

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin



**Fakulta lesnická
a dřevařská**

**Reintrodukce rysa ostrovida (*Lynx lynx*) ve střední
a západní Evropě z pohledu genetiky**

Bakalářská práce

Autor práce

Martin Lomnický

Vedoucí práce

Ing. Jiří Korecký, Ph.D.

2023

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Martin Lomnický

Lesnictví
Provoz a řízení myslivosti

Název práce

Reintrodukce rysa ostrovida (*Lynx lynx*) ve střední a západní Evropě z pohledu genetiky

Název anglicky

Reintroduction of the lynx (*Lynx lynx*) in Central and Western Europe from a genetic point of view

Cíle práce

Cílem práce rešeršního charakteru je zmapovat historii rozšíření druhu na území střední a západní Evropy. Důkladně budou popsány procesy aktivní reintrodukce druhu, která se datuje přibližně od 70. let minulého století. Na problematiku bude nahlíženo také z pohledu populačně-genetické struktury a genetické diverzity druhu.

Metodika

Bude provedena důkladná literární rešerše mapující historický vývoj a reintrodukcí druhu v oblasti střední a západní Evropy. Významný podíl literárních zdrojů bude tvořen odbornými vědeckými články. Samostatná kapitola bude věnována genetické diverzitě reintrodukovaných populací. Budou specifikovány molekulárně-genetické markery, které jsou při studiu populačně-genetické struktury druhu využívány.

Harmonogram práce:

- do konce září 2022 bude předložena osnova bakalářské práce
- do konce listopadu 2022 budou zpracovány kapitoly týkající se historického vývoje druhu na zájmovém území
- do konce února 2023 bude po obsahové stránce rešerše kompletně zpracována

Doporučený rozsah práce

cca 40 stran

Klíčová slova

rys ostrovid, reintrodukce, efektivní velikost populace

Doporučené zdroje informací

- Červený, J., Koubek, P., & Buřka, L. (2002). Eurasian lynx (*Lynx lynx*) and its chance for survival in central Europe: the case of the Czech Republic. *Acta Zoologica Lituanica*, 12(4), 428-432.
- Gajdárová, B., Belotti, E., Buřka, L., Dufa, M., Kleven, O., Kutal, M., ... & Krojerová-Prokešová, J. (2021). Long-distance Eurasian lynx dispersal—a prospect for connecting native and reintroduced populations in Central Europe. *Conservation Genetics*, 22(5), 799-809.
- Heurich, M., Schultze-Naumburg, J., Piacenza, N., Magg, N., Červený, J., Engleder, T., ... & Kramer-Schadt, S. (2018). Illegal hunting as a major driver of the source-sink dynamics of a reintroduced lynx population in Central Europe. *Biological Conservation*, 224, 355-365.
- Chapron, G., Kaczensky, P., Linnell, J. D., Von Arx, M., Huber, D., Andrén, H., ... & Boitani, L. (2014). Recovery of large carnivores in Europe's modern human-dominated landscapes. *science*, 346(6216), 1517-1519.
- Kramer-Schadt, S., Revilla, E., & Wiegand, T. (2005). Lynx reintroductions in fragmented landscapes of Germany: Projects with a future or misunderstood wildlife conservation?. *Biological Conservation*, 125(2), 169-182.
- Mueller, S. A., Reiners, T. E., Middelhoff, T. L., Anders, O., Kasperkiewicz, A., & Nowak, C. (2020). The rise of a large carnivore population in Central Europe: genetic evaluation of lynx reintroduction in the Harz Mountains. *Conservation Genetics*, 21(3), 577-587.
- Müller, J., Wölfl, M., Wölfl, S., Müller, D. W., Hothorn, T., & Heurich, M. (2014). Protected areas shape the spatial distribution of a European lynx population more than 20 years after reintroduction. *Biological Conservation*, 177, 210-217.
- Port, M., Henkelmann, A., Schröder, F., Waltert, M., Middelhoff, L., Anders, O., & Jokisch, S. (2021). Rise and fall of a Eurasian lynx (*Lynx lynx*) stepping-stone population in central Germany. *Mammal Research*, 66(1), 45-55.
-

Předběžný termín obhajoby

2022/23 LS – FLD

Vedoucí práce

Ing. Jiří Korecký, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin

Elektronicky schváleno dne 15. 8. 2022

prof. Ing. Milan Lstibůrek, MSc, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 31. 8. 2022

prof. Ing. Róbert Marušák, Ph.D.

Děkan

V Praze dne 03. 11. 2022

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou bakalářskou práci na téma: „Reintrodukce rysa ostrovida (*Lynx lynx*) ve střední a západní Evropě z pohledu genetiky“ vypracoval samostatně a citoval jsem všechny informační zdroje, které jsem v práci použil, a které jsem rovněž uvedl na konci práce v seznamu použitých informačních zdrojů.

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

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

V Praze dne 5. 4. 2023

Martin Lomnický



Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucímu mé práce panu Ing. Jiřímu Koreckému, Ph. D. za odborné vedení a cenné rady v průběhu zpracování celé práce.

Reintrodukce rysa ostrovida (*Lynx lynx*) ve střední a západní Evropě z pohledu genetiky

Souhrn

Rys ostrovid (*Lynx lynx*) byl kdysi rozšířen po celé Evropě. Lidská činnost, jako je lov a ničení životního prostředí, vedla k jeho úbytku a nakonec v mnoha oblastech k vyhynutí, což vedlo k výraznému snížení jeho genetické rozmanitosti. Tato práce popisuje biologii rysa ostrovida, jeho biotopové a potravní preference, statut ochrany, historické i současné rozšíření v Evropě. Reintrodukce rysa ostrovida ve střední a západní Evropě je předmětem zájmu mnoha studií, a to nejen z genetického hlediska. Od 70. let jsou vyvíjeny snahy o reintrodukcii druhu do jeho původního areálu. Cílem této práce bylo sepsat informace o průběhu reintrodukce od jejího počátku až po zhodnocení úspěšnosti projektu, napříč jednotlivými zeměmi. Práce se také věnuje popisu metod analýzy genetické informace, které se používají k identifikaci jedinců, populací nebo k identifikaci genů. Genetické studie ukázaly, že populace reintrodukovaných rysů mají nízkou úroveň genetické diverzity, což může mít negativní dopad na jejich schopnost přizpůsobit se měnícímu se prostředí a odolávat nemocem. Proto byly zavedeny strategie genetického managementu s cílem zvýšit genetickou rozmanitost, včetně translokace jedinců rysa z jiných oblastí a používání technik asistované migrace. Sledování genetické rozmanitosti a populační dynamiky je zásadní pro zajištění úspěchu reintrodukčních snah a dlouhodobé životaschopnosti druhu.

