

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

KATEDRA EKOLOGIE



Česká
zemědělská
univerzita
v Praze

**Genetická struktura populací tetřívka obecného
v Krkonoších a Jizerských horách**

Genetic structure of black grouse populations in the
Krkonoše and the Jizera Mountains

Diplomová práce

Student: Bc. Hana Pelikánová

Vedoucí: Ing. Jana Svobodová, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Petra Hájková, Ph.D., Mgr. Barbora Rolečková, Ph.D.

2023

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Hana Pelikánová

Inženýrská ekologie
Ochrana přírody

Název práce

Genetická struktura populací tetřívka obecného v Krkonoších a Jizerských horách

Název anglicky

Genetic structure of black grouse populations in the Krkonoše and the Jizera Mountains

Cíle práce

Tetřívka obecný patří mezi silně ohrožené druhy České republiky a početnost jeho populací se trvale snižuje v důsledku fragmentace krajiny, úbytku vhodných stanovišť a antropogenní činnosti (Flousek 2017, Šťastný et al. 2006). Během posledních 40 let z krajiny vymizelo celkem 80 % tetřívků (Flousek 2019). Jejich úbytek je také způsoben predací či rušením turisty v zimním období (např. Arlettaz et al. 2013; Baltic 2005). Údaje o genetické diverzitě tetřívků v České republice jsou známe z genetické studie z roku 2011 a již před 10 lety nám tato studie naznačila negativní vývoj populací (Svobodová 2011). Cílem této práce bude vyhodnotit současný stav (tj. genetickou diverzitu a strukturu) tetřívčích populací na území Krkonoš a Jizerských hor. Záměrem je stanovit genotypy všech dostupných vzorků na mikrosatelitových lokusech a na základě mikrosatelitových dat provést analýzu genetické struktury populací.

Metodika

Vzorky budou sbírány neinvazivním způsobem naším týmem a DNA bude izolována z trusu a peří pomocí PSP® Spin Stool DNA Kit. Všechny vzorky budou genotypovány na 14 tetranukleotidových mikrosatelitových lokusech – BG4, BG10, BG14, BG15, BG16, BG18, BG19, PU/P8mod, TTT1, TTT2, TTT3, TUT1, TUT3, TUT4 (Piertney and Höglund 2001; Segelbacher et al. 2000) a analyzovány ve třech nezávislých PCR. Produkty PCR budou rozlišeny kapilárním sekvenátorem a analyzovány pomocí softwaru GeneMarker ver. 2.2. Struktura populací bude hodnocena v programu STRUCTURE ver. 2.3.4 uplatňující Bayesianův algoritmus (Pritchard et al. 2000). Software R ver. 4.1.1 bude použit k provedení párových FST testů a analýzy DAPC. Frekvence alel a další parametry populační genetiky jako je alelická bohatost, pozorovaná a očekávaná heterozygotnost budou také vypočítány pomocí softwaru R.

Doporučený rozsah práce

40 stran

Klíčová slova

mikrosatelity, neinvazivní DNA, ochranná populací genetika, Lyrurus tetrix

Doporučené zdroje informací

- Arlettaz, R., Patthey, P., Braunisch, V. 2013. Impacts of Outdoor Winter Recreation on Alpine Wildlife and Mitigation Approaches: A Case Study of the Black Grouse. The Impacts of Skiing and Related Winter Recreational Activities on Mountain Environments, no. May 2014: 137–54.
- Baltic, Marjana. 2005. Impact of Human Disturbance on Alpine Wildlife in Winter: Stress, Activity and Energetics in the Endangered Black Grouse Tetrao Tetrax. Inauguraldissertation Der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät Der Universität Bern, 78.
- Flousek, J. 2017. Vliv Lyžování Na Horskou Přírodu: Shrnutí Současných Poznatků a Stav v Krkonoších. Opera Corcontica 53: 15–60.
- Flousek, J. 2019. Přežijí Krkonošští Tetřivci Rok 2040? Ochrana přírody: 7-9.
- Piertney, S. B., and Höglund J. 2001. Polymorphic Microsatellite DNA Markers in Black Grouse (Tetrao Tetrax). Molecular Ecology Notes 1 (4): 303–4.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P. 2000. Inference of population structure from multilocus genotype data. Genetics 155: 945-959
- Segelbacher, G., Paxton, R. J., Trontelj, P., G. Steinbrück, G. and Storch, I. 2000. Characterization of Microsatellites in Capercaillie Tetrao Urogallus (AVES). Molecular Ecology 9 (11): 16–17.
- Šťastný, K., Bejček, V., Hudec, K. 2006. Atlas hnízdního rozšíření ptáků v České republice 2001-2003. Aventinum, Praha, 112-113 s.
-

Předběžný termín obhajoby

2022/23 LS – FŽP

Vedoucí práce

Ing. Jana Svobodová, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ekologie

Konzultant

Mgr. Petra Hájková, Ph.D.

Elektronicky schváleno dne 20. 12. 2022

prof. Mgr. Bohumil Mandák, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 20. 12. 2022

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 28. 02. 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma: ‘Genetická struktura populací tetřívka obecného v Krkonoších a Jizerských horách‘ vypracovala samostatně a citovala jsem všechny informační zdroje, které jsem v práci použila a které jsem rovněž uvedla na konci práce v seznamu použitých informačních zdrojů.

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

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

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

V Říčanech dne 31.3.2023

.....

Bc. Hana Pelikánová

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat mé vedoucí práce Ing. Janě Svobodové, Ph.D. za čas, který mi obětovala, a za informace a taje v ochranářské ekologii. Posléze za její odbornou pomoc při vedení mé práce a množství cenných rad při statistickém zpracování dat.

Velké díky patří vedoucímu projektu RNDr. Jířímu Flouskovi, Ph.D. (in memoriam) za zasvěcení do světa tetřívků. Poděkovat bych také chtěla Ing. Václavu Tomáškoví, členům správy Krkonošského národního parku a ostatním, kteří se podíleli na sběru dat v terénu. Poděkovat bych také chtěla Mgr. Petře Hájkové, Ph.D., Mgr. Barboře Rolečkové, Ph.D. a také Mgr. Evě Holánové za jejich ochotu a pomoc při zpracování vzorků v laboratoři. Ráda bych také poděkovala RNDr. Romportlovi, Ph.D. za poskytnutí habitatového modelu.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině za jejich podporu po celou dobu mého studia.

Abstrakt

Tetřívěk obecný (*Lyrurus tetrrix*) patří mezi silně ohrožené druhy České republiky a početnost jeho populací se trvale snižuje v důsledku fragmentace krajiny a úbytku vhodných stanovišť. Zároveň je tento druh velmi citlivý na hluk a jeho rušení v zimních a jarních měsících vede ke snižování jeho početnosti. Pro výběr vhodného způsobu ochrany je důležité porozumění genetické diverzity a struktury jeho populací. Cílem této práce je vyhodnotit současný stav, konkrétně genetickou diverzitu a strukturu tetřívčích populací na území Jizerských hor a Krkonoš, a porovnat s daty před 15 lety. Byly analyzovány neinvazivní genetické vzorky (trus a peří) tetřívků obecných (n=599) celkem na 13 mikrosatelitových lokusech a pohlavním markeru a tímto způsobem bylo získáno 159 unikátních genotypů v pěti předem definovaných populacích. Genetická diverzita byla srovnána s dalšími evropskými populacemi a její hodnoty odpovídají ostatním izolovaným populacím v Evropě. Pozitivní však je, že ani v jedné z populací zatím nebyl zjištěn inbreeding. Genetická struktura byla zjišťována pomocí Baysiánského přístupu a DAPC a odhalila jasné klastrování (min. $K=3$), kde se zřetelně oddělují Jizerské hory od Krkonoš a pak východní krkonošská populace. Západní a centrální krkonošské populace jsou nejpočetnější a s největší pravděpodobností mezi nimi dochází ke genetickému toku. Další okrajová populace, kterou je populace východní, je pravděpodobně již izolovaná. Zdá se, že populační struktura tetřívka obecného v této oblasti je ovlivněna nejen distribucí vhodných biotopů, ale také přítomností lidí (frekvencí cest a lyžařských středisek), která pro ně představují disperzní bariéru. Při porovnání historických a současných dat nebyly zaznamenány žádné signifikantní rozdíly v genetické diverzitě, pouze nepatrný trend ve snižování genetického toku, i když stále pozorujeme významný klesající trend v početnosti tetřívků. To je pravděpodobně způsobeno zpožděním vlivu genetického driftu na diverzitu a strukturu tetřívčích populací.

Klíčová slova: *Lyrurus tetrrix*, mikrosatelity, neinvazivní DNA, ochránářská populační genetika

Abstract

The black grouse (*Lyrurus tetrix*) is a highly endangered species in the Czech Republic. Its population is constantly decreasing due to the fragmentation of the landscape and the loss of suitable habitats. At the same time, this species is susceptible to noise, and tourist disturbance in the winter and spring months leads to a decrease in numbers. Understanding the genetic diversity and structure of the populations is vital for choosing an appropriate protection method. This work aims to evaluate the current state, specifically the genetic diversity and structure of grouse populations in the Jizera Mountains and the Krkonoše Mountains. Non-invasive genetic samples (droppings and feathers) of black grouse (n=599) were analysed at a total of 13 microsatellite loci. In this way, 159 unique genotypes were discovered in five populations. Genetic diversity was compared with other European populations and its values correspond to other isolated populations in Europe. However, the positive thing is that inbreeding has not yet been detected in any of the populations. The genetic structure was determined using a Bayesian approach and DAPC and revealed an apparent clustering (min. K= 3) where the Jizera and the Krkonoše Mountains and the eastern population are separated. The western and central populations are the most extensive, and there is a genetic flow between them most likely. The gene flow between the populations is preserved only in the central populations. The peripheral population, which is the eastern one, is probably already isolated. The population structure of the black grouse in this area is influenced not only by the distribution of suitable habitats but also by the presence of people (frequency of roads and ski areas), which represent a dispersal barrier for them. Comparing historical and current data, I found no significant differences in genetic diversity were noted, only a slight trend in decreasing gene flow. Although we still observe a significant downward trend in the black grouse numbers. Due to a delay in the effect of genetic drift on the diversity and structure of the black grouse populations.

Key words: *Lyrurus tetrix*, microsatellites, non-invasive DNA, conservation population genetics

Obsah

1. ÚVOD	1
1.1. Cíle práce a hypotézy	2
1.2. Tetřívka obecný (<i>Lyrurus tetrix</i>).....	3
1.2.1. Ekologie druhu.....	3
1.2.1. Rozšíření a početnost v České republice	5
1.3. Ohrožení tetřívka obecného	7
1.3.1. Fragmentace a úbytek vhodných stanovišť	7
1.3.2. Predace.....	8
1.3.3. Turismus	8
1.3.4. Neviditelné překážky	10
1.3.5. Změny klimatu	11
1.4. Ochrana a managementová opatření	12
1.5. Repatriační programy.....	14
1.6. Populační genetik tetřívka obecného	16
2. METODIKA.....	18
2.1. Sběr vzorků v terénu	18
2.2. Molekulární analýza dat	21
2.2.1. Extrakce DNA.....	21
2.2.2. PCR a fragmentační analýza	21
2.3. Metodika statistických analýz	24
3. VÝSLEDKY	26
3.1. Výsledky pro recentní dataset (neredukovaný)	26
3.2. Výsledky pro recentní dataset (redukovaný)	33

3.3.	Porovnání historických a současných dat	40
3.4.	Přelety jedinců	47
4.	DISKUZE	50
5.	ZÁVĚR	55
6.	LITERATURA	57
	PŘÍLOHY.....	68

1. Úvod

Úbytek druhové diverzity naší planety a současné vymírání druhů je způsobeno vlivem chování lidstva a liší se tak od hromadných vymírání v minulosti. Mezi faktory způsobující vymírání řadíme například intenzivní hospodaření v krajině, materiální spotřebu, urbanizaci a s ní spojenou fragmentaci krajiny. Právě rychle rostoucí lidská populace, která se za posledních 150 let zmnohonásobila, je považována za hlavní příčinu masivních ztrát druhové diverzity. Ve spojitosti s tím biologové předpověděli úbytek desítek tisíc druhů v nejbližších desetiletí (Brown & Laband, 2006, Primack et al., 2011). Malé populace často mohou trpět nízkou genetickou diverzitou, která může být způsobena inbreedingem nebo genetickým driftem (Frankham, 2003), to způsobuje nižší schopnost reagovat na změny prostředí a následně vede ke zvýšenému riziku vyhynutí (Keller & Waller, 2002; Tallmon et al., 2004). Právě porozumění genetické diverzitě populací volně žijících druhů a také důsledkům fragmentace stanovišť je klíčové pro jejich ochranu (Creel et al., 2003; Hájková et al., 2006; Sittenthaler et al., 2018). Například u orlosupa bradatého, jenž byl na začátku 20. století vyhuben, je pochopení populační struktury zásadní pro posouzení stavu jejich ochrany, pro řízení chovů a jejich následný návrat do přírody. Ve studii Loerchera et al. (2013) zjistili, že vypuštění jedinci vykazovali poměrně vysoký koeficient inbreedingu, jelikož efektivní velikost byla odhadnuta pouze na 28 jedinců. Proto se doporučuje další vypouštění jedinců pro posílení genetické diverzity populace.

Porozumění těmto faktorům je důležité především u druhů citlivých k environmentálním a krajinářským změnám jako je tetřívka obecná (*Lyrurus tetrix*) (Flousek, 2016; Sittenthaler et al., 2018; Šťastný et al., 2021). V západní a střední Evropě v současnosti přežívá jen v horských oblastech (Keller et al. 2020). Například ve Francii a sousedním Německu, podobně jako v České republice, zcela vymizel z nížin a středních poloh. Lze ho zde proto považovat za vlajkový druh pro horské nelesní či přechodové ekosystémy. Jejich pokles je kromě úbytku a fragmentace jejich biotopů také způsoben predací či rušením turisty v zimním období (např. Arlettaz et al., 2013; Baltic, 2005).

Na území České republiky se jeho početnost trvale snižuje, během posledních 40 let z krajiny vymizelo celkem 80 % tetřívků (Flousek, 2019), kdy odhadovaný úbytek činí

nejméně 20 % v průběhu pět let (Chobot, 2017). Na území Česka se vyskytuje ve třech horských oblastech, na Šumavě a v Boleticích, v Krušných a Doupovských horách a v Krkonoších a Jizerských horách. Údaje o genetické diverzitě tetřívků v České republice jsou známy z genetické studie provedené před 15 lety (Svobodová et al., 2011). Studie naznačila negativní vývoj, který poukazoval na izolovanost jednotlivých populací těchto lesních kurů. Cílem mé diplomové práce bylo vyhodnotit genetickou diverzitu a strukturu populací v regionu Krkonoš a Jizerských hor.

1.1. Cíle práce a hypotézy

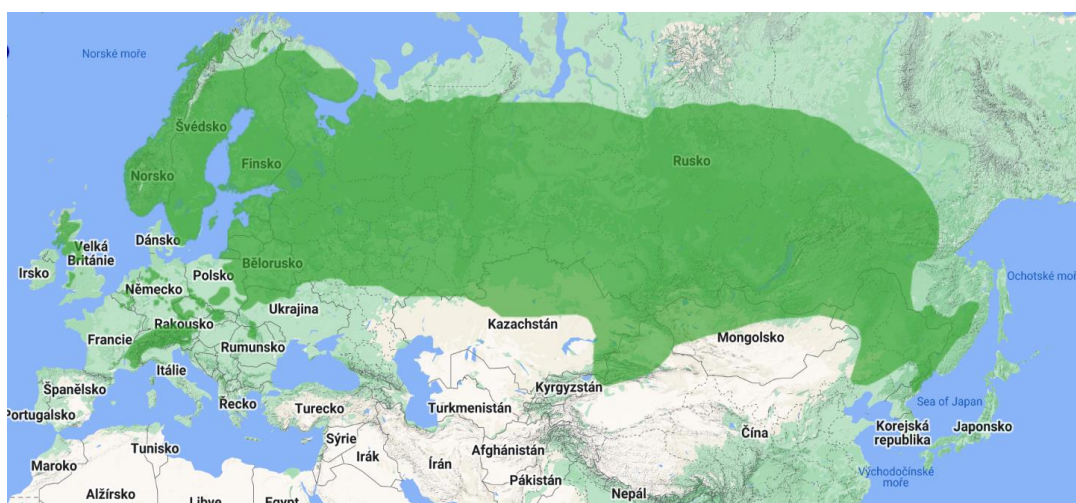
V rámci literární rešerše popíšu rozšíření, ekologii a ohrožení a populační genetiku tetřívka obecného.

Vyhodnotím genetickou diverzitu a strukturu Krkonoško-jizerskohorské populace. Předpokládám nižší genetickou diverzitu a genetický tok u okrajových populací.

V poslední řadě budu porovnávat výsledky s historickými daty, které byly vzorkovány před 15 lety (Svobodová et. al. 2011). Vzhledem k snižování početnosti tetřívků u současné (recentní) populace předpokládám nižší genetickou diverzitu a vyšší strukturovanost (tj. nižší genetický tok mezi populacemi).

1.2. Tetřívka obecný (*Lyrurus tetrix*)

Tetřívka obecný obývá souvisle takřka celý palearktický pás boreálních lesů od Velké Británie až po Ochotské moře (Obr. 1). Směrem na jih proniká do území, kde se vyskytují rašeliniště, vřesoviště či horské louky jako například Karpaty nebo Alpy, zde je tetřívka považována za tzv. glaciální relikv (Corrales et al., 2014). Evropská populace tetřívka obecného je soustředěná především do severní poloviny kontinentu, ve Švédsku a Finsku se vyskytuje 90 % evropské populace další hojný výskyt můžeme pozorovat v alpských regionech, kde se početnost pohybuje od 100 do 1000 párů v jednotlivých oblastech. Zbylé regiony Evropy, jako jsou i česká pohraniční pohoří, tvoří pouze zlomek populace a početnost je zde již jen v desítkách párů (Keller et al. 2020).



Obrázek 1: Světové rozšíření tetřívka obecného, <http://datazone.birdlife.org/species/factsheet/black-grouse-lyrurus-tetrix>

1.2.1. Ekologie druhu

Tetřívka obecný je kurovitý pták patřící do čeledi bažantovití (Phasianidae), do podčeledi tetřevovitých (Tetraonidae) a do řádu hrabavých (Galliformes). Přirozená délka života je u tetřívku nejnižší z čeledi Tetraonidae, a to pět let (Cramp & Simmons 1980).

Primárním biotopem tetřívka je tundra a v nižších zeměpisných šířkách obývá krajinu podobného charakteru. Tito ptáci nejraději sídlí na místech, kde se střídají jehličnaté a smíšené lesy s pasekami, rašeliništi, vřesovišti, loukami a pastvinami (Sittenthaler et al., 2018; Starling-Westerberg 2001). Mezi hlavní složky potravy patří brusnicovité

keře (Vaccinaceae) s vřesem obecným (*Calluna vulgaris*) a v zimě to jsou především listy, jehlice, jehnědy a pupeny různých dřevin (Starling-Westerberg 2001).

Co dělá tento druh zajímavým je jeho způsob rozmnožování a jejich tokání (lekking), kdy se samci v brzkých ranních hodinách shromažďují na tokaništích a bojují mezi sebou ve snaze získat samice (Šťastný et al., 2006). Samice se páří pouze jednou při své poslední návštěvě tokaniště a veškerou energii vynaloží na péči o snůšku, přičemž kohouti se snaží získat další samice. Jedná se tedy o polygynní druh. Primární výhoda z výběru nejlepšího partnera je považována spíše za nepřímou v podobě kvalitních genů pro potomky (Anderson 1994). Je třeba poznamenat, že v přírodě můžeme pozorovat i nelekující populace s kopulací solitérních samců. Vznik těchto nelekujících populací je pravděpodobně podmíněn nízkou populační denzitou (Höglund & Stöhr 1997). Přesun z lekující na nelekující populaci by měl být pro ochránce přírody alarmující signál, jenž poukazuje na snižování efektivní velikosti populace a na její klesající trend (Svobodová et al., 2011)



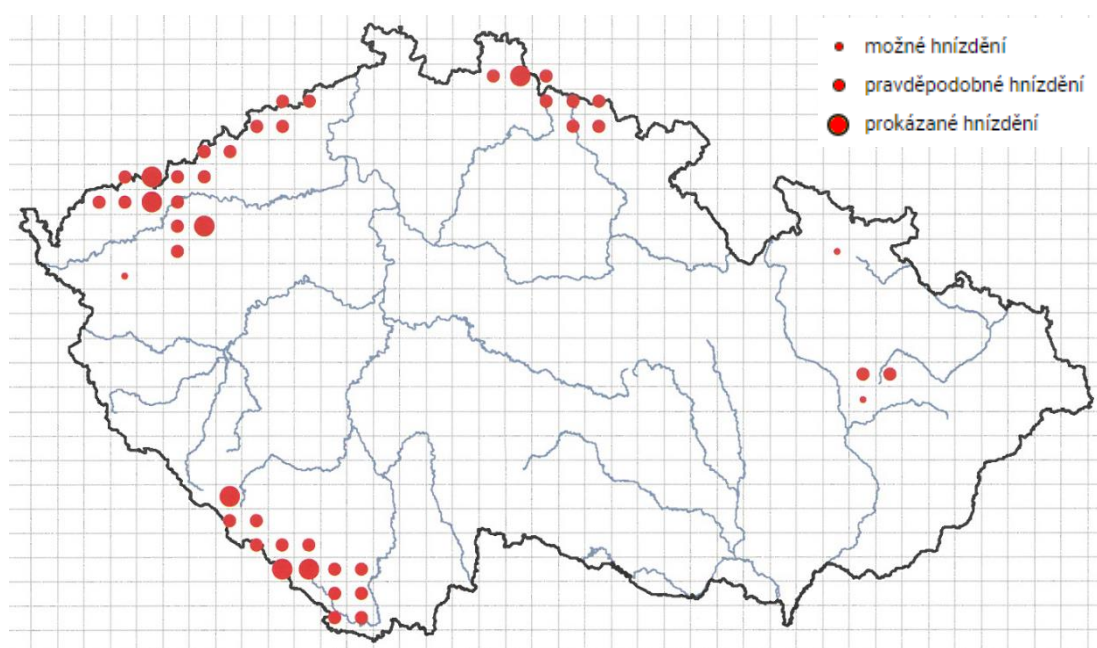
Obrázek 2: Tetřívka obecná – samec a samice a jejich sexuální dimorfismus, Foto: Ondřej Prosický, z webu: www.krnap.cz/ohrozeny-tetrivek-obecný

Jedná se o stálý druh, který nedokáže přeletět desítky či stovky kilometrů, délka jejich domovního okrsku se pohybuje od 1 do 20 km² v závislosti na pohlaví a ročním obdobím (Caizergues et al., 2003). Rozptyl tetřívků je určen především pohlavím s natální disperzí samic (5-29 km) a filopatrií samců (méně než 2 km) (Caizergues & Ellison, 2002). Velikost jejich okrsků se liší i mezi populacemi a závisí na mnoha

faktorech, v našich podmínkách měří okrsek průměrně od 50 do 480 ha (Málková et al., 2000; Šťastný et al., 2006).

1.2.1. Rozšíření a početnost v České republice

Ve střední Evropě tento druh prodělal v posledních dekadách masivní pokles v početnosti a zbývá pouze pár malých izolovaných populací (Keller et al. 2020, Segelbacher et al., 2014). Na našem území je výskyt populací omezen již jen na pohraniční pohoří (Šťastný et al., 2021), což můžeme vidět na obrázku č. 3. V imisemi postižených oblastech vyhledávají rozsáhlé holiny a ve vojenských prostorech jim vyhovují dopadové plochy a území narušované těžkou technikou (Šťastný et al., 2006).



