedinca pomocou dierovača na uši.

Je vhodné dodržať nasledovný postup:

1. Znehybníme zviera (môže to byť jednoduchšie s dvoma osobami, kde jedna osoba drží a druhá značkuje, avšak so skúsenosťami môže procedúru vykonať jedna osoba), odkryjeme uši a zvyšok tela ponecháme v manipulačnom vaku, pričom dbáme najmä na to, aby boli oči zakryté (obr. 66).
2. Odoberieme malý (polkruhový) zárez tkaniva z okraja ucha, kde je najtenšie a kde je najmenej krvných ciev (často horný vonkajší okraj ucha). Pri niektorých druhoch možno použiť baterku na presvietenie ucha, aby sme videli, ktorým krvným cievm sa treba vyhnúť. Veľké kompletne diery by sme nemali prerázať cez celé ucho, pokiaľ nejde o pripevnenie identifikačného štítku. Je to preto, aby sa zabránilo zacytenu pazúra alebo vegetácie v diere a roztrhnutiu ucha. Malé (< 4 mm) diery však môžu byť vhodné lebo sa vyhneme krvným cievm.
3. Dbáme na správne umiestnenie dierovača/značkovača uší tak, aby sme nepoškodili cievy.
4. Pomocou gázového tampónu alebo vreckovky nanesieme lokálne antiseptikum (napr. jódomový roztok Betadín) na oblasť, ktorá bola zarezaná, aby sme predišli infekcii. Ak zviera krváca, aplikujeme tlak suchým gázovým tampónom alebo vreckovkou, kým sa krvácanie nezastaví.
5. Ak je potrebné, znovu zabezpečíme zviera v manipulačnom vaku a necháme ho zotaviť pred vypustením.



Obr. 66. Aplikácia ušnej značky kliešťami (zdroj <https://www.datamars.co.uk/post/best-practise-sheep-ear-tagging>).

Bioptické šípky

Bioptické šípky môžeme použiť na diaľkový odber vzoriek kože a tuku. Táto technika bola optimalizovaná pre vzorkovanie delfínov a veľrýb, ale v súčasnosti nachádza uplatnenie aj pri vzorkovaní rôznych chránených druhov vrátane kopytníkov a šeliem. Najužitočnejšie vzorky obsahujú kúsok svaloviny, prípadne vieme získať menej DNA z rozhrania tuku/epidermy.

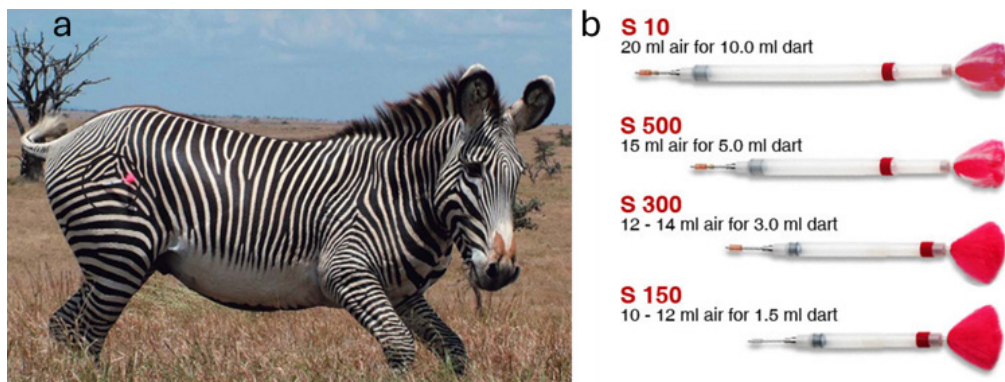
Pred odberom vzoriek odporúčame šípky rozobrať, skontrolovať plastové časti, či sú prítomné viditeľné praskliny a jednotlivu ich vyčistiť. Pri akejkoľvek manipulácii so šípkami by sme mali nosiť latexové rukavice, aby sme predišli kontaminácii ľudskou DNA. Všetky karbonátové časti utrieme 70 % etanolom. Je dôležité odstrániť zvyšky tkaniva vyčistením bioptických hrotov napríklad zubnou kefkou a následným 20-minútovým varením hrotov v destilovanej vode. Po uvarení by sme mali šípky znovu naostriť a hrany vyhladiť pomocou diamantového pilníka. Bioptický hrot namočíme do etanolu a dvakrát opálime pred uložením do čistej plastovej nádoby až do ďalšieho použitia.

O vystrelenie šípky by sme sa mali pokúsiť vtedy, keď jedinec stojí bokom vo vzdialenosti do 20 m. Zameriame sa na stehno, kde nehrozí poškodenie vnútorných orgánov a zároveň je tuk tenší pre získanie vzorky svaloviny.

Šípka zvyčajne vypadne z tela okamžite po rozbehnutí sa zvieratá; vzorku vyberieme pomocou pinzety a uskladníme v 96 % etanole v prenosnej chladničke a následne zamrazíme. Pri prenose bioptickej vzorky zo šípky do skúmavky na konzerváciu nosíme latexové rukavice.

Strelný mechanizmus šípky a náboje poháňajúce šípky by sme mali prispôsobiť veľkosti vzorkovanej zveri.

Odber vzoriek by sme mali prerušiť, ak pozorujeme dlhodobú nepriaznivú reakciu u cieľného jedinca alebo skupiny.



Obr. 67. Príklad vzorkovania bioptickou šípkou (a), odporúčané tlaky vzduchu (air) pre požitie bioptických šípok rôznych objemov a veľkostí (<https://veteriankey.com/biopsy-darting/>, <https://daninject.co.za/learning-center/dart-loading/>)

Bioptická tyč

Bioptická tyč je vyrobená z vysúvateľných puzdier, ktoré umožňujú upraviť dĺžku tyče od 1,5 – 3 m. Bioptickou tyčou môžeme vzorkovať jedince odchytené napríklad do živolovných pascí, ktoré po ovezrkovaní vypustíme. Odpadá nám potreba priameho kontaktu so zvieratám, prípadne imobilizácia a s tým spojené riziká a komplikácie.

Kadávery

Hoci DNA je oveľa odolnejšia ako proteíny, aj ona sa bude rozkladať, ak je tkanivo už v pokročilom štádiu rozkladu alebo je vystavené kyselinám, ako sú tie zo žlčového alebo žalúdka. Preto odporúčame odoberať vzorky tkaniva z čerstvých kadáverov. Typ tkaniva, ktoré máme odobrať, závisí od typu štúdie, pre ktorú ho potrebujeme, a od dostupných prostriedkov na konzerváciu a skladovanie.

Pečeň obsahuje mnoho enzýmov, ktoré môžeme použiť v štúdiách proteínov, a je dobrým zdrojom DNA. Najlepšie je ju odobrať, ak môžeme vzorku zmraziť. Iné tkanivá je najlepšie použiť na štúdie DNA, ak je etanol jediným dostupným konzervačným prostriedkom.

Ak je to možné, mali by sme sa vyhnúť odberu vzoriek z oblastí kadáveru, ktoré boli dlhodobo vystavené slnku a/alebo mrchožrútom ako muchy, vtáky a hrabavé bezstavovce. Priame slnečné žiarenie poškodzuje proteíny a DNA, a mrchožrúty môžu prispieť svojimi vlastnými proteínmi a DNA do tkaniva, čo sťažuje interpretáciu biochemických štúdií.

Pri odbere vzoriek z kadáverov je najlepšie odobrať duplicitné vzorky, jednu na uchovanie a jednu na odoslanie na analýzu. Vo všeobecnosti je na genetickú analýzu potrebné len malé množstvo tkaniva (~1 cm³).

Transport a skladovanie vzoriek tkanív

Vzorky uskladnené v DMSO pufrí, lyzačnom pufrí, roztoku na konzerváciu tkaniva a v menej ako 70% etanole alebo v celkovom objeme alkoholu menšom ako 50 ml môžeme prepravovať prostredníctvom poštovej zásielky, za predpokladu, že sú adekvátne uzavreté a s dostatočným množstvom absorpčného materiálu (napr. vata, papier) na zachytenie kvapaliny v prípade rozliatia. Tkanivové vzorky uskladnené v > 70% etanole môžeme v prípade potreby preniesť do DMSO alebo iného tekutého konzervačného prostriedku pre účely transportu. V konkrétnych prípadoch to však nemusí byť vhodné. Vzorky transportované v 70% etanole musia byť po doručení okamžite prenesené do 96% etanolu a následne uskladnené v -20 °C resp. -80 °C.

Metóda skladovania v konečnom dôsledku závisí od konečného použitia vzoriek

a odporúčaní laboratória. Vzorky by sme mali skladovať tak, aby nehrozilo riziko kontaktu s inými vzorkami alebo tkanivami z príbuzných druhov, a mali by byť dobre označené (dvojito označené) s informáciami o dátume odberu, druhu, lokalite a jedinečnom identifikátore pre jedinca a vzorku.

Najbežnejšou metódou skladovania tkaniva je v kvapaline. Objem konzervačného prostriedku by mal byť desaťnásobkom objemu vzorky.

Vzorky by sme mali skladovať v skúmavkách so závitovým uzáverom, ak sú k dispozícii. Musíme sa uistiť, že nádoba je úplne utesnená, aby nedošlo k úniku. Nádoby môžeme naplniť fixačným roztokom pred odchodom do terénu, čo minimalizuje množstvo kvapaliny, ktorú potrebujeme prepravovať. Etanol je preferovaným fixačným roztokom, nasledovaný DMSO.

Etanol

Konzervácia etanolom funguje na princípe dehydratácie, kde etanol vytláča vodu z buniek. Etanol (analytickej čistoty) je preferovaným fixačným prostriedkom pre tkanivá, pretože tkanivá fixované v etanole si zachovávajú vynikajúcu bunkovú morfológiu pre histologické vyšetrenia a môžeme ich použiť na molekulárne testy vrátane získavania DNA pre genetické analýzy. Etanol používame aj pri iných terénnych postupoch, takže má zmysel nieš o niečo viac etanolu než inej chemikálie.

Roztok etanolu s koncentráciou 90 – 98 % je najlepším konzervačným prostriedkom pre dlhodobé skladovanie na analýzu DNA. 100 % etanol je tiež preferovaný v prípadoch, keď ide o vzorky vodnej povahy, pretože voda pravdepodobne tvorí významnú časť vzorky.

Mali by sme sa vyhnúť používaniu atramentu na zaznamenávanie údajov o vzorke na nádobe, radšej značíme ceruzkou alebo inak zapíšeme podrobnosti na (vodovzdorný) papierik alebo kartičku a vložíme do nádoby. Tento papierik by mal byť čistý a mali by sme s ním manipulovať len pomocou čerstvých sterilných rukavíc alebo tých istých rukavíc, aké sme použili pri odbere vzorky. Vzorky môžeme skladovať pri izbovej teplote počas krátkych období, avšak uprednostňujeme chladenie.

- Vzorky tkanív v 96 % etanole uchováваме v chladničke max. 1 mesiac a čo najskôr dopravíme do laboratória, kde prebehne viacnásobná výmena etanolu. Odoberáme len malé množstvo svaloviny veľkosti lieskového orecha. Objem etanolu by mal minimálne 10-násobne prevyšovať objem tkaniva. Vzorky prepravujeme tak, aby sa zamedzilo prehriatiu slnkom, a takisto aj zamŕzaniu a rozmrazovaniu. Pokiaľ nie sú k dispozícii skúmavky s 96 % etanolom, vzorky tkanív držíme v chlade a do 24 hodín zamrazíme a nerozmrazujeme kým sa nedostanú do etanolu alebo v zamrznutom stave doručíme do laboratória. Opakované zamŕzanie a rozmŕzanie vzoriek poškodzuje DNA.
- V laboratóriu by sme mali tkanivo skladovať v mrazničke pri $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (alebo v mrazničke pri $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, ak je k dispozícii) až do extrakcie DNA. Odporúča sa vymeniť etanol po 1 až 2 hodinách, aby sa umožnila difúzia a znova po 2 až 3 dňoch na zlepšenie konzervácie a ideálne ešte po 2 týždňoch, keďže tkanivá môžu počas tohto času zadržiavať vodu. Túto metódu konzervácie je možné vylepšiť prenesením tkaniva do lyzačného pufru alebo aspoň do ultračistej vody na 24 hodín pred extrakciou DNA.

DMSO pufer

DMSO (*dimetylsulfoxid*) a konzervácia nasýtenou soľou fungujú na princípe osmotickej dehydratácie. Mechanizmus je dvojaký: DMSO umožňuje soli ľahšie prenikať do tkaniva, zatiaľ čo soľ osmózou vyťahuje vodu z bunky.

DMSO pôsobí ako univerzálne rozpúšťadlo, ktoré zvyšuje absorpciu látok cez kožu alebo dýchacie cesty. Preto neodporúčame používať ho v spojení s inými nebezpečnými látkami, ako je formalín alebo etanol. DMSO môže obmedzovať použitie niektorých DNA techník,

napríklad nemôžeme ho použiť na prácu s proteínmi.

DMSO môže byť vhodnejší na použitie v prípadoch, keď sa vzorky majú prepravovať letecky (keďže etanol sa považuje za nebezpečný tovar).

20 % DMSO pufer môžeme pripraviť podľa nasledujúcich pokynov:

- Pridáme približne 20 ml DMSO do 60 ml destilovanej vody
- 0,25M sodík-EDTA
- NaCl do nasýtenia (približne 25 g soli pri 20 – 25 °C)
- Necháme tenkú vrstvu nerozpustenej soli v zásobnom roztoku na kompenzáciu zmien rozpustnosti v dôsledku teploty (a zabezpečíme tak, že roztok je nasýtený NaCl).
- Konečný objem by mal byť približne 100 ml.

Lyzačný pufer

Lyzačný pufer je dobré médium na skladovanie tkaniva, keď odoberáme vzorky na analýzu DNA; lyzačný pufer však nie je vhodným skladovacím médiumom, ak odoberáme vzorku na analýzu proteínov alebo RNA. Lyzačný pufer umožňuje získať väčšie výtázky DNA s vysokou molekulovou hmotnosťou v porovnaní s inými metódami.

Roztok môžeme pripraviť podľa nasledujúcich pokynov:

- 50 ml 2M Tris-HCl, pH8
- 200 ml 0,5M EDTA, pH8
- 2 ml 5M NaCl
- Doplňme do 1L destilovanou vodou
- 25 ml 20 % SDS (w/v)

Mrazenie

Zmrazovanie vzoriek bez konzervačného roztoku pri -20 °C alebo v tekutom dusíku zachováva integritu DNA. Môže to však byť nepraktické v terénnych podmienkach, pretože vyžaduje rýchly prístup k mrazničke po odobratí vzorky. Laboratórne požiadavky by mali určiť maximálny čas od odberu vzorky do zmrazenia. Vzorky musia zostať zmrazené až do ich doručenia do laboratória, pretože opakované rozmrazovanie a zmrazovanie degraduje DNA. Avšak, keď sú už vzorky v laboratóriu, zmrazovanie, najmä pri -80 °C, odporúčame pre dlhodobé skladovanie tkanivových vzoriek.

Označovanie a zaznamenávanie údajov

Spoľahlivé označovanie je základom pri odbere biologických vzoriek na genetickú analýzu. Je dôležité zabezpečiť, aby bol rukopis čitateľný. Neodporúčame písať na mastné, špinavé alebo mokré skúmavky. Permanentné značkovače na báze atramentu sa môžu zotrieť pri kontakte s etanolom; preto ako preventívne opatrenie odporúčame vložiť do vnútra vodovzdorný štítok napísaný ceruzkou. Ak je to možné, štítok by sme mali pripraviť pred odberom vzorky. Taktiež informujeme laboratórium o tom, aká kvapalina bola použitá na uskladnenie vzorky (napr. 96 % etanol, DMSO).

Všetky jednotlivé vzorky musia byť označené minimálne týmito údajmi:

- Dátum
- Druh/možný druh
- Lokalita (preferujeme GPS súradnice)
- ID jedinca (prepojené na dodatočné metadáta)
- Iniciály osoby, ktorá vzorku odobrala

Ďalšie informácie (metadáta) môžeme pridať na štítok alebo poskytnúť v tabuľke s odkazom na ID jedinca:

- Meno osoby, ktorá vzorku odobrala
- Pohlavie zvierat'a
- Ďalšie pozorovania (vek, hmotnosť, veľkosť, reprodukčný stav, atď.)
- Zdroj/cieľ translokácie

Riziká prenosu patogénov

Personál si musí byť vedomý možností prenosu chorôb alebo parazitov zo zvierat'a na zviera, ako aj z jednej lokality na druhú, ak manipulujeme so zvieratami na viacerých miestach. Mali by sme dodržiavať správne hygienické postupy, aby sme znížili riziko šírenia patogénov medzi zvieratami a lokalitami a pri prenose na človeka.

11.3.2 Neinvazívne genetické vzorkovanie

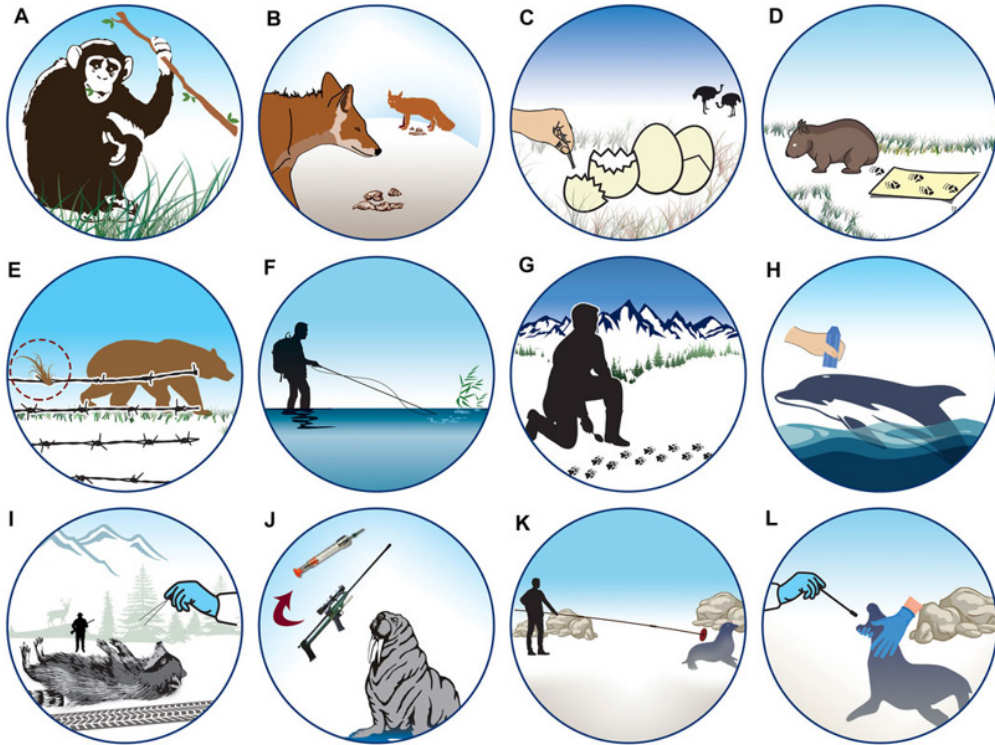
V súčasnom výskume voľne žijúcich zvierat sa narastajúca potreba dodržiavania etických štandardov a ochrany biodiverzity stáva kľúčovým faktorom pri získavaní biologických vzoriek. Neinvazívne metódy odberu vzoriek poskytujú cenné informácie o genetickej variabilite, štruktúre a konektivite populácií bez narušenia ich prirodzeného prostredia a minimalizácie stresu. Tieto techniky nie sú len šetrné voči zvieratám, ale aj praktické, keďže minimalizujú logistické ťažkosti spojené s tradičnými metódami. Dôležité je správne prechovávanie vzoriek, aby sa predišlo degradácii DNA, ktorá sa vyskytuje aj pri krátkodobých skladovacích podmienkach, a aby sa zabezpečila ich kvalita pre genómové analýzy, čo môže významne prispieť k rozvoju účinných ochranných stratégií.

Neinvazívne genetické vzorkovanie sa využíva najmä pri:

- Monitorovaní populácií
- Identifikácii druhov
- Sledovaní chorôb
- Hodnotení genetickej diverzity
- Štúdiu populačnej štruktúry
- Sledovaní pohybu a správania živočíchov

Genetický materiál môžeme získať z rôznych biologických zdrojov bez priameho kontaktu so živočíchom (obr. 68):

- Moč
- Trus (výkaly)
- Srst' alebo chlpy
- Perie
- Zvlečená koža
- Sliny a bukálne stery
- Škrupiny vajec



Obr. 68. Príklady spôsobov zberu DNA a eDNA neinvazívnych vzoriek (A) sliny napr. na čerstvo hryzených konároch, hryzných ranách koristí, (B) výkaly, (C) vajcová membrána, (D) pasca s lepiacou páskou, (E) pasca na srst', (F) filtrácia vody pre eDNA, (G) zber vzoriek z otláčkov na snehu, (H) výdych z dýchacieho otvoru, (I) odber povrchových častí tela, (J) biopsia pomocou bioptických šípiek alebo tyče, (K) disky na zber srsti a (L) bukálne stery (Emami-Khoyi et al., 2021)

Výhody neinvazívneho vzorkovania

Medzi hlavné výhody tejto metódy patria:

1. Minimalizácia stresu živočíchov
2. Znížené riziko pre výskumníkov aj študované živočíchy
3. Možnosť zberu väčšieho počtu vzoriek
4. Ekonomická efektívnosť pri rozsiahlych populačných štúdiách

Tab. 12. *Výhody a nevýhody zberu neinvazívnych vzoriek.*

Výhoda	Nevýhoda
Zber genetického materiálu bez nutnosti priameho kontaktu so zvieratami, čím sa minimalizuje stres a potenciálne poškodenie zvierat.	Kvalita DNA získanej z neinvazívnych vzoriek môže byť nižšia v porovnaní s tkanivovými alebo krvnými vzorkami, čo môže ovplyvniť presnosť genetických analýz.
Ochrana prírody, kde je ťažké alebo rušivé chytanie a manipulácia so zvieratami.	Existujú problémy s degradáciou, kontamináciou alebo nižšou kvalitou DNA v porovnaní s krvnými alebo tkanivovými vzorkami.
Možnosť zberu väčšieho počtu vzoriek pri rozsiahlych štúdiách početnosti.	Kratšie fragmenty DNA, potreba referenčných vzoriek tkanív a obmedzená výpovedná hodnota v porovnaní s kvalitnými tkanivovými vzorkami

Moč ako zdroj DNA

Moč má potenciál obsahovať signifikantne viac hostiteľskej DNA a vykazuje nižšiu mieru straty alel v porovnaní s inými neinvazívnymi zdrojmi. To podčiarkuje význam správneho zberu a uchovávanía vzoriek.

Výhody moču oproti iným neinvazívnym vzorkám:

- Môžeme ho nájsť na dôležitých sociálnych miestach,
- Veľké šelmy viac močia ako defekujú,
- Dostatočná koncentrácia DNA
- Menej inhibitorov DNA ako v truse

Nevýhody:

- Zber vzoriek je podmienený prítomnosťou snehovej pokrývky.

Zber vzoriek na snehu

Zber vzoriek na snehu sa začína identifikáciou stôp. Pri sledovaní zvieracích stôp v snehu používame GPS na označenie miest močenia. Dôležité je zaznamenávať dĺžku stôp a frekvenciu močenia. Pomocou analýzy stôp overujeme, či ide o močenie jednotlivého zvieratá. Pri odbere vzoriek je potrebné čo najskôr zozbierať zmes snehu a moču. Na odber používame čisté 50 ml odberové skúmavky. Musíme zabrániť kontaminácii z okolitého prostredia. Všetky podmienky prostredia a GPS súradnice starostlivo zaznamenávame.

Pri umelých metódach zberu vzoriek umiestnime čisté zberné materiály na známe značkovacie miesta. Používame absorpčné materiály ako filtračný papier a vatové tampóny. Vzorky pravidelne kontrolujeme a promptne zbierame.

Vzorky ihneď zmrazíme na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, pri terénnom transporte používame prenosné chladiace boxy s ľadovými vložkami. Je potrebné vyhnúť sa teplotným výkyvom.

Dokumentácia vzoriek musí obsahovať dátum a čas odberu, lokalitu (GPS súradnice), druh (ak je známy), podmienky prostredia a meno osoby, ktorá vzorku odobrala.

Pri dlhodobom skladovaní udržiavame konštantnú teplotu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ alebo nižšiu. Používame vyhradené skladovacie jednotky a vyhýbame sa opakovanému zmrazovaniu a rozmrazovaniu. Vzorky skladujeme v sterilných skúmavkách bez kontaminácie DNA, ktoré sú správne utesnené a označené vodeodolnými štítkami.

Environmentálne faktory ovplyvňujúce kvalitu vzoriek riešime rýchlym zberom a správnym skladovaním. Riziko krížovej kontaminácie minimalizujeme použitím sterilného vybavenia a správnej techniky. Osvedčené postupy zahŕňajú používanie čistých rukavíc pre každú vzorku, sterilných materiálov, minimalizáciu expozície prostredia a dokumentáciu všetkých relevantných informácií. V laboratóriu dodržiavame štandardizované protokoly,

Trus ako zdroj DNA

Trus predstavuje cenný zdroj genetického materiálu pre výskum voľne žijúcich živočíchov. Trus obsahuje bunky črevného epitelu zvierat, ktoré sú bohatým zdrojom DNA. Táto neinvazívna metóda umožňuje získavať genetické informácie bez potreby odchyty alebo manipulácie so zvieratami. Zo vzoriek trusu vieme okrem identifikácie jedinca a populačno-genetických parametrov identifikovať aj zloženie potravy využitím metód environmentálnej DNA (eDNA). Čerstvosť vzorky a jej správne uskladnenie sú rozhodujúce faktory.

Výhody trusu oproti iným neinvazívnym vzorkám:

- Ľahšie získateľný na miestach rozmnožovania, získavania potravy a odpočinku,
- V prípade kurovitých vtákov to môžu byť predovšetkým tokaniská, hradovacie stromy
- V prípade šeliem sú to dôležité sociálne miesta, ktoré môžu byť na lesných cestách, hrebeňoch a pod.

Trus zbierame ideálne v chladnejších častiach roka, najneskôr 2 – 3 dni po defekácii. Čerstvý trus môže mať na povrchu vrstvu slizu alebo u vtákov biely povlak (soľ kyseliny močovej). Prítomnosť bieleho povlaku naznačuje, že ide o čerstvý trus, ale odoberieme kúsky minimálne pokryté bielym povlakom.

Na kvalite získanej DNA sa výrazne podieľajú atmosférické činitele ako sú UV žiarenie, výskyt zrážok a teplota vzduchu. Zber vzoriek počas dažďa alebo mrholenia sa neodporúča, pretože plusové teploty v kombinácii vysokou vlhkosťou vzduchu urýchľujú degradáciu DNA. Za najvhodnejšie obdobie pre zber trusu možno považovať aspoň 2 – 3 dni prevládajúce stabilné počasie bez zrážok.

Nájdený trus jednoducho nasunieme nájdenou paličkou, vetvičkou do skúmavky, prípadne odoberieme bukálny ster z povrchu trusu. Paličky, vetvičky alebo iné pomôcky používame jednorazovo, aby nedošlo ku kontaminácii trusom pochádzajúcim od rôznych jedincov (obr. 69).

Zásady zberu trusu:

1. Zbierať čerstvý trus max. 2 – 3 dni starý, nevystavený priamemu slnečnému žiareniu
2. Snažíme sa zabrániť kontaminácii trusu s iným trusom prstami, najvhodnejšie je jednorazovo použiť kúsok konára, čistú papierovú vreckovku a pod.
3. Do jednej skúmavky alebo vrecúška ukladáme asi 2 cm kúsok trusu z jedného jedinca.
4. Trus v skúmavkách so silica gélom skladujeme v mrazničke.
5. Trus v skúmavkách so stabilizačným pufrom alebo 96 % etanolom skladujeme krátkodobo do 10 dní v chladničke.
6. Pri zbere zaznamenáme potrebné údaje: meno zberateľa, GPS koordináty, dátum, lokalitu, pohorie.