Klíčová slova: rys ostrovid, reintrodukce, efektivní velikost populace

Reintroduction of the lynx (*Lynx lynx*) in Central and Western Europe from a genetic point of view

Summary

The lynx (*Lynx lynx*) was once widespread throughout Europe. Human activities such as hunting and environmental destruction have led to its decline and, eventually, to extinction in many areas, significantly reducing its genetic diversity. This bachelor thesis describes the biology of the lynx, its habitat and food preferences, its conservation status, and the historical and current distribution in Europe. The reintroduction of the lynx in Central and Western Europe has been the subject of many studies, not only from a genetic point of view. Since the 1970s, conservation efforts have been made to reintroduce the species to its native range. This work aimed to compile information on the reintroduction process from its inception to the evaluation of the project's success across countries. The thesis also discusses the description of methods available for genetic analyses that can be used to identify individuals, populations, or genes. Genetic studies have shown that populations of reintroduced lynx have low levels of genetic diversity, which can negatively impact their ability to adapt to changing environments and resist disease. Therefore, genetic management strategies have been implemented to increase genetic diversity, including translocating lynx individuals from other areas and using assisted migration techniques. Monitoring genetic diversity and population dynamics is essential to ensure the success of reintroduction efforts and the long-term viability of the species.

Keywords: Eurasian lynx, reintroduction, effective population size

Obsah

1	Úvod	10
2	Cíl práce	12
3	Literární rešerše	13
3.1	<i>Biologie rýsa ostrovida</i>	13
3.1.1	Taxonomie.....	13
3.1.2	Popis druhu	13
3.2	<i>Rozšíření</i>	14
3.2.1	Výskyt v Evropě	15
3.2.2	Výskyt v České republice	18
3.3	<i>Biotopové preference</i>	20
3.4	<i>Potrava a způsob lovu</i>	20
3.5	<i>Rozmnožování</i>	21
3.6	<i>Pozorování v přírodě, pobytové stopy</i>	22
3.7	<i>Ohrožení a statut ochrany</i>	22
3.8	<i>Reintrodukční proces</i>	24
3.9	<i>Počátky reintrodukce – získání jedinců</i>	26
3.10	<i>Průběh reintrodukce (vývoj populací, úspěšnost, dnešní populace)</i>	30
3.10.1	Reintrodukce v České republice	30
3.10.2	Reintrodukce v Itálii	31
3.10.3	Reintrodukce ve Francii.....	32
3.10.4	Reintrodukce v Německu	34
3.10.5	Reintrodukce v Rakousku	36
3.10.6	Reintrodukce ve Slovinsku	38
3.10.7	Reintrodukce ve Švýcarsku	39
3.11	<i>Genetická diverzita</i>	41
3.12	<i>Typy DNA</i>	47
3.12.1	Genomová (jaderná) DNA	47
3.12.2	Mitochondriální DNA	48
3.13	<i>Genetické markery</i>	49

3.13.1	Mikrosatelity	51
3.13.2	SNPs	53
3.13.3	RFLP.....	54
3.13.4	AFLP	55
4.	Výsledné hodnocení a diskuse	56
5.	Závěr	62
6.	Literatura.....	65

1 Úvod

Rys ostrovid, majestátní druh kočkovité šelmy, se kdysi volně pohyboval po značné části západní Evropy. Kvůli lovu a záboru jeho přirozeného životního prostředí však populace rýsa drasticky poklesla, což vedlo v mnoha regionech k jeho vyhynutí. V posledních desetiletích roste zájem o reintrodukcii rýsa do těchto oblastí jako snaha o obnovu rovnováhy ekosystému a podporu biologické rozmanitosti. Takové úsilí zahrnuje pečlivý výběr vhodných míst pro vypouštění, řešení potenciálních konfliktů s místními komunitami a monitorování populace, aby se zajistilo její úspěšné začlenění. Reintrodukce rýsa v západní Evropě je dlouhodobý a složitý proces vyžadující spolupráci odborníků z oblasti ekologie, ochrany přírody a práce s veřejností. Jedná se o mnohostranné úsilí, které zahrnuje řadu činností a úvah.

Nejprve se musejí vytipovat vhodná místa pro vypouštění, přičemž je třeba zohlednit faktory, jako je dostupnost kořisti, kvalita stanoviště a potenciální konflikty s lidskou činností. To zahrnuje důkladné posouzení místní ekologie a konzultace s příslušnými zúčastněnými stranami, jako jsou zemědělci a vlastníci půdy. Jakmile je vybráno místo pro vypouštění, začíná vlastní proces reintrodukce rýsa. Ten může zahrnovat přivezení jedinců z jiných regionů nebo z chovu v zajetí. Vypuštěné rýsy je třeba pečlivě sledovat, aby se zajistilo jejich přežití a úspěšné začlenění do prostředí. Sledování může zahrnovat monitorování zvířat pomocí obojků GPS, provádění průzkumů k posouzení jejich vlivu na populace kořisti a hodnocení celkového zdravotního stavu reintrodukované populace.

Dalším klíčovým aspektem repatriačního úsilí je řešení potenciálních konfliktů s místními komunitami. Do této kategorie činnosti spadá vzdělávání místních občanů o ekologickém významu rýsa, podpora strategií soužití se zvířaty, například se psy hlídajícími hospodářská zvířata, a řešení obav z možných škod na majetku nebo hospodářských zvířatech.