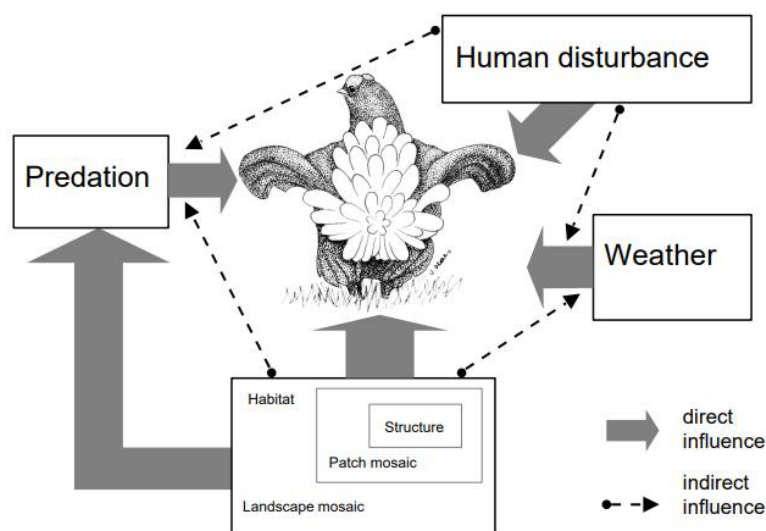
Obrázek 3: Rozšíření tetřívka obecného v České republice, Atlas hnízdního rozšíření ptáků v České republice 2014–2017, Šťastný et al. 2021

Tetřívek obecný byl v minulosti velmi cennou lovnou zvěří a jsou o jeho početnosti vedeny podrobné záznamy. V České republice jeho populace klesají od začátku 20. století, v 50. letech se ještě vyskytoval na většině našeho území, ale v 80. letech již jen na 15 % území a v letech 2014–2017 pouze na 7 %. Jediný nárůst populace v minulosti byl zaznamenán v 70. letech, kdy došlo k rozpadu lesů v pohraničních pohořích díky imisní kalamitě (Šťastný et al., 2021). Ptáci zmizeli z nížin a nyní přežívají jen v pohraničních pohořích a ve všech těchto oblastech zaznamenáváme klesající trend. Dramatický pokles zažívá především Šumava, kde za 40 let vymizelo 95 % populace na současných zhruba 50 samců (Flousek, 2019). V Krušných horách, kde hnízdí

téměř polovina všech našich tetřívků, byl taktéž zaznamenán pokles, a to z 266 na 147 kohoutků (rok 2019) (Šťastný et al., 2021). V Jizerských horách na počátku tisíciletí byl zaznamenán výskyt okolo 100 kohoutků, v roce 2019 tomu už bylo jen 30 kohoutků (Lesy ČR ©2022). Stav je kritický také pro Krkonošský národní park, kde v roce 2020 při sčítání zaznamenali 89 jedinců (62 kohoutků) (Flousek, 2020). V následující kapitole se proto zaměřím na příčiny ohrožení a důvody úbytku tohoto druhu.

1.3. Ohrožení tetřívka obecného

Úbytek a ohrožení spočívá v kombinaci několika faktorů jako je fragmentace a degradace stanovišť, klimatická změna, predace či turismus a tyto přímé i nepřímé faktory znázorňuje obrázek č. 4 (Storch, 2000). Jednotlivými faktory se budu zabývat v následujících kapitolách.



Obrázek 4: Přímé i nepřímé faktory způsobující ohrožení tetřívka obecného, Storch 2000.

1.3.1. Fragmentace a úbytek vhodných stanovišť

Jedna z příčin úbytku tohoto druhu je přisuzována ztrátě přirozeného habitatu (tj. vřesovišť a rašelinišť), stejně tak i odvodňování a intenzifikaci zemědělství (Keller et al. 2020). V důsledku působení lidských aktivit jako je zemědělství a lesnictví je výskyt tetřívků omezen právě na hory, kde je hospodaření méně intenzivní. Avšak fragmentace krajiny lidskými aktivitami se od poloviny 20. století zvyšuje i ve vyšších polohách, a tak mizí přirozená stanoviště tetřívků ve vrcholových partiích hor (Arlettaz et al., 2013). Fragmentace krajiny a nevhodné hospodaření způsobuje snižování početnosti populací a zvyšuje tak její izolovanost, což nám potvrzují i genetické studie (např. Caizergues et al., 2003; Höglund et al., 2006; Rutkowski et al., 2018; Svobodová et al., 2011).

V Krkonoších a Jizerských horách momentálně dochází k sukcesním změnám v lesních porostech, kdy zarůstají rozsáhlé imisní holiny, které vznikly velkoplošným rozpadem lesů (Flousek & Volf, 2012).

1.3.2. Predace

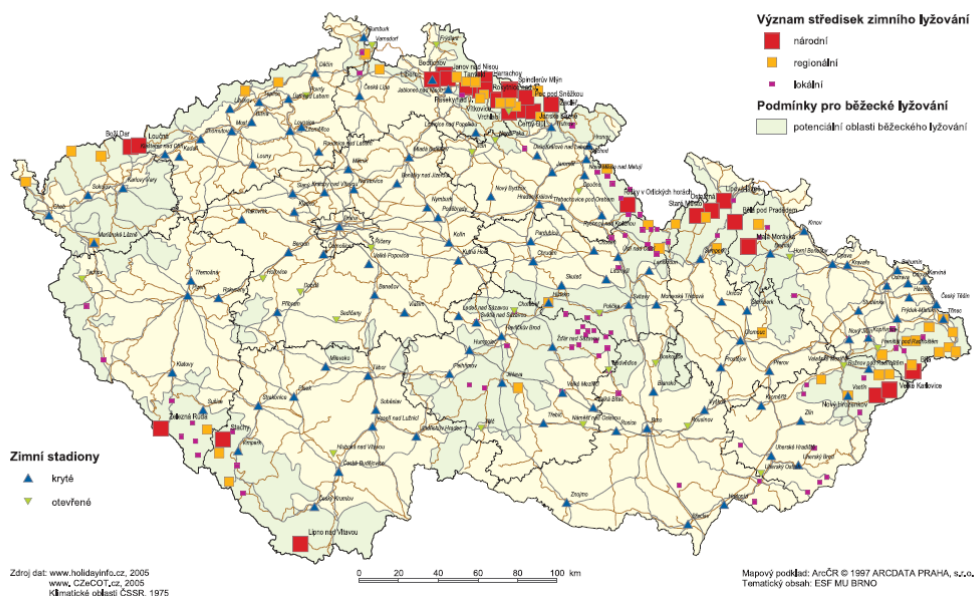
Významným faktorem je predace, která nepříznivě působí na úspěšnost hnízdění a přežívání mladých i dospělých ptáků (Warren & Baines, 2002). Mezi živočichy, kteří negativně ovlivňují zejména úspěšnost hnízdění, patří krkavcovití ptáci, lasicovité šelmy, liška obecná a prase divoké (Bergmann & Klaus 1994).

Míra predace, hnízdní úspěšnost a přežívání tetřívků je určeno několika přírodními faktory, mezi které patří dostupnost alternativní kořisti pro predátory, věk i pohlaví tetřívků a vhodné počasí v době hnízdění (Kurki et al., 1997; Summers et al., 2004). Intenzita predace závisí na aktuálních oscilacích populací drobných hlodavců. Ve švédské studii bylo prokázáno, že v sezónách, kdy bylo méně malých savců, se snižuje reprodukční úspěch tetřívků (Angelstam, 1979). Predace umělých hnízd (simulující hnízda tetřívka) byla v Krušných horách nejčastěji způsobována liškou a kunou (Šálek et al., 2004). Avšak v okolí horských chat byla predace způsobována spíše krkavcovitými ptáky, kteří sem jsou přitahováni díky potravinovým zdrojům ve formě odpadků (Storch & Leidenberger, 2003). Studie Cukora et al. (2021) odhalila, že vysoký predací tlak na hnízda tetřívka obecného koresponduje s rostoucími populačními trendy divokých prasat a mezopredátorů ve střední Evropě. Predaci je však nutné považovat do značné míry za přirozený jev a životaschopná populace si s ní musí být schopna poradit.

1.3.3. Turismus

Tetřívek obecný je klíčový druh lesních horských ekosystémů, jenž se vyskytuje v nadmořské výšce 1400–2300 m. n. m., kde se nachází většina lanovek a sjezdovek u nás i ve střední Evropě (Obr. 5). V Evropě je situováno 55 % skiareálů celého světa a Česká republika se pohybuje na 9. místě v celkové návštěvnosti skiareálů (Vanat, 2014) a na 8. místě v počtu skiareálů (Statistica ©2023). Přičemž většina českých sportovních areálů je situována právě v Krkonoších (Vystoupil et al., 2006). Největším zásahem do přírody je však realizace samotného skiareálu a výstavba sjezdových tratí spojená s likvidací lesa a terénními úpravami. Dochází tím k narušení vodního režimu a fragmentaci krajiny (Wipf et al., 2005).

ZIMNÍ SPORTY A REKREACE



Obrázek 5: Atlas cestovního ruchu České republiky – v Krkonoších je situována většina zimních středisek ČR. Atlas cestovního ruchu České republiky – Vystoupil et al., 2006.

Rekreační a sportovní aktivity se v poslední letech považují za významný faktor ovlivňující populace lesních kurů, včetně tetřívků (Zeitler, 2000). Negativní vliv na populace tetřívků má především zimní turistika, ať už se jedná o sjezdové lyžování nebo skialpinismus, běžecké lyžování či chůze na sněžnicích ve volném terénu. Tetřívci zimu tráví v norách vyhrabaných do sněhu a opouští ji jen po ránu a k večeru kvůli potravě (Marjakangas et al. 1984; Marjakangas 1992). I mírná úroveň rušení turistů v zimních měsících ve volném terénu způsobuje chronický stres s následnými dopady na jejich zdravotní stav jako je zvýšená mortalita, zvýšená predace nebo neúspěšné rozmnožování. Ptáci po vyrušení tráví také delší čas obstaráním potravy, což zvyšuje riziko predace (Arlettaz, et al. 2013). Baltic (2005) doplňuje, že rušení prodlužuje dobu sběru potravy o 23 % ráno a o 12 % za celý den.

Řada studií se věnuje vlivu skiareálů a testují hladinu stresového hormonu u tetřívků obecných. Arlettaz et al. (2007) zjistili trvalý nárůst stresového hormonu kortikosteronu během čtyř dní opakovaného rušení tetřívků. Už jen jediné vyplašení za den zvýšilo jeho hladinu na 120–150 % normální koncentrace. Braunisch et al. (2011) na území Švýcarských Alp zjistili, že se však tetřívci vyhýbají lyžařským areálům a lokalitám ve volné přírodě s častým pohybem turistů. Dále Patthey et al.

(2008) ukázali výrazný negativní vliv zimních sportovních aktivit na tokající tetřívky, jejich lokální početnosti je v lyžařsky vyhledávaných oblastech až o 36 % menší.

Problematické je ale i rušení tetřívků na jaře v době toku. Od konce března do poloviny května se samci po rozednění shromažďují na tokaništích, t. Když jsou ale opakovaně rušeni, nemusí dojít ke spáření a slepička pak snese neoplozená vajíčka. Většina samic se totiž rozmnožuje pouze jednou za celé hnízdní období (Lebigre et al., 2007).

Turistické aktivity lze považovat za nejvýznamnější negativní faktor pro naši klíčovou populaci tetřívků v Krkonoších (Flousek & Volf, 2012). Největší intenzita návštěvnosti je zde zaznamenávána každoročně ve vrcholné zimní (leden–únor) a letní (červenec–srpen) sezóně (Erlebach & Romportl, 2021). Kravka (2019) upřesňuje, že v zimním období se v Krkonoších pohybuje na 2 miliony návštěvníků. Tak velké množství zimních turistů vyžaduje kvalitní infrastrukturu a zvyšuje se tak tlak investorů na budování nových či rozšiřování stávajících lyžařských areálů, zvyšování ubytovací kapacity rekreačních objektů a strojovou úpravu běžkařských tratí (Flousek, 2016). Freeridové aktivity zas probíhají mnohdy nelegálně, a to na území ptačí oblasti a národního parku, tedy v oblastech s deklarovaným nejvyšším stupněm ochrany přírody (Flousek & Volf, 2012).

1.3.4. Neviditelné překážky

Nemusí se vždy jednat jen o nepřímé vlivy, jako je zvýšená hladina stresového hormonu, ale sjezdové areály mohou mít v ojedinělých případech i důsledky přímé, kdy se setkáváme se střety ptáků se špatně viditelnými objekty. Lana lanovek a vleků, elektrické dráty nebo pletivové oplocenky chránící lesní výsadby představují nebezpečí a takto způsobená zranění jsou často fatální. V letech 2000–2004 byly zjišťovány kolize ptáků s lany v 225 francouzských skiareálech. V 61 % skiareálů bylo nalezeno celkem 835 mrtvých exemplářů v šesti druzích, s největším podílem tetřívka obecného (70 % v Alpách) a tetřeva hlušce (*Tetrao urogallus*) (45 % v Pyrenejích) (Rixen & Rolando, 2013). Ve studii Miqueta (1990) bylo pozorováno 58 úmrtí způsobených srážkou s lanem, z toho 88 % bylo v zimě. Zhoršená viditelnost v lese či v důsledku mlhy zvyšuje frekvenci srážek. Dále Anderson (1978) zjistil, že 59 % ptáků kolizí nezemře, ale je zmrzačeno. Opatření proti těmto kolizím jsou poměrně snadno řešitelná, lana by neměla křížovat sjezdovky, zimoviště nebo letové dráhy. Lana by také neměla být pod proudem a měla by být opatřena plašícím zařízením (Miquet,

1990). Střety ptáků v České republice nebyly nikdy podrobně sledovány, byly zaznamenány jen jednotlivá pozorování ať už uhynulého jedince nebo krycích per v záchytných sítích.

1.3.5. Změny klimatu

Globálním faktorem s vlivem na středoevropské populace tetřívka jsou i změny klimatu, které se projevují neobvyklými výkyvy. Úspěšnost hnízdění je hlavní faktor pro stabilizaci a rozvoj populace tetřívka, a právě zvýšená mortalita mláďat je způsobována nevhodným počasím v době po líhnutí (Lindström et al. 1997). Vzhledem k tomu, že výskyt tetřívků je v ČR omezen jen na horské oblasti, pozorujeme úbytek vhodných biotopů v důsledku posunu horní hranice lesa, která je způsobována právě klimatickou změnou (Tremel et al., 2020). U Krkonoš se předpokládá, že při oteplení o 3 °C se hranice lesa posune nad nadmořskou výšku 1600 m n. m. (Barredo et al., 2020). S rostoucí teplotou také ubývá přírodního sněhu a předpokládá se, že tetřívci budou mít problémy s budováním svých zimních záhrabů a budou tedy zranitelnější před predátory (Marjankagas, 1992).

Důvodů ohrožení tetřívků je mnoho, proto se v další kapitole zaměřím na jejich ochranná a managementová opatření, která mohou napomoci k zachování současných populací.

1.4. Ochrana a managementová opatření

Tetřívka obecná je dle IUCN hodnocen jako málo dotčený (LC) s klesajícím populačním trendem. V České republice je ale řazen mezi zvláště chráněné druhy vyhláškou č. 395/1992 Sb., a to mezi silně ohrožené (SO), a zároveň je předmětem ochrany podle práva Evropských společenství Směrnicí č. 79/409/EEC o ochraně volně žijících ptáků, tzv. směrnicí o ptácích a je tudíž předmětem ochrany v řadě Ptačích oblastech jako jsou Jizerské hory, Krkonoše, Novodomské rašeliniště-Kovářská, Šumava a Východní Krušné hory. Tento druh je v České republice cílem řady ochranných aktivit a je adeptem na záchranný program.

Tetřívka je řazen do skupiny 11 nejcitlivějších druhů ptáků na hluk (Garniel et al. 2007) a právě jeho citlivost na okolní hluk a rušení je hlavní důvod, proč jsou pro něj vyhlášeny ptačí oblasti a klidové zóny. Klidová území představují jádrová území výskytu tetřívky obecné jako jsou jeho tokaniště, hnízdiště a zimoviště. Stanovením klidové zóny přispějeme k nerušivému vývoji a možnosti se rozmnožovat. S ohledem na citlivost k rušení rekreačními a turistickými aktivitami je například v Anglii uplatňované pravidlo předběžné opatrnosti a v období od 1. října do 31. března platí zákaz vstupu na jejich zimoviště (Warren et al., 2009). V Krkonoších se zase od roku 2021 začalo uzavírat celkem 11 cest z důvodu ochrany během toku, a to v období od 15. března do 31. května (KRNAP ©2022). Na polské straně Krkonoš aplikují obdobný management, kdy uzavírají celkem čtyři cesty od 1. dubna do 31. května (KPN ©2022). Vyloučení jakéhokoliv rušení na tokaništích (jako je i odklon turistických a lyžařských tras z hlavních míst výskytu tetřívky) a také informovanost místní veřejnosti o nezbytnosti ochrany tohoto ohroženého druhu je nutností k jejich ochraně.

Zásadním předpokladem ochrany je pečlivé posuzování lidských rozvojových aktivit, které ovlivňují lokality výskytu tetřívky, tj. proces EIA. Součástí hodnocení je posouzení všech vlivů a zmírnit tak tlak investorů na výstavbu či rozšiřování skiareálů, jenž způsobují fragmentaci hor (Flousek & Volf, 2012). Samozřejmostí stavby nových sjezdovek by mělo být viditelné značení lan lanovek a vleků proti střetům s letícími ptáky, stejně tak by měly být budovány zábrany proti vyjíždění ze sjezdovek do volné přírody s výskytem tetřívky (Grünschachner-Berger & Kainer, 2011).

Dalším opatřením, jak zlepšit přežívání tetřívků, je podpora přirozené obnovy biotopů. Účinné projekty jsou revitalizace odvodněných rašelinišť jakožto primárních stanovišť tetřívků, a to opětovným zavodněním pomocí přehrádek. Dále je to podpora dostatečného zastoupení potravně významných dřevin jako je bříza, jeřáb, olše a bylinného patra se zastoupením brusnicovitých. Na některých lokalitách lze provádět management pro podporu lučních porostů a velmi významné jsou i lesnické zásahy, kdy se jedná o přímé vytváření nových tokanišť nebo propojení těch stávajících. Že vhodný management může vést k nárůstu populací tetřívků potvrzuje i studie Granta et al. (2009). Tato studie srovnávala vliv šesti druhů managementů, mezi které patřilo například vyřezávání částí porostu, přehrázkování nebo doplnění dřevin přirozené skladby a ve všech případech autoři zaznamenali nárůst populace během pěti let. V Jizerských horách a v Krkonoších bylo na podporu stávající populace vytvořeno celkem 24 tetřívčích center (Flousek, 2019). Na tetřívčích lokalitách by se také neměl opomenout monitoring stavu predátorů (kuna, liška, prase) a jejich případná regulace. Základní podmínkou ochrany populace tetřívků je zachovat komunikaci mezi jednotlivými subpopulacemi, jelikož tetřívci jsou konzervativní ptáci a zdržují se na stejných místech po celý svůj život (Flousek, 2019). Pokud nestačí lesnické či jiné zásahy, přichází na řadu repatriační programy, jimž se bude věnovat další kapitola (1.6.).

1.5. Repatriační programy

V této kapitole budu pracovat s pojmy jako je repatriace a translokace. Repatriace je záměrný přesun a vypuštění organismu do oblasti jeho přirozeného výskytu, ze které předtím vymizel a jejím cílem je zajistit životaschopnou populaci. Zatímco translokace je člověkem zprostředkovaný přesun živých organismů z jedné lokality za účelem jejich vypuštění na lokalitě jiné (IUCN ©2022).

Repatriace je mnohdy jediným způsobem, jak zajistit životaschopnost stávajících populací, ale provází ji celá řada problémů. V meta-analytické studii Seilera et al. (2000) se zabývali úspěšností 29 různých záchranných programů tetřívka obecného, tetřeva hlušce a jeřábka lesního (*Tetrastes bonasia*), kde bylo dohromady vypuštěno 5500 jedinců. Studie udává, že v žádném z 29 programů letech v 1980–2000 nebylo dosaženo životaschopné populace. Testovali různé statistické modely, jež uvádí, že k dosažení 50% pravděpodobnosti přežití a rozmnožování vypuštěných ptáků je třeba ročně vypustit alespoň 30 ptáků po dobu delší než 6 let. Nicméně jejich výsledek bohužel nefunguje ani u dlouhodobějších projektů.

Nepovedených repatriací tetřívka obecného je tak celá řada, příkladem tomu může být repatriace ze Skotska z podzimu v roce 2009. Na ostrově Arran bylo vypuštěno 42 jedinců z chovu, po několika týdnech bylo odchyceno 8 jedinců a byl zjištěn pokles jejich hmotnosti o 25–33 % z hmotnosti před vypuštěním. To mohlo být způsobeno buďto stresem nebo špatným odchovem. Repatriace nebyla úspěšná, na jaře roku 2010 bylo nalezeno již jen 7 jedinců (Walker, 2010). O posílení populace se pokusili taktéž v národním parku De Hoge Veluwe v Nizozemí v roce 2007, kdy vypustili 30 jedinců. Do následujícího jara bylo nalezeno 38 % mrtvých jedinců, kteří byli s největší pravděpodobností zabiti jestřáby. Dále v roce 2010 vypustili 180 jedinců, u kterých však zaznamenali vysokou úmrtnost a to 95–100 % (Boon, 2016). Míra přežívání vypuštěných tetřívků bývá velmi nízká a nejsou zaznamenávány ani žádné známky reprodukce mezi vypuštěnými ptáky (Boon, 2016; Walker, 2010).

Studie Warrena et al. (2017) se zabývala translokacemi na území Anglie, kde bylo mezi lety 2006–2015 odchyceno a přemístěno celkem 62 kohoutků. Byly vybrány tři lokality, jež byly v disperzní vzdálenosti samic a zároveň zde kontrolovali populace predátorů. Průměrné roční přežití bylo 0,77; což je obdobné jako u zbylých populací tetřívků v severní Anglii. Tento výsledek nám naznačuje, že za vhodných okolností

může být translokace účinným ochranářským nástrojem. V obdobné studii se Warren & Baines (2018) zabývali tím, zdali mohou být úspěšně translokovány i samice. Během roku 2013–2014 bylo přemístěno a vypuštěno 24 samic. Do nadcházejícího jara přežilo a zahnízdilo 20 samic. Roční přežívání po dvou letech po vypuštění bylo v průměru 0,81; což je srovnatelné s přežíváním ptáků v jádrové oblasti severní Anglie. Samice měla v průměru 0,3 kuřat, to je méně než u zbylých populací v severní Anglii a jejich průměrné přežití bylo 28 %. Tato studie prokázala, že přemístěné samice se usadily, dobře přežívaly a rozmnožovaly se. Ovšem produktivita snůšek byla nízká. Což mohlo být způsobeno nevhodným výběrem biotopu a nabízí se nám otázka, zdali takovou translokaci vůbec dělat. Nicméně autoři této a dřívější studie o translokaci samců (Warren et al., 2017) tvrdí, že při pokusu o rozšíření areálu tetřívka obecného do dříve obsazených oblastí, je třeba použití translokace, jelikož dospělí samci nejsou ochotni se dispergovat. Samice je možno přesunout jen tehdy, pokud se ještě neusadily se samci (Warren & Baines, 2018).

V České republice v minulosti probíhala reintrodukce tetřeva hlušce v Krkonoších, která skončila neúspěšně (Flousek & Hoffman, 1986). Momentálně však na našem území probíhá repatriační program tetřívka obecného v oblasti Kralického Sněžníku, kde se od roku 2017 snaží navrátit tetřívky do jesenické přírody. Momentální velikost populace se odhaduje na deset jedinců, postupně zde dochází k doplňování populace a celkem má být vypuštěno 40 jedinců (Ekolist, 2021).

Posilování místních populací umělým odchovem nebo dovozem ptáků z jiných oblastí je neúčinné a s vysokou pravděpodobností odsouzené k neúspěchu. Příčinami těchto nezdařených pokusů je většinou predace, jedinci nejsou naučeni přirozenému chování a neví, jak se s tlakem predátorů vyrovnat. S tím ovšem souvisí i způsob odchovu, metoda a termín vypouštění nebo také délka záchranného programu (Griffith et al., 1989). V úspěšnosti těchto programů hraje svojí roli i genetická diverzita a příbuznost translokovávané populace.