Pri vtákoch platí:

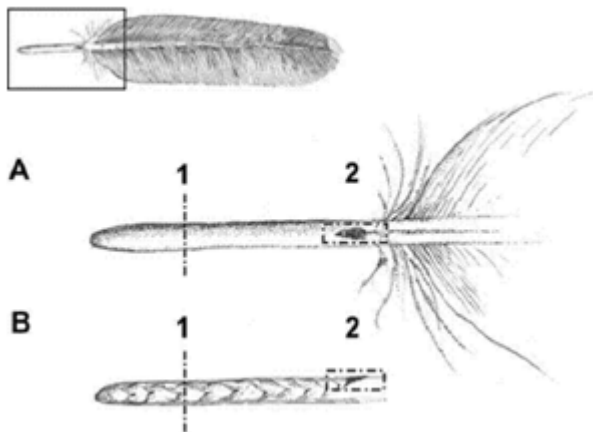
1. Trus na kôpke pravdepodobne pochádza z jedného jedinca počas hradovania.
2. Trus roztrúsený pod stromami padal z väčšej výšky a mohlo ho zanechať viac jedincov.
3. Trus zanechaný počas presunu jedinca takisto môže byť zmesou pochádzajúcou od viacerých jedincov, zakaždým odoberáme len jeden väčší kúsok.
4. Pre genetické analýzy je najvhodnejší trus s minimálnym obsahom kyseliny močovej, v období s prevahou rastlinnej potravy, čiže v zime.



Obr. 69. Trus hlucháňa nájdený v stopovej dráhe na snehu. Horná vzorka obsahuje soľ močoviny, typický čerstvý trus zelenkavej farby. Odoberáme vzorku bez bielej časti, označenú vetvičkou (zdroj © Peter Klinga).

Perie ako zdroj DNA

Rovnako ako trus, aj perie je často používané ako dobrý zdroj DNA vtáčích druhov. DNA z peria môže byť získaná aj z malej časti poškodeného pera. Pero je tvorené brkom, kostrnkou a zástavicou. DNA je zvyčajne izolovaná z 1 – 1,5 cm bazálnej časti brka, alebo z krvnej zrazeniny nachádzajúcej sa vo vnútornej časti brka na rozhraní s kostrnkou (obr. 70).



Obr. 70. Pero ako zdroj DNA: 1) brko, 2) krvná zrazenina (Horváth et al. 2004)

Zásady zberu peria:

Zber peria prebieha počas celého roka, najmä v období preperovania. Potrebné je zabrániť kontaminácii brka, preto každé pero musí byť individuálne uložené v papierovom vrecku, servítke, obálke alebo skúmavke so silica gélom. Analýzy potvrdzujú skutočnosť, že z vytrhnutého peria získame väčšie množstvo DNA, a teda aj úspešnosť identifikácie genotypu je vyššia ako z peria vypadnutého pri preperovaní. Množstvo získanej DNA sa zvyšuje s narastajúcou veľkosťou pera. Vo všeobecnosti je perie lepším zdrojom DNA ako trus.

Srst' ako zdroj DNA

Srst' predstavuje spoľahlivý zdroj genetického materiálu pre výskum. Vlasové folikuly obsahujú bunky bohaté na DNA, ktoré možno využiť na genetické analýzy. Táto metóda je neinvazívna a relatívne jednoduchá na zber.

Hlavné spôsoby získavania vzoriek srsti:

- Zber z prirodzených značkovacích miest
- Použitie pasívnych pascí na srst' (lepiace pásky, ostnaté drôty)
- Zber z miest odpočinku zvierat
- Zber z prirodzene vypadnutej srsti

Výhody použitia srsti:

- Dlhodobá stabilita DNA v cibulke srsti
- Jednoduchý zber a skladovanie
- Minimálna potreba špeciálneho vybavenia
- Možnosť dlhodobého uchovávaní pri izbovej teplote
- Nízke riziko kontaminácie

Zásady zberu:

- Používať čisté rukavice
- Vkladať vzorky do priedušných papierových obálok, prípadne čajových vrecúšok
- Zaznamenať presné údaje o mieste a čase zberu
- Skladovať v suchom prostredí
- Minimalizovať vystavenie vlhkosti a priamemu slnku

Metódy zberu srsti

Rozlišujeme návnadové a pasívne metódy zberu chlпов. Návnadové metódy, ako sú chlповé pasce doplnené atraktantom a ostnatým drôtom, prípadne suchým zipsom, umožňujú ciele získavanie vzoriek od konkrétnych druhov, zatiaľ čo pasívne metódy, ako sú prirodzené oterové a značkovacie miesta, sa ukázali ako užitočné pri sledovaní ojedinelých druhov.

Hoci sa návnadové metódy používajú najčastejšie, pasívne metódy bývajú účinnejšie pri odbere vzoriek určitých druhov a pri skúmaní detailného využívania habitatu a mnohých ďalších cieľov prieskumu, pretože správanie nie je ovplyvnené prítážlivosťou návnady. Pasívne metódy majú tiež výhodu v tom, že nevyžadujú vyvolanú reakciu od cieľového zvierat'a. Vzorky sa zbierajú počas normálneho správania a existuje len malé riziko, že jedince získajú averziu alebo si zvyknú na štruktúru zberu srsti (tab. 13).

Metódy na odber srsti môžeme rozdeliť na pasívne a aktívne:

Aktívne metódy:

1. Ohrady na zber srsti sú konštrukcie, ktoré používajú aspoň jeden pruh ostnatého drôtu na obklopenie atraktantu.
2. Oterové stanice sú konštrukcie nasýtené pachovými lákadlami na vyvolanie súchania a zvyčajne používajú jeden zo štyroch typov zariadení na zber srsti:
 - a) Ostnaté súchacie podložky zvyčajne pozostávajú z kobercovej podložky s vyčnievajúcimi klincami, suchým zipsom (alebo v niektorých prípadoch s tuhými prírodnými vláknami) a používajú sa hlavne pre mačkovité šelmy.
 - b) Lepivé súchacie stanice zvyčajne pozostávajú z drevených blokov pokrytých lepidlami

alebo lepiacimi páskami a používajú sa hlavne pre psovité šelmy.

- c) Stromové a stĺpové srstné pasce sú ovinuté ostnatým drôtom alebo vybavené alternatívnymi zariadeniami na zachytávanie srsti a všeobecne sa používali na odber vzoriek (napr. medveďov, *Ursus arctos*, obr. 71).
- d) Búdky sú škatule alebo rúry obsahujúce atraktanty a vybavené pascami na vstupoch alebo pozdĺž vnútorných stien a používajú sa hlavne pre lasicovité šelmy, hlodavce, ale môžu byť účinné aj pre iné malé až stredne veľké druhy.

Pasívne metódy môžeme zoskupiť do dvoch kategórií:

1. Prírodné šúchacie objekty sú predmety nájdené v prírode (napr. medvedie šúchacie stromy), ktoré sú vybavené zariadeniami na zachytávanie srsti.
2. Pasce na migračných trasách sú konštrukcie na zachytávanie srsti, ktoré sa zameriavajú na migračné trasy zvierat alebo iné oblasti koncentrácie, ako sú brlohy, nory, ležoviská a latríny (napr. svišťov) alebo rúry umiestnené na vstupoch do nôr .



Obr. 71. Pasca na chlpy umiestnená na oterovom strome medveďa (zdroj <https://www.youtube.com/watch?v=KsEa5WjtdrA>).

Tab. 13. Silné a slabé stránky zberu vzoriek srsti

Silné stránky	Slabé stránky
Často možno dosiahnuť dostatočne reprezentatívne množstvo vzoriek v krátkom čase.	Problém s identifikáciou druhu. Druh zvyčajne určíme až po genetickom spracovaní.
Umožňuje prieskum veľkých, odľahlých oblastí a lokalizáciu vzácných, skrytých živočíchov.	Množstvo DNA vo vzorkách srsti sa medzi druhmi výrazne líši.
Umožňuje rozlíšenie medzi blízko príbuznými druhmi, jedincami a pohlavím.	Väčšina konštrukcií je účinná len pre cieľové druhy a iné druhy podobnej veľkosti a správania.
Genetická analýza vzoriek v doplnená fenotypovými údajmi jedincov umožňuje výpočet mnohých populačných metrik.	Riziko vnútrodruhovej (medzi jedincami – nedokážeme identifikovať jedinca) a medzidruhovej kontaminácie. Napríklad na oterovom strome s bukovým dechtom sa otierajú za jednu noc rôzne jedince medveďa, líšky, kuny.
Použiteľné v širokej škále typov habitatov.	Návnadové metódy vyžadujú reakciu od cieľového zvieratá.
Často schopné zbierať srst' od viacerých druhov.	Pre všetky druhy neboli vyvinuté účinné metódy zachytávania srsti.
Zachytávacie zariadenia sú všeobecne ľahké a lacné.	V teplom a vlhkom prostredí môže dôjsť k rýchlej degradácii DNA.
Možnosť monitorovania oterového miesta vizuálnym záznamníkom (kamera, fotopasca) a spájať genotyp s fenotypom.	Pohlavne, druhovo a sezónne špecifická variabilita vo frekvencii návštev oterových miest.
Návnadové a pasívne metódy možno kombinovať, čím sa zlepšuje kvalita vzoriek a minimalizuje skreslenie.	V zime môžu byť srstné pasce pokryté snehom, ľadom.

Bukálne stery

Bukálne stery sú neinvazívnou technikou získavania vzoriek DNA, keď akýkoľvek neinvazívny zásah môže byť považovaný za rizikový, alebo keď nemáme k dispozícii nástroje na odber invazívnych vzoriek. Kvalitným zdrojom DNA sú stery z ústnej dutiny, prípadne z hryzených rán na tele koristi po predátoroch, kedy cieľime na DNA predátora, nie koristi. Napríklad stery z ústnej dutiny vyliahnutých kuriatok hlucháňa hôrneho sú cenným zdrojom DNA.

Muzeálna DNA – muzeomika

Muzeomika, ako interdisciplinárny prístup, sa ukazuje ako kľúčový nástroj v štúdiu biodiverzity a jej zmien v priebehu času. Tento vedecký odbor sa zameriava na analýzu vzoriek z múzejných zbierok, pričom využíva techniky celogenómového sekvenovania historickej DNA (hDNA) a starobylej DNA (aDNA). Podľa aktuálnej terminológie je aDNA prirodzene zachovaná v silne degradovaných stopových množstvách a má viac ako 200 rokov, zatiaľ čo hDNA pochádza zo vzoriek archivovaných v zbierkach, ktoré majú takmer vždy menej ako 200 rokov. Vzorky hDNA obmedzujeme na vzorky, ktoré boli náhodne získané z tradičných múzejných zbierok, zatiaľ čo tkanivá (mrazené alebo v konzervačných látkach) zbierané ako vzorky DNA a ich extrakty môžeme nazývať modernou DNA. Napríklad DNA z mrazených

tkanív zozbieraných v roku 1982 a neskôr považujeme za modernú DNA, nie hDNA. Všetky zdroje DNA uložené v múzejných zbierkach môžeme spoločne nazývať archívnu DNA. Použitie múzejných zbierok ako zdroja hDNA a aDNA prispieva k pochopeniu evolúcie biodiverzity na globálnej úrovni, najmä v kontexte klimatických zmien a ľudskej činnosti. Spojením histórie a moderných biologických prístupov muzeomika posilňuje naše snahy o ochranu biodiverzity a jej udržateľný rozvoj v budúcnosti.

Muzeomika má priamy prínos pri skúmaní straty genetickej diverzity žijúcich druhov, najmä tých, ktoré sú v súčasnosti ohrozené. Múzeá po celom svete uchovávajú milióny exemplárov, často z geografických regiónov, ktoré sú dnes mimo rozšírenia týchto druhov. V posledných rokoch sa starobylá aDNA stala kľúčovým nástrojom pri odhaľovaní evolučných javov a procesov, ktoré viedli k vyhynutiu mnohých druhov. Analýza aDNA, získanej z archeologických nálezov a fosílnych pozostatkov, poskytuje unikátne informácie o genetickej diverzite populácií, migrácii druhov a ich adaptácii na meniace sa environmentálne podmienky. Určenie a monitorovanie genetickej diverzity v rámci daného druhu alebo populácie je nevyhnutné pre ich dlhodobé prežitie.

Dalším prínosom muzeomiky je generovanie paleogenómov, t.j. informácií na úrovni genómu z historických alebo fosílnych vzoriek, pre pochopenie nedávnych evolučných udalostí. Napriek tomu, že sa to dnes môže zdať bežné, počet publikovaných paleogenómov z vyhynutých druhov je stále veľmi malý. Niektoré štúdie naznačujú, že faktory ako klimatické zmeny a ľudská činnosť mali zásadný vplyv na vymieranie určitých druhov, pričom aDNA vrhá viac svetla na objasnenie týchto zmien v čase. Tieto poznatky sú kľúčové pre ochranu ohrozených druhov a prispievajú k našej schopnosti predpovedať budúce biologické trendy. Integrácia historickej DNA do ochrany prírody môže mať rozhodujúci vplyv na súčasné ochranárske stratégie.

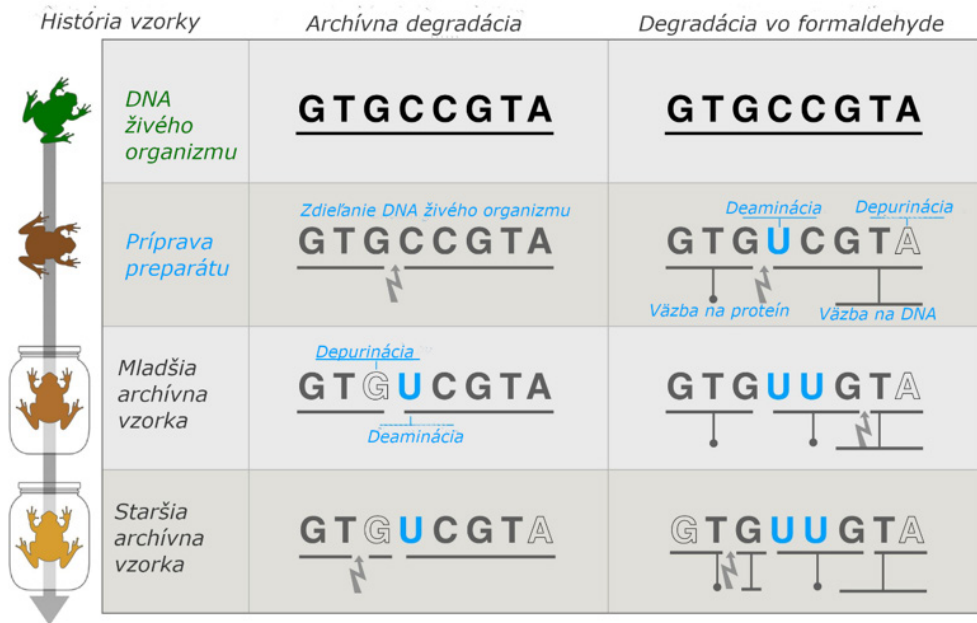
Rôznorodé vzorky, ktoré obsahujú informácie o pohlaví, dátume a lokalite zberu, uložené na jednom mieste, ponúkajú možnosti pre genetický monitoring, evolučný a ekologický výskum, ako aj informácie o chorobách, ktoré ovplyvnili komunity v minulosti. Reakcia polymerázovej reťazovej reakcie (PCR) mení úlohu múzeí vo vede tým, že výrazne zvyšuje množstvo informácií, ktoré môžeme z týchto zbierok získať. Hoci DNA z týchto vzoriek je spravidla kratšia ako 500 bázových párov (bp), PCR umožňuje selektívne amplifikovať cieľové sekvencie a obísť poškodené miesta v DNA, čím sa dajú amplifikovať a sekvenovať dlhšie úseky DNA. Týmto spôsobom sa rozšíril prístup k genetickému materiálu, ktorý sa vyvíja dostatočne rýchlo na rozlíšenie jedincov a zároveň dostatočne pomaly na skúmanie veľkých systematických vzťahov.

Analýza starobylej a historickej DNA získanej z historických preparátov, archeologických nálezov a fosílnych pozostatkov, poskytuje unikátne informácie o genetickej diverzite populácií, migrácii druhov a ich adaptácii na meniace sa environmentálne podmienky v čase, ktoré sú nevyhnutné pre dlhodobé prežitie týchto skupín. Miera degradácie muzeálnej DNA závisí od spôsobov konzervovania vzoriek.

Spôsob fixácie preparátov má významný vplyv na degradáciu DNA, a preto je potrebné prispôbiť aj metódku extrakcie. Okrem klasickej archivácie v sušenom stave alebo v etanole existujú dve kontrastné metódy používané na fixáciu DNA: (i) múzejné vzorky fixované formalínom, bežný typ tekutej prípravy, ktorý sa etabloval v začiatkoch 20. storočia, a (ii) klinický materiál (*formalin-fixed paraffin embedded*, FFPE), ktorý používa 2–4 % formalín a má oveľa kratšie časy kontaktu s preparátom. Tieto rozdiely v koncentrácii formalínu a čase vystavenia majú rôzne účinky na degradáciu DNA, pričom pre extrakciu FFPE konzervovaných vzoriek spoľahlivo fungujú komerčne dodávané sady bez úprav (obr. 72).

Moderné prírodovedecké múzeá a výskumníci zavádzajú muzeomické protokoly, ktoré by mali byť navrhnuté tak, aby minimalizovali deštruktívny odber vzoriek a ich archiváciu.

Špecifické technické prístupy musia byť plánované v závislosti od druhu a typu materiálu. Muzeomika môže pomôcť múzeám zmeniť ich verejný obraz z opisovateľov objektov na aktívnych účastníkov v súčasnej kríze biodiverzity. Nie všetky múzeá majú prístup k vhodným zariadeniam na extrakciu DNA a na realizáciu vlastného výskumu. Preto by múzeá mali považovať za svoju povinnosť nadviazať muzeomické spolupráce s akademickým sektorom a/alebo partnerskými múzeami v rozvinutých krajinách, ktoré pôsobia ako vedecko-výskumné inštitúcie.



Obr. 72. Znáznornenie degradácie DNA v závislosti od spôsobu konzervovania preparátu v čase. Depurinácia je zmena štruktúry DNA v dôsledku endogénnych metabolitov podstupujúcich chemické reakcie. V DNA je deaminácia opravovaná odstránením uracilu. Deaminácia cytozínových báz na deoxyuracil komplikuje sekvenovanie DNA. Jedným z hlavných problémov súvisiacich s FFPE DNA je výskyt sekvenačných artefaktov, ktoré nie sú prítomné v pôvodnej templátovej DNA živého organizmu. Tieto zmeny vedú k C→T prestavbe v sekvenačných reakciách (podľa Raxworthy & Smith 2021).

Z dermoplastických preparátov môžeme odoberať vzorky zoškrabnutím alebo odseknutím 25 mm² zrohovatej kože behákov vtákov, prípadne kože medzi prstami alebo raticami cicavcov. Vývrty alebo výškraby z lebiek exponátov alebo poľovníckych trofejí môžu byť takisto vhodným zdrojom DNA. Vzorky uskladňujeme v sušenom stave v papierovom vrecku, obálke alebo skúmavke so silica gélom. Pri odbere musíme dbať na sterilitu pracovných nástrojov. Po každej vzorke je potrebné nôž, skalpel a pinzetu vystaviť otvorenému plameňu sviečky, zapalovača, kahana a pod.

Okrem základných informácií treba uviesť:

- Miesto odberu a uloženia preparátu alebo trofeje
- Spôsob prvotného získania preparátu alebo trofeje
- Meno majiteľa alebo organizácie

Uplatnenie muzeomiky v ochrane prírody:

- Dokumentovať genetickú eróziu ohrozených druhov
- Získať genómy vyhynutých druhov
- Riešiť fylogénezu druhov
- Pochopiť invázie druhov v posledných storočiach
- Riešiť taxonomické pochybnosti s holotypmi
- Preskúmať historickú genetickú diverzitu existujúcich druhov pred súčasnou klimatickou krízou
- Poskytnúť informácie o epigenetických modifikáciách alebo dokonca o historických patogénoch. Analýza starobylej a historickej DNA získanej z historických preparátov, archeologických nálezov a fosílnych pozostatkov, poskytuje unikátne informácie o genetickej diverzite populácií, migrácii druhov a ich adaptácii na meniace sa environmentálne podmienky v čase, ktoré sú nevyhnutné pre dlhodobé prežitie týchto skupín. Miera degradácie muzeálnej DNA závisí od spôsobov konzervovania vzoriek.

Princípy extrakcie DNA

Extrakcia DNA z eukaryotických buniek predstavuje základný molekulárno-biologický postup, od ktorého závisí realizácia následných analýz. Základné kroky sú: lyzácia (narušenie bunkovej membrány), deproteinizácia (precipitácia resp. vyzrážanie proteínov), separácia proteínov, zrážanie DNA (precipitácia), prečistenie a purifikácia (rozpustenie v konzervačnom pufri). Tradičnou metódou je vysoľovanie pomocou koncentrovaného roztoku NaCl.

Celý proces začína lýzou buniek, kde sa bunky alebo tkanivo suspendujú v lyzačnom roztoku. Tento roztok obsahuje EDTA, ktorá funguje ako chelatačné činidlo viažúce dvojmočné kationy a inaktivujúce DNázy. Ďalej obsahuje Tris-HCl na udržanie stabilného pH, SDS ako detergent na rozrušenie bunkových membrán a proteínázu K, ktorá štiepi proteíny.

Po lýze buniek nasleduje kľúčový krok deproteinizácie, pri ktorom sa do lyzátu pridáva nasýtený roztok NaCl (približne 6 M). Vysoká koncentrácia soli spôsobuje dehydratáciu proteínov, narušenie väzieb medzi proteínmi a DNA. Denaturované proteíny sa následne vyzrážajú, kým DNA ostáva rozpustená v roztoku. Tento proces je základom celej metódy a jeho účinnosť priamo ovplyvňuje čistotu získanej DNA.

V ďalšom kroku sa pomocou centrifugácie separujú vyzrážané proteíny, ktoré vytvoria peletu na dne skúmavky, zatiaľ čo DNA je stále rozpustená v supernatante.

Supernatant sa prepipetuje do novej skúmavky. K supernatantu sa potom pridáva chladený etanol alebo izopropanol, čo tentokrát vedie k vyzrážaniu DNA vo forme občas viditeľných vlákien.

Centrifugáciou sa peleta DNA (zvyčajne neviditeľná) usadí na dne a precipitát sa po centrifugácii odpipetuje alebo vyleje. Následne sa peleta DNA usadená na dne skúmavky premyje 70 % etanolom na odstránenie zvyšných solí.

Záverečným krokom je sušenie pelety DNA na vzduchu a rozpustenie v TE pufri (purifikácia) alebo nanočistej vode. Táto metóda má niekoľko významných výhod – je jednoduchá, rýchla, nákladovo efektívna a nevyžaduje použitie toxických organických rozpúšťadiel ako fenol či chloroform. Je tiež vhodná pre spracovanie veľkého množstva vzoriek a poskytuje relatívne čistú DNA vysokej molekulovej hmotnosti.

Koncentrácia biomolekúl DNA alebo RNA sa stanoví pomocou fluorometrického prístroja (*Qubit Thermo Fisher Scientific*), ktorý využíva fluorescenčné farbivá, ktoré sa špecificky viažu na cieľovú molekulu. Čistota sa stanoví pomocou spektrofotometrie. Pomer absorpcie pri 260 nm a 280 nm (A260/A280) by mal byť približne 1,8, čo indikuje čistú DNA bez kontaminácie proteínmi.

Integritu DNA a dĺžku extrahovaných fragmentov, možno overiť pomocou gélovej elektroforézy na agarózovom géli alebo zariadeniami automatizovanej kapilárnej elektroforézy *QSep* a *Agilent TapeStation*.

Pre špecifické aplikácie, alebo typy vzoriek môžu byť potrebné dodatočné kroky alebo modifikácie základného protokolu. Pri práci s archívnym materiálom alebo degradovanými vzorkami môžu byť potrebné špeciálne postupy na čo najväčšiu výťažnosť DNA.

V súčasnosti sú k dispozícii aj komerčné kity, ktoré kombinujú tieto princípy do optimalizovaných protokolov a často využívajú silikátové kolónky na purifikáciu DNA. Tieto kity sú užívateľsky prívetivejšie a poskytujú konzistentnejšie výsledky, aj keď základné princípy extrakcie zostávajú rovnaké.

Úspešná extrakcia DNA je závislá od precízneho dodržiavania protokolu, správnej voľby reagensí a podmienok, ako aj od typu a kvality východiskového materiálu. Kvalita extrahovanej DNA priamo ovplyvňuje úspešnosť následných aplikácií, ako sú PCR, sekvenovanie alebo klonovanie.

11.3.3 Dizajn zberu vzoriek

Správny dizajn a stratégia zberu genetických vzoriek sú základnými predpokladmi získania spoľahlivých a zmysluplných informácií pomocou vedeckých metód. Návrh správneho dizajnu pre štúdie ochranárskej genetiky komplikuje potreba kombinovania genetických, geografických a environmentálnych premenných. Tieto premenné sú častokrát dávané do súvisu s procesmi dynamiky populácií, ktoré sú výrazne heterogénne v čase aj priestore. Častokrát sa stretávame s náhodne nesystematicky zozbieranými vzorkami pre rôzne účely, ktoré sa následne prispôbujú k štatistickým metódam. Ide o veľmi nešťastný prístup, pretože náhodný zber častokrát obmedzuje výpovednú hodnotu zozbieraného materiálu, obmedzuje schopnosť detekcie vplyvov prostredia alebo krajinných štruktúr na neutrálnu alebo adaptívnu genetickú premenlivosť, a tým zároveň dochádza k neefektívnemu využívaniu finančných prostriedkov a celej vedeckej infraštruktúry zapojenej do výskumu. Na druhej strane, štúdiom celej populácie za ideálnych podmienok sa nám málokedy podarí dosiahnuť. V ochranárskej genetike pracujeme s ťažko spozorovateľnými a chytateľnými druhmi, ktorých vzorkovanie si vyžaduje poznanie ich biológie a etológie, poznatky o distribúcii druhu a prírodných podmienkach v danom území. Samotný zber je častokrát viazaný len na určitú sezónu a na stav poveternostných podmienok. Preto je dôležité mať realisticky stanovené vedecké otázky a hypotézy, na ktoré hľadáme odpovede a snažíme sa ich testovať už vo formálnej fáze prípravy projektu. Aby sme sa vysporiadali s obmedzeniami a úskaliaми, ktoré práca s druhmi žijúcimi skrytým spôsobom života v pre človeka často náročných terénnych podmienkach prináša, musíme citlivo a správne nastaviť spôsob a intenzitu zberu vzoriek naprieč jedincami a populáciami v heterogénnom prostredí. V tejto podkapitole rozoberáme rôzne prístupy a stratégie zberu vzoriek a poskytujeme odporúčania pre najbežnejšie situácie, s ktorými sa v ochranárskej genetike stretávame.

Okrem zvolených vedeckých otázok a hypotéz si správny dizajn vyžaduje stanovenie závislých a vysvetľujúcich premenných, ktoré máme záujem testovať. Tomu prispôbíme stratégiu zberu vzoriek, aké údaje budeme pri zbere zaznamenávať a takisto musíme mať na zreteli, aké štatistické prístupy a metódy použijeme pre analýzu získaných údajov. Všetky tieto aspekty navzájom úzko súvisia a mali by sa vzájomne prekrývať s cieľmi a hypotézami štúdie. Typ štúdie častokrát závisí od finančných a logistických možností, ale otázky a hypotézy si stanovujeme sami.

Správne navrhnutý dizajn zberu vzoriek je základným predpokladom dizajnu celého výskumu a musí spĺňať tri základné podmienky:

- zachytáva časovo-priestorovú heterogenitu krajiny,
- adekvátne je zachytená aj genetická premenlivosť v čase a priestore,
- environmentálne a genetické dáta sú analyzovateľné zmysluplným spôsobom.

Pri práci s genetickými a environmentálnymi údajmi sa často stretávame s problémami konfundovania, kolinearity a autokorelácie, s ktorými je potrebné sa vysporiadať. Konfundovanie je situácia, keď nie je možné izolovať účinky viacerých nezávislých premenných. Kolinearita nastáva, keď korelované vysvetľujúce premenné, môžu skresliť výsledky analýzy. Autokorelácia je závislosť medzi vzorkami, ktorá môže ovplyvniť interpretáciu výsledkov.