Z genetického hlediska představuje reintrodukce rýsa v západní Evropě jak příležitost, tak výzvy. Obnova populace druhu, který byl v regionu vyhuben, může pomoci obnovit genetickou rozmanitost a zabránit inbreedingové depresi v

populaci. Pokud však reintrodukovaní jedinci nejsou dostatečně geneticky rozmanití, hrozí riziko snížené genetické zdatnosti, náchylnosti k nemocem a snížené přizpůsobivosti měnícím se podmínkám prostředí, včetně nižší reprodukční úspěšnosti.

Obecně lze říci, že reintrodukce rýsa v západní Evropě je složitý a trvalý proces vyžadující spolupráci a odborné znalosti z řady oborů, včetně ekologie, ochranné biologie a práce s veřejností. Přestože je třeba překonat určité problémy, potenciální přínosy obnovení populace rýsa v regionu jsou značné, včetně podpory biologické rozmanitosti, obnovení ekologické rovnováhy a poskytnutí příležitostí pro ekoturistiku a vzdělávání.

2 Cíl práce

Cílem práce rešeršního charakteru je zmapovat historii rozšíření rýsa ostrovida (*Lynx lynx*) na území střední a západní Evropy, konkrétně v České republice, Francii, Itálii, Německu, Rakousku, Slovinsku a Švýcarsku. Důkladně popsat průběh reintrodukce druhu od jejího počátku, který se datuje přibližně od 70. let minulého století. Dále se zaměřit na informace o vývoji populací v jednotlivých lokalitách a úspěšnost reintrodukčního procesu. Na problematiku je nahlíženo také z pohledu populačně-genetické struktury a genetické diverzity druhu. Práce si klade za cíl popsat genetické nástroje a metody používané pro studium genetické diverzity.

3 Literární rešerše

3.1 Biologie rysa ostrovida

3.1.1 Taxonomie

- **Třída:** savci (*Mammalia*)
- **Řád:** šelmy (*Carnivora*)
- **Čeleď:** kočkovití (*Felidae*)
- **Rod:** rys (*Lynx*)
- **Druh:** rys ostrovid (*Lynx lynx*)

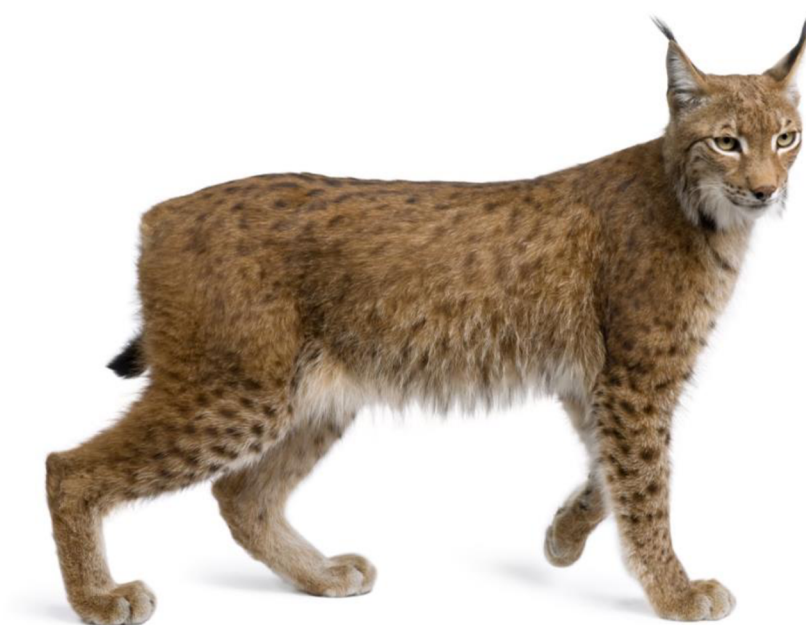
Rod (*Lynx*) se oddělil od linie asijských koček *Catopuma* a *Pardofelis* (Severcov, 1858) v období před 8 až 10 miliony let (Li et al., 2016). Tento rod zahrnuje další čtyři recentní druhy (Sunquist & Sunquist, 2009): rys ostrovid (*Lynx lynx*; Linnaeus, 1758), rys červený (*Lynx rufus*; Schreber, 1777) obývající území od jižní Kanady až po Mexiko, rys kanadský (*Lynx canadensis*; Kerr, 1792) z oblasti Aljašky, Kanady a severu USA a rys pardálový (*Lynx pardinus*; Temminck, 1827) z Pyrenejského poloostrova.

3.1.2 Popis druhu

Rys ostrovid je středně velká kočkovitá šelma a největší žijící šelma v Evropě. V kohoutku dosahuje výšky 50–80 cm a váhy asi 15–35 kg, průměr v ČR se pohybuje kolem 25 kg (Anděra & Červený, 2014). Vzhledově představuje rys nezaměnitelný prvek naší fauny. K charakteristickým znakům rysa patří dlouhé končetiny, zadní nohy jsou kratší než přední, krátké tělo a krátký ocas, trojúhelníkové ušní boltce zakončují štětiny chlupů (odborně chvostky) a prodloužené lícní vousy zvané licousy (Anděra & Gaisler, 2019). Zbarvení srsti se mění individuálně i sezónně, pohybuje se od šedé, přes béžovou, rezavou až po načervenalou či hnědou. Břicho je bílé až nažloutlé. Někteří jedinci mají

zřetelné tmavé skvrny, jiní jsou méně výrazní, výjimečně jsou zcela bez skvrn (Sunquist & Sunquist, 2004). Tlapy mají relativně velké. Stopy kulaté, bez otisku drápů, směřující přes sebe, protože rys klade levou zadní nohu do stopy pravé přední. To ovšem neplatí při běhu, kdy klade zadní končetiny před přední – a ty se pak nepřekrývají. Vzdáleně tak může připomínat i stopní dráhu zajíce. Pohyb v zasněženém terénu je pro rysa díky velikosti tlap a plošnému zatížení velmi snadným a přirozeným (Anděra & Gaisler, 2019; Červený & Bufka, 2000).