1.6. Populační genetika tetřívka obecného

Malé a izolované populace provází řada problémů, například to, že rozmnožování jedinců řídí především náhoda. Mají tak tendenci k dalšímu poklesu velikosti, a to nejenom díky demografickým změnám, ale také kvůli efektu genetického driftu a inbreedingu (Frankham, 2003). Proto mezi důležité aspekty v ochraně ohrožených populací patří zachování nízké hladiny inbreedingu a vysoké úrovně genetické rozmanitosti. U tetřívků obecných může být jejich genetická diverzita významně ovlivněna i jejich párovacím systémem (Svobodová et al., 2011). U lekujících druhů se z celé populace rozmnožuje pouze několik málo samců s nejvyšší zdatností, a proto je efektivní velikost menší než celková (nominální) v porovnání s nelekující populací (Höglund, 2009; Johnson et al., 2004). Riziko extinkce je tedy výrazně větší u lekující populace v porovnání s populací nelekující, v níž jsou jedinci distribuováni rovnoměrně (Höglund, 1996).

Evropa tvoří západní část výskytu tetřívka obecného a místní populace obecně trpí fragmentací a nízkou početností, a tudíž mají vyšší riziko vyhynutí (Höglund et al., 2006). V Evropě ale tetřívci vyskytují ve třech dosti odlišných podmínkách. První odlišnost je, že na severu nacházíme souvislé populace tetřívka s dostatkem vhodných biotopů. Druhá je že v horských oblastech, jako jsou Alpy a Skotská vysočina, jsou populace přirozeně fragmentovány, ale je u nich zachováno propojení disperzí. A třetí odlišností je, že v oblastech kontinentální západní Evropy a Anglie se stále vyskytuje několik populací tetřívka obecného ve vysoce izolovaných fragmentech stanovišť (Höglund et al., 2006). Fylogeografická studie Corrales et al. (2014) poukazuje na vzory postglaciálního šíření, které naznačují, že tetřívek z jižní Evropy byl omezen pouze na tuto oblast a nepřispěl ke genetické rozmanitosti severní Evropy. Jejich výsledky ukazují, že jihoevropský tetřívek splňuje podmínky, aby byl považován za ESU (Moritz 2002). Vzorky z České republiky však nebyly do studie zahrnuty a tudíž neznáme jejich fylogeografické zařazení.

Larsson et al. (2008) studovali nizozemskou populaci, která je izolovaná s redukováným počtem jedinců. Zjistili nízkou genetickou diverzitu v porovnání s populací v Rakousku a Norsku i v porovnání s historickými vzorky nizozemské populace. Podobná situace nastává také ve střední Evropě, kdy Segelbacher et al. (2014) porovnávali situaci na území Německa a Holandska s historickými vzorky. Zjistili, že současné populace vykazují nižší genetickou diverzitu v porovnání se

vzorky odebranými v minulosti. Např. Corrales & Høglund (2012) v kontinuální švédské populaci nezjistili rozdíly v genetické diverzitě za posledních 30 let.

Na druhou stranu nemusí vždy platit, že fragmentace úplně zamezí rozptylování jedinců, ale jedná se spíše o metapopulace (Høglund et al., 2006; Sittenthaler et al., 2018). Studovanou oblastí byly Alpy, které jsou jádrovou oblastí výskytu tetřívka ve střední Evropě. Zde v posledních devadesáti letech došlo k podstatné antropogenní fragmentaci, ať už hospodařením nebo výstavbou skiareálů. Nicméně lokální tetřívčí populace zde dosahují podobné úrovně genetické diverzity jako u populací ve Skandinávii. Zjištěná genetická struktura byla sice slabá, což nám naznačuje, že fragmentace biotopů zcela nebrání jedincům v rozptylování, ale do jisté míry jej omezuje (Sittenthaler et al., 2018). Genetická diferenciace může být ovlivněna fragmentací krajiny. Tím, jak ovlivňuje fragmentace krajiny genetickou strukturu tetřívčích populací se zabývala studie Caizerguese et al. (2003). Byla porovnávána genetická diferenciace kohoutů z 9 souvislých stanovišť ve Finsku se 14 fragmentovanými lokalitami v Alpách (Francie, Švýcarsko, Itálie). Ta byla v Alpách naměřena třikrát vyšší než u finských populací. To je pravděpodobně způsobeno přítomností horských hřebenů, jenž tvoří bariéry pro tok genů, a vyšším vlivem genetického driftu vyplývajících z nižších efektivních velikostí. Avšak genetická diverzita a alelická bohatost byla v Alpách menší než ve Finsku, a to je pravděpodobně způsobeno izolací populací od hlavního rozšíření druhu.

Nízkou genetickou diverzitu způsobenou fragmentací krajiny a izolací populací potvrzuje i polská studie (Rutkowski et al., 2018). Ve všech polských studovaných populacích byla potvrzena ztráta genetické diverzity způsobená izolací a poklesem početnosti jedinců. Studie také odhalila dvě odlišné genetické skupiny, Severovýchodní s Karpatskou populací a populací ze Sudet (Jizerské hory a Krkonoše), která by měla být hodnocena jako unikátní ochranná jednotka (Conservation Unit). Na území České republiky se genetickou diverzitou tetřívků obecných zabývala studie Svobodové et al. (2011). Výsledky ukázaly, že česká populace má podobnou genetickou diverzitu jako ostatní fragmentované populace v Evropě. Byly také zjištěny významné párové hodnoty F_{ST} v regionech, které indikují nízkou propojenost nebo dokonce absenci disperze mezi různými lokalitami. Jednotlivá pohoří lze tedy považovat za území s izolovanými populacemi s relativně nízkou velikostí populace (Svobodová et al., 2011).

2. Metodika

V této populačně-genetické studii se jednalo o týmovou práci a mojí úlohou bylo podílet se především na analýzách vzorků v laboratoři a následně pak provést statistické analýzy získaných dat. V této kapitole popíšu, jak probíhala práce v terénu, jak se nasbírané vzorky zpracovávaly v laboratoři a jakým způsobem byly vyhodnocovány.

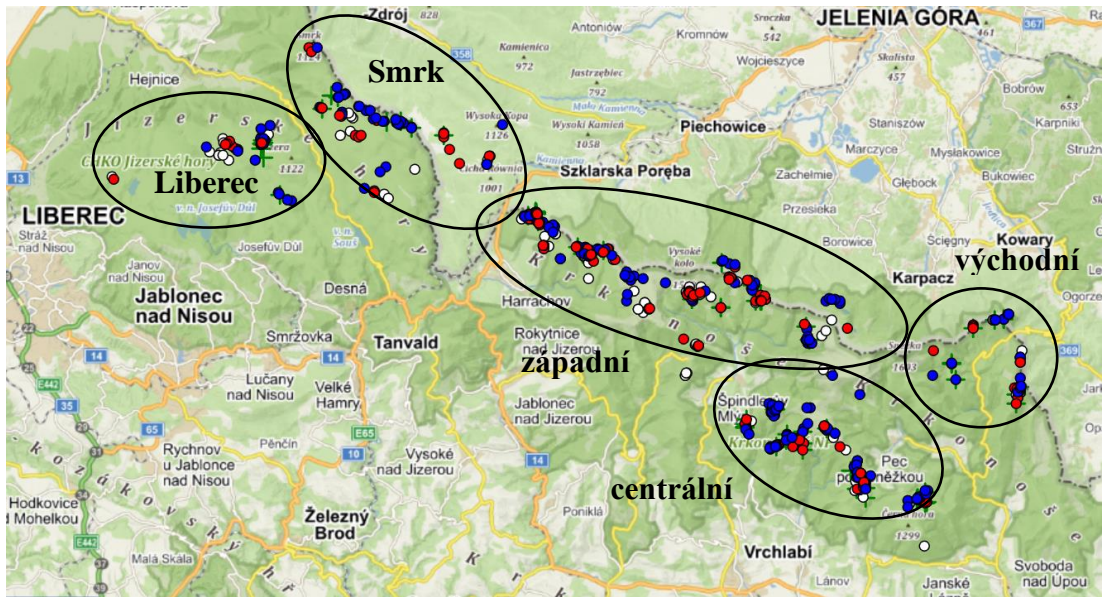
2.1. Sběr vzorků v terénu

Sběrem trusu a vypelichaného peří tetřívků byly touto neinvazivní metodou získány vzorky genomické DNA. Sběr materiálu probíhal systematicky jen na vhodných biotopech a lokalitách, kde se tetřívek obecný na území Krkonošského národního parku a CHKO Jizerské hory vyskytuje, jako jsou horské hřbety s porostem brusnic a vřesu, rašeliniště a tetřívčí centra (obr. 7, 8). Trus byl sbírán na sněhové pokrývce v zimních měsících, peří naopak v létě v době přepeřování. Na území Krkonoš a Jizerských hor (včetně přilehlých částí v Polsku) bylo od zimy v letech 2018 do léta 2021 nasbíráno celkem 599 vzorků, mezi nimiž byl trus (n=454), peří (n=143), skořápka (n=1) a smola (n=1). Historické vzorky byly sbírány méně intenzivně a na čtyřech lokalitách, konkrétně na lokalitě Alfrédka, Tetřeví boudy, Pomezí boudy a Jizerské hory (Zelený vrch) (Svobodová et al., 2011).



Obrázek 6: Fotografie zafoukaných tetřívčích stop při sběru biologického materiálu

Při definování populací byly použity gisové podklady habitatové vhodnosti tetřívků obecných (Obr. 8; Dušan Romportl, VIII. 2022, pers. comm., Romportl & Zýka, 2018) a byl brán také zřetel na disperzní možnosti tetřívků (Caizergues & Ellison, 2002; Marjakangas & Kiviniemi, 2005; Warren & Baines, 2002). Území bylo rozděleno do pěti populací, a to na populaci Liberec a Smrk v Jizerských horách a na populaci západní, centrální a východní v Krkonoších (Obr. 7).



Obrázek 7: Lokality sběru trusu a peří v CHKO Jizerské hory a NP Krkonoše, modrá= samec, červená = samice, aplikace GIS KRMAP ©2022

2.2. Molekulární analýza dat

2.2.1. Extrakce DNA

Extrakce DNA z tetřívčího trusu a peří byla provedena v laboratoři pomocí dvou extrakčních kitů Dneasy Blood & Tissue Kit pro peří (Qiagen, Německo) a PSP Spin Spool DNA Basic Kit pro trus (Invitak Molecular, Německo) podle pokynů výrobce s drobnými úpravami. Aby se zabránilo kontaminaci, byla izolace DNA, pre-PCR a post-PCR pipetování pro všechny vzorky prováděno v různých místnostech, nástroje byly sterilizovány pomocí UV záření, izolace DNA byla prováděna v boxu s laminárním prouděním a pro každou extrakci DNA byla prováděna negativní kontrola.

2.2.2. PCR a fragmentační analýza

Vzorky byly genotypovány pomocí 13 tetranukleotidových mikrosatelitů: BG4, BG10, BG14, BG15, BG16, BG18, BG19, TTT1, TTT2, TTT3, TUT1, TUT3, TUT4 (Caizergues et al., 2001; Caizergues et al., 2003; Piertney & Höglund, 2001; Segelbacher et al., 2000) a markerem pro identifikaci pohlaví Pu/P8mod (Pérez et al., 2011). Mikrosatelity byly rozděleny do tří setů po čtyřech až pěti lokusech (1 marker pro určení pohlaví), které byly amplifikovány dohromady v rámci jedné PCR (tzv. multiplex PCR); set 51 (BG18, BG15, PU/P8mod, TTT3, BG14), set 57 (BG16, TUT3, BG19, BG4) a set 58 (TUT4, TTT2, TUT1, TTT1, BG10). Toto rozdělení bylo provedeno zejména na základě annealingových teplot (s podobnou teplotou vždy do jednoho setu, viz Tab. 1) a koncentrace primerů byly testováním optimalizovány tak, aby se dostatečně amplifikovaly všechny lokusy v daném setu. Zároveň byly sety vytvořeny tak, aby byl v každém jen jeden mikrosatelit s danou fluorescenční barvou, nebo pokud byly dva, tak aby se délkově nepřekrývaly.

Byly dodržovány podmínky pro PCR jako je pipetování na ledu, precizní pipetování, používání špiček s filtrem a negativních kontrol, aby se zamezilo možné kontaminaci. Používané chemikálie byly přineseny těsně před pipetováním z lednice a následně dobře zvortexovány. Pro PCR byl použit Qiagen Multiplex PCR kit a reakce byla prováděna v objemu 10 µl podle protokolu uvedeného v tabulce č. 2. PCR byla prováděna v cycleru Eppendorf pomocí tří programů na amplifikaci dle tří setů primerů za podmínek uvedených v tabulce č. 1.

Tabulka 1: Podmínky PCR a nastavení v termocycleru Eppendorf.

set 51			set 57			set 58		
95 °C	15 min		95 °C	15 min		95 °C	15 min	
94 °C	30 s		94 °C	30 s		94 °C	30 s	
56 °C -0,5 °C	1 min 30 s	10x	57 °C	1 min 30 s	40x	58 °C	1 min 30 s	40x
72 °C	1 min		72 °C	1 min		72 °C	1 min	
94 °C	30 s		72 °C	10 min		72 °C	10 min	
51 °C	1 min 30 s	30x						
72 °C	1 min							
72 °C	10 min							

Tabulka 2: Rozpis jednotlivých složek při míchání chemikálií pro PCR

set 51		set 57		set 58	
	reakce (μl)		reakce (μl)		reakce (μl)
	1		1		1
multi-mix	5,000	multi-mix	5,000	multi-mix	5,000
Q solution	1,000	Q solution	1,000	Q solution	1,000
BG18	0,250	BG16	0,150	TUT4	0,060
NED	0,250	VIC	0,150	VIC	0,060
BG15	0,120	TUT3	0,100	TTT2	0,200
PET	0,120	PET	0,100	PET	0,200
PU/P8mod	0,150	BG19	0,100	TUT1	0,150
FAM	0,150	NED	0,100	FAM	0,150
TTT3	0,150	BG4	0,300	TTT1	0,300
VIC	0,150	FAM	0,300	NED	0,300
BG14	0,300	dd H2O	0,700	BG10	0,250
FAM	0,300	<i>sum</i>	8,0000	VIC	0,250
dd H2O	0,060	DNA	2,00	dd H2O	0,080
<i>sum</i>	8,0000			<i>sum</i>	8,0000
DNA	2,00			DNA	2,00

PCR produkty byly následně separovány fragmentační analýzou pomocí kapilárního sekvenátoru ABI 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Směs pro fragmentační analýzu byla namíchána z 12 μ l formamidu a 0,4 μ l lizu (velikostní žebřík GeneScan™ 500 LIZ® Size Standard) k čemuž byly přidány 2 μ l PCR produktu v případě setu 51 a 0,9 μ l PCR produktu v případě setů 57 a 58 (množství je udávané pro jeden vzorek). Alely byly odečítány v programu GeneMarker ver. 2.2. (Softgenetics).

Po 1. PCR byla pro všechny tři sety spočtena úspěšnost. Vzorky, u kterých se amplifikovalo méně než 50 % lokusů, byly hned vyřazeny jako negativní. Pro zbylé vzorky byla provedena 2. a 3. PCR. Pokud se tyto tři PCR shodly, genotyp byl uzavřen. Pokud ne, dělala se další PCR, dokud pro všechny lokusy ve všech setech nebyla zaznamenána každá alela minimálně dvakrát. U homozygotně vypadajících vzorků bylo děláno několik dalších opakování, aby se vyloučil allelic dropout nebo falešné alely či kontaminace. Úspěšná amplifikace proběhla u 384 vzorků.

Genotypování historických vzorků probíhalo pouze na vzorcích peří (n= 192) a byly genotypovány na 11 tetranukleotidových lokusech s velmi podobným postupem (Svobodová et al., 2011).

2.3. Metodika statistických analýz

Všechny pozitivní vzorky (tj. byly spolehlivě genotypovány alespoň na 85 % lokusech) byly následně analyzovány programem Cervus ver. 3.0.7. k odhalení shodných genotypů pomocí analýzy identity (Kalinowski et al., 2007). Dataset byl posléze upraven a vyřazeny byly takové vzorky, které měly tři a méně neshod (mismatch). V programu Cervus byly také testovány nulové alely a Hardy-Weinbergova rovnováha (HWE).

Parametry genetické diverzity jako je počet alel na lokus (A), alelická bohatost (A_r), pozorovaná heterozygtnost (H_o) a očekávaná heterozygotnost (H_e), koeficient inbreedingu (F_{is}) a HWE byly vypočítány pomocí softwaru R s balíčkem diversity (Keenan et al., 2013). A_r může být ovlivněna velikostí vzorku, a tak byla vypočítána rarefaction technikou v programu HP Rare (Kalinowski 2005).

Populační struktura byla analyzována pomocí Bayesiánské klastrovací analýzy v programu STRUCTURE ver 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) při následujícím nastavení: 500000 MCMC opakování po 250000 burn-in, 20 opakování pro $K = 1-8$, s nastavením admixture modelu s korelovanými alelickými frekvencemi. Nejpravděpodobnější K hodnoty byly vybrány prostřednictvím StructureSelector za použití více metod, mezi které patří ΔK , $\text{LnP}(K)$ a čtyři alternativní statistické metody MedMed (K), MedMean (K), MaxMed (K), MaxMean (K) (Li & Liu, 2018). K výběru vhodného K nebyla použita jen běžně používaná Evanno metoda (ΔK metoda) (Evanno et al. 2005), jelikož může vést k podhodnocení struktury. Z tohoto důvodu byly aplikovány další 4 metody odhadu podle Puechmaille (2016), u nichž bylo zjištěno že poskytují přesnější odhady pro rovnoměrně i nerovnoměrně vzorkovaných datasetech. Software R ver. 4.0.3 s balíčkem adegenet (Jombart, 2008) byl použit k provedení párových F_{ST} testů a analýzy DAPC (Jombart, 2010). DAPC byla počítána na základě předem definovaných populací, následně byla použita funkce find clusters, která na základě BIC (Bayesian information criterion) odhaduje počet klastrů v datasetu. Dále rozdělení genotypů do klastrů bylo testováno analýzou molekulární variance (AMOVA) pomocí balíčku pegas (Paradis, 2010) pro 1000 permutací.

Celkem byly analyzovány čtyři různé datasety. První dataset obsahoval všechny recentní vzorky $n=599$, kde bylo objeveno 159 unikátních genotypů (tj. jedinců) na 11 lokusech (dva lokusy ze 13 byly vyřazeny kvůli odchylce od HWE, viz níže).

Vzhledem k tomu, že na některých lokalitách byly vzorky sbírány kontinuálně během až čtyř let, byl vytvořen také redukovaný dataset (tj. reprezentativní počet vzorků, který odpovídá velikosti populace, max. vzorky ze dvou let, aby nedošlo k nadhodnocení či podhodnocení genetického toku a genetické diverzity). Redukovaný dataset obsahuje 111 unikátních genotypů a 11 lokusů. Pro porovnání historického a současného datasetu předcházelo vybrání genotypů ze současného datasetu (n=59), které se vyskytovaly na lokalitách, kde byly před 15 lety sbírány historické vzorky. Z takto vybraných vzorků byl vytvořen třetí dataset. Recentní vzorky byly analyzovány na 11 lokusech (BG4, BG14, BG15, BG16, BG18, BG19, TUT3, TUT4, TTT1, TTT2 a TTT3). Zatímco historické vzorky byly analyzovány na 10 lokusech (BG5, BG6, BG14, BG15, BG16, BG18, BG19, TUT1, TUT3). Historická data tvoří čtvrtý dataset (n=47).

V poslední řadě byly analyzovány vzdálenosti přeletů jedinců (příloha 1,2). Ty byly zjišťovány podle zaznamenání stejného genotypu v terénu a byly měřeny přímo v aplikaci GIS vytvořené Správou KRNAP. Jednotlivé vzdálenosti (v km) byly poté zapisovány a vznikly tak dvě tabulky – pro Jizerské hory a pro Krkonoše. Přílohy 1 a 2 ukazují disperzní možnosti získané z průměrných hodnot přeletů. Tyto možnosti byly vyobrazeny jako obalové zóny okolo identifikovaných genotypů.

3. Výsledky

3.1. Výsledky pro recentní dataset (neredukovaný)

Ze všech analyzovaných vzorků ($n=599$) bylo získáno 159 unikátních genotypů na 13 lokusech. Kvůli vysokému podílu nulových alel ($>24\%$) byly dva lokusy (TUT1 a BG10, Tab. 3) vychýleny z Hardy-Weinbergovy rovnováhy, a proto byly z dalších analýz vyloučeny (ve všech datasetech).

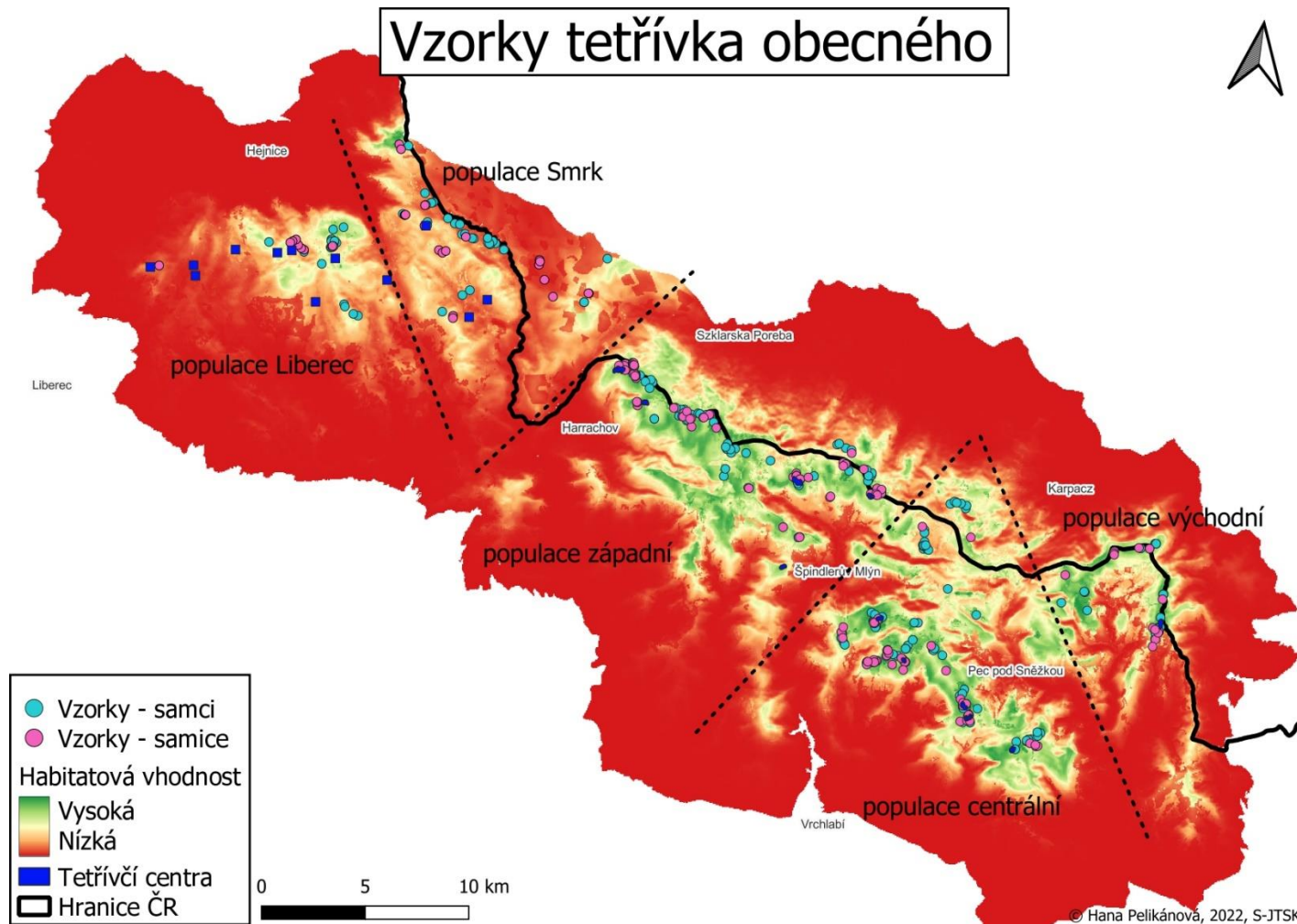
Tabulka 3: Hardy-Weinbergova rovnováha a frekvence nulových alel pro jednotlivé lokusy, *Cervus*

Lokus	HWE	F (Null)
BG18	NS	0,0032
BG15	NS	0,007
TTT3	NS	-0,0284
BG14	NS	-0,0176
BG16	NS	-0,016
TUT3	NS	-0,0197
BG19	NS	-0,0049
BG4	NS	-0,0023
TUT4	NS	0,0067
TTT2	NS	-0,0128
TUT1	***	0,2465
TTT1	NS	0,0198
BG10	***	0,2599

Na území Jizerských hor bylo zjištěno 45 unikátních genotypů, z toho 19 samičích a 26 samčích. V pohoří Krkonoše bylo objeveno celkem 114 unikátních genotypů, s podílem 49 samičích a 65 samčích (Tab. 4, Obr. 8).