Základné predpoklady študijného dizajnu

Základným predpokladom výpovednej hodnoty výskumu je študijný dizajn založený na opakovaných experimentálnych pokusoch. V ochranárskej genetike a množstve ostatných disciplín je množstvo faktorov obmedzujúcich experimentálne pokusy. Napríklad je takmer nereálne opakovane narušiť alebo zmeniť štruktúru, kompozíciu alebo konfiguráciu krajiny za účelom experimentálne testovania vplyvu krajinných štruktúr na tok génov určitého druhu. Alebo je nereálne vytvoriť experimentálne podmienky pre vysoko mobilné alebo ohrozené druhy. Navyše genetická premenlivosť reaguje na zmeny v prostredí s výrazným časovým oneskorením, takže ochranársko-genetické experimenty je ťažké až nereálne realizovať počas trvania grantovej periódy. Ak sú skutočné experimenty nerealizovateľné, sme závislí na priamom pozorovaní. Pri pozorovaní zbierame údaje o určitých premenných, ale aktívne do nich nezasahujeme ani nemeníme spôsob ich zberu. Takýto kvázi-experimentálny dizajn využívame aj v genetike na identifikáciu vplyvu napríklad krajinných štruktúr, rôznych environmentálnych alebo klimatických premenných na genetickú variabilitu populácie tak, že distribúcia vzoriek v priestore zachytáva aktuálnu priestorovú heterogenitu študovaných premenných, ktoré hypoteticky, priamo alebo nepriamo, ovplyvňujú genetickú variabilitu študovanej populácie.

Napríklad ak chceme odlišiť vplyv potenciálne významného faktora, povedzme ciest od efektov a iných faktorov ako sú nadmorská výška, krajinná štruktúra alebo klíma na genetickú variabilitu, môžeme to dosiahnuť zberom vzoriek:

1. v oblastiach, kde sa faktor vyskytuje resp. nevyskytuje,
2. pozdĺž environmentálneho gradientu,
3. stratifikovaným zberom v rôznych environmentálnych podmienkach.

Takisto namiesto opakovania experimentu môžeme porovnať vplyv špecifických premenných testovaním rôznych študijných dizajnov (napríklad v rôznych študovaných oblastiach alebo časových periódach). Tým zistíme variabilitu pozorovaného efektu a jeho reálnu existenciu. To, či bude naša štúdia iba deskriptívna, alebo bude mať skutočnú výpovednú hodnotu o pozorovaných javoch závisí od toho, či sme mali aj pri dizajne štúdie na zreteli možnosti tohto kvázi-experimentálneho testovania a verifikácie.

Stupeň vzorkovania

Stupeň vzorkovania určuje analytickú jednotku, pre ktorú budeme počítat štatistiku a formulovať závery. Napríklad, štúdia môže byť zameraná na celkovú genetickú variabilitu druhu v danej oblasti alebo na porovnanie genetickej variability medzi populáciami. Genetické dáta môžu byť zozbierané na úrovni jedincov alebo populácií, pričom spôsob ich analýzy môže variabilne ovplyvniť výsledky.

Existujú tri hlavné prístupy:

- Individuálny prístup (*Individual-based approach*): V tomto prístupe sú genotypy jedincov analyzované ako samostatné analytické jednotky. Tento prístup je efektívny pri identifikácii jedincov s unikátnymi genetickými vlastnosťami, čo je dôležité pre hodnotenie genetického príspevku jedincov ku genetickej premenlivosti populácie a jej adaptácii na lokálne podmienky. Je najvhodnejší pre štúdium ohrozených a kryptických druhov, kde je náročné získať vzorku aspoň 30 nepríbuzných jedincov, alebo pri cieľených reprodukčných a ochranárskych translokáciách. Jednou z výhod individuálneho zberu vzoriek je aj rýchlejšie odhalenie bariér toku génov, čo je obzvlášť dôležité pri druhoch s kontinuálnym rozšírením. Na druhej strane, populačné prístupy môžu byť citlivejšie na zmeny v dlhších časových horizontoch, najmä ak cieľme na adaptívny potenciál druhov.
- Populačný prístup (*Population-based approach*): Údaje jedincov môžu byť skombinované do skupín na základe určitých parametrov. Tento prístup hodnotí genetickú štruktúru a variabilitu na úrovni populácie alebo skupiny ako základnej analytickej jednotky. Môže však prehliadať jemné genetické rozdiely medzi jedincami a závisí od priemerných hodnôt, čo môže viesť k strate dôležitých detailov. Potrebné je vzorkovanie celej oblasti ovplyvnenej environmentálnou premennou, namiesto zamerania sa len na počet vzorkovaných populácií alebo priemerný počet jedincov. Počet populácií a priemerný počet jedincov v populácii neovplyvňujú schopnosť detekovať signály selekcie. Ak vzorkujeme veľa populácií z podobných prostredí, pravdepodobnosť detekcie lokálnej adaptácie sa nezvyšuje. Pravdepodobnosť detekcie lokálnej adaptácie zvýšime ak vzorkujeme len niekoľko populácií v kontrastných environmentálnych podmienkach. Potrebné je zamerať sa na vzorkovanie dostatočného počtu jedincov žijúcich v rôznych heterogénnych prostrediach a vyhnúť sa vzorkovaniu všetkých populácií v rovnakých podmienkach. Dôležité je zamerať sa na vzorkovanie dostatočného počtu jedincov žijúcich v rôznych heterogénnych prostrediach.
- Kombinovaný prístup: Tento prístup môže spojiť výhody individuálneho a populačného prístupu, pričom umožňuje podrobnejšie analýzy a zachovanie detailov.

Správny dizajn zberu vzoriek na úrovni jedincov a následná analýza nám umožňujú presne kvantifikovať priestorovú genetickú štruktúru, a to aj u druhov s nerovnomerným rozšírením v skúmanej oblasti.

Individuálny prístup poskytuje rovnako veľkú, ak nie väčšiu schopnosť detekcie genetickej izolácie v porovnaní so vzorkovaním populácií, pričom sa zohľadňujú faktory ako:

- Izolácia vzdialenosťou (IBD): Vplyv geografickej vzdialenosti na tok génov.
- Izolácia rezistenciou (IBR): Vplyv krajiny na pohyb jedinca a tok génov.
- Izolácia adaptáciou (IBA): Selektčné tlaky, ktoré ovplyvňujú prežitie jedincov v rôznych prostrediach.

V konečnom dôsledku, správne identifikované analytické jednotky a efektívne vzorkovanie sú kľúčové pre optimalizáciu nákladov a laboratórne spracovanie vzoriek, čím sa zvyšuje presnosť a relevantnosť výsledkov genetických štúdií.

Napríklad vzorkovanie 1000 jedincov v málo fragmentovanej populácii habitatového generalistu s veľkým domovským okrskom, akým je medveď hnedý na Slovensku za účelom štúdia genetickej premenlivosti, štruktúry a toku génov v krajine nie je zmysluplné, či optimálne, ak ich chceme analyzovať na úrovni populácií, pretože môžeme predpokladať, že populácia môže byť štruktúrovaná len na niekoľko skupín (napr. ≤ 10). Preto ak by sme predpokladali 10 skupín oddelených rôznymi hypotetickými bariérami, ovzorkujeme po 30 jedincov z každej

hypotetickej skupiny a budeme analyzovať súbor 300 vzoriek namiesto 1000. Ak by analýzy rozdelili jedince do viac ako 10 predpokladaných populácií (genetických skupín) stále máme dostatočne veľký dataset pre analýzy na úrovni jedinca s dostatočnou štatistickou silou. Dôležitejšie ako celkový počet vzoriek je ich priestorová distribúcia, či hustota vzorkovania na jednotku skúmanej plochy alebo predpokladaného územia geneticky homogénnej populácie.

Intenzita vzorkovania

Intenzita zberu vzoriek je jednoducho počet genetických vzoriek z celkového počtu jedincov v populácií. Zber väčšej proporcie jedincov z populácie zvyšuje intenzitu zberu vzoriek a zvyčajne vedie k presnejším, precíznejším štatistickým výsledkom. Intenzita zberu vzoriek je takisto vo vzťahu k štatistickej sile, ktorá vyjadruje schopnosť detekovať existujúce štatisticky významné vplyvy. Tu je potrebné zdôrazniť, že vzorkovanie všetkých jedincov v populácii je častokrát nereálne, pretože nepoznáme celkovú veľkosť populácie. Radšej sa sústredíme na reprezentatívnu veľkosť vzorky, napríklad 30 jedincov, aby sme boli blízko normálneho rozdelenia, alebo aby sme dosiahli aspoň symetrické rozdelenie. Intenzita zberu vzoriek závisí od vedeckej otázky. Ak je cieľom prieskum toku génov, neutrálnej a adaptívnej genetickej premenlivosti postačuje reprezentatívna veľkosť vzorky. Ak je cieľom odhad početnosti a denzity intenzita vzorkovania sa blíži celkovej veľkosti populácie.

Veľkosť reprezentatívnej vzorky je v úzkom vzťahu s pokrytím genómu študovaného organizmu (*coverage*). Pokrytie genómu závisí od hĺbky čítania a veľkosti referenčného genómu organizmu. Počet SNP markerov má zásadný vplyv na spoľahlivosť a citlivosť detekcie procesov formujúcich tok génov a signály selekcie. Na druhej strane, samotné zvýšenie počtu odobratých jedincov nemusí významne zlepšiť schopnosť detekcie týchto procesov. Pri druhoch s nerovnomerným rozšírením môže byť zber troch až štyroch jedincov na populáciu postačujúci, pričom sekvenovanie na úrovni celého genómu s vysokým pokrytím (minimálne 20×) poskytuje dostatočné genetické informácie. Genetické údaje získané z veľkého počtu polymorfných miest celého genómu nám umožňujú získať relevantné informácie.

Vyšší počet SNP markerov môže pozitívne ovplyvniť detekciu signálov prirodzeného výberu (selekcie). Väčšina génov v genóme je totiž pod vplyvom selekcie len v malom percente; preto zvýšenie hĺbky čítania zvyšuje pravdepodobnosť identifikácie SNP lokusov pod selekčným tlakom. V prípadoch, keď je k dispozícii referenčný genóm a knižnica referenčných vzoriek s vysokým pokrytím, môžu štúdie zamerané na hodnotenie indikátorov selekcie využiť prístup sekvenovania cielených úsekov DNA a tak zvýšiť pomer nákladov a prínosov takýchto štúdií.

Dizajn zberu vzoriek v priestore

Priestorový dizajn môže vážne ovplyvniť naše analýzy a závery. Poznáme štyri hlavné schémy priestorového dizajnu zberu vzoriek.

- **Náhodné vzorkovanie (*Random Sampling*):** vzorky sú vyberané náhodne v rámci študovanej oblasti bez ohľadu na ich priestorové rozloženie, pričom každý jedinec a každá oblasť majú rovnakú pravdepodobnosť byť vybrané.

Výhody: minimalizuje systematické chyby a umožňuje reprezentatívne vzorkovanie celej populácie.

Nevýhody: Môže byť náročné na realizáciu, najmä v prípade veľkých a rozptýlených populácií. Môže viesť k nerovnomernému pokrytiu krajiny a teda aj genetických javov spôsobených heterogenitou prostredia.

- Systematické vzorkovanie (Systematic Sampling): vzorky sú odoberané v pravidelných intervaloch v rámci študovanej oblasti, často podľa kvadrátov (gridu).

Výhody: Jednoduchšie a rýchlejšie ako jednoduché náhodné vzorkovanie. Táto schéma zabezpečuje rovnomerné pokrytie krajiny a je vhodná na identifikáciu distribúcie genetickej variability v priestore.

Nevýhody: Môže viesť ku skresleniu výsledkov, ak existujú pravidelné vzorce v populácii.

- Stratifikované vzorkovanie (Stratified Sampling): Populácia je rozdelená do homogénnych podskupín (strat) na základe určitých charakteristík (napr. typ krajiny, nadmorská výška, vegetácia) a vzorky sú následne vyberané z každého strata.

Výhody: Zvyšuje presnosť odhadov a zabezpečuje, že všetky podskupiny sú zastúpené.

Nevýhody: Vyžaduje predchádzajúce znalosti o populácii a môže byť časovo náročné.

- Klastrové vzorkovanie (Cluster Sampling): Populácia je rozdelená do klastrov (napr. geografických oblastí), a niektoré klastre sú náhodne vybrané na zber vzoriek.

Výhody: Efektívne a nákladovo výhodné pre veľké a rozptýlené populácie.

Nevýhody: Môže viesť k nižšej presnosti, ak sú klastre veľmi homogénne a nevystihujú variabilitu celej populácie. Môže nadhodnocovať výsledky klastrovacích analýz priradzovania jedincov do genetických skupín.

Každá z týchto vzorkovacích schém má svoje výhody a nevýhody, a výber vhodnej metódy závisí od cieľov výskumu a charakteru študovanej oblasti. V krajinárskej genetike sa často používa kombinácia týchto metód, aby sme dosiahli čo najväčšiu presnosť a reprezentatívnosť výsledkov. V ochranárskej genetike pri štúdiu ťažko vzorkovateľných druhov, a/alebo ohrozených druhoch často získavame primárne informácie o genetickom zdraví populácie práve z náhodného zberu vzoriek. Na základe takto získaných primárnych informácií si vieme stanoviť ďalšie hypotézy, na overenie ktorých pokračujeme so systematickým a/alebo stratifikovaným výberom. V krajinárskej genetike sa častokrát stretávame s problémom, že nedokážeme ovzorkovať všetky plánované lokality (napr. z dôvodu nepriaznivého počasia), ale stále sa snažíme čo najviac priblížiť k určitej systematickej schéme zberu vzoriek.

Zosúladenie priestorového dizajnu zberu vzoriek a štatistických metód

Dôležité je prispôbiť dizajn zberu vzoriek štatistickým metódam aplikovaným na zozbierané údaje. Jednoduchý dizajn zberu vzoriek zahŕňa systematické (uniformné, nevyrovnané, náhodne začaté) a náhodné (jednoduché náhodné alebo zoskupené) vzorkovanie resp. výber (obr. 73).

Ak majú byť závery štúdie založené na genetických vzdialenostiach medzi jedincami, môže byť náročné použiť dizajn zberu vzoriek na úrovni populácie. Podobne je ťažké použiť genetickú metriku založenú na systematickom individuálnom zbere vzoriek (obr. 73 a – c), ktorý je typický pre kontinuálne rozšírený druh, ak sa má použiť na populáciách (napr. F_{ST} – hodnoty) a ak majú byť výsledky aplikované na diskkrétne „populácie“ (napr. manažmentové jednotky). Avšak aj individuálny pravidelný systematický zber vzoriek (obr. 73 a) môže byť skresľujúci, ak sa jeho frekvencia zhoduje s pravidelným vzorom. Môžeme tak prehliadnúť vplyv geografických vlastností (napr. prúdenie vody, smer vetra, slnečné svetlo), ktoré ovplyvňujú reakcie študovaných organizmov. Systematické spôsoby dizajnu zberu vzoriek (obr. 73 a – c) sú efektívnejšie pri pokrytí študovanej oblasti, ako náhodné vzorkovanie. Individuálny zber vzoriek a analýza sú veľmi efektívne pre výskum vplyvov krajinných štruktúr, klimatických

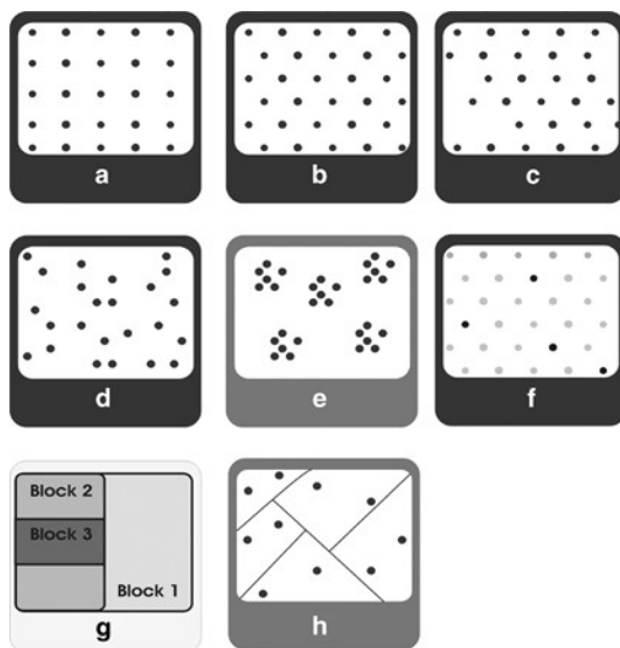
a rôznych iných faktorov životného prostredia na tok génov. Individuálny zber vzoriek je možné aplikovať aj na fragmentované ostrovčekovito distribuované populácie, zatiaľ čo skupinový alebo populačný zber vzoriek pri kontinuálne distribuovaných jedincoch často vedie k nesprávnym záverom.

Pre štúdium vzťahov genotyp ~ prostredie sú vhodnejšie náhodné, lineárne (t. j. transektové) alebo kontinuálne spôsoby zberu vzoriek, pričom ich účinnosť opäť závisí od počtu analyzovaných lokusov a počtu odobratých jedincov. Náhodný dizajn zberu vzoriek má výhodu v produkovani priestorovo nezávislých vzoriek a môže byť aplikovaný na kontinuálne distribuované druhy alebo podmnožinu krajiny na základe požadovaných podmienok prostredia (obr. 73 d – e). Náhodná vzorka môže byť prospešná, pretože generuje širokú škálu vzdialeností medzi bodmi, čo pomáha popisovať vzťahy medzi pozorovaniami v priestore, ak je vzorkovanie dostatočne husté. Nevýhodou je, že rozloženie vzoriek nemusí byť reprezentatívne, pretože pre väčšinu vybraných vzoriek budú niektoré oblasti nadmerne vzorkované, zatiaľ čo iné zostanú nedostatočne vzorkované.

Na využitie individuálnych aj populačných analýz odporúčame vnorený (*nested*) dizajn zberu vzoriek (obr. 73 g). Tento dizajn dokáže využiť výhody analýz na úrovni jedincov aj populácií a tiež uľahčuje detekciu hierarchických genetických štruktúr. Pre štúdium vzťahu prostredia a individuálnych genetických vzdialeností je nefiktívne použitie skupinového dizajnu zberu vzoriek v kontinuálne rozšírenej populácii študovaného druhu (obr. 73 e). Priestorový dizajn zberu vzoriek má oveľa väčší vplyv na odhady genetickej štruktúry, ako samotný počet vzorkovaných jedincov. Konkrétne, pri kontinuálne distribuovaných druhoch vykazujúcich izoláciu vzdialenosťou (IBD) vedie skupinový zber vzoriek často k identifikácii falošných genetických skupín.

Hoci sa zdá, že priestorový dizajn genetického zberu vzoriek je dôležitejší ako veľkosť vzorky, intenzita zberu vzoriek je významná, najmä pokiaľ ide o analýzy priestorovej genetickej štruktúry. Klastrovacie genetické metódy nie sú schopné spoľahlivo priradiť jedincov do genetických skupín (*klastrov*) pri nízkej intenzite zberu vzoriek (napr. $\leq 10\%$ z celkovej veľkosti populácie). Nízka intenzita zberu vzoriek je obzvlášť problematická pre klastrovacie metódy, keď sú populácie geneticky diferencované. Preto sa odporúča odhadnúť podiel celkovej populácie, ktorá bola ovzorkovaná a následne odhadnúť genetickú diferenciáciu medzi predpokladanými populáciami. Ak je intenzita zberu vzoriek a genetická diferenciácia nízka, klastrovacie metódy nemusia byť najlepšou voľbou; namiesto toho by sa mali zvážiť prístupy založené na individuálnych genetických vzdialenostiach (napr. proporcia spoločných alel (D_{ps}) medzi jedincami).

Na záver možno povedať, že neexistuje jedna najlepšia stratégia zberu vzoriek a je nepravdepodobné, že taký univerzálny dizajn vôbec existuje. Genetické a ekologické údaje musia byť starostlivo prispôbené študovanému systému, výskumným otázkam a analytickým prístupom použitým na ich vyhodnotenie.



Obr. 73. Vizualne znázornenie priestorových dizajnov vzorkovania. Diagramy s čiernym pozadím znázorňujú prístupy vzorkovania vhodné pre kontinuálne distribuované populácie, diagramy so sivým pozadím znázorňujú prístupy vhodné pre kontinuálne alebo skupinovo distribuované populácie a diagramy s bielym pozadím znázorňujú prístup vzorkovania najvhodnejší pre skupinovo distribuované populácie. Návrhy systematického vzorkovania (a – c) predpokladajú relatívne rovnomerné rozloženie potenciálnych pozorovaní v krajine, a preto môžu byť použité s kontinuálne distribuovanými populáciami. Čierne body znázorňujú miesta vzorkovania (výberu) pre (a) rovnomerné vzorkovanie, (b) nerovnomerné vzorkovanie a (c) systematické vzorkovanie s náhodným začiatkom. Návrhy náhodného vzorkovania (d – e) zabezpečujú nezávislosť medzi vzorkami, pretože každé miesto (alebo zoskupenie) v študovanej oblasti má rovnakú pravdepodobnosť, že bude ovzorkované. Čierne body znázorňujú miesta vzorkovania pre (d) jednoduché náhodné vzorkovanie a (e) skupinové náhodné vzorkovanie. Zložitejšie návrhy vzorkovania je možné aplikovať buď s jednoduchými alebo náhodnými návrhmi. Hierarchické vzorkovanie (f) je všeobecne vhodné na zber údajov na dvoch úrovniach: čierne body označujú miesta vzorkovania pre premennú na širokej priestorovej úrovni, druhá premenná sa vzorkuje na jemnejšej priestorovej úrovni na čiernych aj sivých bodoch. Vnorené vzorkovanie (nested sampling) (g) vyžaduje, aby bola krajina rozdelená na systematické alebo nepravidelné vzorkovacie jednotky (napr. „bloky“), ktoré sú následne ďalej rozdelené na vzorkovacie jednotky vnorenej úrovne. Blok 1 predstavuje najväčšiu oblasť, ktorá je následne rozdelená na dve jednotky Bloku 2. Jednotky Bloku 2 sú potom ďalej rozdelené na najmenšie jednotky (Blok 3). Pri stratifikovanom vzorkovaní (h) je krajina rozdelená na základe niektorých premenných, ktoré sú nerovnomerne zastúpené v krajine, a pozorovania sa vykonávajú v každej vrstve. Čiary znázorňujú vrstvy navrhnuté na rozdelenie variability v krajine, čierne body reprezentujú náhodné miesta vzorkovania v rámci každej vrstvy. Zobrazené je rovnaké vzorkovanie podľa vrstiev, ale vzorkovanie môže byť aj nerovnomerné (podľa Storfer et al. 2007).

Dizajn zberu vzoriek v čase

Pri navrhovaní zberu vzoriek je dôležité zohľadniť nielen priestorový, ale aj časový dizajn.

Vzorky môžeme získať rôznymi spôsobmi:

1. v jednom časovom bode,
2. opakovane v pravidelných časových intervaloch, napríklad počas niekoľkých rokov,
3. vo viacnásobných časových intervaloch (napríklad na jar a na jeseň)
4. kontinuálne počas určitej časovej periódy.

Časové schémy sa môžu líšiť v rôznych študovaných oblastiach alebo populáciách v závislosti od vedeckej otázky a testovaných hypotéz. Tá istá oblasť môže byť vzorkovaná kombináciou rôznych metód. Význam časového dizajnu zberu vzoriek sa častokrát podceňuje. Zvyčajne sa zaoberáme iba výskytom rozdielov medzi rôznymi časovými obdobiami alebo či dáta nazbierané v rôznych časových obdobiach môžu byť spojené a analyzované ako jeden súbor dát. Prípadne skúmame, či sa počas obdobia zberu vzoriek uplatnili niektoré z evolučných faktorov a došlo k zmene genetickej variability, prípadne štruktúry populácie. Časový dizajn sa však líši podľa účelu zberu vzoriek, či ide o genetický skrining a teda jednorazové hodnotenie genetickej diverzity, zdravia a životaschopnosti populácií druhov alebo o genetický monitoring, ktorý musí byť realizovaný opakovane, v pravidelných časových intervaloch. Jednorazový skrining aj genetický monitoring môžu byť realizované vo viacnásobných časových intervaloch (napríklad na jar a na jeseň) alebo kontinuálne počas určitej časovej periódy, podstatné je, že genetický monitoring musí byť realizovaný pravidelne v čase a systematicky v priestore.

Zber environmentálnych údajov

Priestorový dizajn vzorkovania musí primerane reprezentovať priestorovú heterogenitu testovaných environmentálnych faktorov vrátane krajiny, najmä s ohľadom na krajinné prvky, ktoré pravdepodobne ovplyvňujú priestorovú genetickú štruktúru. Jednoduchšie je identifikovať krajinné prvky, ktoré obmedzujú tok génov, v porovnaní s prvkami, ktoré ho uľahčujú. V krajinách, kde je z pohľadu skúmaného druhu biotop nepoškodený a súvislý, bude ťažké detekovať vzťahy medzi prostredím a genetikou. Genetická štruktúra môže byť formovaná historickou štruktúrou krajiny, sociálnymi, alebo historickými (kolonizácia iných líní) faktormi a evolučnými procesmi.

Pri plánovaní dizajnu musíme brať do úvahy niekoľko faktov:

1. Nereálnosť replikovateľnosti experimentu, pretože pracujeme s environmentálnymi premennými a genotypmi jedincov, ktorých genetická štruktúra je aktuálnym výsledkom rôznych historických disturbančných procesov a evolúcie v čase a priestore.
2. Environmentálne faktory ako klimatické činitele a krajinná štruktúra, rieky, horstvá, infraštruktúra a ľudské sídla vplývajú na rôzne druhy s rôznou intenzitou. Hľadáme vzťahy medzi procesmi, ktoré zvyčajne pôsobia v odlišných priestorových a časových rámcov (napríklad vzťah využívania krajiny človekom so zmenou genetickej variability populácie).
3. Historickú krajinnú štruktúru a disturbancie, ktoré nevidíme.
4. Evolučné procesy ovplyvňujúce dynamiku populácií a formujúce genetickú premenlivosť a štruktúru, akými sú efekt zahrdlenia a efekt zakladateľa
5. Fylogeografické šírenie druhov z glaciálnych refúgií

Dizajn zberu vzoriek primárne prispôbujeme aktuálnym environmentálnym faktorom ako sú klimatické činitele a krajinná štruktúra, ktoré potenciálne ovplyvňujú súčasnú priestorovú distribúciu, pohyb a priestorovú genetickú štruktúru populácií, pričom berieme do úvahy aj historické procesy formujúce genetickú štruktúru populácií, ktoré nevidíme a musíme sa spoliehať na nepriame indície a fakty. Informácie o environmentálnych faktoroch môžeme získať z výskytových dát zozbieraných prostredníctvom diaľkového prieskumu Zeme alebo terénnym prieskumom. Oba prípady sú náchylné na chybovosť, ktorú musíme minimalizovať. Výhodou dát získaných z diaľkového prieskumu je, že získame údaje z veľkého územia v relatívne krátkom čase. Avšak ich slabinou je, že sú odvodené z rôznych platforiem diaľkového prieskumu, z ktorých každá má iné špecifické rozlíšenie merané v pixeloch alebo veľkosti bunky a tým môže dochádzať k skresleniu skutočných hodnôt. Priestorový rozsah a rozlíšenie údajov varujú v závislosti od druhu alebo študovaného systému. Ideálne rozlíšenie (veľkosť

pixelu alebo bunky) by malo byť menšie ako výmera denného domovského okrsku jedinca študovaného druhu. Je vhodné testovať environmentálne premenné z viacerých časových rámcov, alebo v prípade štúdia adaptácií je vhodné ak environmentálne dáta poskytujú údaje za širší časový rámec (napr. v desiatkach rokov). Môže sa stať, že časový rámec kedy bol genetický materiál zbieraný sa neprekrýva s časom, kedy došlo k zmene environmentálnych podmienok, ktorá sa prejavila na genetickej štruktúre populácie s určitým oneskorením. Nevýhodou zberu environmentálnych údajov v teréne je pokrytie malého územia, možné chyby v dôsledku nepresností pri zápise a vysoká prácnosť.

Schopnosť detekovať vplyvy krajiny na tok génov klesá so zvyšujúcou sa zložitou krajinou a so znižujúcimi sa rozdielmi medzi priepustnosťou biotopu. Detekcia významného vplyvu krajinných prvkov alebo environmentálnych premenných je spoľahlivá vtedy, keď vykazujú vysokú variabilitu v rámci skúmaného územia.