Rys ostrovid se řadí mezi druhy chráněné Bernskou konvencí. Podle českých zákonů náleží mezi silně ohrožené a chráněné druhy, které nelze lovit.



Obrázek 1: Rys ostrovid, stáří 5 let

Foto: Eric Isselee (2022), www.shutterstock.com

3.2 Rozšíření

Rys ostrovid (v anglosaských zemích znám jako rys euroasijský) pochází z Asie a kdysi byl rozšířen po celé Evropě, včetně Britských ostrovů s výjimkou Pyrenejského poloostrova, kam se dostal přibližně na počátku pleistocénu (Kurten & Werdelin, 1984), autoři Sommer & Benecke (2006) udávají raný až střední holocén.

Západoevropské a střeoevropské populace postupně vymizely v důsledku kombinace přímého pronásledování, odlesňování a úbytku potravy v průběhu několika posledních století. V polovině 20. století bylo rozšíření minimální a rysové byli vyhubeni v celé kontinentální části západní Evropy. Přežila pouze čtyři jádra populací. Jednalo se o skandinávskou, baltskou, karpatskou a balkánskou (U. Breitenmoser, 1998; Lucena-Perez et al., 2022 ex Kratochvíl, 1968).

Po desetiletích pronásledování a vyhlazování velkého počtu masožravých zvířat se populace šelem v Evropě začaly pomalu obnovovat (Chapron et al., 2014). Zlepšila se politika ochrany přírody a velkým šelmám se ve většině evropských zemí dostalo zákonné ochrany (Molinari-Jobin, Kéry, et al., 2012). Dochází k opětovnému osidlování jejich dřívějších území přirozenou cestou, ale také díky reintrodukčním programům (Linnell et al., 2001). Konfrontace šelem s člověkem v krajině je pro ně velkým ohrožením z důvodu neustálého zmenšování jejich biotopů a fragmentování bezpečného prostředí. K tomu dochází nejen z důvodu jejich přímého hubení, ale také kvůli výstavbě silnic a železnic ve volné krajině (Fischer & Lindenmayer, 2007). V přímé úměře se zmenšováním přirozeného prostředí pro zvěř dochází ke zmenšování populací volně žijících živočichů. Rozdělování a izolování jednotlivých populací zvyšuje riziko lokálního ohrožení. Zejména velké šelmy vyžadující rozsáhlé souvislé prostory jsou obzvláště náchylné vůči lokálnímu vymírání v rozdělené krajině a jejich populace tak mívají menší hustotu (Ripple et al., 2014).

3.2.1 Výskyt v Evropě

V posledních staletích byly velké šelmy systematicky loveny a pronásledovány. Tyto faktory spolu s ničením životního prostředí, odlesňováním a nadměrným lovem jejich volně žijící kořisti vedly k celosvětovému poklesu populací rysa (U. Breitenmoser, 1998).

Původní rozšíření rysa ostrovida popisují autoři Anděra & Gaisler (2019) jako lesní pásma téměř celé Eurasie až po Sibiř a hory jihovýchodní i střední Asie. Podobně určují autoři Nowell & Jackson (1996) a Sunquist & Sunquist (2009) areál rozšíření táhnoucí se od západní Evropy, přes pás boreálních lesů Ruska

až po střední Asii a Tibetskou plošinu – jeho celková rozloha činí přibližně 13,5 milionu km².

V 60. a 70. letech 20. století, kdy se biodiverzita dostala na politickou scénu, se ochránci přírody a vlády začali sdružovat na podporu nových politik na ochranu posledních populací velkých šelem, a dokonce zahájily jejich reintrodukci v oblastech, kde byly kdysi vyhubeny (Treves & Karanth, 2003).

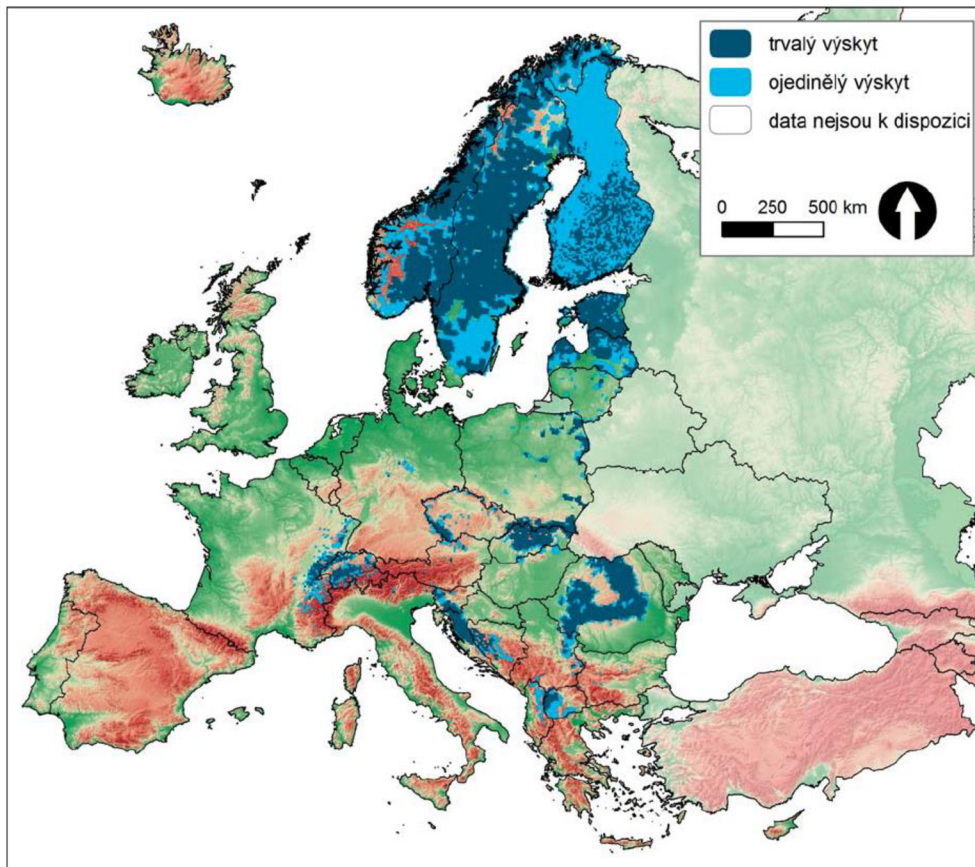
V současnosti (viz Obr. č. 2) je velká část areálu Evropy a jihozápadní Asie fragmentována, oblasti historického výskytu od Skandinávie přes Rusko a centrální část Asie jsou považovány za souvislé (Breitenmoser et al., 2008). Celosvětová populace druhu je dnes uváděna v počtu přesahující 50 000 jedinců, největší žijící počet rysů reportuje Matyushkin & Vaisfeld (2003) v Rusku a to 30 000–35 000 a přibližně 10 000 žijících v Mongolsku. Přestože rozsáhlá část areálu zasahuje na území Číny, uvádí Breitenmoser et al. (2008) neznámý počet rysů.