Tabulka 4: Rozdělení všech získaných genotypů v letech 2018–2021 ukazující počty unikátních genotypů kohoutků a slepiček, N = počet unikátních genotypů, F = samice, M = samec.

Region	Populace	N	F	M
Jizerské hory	Liberec	13	5	8
	Smrk	32	14	18
	<i>celkem</i>	45	19	26
Krkonoše	Západ	47	22	25
	Centrální	51	21	30
	Východ	16	6	10
	<i>celkem</i>	114	49	65



Obrázek 8: Mapa vhodných biotopů se všemi nasbíranými vzorky, Qgis ver 3.26. 3, upraveno podle Romportla (Romportl & Zýka, 2018), Hana Pelikánová, 2022

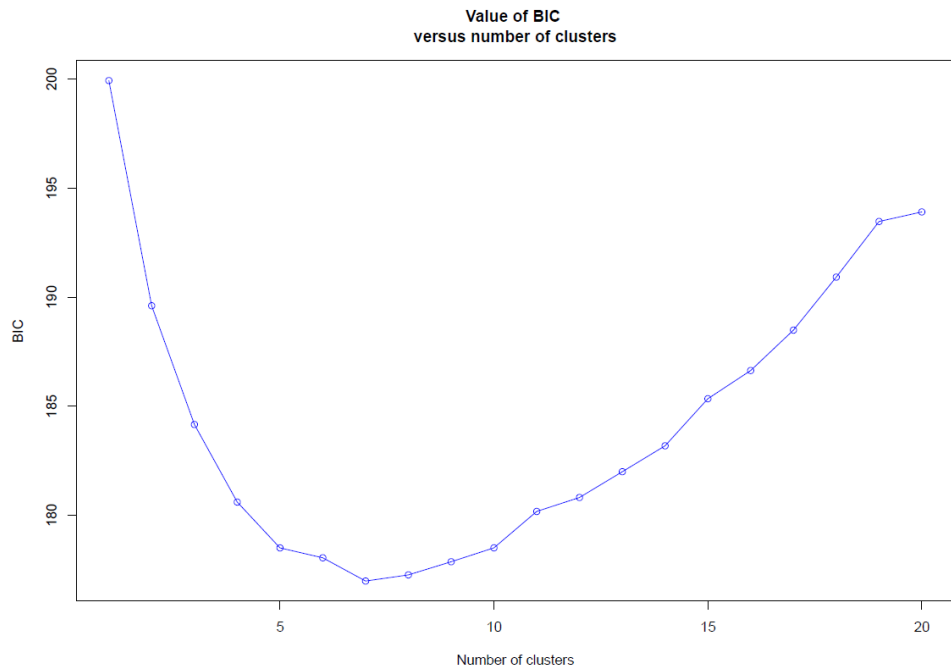
Nejvyšší průměrný počet alel na lokus (A) byl zjištěn u centrální populace, nejnižší naopak u východní. Nejvyšší alelická bohatost (Ar) byla pozorována u populace západní a nejnižší naopak u populace východní (Tab. 5). Očekávaná (He) a pozorovaná (Ho) heterozygotnost na populaci se pohybovala od 0,6 do 0,64 a 0,63 až 0,68. U koeficientu inbreedingu (Fis) nebyly zaznamenány žádné signifikantní odchylky.

Tabulka 5: Základní parametry genetické diverzity u všech unikátních genotypů (n=159), N= počet jedinců, A= průměrný počet alel v populaci, Ar = alelická bohatost, Ho = pozorovaná heterozygotnost, He= očekávaná heterozygotnost, Fis= koeficient inbreedingu, HWE = hladina významnosti HWE

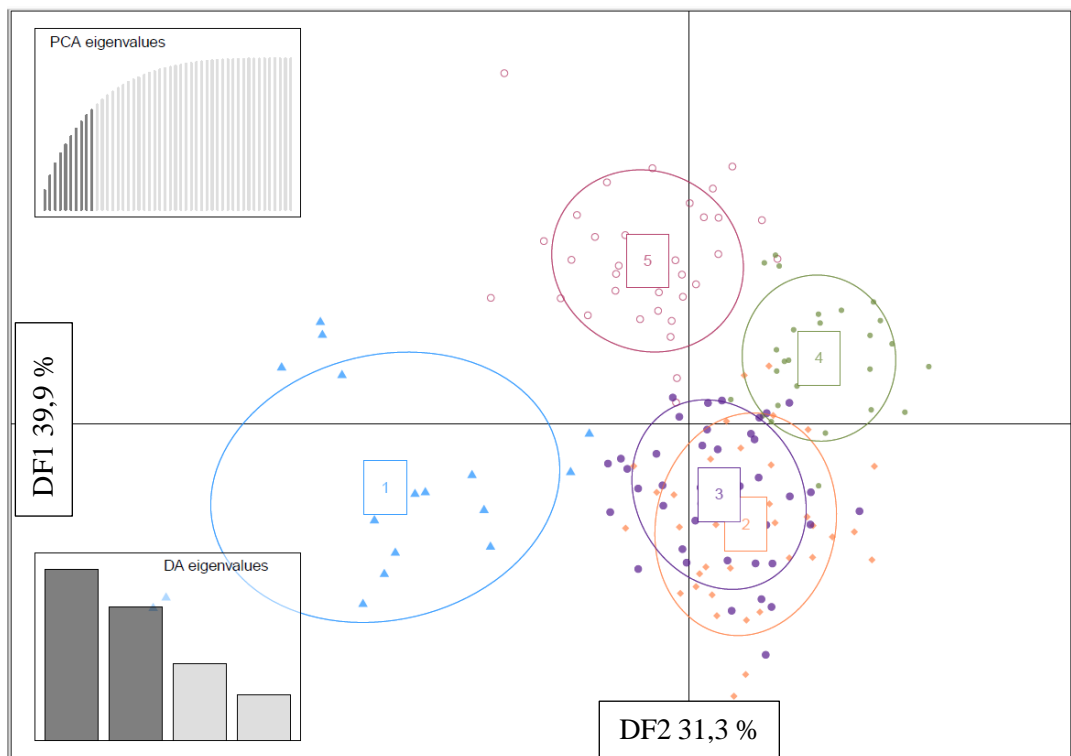
	pop	N	A	Ar	Ho	He	Fis	HWE
Jizerské hory	Smrk	13	4,18	3,83	0,63	0,6	-0,0477	0,959
	Liberec	32	4,64	4,12	0,68	0,63	-0,0723	0,394
Krkonoše	Západní	47	5,00	4,34	0,68	0,64	-0,0672	1
	Centrální	51	5,09	4,21	0,66	0,63	-0,0451	0,971
	Východní	16	4,09	3,82	0,64	0,61	-0,0595	0,698
	sum/avg	159	4,60	4,06	0,66	0,62	-0,06	0,80

Další statistickou metodou byla analýza DAPC (Discriminant Analysis of Principal Components), která byla použita pro určení počtu klastrů ve studovaných populacích. Podle této metody byl odhanut počet klastrů na 5 – 7 (Obr. 10). Pro finální vyobrazení bylo zvoleno pět klastrů, kdy osa DF1 vysvětluje 39,9 % variability a osa DF2 vysvětluje 31,3 %. Grafy diskriminační analýzy (Obr. 10) ukazují, že jako nejizolovanější se jeví Liberecká populace (1; modrá barva) a výrazně se také odděluje východní populace (5; vínová barva). Pro další určení počtu klastrů byla použita i metoda BIC (Bayesian information criterion), podle které byl počet klastrů odhadnut na 5–7 (Obr. 9).

Hladina významnosti molekulární variance (AMOVA) vyšla signifikantní ($p < 0,001$). Dle výsledků mají na celkové variabilitě statisticky významně největší podíl jedinci, kteří vysvětlili 91,1 %. Variabilita mezi definovanými populacemi – Liberec, Smrk, Západní, Centrální, Východní, vysvětlila jen 8,9 %.



Obrázek 9: Počet klastrů podle BIC, K=5-7.



Obrázek 10: Graf s výslednou diskriminační analýzou (DAPC) ukazující pět klastrů, vysvětlená variabilita pro první osu je 39,9 % a pro druhou 31,3 %. 1= Liberec, 2= Smrk, 3= západní, 4 = centrální, 5 = východní.

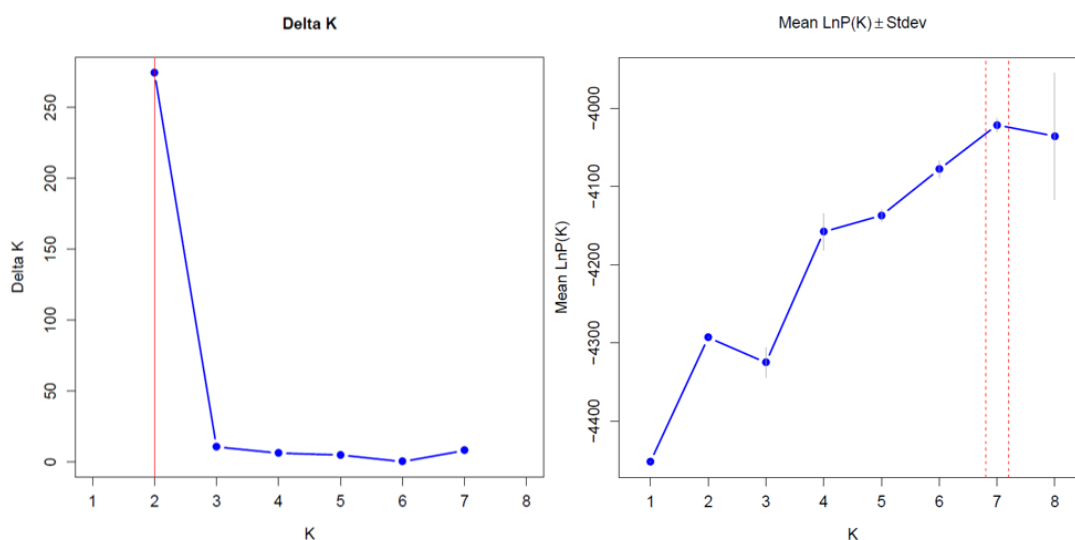
Párové hodnoty F_{ST} , které kvantifikují genetickou vzdálenost, se pohybují v rozmezí 0,0064 – 0,046 v pěti populacích, s průměrnou hodnotou 0,022 (Tab. 6). Nejnižší

hodnoty jsou mezi populací centrální a populací západní a potvrzují tak genetický tok mezi nimi.

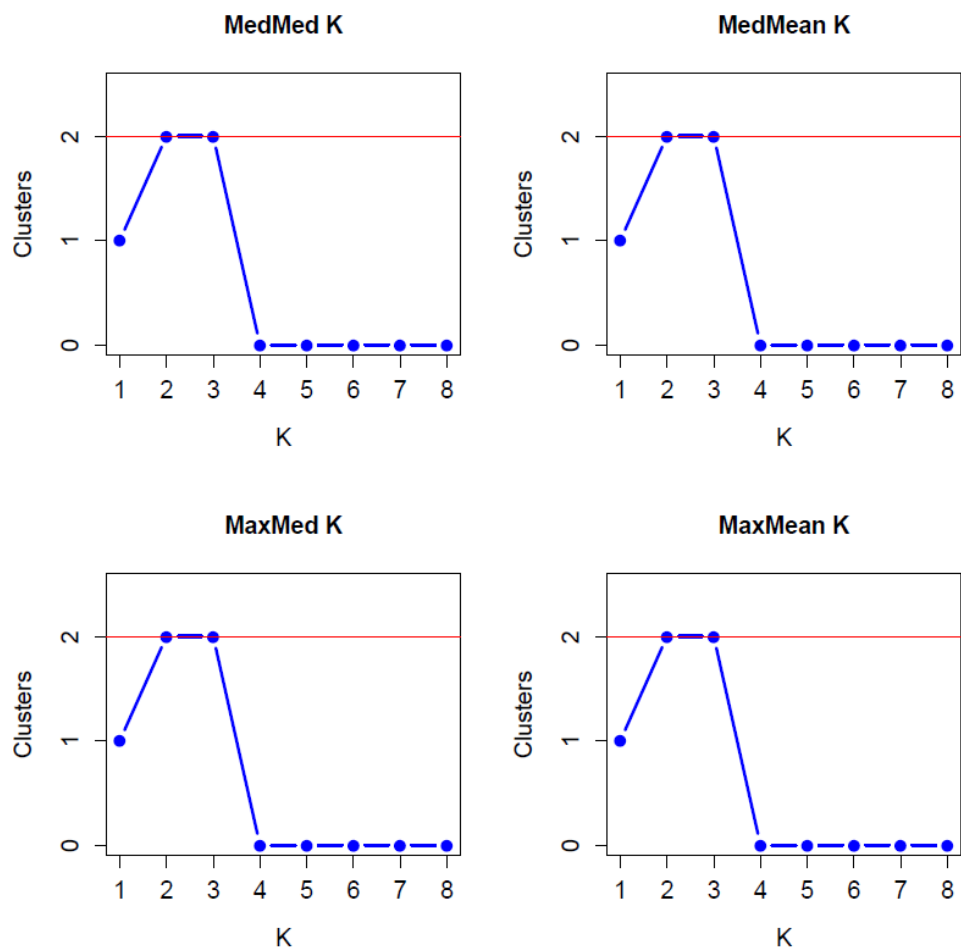
Tabulka 6: Párové hodnoty F_{ST} mezi pěti populacemi ($n=159$).

	Liberec	Smrk	Západní	Centrální	Východní
Liberec	0	0,019	0,019	0,026	0,046
Smrk		0	0,022	0,034	0,032
Západní			0	0,006	0,013
Centrální				0	0,008
Východní					0

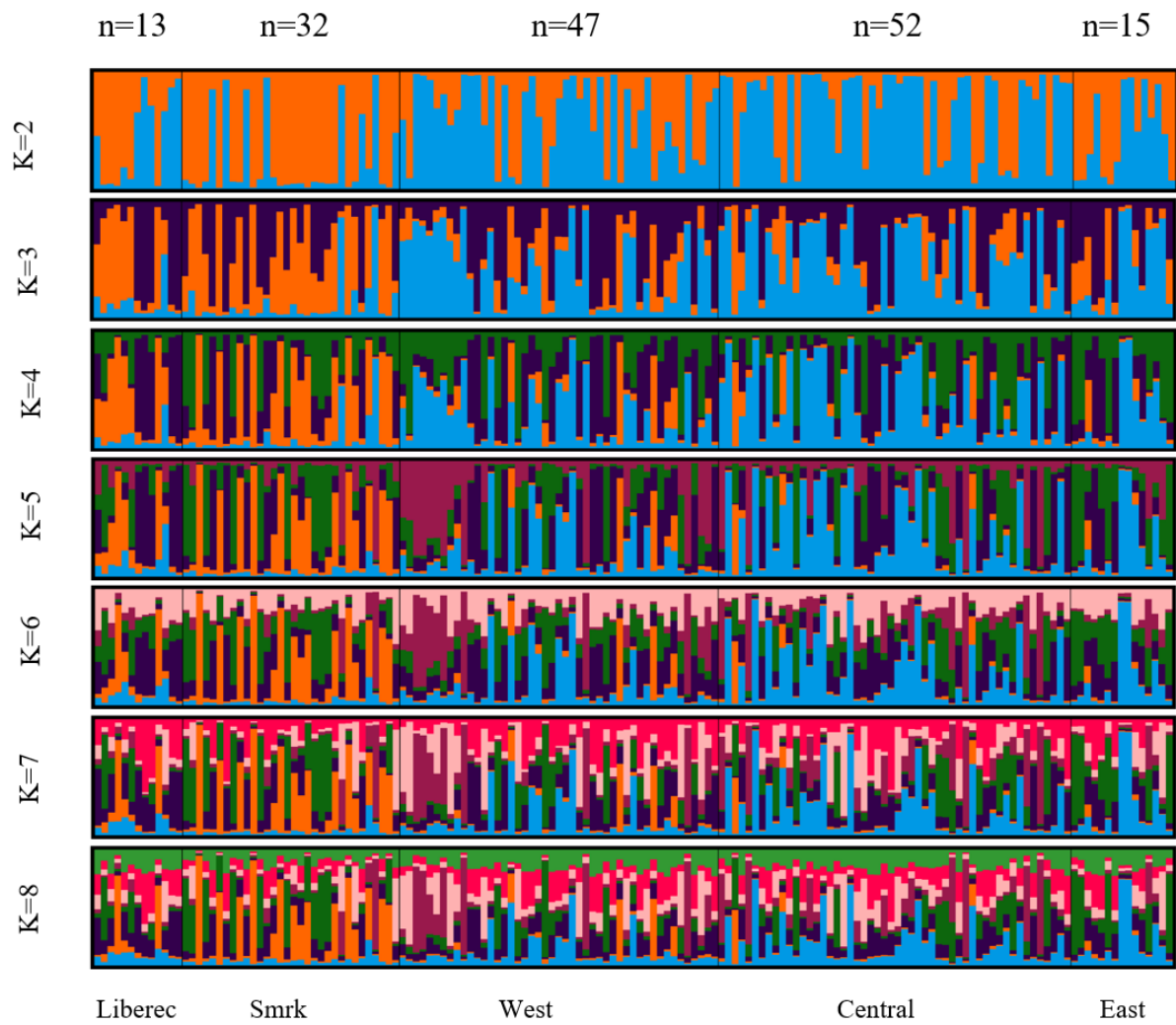
Genetická struktura byla testována programem Structure. Výsledek však neukázal jasný počet klastrů. Podle ΔK byl počet klastrů odhadnut na 2, nicméně $\text{Ln}(K)$ ukázal až sedm klastrů (Obr. 11). Avšak podle metody Puechmaille (2016), byl počet klastrů odhadnut na 2–3 (Obr. 12). Na obrázku č. 13 vidíme jasné oddělení Krkonoš od Jizerských hor, kdy nedochází ke komunikaci mezi pohořími, zároveň můžeme také pozorovat odlišení východní populace.



Obrázek 11: Odhad počtu klastrů podle ΔK , $K=2$, podle $\text{Mean LnP}(K)$, $K=7$, v programu StructureSelector (Li & Liu, 2018).



Obrázek 12: Odhad počtu klastrů podle Puechmaille (2016) v programu StructureSelector, (Li & Liu, 2018), $K=2-3$



Obrázek 13: Výsledek analýzy genetické struktury Krkonošsko-Jizerskohorské populace z programu Structure pro jednotlivé K ($K=2-8$) ($n=159$).

3.2. Výsledky pro recentní dataset (redukovaný)

Druhý dataset pro statistické analýzy obsahoval jen vzorky ze dvou let (převážně 2020–2021), Takto bylo získáno 111 unikátních genotypů, kdy v pěti populacích se vyskytovalo 46 samičích genotypů a 65 samčích genotypů (Tab. 7).

Tabulka 7: Tabulka identifikovaných unikátních genotypů ve dvouletém výběru (2020-2021) ukazující počty unikátních genotypů kohoutků a slepiček, N= počet unikátních genotypů, F= samice, M = samec.

Region	Populace	N	F	M
Jizerské hory	Liberec	10	5	5
	Smrk	26	12	14
	<i>celkem</i>	36	17	19
Krkonoše	Západní	38	15	23
	Centrální	28	11	17
	Východní	9	3	6
	<i>celkem</i>	75	29	46

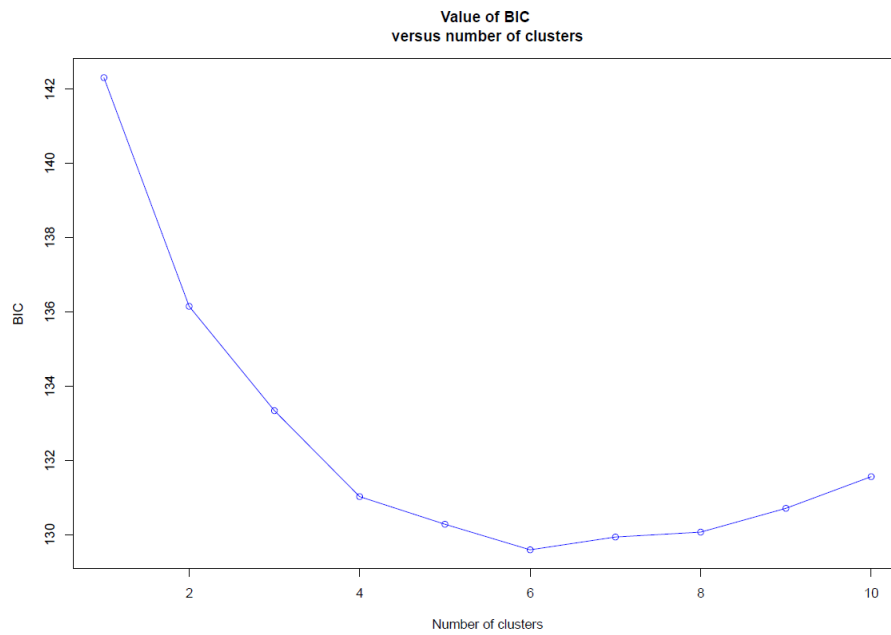
Tabulka 8: Tabulka charakteristik genetické diverzity současné populace, N = počet jedinců, A = počet alel v populaci, Ar = alelická bohatost, Ho = pozorovaná heterozygotnost, He = očekávaná heterozygotnost, Fis = koeficient inbreedingu.

	Pop	N	A	Ar	Ho	He	Fis	HWE
Jizerské hory	Liberec	10	4,00	3,59	0,57	0,57	0,004	0,528
	Smrk	26	4,64	3,63	0,69	0,64	-0,090	0,351
Krkonoše	Západní	38	4,90	3,80	0,65	0,64	-0,023	0,999
	Centrální	28	4,64	3,65	0,66	0,63	-0,049	0,998
	Východní	9	3,55	3,38	0,62	0,55	-0,113	0,624
	sum/avg	111	4,35	3,61	0,64	0,60	-0,054	0,700

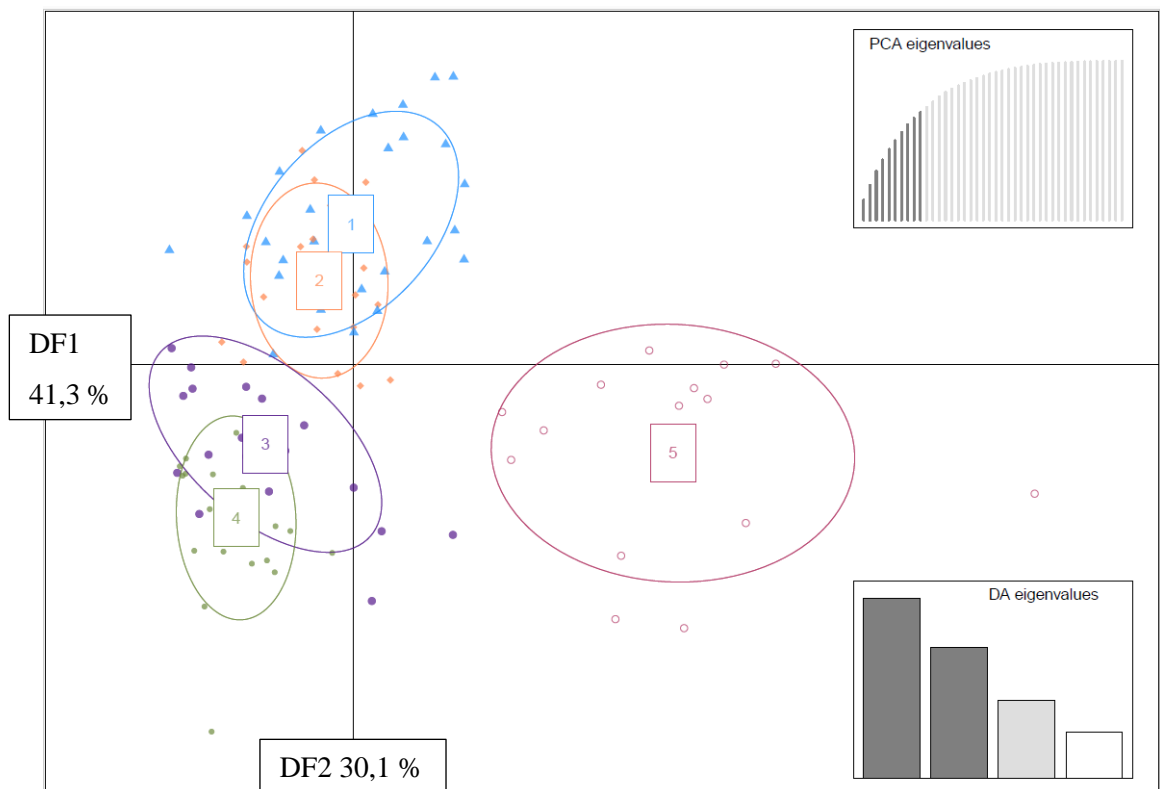
Parametry genetické diverzity jsou nejvyšší pro populaci západní a centrální Ar = 3,80 a 3,65 a nejnižší naopak ve východní populaci Ar = 3,38. Tyto hodnocené parametry jsou shodné s neredukovaným datasetem, ale hodnoty jsou celkově nižší (Tab. 8).