Bezvýznamnosť určitého krajinného prvku teda nemusí znamenať, že neovplyvňuje pohyb a tok génov populácií skúmaných druhov, ale môže byť jednoducho spôsobená nedostatkom priestorovej heterogenity pre daný prvok v skúmanom území. Vplyvy nedávnych zmien krajiny na genetickú konektivitu je ťažké detekovať, ak sa prvky zhodujú s permanentne vyskytujúcimi sa krajinnými štruktúrami, ako sú pohoria, jazerá alebo rieky. Preto by sa mali vykonávať krajinársko-genetické štúdie v oblastiach zachytávajúcej väčšinu variability ekologickej niky druhov. Presnosť kategorizácie krajiny do tematických tried je dôležitejšia, ako samotné rozlíšenie (veľkosť bunky) geografickej vrstvy.

Odporúčania pre optimálne stratégie zberu vzoriek

V tomto bode nemôžeme vyvinúť jednoduchý súbor pravidiel, ako najlepšie zbierať krajinárske a genetické údaje pre určité výskumné otázky. Avšak na základe všeobecných poznatkov o dizajne štúdie a aktuálnych poznatkov o základných princípoch zberu vzoriek v krajinársko-genetických štúdiách môžeme odvodiť niekoľko odporúčaní, ktoré je potrebné zväziť pri hľadaní adekvátnej stratégie zberu vzoriek pre krajinné genetické štúdie.

Najprv upozorňujeme, že náhodný necielený dizajn zberu vzoriek môže spôsobiť, že ľahko prehliadneme vzťahy medzi prostredím a genetikou alebo dokonca môže viesť k chybným záverom o priestorovo-genetických štruktúrach. Preto musíme mať jasno vo svojich výskumných otázkach a postaviť jasné, testovateľné hypotézy o tom, ako môže heterogenita prostredia ovplyvniť genetickú variabilitu študovaných populácií druhov, buď priamo alebo nepriamo (napr. prostredníctvom disperzie/toku génov, driftu, efektívnej veľkosti populácie atď.). Tieto hypotézy by nás mali viesť pri výbere jednotiek zberu vzoriek a analýzy, ktoré tiež musia zodpovedať štatistickým prístupom určeným na kvantifikáciu genetických javov v priestore a na prepojenie krajinných a genetických údajov. V niektorých prípadoch musia byť tieto hypotézy zohľadnené aj pri výbere študovanej oblasti už na začiatku.

Pred odchodom do terénu na zber genetických vzoriek musíme zväziť dostupnosť mapových vrstiev a údajov o krajine, ktoré sú potrebné na riešenie výskumných otázok a hypotéz. Ak požadované údaje nie sú dostupné, možno bude potrebné vykonať terénny prieskum na ich získanie. Musíme starostlivo posúdiť, či tieto údaje zodpovedajú tematickému zastúpeniu limitujúcich faktorov distribúcie študovaného druhu. Musíme otestovať, ako môže priestorová heterogenita týchto premenných ovplyvniť distribúciu druhov a efektívnosť dizajnu zberu vzoriek. Cieľom nášho zberu vzoriek by malo byť zachytenie tejto heterogenity tak, aby bolo možné testovať jej predpokladané účinky na genetickú variabilitu. V tomto kroku by sme mali usilovať o kvázi-experimentálne dizajny štúdií, ktoré využívajú priestorovo vnorené opakovania, aby bolo možné s väčšou istotou odvodiť vzťahy medzi prostredím a genetikou.

Záverčné odporúčania

Ak sa rozhodneme pre stratégiu vzorkovania, ktorá zabezpečí dostatočnú silu na detekciu predpokladaných vzťahov medzi prostredím a genetikou, môžeme konečne prejsť do terénu a pokúsiť sa vzorkovať požadovaným spôsobom. Ak vzorkovanie neprebíha podľa plánu, musíme prehodnotiť, či realita stále zodpovedá nášmu študijnému systému, a či má dostatočnú silu na testovanie našich hypotéz. Ak nie, musíme buď upraviť stratégiu vzorkovania, predefinovať hypotézy alebo celú štúdiu ukončiť. Takáto „adaptívna“ stratégia vzorkovania môže byť vedená aj predbežnou analýzou čiastkových údajov, ktorá pomáha spresniť vzorkovanie, napríklad keď je vzorkovanie možné realizovať počas viacerých rokov.

Individuálny zber vzoriek a analýza sú veľmi efektívne pre výskum vplyvov krajinných štruktúr, klimatických a rôznych iných faktorov životného prostredia na tok génov a adaptívnu premenlivosť populácií.

Individuálny zber vzoriek je možné aplikovať na fragmentované ostrovčekovito distribuované populácie, zatiaľ čo skupinový (klastrovaný alebo populačný) zber vzoriek pri kontinuálne distribuovaných jedincoch často vedie k nesprávnym záverom.

Pri populačnom resp. skupinovom zbere vzoriek je dôležité zabezpečiť dostatočne vysokú intenzitu zberu vzoriek, ktorá je podobná vo všetkých skúmaných populáciách.

Ak súbor vzoriek jedincov dostatočne reprezentuje priestorové rozloženie populácie a environmentálnej heterogenity v študovanej oblasti, zvýšenie počtu vysoko variabilných lokusov, namiesto počtu odobratých jedincov, môže byť informatívnejšie pre štúdium vzťahov medzi krajinou, tokom génov a adaptívnou genetickou premenlivosťou.

V dobre prepojenej krajine je presná kvantifikácia priestorových genetických štruktúr, environmentálnych podmienok a štruktúry krajiny na distribúciu genetickej premenlivosti v priestore náročná, aj keď existujú.

Schopnosť detekcie faktorov ovplyvňujúcich tok génov klesá so zvyšujúcou sa heterogenitou krajiny a klesajúcim rozdielom medzi mierou rezistencie krajiny pre pohyb jedincov a mierou toku génov. Preto, ak je priestorová genetická štruktúra slabá, a/alebo je krajina heterogénna s malými rozdielmi medzi mierou priepustnosti krajiny pre pohyb jedincov a mierou toku génov, je obzvlášť dôležité použiť kvázi-experimentálny dizajn zberu vzoriek. Tento dizajn špecificky cieľi na hypotézy týkajúce sa prenosu génov v krajine a zahŕňa charakteristiky krajiny, ktoré sa predpokladajú ako prekážky, resp. bariéry toku génov.

Poznanie limitujúcich faktorov ovplyvňujúcich distribúciu druhov je kľúčové, aby dizajn zberu vzoriek zachytil priestorovú heterogenitu relevantných zdrojov jedincov.

Presná identifikácia a reklasifikácia krajinných štruktúr a ďalších environmentálnych premenných (klíma, pôda, štruktúra krajiny) vo vzťahu k ekologickým nárokom študovaného druhu, je dôležitejšia ako detailné priestorové rozlíšenie environmentálnych premenných.

Dokonalý návrh štúdie často nie je možný a terénne práce ukážu stále nové neočakávané okolnosti a výzvy, s ktorými sa musíme vyrovnávať.

Pri plánovaní štúdie ochranárskej genetiky sa môžeme pokúsiť riadiť vyššie uvedenými odporúčaniami a následne zodpovedaním niekoľkých kľúčových praktických otázok, napríklad:

1. Aké sú naše presné výskumné otázky v oblasti krajinárskej genetiky a hypotézy o tom, ako krajina ovplyvňuje genetickú variáciu a procesy v študovanom organizme? Napríklad predpokladáme pôsobenie ľudských sídel alebo ornej pôdy prípadne nedostatku zrážok ako faktorov priestorovej distribúcie genetickej premenlivosti? Stále máme na zreteli biologické nároky skúmaného organizmu a možný vplyv historickej krajinnej štruktúry a pôsobenie evolučných faktorov.

2. Na základe našich hypotéz, ako definujeme študijné územie (rozsah), akým spôsobom potrebujeme vzorkovať heterogenitu krajiny (premenné, rozlíšenie), a aké údaje o krajine sú už dostupné pre študijné územie?
3. Aká je vhodná úroveň vzorkovania a jednotka analýzy pre našu štúdiu: jedince alebo populácie?
4. Kedy je optimálny čas (sezónne obdobia, viac rokov) na vzorkovanie organizmu v teréne? Niektoré druhy (napríklad hlucháň hôrny) je vhodné vzorkovať za prítomnosti snehovej pokrývky.
5. Ako môžeme najlepšie pokryť vzorkovacie jednotky (jedince alebo populácie) v priestore?
6. Ako môžeme získať genetické vzorky od organizmu? (máme k dispozícii vzorky tkanív, alebo sme odkázaný na zber iba neinvazívnych vzoriek?)
7. Aké sú naše možnosti markerov na kvantifikáciu genetickej premenlivosti vo vzorkách? (od počtu markerov alebo SNP závisí aj potreba dosiahnutia minimálneho počtu jedincov)
8. Ako najlepšie alokovať naše úsilie o vzorkovanie? Mali by sme zvýšiť počet vzorkovaných populácií, počet vzorkovaných jedincov alebo počet lokusov analyzovaných pre každého jedinca?
9. Ako môžeme optimalizovať návrh našej štúdie, aby bol kvázi-experimentálny?

Uvádzané usmernenia sú všeobecné, a musíme ich adaptovať na vlastné podmienky, prijať mnohé úpravy a kompromisy. Napríklad výskyt druhu alebo rozloženie určitých environmentálnych premenných nemusí byť známe až do ukončenia terénnych prác, takže dobre ciele vzorkovanie nemožno naplánovať vopred. V takýchto prípadoch je možné použiť dvojstupňové vzorkovanie. Napríklad je vhodné, aby sa vzorkovanie spočiatku realizovalo na jednotlivcoch na študovanom území, čím by sa získali údaje o celkovej genetickej štruktúre a premenlivosti populácie a tým získame lepší obraz o aktuálnom stave vplyvov krajiny na distribúciu genetickej variability v priestore. Po získaní týchto informácií by mohlo nasledovať ciele vzorkovanie, zamerané na konkrétne lokality, prípadne jedincov pre testovanie hypotéz odvodených z počiatočného vzorkovania.

Stručne povedané, vypracovanie efektívnych stratégií vzorkovania pre krajinársku genetiku je ďaleko od triviálneho a vyžaduje si adaptívny prístup, zváženie mnohých prepojených aspektov a prijatie mnohých rozhodnutí. Toto je v ostrom kontraste s mnohými štúdiami krajinárskej genetiky, ktoré sa často zdajú byť založené na oportunistickom vzorkovaní bez uváženia akýchkoľvek predpokladov. Verím, že tieto usmernenia povzbudia výskumníkov, a projektových manažérov, aby sa kritickejšie pozerali na mnohé faktory a možnosti ovplyvňujúce dizajn štúdií ochranárskej a krajinárskej genetiky.

Zhrnutie

Zber genetických vzoriek je kľúčovým krokom, ktorý významne ovplyvňuje kvalitu a množstvo získanej DNA, a tým aj úspešnosť následných analýz.

Poznáme dva hlavné prístupy: invazívne a neinvazívne vzorkovanie. Kľúčovým faktorom je správny zber a uchovávanie tkanív, ktoré sú základom pre izoláciu kvalitnej DNA a RNA. Kvalita genetického materiálu je kritická najmä pre de novo zostavenie genómov a ďalšie pokročilé analýzy. Poznáme tri kategórie využiteľnosti tkanív podľa množstva a kvality získanej DNA; čím skôr po smrti organizmu sa vzorka odoberie, tým lepšia je kvalita genetického materiálu. Osobitná pozornosť musí byť venovaná sterilným podmienkam a správnej manipulácii so vzorkami, ako aj identifikácii najlepších zdrojov DNA, medzi ktoré patria pečeň, krv a iné mäkké tkanivá. Kostrové svaly sú dobrým zdrojom DNA, ktorý nepodlieha degradácii tak rýchlo, ako krv a vnútorné orgány.

Neinvazívne vzorkovanie predstavuje alternatívny prístup, ktorý umožňuje získať genetické informácie bez narušenia prirodzeného vývoja a správania živočíchov. Medzi hlavné zdroje neinvazívnych vzoriek patria moč, trus, srst', perie, zvlčená koža a sliny. Každý z týchto zdrojov má svoje špecifiká – napríklad moč obsahuje väčšie množstvo DNA než iné neinvazívne zdroje, trus poskytuje bunky črevného epitelu bohaté na DNA, zatiaľ čo srst' a perie sú spoľahlivými zdrojmi DNA z vlasových folikulov a hrotu brka. Pri všetkých typoch vzoriek je kritické dodržiavanie sterilných podmienok pri zbere a správne uskladnenie na minimalizáciu degradácie DNA.

Osobitnou oblasťou je muzeomika – analýza vzoriek z múzejných zbierok, ktorá rozlišuje medzi historickou DNA (mladšou ako 200 rokov) a starobyľou DNA (staršou ako 200 rokov). Tento prístup je mimoriadne cenný pre štúdium evolúcie biodiverzity a vyhynutých druhov, hoci vyžaduje špeciálne protokoly kvôli značnej degradácii DNA v historických vzorkách.

Správny dizajn zberu vzoriek musí zohľadňovať priestorovú heterogenitu prostredia, genetickú variabilitu v čase a priestore, ako aj rôzne environmentálne faktory. Poznáme tri hlavné schémy priestorového dizajnu: systematické, náhodné a stratifikované vzorkovanie, ako aj rôzne časové dizajny od jednorazového cez opakovaný až po kontinuálny zber.

Pri optimalizácii stratégií zberu vzoriek zdôrazňujeme potrebu jasného definovania výskumných otázok a hypotéz, zohľadnenia dostupnosti environmentálnych vrstiev a údajov, správneho výberu úrovne vzorkovania (jedinec vs. populácia), optimálneho načasovania zberu, vhodného priestorového rozmiestnenia vzoriek a efektívnej alokácie úsilia pri zbere. Osobitný dôraz je potrebné klásť na význam prispôsobenia dizajnu zberu plánovaným štatistickým metódam analýzy.

Použitie rôznych genomických metód ochranárskej genetiky je podmienené kvalitou extrahovanej DNA. Základnými krokmi extrakcie sú: lyzácia (narušenie bunkovej membrány), deproteinizácia (precipitácia resp. vyzrážanie proteínov), separácia proteínov, zrážanie DNA (precipitácia), prečistenie a purifikácia (rozpustenie v konzervačnom pufri).

Kontrolné otázky

- Aké sú hlavné rozdiely medzi invazívnymi a neinvazívnymi metódami zberu genetických vzoriek?
- Vysvetlite význam správneho dizajnu zberu vzoriek pre genetické štúdie.
- Aké sú kľúčové faktory ovplyvňujúce kvalitu DNA získanej z neinvazívnych vzoriek?
- Popíšte hlavné princípy muzeomiky a jej význam v ochranárskej genetike.
- Ako ovplyvňuje priestorová a časová heterogenita prostredia stratégiu zberu vzoriek?

Literatúra

Allendorf *et al.* (2010), Amory *et al.* (2012), Beja-Pereira *et al.* (2009), Berry & Aitken (2007), Department of Biodiversity, Conservation and Attractions (2017), Emami-Khoyi *et al.* (2021), Frantz *et al.* (2009), Horváth *et al.* (2004), Höss *et al.* (1992), Lindahl (1993), Longmire *et al.* (1997), O'Meally & Livingston (2002), Murphy *et al.* (2006), Storfer *et al.* (2007), Piggot & Taylor (2003), Pompanon *et al.* (2005), Santos & Gaiotto (2020), Schwartz *et al.* (2007), Smith (2021), Taberlet *et al.* (1999), Waits & Paetkau (2005), Wandeler *et al.* (2007)

11.4 eDNA: Význam, výhody a obmedzenia

V tejto kapitole sa zaoberáme environmentálnou DNA (eDNA), jej významom, výhodami, obmedzeniami a postupmi pri zbere a skladovaní. Environmentálnu DNA (eDNA) definujeme ako genetický materiál, ktorý je uvoľňovaný organizmami do svojho prostredia. Tento materiál môže pochádzať z rôznych zdrojov, vrátane buniek, exkrementov alebo iných biologických zvyškov. Environmentálna DNA (eDNA) je DNA získaná z rôznych environmentálnych médií, ako sú pôda, voda, vzduch. Metódy eDNA extrahovanej z trusu sa využívajú aj na potravné analýzy. Táto technológia má široké spektrum aplikácií a umožňuje monitorovanie výskytu druhov bez potreby ich priameho pozorovania alebo aktívneho zásahu do druhov alebo komunít, ktoré sú predmetom výskumu. Výhodou je lacnejšie a rýchlejšie monitorovanie, avšak táto metóda má aj svoje obmedzenia. Analýza eDNA nám umožňuje identifikovať prítomnosť druhov v danom prostredí bez potreby ich priameho pozorovania a vyrušovania. Tento prístup je obzvlášť užitočný pri monitorovaní druhov žijúcich skrytým spôsobom života alebo ohrozených druhov. Aplikácia eDNA monitoringu je závislá od opakovaných prieskumov rovnakej oblasti v určitom časovom období. Je potrebné odlišovať monitoring od jednorazového prieskumu.

Monitoring pomocou eDNA zahŕňa niekoľko krokov:

- Zber vzoriek: Vzorky vody, pôdy alebo sedimentov prípadne čiastočiek v ovzduší sa zbierajú z cieľových lokalít. Dôležité je zabezpečiť, aby sa vzorky neznečistili inými zdrojmi DNA.
- Extrakcia DNA: Získaná eDNA sa extrahuje pomocou špecifických protokolov, ktoré zaručujú vysokú kvalitu a čistotu vzorky.
- *Metabarcoding*: molekulárna metóda, ktorá kombinuje DNA *barcoding* s vysokovýkonným sekvenovaním (*Next Generation Sequencing*, NGS). Umožňuje súčasnú identifikáciu viacerých druhov organizmov z komplexných environmentálnych vzoriek. DNA organizmu sa porovnáva s DNA barkódom, čo je krátky fragment DNA zo špecifického génu. DNA barkód je ako odtlačok prsta pre určitý druh organizmu. DNA barkódy sa používajú rôznymi spôsobmi, vrátane rozlišovania jednotlivých druhov, identifikácie larválnych alebo juvenilných štádií a opisu nových druhov (obr. 74). Pre živočíchy sa štandardne používajú barkódy CO1 (cytochróm c oxidáza podjednotka 1), najpoužívanejší pre živočíchy najmä u hmyzu, vtákov, rýb, nachádza sa v mitochondriálnej DNA a 12S rRNA pre stavovce, kratší ako CO1.
- Bioinformatické spracovanie: Výsledky sekvenovania sa analyzujú pomocou bioinformatických nástrojov, čo umožňuje identifikáciu druhov a ich relatívnu abundanciu.

eDNA monitoring má široké spektrum aplikácií:

- Prieskum biodiverzity celých ekosystémov: eDNA umožňuje rýchlo a efektívne posúdiť biodiverzitu v rôznych ekosystémoch. Mnohé štúdie ukázali, že eDNA môže odhaliť prítomnosť druhov, ktoré by inak zostali neidentifikované tradičnými metódami.
- Medzidruhové interakcie (napr. medzi rastlinami a opel'ovačmi, alebo korisťou a predátormi).
- Detekcia invázných druhov: eDNA je veľmi účinná v boji proti inváziivným druhom, ktoré môžu narušiť miestne ekosystémy. Rýchla detekcia týchto druhov je kľúčová pre ich kontrolu a eradikáciu.
- Ochrana ohrozených druhov: eDNA monitoring môže pomôcť pri sledovaní populácií ohrozených druhov a ich expanzii do nových biotopov. Týmto spôsobom môžeme navrhnúť efektívne opatrenia na ochranu týchto druhov.
- Monitoring kvality a znečistenia ovzdušia.

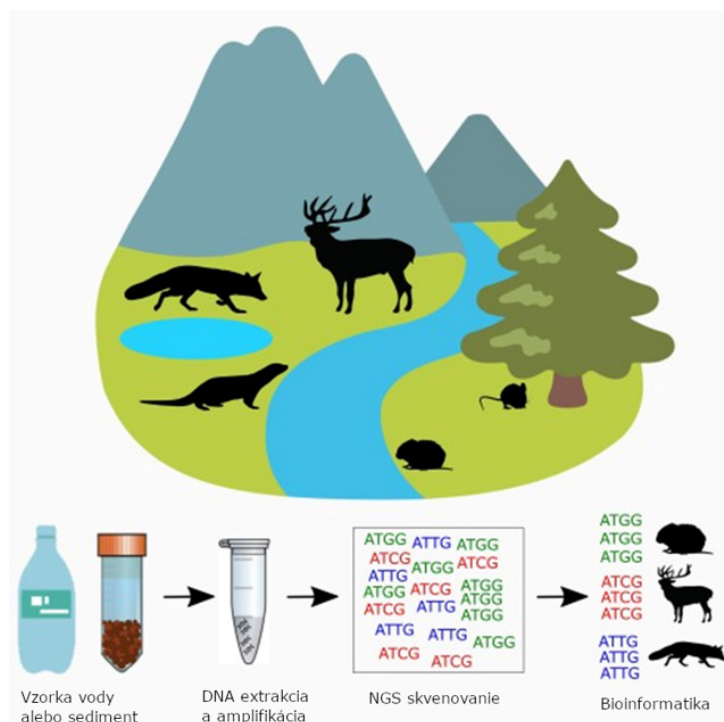
- Analýzy potravy a rekonštrukcia trofických interakcií.
- Odhad genetickej premenlivosti na úrovni populácií.

Výhody eDNA prieskumu:

1. Nízka invazívnosť: eDNA monitoring je menej invazívny ako tradičné metódy, čo je obzvlášť dôležité pri ochrane ohrozených druhov.
2. Vysoká citlivosť: eDNA môže detekovať aj veľmi nízke koncentrácie DNA, čo zvyšuje pravdepodobnosť identifikácie prítomnosti ťažko pozorovateľných a/alebo málopočetných taxónov.
3. Rýchlosť a efektívnosť: Proces zberu a analýzy eDNA je často rýchlejší a efektívnejší ako tradičné metódy (obr. 74).

Nevýhody eDNA prieskumu:

1. Degradácia DNA: eDNA je náchylná na degradáciu v prostredí, čo môže ovplyvniť kvalitu a množstvo získaných vzoriek.
2. Interpretácia dát: Analýza eDNA vyžaduje pokročilé bioinformatické nástroje a odborné znalosti, čo môže byť pre niektoré laboratóriá výzvou.
3. Falošne pozitívne výsledky: Existuje riziko falošne pozitívnych výsledkov, najmä ak sa neberú do úvahy kontaminácie zo zdrojov mimo cieľového ekosystému.
4. Mnohé štúdie potvrdili účinnosť eDNA monitoringu v rôznych ekosystémoch. Napríklad, eDNA môže presne identifikovať prítomnosť rýb v jazere, pričom tradičné metódy zlyhali. eDNA môže byť použitá na detekciu morských cicavcov, čo naznačuje jej potenciál v oceánskej ekológii.



Obr. 74. Proces využitia eDNA metabarkódingu pre identifikáciu semiakvatických a suchozemských cicavcov (Sales et al. 2019).

11.4.1 Úskalia metód eDNA

Napriek výhodám má eDNA aj svoje obmedzenia. Tieto obmedzenia sú často spoločné pre všetky genetické výskumy:

- Krížová kontaminácia: DNA z iných zdrojov môže znehodnotiť výsledky. Napríklad DNA z rýb ulovených počas víkendového rybolovu alebo zo stravy (napr. slanina, losos) môže byť zachytená pri analýze.
- Amplifikácia DNA: Problémy môžu nastať pri navrhovaní testov (*assay*) a ich spoľahlivosti.
- Taxonomické obmedzenia: Mnohé organizmy nemajú dostatočne preskúmanú taxonómiu, čo komplikuje ich identifikáciu.

Tieto problémy je možné riešiť pomocou kontrol a vhodných postupov.

Kontroly pri práci s eDNA

Na minimalizáciu rizika krížovej kontaminácie je dôležité zaviesť kontrolné opatrenia:

- Negatívna kontrola v teréne: Použitie čistej vody (napr. UV ožiarenej) na simuláciu zberu vzoriek bez kontaminácie.
- Pozitívna kontrola: Pridanie známeho množstva DNA do vzorky (DNA cieľového druhu alebo syntetická DNA) na overenie správnosti postupu.

Kontroly sú kľúčové pre zabezpečenie kvality výsledkov a umožňujú identifikovať prípadné problémy už počas zberu vzoriek.

Zber a skladovanie vzoriek

Pri zbere vzoriek je dôležité zabrániť degradácii DNA. Ak sa vzorka nechá bez konzervácie, DNA sa začne rozkladať. Preto sa vzorky fixujú ihneď po zbere.

Fixácia môže zahŕňať:

- Použitie etanolu: Najbežnejšia metóda.
- Použitie DNA/RNA buffrov: Chemikálie, ktoré stabilizujú DNA/RNA.
- Zmrazenie vzoriek: Napríklad použitím tekutého dusíka alebo uložením na ľad.

Dôležité je zabezpečiť správne skladovanie a prepravu vzoriek. Vzorky by sa nemali posielat' medzi stredou a piatkom, aby sa predišlo ich skladovaniu cez víkend pri nevhodných teplotách. Ideálne je posielat' vzorky v pondelok alebo utorok.

Literatúra

García-Rodríguez *et al.* (2021), Sales *et al.* (2019), Harper *et al.* (2019), Lacoursière-Roussel *et al.* (2016), Rees *et al.* (2014), Sales *et al.* (2025), Taberlet *et al.* (2012), Thomsen *et al.* (2012), Willerslev *et al.* (2003)

Kontrolné otázky

- Definujte environmentálnu DNA a vysvetlite jej význam v ekologickom výskume.
- Aké sú hlavné výhody a nevýhody využitia eDNA v porovnaní s tradičnými metódami monitoringu?
- Aké sú hlavné zdroje kontaminácie pri práci s eDNA a ako im predchádzať?

11.5 Etické aspekty ochranárskej genomiky

Súčasný rozvoj biotechnológií nám prináša takmer neobmedzené možnosti výskumu biodiverzity. Hoci tieto technológie predstavujú inovatívne príležitosti na posilnenie biodiverzity, ako je podpora adaptačného potenciálu a zmiernenie účinkov klimatickej zmeny, prinášajú aj riziká, ktoré je potrebné starostlivo vyhodnotiť. Napríklad zavedenie genomických zmien by mohlo narušiť existujúcu ekologickú rovnováhu, potenciálne vedúc k nežiaducim dôsledkom v lokálnych ekosystémoch.

Etické výzvy v ochranárskej genomike

1. Zásah do prirodzeného vývoja

Jedným z hlavných etických problémov je zásah do prirodzeného vývoja organizmov. Genomické technológie, ako je CRISPR, umožňujú vedcom upravovať DNA organizmov, čo môže mať nepredvídateľné následky na ekosystémy. Zásahy do genetického materiálu ohrozených druhov môžu viesť k nežiaducim mutáciám a ovplyvniť ich evolučný potenciál.

2. Genetická diverzita a homogenizácia

Cielená ochrana iba vybraných génov alebo vlastností môže viesť k homogenizácii genetickej diverzity. Udržanie genetickej variability je kľúčové pre adaptabilitu a prežitie druhov v meniacich sa podmienkach. Eticky zodpovedná ochrana biodiverzity by mala brať do úvahy potrebu zachovania adaptívnej aj neutrálnej genetickej premenlivosti.

3. Vlastníctvo a prístup ku genetickým informáciám

Etické otázky týkajúce sa vlastníctva genetických informácií sú ďalším významným aspektom. Kto má právo na prístup k genetickým údajom? Môžu byť tieto informácie komercializované? Odpovede na tieto otázky sú dôležité pre zabezpečenie spravodlivého prístupu a ochranu práv pôvodných obyvateľov a komunit, ktoré sú často priamo zapojené do výskumu a ochrany biodiverzity.

Sociálne a kultúrne aspekty

1. Vnímanie technológií v spoločnosti

Súčasná spoločnosť má rôzne názory na genomické technológie. Niektorí ich považujú za zázrak modernej vedy, zatiaľ čo iní ich vidia ako hrozbu pre prirodzené ekosystémy. Etické úvahy by mali zahŕňať aj verejné priesumy, pričom je dôležité zapojiť širokú verejnosť do diskusií o uplatnení ochranárskej genomiky v ochrane prírody.

2. Participácia miestnych komunít

Miestne komunity, ktoré žijú v blízkosti ohrozených druhov, by mali mať hlas v rozhodovacích procesoch týkajúcich sa ochrany prírody. Eticky zodpovedný prístup k ochranárskej genomike by mal zahrnúť participáciu týchto komunít v genetickom prieskume alebo monitoringu, aby sme zabezpečili, že ich názory a potreby sú brané do úvahy a tým sa zlepší aj akceptácia vedeckých výstupov.