Obrázek 2: Rozšíření rysa ostrovida ve světě podle IUCN (2015)

www.iucnredlist.org

V Evropě (bez dat z Běloruska a Ruska) se počet rysů odhaduje na 9 000–10 000 jedinců. Největší společenství jsou autochtonní populace na severu země čítající každá kolem 2 000 jedinců: Skandinávská (~1 800–2 300), karelská (finská část ~2 500), baltská (~1 600) a karpatská (~2 300), uvádí (Chapron et al., 2014; Kaczensky et al., 2013) ve své analýze. Všechny reintrodukované populace jsou výrazně menší, protože vznikly teprve v 70. až 80. letech minulého století a s malým počtem zakladatelů. Kaczensky a kolektiv autorů, (2013) udávají současnou velikost populací následující: Alpská (130–160), česko-bavorská (~ 50), dinárská (120–130), jurská (>100) a vogézske-palatinská (~ 19). Pátá autochtonní populace rysa na Balkánském poloostrově podle posledních výzkumů čítá pouze 40–50 jedinců a je považována za velmi ohroženou. Většina ostatních populací je v posledním desetiletí považována za stabilní. Zatímco dřívější počty byly pravděpodobně nadhodnoceny, dnes se předpokládá, že současné stavy jsou realističtější díky zlepšení monitoringu a vědeckého výzkumu. V současné době jsou velké šelmy v mnoha zemích světa přísně chráněny nebo řízeny kvótami a na ochranu a zachování jejich obnovujících se populací se vynakládá velké úsilí (Ripple et al., 2014).

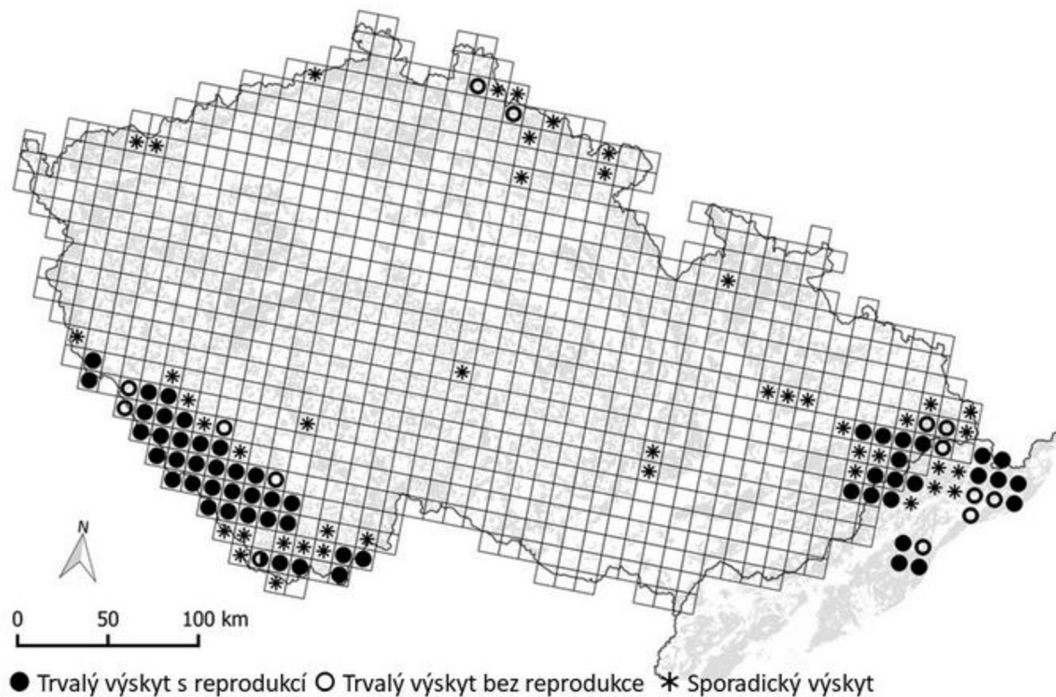


Obrázek 3: Rozšíření rysa ostrovida v Evropě podle Kaczenské et al., (2013) bez údajů z Ruska, Běloruska a Ukrajiny

3.2.2 Výskyt v České republice

Podobně jako v jiných oblastech střední Evropy byl rys ostrovid (*Lynx lynx*) na území České republiky vyhuben v 18. a 19. století (Červený et al., 2002). Do poloviny 20. století existují záznamy o výskytu rysa z oblastí roztroušených po celém území České republiky. Poslední doložený odstřel v Čechách je znám z Táborska z roku 1835 (Anděra & Gaisler, 2019). Na Moravě a ve Slezsku se jedinci ze Slovenska objevovali ještě na přelomu 19. a 20. století, zejména v oblasti Moravskoslezských Beskyd. K vyhubení došlo na počátku 20. století, kdy bylo v letech 1908–1914 uloveno několik jedinců migrujících ze Slovenska. Trvalý návrat rysa do Beskyd je datován až po druhé světové válce (Kutal et al., 2013).

V průběhu času vznikaly a následně dočasně či natrvalo zanikly menší populace v Hrubém Jeseníku, Labských pískovcích, Brdech a na Českomoravské vrchovině (Anděra & Gaisler, 2019).