Analýza DAPC odhadla počet klastrů na 4-6 (Obr. 14), kdy osa DF1 vysvětluje 41,3 % variability a DF2 vysvětluje 30,1 %. Na grafu diskriminační analýzy (Obr. 15) vidíme rozlišení populací podle pohoří a zřetelnou izolovanost populace východní

(5; vínová barva). Pro určení počtu klastrů byla použita statistická metoda BIC (Bayesian information criterion), jenž počet klastrů odhadla na 4–6 (Obr. 14).



Obrázek 14: Počet klastrů podle BIC je 6



Obrázek 15: Graf s výslednou diskriminační analýzou (DAPC) ukazující pět klastrů, vysvětlená variabilita pro první osu je 41,3 % a pro druhou 30,1 %. 1= Liberec, 2= Smrk, 3= západní, 4 = centrální, 5 = východní.

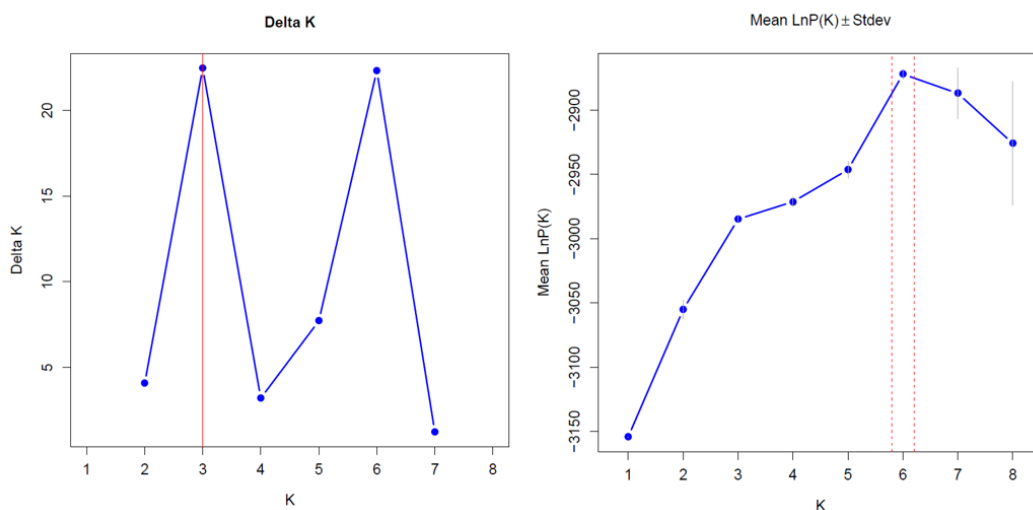
Analýza molekulární variance (AMOVA) vyšla signifikantní ($p < 0,001$). Výsledky ukázaly, že na celkové variabilitě mají největší podíl jedinci vysvětlující 92,47 % variability, pohoří vysvětlují 5,9 % a populace vysvětlují nejméně variability, a to 1,6 %

Párové hodnoty F_{ST} se pohybují v rozmezí 0,009 – 0,052, s průměrnou hodnotou 0,0259 (Tab. 9). Nejvíce podobné si jsou opět populace centrální a západní.

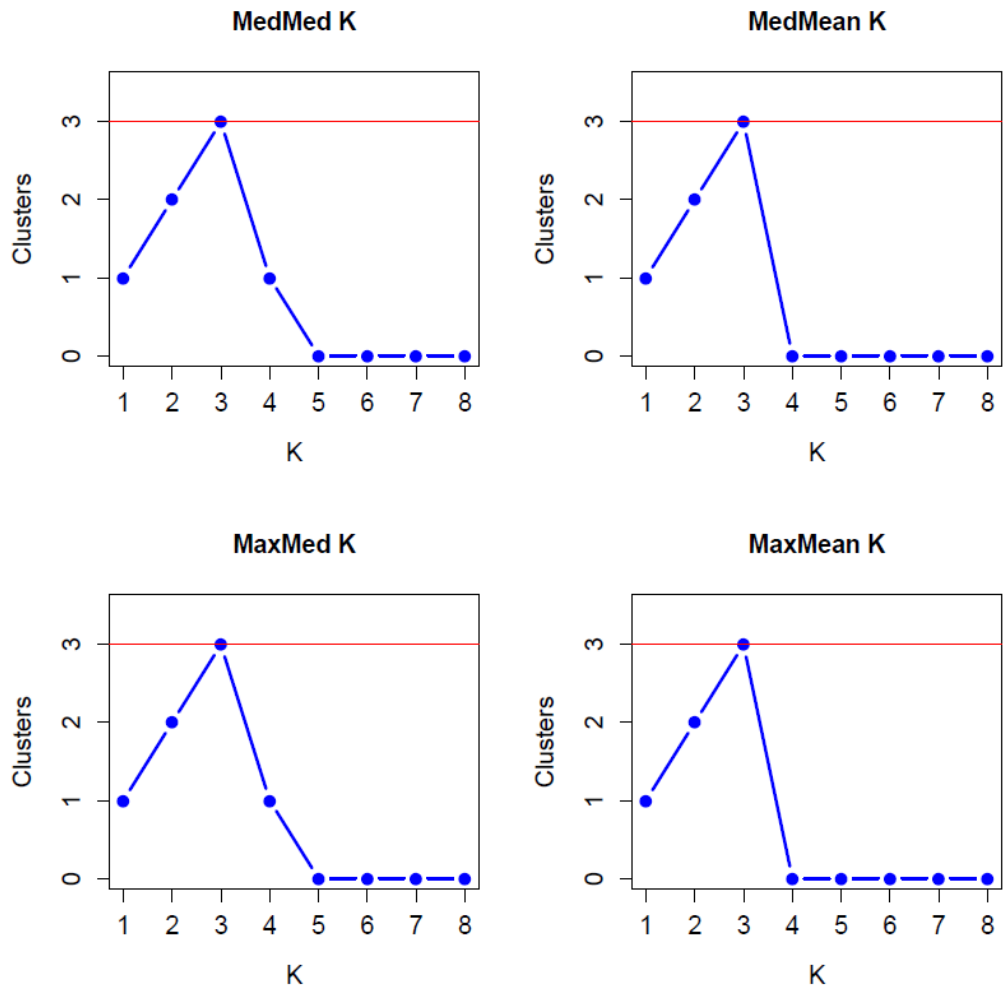
Tabulka 9: Párové hodnoty F_{ST} mezi pěti populacemi. ($n=111$)

	Liberec	Smrk	Západní	Centrální	Východní
Liberec	0	0,023	0,018	0,036	0,052
Smrk		0	0,022	0,036	0,031
Západní			0	0,009	0,011
Centrální				0	0,020
Východní					0

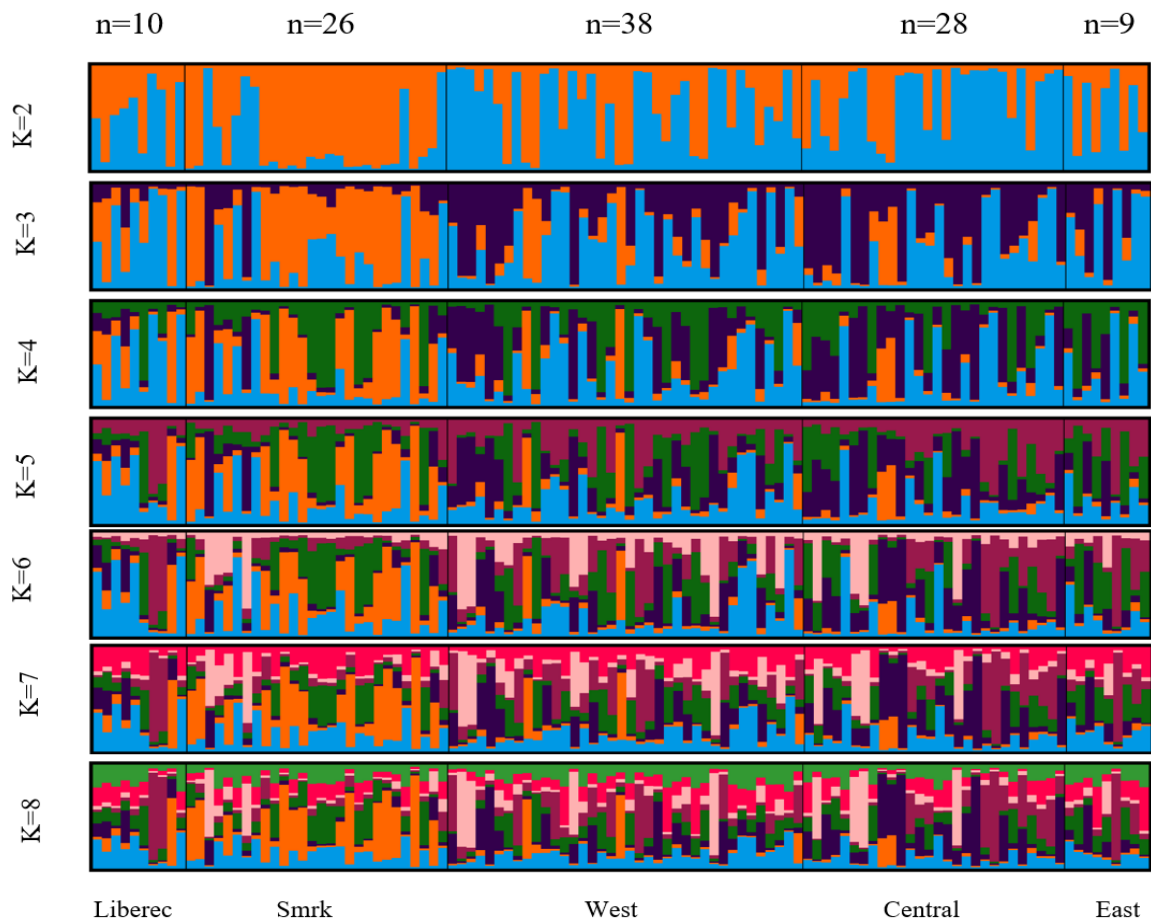
Nejpravděpodobnější počet klastrů pro redukovaný dataset byl dle ΔK a průměrných hodnot K odhadnut na 3, $\text{LnP}(K)$ však odhaduje klastrů 6 (Obr. 16, 17). U všech populací vidíme jasné klastrování, přičemž nejvíce se odlišuje populace Smrk. Začínají se odlišovat také okrajové populace, tedy Liberec a východní (Pomezní hřeben) (Obr. 18) a genetický tok probíhá především v Krkonoších mezi populací západní a centrální.



Obrázek 16: Nejpravděpodobnější hodnoty dle ΔK , $K = 3$ a dle průměrné $\text{LnP}(K) = 6$, StructureSelector (Li & Liu, 2018).

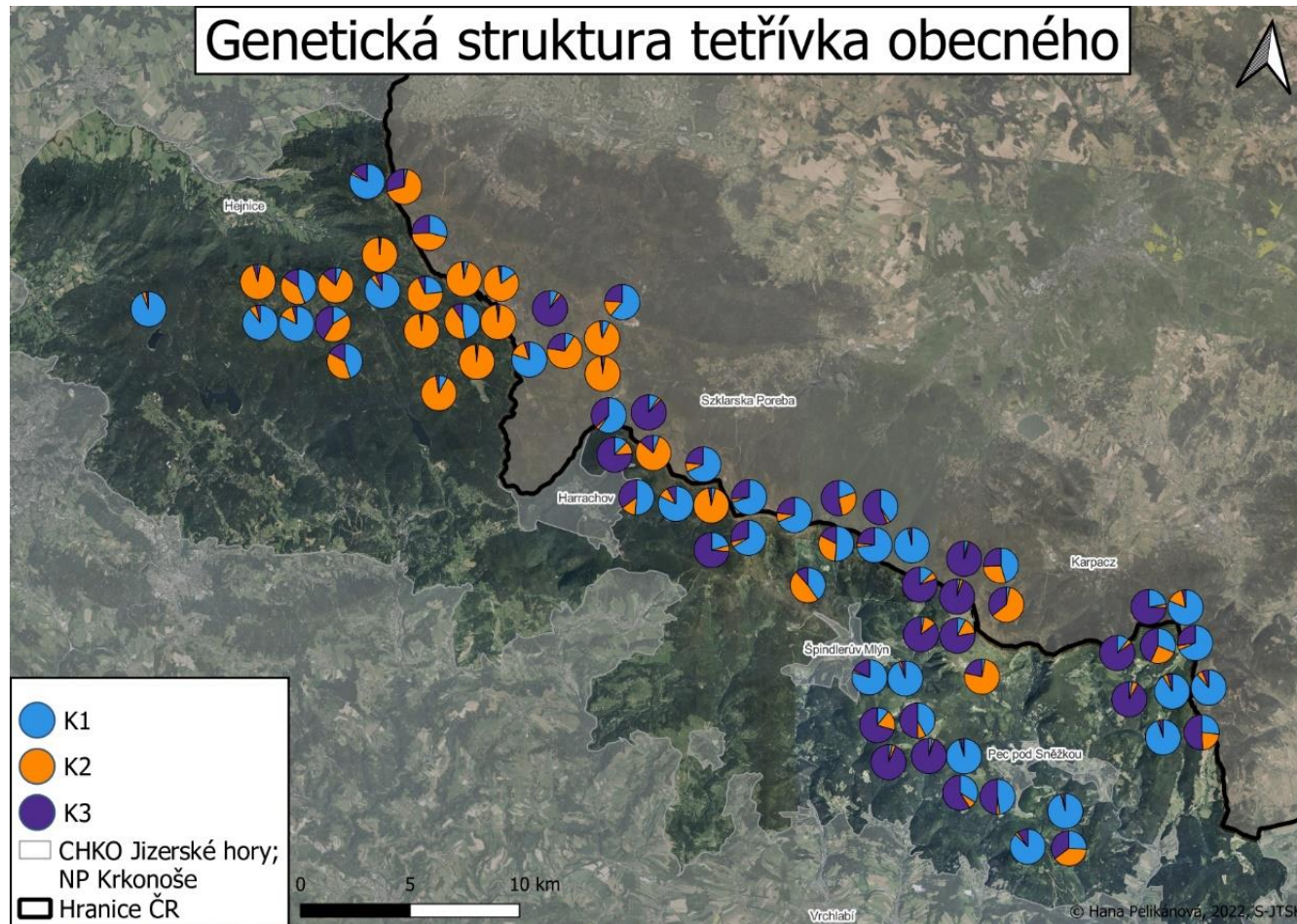


Obrázek 17: Odhad počtu klastrů podle Puechmaille (2016), v programu StructureSelector (Li & Liu, 2018, $K=2-3$).

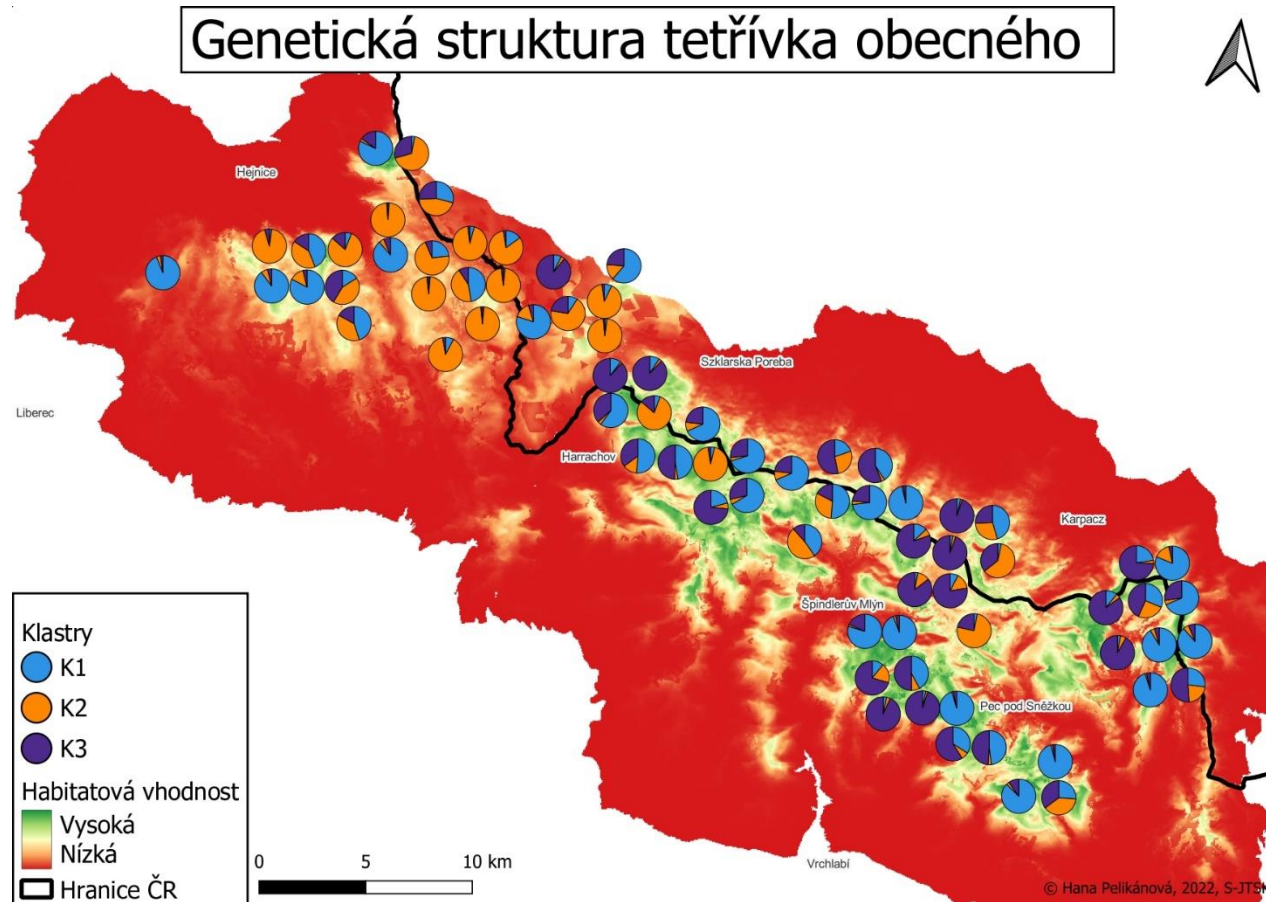


Obrázek 18: Výsledek analýzy genetické struktury Krkonošsko-Jizerskohorské populace z programu Structure pro jednotlivé K ($K = 2-8$), ($n=111$).

Na genetické mapě (Obr. 19) můžeme vidět jasné oddělení Jizerských hor od Krkonoš, také náznak oddělování východní populace a že genetický tok probíhá především v Krkonoších mezi populací západní a centrální. Na další mapě (Obr. 20) vidíme genetickou strukturu na habitatovém modelu, kde můžeme pozorovat, že existují zelená (tj. vhodná) místa, nicméně již nejsou tetřívky obsazena.



Obrázek 19: Genetická struktura tetřívka obecného. Ke každému vzorku bylo přiřazeno procentuální zařazení do klastru, počet klastrů byl zvolen dle nejpravděpodobnějšího počtu, tedy $K=3$, Structure (1 výsečový graf = průměr pro dva sousední jedince), Qgis 3. 26. 3.



Obrázek 20: Genetická struktura tetřívka obecného v Jizerských horách a Krkonoších dle přiřazení do tří klastrů na habitatovém modelu– Structure (1 výšečový graf= průměr pro 2 jedince), Qgis 3. 26. 3

3.3. Porovnání historických a současných dat

Pro porovnání genetické diverzity byly vytvořeny dvě tabulky, jedna se všemi 11 lokusy pro oba datasey (Tab. 10) a druhá pouze se sedmi lokusy, které byly použity v historické i současné studii. Pro přesnější porovnání parametrů mezi oběma datasey (Tab. 11) byly v následujících analýzách použity právě tyto shodné lokusy. Jizerské hory byly spojeny v jednu populaci kvůli nízkému počtu vzorků. Co se týče porovnání genetické diverzity mezi datasey, tak parametry genetické diverzity (A , Ar , Ho , He) jsou hodnoty velmi podobné.

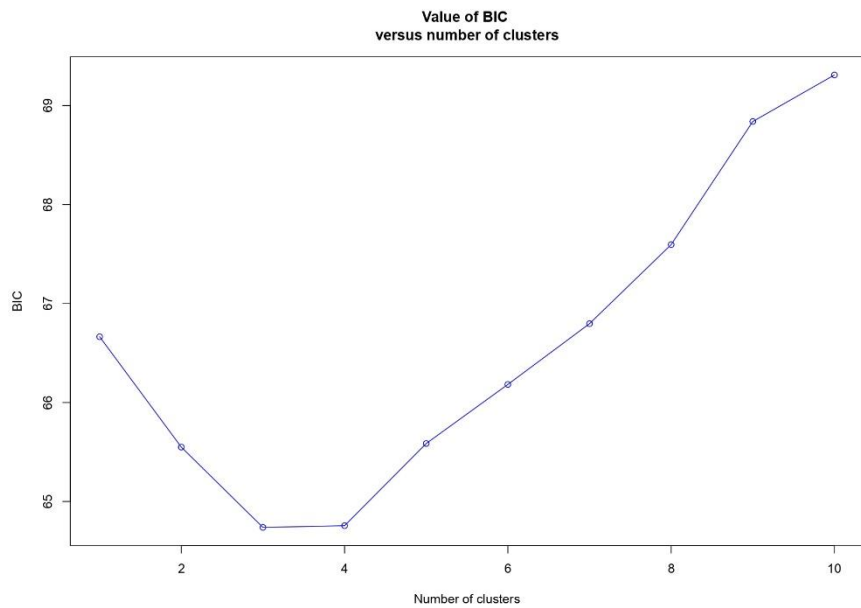
Tabulka 10: Genetická diverzita na 11 (recentní) a 10 (historický) lokusech pro Jizerské hory a Krkonoše (západní, centrální, východní), N = počet jedinců, A = počet alel v populaci, Ar = allelic richness, Ho = pozorovaná heterozygotnost, He = očekávaná heterozygotnost, Fis = koeficient inbreedingu.

všechny lokusy	N		A		Ar		Ho		He		Fis	
	his	rec	his	rec	his	rec	his	rec	his	rec	his	rec
Jizerské	8	10	3,5	4	3,11	3,66	0,5	0,62	0,59	0,59	0,147	-0,053
západní	16	15	4,4	4,5	3,73	3,96	0,66	0,67	0,64	0,64	-0,037	-0,049
centrální	8	24	4,1	4,18	3,53	3,55	0,56	0,66	0,59	0,59	0,040	-0,119
východní	15	10	4,1	3,45	3,46	3,26	0,68	0,65	0,64	0,58	-0,054	-0,115
sum/avg	47	59	4,03	4,03	3,46	3,61	0,60	0,65	0,62	0,60	0,024	-0,084

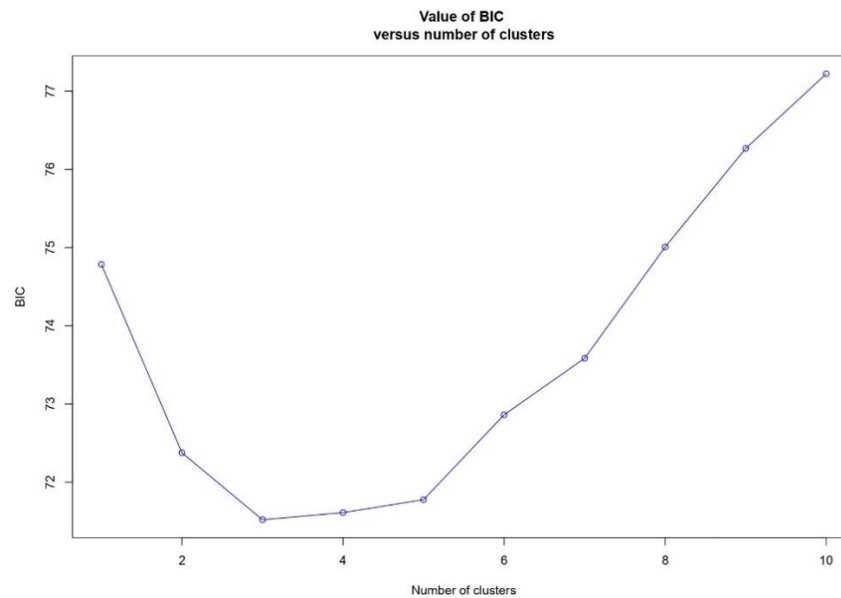
Tabulka 11: Genetická diverzita na 7 shodných lokusech pro Jizerské hory a Krkonoše (západní, centrální, východní), his= historická data, rec= současná data, N = počet jedinců, A = počet alel v populaci, Ar = allelic richness, Ho = pozorovaná heterozygotnost, He = očekávaná heterozygotnost, Fis = koeficient inbreedingu.