Právne a regulačné aspekty

1. Legislatíva a regulácia

Existujú rôzne právne rámce, ktoré sa zaoberajú ochranou biodiverzity a genetickými technológiami. Etické otázky sa často prelínajú s právnymi normami, čo môže viesť k zložitým dilemám. Je dôležité, aby legislatíva zohľadňovala etické aspekty a zabezpečila, že používanie genetických technológií je v súlade s ochranou biodiverzity. Biologické vzorky môžu byť

prenášané medzi krajinami v súlade s národnou legislatívou pre dovoz a vývoz vzoriek a s tromi piliermi Dohody Organizácie Spojených Národov (OSN) o biologickej premenlivosti a jej Nagojského protokolu pre ochranu, udržateľné využívanie a spravodlivé a rovné zdieľanie prínosov vyplývajúcich z biologických zdrojov. Na vedecké účely môžu byť druhy uvedené v Dohode o medzinárodnom obchode s ohrozenými druhmi voľne žijúcich živočíchov a rastlín (CITES) legálne prenášané medzi inštitúciami na základe uznesenia konferencie 11.15 (revízia konferencia strán, CoP18) o nekomerčnej pôžičke, darovaní alebo výmene múzejných, herbárnych, diagnostických a forenzných výskumných vzoriek. Národné zákony môžu regulovať alebo zakazovať dovoz a používanie biologických vzoriek druhov zozbieraných z konkrétnych zdrojov, ako sú vzorky získané prostredníctvom legálneho trofejového lovu.

Hoci vo svete prebiehajú politické diskusie, v ktorých sa zvažuje úplný zákaz dovozu a používania exemplárov z trofejového lovu, dôsledky takýchto zákazov pre ochranu prírody neboli predmetom širšej diskusie. Mala by ochranárska veda akceptovať vzorky získané legálnym trofejovým lovom? Z pohľadu etických a praktických aspektov využívania biologických vzoriek získaných legálnym trofejovým lovom, by sa tieto vzorky z trofejovo ulovených jedincov nemali zakazovať presúvať pre účely výskumu ochranárskej genetiky, ale mali by byť povinnou súčasťou genetického monitoringu voľne žijúcich živočíchov a poskytnúť informácie pre ich manažment a ochranu biodiverzity.

2. Zodpovednosť a transparentnosť

Zodpovednosť za následky genetických zásahov by mala byť jasne definovaná. Eticky zodpovedná ochrana biodiverzity si vyžaduje transparentnosť vo výskume a rozhodovacích procesoch, aby sa zabezpečila dôvera verejnosti v ochranárske iniciatívy.

Literatúra

Hoban *et al.* (2020), Kardos & Shafer (2018), Liddell *et al.* (2023), Shafer *et al.* (2018), Taylor *et al.* (2022)

Kontrolné otázky

- Vysvetlite, aké sú hlavné etické dilemy spojené so zásahom do prirodzeného vývoja organizmov pomocou genomických technológií ako CRISPR. Uvedte aspoň dva potenciálne negatívne dôsledky takýchto zásahov.
- Diskutujte o problematike vlastníctva genetických informácií v kontexte ochranárskej genetiky. Kto by mal mať prístup k týmto údajom a prečo je táto otázka dôležitá pre pôvodné obyvateľstvo?
- Akým spôsobom môže zameranie sa na ochranu špecifických génov viesť k homogenizácii genetickej diverzity? Prečo je udržanie genetickej variability dôležité pre prežitie druhov?
- Vysvetlite význam participácie miestnych komún v ochranárskej genetike. Aké sú hlavné prínosy zapojenia miestnych komún do výskumu a monitoringu?
- Charakterizujte hlavné právne a regulačné výzvy v oblasti ochranárskej genetiky. Prečo je dôležitá transparentnosť vo výskume a ako súvisí so zodpovednosťou za genetické zásahy?

Výkladový slovník

Adaptívny manažment (v ochrane prírody) – Štruktúrovaný, iteratívny proces rozhodovania pri nejistej situácii s cieľom postupne znižovať neistotu prostredníctvom monitorovania systému.

Adaptívne riadenie (v ochrane prírody) – Rámec, ktorý zahŕňa monitorovanie údajov na úpravu ochranných stratégií v reakcii na meniace sa environmentálne podmienky alebo nečakané výsledky. Neustálym hodnotením výsledkov ochranných opatrení adaptívne riadenie zabezpečuje, že opatrenia zostanú účinné pri dosahovaní ochranných cieľov.

Aditívna variancia – Celkový efekt na znak pochádzajúci z jedného alebo viacerých génových lokusov.

Atraktant – Látka alebo objekt, ktorý má za cieľ prilákať živočíchy na určité miesto, napr. k fotopasci – pachová stopa, potrava alebo vizuálna návnada. Využíva sa na zvýšenie pravdepodobnosti zachytenia druhu, ale môže ovplyvniť prirodzené správanie živočicha.

Barcoding – Použitie krátkych, štandardizovaných DNA sekvencií, zvyčajne z mitochondriálneho génu, na rýchlu a jednoduchú identifikáciu a objavovanie druhov.

Batôžok (pri telemetrii) – Typ upevnenia telemetrického vysielča u vtákov, kde je zariadenie pripevnené na chrbte pomocou popruhov okolo krídel a hrudníka. Batôžok musí byť ľahký, aby neobmedzoval pohyb vtáka.

Behaviorálna ekológia – vedecká disciplína, ktorá skúma správanie živočíchov z hľadiska ich adaptácie na životné prostredie. Zameriava sa na to, ako a prečo organizmy menia svoje správanie v reakcii na ekologické faktory, ako sú dostupnosť potravy, predátori, konkurencia či reprodukcia, s cieľom maximalizovať svoje prežitie a úspešnosť rozmnožovania.

Bioakustika – Interdisciplinárny vedný odbor, ktorý skúma zvukovú komunikáciu živočíchov, od mechanizmov vzniku a vnímania zvuku až po jeho ekologickú a evolučnú funkciu. Významná je najmä pri štúdiu správania sa živočíchov a pri druhovej identifikácii.

Biodiverzita – Biologická rozmanitosť života vo všetkých jeho formách, vrátane rastlín, živočíchov, mikroorganizmov, ich genetickej informácie a ekosystémov, ktoré tvoria.

Biokoridor – Spravidla líniový územný útvar vytváraný biotopmi, ktoré umožňujú šírenie sa a migráciu živočíchov medzi biotopmi, biocentrami a interakčnými prvkami, ktoré by inak boli v dôsledku ľudských aktivít v krajine vzájomne izolované.

BMWP (*Biological Monitoring Working Party score*) – index hodnotiaci ekologický stav vodného toku na základe priradených citlivostných skóre jednotlivým taxónom bentických bezstavovcov.

Biotické indexy – Numerické hodnotenia založené na zastúpení a citlivosti organizmov, ktoré odrážajú ekologický stav lokality.

Cenzná veľkosť (N_c) (pri populáciách) – Počet reprodukčne zrejlých jedincov v populácii.

Demografický bottleneck – Udalosť, ktorá drasticky znižuje cenzusovú veľkosť populácie.

Detekčná zóna – Priestor pred PIR senzorom fotopasce, v ktorom je zariadenie schopné zaznamenať pohyb alebo teplotný rozdiel. Tvar a rozsah zóny ovplyvňujú efektivitu snímania, pričom úzky uhol je vhodný do koridorov, široký pre otvorené plochy.

Domovský okrsok (*home range*) – Územie, ktoré živočích bežne využíva na získavanie potravy, rozmnožovanie a ďalšie životné aktivity. Jeho veľkosť a tvar možno určiť pomocou telemetrických údajov.

Drop-off mechanizmus (pri telemetrii) – Technologické riešenie, ktoré umožňuje automatické uvoľnenie telemetrického obojka po stanovenom čase alebo na diaľku. Znižuje potrebu

opätovného odchyty sledovaného jedinca.

Druh – Základná taxonomická jednotka organizmov spoločného pôvodu, ktoré sa odlišujú od iných jedincov, môžu sa vzájomne krížiť a mať plodných potomkov.

Dynamický rozsah – Rozsah svetla od najtmavších po najsvetlejšie oblasti, ktorý je senzor schopný zaznamenať bez straty detailov. Vyšší dynamický rozsah je výhodný pri snímaní scén s kontrastným osvetlením (napr. v lese).

Efektívna veľkosť populácie (*effective population size*, N_E) – Veľkosť ideálnej populácie, ktorá zažíva rovnakú mieru genetického driftu ako pozorovaná (študovaná) populácia. Neovplyvňuje mieru straty genetickej premenlivosti, účinnosť prirodzeného výberu a akumuláciu mutácií. Zahŕňa len jedince, ktoré sa zúčastňujú reprodukcie, a je preto vždy nižšia ako skutočná veľkosť populácie.

Ekologická integrita – miera neporušenosti, autenticity (pôvodnosti a prirodzenosti usporiadania), stav, kedy sú v ekosystéme udržiavané zloženie a funkčné vzťahy zodpovedajúce prírodnej biodiverzite. Vyjadruje kapacitu ekosystému podporovať a udržiavať vyrovnaný, celistvý a adaptívny celok so štruktúrou a procesmi porovnateľnými s prírodným ekosystémom príslušnej oblasti.

Ekologické prahy tolerancie – rozsah environmentálnych podmienok, v ktorých je organizmus schopný prežiť.

Ekosystém – Organizovaný systém živých organizmov, ktoré sa ovplyvňujú navzájom a súčasne aj so svojim abiotickým prostredím. Hranice ekosystému nie sú ostré, preto záleží na predmete štúdia. Okrem interakcií, hraníc a fyzickej štruktúry ho charakterizuje aj dynamika jeho vývoja, vrátane prírodných narušení.

Etológia – vedecká disciplína zaoberajúca sa štúdiom správania živočíchov v ich prirodzenom prostredí. Skúma príčiny, mechanizmy, vývoj a funkcie správania, pričom sa zameriava na pozorovanie a analýzu prirodzených reakcií a interakcií medzi jedincami a ich okolitým svetom.

Exúvium – zoschnutý zvyšok pokožky alebo kutikuly, ktorý ostáva po zvliekaní (u pakomárov po vyliahnutí dospelca).

F_{ST} – Štandardizovaný index distribúcie genetickej premenlivosti medzi populáciami na stupnici od 0 (identické frekvencie alel medzi populáciami) po 1 (populácie fixované pre rôzne alely).

$F_{temporal}$ – Štandardizovaná miera zmeny vo frekvencii alel medzi dvoma alebo viacerými vzorkami zozbieranými v rôznych časoch z tej istej populácie. $F_{temporal}$ sa bežne používa na odhad N_E .

Full-frame sensor – Obrazový senzor digitálneho fotoaparátu s veľkosťou zodpovedajúcou klasickému kinofilmu (36 × 24 mm). Poskytuje vyššiu kvalitu obrazu, lepšiu prácu so svetlom (nižší šum pri vyššom ISO) a väčší dynamický rozsah ako menšie senzory.

Genetický drift – Náhodný výber alelických variantov, ktoré môžu viesť k zmenám vo frekvencii existujúcich alel z jednej generácie na druhú v dôsledku náhody.

Genotypovanie – Súčasné genotypovanie desiatok alebo stoviek lokusov naprieč genómom, ktoré ideálne zahŕňa mapované lokusy a rôzne triedy lokusov, ako sú neutrálne a kandidátsky adaptívny lokus.

CPET (*Chironomid Pupal Exuviae Technique*) – metóda monitorovania kvality vody založená na zbere a určovaní exúvií kukiel pakomárov.

Chvostovka (pri telemetrii) – Spôsob upevnenia telemetrického vysieláča u vtákov, kedy sa zariadenie pripieňuje k pierku v chvostovej časti. Je to alternatíva k batôžku, vhodná pre menšie druhy.

Indikátory – Konkrétne premenné, ktoré odrážajú stav alebo trendy objektu štúdie.

Infrazvuk – Zvuk s frekvenciou nižšou ako 20 Hz, teda pod hranicou počuteľnosti pre človeka. Vďaka dlhej vlnovej dĺžke sa šíri na veľké vzdialenosti a používa ho napríklad slon africký či veľryby na diaľkovú komunikáciu. Prenos informácií týmto spôsobom je jednoduchší, ale menej detailný.

Introdukcia – rozšírenie (vysadenie, zavedenie, presun, premiestnenie) druhu alebo vnútrodruhového taxónu mimo jeho predchádzajúci prirodzený areál.

ISO citlivosť – Parameter určujúci citlivosť snímača na svetlo. Vyššie ISO umožňuje snímanie v horších svetelných podmienkach, ale často zvyšuje digitálny šum. V kontexte fotomonitoringu je dôležité z hľadiska kvality nočných záberov.

IUCN (*International Union for Conservation of Nature*) – Medzinárodná únia pre ochranu prírody. Najstaršia (založená v r. 1948) a najväčšia celosvetová organizácia zaoberajúca sa ochranou prírody a prírodných zdrojov.

Izolácia vzdialenosťou (IBD) – Pokles genetickej podobnosti medzi jedincami alebo populáciami so zvyšujúcou sa geografickou vzdialenosťou medzi nimi.

Koalescencia (v populačnej genetike) – Model popisujúci ako alely vzorkované z populácie mohli vzniknúť od spoločného predka.

Krajina – časť územia, ktorej charakter je výsledkom činnosti a vzájomného pôsobenia prírodných a/alebo ľudských faktorov.

Maladaptácia – Neschopnosť organizmu prispôbovať sa podmienkam prostredia.

Mapovanie (v ochrane prírody) – Zaznamenávanie výskytu rastlín, živočíchov, biotopov, alebo rozloženia iných environmentálnych prvkov v určitom území, ktoré sa vykonáva rôznymi metódami. Slúži na tvorbu vizuálnych reprezentácií, zobrazujúcich priestorové rozloženie daných prvkov. Pokroky v diaľkovom prieskume Zeme výrazne zlepšili aj ich mapovanie.

Medzidruhové interakcie – Vzťahy medzi rôznymi druhmi organizmov, ktoré môžu zahŕňať napríklad súťaž o zdroje, predáciu alebo symbiózu. V prípade telemetrie sa analyzujú na základe priestorovej a časovej blízkosti označených jedincov rôznych druhov.

Metapopulácia (v populačnej genetike) – Skupina priestorovo oddelených populácií rovnakého druhu, ktoré sú prepojené tokom génov.

Metóda odchyту a spätného odchyту (*capture mark recapture*, CMR) – Metóda terénneho vzorkovania používaná na odhad veľkosti populácie alebo vitálnych ukazovateľov (t. j. prežitie, nábor, pohyb) voľne žijúcich živočíchov. Zahŕňa odchyt určitého počtu zvierat, ich označenie a opätovné vypustenie do populácie a následné určenie pomeru (pomer označených a neoznačených zvierat) populácie, keď sú označené a neoznačené zvieratá odchytené neskôr.

Mikrosatelity – krátke úseky DNA zložené z opakujúcich sa jednotiek s veľkosťou obvykle 2 – 5 nukleotidov. Počet opakovaní je jedinečný pre jedince. Majú rýchlu evolúciu, preto sa využívajú pre získanie informácie o nedávnom vývoji populácií.

Mixture – Skupina F0 jedincov pochádzajúcich z rôznych populácií.

Monitorovanie – Kontinuálne alebo opakované pozorovanie a meranie environmentálnych premenných s cieľom zistiť zmeny v čase, vyhodnotiť účinnosť opatrení ochrany a podporiť rozhodovanie.

Mrchožrút (nekrofág) – živočích konzumujúci odumreté telo iných organizmov.

Mutačno-driftová rovnováha – Rovnováha medzi novými mutáciami vnášajúcimi genetickú diverzitu a náhodným genetickým driftom odstraňujúcim (fixujúcim) varianty v populácii.

Natura 2000 – Sústava chránených území, ktorú členské štáty Európskej únie zriaďujú podľa

jednotných kritérií pre zachovanie najcennejších a ohrozených druhov a biotopov Európy.

Neinvazívny zber vzoriek – Zber biologických vzoriek, ako sú vlasy, výkaly alebo moč zvierat a bez nutnosti fyzicky ho obmedzovať, chytať alebo dokonca vidieť.

Občianska veda (*citizen science*, CS) – Aktívne zapojenie širokej verejnosti do vedy.

Ochrana prírody a biodiverzity – Praktická ochrana a manažment prírodného prostredia a druhov, ktoré podporuje, s cieľom zabrániť ich zneužívaniu, degradácii a vyhynutiu.

Ochranárska biológia (*conservation biology*) – Vedný odbor zameraný na ochranu prírody, spájajúci ekologické a sociálne aspekty na vývoj udržateľných stratégií.

Ochranárska genetika (*conservation genetics*) – Vedný odbor, ktorý sa snaží aplikovať genetické metódy do ochrany a obnovy biodiverzity.

Ochranárske premiestnenia (*conservation translocations*) – Človekom sprostredkované presuny živých organizmov z jednej oblasti do inej oblasti.

Open capture mark–recapture model – Model otvorenej populácie predpokladá, že populácia sa môže meniť prostredníctvom procesov, ako sú narodenia, úmrtia, emigrácia a imigrácia počas štúdie, zatiaľ čo modely uzavretých populácií predpokladajú, že populácia sa v týchto ohľadoch počas prieskumu nemení.

Organizmus – Ďalej nedeliteľná živá entita, individuum schopné samostatnej existencie, ktoré je tvorené jednou, viacerými alebo mnohými bunkami a je odlišiteľné od iných individuí. Zložité organizmy charakterizuje vyššia rozmanitosť, hierarchická štruktúra a prepojenosť ich buniek, pletív alebo tkanív, orgánov a ich sústav.

Panmixia – Náhodné párenie jedincov v rámci populácie, ktoré vedie k rovnakým rodičovským príspevkom do ďalšej generácie. Pri Hardy-Weinbergových predpokladoch nastáva náhodné párenie, keď frekvencia alel presne predpovedá frekvenciu genotypov.

PIR senzor (*Passive Infrared Sensor*) – Pasívny infračervený senzor, ktorý reaguje na infračervené žiarenie, teda zmeny teploty v detekčnej zóne. Umožňuje automatickú aktiváciu fotopasce pri vstupe živočícha do záberu. Je citlivý najmä na pohybujúce sa objekty s teplotou vyššou než okolie.

Planetárne hranice (*planetary boundaries*) – Ekologické limity na planetárnej úrovni. Udržateľná spoločnosť má existovať v hraniciach ekologickej únosnosti život udržiavajúcich systémov Zeme. Navrhnuté planetárne hranice bezpečia ľudských aktivít predstavujú prahy, po prekročení ktorých vstupujeme do oblasti rizika náhlych a pre civilizáciu nepriaznivých zmien.

Populácia – Homotypický súbor jedincov všetkých vývojových štádií rovnakého druhu obývajúcich v rovnakom čase spoločný priestor, ktorý je možné vymedziť na základe vonkajších charakteristík (lokálna populácia) alebo pre účel daného výskumu (experimentálna populácia).

Priemerné skóre na taxón (*Average Score Per Taxon*, ASPT) – hodnota BMWP delená počtom prítomných taxónov, ktorá znižuje vplyv veľkej početnosti alebo absencie druhov.

Prieskum – Proces zberu údajov o špecifických environmentálnych zložkách, často vykonávaný na krátkodobé posúdenie aktuálneho stavu.

Príroda – Reálny svet, ktorý nás obklopuje a na vzniku ktorého nemal človek podiel, ale je na ňom existenčne závislý.

Provokačné prehrávanie (*playback*) – Metóda, pri ktorej sa v teréne púšťajú nahrávky hlasov určitých druhov (napr. predátorov alebo jedincov rovnakého druhu), s cieľom vyvolať reakciu – zvolávanie, obranu teritória alebo zvýšenie pohybovej aktivity.

Reštítúcia – vysadenie (zavedenie, presun, premiestnenie) pôvodného druhu (taxónu) na miesto, na ktorom sa vyskytoval, ale vyhynul, resp. bol vyhubený.

Reintrodukcia – opakovaná introdukcia.

Repatriačné opatrenie – označuje plánované a kontrolované presídlenie jedincov alebo populácií druhov späť do ich pôvodného alebo historického areálu výskytu s cieľom obnoviť prirodzenú biodiverzitu, podporiť reštitúciu alebo zachovať ohrozené druhy.

Retrospektívny monitoring – Monitorovanie zmien z historických podmienok skúmaním DNA extrahovanej z predtým archivovaných vzoriek.

Riziko – Možnosť vzniku nežiadúceho účinku, ku ktorému dôjde počas určitej doby alebo za určitých okolností. Vždy je spojené s konkrétnou hrozbou.

S-meter – Zariadenie, ktoré zobrazuje silu rádiového signálu zachyteného prijímačom. Na základe intenzity signálu môže skúsený používateľ odhadnúť vzdialenosť vysielača (napr. zvieratá) od prijímača.

Spektrogram – Grafické znázornenie zvuku v čase, kde os X predstavuje čas, os Y frekvenciu a farebná škála intenzitu (hlasitosti) signálu. Umožňuje „vidieť“ zvukové prejavy a identifikovať typické frekvenčné vzory jednotlivých druhov či jedincov. Je kľúčovým nástrojom v bioakustickej analýze.

Taxón – Systematická jednotka hierarchickej klasifikácie organizmov. Skupina organizmov so spoločnými znakmi, ktorými sa odlišujú od iných taxónov.

Triangulácia – Metóda určenia polohy na základe merania smeru k rovnakému objektu z aspoň dvoch známych bodov. V rádiovkej telemetrii sa používa na lokalizáciu živočicha podľa smeru šírenia signálu prijímaného smerovou anténou.

UHF (Ultra High Frequency) – Frekvenčné pásmo s rozsahom približne 300 MHz až 3 GHz. V telemetrii sa používa najmä na bezdrôtový prenos väčších objemov údajov (napr. aktivitové dáta) na kratšie vzdialenosti. Na rozdiel od VHF má UHF vyššiu prenosovú kapacitu, ale nižší dosah v členitom teréne. UHF komunikácia sa často realizuje pomocou ručného terminálu alebo základovej stanice.

Ultrazvuk – Ultrazvuk je zvuk s frekvenciou nad 20 kHz, teda nad hranicou ľudskej počuteľnosti. Umožňuje vysoko presnú lokalizáciu a orientáciu v priestore, čo využívajú napríklad netopiere alebo niektoré druhy hmyzu. Vďaka tomu, že ho mnohé druhy nepočujú, môže mať aj evolučnú výhodu v znížení rizika predácie.

Väzbová nerovnováha (LD) – Nenáhodné spojenie alel na dvoch alebo viacerých lokusoch.

Veľké zrýchlenie (Great Acceleration) – Vysoké exponenciálne zrýchlenie rozvoja spoločnosti po roku 1950, ktoré sa premieta do výrazných zmien a degradácie ekosystémov vrátane zemskeho ekosystému.

VHF (Very High Frequency) – Pásmo veľmi vysokých frekvencií v rozsahu 30 – 300 MHz. V telemetrii sa bežne používa frekvenčný rozsah 130 – 174 MHz, ktorý umožňuje dobré šírenie signálu aj v zložitom teréne.

Výskum – štruktúrované skúmanie zamerané na objavovanie nových informácií alebo pochopenie existujúcich javov v prírode.

Znaky životnej histórie (life history traits) – Súbor koevolučne vyvinutých znakov, ktoré ovplyvňujú prežitie jedinca a jeho reprodukčný potenciál.

Zoznam literatúry

- Adámek Z., Helešic J., Maršálek B. & Rulík M. 2008: *Aplikovaná hydrobiologie*. Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, Jihočeská univerzita, Vodňany.
- Alldehbiani A. 2018: Species concept and speciation. *Saudi Journal of Biological Sciences* 25(3): 437–440.
- Allan J. R., Watson J.E. M., Di Marco M., O'Bryan C. J., Possingham H. P., Atkinson S. C. & Venter O. 2019: Hotspots of human impact on threatened terrestrial vertebrates. *PLoS Biology* 17(3): e3000158.
- Allendorf F.W. & Hard J.J. 2009: Human-induced evolution caused by unnatural selection through harvest of wild animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(Suppl 1): 9987–9994.
- Allendorf F. W., Hohenlohe P. A. & Luikart G. 2010: Genomics and the future of conservation genetics. *Nature Reviews Genetics* 11: 697–709.
- Allendorf F.W. & Luikart G. 2007: *Conservation and the Genetics of Populations*. Blackwell Publishing, Malden, Oxford, Carlton.
- Allendorf F.W. & Ryman N. 2002: The role of genetics in population viability analysis. Pp. 50–85. In: Beissinger S.R. & McCullough D.R. (eds.), *Population Viability Analysis*. University of Chicago Press, Chicago.
- Ambros M. 1998: Drobné cicavce (Insectivora, Rodentia) v zemných pasciach vybraných stanovišť Bystričianskej doliny vo Vtáčniku. *Rosalia, Nitra* 13: 235–240.
- Ambros M. 1999: *Sysel' pasienkový – Metodické listy č. 14*. SAŽP, Centrum ochrany prírody a krajiny, Banská Bystrica.
- Ambros M., Baláž I., Bridišová Z. & Jančová A. 2007: Medzinárodná spolupráca v oblasti záchrany a úspešnej ochrany *Spermophilus citellus*. Pp. 6–10. In Barčiová L., Rajchard J., Balouchová Z. & Havlíčková L. (eds.). *Otazníky kolem CITES 2007*. Sborník z konference konané 15. – 16. května 2007 v Českých Budějovicích.
- Ambros M. & Gajdoš P. 1988: Výskyt niektorých stavovcov (Amphibia, Reptilia, Mammalia) vo vzorkách získaných zemnými pascami na území Chránenej krajinej oblasti Ponitrie. *Rosalia, Nitra* 5: 177–188.
- Amory S., Huel R., Bilić A., Loreille O. & Parsons T.J. 2012: Automatable full demineralization DNA extraction procedure from degraded skeletal remains. *Forensic Science International: Genetics* 6: 398–406.
- Anděra M. & Horáček I. 2005: *Poznáваме naše savce*. 2. přepracované vydání. Sobotáles, Praha.
- Anonymus 2022: *Rámcový program monitorovania vôd Slovenska na obdobie rokov 2022 –2027*. Ministerstvo životného prostredia Slovenskej republiky, Bratislava.
- Archer J. 1973: Tests for emotionality in rats and mice: A review. *Animal Behavior* 21(2): 205–235.
- Armstrong D. P. & Seddon P. J. 2008: Directions in reintroduction biology. *Trends in Ecology & Evolution* 23(1): 20–25.
- Arnemo J. & Evans A. 2017: *Biomedical Protocols for Free-ranging Brown Bears, Wolves, Wolverines and Lynx*. 10.13140/RG.2.2.30359.37286.
- Baláž I. 2015: Metodika monitoringu druhu európskeho významu hraboš severský panónsky (*Microtus oeconomus mehelyi*). P. 92. In Saxa A., Černecký J., Galvánková J., Mútňanová M., Balážová A., Gubková Mihalíková M. (eds.), *Príručka metód monitoringu biotopov a druhov európskeho významu*. Štátna ochrana prírody Slovenskej republiky, Banská Bystrica.