Obrázek 4: Výskyt rysa ostrovida v České republice a na západním Slovensku v letech 2012–2016 (Kutal et al., 2019)

Nyní je rys ostrovid plošně nejrozšířenější velkou šelmou, která se vyskytuje na více než 10 % území České republiky (Magg et al., 2016). Dvě hlavní oblasti se stálým výskytem, kde prokazatelně dochází k reprodukci, jsou jihozápadní Čechy (od Českého lesa až po Novohradské hory) a severovýchodní Morava (Moravskoslezské Beskydy, Javorníky, Hostýnsko-vsetínská hornatina). Obě rozmnožující se populace (česko-bavorsko-rakouská a karpatská) jsou přeshraniční a svou početností spíše stagnují (Anděra & Gaisler, 2019; Magg et al., 2016). Celkově je současný výskyt rysa v České republice, vedle přirozené migrace ze Slovenska, významně spojen s jeho opětovným vypuštěním na Šumavě v průběhu let 1982–1985 (Anděra & Červený, 2014). Populace rysa ostrovida byla na svém vrcholu v letech 1997–1998 s počtem 100–150 jedinců. Poslední souhrnné vyhodnocení rysa na území České republiky je z let 2012–2016, kdy byla přítomnost rysa prokázána na 10,8 % území (Kutal et al., 2019).

3.3 Biotopové preference

V celé Evropě a na Sibiři jsou ryši vázáni především na lesnaté oblasti s hojnými populacemi kopytníků (Nowell & Jackson, 1996). Ve střední Asii se ryši vyskytují v otevřenějších a řídko zalesněných oblastech nebo v polopouštních biotopech, v severních oblastech zase obývají tundru (M. Breitenmoser et al., 2008; Nowell & Jackson, 1996). V České republice je jejich přirozeným prostředím zejména oblast smíšených jehličnatých lesů vyšších a středních nadmořských výšek. Typický je členitý terén se skalními útvary a bohatý na hustý podrost (Anděra & Gaisler, 2019).

Na základě studie od Filly a kolektivu autorů (Filla et al., 2017) víme, že v současné době je výběr stanovišť a biotopová preference rysa ostrovida velmi ovlivněna prací člověka a přizpůsobena člověkem pozmeněné krajině. Výběr stanovišť během dne je řízen především bezpečnostními faktory, zatímco v noci určuje výběr stanovišť rysa dostupnost kořisti.

V zimním období jsou rysové vystaveny vyššímu riziku než v letním, protože kopytníci se stahují do oblastí blíže k lidským sídlům.

3.4 Potrava a způsob lovu

Rys ostrovid je potravně velmi úzce specializován. Složení potravy se liší podle dostupnosti kořisti v dané oblasti. Rys je striktní masožravec, dokáže skolit kořist až 3-4krát větší než on sám, zejména v zimě si vybírá velké kopytníky kvůli jejich snadné zranitelnosti v hlubokém sněhu. Ve střední Evropě to bývají nejčastěji v lese žijící, středně velcí kopytníci a jejich mláďata (Anděra & Červený, 2014). Jeho potravu tvoří až ze 75 % srnec obecný (*Capreolus capreolus*), jelen lesní (*Cervus elaphus*), prase divoké (*Sus scrofa*), muflon evropský (*Ovis gmelini musimon*) a kamzík horský (*Rupicapra rupicapra*). Jeden rys uloví ročně až 60 kusů kořisti (Anděra & Gaisler, 2019). Potravní skladba může obsahovat i zajíce, lišky, kočky, různé druhy ptáků, hmyz, hospodářské zvířectvo a výrazný podíl připadá i na drobné hlodavce. Rys je schopen po ulovení zkonsumovat z kořisti okolo 1 kg, výjimečně až 3,5 kg masa. V letech 1993–1998 probíhala na území jižních a západních Čech evidence kořisti rysa a z 1 884 evidovaných kusů různých druhů

bylo následovné zastoupení 75,53 % srnec, 7,86 % jelen (převážně laně a kolouši), 5,36 % muflon, 4,94 % prase divoké (převážně selata), 3,18 % ovce domácí, 1,17 % zajíc polní, dále (seřazeni podle zastoupení) liška obecná, daněk evropský, jelen sika, domácí drůbež, kočka domácí, koza (Červený et al., 2006). Rys při lovu pro svůj pohyb směrem ke kořisti využívá své vlastnosti bystré a hbité šelmy. Při denním světle je rys schopný rozpoznat kořist až na stovky metrů (srnec na 500 m, zajíce na 300 m, hlodavce na 75 m). Úspěšnost lovu bývá mezi 20 a 80 %. Rys kořist nejprve vyhlíží, číhá na ni, následně se plíží a útočí z bezprostřední blízkosti. Drobné hlodavce zabíjí kousnutím do hlavy, spárkatou zvěř obvykle zakousnutím do hrdla nebo v týlu a zadušením (Červený et al., 2006).

3.5 Rozmnožování

Rysi se sdružují pouze za účelem páření. Období říje je velmi krátké, obvykle trvá jen zhruba měsíc v období od začátku února do konce dubna. U samce se projevuje zvýšenou frekvencí značkování míst močí a voláním. Tyto projevy slouží ke sblížení obou pohlaví. Samice se naopak projevuje hlasitým mňoukáním a válením se na zádech. Každá samice je během této doby plodná jen přibližně tři dny. Jakmile se pár setká, probíhá seznamovací rituál a následuje samotné páření, to obvykle trvá několik dalších dní, během nichž opakovaně dochází ke kopulaci. Jakmile již samice není v říji, samec odchází hledat jinou partnerku. Samice mají pouze jednoho partnera za sezónu (Nowell & Jackson, 1996).