7 lokusů	N		A		Ar		Ho		He		Fis	
	his	rec	his	rec	his	rec	his	rec	his	rec	his	rec
Jizerské	8	10	3,43	3,86	3,01	3,56	0,57	0,64	0,57	0,59	-0,010	-0,075
západní	16	15	4,29	4,57	3,63	3,98	0,63	0,69	0,61	0,64	-0,032	-0,066
centrální	8	24	4,00	4,29	3,45	3,8	0,57	0,71	0,59	0,64	0,027	-0,124
východní	15	10	4	3,57	3,56	3,33	0,63	0,67	0,66	0,61	0,040	-0,107
sum/avg	47	59	3,93	4,07	3,41	3,67	0,60	0,68	0,61	0,62	0,006	-0,093

Analýzu DAPC jsem použila pro určení počtu klastrů ve studovaných populacích (Jombart et al., 2010). Odhady počtů K dle BIC jsou 3-4 klastry v obou případech (Obr. 21, 22).



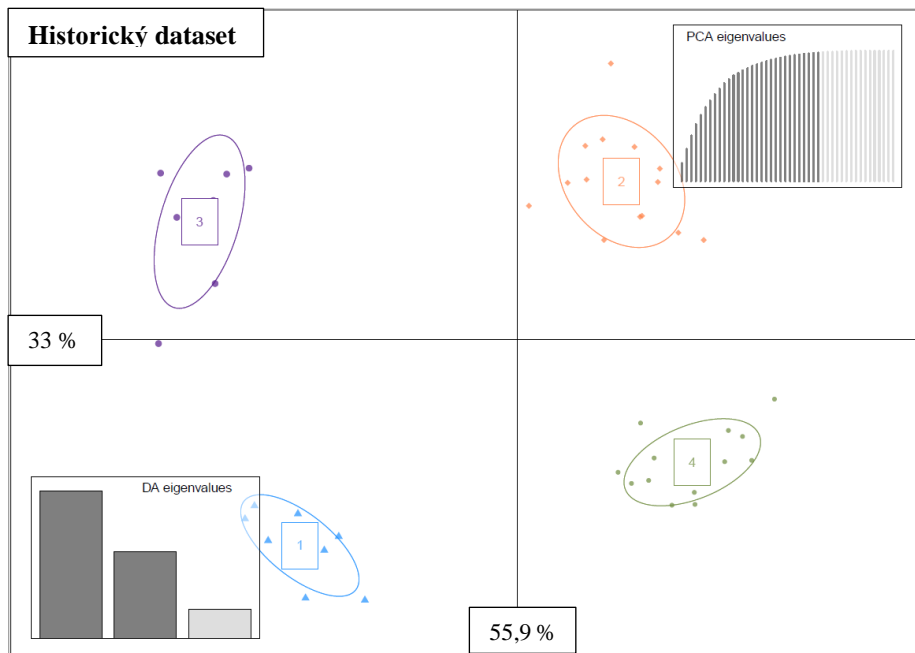
Obrázek 21: Počet klastrů podle BIC pro historický dataset je $k=3-4$.



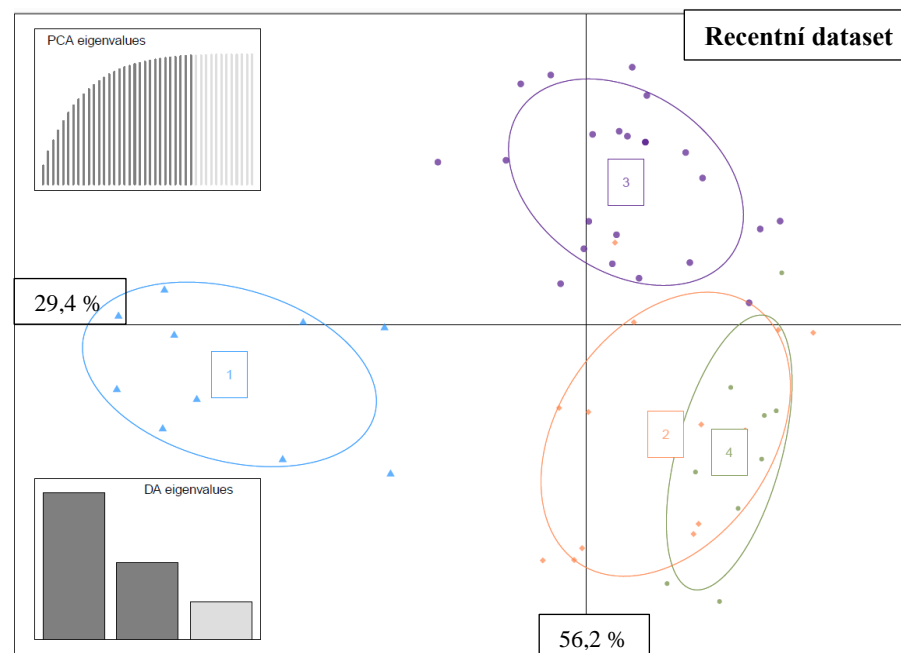
Obrázek 22: Počet klastrů podle BIC pro recentní dataset je $k=3-4$.

U historického datasetu osa DF1 vysvětluje 55,9 % variability a osa DF2 vysvětluje 33 % (Obr. 23), zatímco u recentního datasetu osa DF1= 56,2 % a osa DF2= 29,4 % (Obr. 24). Graf diskriminační analýzy (Obr. 23) ukazuje izolovanost všech čtyř populací v historickém datasetu, u recentního (Obr. 24) vidíme izolovanost Liberecké populace a začíná se oddělovat také populace centrální v Krkonoších.

Analýza molekulární variance (AMOVA) vyšla signifikantní v obou případech ($p < 0,01$). Výsledky ukázaly, že na celkové variabilitě pro historický dataset mají největší podíl jedinci vysvětlující 86,94 % variability, populace vysvětlují 17,93 %, u recentního datasetu na celkové variabilitě mají také největší podíl jedinci vysvětlující 90,03 % variability a populace vysvětlují 9,97 %.

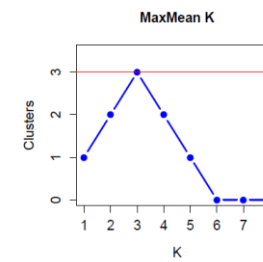
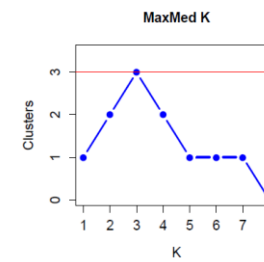
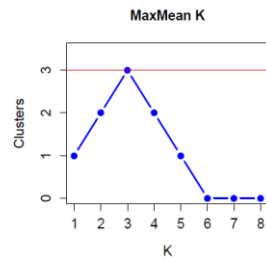
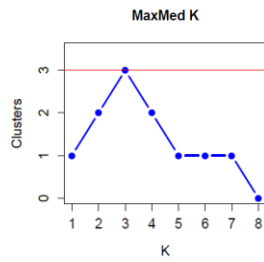
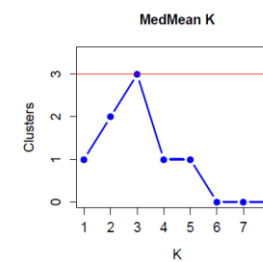
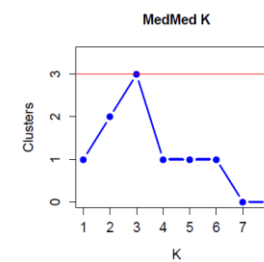
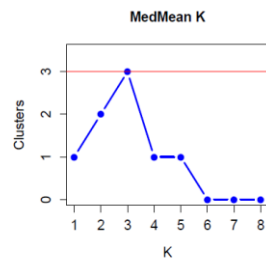
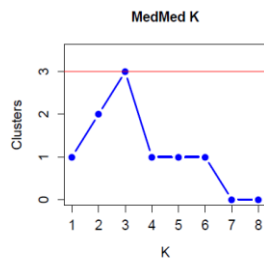
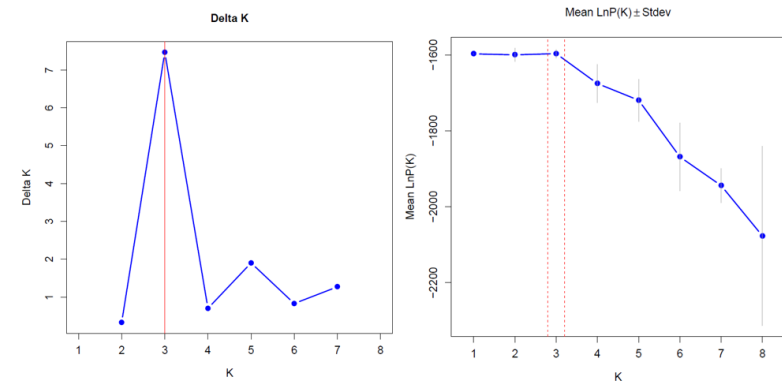
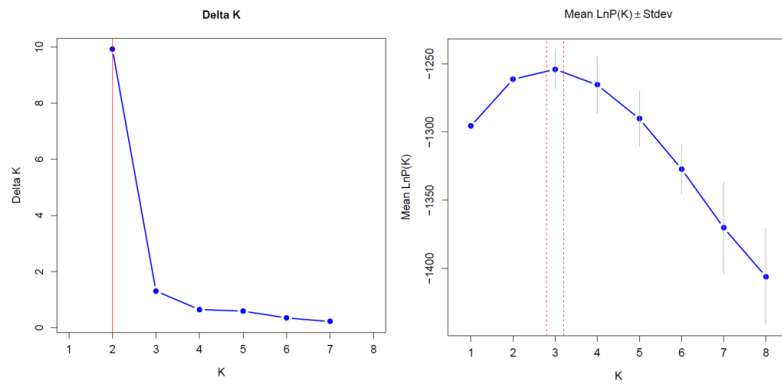


Obrázek 23: Graf s výslednou diskriminační analýzou (DAPC) pro historický dataset ukazující čtyři klastry, vysvětlená variabilita pro osu x je 55,9 % a pro osu y 33 %. Legenda: 4= Jizerské hory, 5= Západní Krkonoše (Alfrédka), 6= Centrální Krkonoše (Tetřeví boudy), 7=východní Krkonoše (Pomezí hřeben).



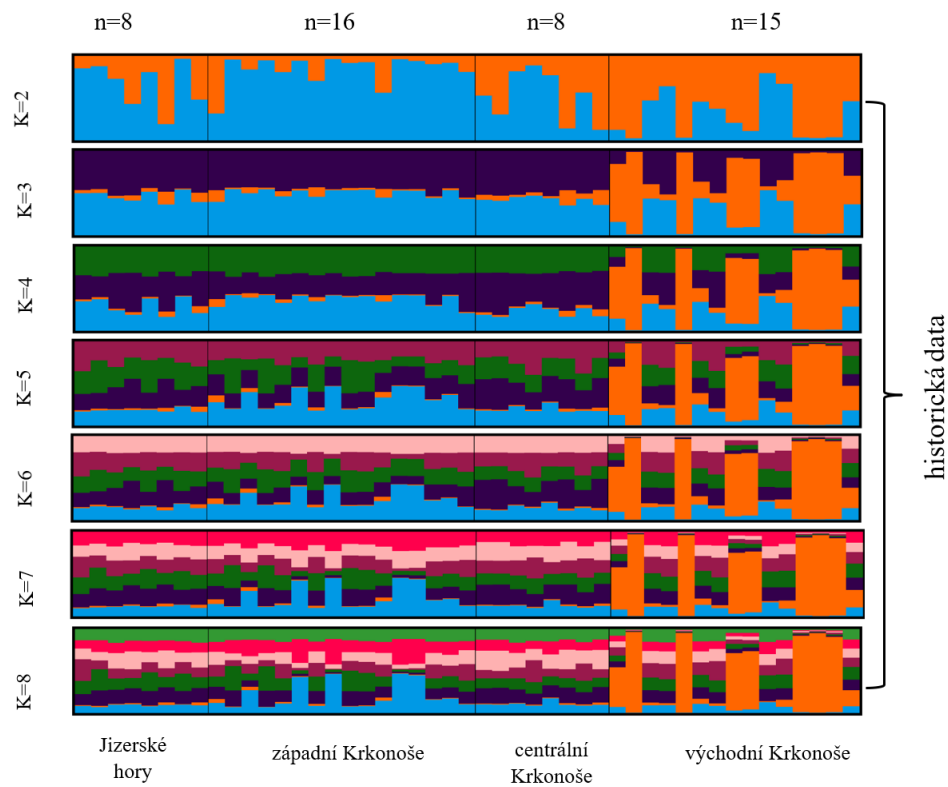
Obrázek 24: Graf s výslednou diskriminační analýzou (DAPC) pro recentní dataset ukazující čtyři klastry, vysvětlená variabilita pro osu x je 56,2 % a pro osu y 29,4 %. Legenda: 1= Jizerské hory, 2= Západní Krkonoše (Alfrédka), 3= Centrální Krkonoše (Tetřeví boudy), 4=východní Krkonoše (Pomezí hřeben).

Datasety a jejich genetická struktura byly porovnány také v programu Structure. Nejpravděpodobnější počet klastrů pro historický dataset byl odhadnut na 3 (rozsah 2–4, Obr. 25) a u recentního na 3 (Obr. 26). U historických dat můžeme pozorovat, že se jasně vyčleňuje populace na Pomezním hřebeni, Obr. č. 27, také zde vidíme mezi Jizerskými horami a západní a střední částí Krkonoš genetický tok. Zatímco u recentních vzorků pozorujeme vyčlenění populace na východě, a navíc se začínají vyčleňovat i Jizerské hory (Obr. 28). U recentního datasetu také můžeme pozorovat mnohem větší strukturovanost populace. Před 15 lety byly zřejmě Krkonoše a Jizerské hory propojené, ale teď už jsou pravděpodobně izolované.

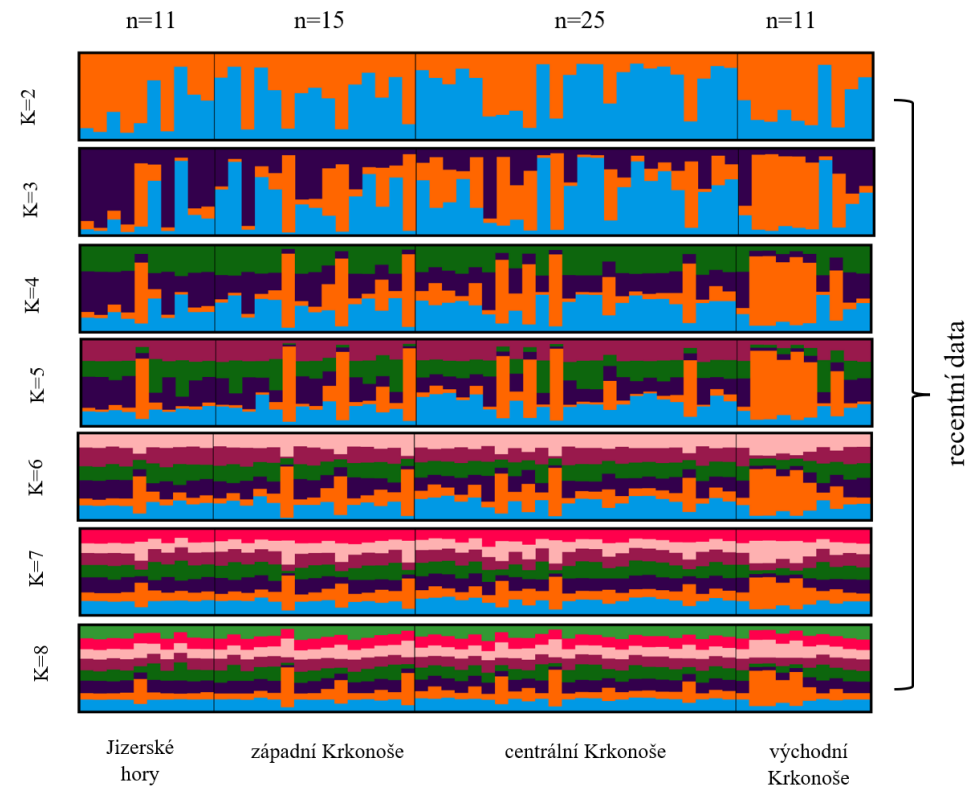


Obrázek 25: Nejpravděpodobnější hodnoty dle delta K, K=2, dle Mean LnP(K), K=3 a dle průměrných hodnot, K=3 (Puechmanille 2016), StructureSelector (Li & Liu, 2018).

Obrázek 26: Nejpravděpodobnější hodnoty dle delta K, K=3, dle Mean LnP(K), K=3 a dle průměrných hodnot K=3 (Puechmanille 2016), StructureSelector (Li & Liu, 2018).



Obrázek 27: Výsledek analýzy genetické struktury pro historický dataset, $K= 2-8$



Obrázek 28: Výsledek analýzy genetické struktury pro recentní dataset, $K= 2-8$

3.4. Přelety jedinců

Vzdálenosti přeletů jedinců byly zjišťovány podle opakovaných záznamů stejného genotypu v terénu. U většiny našich zkoumaných jedinců byla zjištěna vzorkovaná vzdálenost menší než 2 km, v Jizerských horách byla průměrná hodnota u samců 2,09 km a u samic 0,19 km (Tab. 12), Tato malá hodnota u samic z Jizerských hor je však způsobena malým počtem opakovaných záznamů stejného genotypu. Průměrné hodnoty přeletů v Krkonoších činí 2,88 km pro samce a 3,12 km pro samice (Tab. 13).

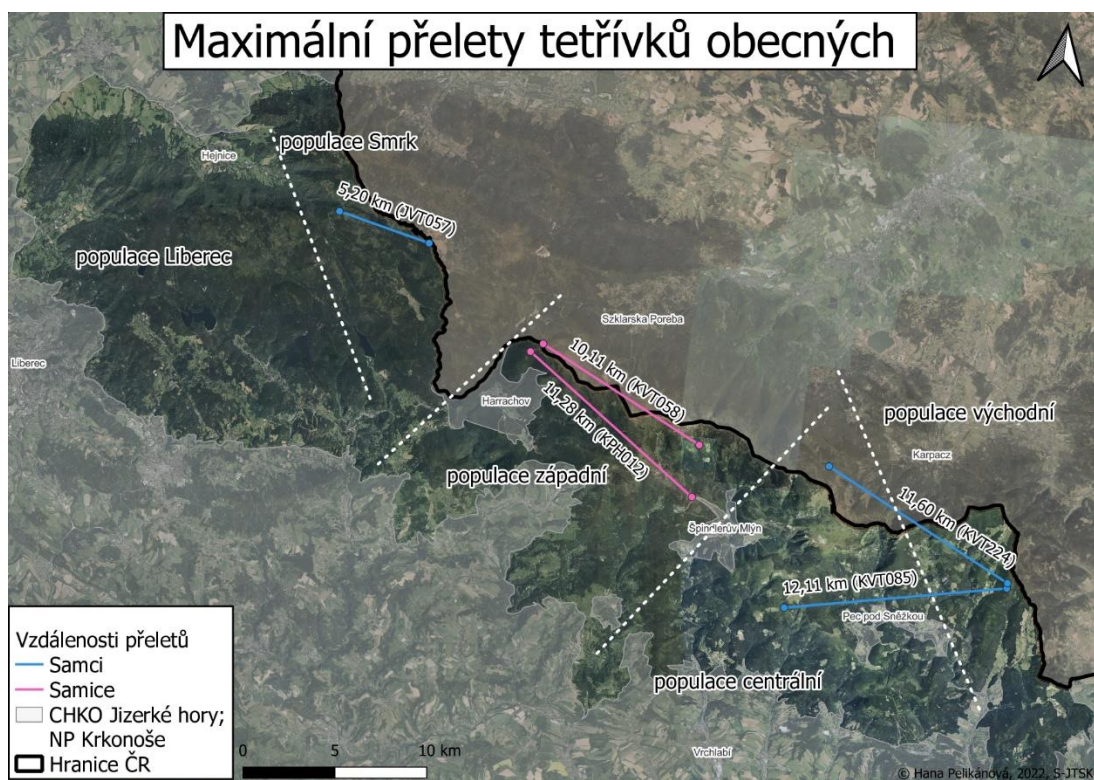
Tabulka 12: Vzdálenosti vzorkování u jedinců v Jizerských horách, rozděleno dle pohlaví. Průměr pro jednotlivá pohlaví i celkový průměr, SD = směrodatná odchylka

ID	pohoří	pohlaví	Vzdálenost (km)
JJF004	Jizerské hory	samec	1,7
JJF005	Jizerské hory	samec	3,02
JVT011	Jizerské hory	samec	0,15
JVT007	Jizerské hory	samec	0,26
JVT007	Jizerské hory	samec	1,5
JVT007	Jizerské hory	samec	3,09
JVT057	Jizerské hory	samec	0,97
JVT057	Jizerské hory	samec	5,2
JJF020	Jizerské hory	samec	1,17
JVT052	Jizerské hory	samec	2,74
JVT050	Jizerské hory	samec	4,3
JVT050	Jizerské hory	samec	1
průměr			2,09
SD			1,52
JVT075	Jizerské hory	samice	0,24
JVT047	Jizerské hory	samice	0,04
JVT038	Jizerské hory	samice	0,18
JVT021	Jizerské hory	samice	0,3
průměr			0,19
SD			0,09
Jizerské hory celkem			1,62

Tabulka 13: Vzdálenosti vzorkování u jedinců v Krkonoších, rozděleno dle pohlaví. Průměr pro jednotlivá pohlaví i celkový průměr, SD = směrodatná odchylka

ID	pohoří	pohlaví	Vzdálenost (km)
KRK279	Krkonoše	samec	1,5
KVT211	Krkonoše	samec	0,844
KPH11	Krkonoše	samec	0,74
KPH11	Krkonoše	samec	2,68
KPH11	Krkonoše	samec	2,73
KRK064	Krkonoše	samec	2,8
KVT206	Krkonoše	samec	0,72
KVT206	Krkonoše	samec	0,88
KRK070	Krkonoše	samec	2,68
KBR02	Krkonoše	samec	2,8
KRK086	Krkonoše	samec	0,52
KRK075	Krkonoše	samec	1,3
KRK074	Krkonoše	samec	0,93
KRK074	Krkonoše	samec	2,51
KVT154	Krkonoše	samec	1,22
KRK112	Krkonoše	samec	0,9
KVT162	Krkonoše	samec	1,75
KVT037	Krkonoše	samec	2,29
KVT259	Krkonoše	samec	0,75
KRK033	Krkonoše	samec	2,69
KVT137A	Krkonoše	samec	9,63
KVT273	Krkonoše	samec	7
KVT132	Krkonoše	samec	0,8
KVT224	Krkonoše	samec	11,6
KVT227	Krkonoše	samec	2,57
KVT227	Krkonoše	samec	0,88
KVT085	Krkonoše	samec	12,11
průměr			2,88
SD			3,2
KVT058	Krkonoše	samice	10,11
KVT058	Krkonoše	samice	0,74
KPH012	Krkonoše	samice	11,28
KRK280	Krkonoše	samice	0,73
KRK092	Krkonoše	samice	0,7
KPH5	Krkonoše	samice	4,32
KVT161	Krkonoše	samice	2,1
KRK026	Krkonoše	samice	6,89
KRK026	Krkonoše	samice	5
KVT028	Krkonoše	samice	1,89
KRK043	Krkonoše	samice	1,18
KRK036	Krkonoše	samice	0,8
KVT046	Krkonoše	samice	0,45
KVT158A	Krkonoše	samice	2,2
KVT185A	Krkonoše	samice	0,8
KVT221	Krkonoše	samice	0,73
průměr			3,12
SD			3,38
Krkonoše celkem			2,97

Analyzovala jsem také nejdelší vzorkované vzdálenosti a největší hodnoty jsem zpozorovala v Krkonoších (Obr. 29). Nejdelší vzdálenost přeletu samice měřila 11,28 km (Mrtvý Vrch – Medvědín) a druhá nejdelší měřila 10,11 km, tato samice přeletěla z Mrtvého Vrchu na Brádrlerovy boudy. Dvě následující zjištěná maxima patří samcům, a to s délkou 11, 60 km (Pomezní hřeben – Wielki Staw) a 12,11 km (Pomezní hřeben – Přední Rennerovky). Na mapě (Obr. 30) můžeme vidět, že jedinci z východní populace se musí vypořádat s bariérami a překonávat je při přeletu do jiné populace. V Jizerských horách byla nejdelší vzdálenost zjištěna u samce, u kterého měřila 5, 20 km (Vlčí kameny – Plochý vrch).