- Baláž I., Ambros M. & Tulis F. 2012: *Biology and distribution of the species of the family Muridae (Rodentia) in Slovakia. 2nd part: Apodemus flavicollis, Apodemus sylvaticus, Apodemus uralensis, Apodemus agrarius*. Fakulta prírodných vied UKF, Nitra, edícia Prírodovedec č. 518.
- Baláž I., Ambros M., Tulis F., Veselovský T., Klimant P. & Augustiničová G. 2013: *Hlodavce a hmyzožravce Slovenska*. Fakulta prírodných vied UKF, Nitra, edícia Prírodovedec č. 547.
- Baláž I., Jančová A. & Ambros M. 2008: Reštitúcia sýsľa pasienkového (*Spermophilus citellus*) na Slovensku. *Lynx (Praha)*, n. s. 39: 21–26.
- Barrientos R., Martins R. C., Ascensão F, D’Amico M., Moreira F. & Borda-de-Água L. 2018: A review of searcher efficiency and carcass persistence in infrastructure-driven mortality assessment studies. *Biological Conservation* 222, 146–153.
- Barnosky A. D., Matzke N., Tomiya S., Wogan G. O. U., Swartz B., Quental T. B., Marshall C., McGuire J. L., Lindsey E. L., Maguire K. C., Mersey B. & Ferrer E. A. 2011: Has the Earth’s sixth mass extinction already arrived? *Nature* 471: 51–57.
- Barton D. & Lindhjem M. 2015: *Tracking long-term biodiversity trends: Methods for monitoring and analysis*. Springer.
- Beale C. M. & Monaghan P. 2004: Human disturbance: People as predation agents. *Journal of Applied Ecology* 41(3): 1–11.
- Beier P. & Brost B. 2010: *Use of connectivity models to guide land conservation*. *Conservation Biology* 24(2): 364–374.
- Beja-Pereira A., Oliveira R., Alves P.C., Schwartz M.K. & Luikart G. 2009: Advancing ecological understandings through technological transformations in noninvasive genetics. *Molecular Ecology Resources* 9: 1279–1301.
- Bejček V. & Šťastný K. 2001: *Metody studia ekosystémů*. Česká zemědělská univerzita, Praha.
- Bell B.D. 2016: Behavior-based management: conservation translocations. Pp. 212–246. In: Berger-Tal O. & Saltz D. (eds.), *Conservation behavior: applying behavioral ecology to wildlife conservation and management*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bell G. & Gonzalez A. 2009: Evolutionary rescue can prevent extinction following environmental change. *Ecology Letters* 12(9): 942–948.
- Belote R. T., Dietz M. S., Jenkins C. N., McKinley P. S., Irwin G. H., Fullman T. J., Leppi J. C. & Aplet G. H. 2017: Wild, connected, and diverse: building a more resilient system of protected areas. *Ecological Application* 27(4): 1050–1056.
- Berry O. & Aitken N. 2007: *A protocol for the collection and storage of animal samples for DNA analysis (including trace samples)*. University of Western Australia, Perth.
- Bibby, C.J., Burgess, N.D., Hill, D.A., & Mustoe, S.H. (2000). *Bird Census Techniques*. Academic Press, London, New York & Tokyo.
- Bíl M. & Bartonička T. 2022: *Zviřata na silnicích*. Masarykova univerzita, Centrum dopravního výzkumu v. v. i., Brno.
- Blair W.F. 1941: Techniques for the study of mammals population. *Journal of Mammalogy* 22: 148–157.
- Bland L.M., Keith D.A., Miller R.M., Murray N. J. & Rodríguez J. P. (eds.) 2016: *Guidelines for the application of IUCN Red List of Ecosystems Categories and Criteria, Version 1.0*. IUCN, Gland, Switzerland.
- Bland L.M., Regan T.J., Dinh M.N., Ferrari R., Keith D. A., Lester R., Mouillot D. et al. 2017: Using multiple lines of evidence to assess the risk of ecosystem collapse. *Proceedings of the Royal Society B* 284: 20170660.

- Blondel J. 1975: L'analyse des peuplements d'oiseaux elements d'un diagnostic ecologique, I. Le Methode des Echantillonnages fréquentiels progressifs (E.F.P.). *Terre et la Vie* 29: 533–589.
- Blondel J. 1977: The diagnosis of bird communities by means of frequential sampling E.F.P. POI. *Ecological studies* 3: 19–260
- Blondel J., Ferry C. & Frochot B. 1970: La méthode des indices ponctuels d'abondance (IPA) ou des relèves d'avifaune par "stations d'écoute". *Alauda* 38: 55–71.
- Blumstein D., Mennill D., Clemins P., Girod L., Yao K., Patricelli G., Deppe J. Krakauer A., Clark Ch., Cortopassi K., Hanser S., McCowan B., Ali A. & Kirschel A. 2011: Acoustic monitoring in terrestrial environments using microphone arrays: Applications, technological considerations and prospectus. *Journal of Applied Ecology* 48: 758–767.
- Bonney R., Cooper C.B., Dickinson J., Kelling S., Phillips T., Rosenberg K.V., Shirk J. 2009: Citizen Science: A Developing Tool for Expanding Science Knowledge and Scientific Literacy. *Bioscience* 59: 977–984.
- Bourret V., Albert V., April J., Côté G. & Morissette O. 2020: Past, present and future contributions of evolutionary biology to wildlife forensics, management and conservation. *Evolutionary Applications* 13(6): 1420–1434.
- Brauman K. A., Garibaldi L. A., Polasky S., Aumeeruddy-Thomas Y., Brancalion P. H. S., De Clerck F., Jacob U., Mastrangelo M. E., Nkongolo N. V., Palang H., Pérez-Méndez N., Shannon L. J., Shrestha U. B., Strombom E. & Verma M. 2020: Global trends in nature's contributions to people. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117(51): 32799–32805.
- Breed M. F., Harrison P. A., Blyth C., Byrne M., Gaget V., Gellie N. J. C., Groom S. V. C., Hodgson R., Mills J. G., Prowse T. A. A., Steane D. A. & Mohr J. J. 2019: The potential of genomics for restoring ecosystems and biodiversity. *Nature Reviews Genetics* 20(10): 615–628.
- Breed M. D. & Moore J. 2022: Chapter 6 – Cognition. Pp. 181–217. In: Breed M. D. & Moore J. (eds.), *Animal Behavior* (Third Edition). Academic Press, San Diego.
- Broadhurst L. M., Lowe A., Coates D. J., Cunningham S. A., McDonald M., Vesk P. A. & Yates C. 2008: Seed supply for broadscale restoration: maximizing evolutionary potential. *Evolutionary Applications* 1: 587–597.
- Burton A. C., Neilson E., Moreira-Arce D., Ladle A., Steenweg R., Fisher J. T., Bayne E. & Boutin S. 2015: Wildlife camera trapping: a review and recommendations for linking surveys to ecological processes. *Journal of Applied Ecology* 52(3): 675–685.
- Buxton R. T., Lendrum P. E., Crooks K. R. & Wittemyer G. 2018: Pairing camera traps and acoustic recorders to monitor the ecological impact of human disturbance. *Global Ecology and Conservation* 16: e00493.
- Cagnacci F., Boitani L., Powell R. A. & Boyce M. S. 2010. Animal ecology meets GPS-based radiotelemetry: a perfect storm of opportunities and challenges. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 365(1550):2157–2162.
- Capblancq T. & Forester B. R. 2021: Redundancy analysis: A Swiss Army Knife for landscape genomics. *Methods in Ecology and Evolution* 12: 2298–2309.
- Caravaggi A., Banks P. B., Burton A. C., Finerty C. M., Haswell P. M., Hayward M. W., Rowcliffe M. J. & Wood M. D. 2017: A review of camera trapping for small mammals. *Remote Sensing in Ecology and Conservation* 3(3): 1–12.
- Cardinale B. J., Duffy J. E., Gonzalez A. et al. 2012: Biodiversity Loss and Its Impact on Humanity. *Nature* 486(7401): 59–67.

- Convention on Biological Diversity (CBD) 2022: *Kunming-Montreal Global Biodiversity Framework*. CBD/COP/15/L.25. Montreal, Canada.
- Cook L. M. & Saccheri I. J. 2010: The peppered moth and industrial melanism: evolution of a natural selection case study. *Science* 328(5985): 1103–1104.
- Council of Europe 2000: *Council of Europe Landscape Convention as amended by the 2016 Protocol*. European Treaty Series 176: 1–5.
- Cox D. & Gaston K. 2015: Likeability of garden birds: Importance of species knowledge & richness in connecting people to nature. *PLoS ONE* 10(11): e0141505.
- Cretois B., Linnell J. D. C., Grainger M., Nilsen E. B. & Røa J. K. 2020: Hunters as citizen scientists: Contributions to biodiversity monitoring in Europe. *Global Ecology and Conservation* 23: e01077.
- Crews D. 2013: Animal Personalities: Behavior, Physiology, and Evolution. Claudio Carere and Dario Maestripieri, editors. *Integrative and Comparative Biology* 53(5): 873–875.
- Crnokrak P. & Roff D.A. 1999: Inbreeding depression in the wild. *Heredity* 83: 260–270.
- Curtis V. 2014: Online citizen science games: opportunities for the biological sciences. *Applied & translational genomics* 3(4): 90–94.
- Červený J. & Obuch J. 1999: Rozbor potravy výra velkého (*Bubo bubo*) v jihozápadních Čechách se zvláštním zaměřením na savce (Mammalia). *Lynx, Praha, n. s.* 30: 35–60.
- Dammhahn M. 2012: Are personality differences in a small iteroparous mammal maintained by a life-history trade-off? *Proceedings of the Royal Society B* 279(1738): 2645–2651.
- Danko Š., Darolová A. & Krištin A. 2002: *Rozšíření vtákov na Slovensku*. Veda, Bratislava.
- Dawson T., Hambly J., Kelley A., Lees W. & Miller S. 2020: Coastal heritage, global climate change, public engagement, and citizen science. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 117: 201912246
- Den Broeder L., Devilee J., Van Oers H., Schuit A. J. & Wagemakers A. 2018: Citizen Science for public health. *Health Promotion International* 33: 505–514.
- Department of Biodiversity, Conservation and Attractions 2017: *Standard Operating Procedure: Tissue Sample Collection and Storage for Mammals*. Department of Biodiversity, Conservation and Attractions, Perth.
- Des Roches S., Pendleton L.H., Shapiro B. & Palkovacs E.P. 2021: Conserving intraspecific variation for nature's contributions to people. *Nature Ecology & Evolution* 5: 574–582.
- Dickinson J. L., Zuckerberg B. & Bonter D. N. 2010: Citizen science as an ecological research tool: Challenges and benefits. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 41: 149–172.
- Dingemanse N & Dochtermann N. 2013: Quantifying individual variation in behaviour: mixed-effect modelling approaches. *Journal of Animal Ecology* 82(1): 39–54.
- Dirzo R., Young H. S., Galetti M., Ceballos G., Isaac N. J. B. & Collen B. 2014: Defaunation in the Anthropocene, *Science* 345(6195): 401–406.
- Doran G. T. 1981: *There's a SMART way to write management's goals and objectives*. *Management Review* 70(11): 35–36.
- Doyle C., David R., Li Y., Luczak-Roesch M., Anderson D. & Pierson C. 2019: Using the Web for Science in the Classroom: Online Citizen Science Participation in Teaching and Learning. Pp. 71–80. In: *WebSci ,19: Proceedings of the 10th ACM Conference on Web Science*. Boston, Massachusetts.
- Du Feu C. & Mcmeeking J. 2004: Relationship of juveniles captured in constant-effort netting and local abundance. *Studies in Avian Biology* 29: 57–62.

- Duckworth R. & Badyaev A. 2007: Coupling of dispersal and aggression facilitates the rapid range expansion of a passerine bird. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104(38):15017–15022.
- Dudich A., Kleinert J. & Štollmann A. 1987: Výskyt drobných zemných cicavcov vo vzorkách získaných zemnými lapákmi. *Lynx, Praha, n.s.* 23: 43–50.
- Dudich A. & Štollmann A. 1985: Zemné lapáky a ich účinnosť z hľadiska výskumu fauny terestrických mikromamálií. *Biológia, Bratislava* 40(10): 1049–1054.
- Dudley N. (ed.) 2008: *Guidelines for Applying Protected Area Management Categories*. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, Gland, Switzerland.
- Durán A. P., Barbosa O. J. & Gaston K. J. 2022: Understanding the interacting factors that determine ecological effectiveness of terrestrial protected areas. *Journal for Nature Conservation* 70: 126264.
- Eccard J., Herde A., Schuster A., Liesenjohn T., Knopp T., Heckel G. & Dammhahn M. 2022: Fitness, risk taking, and spatial behavior covary with boldness in experimental vole populations. *Ecology and Evolution* 12(2):e8521.
- ECSCA (European Citizen Science Association) 2015: *Ten Principles of Citizen Science*. Berlin. <http://doi.org/10.17605/OSF.IO/XPR2N>
- EFSA 2009: Guidance Document on Risk Assessment for Birds & Mammals on request from EFSA. *European Food Safety Authority Journal* 7(12): 1–139.
- Ellenberg H., Müller K. & Stottele T. 1981: Straßen-Ökologie: Auswirkungen von Autobahnen und Straßen auf Ökosysteme deutscher Landschaften. *Ökologie und Straße: Broschürenreihe der deutschen Strassenliga* 3:19–122.
- Elsen P. R., Monahan W. B., Dougherty E. R. & Merenlender A. M. 2020: Keeping pace with climate change in global terrestrial protected areas. *Science Advances* 6: eaay0814.
- Emami-Khoyi A., Agnew T., Adair M.G., Murphy E.C., Benmazouz I., Monsanto D.M., Parbhu S.P., Main D.C., Le Roux R., Gonsalves L., Fick L., Marker L., Loyd K.A.T., Ross J.G., Hartley D.A., Parker D.M. & Graw B. 2021: A new non-invasive method for collecting DNA from small mammals in the field and its application in simultaneous vector and disease monitoring in brushtail possums. *Frontiers in Environmental Science* 9: 701033.
- Enemar A. 1959: On the determination of the size and composition of a passerine bird population during the breeding season. *Var Fagelvärld*, suppl. 2: 1–114.
- Engeman R. M. 2005: Indexing principles and a widely applicable paradigm for indexing animal populations. *Wildlife Research* 32: 203–210.
- English P. B., Richardson M. J. & Garzón-Galvis C. 2018: From crowdsourcing to extreme citizen science: participatory research for environmental health. *Annual Review of Public Health* 39: 335–50.
- Espartosa E., Vivas I. & Barja I. 2024: Effectiveness of camera traps for maximizing the detection of different species of large and medium-size mammals: effect of the climatic, environmental and seasonal conditions. *Animal Biology* 75(2): 125–148.
- Evans M. J., Pierson J. C., Neaves L. E., Gordon I. J., Ross C. E., Brockett B., Rapley S., Wilson B. A., Smith K. J., Andrewartha T., Humphries N. & Manning A. D. 2023: Trends in animal translocation research. *Ecography* 2023: e06528
- Ewen J. G., Armstrong D. P., Parker K. A. & Seddon P. J. 2012: *Reintroduction Biology: Integrating Science and Management*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK.

- Exposito-Alonso M., Booker T. R., Czech L., Gillespie L., Hateley S., Kyriazis Ch. C., Lang P. L. M., Leventhal, L., Nogues-Bravo D., Pagowski V., Ruffley M., Spence J.P., Toro Arana S. E., Weiß C. L. & Zess E. 2022: Genetic diversity loss in the Anthropocene. *Science* 377: 1431–1435.
- Falconer D. 1996: *Introduction To Quantitative Genetics*. 4th Edition. Longman Scientific & Technical, Harlow.
- Ferrington L. C. 2007: Global diversity of non-biting midges (Chironomidae; Insecta-Diptera) in freshwater. *Hydrobiologia* 595: 447–455.
- Ferry C. 1974: Comparisons between breeding bird communities in an oak forest and beech forest, censused by the IPA method. *Acta Ornithologica* 14: 302–309.
- Fischer J. & Lindenmayer D. B. 2000: An assessment of the published results of animal relocations. *Biological Conservation* 96(1): 1–11.
- Fitzpatrick B. R., Baltensweiler A., Düggelin C., Fraefel M., Freitag A., Vandegehuchte M. L., Wermelinger B. & Risch A. C. 2021: The distribution of a group of keystone species is not associated with anthropogenic habitat disturbance. *Diversity and Distributions* 27(4): 572–584.
- Flanagan S.P., Forester B.R., Latch E.K., Aitken S.N. & Hoban S. 2018: Guidelines for planning genomic assessment and monitoring of locally adaptive variation to inform species conservation. *Evolutionary Applications* 11: 1035–1052.
- Flanagan S.P., Forester B.R., Latch E.K., Aitken S.N. & Hoban S. 2023: Conservation genetics as a management tool: The five best practices. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 119(1): e2105076119.
- Flaxman S. M. 2013: Surfing downhill: when should population range expansion be characterized by reductions in fitness? *Molecular Ecology* 22(24): 5963–5965.
- Fletcher J. *et al.* 2005: Designing monitoring programs to assess species diversity. *Ecological Applications* 15(3): 1075–1088.
- Forester B.R., Landguth E.L., Hand B.K. & Balkenhol N. 2021: Landscape Genomics for Wildlife Research. Pp. 145–184. In: Hohenlohe P.A. & Rajora O.P. (eds.), *Population Genomics: Wildlife*. Springer International Publishing, Cham.
- Formenti G., Theissinger K., Fernandes C., Bista I., Bombarely A., Bleidorn C., Ciofi C., Crottini A., Godoy J. A., Höglund J., Malukiewicz J., Mouton A., Oomen R.A., Paez S., Palsbøll P.J., Pampoulie C., Ruiz-López M.J., Svardal H., Theofanopoulou C., de Vries J., Waldvogel A.M., Zhang G., Mazzoni C.J., Jarvis E.D., Bálint M., Čiampor F., Høglund J., Palsbøll P., Ruiz-López M.J., Zhang G., Jarvis E., Aghayan S.A., Alioto T.S., Almudi I., Alvarez N., Alves P.C., Amorim I.R., Antunes A., Arribas P., Baldrian P., Berg P.R., Bertorelle G., Böhne A., Bonisoli-Alquati A., Boštjančić L.L., Boussau B., Breton C.M., Buzan E., Campos P.F., Carreras C., Castro L.Fi., Chueca L.J., Conti E., Cook-Deegan R., Croll D., Cunha M.V., Delsuc F., Dennis A.B., Dimitrov D., Faria R., Favre A., Fedrigo O.D., Fernández R., Ficetola G.F., Flot J.F., Gabaldón T., Galea Agius D.R., Gallo G.R., Giani A.M., Gilbert M.T.P., Grebenc T., Guschanski K., Guyot R., Hausdorf B., Hawlitschek O., Heintzman P.D., Heinze B., Hiller M., Husemann M., Iannucci A., Irisarri I., Jakobsen K.S., Jentoft S., Klinga P., Kloch A., Kratochwil C.F., Kusche H., Layton K.K.S., Leonard J.A., Lerat E., Liti G., Manousaki T., Marques-Bonet T., Matos-Maraví P., Matschiner M., Maumus F., Mc Cartney A.M., Meiri S., Melo-Ferreira J., Mengual X., Monaghan M.T., Montagna M., Mysłajek R.W., Neiber M.T., Nicolas V., Novo M., Ozretić P., Palero F., Pârvulescu L., Pascual M., Paulo O.S., Pavlek M., Pegueroles C., Pellissier L., Pesole G., Primmer C.R., Riesgo A., Rüber L., Rubolini D., Salvi D., Seehausen O., Seidel M., Secomandi S., Studer B., Theodoridis S., Thines M., Urban L., Vasemägi A., Vella A., Vella N., Vernes S.C., Vernesi C., Vieites D.R., Waterhouse R.M., Wheat C.W., Wörheide G., Wurm Y. & Zammit G. 2022: The era of reference genomes in conservation genomics. *Trends in Ecology & Evolution* 37(3): 197–202.

- Frankham R. 1996: Relationship of genetic variation to population size in wildlife. *Conservation Biology* 10: 1500–1508.
- Frankham R., Ballou J.D., Eldridge M.D.B., Lacy R.C., Ralls K., Dudash M.R. & Fenster C.B. 2011: Predicting the Probability of Outbreeding Depression. *Conservation Biology* 25: 465–475.
- Frankham R., Ballou J. D., Ralls K., Eldridge M. D. B., Dudash M. R., Fenster C. B., Lacy R. C. & Sunnucks P. 2017: *Genetic Management of Fragmented Animal and Plant Populations*. Oxford University Press, Oxford.
- Frankham R., Bradshaw C.J.A. & Brook B.W. 2014: Genetics in conservation management: Revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. *Biological Conservation* 170: 56–63.
- Frantz A.C., Cellina S., Krier A., Schley L. & Burke T. 2009: Using spatial Bayesian methods to determine the genetic structure of a continuously distributed population: clusters or isolation by distance? *Journal of Applied Ecology* 46: 493–505.
- Fraser R. D., Pomeroy P. & Owen M. 2021: Using technology to monitor animal behavior in protected areas: Case studies from North America. *Wildlife Conservation* 44(5): 12–23.
- Frouz J. & Frouzová J. 2021: *Aplikovaná ekologie*. Univerzita Karlova, Praha.
- Fuller R., Broome A. & Andrews P. 2017: *The restoration of native woodlands in the Scottish Highlands: A monitoring framework for assessing conservation success*. *Scottish Wildlife Trust Journal* 12(4): 39–52.
- García-Rodríguez A., Selva N., Zwiżacz-Kozica T., Albrecht J., Lionnet C., Rioux D., Taberlet P. & De Barba M. 2021: The bear-berry connection: Ecological and management implications of brown bears' food habits in a highly touristic protected area. *Biological Conservation* 264: 109376.
- Gardenfors U. 2001: Classifying threatened species at a national versus global level. *Trends in Ecology and Evolution* 16: 511–516.
- Gardenfors U., Hilton-Taylor C., Mace G. & Rodriguez J. P. 2001: The application of IUCN Red List Criteria at Regional levels. *Conservation Biology* 15(5): 1206–1212.
- Gaston K. J., Jackson S. F., Cantú-Salazar & Cruz-Piñón G. 2008: The ecological performance of protected areas. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39: 93–113.
- Gavin M. C. *et al.* 2009: *Adaptive co-management of biodiversity in global change*. *Conservation Biology* 23(2): 201–210.
- Germano J., Ewen J. G., Mushinsky H., McCoy E. & Ortiz-Catedral L. 2014: Moving towards greater success in translocations: recent advances from the herpetofauna. *Animal Conservation* 17: 1–3.
- Golemansky V. & Koshev Y. 2007: Coccidian parasites (Eucoccidia: Eimeriidae) of European ground squirrel (*Spermophilus citellus* L., 1766) (Rodentia: Sciuridae) from Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica* 59: 81–85.
- González E. F., Pérez R. & López A. 2018: Visitor monitoring using remote sensing in protected areas: A review. *Journal of Environmental Management* 220: 12–20.
- Gosling S. 2001: From mice to men: what can we learn about personality from animal research? *Psychological Bulletin* 127(1):45–86.
- Gould T., Dao D. & Kovacsics C. 2009: The Open Field Test. Pp. 1–20. In: Gould T. D. (ed.), *Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice: Characterization Using Behavioral Tests*. Humana Press, Totowa.
- Graham E., Henderson S. & Schloss A. 2011: Using mobile phones to engage citizen scientists in research. *Eos* 92(38): 313–315.

- Gray C. L., Hill S. L. L., Newbold T., Hudson L. N., Börger L., Contu S., Hoskins A. J. *et al.* 2016: Local biodiversity is higher inside than outside terrestrial protected areas worldwide. *Nature Communications* 7:12306.
- Gregar M. 2023: Umělá inteligence a ochrana přírody. *Nika* 44 (1): 36–39.
- Gregory R. D., Willis S. G., Jiguet F., Voříšek P., Klvaňová A., van Strien A., Huntley B., Collingham Y. C., Couvet D., Green R. E. 2009: Development of indicators for biodiversity in Europe: A systematic review of monitoring requirements. *Biological Conservation* 142(7): 1799–1809.
- Griffith B., Scott J. M., Carpenter J. W. & Reed C. 1989: Translocation as a species conservation tool: status and strategy. *Science* 245(4917): 477–480.
- Griffiths R., Double M.C., Orr K. & Dawson R.J.G. 1998: A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology* 7: 1071–1075.
- Guinard E., Hlaváč V., Moulherat S., Pichard O. & Teillacorrey M. 2023: Evaluation and monitoring. In: Rosell C., Seiler A., Chrétien L., Guinard E., Hlaváč V., Moulherat S., Fernández L. M., Georgiadis L., Mot R., Reck H., Sangwine T., Sjolund A., Trocmé M., Hahn E., Bekker H., Bíl M., Böttcher M., O'Malley V., Autret Y. & van der Grift E. (eds.), *IENE Biodiversity and infrastructure. A handbook for action*. <https://www.biodiversityinfrastructure.org/>
- Gupta R., Sharma A. & Singh S. 2022: Social media platforms as a tool for visitor behavior monitoring in nature reserves. *Conservation Science* 50(2): 56–63.
- Habib B., Shrotriya S., Sivakumar K., Sinha P. R. & Mathur V. B. 2014: Three decades of wildlife radio telemetry in India: a review. *Animal Biotelemetry* 2: 4.
- Haddad N. M., Brudvig L. A., Clobert J., Davies K. F., Gonzalez A., Holt R. D., Lovejoy T. E., Sexton J. O., Austin M. P., Collins C. D., Cook W. M., Damschen E. I., Ewers R. M., Foster B. L., Jenkins C. N., King A. J., Laurance W. F., Levey D. J., Margules C. R., Melbourne B. A., Nicholls A. O., Orrock J. L., Song D. X. & Townshend J. R. 2015: Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science Advances* 1(2):e1500052.
- Haklay M. 2013: *Citizen Science and Volunteered Geographic Information: Overview and Typology of Participation*. Pp. 105–122. In: Sui D., Elwood S. & Goodchild M. (eds.), *Crowdsourcing Geographic Knowledge*. Springer, Dordrecht.
- Hamilton D. & Brigman J. 2015: Behavioral flexibility in rats and mice: contributions of distinct frontocortical regions. *Genes, Brain and Behavior* 14(1):4–21.
- Hapl E., Ambros M., Olekšák M. & Adamec M. 2006: *Reštitúcia sýsľa pasienkového (Spermophilus citellus) v podmienkach Slovenska. Metodická príručka*. Štátna ochrana prírody SR, Banská Bystrica.
- Harper L.R., Buxton, A.S., Rees H.C., Bruce K., Brys R., Halfmaerten D., Read D.S., Watson H.V., Sayer C.D., Jones E.P., Priestley V., Mächler E., Múrria C., Garcés-Pastor S., Medupin C., Burgess K., Benson G., Boonham N., Griffiths R.A., Lawson Handley L. & Hänfling B. 2019: Prospects and challenges of environmental DNA (eDNA) monitoring in freshwater ponds. *Hydrobiologia* 847: 1889–1907.
- Hascoët M. & Bourin M. 2009: The Mouse Light–Dark Box Test. Pp. 197–223. In: Gould T. D. (ed.), *Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice: Characterization Using Behavioral Tests*. Humana Press, Totowa, NJ.
- Hebblewhite M. & Haydon D. 2010: Distinguishing technology from biology: A critical review of the use of GPS telemetry data in ecology. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 365 (1550): 2303–2312.
- Hedberg T. 2020: *The Environmental Impact of Overpopulation. The Ethics of Procreation*. Routledge, Taylor & Francis Group, London.

- Hedrick P. W. & Fredrickson R. 2010: Genetic rescue guidelines with examples from Mexican wolves and Florida panthers. *Conservation Genetics* 11: 615–626.
- Hedrick P.W. & Garcia-Dorado A. 2016: Understanding inbreeding depression, purging, and genetic rescue. *Trends in Ecology & Evolution* 31: 940–952.
- Hellenthal G., Busby G.B.J., Band G., Wilson J.F., Capelli C., Falush D. & Myers S. 2014: A Genetic Atlas of Human Admixture History. *Science* 343(6172): 747–751.
- Herde A. & Eccard J. 2013: Consistency in boldness, activity and exploration at different stages of life. *BMC Ecology and Evolution* 13: 49.
- Heroldová M., Zejda J., Zapletal M., Obdržálková D., Jánová E., Bryja J. & Tkadlec E. 2004: Importance of winter rape for small rodents. *Plant Soil and Environment* 50(4): 175–181.
- Heuertz M., Carvalho S. B., Galindo J., Baruch Rinkevich B., Robakowski P., Aavik T., Altinok I., Barth J. M. I., Cotrim H., Goessen R., González-Martínez S. C., Grebenc T., Hoban S., Kopatz A., McMahon B. J., Porth I., Raeymaekers J. A. M., Träger S., Valdecantos A., Vella A., Vernesi C., & Garnier-Géré P. 2023: The application gap: Genomics for biodiversity and ecosystem service management. *Biological Conservation* 278: 109883.
- Hilty J. A. *et al.* 2020: The importance of corridors in species conservation: Ecological and management perspectives. *Ecological Applications* 30(7): e02177.
- Hindrikson M., Remm J., Pilot M., Godinho R., Stronen A.V., Baltrūnaitė L., Czarnomska S.D., Leonard J.A., Randi E., Nowak C., Åkesson M., López-Bao J.V., Álvares F., Llana L., Echegaray J., Vilà C., Ozolins J., Rungis D., Aspi J., Paule L., Skrbinšek T. & Saarma U. 2017: Wolf population genetics in Europe: a systematic review, meta-analysis and suggestions for conservation and management. *Biological Reviews* 92(3): 1601–1629.
- Hoban S., Bruford M., D'Urban Jackson J., Lopes-Fernandes M., Heuertz M., Hohenlohe P.A., Paz-Vinas I., Sjögren-Gulve P., Segelbacher G., Vernesi C. & Aitken S. 2020: Genetic diversity targets and indicators in the CBD post-2020 Global Biodiversity Framework must be improved. *Biological Conservation* 248: 108654.
- Hoban S., da Silva J.M. *et al.* 2024: Effective population size: A key biodiversity indicator for the post-2020 global biodiversity framework. *Conservation Letters* e12929.
- Hoban S., Paz-Vinas I., Aitken S., Bertola L.D., Gaggiotti O., Heuertz M., Hohenlohe P., Russo I.R.M., Segelbacher G., Vernesi C., Allendorf F., Bruford M.W., Jackson J.A., Kahilainen A., Koskinen M.T., Laikre L., Luikart G., Mergely J., Poikonen T. & Funk W.C. 2022: Genetic diversity is considered important but interpreted narrowly in country reports to the Convention on Biological Diversity: Current actions and indicators are insufficient. *Biological Conservation* 261: 109233.
- Hobbs R. J. & Harris J. A. 2001: *Restoration ecology: Repairing the Earth's ecosystems in the new millennium*. *Restoration Ecology* 9(2): 239–246.
- Hogg C. J., Ottewell K., Latch P., Rossetto M., Biggs J., Gilbert A., Richmond S. & Belov K. 2022: Threatened Species Initiative: Empowering conservation action using genomic resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 119: e2115643118.
- Holton M. D., Wilson R. P., Teilmann J. & Siebert U. 2021: Animal tag technology keeps coming of age: an engineering perspective. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 376(1831):20200229
- Hooykaas M., Schilthuizen M., Aten C., Hemelaar E., Albers C. & Smeets I. 2019: Identification skills in biodiversity professionals and laypeople: A gap in species literacy. *Biological Conservation* 238: 108202.
- Hooykaas M.J.D., Schilthuizen M. & Smeets I. 2020: Expanding the Role of Biodiversity in Laypeople's Lives: The View of Communicators. *Sustainability* 12(7): 2768.