Březost trvá 67 až 74 dní, samice rodí v květnu. Interval chovu se liší v závislosti na úspěšnosti předchozí sezóny. Samice bez vrhu se páří každý rok, samice s vrhem cca každé 3 roky. Velikost vrhu může být od 1 do 8 koťat. Rysi na rozdíl od většiny ostatních kočkovitých šelem vykazují značnou reprodukční flexibilitu. Míra ovulace, březosti a velikosti vrhu se u rysů snižuje v případě, že je málo potravy, a zvyšuje při jejím dostatku (Sunquist & Sunquist, 2004). Obvykle se rodí dvojčata až trojčata. Novorozená mláďata váží 300 až 350 gramů a jsou zcela závislá na své matce, jedná-li se o potravu a ochranu. Mláďata se odstavují ve 4 měsících a osamostatňují se okolo 10. měsíce. Samice pohlavně dospívají ve 2 letech a pohlavně aktivní mohou zůstat až do 14 let, zatímco samci dospívají ve 3 letech a mohou se rozmnožovat až do 17 let života (Nowell & Jackson, 1996).

3.6 Pozorování v přírodě, pobytové stopy

Rys ostrovid je velmi plaché zvíře, spatřit jej ve volné přírodě je vždy otázkou náhody. Větší štěstí můžeme mít s nalezením jeho pobytových znaků. Charakteristickým znakem je stopa zakulaceného tvaru ve velikosti až 8 centimetrů s otiskem čtyř prstů bez drápů (Anděra & Červený, 2014). Při chůzi klade zadní tlapy do stop předních končetin, proto můžeme pozorovat otisky dvojité čáry. Naopak při běhu klade zadní končetiny před přední a vzniká stopová dráha připomínající tvar velkého ypsilon. V zimním období, kdy je v přírodě hodně sněhu, využívá již vyšlapané stopy od jiné zvěře (Červený & Bufka, 2000). Dalším znakem mohou být rysí exkrementy, na ty ovšem narazíme velmi zřídka, protože rys svůj trus zahrabává nebo ukládá na skrytá místa. Podobně se chová i k ulovené zvěři, kdy jsou zaznamenány případy ukrytí pod listím, trávou, jehličím a větvemi, výjimečně ji vynáší i do korun stromů (Červený & Bufka, 2000).

3.7 Ohrožení a statut ochrany

Podle červeného seznamu IUCN je rys ostrovid druhem globálně málo dotčeným, respektive s nižším rizikem ohrožení (LC – Least Concern) (M. Breitenmoser et al., 2008).

Na základě směrnice Evropské unie o stanovištích je rys ostrovid předmětem zvláštního zájmu z hlediska ochrany a jeho populace je třeba udržet nebo obnovit ve stavu příznivém z hlediska ochrany (Molinari-Jobin et al., 2018). V rámci Evropské unie najdeme rysa ostrovida také v přílohách II a IV Směrnice Rady č. 92/43/EHS ze dne 21. května 1992 o ochraně přírodních stanovišť, volně žijících živočichů a planě rostoucích rostlin (Druhy v zájmu EU vyžadující zvláštní územní ochranu a Druhy v zájmu EU vyžadující přísnou ochranu).

Evropská populace rysa je významně ohrožována ztrátou biotopu z důvodu výstavby dopravní infrastruktury, pytláctvím, a především nízkou tolerancí zemědělské veřejnosti a myslivců (Kaczensky et al., 2013).

V České republice je rys řazen do kategorie ohrožených (EN – Endangered) druhů (Anděra & Hanzal, 2017), za hlavní rizikový faktor je považován nepovolený lov – pytláctví (Anděra & Červený, 2009; Červený et al., 2002, 2006).

V myslivecké legislativě je celoročně hájeným druhem od r. 1988 (Vyhl. MZVŽ č. 20/88 Sb.) a od 1. července 2002 (Zákon č. 449/2001 Sb.) patří mezi zvěř, kterou nelze lovit podle mezinárodních smluv, jimiž je Česká republika vázána, nebo patří mezi zvláště chráněné živočichy podle zvláštních právních předpisů. Škody způsobené rysem na životě nebo zdraví fyzických osob a na hospodářském zvířectvu (resp. vymezených domácích zvířatech včetně psů sloužících k hlídání těchto zvířat) hradí od 10. května 2000 ze zákona (Zákon č. 115/2000 Sb.) stát.

Ochrana populací pokrývajících rozsáhlá území a přesahujících mezinárodní hranice často trpí nesrovnalostmi mezi právními, biologickými a řídicími jednotkami. Mezinárodní smlouvy a národní zákony definují právní status druhů nebo poddruhů. Biologickými jednotkami relevantními pro ochranu jsou však populace nebo metapopulace, které se mohou lišit, pokud jde o jejich status v rámci areálu taxonu nebo s ohledem na právní předpisy. Kromě toho se správní jednotky, v nichž je třeba uplatňovat opatření na ochranu nebo řízení, mohou týkat pouze části populace, což vede k nejednotnému řízení v rámci metapopulací. Tyto problémy jsou obzvláště obtížné u ochrany velkých šelem, jejichž životaschopné populace mají často nízkou hustotu na rozsáhlých územích a obvykle překračují hranice států. Například 29 z 33 populací velkých šelem zjištěných v Evropě přesahují mezinárodní hranice. Vnitrostátní regiony jsou však často autonomní, pokud jde o ochranu a řízení volně žijících živočichů, a proto se v nich často objevují rozpory mezi přísnou právní ochranou velkých šelem na národní nebo mezinárodní úrovni a slabým prosazováním ochranných opatření na regionální nebo místní úrovni (Molinari-Jobin et al., 2010). I přes plnou ochranu velkých šelem je jejich pronásledování stále jedním z nejčastějších problémů hlavních příčin úmrtí (Chapron et al., 2014; Liberg et al., 2012). Ve vyspělých zemích je většina velkých šelem usmrcena v důsledku konfliktů s lidskými zájmy (Liberg et al., 2012). Nicméně, i když nelegální lov těchto šelem není veřejností tolerován a je trestný, je třeba se na něj zaměřit zákonem. Jeho dopad na populaci je obtížné posoudit, protože pytláci se snaží svou činnost utajit (Gavin et al., 2010). Kromě toho, prosazování práva, a to i při existující politické vůli, je ve velkých lesnatých oblastech, které nemohou být zcela pod kontrolou strážců přírody a policie, velmi obtížné. Šance na vyřešení takových trestních případů je ve většině států Evropy

malá, zvláště v zemích, kde právo lovu patří vlastníkům pozemků a kde neexistují veřejně zaměstnaní ochránci přírody nebo specializovaní policisté (Apollonio et al., 2010).