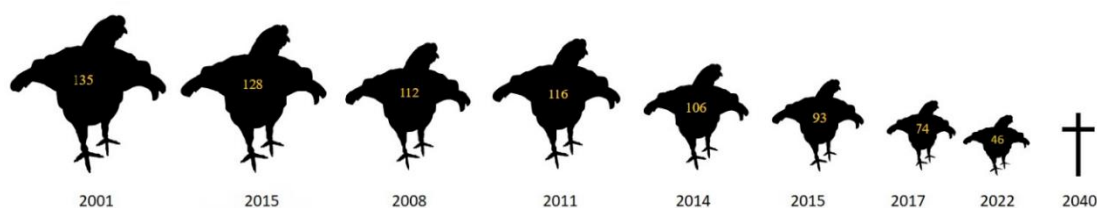
Obrázek 29: Nejdelší zjištěné vzdálenosti v Krkonoších: samice = 11,28 km (Mrtvý vrch – Medvědín), samice = 10,11 km (Mrtvý Vrch – Brádrlerkovy boudy), samec = 11,6 km, (Pomezní hřeben – Wielki Staw) a druhý samec = 12,11 km (Pomezní hřeben – Přední Rennerovky) a nejdelší zjištěná vzdálenost v Jizerských horách – samec 5,20 km (Vlčí kameny – Plochý vrch), Qgis ver 3.26. 3., Hana Pelikánová, 2022

4. Diskuze

Informace o distribuci genetické diverzity mezi populacemi ohrožených druhů mají velký význam pro ochranářskou biologii a hrají velkou roli při formulování strategií na ochranu a management druhu (Frankham et al., 2014). Ačkoliv je populace tetřívků v Krkonoších jedna z nejvyšší z celé ČR, je zde výrazný pokles za posledních 20 let, kdy od roku 2001 do roku 2017 byl zaznamenán pokles populace o 45 %, a proto jsem zde analyzovala genetickou diverzitu i strukturu lokálních populací.

Tetřívci musí v Krkonoších a Jizerských horách čelit habitatovým ztrátám především díky antropogenní činnosti (Flousek, 2016), mezi tyto habitatové ztráty patří zarůstání holin, výstavba skiareálů a turistických stezek, podílí se na nich také klimatická změna a s ní spojený posun horní hranice lesa. Tyto negativní ztráty se projevují na poklesu početnosti (např. Caizergues et al., 2003; Höglund et al., 2006; Rutkowski et al., 2018; Svobodová et al., 2011) a může mít efekt i na genetickou diverzitu. Hodnoty genetické diverzity krkonoško-jizerskohorských tetřívků však nebyly nízké ($H_o = 0,64$, $H_e = 0,60$). I když srovnání těchto parametrů s jinými populacemi je ale důležitá velikost vzorků či zvolený počet lokusů, tyto zjištěné hodnoty jsou například srovnatelné s fragmentovanými populacemi ve francouzských, italských i švýcarských Alpách (Caizergues et al., 2003) nebo s populacemi ve východních Alpách v Rakousku (Sittenthaler et al., 2018). Genetická diverzita krkonoško-jizerskohorské populace je také srovnatelná s hodnotami malých izolovaných populací v Německu, Rakousku a Velké Británii, zatímco vyšší heterozygotnost byla zjištěna u kontinuálních populací ve Finsku, Norsku, Švédsku a Lotyšsku (Strand et al., 2012). Polská studie Rutkowski et al. (2018) zjistila podobné hodnoty genetické diverzity pro polskou populaci v Krkonoších a Jizerských horách, v dalších polských populacích (severo-východní část a karpatská) byly také zjištěny srovnatelné hodnoty s těmi krkonoško-jizerskými, avšak s výjimkou dvou populací, které byly posíleny jedinci z Běloruska, kde byla zjištěna vyšší genetická diverzita. Práce Segelbacher et al., (2003) věnovaná fragmentovaným populacím v Evropě a práce Höglund et al., (2006), která byla zaměřená na populace napříč celou Evropou, podporují myšlenku, že fragmentace a izolace stanovišť mají významný dopad na genetickou diverzitu lesních kurů. Má predikce nižší genetické diverzity byla naplněna především u okrajových populací (populace Liberec a populace východní). Tato ztráta genetické

diverzity, zapříčiněná poklesem početnosti a ztrátou vhodných habitatů, způsobuje větší izolaci zbývajících populací. U některých evropských populací byly detekovány zvýšené hodnoty inbreedingu (F_{is}) (Höglund et al., 2006). U našich studovaných populací nebyly zjištěny žádné signifikantní známky inbreedingu, avšak východní populace dosahuje hraničních hodnot (-0,113). Tato izolovaná populace je tvořena již jen 6 tokajícími samci a její nižší genetická diverzita může být zapříčiněna slabým genetickým tokem, geografickou bariérou, ale také vlivem výstavby v obcích Pec pod Sněžkou a Velkou a Malou Úpou (Flousek, 2016). Naopak nejvyšší genetická diverzita a zároveň početnost byla zjištěna u populace západní, kde je početnost odhadována na 23 tokajících samců. Tato populace dokáže komunikovat s populací Smrk i s centrální a pravděpodobně i s pár jedinci na polské straně Krkonoš. Aktuální počet kohoutků v Krkonoško-jizerskohorské populaci byl zjištěn na 65 tokajících samců na území NP Krkonoše čítá toto číslo již jen 46 kohoutků a v CHKO Jizerské hory 19 kohoutků. Tento negativní vývoj populace s blízkou predikcí vyhynutí můžeme pozorovat na simulačním obrázku (Obr. 30).



Obrázek 30: Vývoj početnosti kohoutků tetřívka obecného v Krkonoších, vypůjčeno ze www.zachranmetrivka.cz a doplněno o současný počet.

Navzdory přirozené i antropogenní fragmentaci habitatů byla v této studii zjištěna slabá genetická struktura populací (průměrné $F_{ST} < 0,05$), což naznačuje, že fragmentace biotopů disperzi zcela nebrání, ale pravděpodobně ji do určité míry omezuje. V polské studii vyšla úroveň genetické diferenciaci mnohem vyšší (F_{ST} na 0,156) (Rutkowski et al. 2018). Odlišnost těchto hodnot je ale pravděpodobně způsobena jinou metodou výpočtu a použitím jiných a jiného počtu lokusů. Výsledky mých analýz ukazují, že dochází k izolovanosti dílčích populací, ale pravděpodobně jsou tyto populace ještě více fragmentované a izolované, než nám tyto výsledky ukazují. Výsledky také ukázaly, že genetický tok mezi Jizerskými horami a Krkonošemi je významně omezen. Studie Svobodové et al. (2011) před 15 lety zjistila, že Jizerské hory nejsou oddělené od Krkonoš a že se tato populace výrazně liší

od ostatních horských populací, např. v Krušných horách a na Šumavě. Tuto populaci považuje za odlišnou také Rutkowski et al. (2018), jenž se výrazně odlišuje od ostatních polských populací (severovýchodní a karpatská oblast) a měla by být klasifikována jako unikátní ochránářská jednotka (Conservation Unit). Důležité je taky zmínit zpoždění projevu. Při přerušení toku genů nějakou dobu trvá, než se projeví genetický drift a skrze něj se geneticky odliší jednotlivé populace. Toto zpoždění má vliv i co se týče poklesu genetické diverzity (Flegr 2005, Taylor et al., 2017).

Potencionálně vhodných biotopů v Krkonoších je však více než kde jsou tetřivci. Na habitatovém modelu vidíme ještě zelená místa, která jsou tetřivky neobsazená a dle vhodnostních kritérií by tyto lokality připadaly v úvahu. Nicméně v západních Krkonoších, konkrétně v lokalitách Mechovinec – Žalý, Dvoračky – Rezek a Lysá hora – Plešivec již tetřivky nenachází vhodné lokality z důvodu hustého lesního porostu a lyžařského využití území. Na Lysé hoře končí horní stanice lanovky a v lokalitách jako Mechovinec a Žalý je hustý výskyt běžkařských tratí. V centrálních Krkonoších by se pak jednalo o Kozí hřbety, které jsou v zimních měsících nelegálně využívány skialpinisty. Další zelené místo, která představuje vhodný biotop, je Růžová hora, ta je celosezónně turisticky vytížená. Ke zlepšení propojenosti tetřivčích biotopů by pravděpodobně mohla pomoci i výstavba 24 tetřivčích center na podzim roku 2018 a momentálně tyto centra slouží jako nášlapné kameny (Flousek et. al., 2021).

Ve většině studií, které se věnovaly porovnání genetické diverzity současných a historických vzorků tetřivků obecných, došli k závěru, že současné populace vykazují nižší genetickou diverzitu a vyšší strukturovanost (např. Larsson et al., 2008; Segelbacher et al., 2014). Historické vzorky však v obou studiích pocházely z mnoha míst (muzea, soukromé sbírky) a jedná se o fragmentovaná data a období s větším časovým rozptylem. Práce Kunz et al. (2021) zjišťovala rozdíly historických (1999- 2004) a současných dat (2013–2017) u tetřeva hlušce a neobjevila rozdíly v genetické diverzitě, avšak zjistili, že se zvýšila strukturovanost populací. Tato práce žádné signifikantní rozdíly v genetické diverzitě mezi populacemi nezjistila. Srovnání genetického toku naznačuje negativní trend, přesto nebyly zjištěny žádné významné rozdíly a stále pozorujeme drastické snižování počtu populace, což je pravděpodobně dáno rušením lidmi, kdy pozorujeme rostoucí trend návštěvnosti (KRNAP ©2021), fragmentací a úbytkem vhodných biotopů (Pánek 2022) anebo zpožděním projevu genetického driftu na malých fragmentovaných populacích jako už bylo zmíněno výše

(Flegr 2005, Taylor et al., 2017). Rozšíření tetřívka obecného v Krkonoších a Jizerských horách je limitováno především horskými hřebeny a jejich habitaty vykazují určitý stupeň přirozené fragmentace, za místa vhodného habitatu se považuje centrální oblast české i polské části Jizerských hor a vrcholové partie české části Krkonoš (Pánek, 2022). Navíc v posledních 90 letech došlo k podstatné antropogenní fragmentaci (Sittenthaler et al., 2018), fragmentaci potvrzují i Pánek (2022). Jádrové území krkonošsko-jizerskohorských tetřívků tvoří již jen 122,12 km² po aplikaci rušivých antropogenních struktur, jako jsou např. cesty či zástavba, klesla rozloha této plochy jen na 22,54 km² (Pánek 2022). Návštěvnost a rušení turisty hraje velkou roli na vývoj početnosti populace tetřívků v Krkonoších. Zaznamenané průchody turistů ve vrcholových partiích v roce 2018 činily 860 000 průchodů, zatímco v roce 2021 tomu bylo už přes 100 000 000 průchodů a návštěvnost stále roste (KRNAP ©2021). Díky těmto výsledkům můžeme antropogenní struktury a rušení považovat za hlavní příčinu úbytku současné populace.

Pro sledování pohybu jedinců v prostoru je možné využití genetických analýz, pomocí zjištění jedinečného genotypu každého jedince (De Barba et al., 2010, Smith et al., 2006). Podle něj může být jedinec zaznamenán i příště na jiné lokalitě, ale k takové studii, která sleduje pohyb jedinců, je zapotřebí vysokého počtu opakovaných záznamů stejného genotypu (De Barba et al. 2010). Tento typ studie však nebyl naším primárním cílem, pro přesnější odhady pohybů by bylo zapotřebí mít komplexnější záznamy. Údaje o disperzních vzdálenostech jedinců jsou ale důležité pro pochopení genetické struktury populací, procesů regulace populací a vlivů krajinné ekologie na dynamiku metapopulací.

Disperzní vzdálenosti tetřívků se pohybují od 1 do 20 km v závislosti na pohlaví a ročním obdobím (Caizergues et al., 2003), zatímco jednotlivé denní přelety činí v průměru 1700 m (v jarním období) (Málková et al., 2000). Caizergues et al. (2003) však uvádí, že obě pohlaví tetřívků se pohybují mezi biotopy na vzdálenosti 2-3 km, v některých případech ale překračují maximální vzdálenosti 20 km a překračují údolí procházením horských průsmyků (Caizergues & Ellison 2002). Naše zjištěné průměrné přelety (Ø 3,12 km, samice; Ø 2,88 km, samci) odpovídají průměrným hodnotám výše zmíněných studií. Nebyl také zaznamenán žádný přelet mezi Jizerskými horami a Krkonošemi, což potvrzuje, že populace mezi pohořími spolu nekomunikují. Disperzní potenciál našich tetřívků (Příloha 1, 2), jenž byl stanoven

ze zjištěných průměrných hodnot, ukazuje potenciál rozptylu jedinců. Krkonošští tetřívci by byli schopni obsadit větší plochu, než predikuje habitatový model (Dušan Romportl, VIII. 2022, pers. comm), nicméně tyto plochy již nenabízí vhodné biotopy, které přirozeně tetřívek obsazuje.

Studie Svobodové et al. (2011) již naznačila negativní trend. Bohužel ke snižování počtu tetřívků neustále dochází a mnohem rychleji, než co se týče úbytku genetické diverzity a nárůstu strukturovanosti jejich populací. Pro zastavení negativního vývoje populace by se dalo doporučit omezit rušení na dalších turistických místech, výstavba dalších center a sledovat vývoj populace skrze každoroční monitoring počtu tokajících samců. Z genetického hlediska by šly doporučit i translokace, nicméně ve většině případů jsou tyto programy neúspěšné (například Boon, 2016; Walker, 2010).

5. Závěr

Tato práce je krok k záchraně tetřívků obecných v České republice, především v Krkonoších a Jizerských horách, a představuje hlavní výsledky jako:

- Nejnižší genetická diverzita byla zjištěna u okrajových populací.
- Ze srovnání s dalšími evropskými populacemi tetřívka vyplývá, že genetická variabilita v českých populacích dosud nebyla výrazně zredukována, a že tedy z genetického hlediska stále zůstává prostor pro záchranné aktivity. I když k určitému poklesu velmi pravděpodobně došlo, jak napovídá srovnání hodnot genetické diverzity českých populací s velkými kontinuálními i menšími fragmentovanými populacemi v jiných částech Evropy.
- Pozitivní také je, že ani v jedné z populací zatím nebyl zjištěn inbreeding, který může vést až k inbrední depresi.
- Stále však pozorujeme klesající trend, kdy početní stav v Krkonoších činí 46 kohoutků a v Jizerských horách 19 kohoutků.
- Populace západní a centrální jsou nejpočetnější a s největší pravděpodobností mezi nimi dochází ke genetickému toku a je důležité propojenost zachovat
- Populace jsou jasně strukturované a klastrová analýza ukázala jasné oddělení Jizerských hor od Krkonoš, se zřetelně odlišenou populací Smrk, ale také pozorujeme oddělování východní a Liberecké populace.
- Při porovnání historických a současných vzorků nebyly zaznamenány žádné signifikantní rozdíly v genetické diverzitě. V klastrové analýze u historických vzorků se jasně vyčleňovala populace na Pomezním hřebeni (východní) a u recentních vzorků se navíc začínají oddělovat i Jizerské hory a jsou více strukturovanější
- Průměrné hodnoty přeletů pro samice činí 3,12 km a 2,88 km pro samce. Dva nejdelší přelety samců byly oba z lokality Pomezního hřebene, ten se nachází mezi Dolní Malou Úpou a Lysečinskými Boudami, což je méně než 1 km od nejbližších staveb.
- Ochranná opatření jsou nezbytná pro udržení a zachování populace vzhledem k narůstání rušení, největší výzvou pak bude regulace antropogenního rušení.
- Jelikož tetřívci neumí migrovat na velké vzdálenosti a jejich genetický tok probíhá na základě tzv. stepping stone modelu, pro jejich ochranu je zásadní zamezit další

fragmentaci areálu výskytu, a to především v západní a centrální části Krkonoš, kde se nachází největší populace.

- Je zapotřebí zvýšit migraci mezi okrajovými populacemi a zároveň je podstatné jim zajistit co největší možný klid v zimních a jarních měsících (v období toku).

6. Literatura

- Anderson M. (1994): *Sexual Selection*. Princeton Univ. Press, Princeton, New Jersey.
- Anderson, W. L. (1978). Waterfowl collisions with power lines at a coal-fired power plant. *Wildlife Society Bulletin*, 77-83.
- Angelstam, P. (1979). Black Grouse (*Lyrurus tetrix* L.) reproductive success and survival rate in peak and crash small-rodent years in central Sweden—a preliminary report. In *Woodland Grouse Symp.*, Inverness, Vol. 1978, pp. 101-110.
- Arlettaz, R., Patthey, P., Baltic, M., Leu, T., Schaub, M., Palme, R., & Jenni-Eiermann, S. (2007). Spreading free-riding snow sports represent a novel serious threat for wildlife. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1614), 1219-1224.
- Arlettaz, R., Patthey, P., Braunisch, V. (2013). Impacts of Outdoor Winter Recreation on Alpine Wildlife and Mitigation Approaches: A Case Study of the Black Grouse. *The Impacts of Skiing and Related Winter Recreational Activities on Mountain Environments*, May 2014, 137–154.
- Baltic, M. (2005). Impact of human disturbance on Alpine wildlife in winter: stress, activity and energetics in the endangered Black grouse *Tetrao tetrix*. Inauguraldissertation Der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät Der Universität Bern, 78.
- Barredo, J. I., Mauri, A., & Caudullo, G. (2020). Impacts of climate change in European mountains—Alpine tundra habitat loss and treeline shifts under future global warming, 28.
- Bergmann, H-H., and S. Klaus. (1994). Distribution, Status and limiting factors of Black Grouse (*Tetrao tetrix*) in Central Europe, particularly in Germany, including an evaluation of reintroductions. *Gibier Faune Sauvage* 11 (1994): 99-122.
- Boon, L. (2016). Reintroduction and GPS tracking of the black grouse in the National Park De Hoge Veluwe (Master's thesis), 29.

- Braunisch, V., Patthey, P., & Arlettaz, R. (2011). Spatially explicit modeling of conflict zones between wildlife and snow sports: prioritizing areas for winter refuges. *Ecological Applications*, 21(3), 955-967.
- Brown, R. M., & Laband, D. N. (2006). Species imperilment and spatial patterns of development in the United States. *Conservation Biology*, 20(1), 239–244.
- Caizergues, A., Dubois, S., Loiseau, A., Mondor, G., & Rasplus, J. Y. (2001). Isolation and characterization of microsatellite loci in black grouse (*Tetrao tetrix*). *Molecular Ecology Notes*, 1(1–2), 36–38.
- Caizergues, A., & Ellison, L. N. (2002). Natal dispersal and its consequences in black grouse *Tetrao tetrix*. *Ibis*, 144(3), 478-487.
- Caizergues, A., Rätti, O., Helle, P., Rotelli, L., Ellison, L., & Rasplus, J. Y. (2003). Population genetic structure of male black grouse (*Tetrao tetrix* L.) in fragmented vs. Continuous landscapes. *Molecular Ecology*, 12(9), 2297–2305.
- Corrales, C., & Höglund, J. (2012). Maintenance of gene flow by female-biased dispersal of Black Grouse *Tetrao tetrix* in northern Sweden. *Journal of Ornithology*, 153(4), 1127–1139.
- Corrales, C., Pavlovska, M., & Höglund, J. (2014). Phylogeography and subspecies status of Black Grouse. *Journal of Ornithology*, 155, 13-25.
- Cramp S. & Simmons K. E. L. (1980): Handbook of the Birds of Europe, the Middle East and North Africa. Vol. 2. Oxford Univ. Press, Oxford
- Creel, S., Spong, G., Sands, J. L., Rotella, J., Zeigler, J., Joe, L., Murphy, K. M., & Smith, D. (2003). Population size estimation in Yellowstone wolves with error-prone noninvasive microsatellite genotypes. *Molecular Ecology*, 12(7), 2003–2009.
- Cukor, J., Linda, R., Andersen, O., Eriksen, L. F., Vacek, Z., Riegert, J., & Šálek, M. (2021). Evaluation of spatio-temporal patterns of predation risk to forest grouse nests in the central European mountain regions. *Animals*, 11(2), 1–16.
- De Barba, M., Waits, L. P., Garton, E. O., Genovesi, P., Randi, E., Mustoni, A., & Groff, C. (2010). The power of genetic monitoring for studying demography, ecology and genetics of a reintroduced brown bear population. *Molecular*

ecology, 19(18), 3938-3951.