- Horáček I. 1984: K otázce použitelnosti Petersonova indexu: testování spolehlivosti získaných dat. *Lynx, Praha, n.s.* 22: 79–82.
- Horváth, M. B., Martínez-Cruz, B., Negro, J. J., Kalmár, L., & Godoy, J. A. (2005). An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds. *Journal of avian biology*, 36(1), 84-88.
- Höss M., Kohn M., Pääbo S., Knauer F. & Schröder W. 1992: Excrement analysis by PCR. *Nature* 359: 199.
- Hummell G. F., Li A. Y. & Mullinax J. M. 2022: Very small collars: an evaluation of telemetry location estimators for small mammals. *Animal Biotelemetry* 10: 29.
- Hunter-Ayad J., Jarvie S., Greaves G., Digby A., Ohlemüller R., Recio M. R. & Seddon P. J. 2021: Novel Conditions in Conservation Translocations: A Conservative-Extrapolative Strategic Framework. *Frontiers in Conservation Science* 2: 691714.
- Hutson M. 2017: AI glossary: Artificial intelligence in so many words. *Science* 357: 19.
- Hutton J. 1989: Movements, home range, dispersal, and the separation of size classes in Nile crocodiles. *American Zoologist* 29: 1033–1049.
- Hvilsom C., Segelbacher G., Ekblom R., Fischer M.C., Laikre L., Leus K., O'Brien D., Shaw R. & Sork V. 2022: *Selecting species and populations for monitoring of genetic diversity*. IUCN, Gland, Switzerland.
- Chandler M., See L., Buesching C. D., Cousins J. A., Gillies C., Kays R. W., Newman C., Pereira H. M. & Tiago P. 2017: Involving Citizen Scientists in Biodiversity Observation. Pp. 211–237. In: Walters M., Scholes R. J. (eds.), *The GEO Handbook on Biodiversity Observation Networks*. Springer International Publishing, Cham.
- Charlesworth D. & Willis J.H. 2009: The genetics of inbreeding depression. *Nature Reviews Genetics* 10: 783–796.
- Cheng E., Hodges K.E., Melo-Ferreira J. & Mills L.S. 2017: Conservation implications of the evolutionary history and genetic diversity hotspots of the snowshoe hare. *Molecular Ecology* 26: 1670–1684.
- IBCC 1970: Recommendations for an international standard for a mapping method in bird census work. *Bull. Ecol. Res. Comm., Lund* 9: 49–52.
- IPBES 2019: *Global Assessment Report on Biodiversity and Ecosystem Services*. Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services., Bonn.
- IUCN 1998: *Guidelines for Re-Introductions. Prepared by the IUCN/SSC R-Introduction Specialist Group*. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, U. K.
- IUCN 2003: *Guidelines for application of IUCN Red List criteria at regional levels: Version 3.0*. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, U. K.
- IUCN 2012a: *IUCN Red List categories and criteria: Version 3.1*. 2nd ed. IUCN, Gland, Switzerland.
- IUCN 2012b: *Guidelines for application of IUCN Red List criteria at regional and national levels: Version 4.0*. IUCN, Gland, Switzerland.
- IUCN 2024a: *Guidelines for the application of IUCN Red List of Ecosystems. Categories and Criteria, Version 2.0*. IUCN, Gland, Switzerland.
- IUCN 2024b: *Red List of Threatened Mangroves*. IUCN Gland, Switzerland.
- IUCN/SSC 2013: *Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations*. Version 1.0. IUCN Species Survival Commission, Gland, Switzerland.

- IUCN SSC Species Monitoring Specialist Group 2025: *Guidelines and Tools for Monitoring Biodiversity: A Selection of Manuals, Guidance and Methods Reviews*. Version 1.1. IUCN SSC Species Monitoring Specialist Group. <https://www.speciesmonitoring.org/guidelines-and-tools.html>
- IUCN Standards and Petitions Committee 2022: *Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 15.1*. Prepared by the Standards and Petitions Committee. <https://www.iucnredlist.org/documents/RedListGuidelines.pdf>.
- Jacob J. & Hempel N. 2003: Effects of farming practices on spatial behaviour of common voles. *Journal of Ethology* 21(1): 45–50.
- Janda J. & Řepa P. 1986: *Metody kvantitativního výzkumu v ornitologii*. Okresní vlastivědné muzeum J.A. Komenského, Moravské ornitologické sdružení v Přerově.
- Jareño D., Vinuela J., Luque-Larena J.J., Arroyo L., Arroyo B. & Mougeot F. 2014: A comparison of methods for estimating common vole (*Microtus arvalis*) abundance in agricultural habitats. *Ecological Indicators* 36: 111–119.
- Järvinen O., Väisänen R.A. & Walankiewicz Wo. 1978: Efficiency of the line transect method in Central European forests. *Ardea* 66: 103–111.
- Jedlička L., Kocian L., Kadlečík J. & Feráková V. 2007: *Hodnotenie stavu ohrozenia taxónov fauny a flóry*. ŠOP SR, Banská Bystrica; Univerzita Komenského, Bratislava.
- Jensen F., Moss A. & Gusset M. 2017: Quantifying long-term impact of zoo and aquarium visits on biodiversity-related learning outcomes. *Zoo Biology* 36(4): 294–297.
- Jost L., Archer F., Flanagan S., Gaggiotti O., Hoban S. & Latch E. 2018: Differentiation measures for conservation genetics. *Evolutionary Applications* 11(7): 1139–1148.
- Kampichler C. & Van Der Jeugd H. P. 2011: Monitoring passerine reproduction by constant effort ringing: evaluation of the efficiency of trend detection. *Ardea* 99: 129–136.
- Kardos M. 2021: Conservation genetics. *Current Biology* 31(19): R1185–R1190.
- Kardos M. & Shafer A.B.A. 2018: The Peril of Gene-Targeted Conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 33(11): 827–839.
- Kareiva P., Marvier M. & Silliman B. (eds.) 2018: *Effective conservation science: Data, not dogma*. Oxford University Press, Oxford.
- Kareiva P., Watts S., McDonald R. & Boucher T. 2007: Domesticated nature: shaping landscapes and ecosystems for human welfare. *Science* 316:1866–1869.
- Karr J. R., Larson E.R. & Chu E.W. 2022: Ecological integrity is both real and valuable. *Conservation Science and Practice* 4: e583.
- Kays R., Crofoot M. C. Jetz, W. & Wikelski M. 2015: Terrestrial animal tracking as an eye on life and planet. *Science* 348: aaa2478.
- Keller L.F. & Waller D.M. 2002: Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology & Evolution* 17: 230–241.
- Kenward R. E. 2001: *A Manual for Wildlife Radio Tagging*. Academic Press, London.
- Kerson R. 1989: Lab for the environment. *Technology Review* 92(1): 11–12.
- Kitzmann N. H., Caesar L., Sakschewski B. & Rockström J. (eds.) 2025: *Planetary Boundaries Science (PBScience). Planetary Health Check 2025*. Potsdam Institute for Climate Impact Research (PIK), Potsdam, Germany.
- Klinda J. 2000: *Terminologický slovník environmentalistiky*. MŽP SR, Bratislava.

- Klinga P., Mikoláš M., Zhelev P., Höglund J. & Paule L. 2015: Genetic differentiation of western capercaillie in the Carpathian Mountains: The importance of post glacial expansions and habitat connectivity. *Biological Journal of the Linnean Society* 116: 873–889.
- Kotecký V. 2021: Přístup k prírodě: ochrana biodiverzity jako veřejná služba. *Fórum ochrany přírody* 2: 3–5.
- Kratochvíl J. & Gaisler J. 1964: Vliv návnady na složení úlovku drobných savců při ekologických a populačně dynamických výzkumech. *Zoologické listy* 13(4): 289–294.
- Krebs C. 1999: *Ecological Methodology*. 2nd Edition. Benjamin Cummings, Menlo Park.
- Krebs Ch. Jo 1989: *Ecological methodology*. Harper & Row Publishers, New York.
- Kremen C. et al. 2006: *Monitoring biodiversity and its impact on ecosystem services*. *Conservation Biology* 20(2): 284–293.
- Kropil R. 1992: Odporúčané skratky a symboly pre terénne záznamy pri kvantitatívnych výskumoch vtákov. *Tichodroma* 4: 21–34.
- Kropil R. 1994: Metodika programu sčítania vtákov na Slovensku. *Tichodroma* 7: 138–145.
- Kropil R. 1996: The breeding bird community of the West Carpathian fir-spruce-beech primeval forest (The Dobroč nature reservation). *Biologia*, Bratislava 51: 585–598.
- Kropil R. 2010: *Lesnícka zoológia – návody na cvičenia*. Technická univerzita vo Zvolene, Zvolen.
- Kropil R. Sládek J. 1990: Príspevok k poznaniu potravy niektorých druhov dravcov a sov na Slovensku. *Biológia*, Bratislava 45(10): 841–853.
- Lacoursière-Roussel A., Rosabal M. & Bernatchez L. 2016: eDNA metabarcoding as a new surveillance approach for coastal Arctic biodiversity. *Nature* 538: 540–543.
- Lande R. 1988: Genetics and Demography in Biological Conservation. *Science* 241(4872): 1455–1460.
- Langton P. H. 1995: The pupa and events leading to eclosion. Pp. 169–193. In: Armitage P. D., Cranston P. S. & Pinder L. C. V. (eds.), *The Chironomidae: Biology and ecology of non-biting midges*. Chapman & Hall, London.
- Langton P. H. & Visser H. 2003: *Chironomidae exuviae. A key to pupal exuviae of the West Palearctic Region. Interactive Identification System for the European Limnofauna (IISEL)*. World Biodiversity Database, CD-ROM Series.
- Lapierda O., Chejanovski Z. & Kolbe J. 2017: Urbanization and biological invasion shape animal personalities. *Global Change Biology* 23(2): 592–603.
- Legg C. & Nagy L. 2006: *Why most conservation monitoring programs fail*. *Conservation Biology* 20(3): 673–680.
- Leigh D.M., Hendry A.P., Vázquez-Domínguez E., Friesen V.L., Biek R., Moran P., Versace E., Walling C.A., Schmid D.W., Mihoub J.-B. et al. 2024: Global meta-analysis shows action is needed to halt biodiversity loss through genetic erosion. *Nature*.
- Leimu R., Mutikainen P., Koricheva J. & Fischer M. 2006: How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? *Journal of Ecology* 94: 942–952.
- Lešo P., Černecký J., Saxa A., Karaska D., Ridzoň J., Demko M., Chavko J., Slobodník R., Krištín A. & Kropil R. 2025: Complex monitoring of birds in Slovakia – concept, preliminary results, sustainability. Pp. 48. In: *Bird numbers 2025: synergies in monitoring for conservation: abstract book*. 2025. https://birdnumbers2025.lu.lv/fileadmin/user_upload/lu_portal/birdnumbers2025.lu.lv/abstract_book_250331.pdf. [prebraté 19.12.2025]
- Letty J., Marchandeanu S. & Aubineau J. 2007: Problems encountered by individuals in animal translocations: Lessons from field studies. *Écoscience* 14(4): 420–431.

- Leung Y. F., Spenceley A. & Hvenegaard G. T. 2018: *Visitor impact monitoring: Concepts, methodologies, and applications*. Elsevier Science Publishers.
- Liddell K., Martin S. & Palmer J. 2023: Ethical and legal implications of gene editing in plant conservation: A systematic review. *Journal of Environmental Law* 35(1): 45–72
- Lindahl T. 1993: Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362: 709–715.
- Lindenmayer D. B. & Likens G. E. 2010: *The science and practice of ecological monitoring*. *Biological Conservation* 143(6): 1317–1327.
- Liu H., Gong P., Wang J., Clinton N., Bai Y. & Liang S. 2020: *Annual dynamics of global land cover and its long-term changes from 1982 to 2015, link to GeoTIFF files* [dataset]. PANGAEA.
- Llorente-Culebras S., Ladle R. J. & Santos A. M. C. 2023: Publication trends in global biodiversity research on protected areas. *Biological Conservation* 281:109988.
- Longmire J.L., Maltbie M. & Baker R.J. 1997: Use of “lysis buffer” in DNA isolation and its implications for museum collections. *Occasional Papers, Museum of Texas Tech. University* 163: 1–3.
- Luenser K., Fickel J., Lehnen A., Speck S. & Ludwig A. 2005: Low level of genetic variability in European bison (*Bison bonasus*) from the Bialowieza National Park in Poland. *European Journal of Wildlife Research* 51(2): 84–87.
- Luikart G., England P.R., Tallmon D., Jordan S. & Taberlet P. 2003: The power and promise of population genomics: From genotyping to genome typing. *Nature Reviews Genetics* 4: 981–994.
- Lundmark C., Ericsson G. & Klingberg J. 2021: Visitor pressure on wildlife: Long-term monitoring and adaptive management strategies. *Biodiversity and Conservation* 30(6): 125–138.
- Lynch M. Walsh B. 1998: *Genetics and analysis of quantitative traits*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Mace G. 2014: Whose conservation? *Science* 345: 1558–1560.
- Maguire L. A. 2004: *Making the case for environmental monitoring*. *Environmental Science & Policy* 7(1): 17–24.
- Marcoux A. & Riley S. J. 2010: Driver knowledge, beliefs, and attitudes about deer-vehicle collisions in southern Michigan. *Human-Wildlife Interactions* 4(1): 47–55.
- Marchant J.H. 1983: *Common bird census instructions*. BTO, Tring.
- Marks L., Laird Y., Trevena H., Smith B. J. & Rowbotham S. 2022: Scoping Review of Citizen Science. Approaches in Chronic Disease Prevention. *Frontiers in Public Health* 10: 743348.
- Marvier M. 2014a: A call for ecumenical conservation. *Animal Conservation* 17: 518–519.
- Marvier M. 2014b: New conservation is true conservation. *Conservation Biology* 28: 1–3.
- Marvier M. & Kareiva P. 2014: The evidence and values underlying ‘new conservation’. *Trends in Ecology & Evolution* 29: 131–132.
- Matějů J., Říčanová Š., Ambros M., Kala B., Hapl E. & Matějů K. 2010: Reintroductions of the European Ground Squirrel (*Spermophilus citellus*) in Central Europe (Rodentia: Sciuridae). *Lynx, n. s. (Praha)* 41: 175–191.
- Mazza V., Dammhahn M., Lösche E. & Eccard J. 2020: Small mammals in the big city: Behavioural adjustments of non-commensal rodents to urban environments. *Global Change Biology* 26(11): 6326–6337.
- Mazza V. & Guenther A. 2021: City mice and country mice: innovative problem solving in rural and urban noncommensal rodents. *Animal Behaviour* 172: 197–210.

- May T. M., Page M. J., & Fleming P. A. 2016: Predicting survivors: animal temperament and translocation. *Behavioral Ecology* 27(4): 969–977.
- Májsky J. 1987: Príspevok k poznaniu mechanizmu gradácií drobných zemných cicavcov. *Lynx, Praha, n. s.* 23: 126–131.
- Męczyński S. 1985: Czy susel moregowany, *Spermophilus citellus* Linnaeus, 1766, występuje jeszcze w Polsce? *Przegląd Zoologiczny* 29: 521–526.
- Medina P., Thornlow B. & Villanea F. 2022: Human genetic admixture through the lens of population genomics. *Current Opinion in Genetics & Development* 73: 101894.
- Meek P. D., Ballard G., Claridge A., Kays R., Moseby K., O'Brien T., O'Connell A., Sanderson J., Swann D. E., Tobler M. & Townsend S. 2014: Recommended guiding principles for reporting on camera trapping research. *Biodiversity Conservation* 23: 2321–2343.
- Miele V., Dussert G., Spataro B., Chamaillé-Jammes S., Allainé D. 2021. Revisiting animal photo-identification using deep metric learning and network analysis. *Methods in Ecology and Evolution* 12(5): 863–873.
- Michielsen N. C. 1966: Intraspecific and interspecific competition in the shrews *Sorex araneus* L. and *S. minutus* L. *Archives Néerlandaises de Zoologie* 17(1): 73–174.
- Mikkonen J. 2022: Aesthetic appreciation of nature and the global environmental crisis. *Environmental Values* 31(1): 47–66.
- Miller D., McCulloch G. & Johnson L. 2017: Managing visitor impacts in national parks: A case study approach. *Park Management Journal* 28(4): 234–247.
- Mills L. S. & Allendorf F. W. 1996: The one-migrant-per-generation rule in conservation and management. *Conservation Biology* 10: 1509–1518.
- Mills L. S. *et al.* 2006: *Evaluating the effectiveness of ecological monitoring*. *Biological Conservation* 131(3): 326–338.
- Morris S. D., Brook B. W., Moseby K. E. & Johnson C. N. 2021: Factors affecting success of conservation translocations of terrestrial vertebrates: a global systematic review. *Global Ecology and Conservation* 28: e01630.
- Moss A., Jensen E. & Gusset M. 2014: *A global evaluation of biodiversity literacy in zoo and aquarium visitors*. World Association of Zoos and Aquariums (WAZA), Gland, Switzerland.
- Mošanský L., Stanko M. & Fričová J. 2000: Doterajšie poznatky z využitia zemných pascí pri teriologických výskumoch na východnom Slovensku. *Lynx, Praha, n.s.* 31: 69–79.
- Müller J., Hartel T. & Schwenk K. 2015: Effects of human disturbance on bird nesting success: Insights from an experimental study. *Environmental Conservation* 42(4): 58–67.
- Nicacio G. & Juen L. 2015: Chironomids as indicators in freshwater ecosystems: an assessment of the literature. *Insect Conservation and Diversity* 8: 393–403.
- Norouzzadeh M. S., Nguyen A., Kosmala M., Swanson A., Palmer M. S., Packer C. & Clune J. 2018. Automatically identifying, counting, and describing wild animals in camera-trap images with deep learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115(25): E5716-E5725.
- Nov O., Arazy O. & Anderson D. 2011: Dusting for science: motivation and participation of digital citizen science volunteers. Pp. 68–74. In: *Proceedings of the 2011 iConference Inspiration, Integrity, and Intrepidity*. Association for Computing Machinery, New York.
- Novikmec M., Svitok M., Stašiov S. & Pazderková Z. 2018: *Základný determinatívny kľúč na určovanie makrozoobentosu*. Technická univerzita vo Zvolene, Zvolen.

- O'Brien M. *et al.* 2012: *Monitoring programs for biodiversity: Evaluating efficiency and effectiveness. Biological Conservation* 153: 45–58.
- O'Connell A. F. *et al.* 2000: *Monitoring populations of wildlife: Approaches and techniques*. Cambridge University Press, Cambridge.
- O'Meally D. & Livingston S. 2002: *Opportunistic collection of tissue in the field*. Australian Museum, New South Wales.
- Obdržálková D., Zapletal M., Zejda J., Heroldová M. 2007: *Hraboš polní, závažný škůdce v zemědělství*. Ministerstvo zemědělství, Praha.
- Obuch J. 1995: Materiály k potrave sov v okolí Rimavskej Soboty. Pp. 109–113. In: *Rimava 1995 – Odborné výsledky zoologických a mykologických výskumov*. Slovenská agentúra životného prostredia, Banská Bystrica, Ústav ekológie lesa SAV, Zvolen.
- Obuch J. 2000: Potrava sov v Driečanskom krase a v okolitých územiach. Pp. 255–266. In: Kliment J. (ed.), *Príroda Driečanského krasu*. Štátna ochrana prírody SR Banská Bystrica.
- Pankakoski E. 1979: The cone trap – a useful tool for index trapping of small mammals. *Acta Zoologica Fennici* 16: 144–150.
- Pape T., Blagoderov V. & Mostovski M. B. 2011: Order Diptera Linnaeus, 1758. In: Zhang Z. O. (ed.), *Animal biodiversity: an outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. Zootaxa* 3148: 222–229.
- Paule L., Urban P. & Gömöry D. 2008: *Genetika poľovnej zveri a volne žijúcich živočíchov*. Arbora Publishers, Zvolen.
- Paz-Vinas I., Blanchet S., Prunier J.G., Veyssiére C., Loot G., Fourtune L. & Rey O. 2024: Genetic network analysis uncovers spatial variation in population connectivity: Applications for conservation. *Global Ecology and Conservation* 47: e02835.
- Peischl S. & Excoffier L. 2016: Expansion Load. Pp. 218–231. In: *Invasion Genetics*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Pelikán J. 1975: K ujednocení odchytového kvadrátu a linie pri zjišťovaní populačnej hustoty drobných savců v lesích. *Lynx, Praha, n.s.* 17: 58–71.
- Pelikán J. 1976: Způsob výpočtu odhadované velikosti úlovku. *Lynx, Praha, n.s.* 18: 11–129.
- Pelikán J. 1984: Vyhodnocování a posudzování poměru pohlaví u savců. (Evaluation and consideration of the sex ratio in mammals). *Lynx, Praha, n.s.* 22: 59–66.
- Pelikán J. & Zejda J. 1962: Srovnání dvou způsobů určení populační hustoty drobných savců. *Zoologické listy* 11(3): 227–242.
- Pelikán J., Zejda J. & Holišová V. 1977: Efficiency of different traps in catching small mammals. *Folia zoologica* 26(1): 1–13.
- Penar W., Magiera A. & Klocek C. 2020: Applications of bioacoustics in animal ecology. *Ecological Complexity* 43: 100847.
- Perez-Espona S. & ConGRESS Consortium 2017: Conservation genetics in the European Union—biases, gaps and future directions. *Biological Conservation* 209: 130–136.
- Peter B.M. 2016: Admixture, Population Structure, and F-Statistics. *Genetics* 202(4): 1485–1501.
- Pfennig-Butterworth A., Buckley L. B., Drake J. M., Farner J. E., Farrell M. J., Gehman A-L. M., Mordecai E. A., Stephens P. R., Gittleman J. L. & Davies T. J. 2024: Interconnecting global threats: climate change, biodiversity loss, and infectious diseases, *The Lancet Planetary Health* 8(4): e270–e283.

- Piggot M.P. & Taylor A.C. 2003: Remote collection of animal DNA and its applications in conservation management and understanding the population biology of rare and cryptic species. *Wildlife Research* 30: 1–3.
- Pimentel D., Westra L. & Noss R. 2000: *Ecological integrity: Integrating environment, conservation & health*. Island Press, Washington D.C.; Covelo, California.
- Pimm S. L., Jenkins C. N. & Binbin V. L. 2018: How to protect half of Earth to ensure it protects sufficient biodiversity. *Science Advances* 4: eaat2616.
- Plesník J. 2003: Červené knihy a červené seznamy ohrožených druhů jako podklad pro ochranu planě rostoucích rostlin a volně žijících živočichů a jejich stanovišť. *Příroda, Praha* 22: 7–34.
- Plesník J. 2010: Příroda jako proudící mozaika. Co přinesly novější poznatky ekosystémové ekologie. *Ochrana přírody* 3: 27–30.
- Plesník J. 2015: Červené knihy a seznamy Mezinárodní unie ochrany přírody slaví půlstoletí. *Ochrana přírody* 70(2): 37–41.
- Plesník J. 2022: Je „nová“ ochrana přírody skutečně nová? *Ochrana přírody* 2: 44–48.
- Plesník J. 2023: Soudobé a budoucí směřování ochrany přírody a krajiny. *Ochrana přírody* 2: 24–28.
- Plesník J. 2024: Ochranařská genetika pomáhá péči o přírodu a krajinu již půlstoletí. *Ochrana přírody* 2: 30–33.
- Plesník J. 2025a: Výzkum v chráněných územích ve světě: současný stav a vývojové trendy. *Ochrana přírody* 2: LXX.
- Plesník J. 2025b: Červený seznam IUCN nově hodnotí také ohrožení ekosystémů v globálním měřítku. *Ochrana přírody* 3: 45–48.
- Plesník J. & Chobot K. 2017: Červené seznamy a knihy jako významný přístup k hodnocení druhů a dalších vybraných složek biologické rozmanitosti. *Příroda, Praha* 34: 8–35.
- Plesník J. & Plesníková M. 2023: Umělá inteligence se stále častěji uplatňuje i v ochraně přírody a krajiny. *Ochrana přírody* 6: 20–23.
- Pompanon F., Bonin A., Bellemain E. & Taberlet P. 2005: Genotyping errors: causes, consequences and solutions. *Nature Reviews Genetics* 6: 847–859.
- Porter R. 1978: Gentlemen and geology: the emergence of a scientific career, 1660–1920. *Historical Journal* 21(4): 809–836.
- Primack R. B., Kindlmann P. & Jersáková J. 2011: *Úvod do biologie ochrany přírody*. Portál, Praha.
- Rachlewicz G., Nowak J. & Kowalczyk R. 2019: *Monitoring the European bison in Poland: Successes and challenges*. *Ecological Indicators* 105: 1–12.
- Ralls K., Ballou J. D., Dudash M. R., Eldridge M. D. B., Fenster C. B., Lacy R. C., Sunnucks P. & Frankham R. 2018: Call for a paradigm shift in the genetic management of fragmented populations. *Conservation Letters* 11: e12412.
- Ralls K., Sunnucks P., Lacy R.C. & Frankham R. 2020: Genetic rescue: A critique of the evidence supports maximizing genetic diversity rather than minimizing the introduction of putatively harmful genetic variation. *Biological Conservation* 251: 108784.
- Rehage J. & Sih A. 2004: Dispersal Behavior, Boldness, and the Link to Invasiveness: A Comparison of Four *Gambusia* Species. *Biological Invasions* 6(3): 379–391.
- Rees H.C., Maddison B.C., Middleditch D.J., Patmore J.R.M. & Gough K.C. 2014: The detection of aquatic animal species using environmental DNA – a review of eDNA as a survey tool in ecology. *Journal of Applied Ecology* 51: 1450–1459.

- Resh V. & Rosenberg D. 2008: Water pollution and insects. Pp. 4158–4168. In: Capinera J. (ed.), *Encyclopedia of Entomology*, Springer Science + Business Media B.V., Dordrecht.
- Rezková K. & Kolář F. 2010: Ochrana populace. Pp. 48–83. In: Baláz V., Falteisek L., Chlumská Z., Kolář F., Kubešová M., Matějů J., Prach J. & Rezková K.: *Ochrana přírody z pohledu biologa*. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Réale D., Reader S., Sol D., McDougall P. & Dingemanse N. 2007: Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews* 82(2): 291–318.
- Rice K. J. & Emery N. C. 2003: Managing microevolution: restoration in the face of global change. *Frontiers in Ecology and the Environment* 1: 469–478.
- Richardson J., Steffen W., Lucht W., Bendtsen J., Cornell S. E., Donges, J.F., Drüke M., Fetzer I., Bala G., von Bloh W., Feulner G., Fiedler S., Gerten D., Gleeson T., Hofmann M., Huiskamp W., Kumm M., Mohan C., Nogués-Bravo D., Petri S., Porkka M., Rahmstorf S., Schaphoff S., Thonicke K., Tobian A., Virkki V., Wang-Erlandsson L., Weber L. & Rockström J. 2023: Earth beyond six of nine Planetary Boundaries. *Science Advances* 9(37):eadh2458. doi: 10.1126/sciadv.adh2458.
- Rivera-Ortiz F.A., Oyama K., Ríos-Muñoz C.A., Solórzano S., Navarro-Sigüenza A.G. & Del Coro Arizmendi M. 2015: Habitat fragmentation and genetic variability of tetrapod populations. *Animal Conservation* 18: 249–258.
- Rockström J., Steffen W., Noone K., Persson, Å., Chapin F. S., Lambin E. F., Lenton T. M., Scheffer M., Folke C., Schellnhuber H. J., Nykvist B., de Wit C. A., Hughes T., van der Leeuw S., Rodhe H., Sörlin S., Snyder P. K., Costanza R., Svedin U., Falkenmark M., Karlberg L., Corell R. W., Fabry V. J., Hansen J., Walker B., Liverman D., Richardson K., Crutzen P. & Foley J. A. 2009a: A safe operating space for humanity. *Nature* 461: 472–475. <https://doi.org/10.1038/461472a>
- Rockström J., Steffen W., Noone K., Persson Å., Chapin III F. S., Lambin E., Lenton T. M., Scheffer M., Folke C., Schellnhuber H., Nykvist B., De Wit C. A., Hughes T., van der Leeuw S., Rodhe H., Sörlin S., Snyder P. K., Costanza R., Svedin U., Falkenmark M., Karlberg L., Corell R. W., Fabry V. J., Hansen J., Walker B., Liverman D., Richardson K., Crutzen P. & Foley J. 2009b: Planetary boundaries: exploring the safe operating space for humanity. *Ecology and Society* 14(2): 32.
- Rohwer Y. & Marris E. 2021: Ecosystem integrity is neither real nor valuable. *Conservation Science and Practice* 3: e411.
- Romin L. A. & Bissonette J. A. 1996: Deer-vehicle collisions: nationwide status of state monitoring activities and efforts. *Wildlife Society Bulletin* 24(2): 276–283.
- Roth C. 1992: *Environmental literacy: Its roots, evolution and directions in the 1990s*. ERIC/CSMEE Publications. The Ohio State University, Columbus, OH.
- Roth P. 2018: Červene seznamy, jejich legislativní (ne)uchopení a (ne)pochopení v ČR. *Fórum ochrany přírody* 1: 16–17.
- Rödl P. 1974: Některé problémy studia prostorové aktivity drobných saveců. *Lynx, Praha, n. s.* 15: 84–97.
- Růfusová A., Beracko P. & Bulánková E (eds). 2017: *Bentické bezstavovce a ich biotopy*. Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava
- Ruse L. 2010: Classification of nutrient impact on lakes using the chironomid pupal exuvial technique. *Ecological Indicators* 10(3): 594–601.
- Rychlík L., Ruczyński I., & Borowski Z. 2010: Radiotelemetry applied to field studies of shrews. *Journal of Wildlife Management*, 74(6): 1335–1342.
- Ryman N., Laikre L. & Hössjer O. 2019: Do estimates of contemporary effective population size tell us what we want to know? *Molecular Ecology* 28: 1904–1918.

- Řepa P. 1975: Rozdíly ve velikosti úlovku mezi prvním a druhým dnem odchyty při sběru některých drobných saveců sklápovacími pastmi. *Lynx, Praha*, n. s. 17: 35–38.
- Sabo P., Urban P., Malina R., Švajda J. & Turisová I. 2020. *Úvod do systémovej ekológie I. Od environmentálnej krízy k princípom ekologickej zložitosti a organizácie ekologických systémov*. Belianum, Banská Bystrica.
- Sales N. G., McKenzie M. B., Drake J., Harper L. R., Browett S. S., Coscia I., Wangenstein O. S., Baillie C., Bryce E., Dawson D. A., Ochu E., Hänfling B., Handley L. L., Mariani S., Lambin X., Sutherland C. & McDevitt A. D. 2025: Fishing for mammals: Landscape-level monitoring of terrestrial and semi-aquatic communities using eDNA from riverine systems. *Journal of Applied Ecology* 1234(1): 1–10.
- Santos A.S. & Gaiotto F.A. 2020: Knowledge status and sampling strategies to maximize cost-benefit ratio of studies in landscape genomics of wild plants. *Scientific Reports* 10: 3706.
- Santos S. M., Marques J. T., Lourenço A., Medinas D., Márcia Barbosa A., Beja P. & Mira A. 2015: Sampling effects on the identification of roadkill hotspots: Implications for survey design. *Journal of Environmental Management* 162: 87–95.
- Saxa A. 2025: Monitoring živočíchov v ochrane prírody na Slovensku. P. 27. In: Urban P. & Hrdý T. (eds.), *Monitoring živočíchov v ochrane prírody (zborník abstraktov)*. Fakulta prírodných vied UMB, Banská Bystrica.
- Saxa A., Černecký J., Galvánková J., Mútnanová M., Balázová A. & Gubková-Mihaliková M. (eds.) 2015: *Príručka metód monitoringu biotopov a druhov európskeho významu*. Štátna ochrana prírody SR, Banská Bystrica.
- Seddon P. J., Armstrong D. P. & Maloney R. F. 2007: Developing the science of reintroduction biology. *Conservation Biology* 21: 303–312.
- Seddon P. J., Strauss W. M. & Innes J. 2012: Animal Translocations: What are they and why do we do them? Pp. 1–32. In: Ewen J. G., Armstrong D. P., Parker K. A., Seddon P. J. (eds.), *Reintroduction Biology: Integrating Science and Management*. Blackwell Publishing.
- Seiler A. 2004: Trends and spatial patterns in ungulate vehicle collisions in Sweden. *Wildlife Biology* 10: 301–313.
- Shafer A.B.A., Wolf J.B.W., Alves P.C., Bergström L., Bruford M.W., Brännström I., Colling G., Dalén L., De Meester L., Ekblom R. & Hoban S. 2018: Conservation of biodiversity in the genomics era. *Trends in Ecology & Evolution* 33(7): 589–603.
- Shirk J. L., Ballard H. L., Wilderman C. C., Phillips T., Wiggins A., Jordan R., McCallie E., Minarchek M., Lewenstein B. V., Krasny M. E. & Bonney R. 2012: Public Participation in Scientific Research: a Framework for Deliberate Design. *Ecology and Society* 17:29–48.
- Schirmer A., Herde A., Eccard J. & Dammhahn M. 2019: Individuals in space: personality-dependent space use, movement and microhabitat use facilitate individual spatial niche specialization. *Oecologia* 189(3): 647–660.
- Schneiderhan-Opel J. & Bogner F. 2020: Future Forest: Promoting biodiversity literacy by implementing citizen science in the classroom. *The American Biology Teacher* 82(4): 234–240.
- Schooler J. 2011: Unpublished results hide the decline effect. *Nature* 470: 437–437.
- Schubertová R. 2018: *Skúmaj svoje okolie: Metodická príručka k využitiu bádateľského programu a občianskej vedy v záujmovej činnosti*. Belianum, Banská Bystrica.
- Schwartz M.K., Luikart G. & Waples R.S. 2007: Genetic monitoring as a promising tool for conservation and management. *Trends in Ecology & Evolution* 22: 25–33.

- Sih A., Munson A. & Pollack L. 2020: Animal Personalities. Pp. 117–122. In: Carducci B. J., Nave C.S., Mio J. S. & Riggio R. E. (eds.), *The Wiley Encyclopedia of Personality and Individual Differences: Models and Theories*. John Wiley & Sons Ltd.
- Skokanová K. 2024: *Občianska veda ako nástroj biodiverzity*. Písomná práca k dizertačnej skúške. Fakulta prírodných vied a informatiky UKF v Nitre, Nitra.
- Slater E. 2002: An assessment of wildlife road casualties – the potential discrepancy between numbers counted and numbers killed. *Web Ecology* 3: 33–42.
- Slatkin M. 1985: Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 393–430.
- Sládeček V. 1973: System of water quality from the biological point of view. *Archiv für Hydrobiologie, Beiheft. Ergebnisse der Limnologie* 7: 1–218.
- Smith B.T. 2021: Mining museums for historical DNA: advances and challenges in museomics. *Trends in Ecology & Evolution* 36: 1049–1060.
- Soulé M. E. 1985: What Is Conservation Biology? *BioScience* 35(11): 727–734.
- Soulé M. E. (ed.) 1986: *Conservation biology. The science of scarcity and diversity*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland (Mass.).
- Stanko M., Mošanský L., Fričová J. & Casanova J. C. 1999: Comparison of two sampling methods of small mammals in the margin of a lowland forest. *Biológia, Bratislava* 54(5): 595–597.
- Steffen W., Richardson, K., Rockström, J., Cornell, S. E. Fetzer, I. Bennett E.M., Biggs R., Carpenter S.R., De Vries W., De Wit C.A., Folke C., Gerten D., Heinke J., Mace G.M., Persson L.M., Ramanathan V., Reyers B. & Sörlin S. 2015: Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Science* 347: 736.
- Stein C., Wittmer A., Fegert J. & Weinhardt C. 2023: Citizen Science as a Service? A Review of Multi-Project Citizen Science Platforms. In: *Proceedings of the 21st International Conference “e-Society”*. Lisbon, Portugal.
- Stewart-Oaten A., Murdoch W. W. & Parker K. R. 1986: Environmental Impact Assessment: “Pseudoreplication” in Time? *Ecology* 67: 929–940.
- Stork H. & Astrin J. J. 2014: Trends in biodiversity research – a bibliometric assessment. *Open Journal of Ecology* 4: 354–370.
- Sugai L. S. M., Silva T. S. F., Ribeiro J. R. & Llusia D. 2019: Terrestrial Passive Acoustic Monitoring: Review and Perspectives, *BioScience* 69(1): 15–25.
- Sutherland W. J., Adams W. M. & Barbosa P. 2018: Conservation design for visitor management. *Nature Conservation* 25: 11–29.
- Sutherland W. J., Pullin A. S., Dolman P. M. & Knight T.M. 2004: The Need for Evidence-Based Conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 19(6): 305–308.
- Swanepoel L. H., Botha M. & Ferreira M. 2021: The effect of tourists on elephant behavior in Kruger National Park: A long-term study. *Journal of Wildlife Management* 85(2), 295–302.
- ŠOP SR (Štátna ochrana prírody SR) 2025: Biomonitoring. <https://www.biomonitoring.sk/monitoring/monitoringmethodology/index> [prebraté 19.12.2025]
- Taberlet P., Coissac E., Hajibabaei M. & Rieseberg L.H. 2012: Environmental DNA. *Molecular Ecology* 21: 1789–1793.
- Taberlet P., Waits L.P. & Luikart G. 1999: Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends in Ecology & Evolution* 14: 323–327.

- Taylor G., Canessa S., Clarke R. H., Ingwersen D., Armstrong D. P., Seddon P. J. & Ewen J. G. 2017: Is reintroduction biology an effective applied science? *Trends in Ecology & Evolution* 32: 873–880.
- Taylor H.R., Dussex N. & van Heezik Y. 2022: Bridging the research-implementation gap in genomic-based conservation. *Conservation Biology* 36(2): e13819.
- Teixeira F, Coelho A., Esperandio I. & Kindel A. 2013: Vertebrate road mortality estimates: Effects of sampling methods and carcass removal. *Biological Conservation* 157: 317–323.
- Thomsen P.F., Kielgast J., Iversen L.L., Møller P.R., Rasmussen M. & Willerslev E. 2012: Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Molecular Ecology* 21: 1959–1972.
- Tian H., Stige L.C., Cazelles B. *et al.* 2011: Reconstruction of a 1910y-long locust series reveals consistent associations with climate fluctuations in China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108(35): 14521–14526.
- Tkadlec E. 2008: *Populační ekologie: struktura, růst a dynamika populací*. Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc.
- Tkadlec E. & Zejda J. 1995: Precocious breeding in female common voles and its relevance to rodent fluctuations. *Oikos* 73: 231–236.
- Tomialojć L. 1980: The combined version of the mapping. Pp. 92–106. In: Oelke H. (ed.), *Bird census and nature conservation*. Göttingen.
- Trnka A. & Grim T. (eds.) 2014: *Ornitologická príručka*. Slovenská ornitologická spoločnosť/BirdLife Slovensko, Bratislava.
- Trolliet F., Huynen M.C., Vermeulen C. & Hambuckers A. 2014: Use of camera traps for wildlife studies. A review. *Biology Agriculture Science Environnement* 18(3): 446–454.
- Turček F. J. 1957: O spoľahlivosti indexu „Počet za 100 nocí chytania“ pri kvantitatívnom výskume drobných cicavcov. *Biológia, Bratislava* 12 (5): 362–372.
- Turček F. J. 1967: Some methodological aspects of quantitative studies of Vertebrates. Part II: Small mammals. *Biológia, Bratislava* 22(6): 438–445.
- Turner W., Spector S., Gardiner N., Fladeland M., Sterling E. & Steininger M. 2003: Remote Sensing for Biodiversity Science and Conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 18(6): 306–314.
- Twining J.P., Montgomery W.I., Price L., Kunc H.P. & Tosh D.G. 2022: Native and invasive squirrels show different behavioural responses to scent of a shared native predator. *Royal Society Open Science* 9: 211461.
- UN 1972: *Report of the United Nations Conference on the Human Environment, Stockholm, 5–16 June 1972*. United Nations, New York.
- UNEP 2021: *Making peace with nature. A scientific blueprint to tackle the climate, biodiversity and pollution emergencies*. UNEP, Nairobi, Kenya.
- UNEP 2022a: *Science briefs on targets, goals and monitoring in support of the post–2020 global biodiversity framework negotiations*. Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal.
- UNEP 2022b: *Expert input to the post–2020 global biodiversity framework: Transformative actions on all drivers of biodiversity loss are urgently required to achieve the global goals by 2050*. Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal.
- Urban P. 2015: *Výbrané kapitoly z ekologickeho monitoringu*. Belianum, Banská Bystrica.
- Urban P. 2019: *Manažment chránených druhov živočíchov. Výbrané problémy. 2. aktualizované a doplnené vydanie*. Belianum, Banská Bystrica.

- Urban P. 2023: Potrebujú biosférické rezervácie červené zoznamy ohrozených druhov a biotopov (ekosystémov)? *Chránené územia Slovenska* 101: 43–46.
- Urban P. 2024: Občianska veda a biosférické rezervácie. Pp.: 229–259. In: Vitálišová K., Piscová V. & Fabriciusová V. (eds.), *Biosférické rezervácie na Slovensku Ako ďalej?* Belianum, Banská Bystrica.
- Urban P. (ed.) 2025: *Červená kniha ohrozených a vzácných druhov rastlín, húb a živočíchov Slovenska: Cicavce*. Štátna ochrana prírody SR, Banská Bystrica.
- Vetter J. 2011: Introduction: lay participation in the history of scientific observation. *Sci Context* 24: 127–41.
- Vlašín M. Mikátová B. 2007: *Metodika sledování výskutu plazů v České republice*. Základní organizace ČSOP Veronica, Brno.
- Vohland K., Land-Zandstra A., Ceccaroni L., Lemmens R., Perelló J., Ponti M., Samson R. & Wagenknecht K. (eds.) 2021: *The Science of Citizen Science*. Springer, Singapore.
- Výboštok J., Kompiš J. & Tomčík D. 2025: Využitie metód diaľkového prieskumu Zeme pri monitoringu zvierat a ich habitatov. P.: 28. In: Hrdý T., Adamcová M. & Urban P. (eds.): *Výskum a ochrana cicavcov na Slovensku (zborník abstraktov)*. Fakulta prírodných vied UMB, Banská Bystrica.
- Waits L.P. & Paetkau D. 2005: Noninvasive genetic sampling tools for wildlife biologists: A review of applications and recommendations for accurate data collection. *Journal of Wildlife Management* 69: 1419–1433.
- Wallace G., Elden M., Boucher R. & Phelps S. 2022: An automated radiotelemetry system (ARTS) for monitoring small mammals. *Methods in Ecology and Evolution* 13: 976–986.
- Wandeler P., Hoeck P.E.A. & Keller L.F. 2007: Back to the future: museum specimens in population genetics. *Trends in Ecology & Evolution* 22: 634–642.
- Wang C.-C., Yeh H.-Y., Popov A.N., Zhang H.-Q., Matsumura H., Sirak K., Cheronet O., Kovalev A., Rohland N., Kim A.M. *et al.* 2021: Ancient DNA indicates human population shifts and admixture in northern and southern China. *Science* 369(6501): 282–288.
- Waples R.S. 2022: Making sense of estimates of effective population size N_e for conservation and management. *Conservation Genetics* 23: 507–526.
- Waples R.S. 2024: Effective population size: Concepts and applications. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 55.
- Watson J., Dudley N., Segan D. & Hockings M. 2014: The performance and potential of protected areas. *Nature* 515: 67–73.
- Watters J. & Meehan C. 2007: Different strokes: Can managing behavioral types increase post-release success? *Applied Animal Behaviour Science* 102(3): 364–379.
- Weeks A. R., Sgro C. M., Young A. G., Frankham R., Mitchell N. J., Miller K. A., Byrne M., Coates D. J., Eldridge M. D. B., Sunnucks P., Breed M. F., James E. A. & Hoffmann A. A. 2011: Assessing the benefits and risks of translocations in changing environments: a genetic perspective. *Evolutionary Applications* 4: 709–725.
- Wheater C. P., Bell J. R. & Cook P. A. 2020: *Practical field ecology: a project guide*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Whiteley A. R., Fitzpatrick S. W., Funk W. C. & Tallmon D. A. 2015: Genetic rescue to the rescue. *Trends in Ecology & Evolution* 30: 42–49.
- Whitlock M.C., Ingvarsson P.K. & Hatfield T. 2000: Local drift load and the heterosis of interconnected populations. *Heredity* 84: 452–457.
- Wiederholm T. (ed.) 1986: Chironomidae of the Holarctic region. Keys and Diagnoses. Part II. Pupae. *Entomologica Scandinavica Supplement* 28: 1–482.

- Wiens J. A. 1989: *Spatial scaling in ecology*. *Functional Ecology* 3(4), 385–397.
- Willerslev E., Hansen A.J., Binladen J., Brand T.B., Gilbert M.T.P., Shapiro B., Bunce M., Wiuf C., Gilichinsky D.A. & Cooper A. 2003: Diverse plant and animal genetic records from Holocene and Pleistocene sediments. *Science* 300: 791–795.
- Willi Y., Van Buskirk J. & Hoffmann A. A. 2006: Limits to the adaptive potential of small populations. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 37: 433–458.
- Willi Y., Kristensen T.N., Sgro C.M., Weeks A.R., Ørsted M. & Hoffmann A.A. 2022: Conservation genetics as a management tool: The five best-supported paradigms to assist the management of threatened species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 119(1): e2105076119.
- Williams C.G. 2004: Introduction to Conservation Genetics. *Forest Ecology and Management* 190(2–3): 385–386.
- Williams B. K. & Brown E. D. 2014: Adaptive Management: From More Talk to Real Action. *Environmental Management* 53(2): 465–479.
- Williams S.H., Scriven S.A., Burslem D.F.R.P., Hill J.K., Reynolds G., Agama A.L., Kugan F., Maycock C.R., Khoo E., Hastie A.Y.L., Sugau J.B., Nilus R., Pereira J.T., Tsen S.L.T., Lee L.Y., Juiling S., Hodgson J.A., Cole L.E.S., Asner G.P., Evans L.J. & Brodie J.F. 2020: Incorporating connectivity into conservation planning for the optimal representation of multiple species and ecosystem services. *Conservation Biology* 34(4): 934–942.
- Willoughby J. R., Sundarama M., Wijayawardena B. K., Kimble S. J. A., Ji Y., Fernandez N. B., Antonides J. D., Lamb M. C., Marra N. J. & DeWoody J. A. 2015: The reduction of genetic diversity in threatened vertebrates and new recommendations regarding IUCN conservation rankings. *Biological Conservation* 191: 495–503.
- Wilson R. S. 1996: *A practical key to the genera of pupal exuviae of the British Chironomidae (Diptera: Insecta)*. Self-published, Mudgley Elms, Wedmore, Somerset.
- Wilson R. S. & McGill J. D. 1979: *The use of chironomid pupal exuviae for biological surveillance of water quality*. Department of the Environment, Water Data Unit, Technical Memorandum 18.
- Wilson R. S. & Ruse L. P. 2005: A guide to the identification of genera of chironomid pupal exuviae occurring in Britain and Ireland (including common genera from Northern Europe) and their use in monitoring lotic and lentic fresh waters. *FBA Special Publication No. 13*. Freshwater Biological Association, Ambleside, UK.
- Wilting A., Roellig K. & Tilker A. 2025: Defaunation: Loss of top predators disrupts food webs. *Current Biology* 35(14): R710-R713.
- Wolf M. & Weissing F. 2012: Animal personalities: consequences for ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution* 27(8): 452–461.
- Wright S. 1931: Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16: 97–159.
- Wright S. 1943: Isolation by Distance. *Genetics* 28: 114–138.
- Wu Z., Zhang G., Gu X., Duporge I., Hughey L.F., Stabach J.A., Skidmore A.K. *et al.* 2023: Deep learning enables satellite-based monitoring of large populations of terrestrial mammals across heterogeneous landscape. *Nature Communications* 14: 3072.
- WWF (2023). Living planet report 2022. <https://livingplanet.panda.org/en-GB/>
- Zapletal M., Obdržálková D., Pikula J., Zejda J., Pikula J. Jr., Beklová M. & Heroldová M. 2001: *Hraboš polní, Microtus arvalis (Pallas, 1779) v České republice*. Akademické nakladatelství CERM, Brno.
- Zejda J., Pelikán J. & Holišová V. 1977: Changes in the catch structure of small mammals during successive day of trapping. *Folia zoologica* 26(4): 319–334.

- Zemanová B., Hájková P., Hájek B., Martínková N., Mikulíček P., Zima J. & Bryja J. 2015: Extremely low genetic variation in endangered Tatra chamois and evidence for hybridization with an introduced Alpine population. *Conservation Genetics* 16(3): 729–741.
- Zhang E., Hundley C., Watson Z., Farah F., Bunnell S. & Kristensen T. 2023: Learning by doing: A multi-level analysis of the impact of citizen science education. *Science Education* 107:1324–1351.
- Zukal J. & Gaisler J. 1992: Testing of a new method of sampling small mammal communities. *Folia Zoologica* 41(4): 299–310.
- Yoccoz N. G. *et al.* 2001: *Monitoring of biodiversity in boreal forests*. *Conservation Biology* 15(6): 1550–1560.
- Young R. & Johnson D. 1991: A fully automated light/dark apparatus useful for comparing anxiolytic agents. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 40(4): 739–743.

KONCEPTY A METÓDY MONITORINGU ŽIVOČÍCHOV
V OCHRANE PRÍRODY - VYBRANÉ KAPITOLY

P. Urban et al.

Recenzenti

Mgr. Ján Černecký, PhD.

Ing. Vladimír Klíč, PhD.

prof. RNDr. Marcel Uhrin, PhD.

Autori

prof. Ing. Peter Urban, PhD.; prof. Mgr. Ivan Baláž, PhD.;

doc. RNDr. Michal Baláž, PhD.; Mgr. Silvia Bartóková;

prof. RNDr. Peter Bitušík, CSc.; Mgr. Tomáš Hrdý;

Mgr. Tímea Chamutiová, PhD.; Mgr. Radoslava Jánošíková, PhD.;

RNDr. Michal Kalaš; Ing. Peter Klínga, PhD.; RNDr. Jakub Košša;

Mgr. Michal Králik; Dr. h. c. prof. Ing. Rudolf Kropil, PhD.;

doc. Ing. Peter Lešo, PhD.; Mgr. Veronika Slobodníková, PhD.;

doc. Ing. Juraj Švajda, PhD.

Autori fotografií

Ivan Baláž, Silvia Bartóková, Ervín Hapl, Stanislav Harvančík, Michal Kalaš,
Michal Králik, Juraj Švajda, Peter Urban

Grafická úprava a obálka

RNDr. Jakub Košša

Rozsah: 217 strán

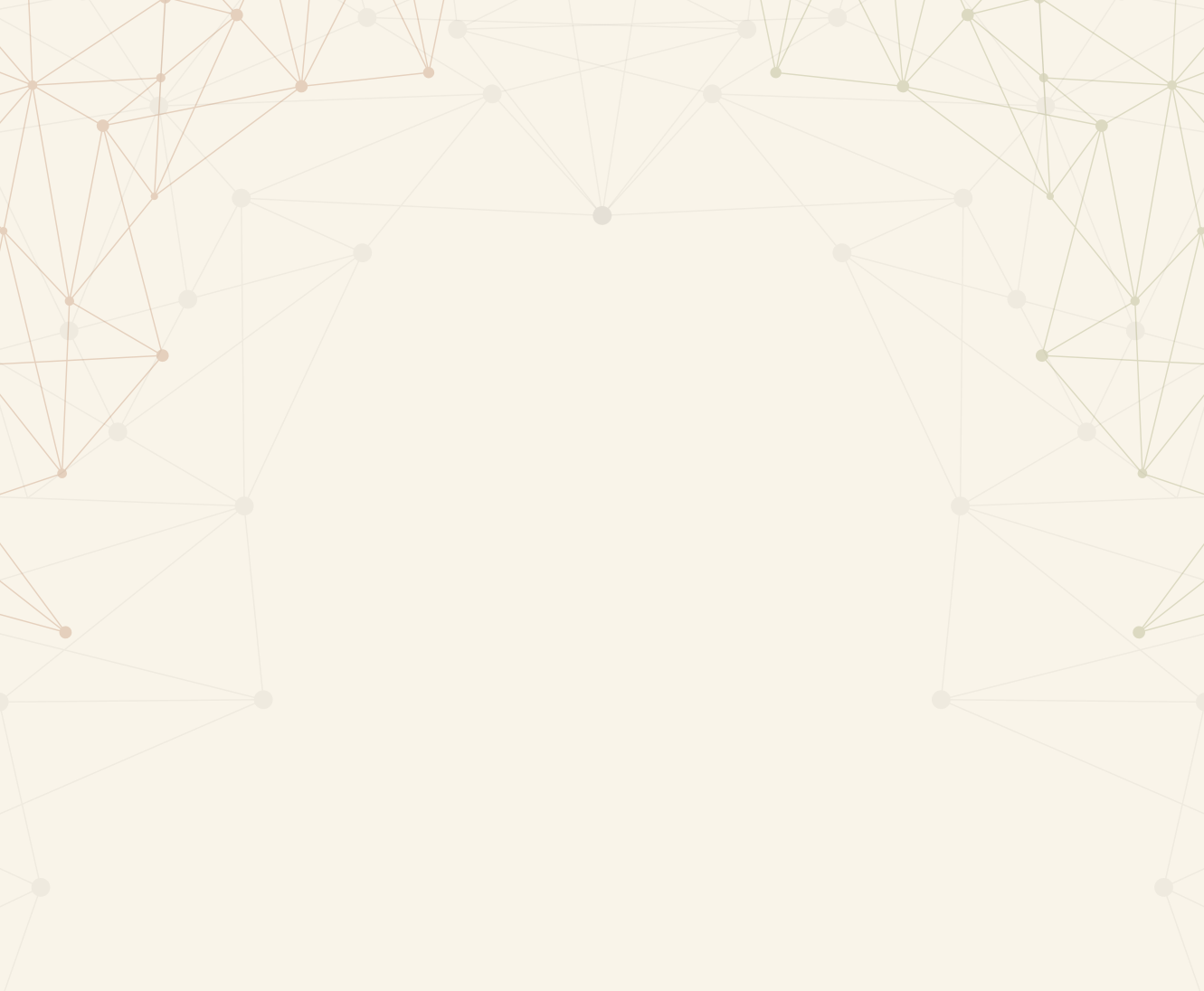
vydanie prvé

Vydavateľ: Belianum. Vydavateľstvo Univerzity Mateja Bela v Banskej Bystrici

Edícia: Fakulta prírodných vied

ISBN 978-80-557-2318-1

<https://doi.org/10.24040/2025.9788055723181>



ISBN 978-80-557-2318-1



9 788055 723181