- Ekolist (2021): Odborníci se snaží vrátit ohroženého tetřívka do jesenické přírody 2021 [online]. Ekolist ©2022 [cit. 2022-10-11]. Dostupné z: <https://ekolist.cz/cz/zpravodajstvi/zpravy/odbornici-se-snazi-vratit-ohrozeneho-tetrivka-do-jesenicke-prirody>
- Erlebach, M., & Romportl, D. (2021). Časoprostorová distribuce turismu v Krkonoších a jeho environmentální dopady. Opera Corcontica, 58: 5-25.
- Evanno G, Regnaut S & Goudet J, (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. Molecular Ecology 14: 2611-2620.
- Flegr, J. (2005). Evoluční biologie [Evolutionary biology]. Academia, Praha, 19949-19954, 560.
- Flousek, J. (2016). Vliv lyžování na horskou přírodu : shrnutí současných poznatků a stav v Krkonoších [Impact of skiing on mountain nature : review. January 2016, 15–60.
- Flousek, J. (2019). Přežijí krkonošští tetřívci rok 2040? 2018–2019.
- Flousek, J. (2020). Jak dopadlo letošní sčítání krkonošských tetřívků?. Časopis Krkonoše a Jizerské hory Časopis Krkonoše-Jizerské hory, 8/2020, 8-9.
- Flousek, J., Hoffman, G. (1986). Chov tetřeva hlušce (Tetrao urogallus) v Krkonošském národním parku (Předběžné sdělení) . Opera Corcontica, 23: 171 – 191.
- Flousek, J., & Volf, O. (2012). Nechováme se k tetřívkoví macešsky. Ochrana přírody 3/2012, 17-21.
- Flousek, J., Romportl, D., Zýka, V. (2021). S počítačem na krkonošské tetřívky?. Ochrana přírody, 1/2021, 26-30.
- Frankham, R. (2003). Genetics and conservation biology. Comptes Rendus Biologies, 326, 22–29.
- Frankham, R., Bradshaw, C. J., & 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.
- Garniel A., Daunicht W. D., Mierwald U. & Ojowski U. (2007): Vögel und Verkehrslärm. Quantifizierung und Bewältigung entscheidungserheblicher Auswirkungen von Verkehrslärm auf die Avifauna. Schlussbericht, FuEVorhaben 02.237/2003/LR des Bundesministeriums für Verkehr, Bau und Stadtentwicklung, Bonn, Kiel: 1–273.
- Grant, M. C., Cowie, N., Donald, C., Dugan, D., Johnstone, I., Lindley, P., Moncreiff, R., Pearce-Higgins, J. W., Thorpe, R., & Tomes, D. (2009). Black grouse response to dedicated conservation management. *Folia Zoologica*, 58(2), 195–206.
- 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.
- Grünschachner-Berger, V., & Kainer, M. Birkhühner, (2011) *Tetrao tetrix* (Linnaeus 1758): Život mezi větrnými turbínami a lyžařskými vleky.
- Hájková, P., Zemanová, B., Bryja, J., Hájek, B., Roche, K., Tkadlec, E., & Zima, J. (2006). Factors affecting success of PCR amplification of microsatellite loci from otter faeces. *Molecular Ecology Notes*, 6(2), 559–562.
- Höglund, J. (1996). Can mating systems affect local extinction risks? Two examples of lek-breeding waders. *Oikos*, 184-188.
- Höglund, J. (2009). Genetic studies of black grouse with special reference to conservation biology: a review. *Folia Zoologica*, 58(2), 135.
- Höglund, J., & Stöhr, S. (1997). A non-lekking population of black grouse *Tetrao tetrix*. *Journal of Avian Biology*, 184-187.
- Höglund, J., Larsson, J. K., Jansman, H. A. H., & Segelbacher, G. (2006). Genetic variability in European black grouse (*Tetrao tetrix*). *Conservation Genetics*, 8(1), 239–243.
- Chobot K. (2017). Červený seznam ohrožených druhů České republiky, Obratlovci. Příroda, Recenzovaný Odborný Časopis pro Ochranu Přírody a Krajiny, 148, 182.
- IUCN (2022). Pokyny pro repatriace a další ochrannářsky motivované translokace 2022

[online]. Gland, Switzerland: IUCN Species Survival Commission. ©2022 [cit. 2022-10-11]. Dostupné z: <https://iucn-ctsg.org/project/iucn-ctsg-guidelines-czech/>.

- Johnson, J. A., Bellinger, M. R., Toepfer, J. E., & Dunn, P. (2004). Temporal changes in allele frequencies and low effective population size in greater prairie-chickens. *Molecular Ecology*, 13(9), 2617-2630.
- Jombart, T. (2008). adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11), 1403-1405.
- Jombart, T., Devillard, S., & Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC genetics*, 11(1), 1-15.
- Kalinowski, S. T. (2005). hp-rare 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Molecular ecology notes*, 5(1), 187-189.
- Kalinowski, S. T., Taper, M. L., & Marshall, T. C. (2007). Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular ecology*, 16(5), 1099-1106.
- Keenan, K., McGinnity, P., Cross, T. F., Crozier, W. W., & Prodöhl, P. A. (2013). diveRsity: An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. *Methods in ecology and evolution*, 4(8), 782-788.
- Keller, L. F., & Waller, D. M. (2002). Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology and Evolution*, 17(5), 230–241.
- Keller, V., Herrando, S., Voríšek, P., Franch, M., Kipson, M., Milanesi, P., & Foppen, R. P. B. (2020). European breeding bird atlas 2: Distribution, abundance and change. 94-95.
- Kravka, T. 2019. Socioekonomický výzkum návštěvnosti Krkonošských národních parků. MindBridge Consulting s.r.o., Praha, 53.
- Kunz, F., Kohnen, A., Nopp-Mayr, U., & Coppes, J. (2021). Past, present, future: tracking and simulating genetic differentiation over time in a closed metapopulation system. *Conservation Genetics*, 22(3), 355-368.

- Kurki, S., Helle, P., Lindén, H., & Nikula, A. (1997). Breeding success of black grouse and capercaillie in relation to mammalian predator densities on two spatial scales. *Oikos*, 301-310.
- Larsson, J. K., Jansman, H. A. H., Segelbacher, G., Höglund, J., & Koelewijn, H. P. (2008). Genetic impoverishment of the last black grouse (*Tetrao tetrix*) population in the Netherlands: Detectable only with a reference from the past. *Molecular Ecology*, 17(8), 1897–1904.
- Lebigre, C., Alatalo, R. V., Siitari, H., & Parri, S. (2007). Restrictive mating by females on black grouse leks. *Molecular Ecology*, 16(20), 4380-4389.
- Lesy ČR, (2019). Tisková zpráva: Vzácný tetřívěk obecný je v Jizerských horách ještě doma [online]. ©2022 [cit. 2022-11-11]. Dostupné z: <https://lesy.cz/tiskova-zprava/vzacny-tetrivek-obecny-je-v-jizerskych-horach-jeste-doma/>
- Li, Y. L., & Liu, J. X. (2018). StructureSelector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular ecology resources*, 18(1), 176-177.
- Lindström, J., Ranta, E., Lindén, M., & Lindén, H. (1997). Reproductive output, population structure and cyclic dynamics in capercaillie, black grouse and hazel grouse. *Journal of Avian Biology*, 1-8.
- Loercher, F., Keller, L. F., & Hegglin, D. (2013). Low genetic diversity of the reintroduced bearded vulture (*Gypaetus barbatus*) population in the Alps calls for further releases.
- Marjakangas, A. (1992): Winter activity patterns of the Black Grouse *Tetrao tetrix*. *Ornis Fennica*, 69: 184-192.
- Marjakangas, A., Rintamäki, H. & Hissa, R. (1984): Thermal responses in the capercaillie *Tetrao urogallus* and the black grouse *Lyrurus tetrix* roosting in the snow. *Physiological Zoology*, 57: 99-104.
- Marjakangas, A., & Kiviniemi, S. (2005). Dispersal and migration of female Black Grouse *Tetrao tetrix* in eastern central Finland. *Ornis Fennica*, 82(3), 107-116.
- Málková, P., Bejček, V., Šťastný, K., Šimová, P., & Tomsová, H. (2000). Ecology of the Black Grouse (*Tetrao tetrix*) on the Grünwald Peat Bog in the Krusne Hory

- Mts. Landscape, 20, 421–438.
- Miquet, A. (1990). Mortality in black grouse *Tetrao tetrix* due to elevated cables. *Biological Conservation*, 54(4), 349–355. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(90\)90146-G](https://doi.org/10.1016/0006-3207(90)90146-G)
- Moritz C (2002) Strategies to protect biological diversity and the evolutionary processes that sustain it. *Syst Biol* 51:238–254
- Patthey, P., Wirthner, S., Signorell, N., & Arlettaz, R. (2008). Impact of outdoor winter sports on the abundance of a key indicator species of alpine ecosystems. *Journal of applied ecology*, 45(6), 1704-1711.
- Paradis, E. (2010). pegas: an R package for population genetics with an integrated–modular approach. *Bioinformatics*, 26(3), 419-420.
- Pánek, M. (2022). Konektivita habitatů tetřívka obecného v Jizerských horách a Krkonoších. Praha, 2022. Diplomová práce (Mgr.). Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra fyzické geografie a geoekologie. 2022-01-26. Vedoucí práce Romportl, Dušan.
- Pérez, T., Vázquez, J. F., Quirós, F., & Domínguez, A. (2011). Improving non-invasive genotyping in capercaillie (*Tetrao urogallus*): redesigning sexing and microsatellite primers to increase efficiency on faeces samples. *Conservation Genetics Resources*, 3(3), 483–487.
- Piertney, S. B., & Höglund, J. (2001). Polymorphic microsatellite DNA markers in black grouse (*Tetrao tetrix*). *Molecular Ecology Notes*, 1(4), 303-304.
- Primack, R. B., Kindlmann, P., & Jersáková, J. (2011). Úvod do biologie ochrany přírody. Praha, PORTÁL sro. (472 s.), 15 s.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
- Puechmaille, S. J. (2016). The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: Subsampling and new estimators alleviate the problem. *Molecular Ecology Resources*, 16, 608–627.
- Rixen, C., & Rolando, A. (2013). The impacts of skiing and related winter recreational

activities on mountain environments. Soest, the Netherlands: Bentham Science Publishers.

Romportl D. & Zýka V. (2018): Analýza habitatových preferencí vybraných druhů živočichů. Zpráva k projektu MaGICLandscapes (dep. Správa KRNAP Vrchlabí): 24 str.

Rutkowski, R., Pałucki, A., Dulisz, B., Ciach, M., Nowak-Zyczyńska, Z., & Kowalewska, K. (2018). Conservation Genetics of the Black Grouse *Tetrao tetrix* in Poland-Distribution of Genetic Diversity among the Last Populations. *Acta Ornithologica*, 53 (2), 181–204.

Segelbacher, G., Paxton, R. J., Steinbrück, G., Trontelj, P., & Storch, I. (2000). Characterization of microsatellites in capercaillie *Tetrao urogallus* (AVES). *Molecular Ecology*, 9(11), 1934-1935.

Segelbacher G., Höglund J., Storch I. (2003). From connectivity to isolation: genetic consequences of population fragmentation in capercaillie across Europe. *Mol. Ecol.* 12: 1773–1780.

Segelbacher, G., Strand, T. M., Quintela, M., Axelsson, T., Jansman, H. A. H., Koelewijn, H. P., & Höglund, J. (2014). Analyses of historical and current populations of black grouse in Central Europe reveal strong effects of genetic drift and loss of genetic diversity. *Conservation Genetics*, 15(5), 1183–1195.

Seiler, C., Angelstam, P., & Bergmann, H. H. (2000). Conservation releases of captive-reared grouse in Europe—What do we know and what do we need. *Cahiers d’Ethologie*, 20, 235-252.

Sittenthaler, M., Kunz, F., Szymusik, A., Grünschachner-Berger, V., Krumböck, S., Stauffer, C., & Nopp-Mayr, U. (2018). Fine-scale genetic structure in an eastern Alpine black grouse *Tetrao tetrix* metapopulation. *Journal of Avian Biology*, 49(5), 1–14.

Smith, D. A., Ralls, K., Hurt, A., Adams, B., Parker, M., & Maldonado, J. E. (2006). Assessing reliability of microsatellite genotypes from kit fox faecal samples using genetic and GIS analyses. *Molecular Ecology*, 15(2), 387-406.

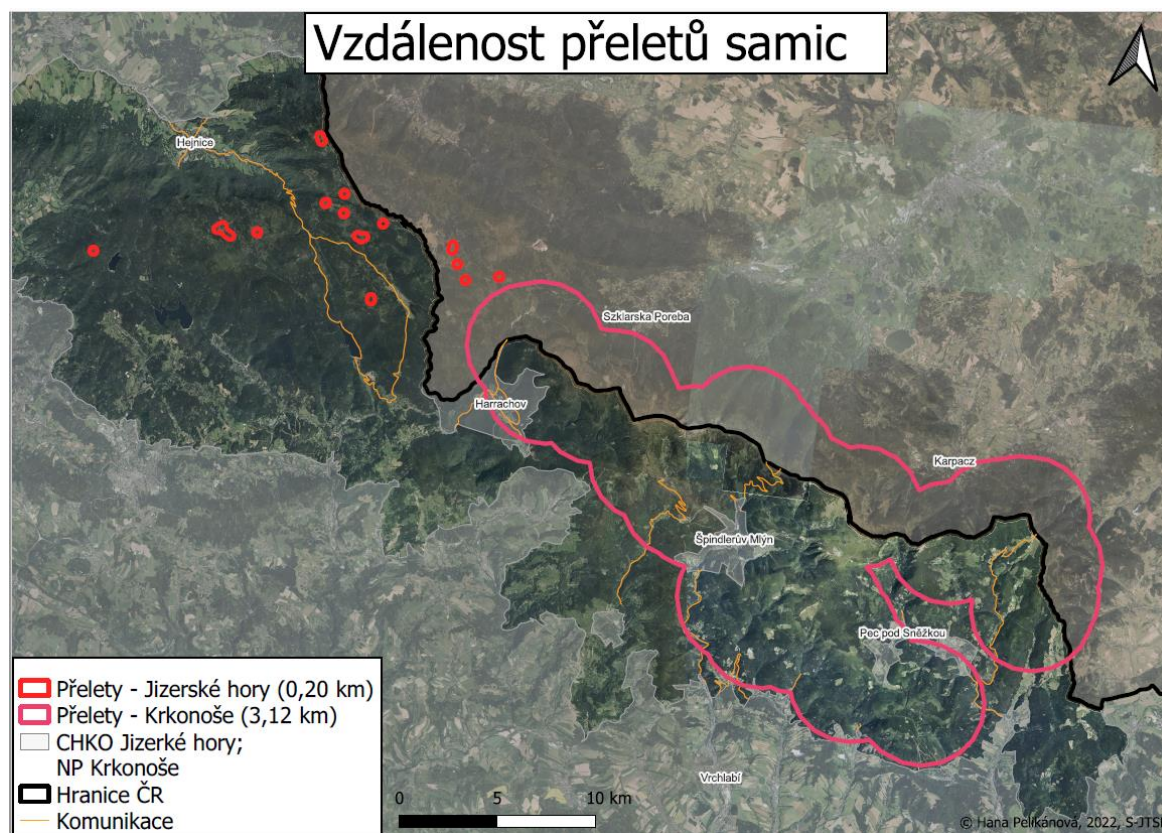
Správa KPN (2022). Szlaki zamknięte dla ochrony cietrzewia 2022 [online]. Jelenia

- Góra. Karkonoski National Park . ©2022 [cit. 2022-10-11]. Dostupné z: <https://kpnmab.pl/szlaki-zamkniete-dla-ochrony-cietrzewi-1640/n>
- Správa KRNAP (2021). Ročenka Správy KRNAP 2021 [online]. Vrchlabí. Správa Krkonošského národního parku. ©2022 [cit. 2022-10-11]. Dostupné z: <https://www.krnep.cz/sprava/ke-stazeni/rocenka-spravy-krnap/>
- Správa KRNAP (2022). Přehled cest každoročně uzavíraných z důvodu ochrany přírody 2022 [online]. Vrchlabí. Správa Krkonošského národního parku. ©2022 [cit. 2022-10-11]. Dostupné z: <https://www.krnep.cz/navstevnici/info-na-cesty/omezeni-na-cestach/>
- Statistica (2023). Number of ski areas in Europe in 2021, by country [online]. Statistica Inc., New York ©2023 [cit. 2023-02-01]. Dostupné z: <https://www.statista.com/statistics/660925/europe-number-of-ski-areas-by-country/>
- Starling-Westerberg, A. (2001): The habitat use and diet of Black Grouse Tetrao tetrix in the Pennine hills of northern England. *Bird Study*, 48: 76-89.
- Storch, I. (2000): An Overview to Population Status and Conservation of Black Grouse Worldwide. *Cahiers d'Ethologie*, Vol 20: 153 – 164.
- Storch, I., & Leidenberger, C. (2003). Tourism, mountain huts and distribution of corvids in the Bavarian Alps, Germany. *Wildlife Biology*, 9(4), 301-308.
- Storch, Ilse (2000). An overview to population status and conservation of Black Grouse worldwide. *Cahiers d'Ethologie Fondamentale et Appliquee, Animale et Humaine*, 20(September), 153–164.
- Strand, T. M., Segelbacher, G., Quintela, M., Xiao, L., Axelsson, T., & Höglund, J. (2012). Can balancing selection on MHC loci counteract genetic drift in small fragmented populations of black grouse?. *Ecology and evolution*, 2(2), 341-353.
- Summers, R. W., Green, R. E., Proctor, R., Dugan, D., Lambie, D., Moncrieff, R., & Baines, D. (2004). An experimental study of the effects of predation on the breeding productivity of capercaillie and black grouse. *Journal of Applied Ecology*, 41(3), 513-525.
- Svobodová, J., Segelbacher, G., & Höglund, J. (2011). Genetic variation in Black

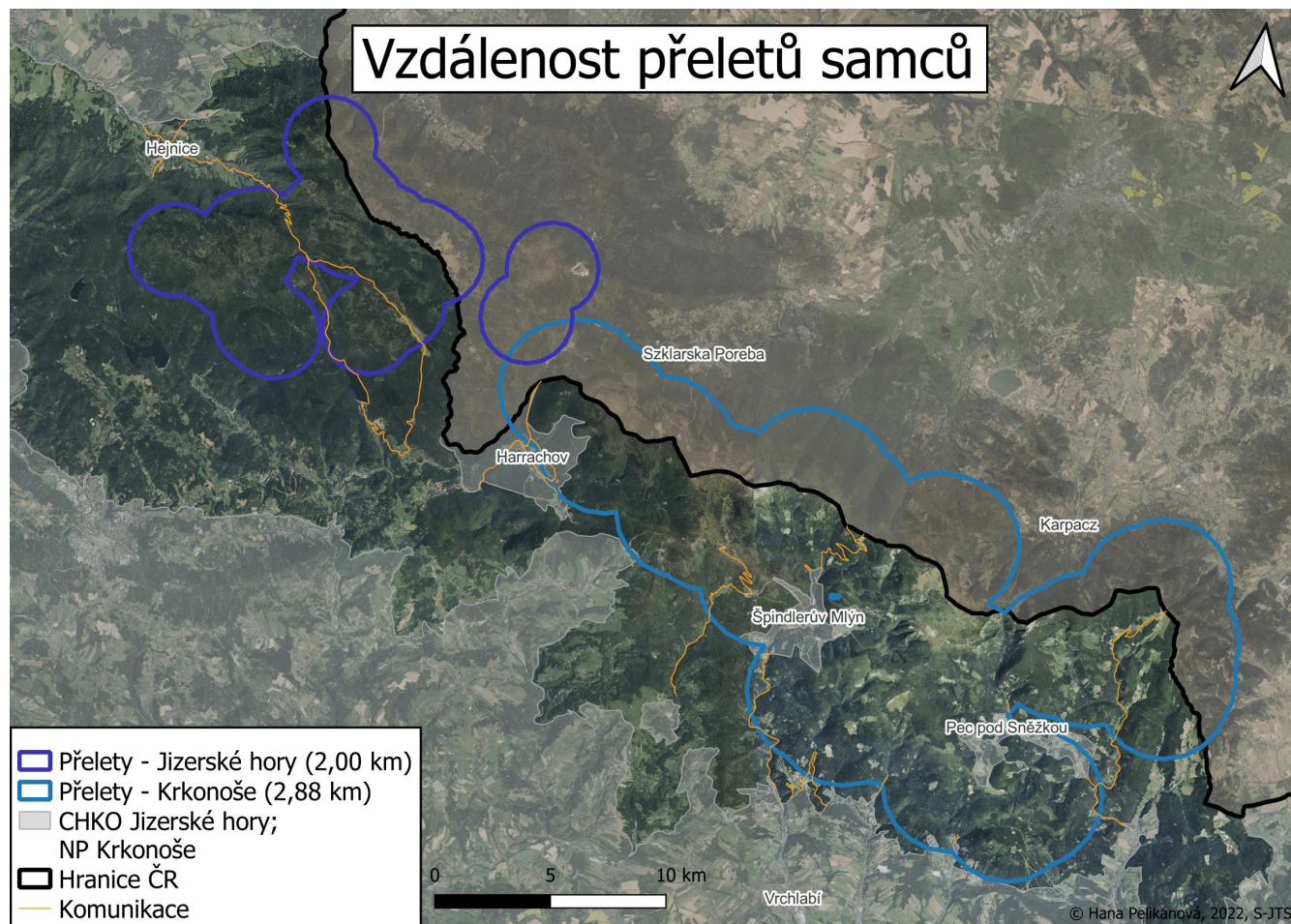
- Grouse populations with different lekking systems in the Czech Republic. *Journal of Ornithology*, 152(1), 37–44.
- Šálek, M., Svobodová, J., Bejček, V., & Albrecht, T. (2004). Predation on artificial nests in relation to the numbers of small mammals in the Krušné hory Mts., the Czech Republic. *Folia Zool*, 53(3), 312-318.
- Šťastný, K., Bejček, V., Mikuláš, I., & Telecký, T. (2021). Atlas hnízdního rozšíření ptáků v České republice 2014–2017. Aventinum, Praha, Česká Republika. (511). 92-93 s.
- Šťastný, K., Bejček, V., V., & Hudec, K. (2006). Atlas hnízdního rozšíření ptaku v České republice 2001-2003. Aventinum, Praha, Česká Republika.(463). 112-113 s.
- Tallmon, D. A., Luikart, G., & Waples, R. S. (2004). The alluring simplicity and complex reality of genetic rescue. *Trends in Ecology and Evolution*, 19(9), 489–496.
- Taylor, H. R., Colbourne, R. M., Robertson, H. A., Nelson, N. J., Allendorf, F. W., & Ramstad, K. M. (2017). Cryptic inbreeding depression in a growing population of a long-lived species. *Molecular Ecology*, 26(3), 799-813.
- Treml, V., Dobíhal, M., Kupková, L., Lysák, J., & Potočková, M. (2020). Horní hranice lesa v Krkonoších-jaké faktory podmiňují její změny v čase?. *Opera Corcontica*, (57), 5-18.
- Vanat, L. (2014). 2014 International Report on Snow & Mountain Tourism Overview of the key industry figures for ski resorts L a u r e n V a n a t. April.
- Vystoupil, J., Holešinská, A., Kunc, J., Maryáš, J., Seidenglanz, D., Šauer, M., & Víturka, M. (2006). Atlas cestovního ruchu České republiky. Ministerstvo pro místní rozvoj. 1. vyd. Praha, 81 s.
- Walker, A. (2010). The reintroduction of black grouse to the Isle of Arran, Scotland. *Grouse News*, 40, 13-16.
- Warren, P., & Baines, D. (2002). Dispersal, survival and causes of mortality in black grouse *Tetrao tetrix* in northern England. *Wildlife biology*, 8(2), 91-97.

- Warren, P., & Baines, D. (2018). Expanding the range of black grouse *Lyrurus tetrix* in northern England-can wild females be successfully translocated?. *Wildlife Biology*, 2018(1), 1-7.
- Warren, P., Atterton, F., Anderle, M., & Baines, D. (2017). Expanding the range of black grouse *Tetrao tetrix* in northern England through translocating wild males. *Wildlife Biology*, 2017, 1-7.
- Warren, P., Baines, D., & Richardson, M. (2009). Mitigating against the impacts of human disturbance on black grouse *Tetrao tetrix* in northern England. *Folia Zoologica*, 58(2), 183.
- Wipf, S., Rixen, C., Fischer, M., Schmid, B., & Stoeckli, V. (2005). Effects of ski piste preparation on alpine vegetation. *Journal of Applied Ecology*, 42(2), 306-316.
- Zachraňme tetřívka (2019) [online]. Liberec. ©2019 [cit. 2022-10-11]. Dostupné z: <https://zachranmetetrivka.cz/>
- Zeitler, A. (2000). Human disturbance, behaviour and spatial distribution of black grouse in skiing areas in the Bavarian Alps. *Cahiers d'Ethologie*, 20, 381-400.

Přílohy



Příloha 1: Mapa potenciální disperze samic vytvořená z průměrných hodnoty přeletů samic na studovaném území, vytvořeno v Qgis ver. 3.26. 3, Hana Pelikánová, 2022



Příloha 2: Mapa potencionální disperze samců vytvořená z průměrných hodnoty přeletů samců na studovaném území, vytvořeno v Qgis ver. 3.26. 3, Hana Pelikánová, 2022