3.8 Reintrodukční proces

Za nejvhodnější přístup z hlediska ochrany biodiverzity se považuje péče o ekosystém a biotopy. Tento přístup nemusí být však vždy zcela dostatečný, zejména při snaze zachránit mizející druh nebo navrátit druh již vymizelý. Z toho důvodu se přistupuje k realizaci záchranného programu pro příslušný druh (MŽP, 2022).

Druhovú reintrodukce je záměrné vypuštění druhu do volné přírody ze zajetí nebo z jiných oblastí, kde je daný organismus schopen přežít (Campbell-Palmer & Rosell, 2010). Cílem reintrodukce druhů je založit zdravou, geneticky různorodou, soběstačnou populaci v oblastech, kde byla vyhubena, nebo rozšířit stávající populaci (Frankham et al., 2002). Druhy, které jsou pro reintrodukci vhodné, jsou typicky téměř ohrožené nebo ohrožené ve volné přírodě. Důvodem reintrodukce může být také následná kontrola škůdců, například vlci jsou znovu vypouštěni do volné přírody, aby se omezilo přemnožení srnčí zvěře (Campbell-Palmer & Rosell, 2010).

K reintrodukci druhů existuje celá řada přístupů. Optimální strategie závisí na biologii organismu. První otázkou, kterou je třeba při zahájení reintrodukce řešit, je, zda získat jedince z volně žijících populací (*in situ*), nebo ze zajetí (*ex situ*), tedy například ze zoologických zahrad (Idelberger et al., 2021 b). *Ex situ* opatření mohou být zacílena na (MŽP, 2022):

- vytvoření (znovuobnovení) populace druhu v místech historického areálu, odkud druh vymizel – tzv. reintrodukce (repatriace),
- zvýšení početnosti určité populace, tedy snížení pravděpodobnosti jejího vyhynutí – tzv. posilování populací,
- vytvoření nové populace druhu mimo jeho historický areál v případě, že není vhodná alternativa v místě původního areálu – tzv. introdukce

Reintrodukce druhů je stále více považována jako cenný nástroj pro programy ochrany přírody, např. k záchraně druhů před vyhynutím nebo k obnově druhů, které lokálně vyhynuly. Vzhledem ke změně postojů veřejnosti k volně žijícím živočichům ve druhé polovině 20. století se stále častěji uvažuje o navrácení druhů zpět do volné přírody (Sarrazin & Legendre, 2000).

Zásadní je výběr místa vypuštění. Kromě důležitých místních podmínek, jde-li o odpovídající ekologické zdroje, je důležitá i geostrategická poloha místa vypouštění. Oblast reintrodukce by měla být na jedné straně „uzavřená“, aby zvířata rozptýlená z místa vypuštění neriskovala ztrátu kontaktu sami se sebou. Na druhé straně je však třeba zvážit spojení se sousedními existujícími nebo potenciálními druhy s ohledem na dlouhodobý vývoj (meta)populace. Zatímco například rysy vypuštění v Rakousku se rozšířili do různých směrů a brzy se od sebe příliš vzdálili, než aby mohli vytvořit sociálně-prostorový systém. Přírodní a antropogenní bariéry pomohly vytvořit nové jádro populace ve Švýcarsku (U. Breitenmoser & Breitenmoser-Würsten, 2008).

Přestože rys ostrovid v minulosti obýval celou Evropu s výjimkou Pyrenejského poloostrova, jeho evropský areál rozšíření se až do poloviny 20. století v důsledku pronásledování člověkem značně zmenšil (Kratochvíl, 1968). V současné době jsou úspěšně reintrodukované populace, které vznikly převážně v 70. a 80. letech 20. století na území západní a střední Evropy, extrémně fragmentované a izolované a z toho důvodu i potenciálně ohrožené ztrátou genetické diverzity (Kaczensky et al., 2013; Mueller et al., 2022). V dlouhodobém horizontu mohou tyto hrozby vést ke snížení fitness jedinců (inbreedingová deprese) a nakonec k vymírání populací (Huvier et al., 2023). Přirozená nebo člověkem zprostředkovaná konektivita mezi reintrodukovanými populacemi nebo genetická záchrana v podobě translokace nových jedinců je jednou z možností, jak tyto reintrodukované populace zachránit a zajistit jejich dlouhodobou udržitelnost (Bull et al., 2016; Gajdárová et al., 2021; Sindičić et al., 2013).

Od roku 1970 do současnosti proběhlo 14 reintrodukčních projektů rysů v Německu, Švýcarsku, Slovinsku, Itálii, Rakousku, České republice, Francii

Populace/ výskyt	Místo vysazení	Rok vysazení	Počet (m/f) *	Původ	Osud **
Česko-Bavorská	Bavorská les (DE)	1970-74	5-10	3 divocí, 2 ze zajetí	neúspěšný
	Šumava (CZ)	1982-89	18 (11/7)	divocí	(úspěšný)
Dinárská	Kocevje (SI)	1973	6 (3/3)	divocí	(úspěšný)
Aplská	Západní švýcarské Alpy	1971-76	12 (7/5)	divocí	(úspěšný)
	Engadin (CH)	1972/80	4 (2/2)	divocí	neúspěšný
	NP Gran Paradiso (IT)	1975	2 (2/2)	divocí	neúspěšný
	Rakouské Alpy	1977-79	9 (6/3)	divocí	neúspěšný
	Východní švýcarské alpy	2001-08	12 (6/6)	divocí	nejistý
Alpská /Jurská	Švýcarská plošina	1989	3	neznámí	neúspěšný
Jurská	Švýcarská Jura	1972-75	10 (5/5)	divocí	(úspěšný)
Vogézy-Palatinská	Vogézy	1983-89	21 (12/9)	19 divocí, 2 ze zajetí	nejistý
Podyjská	NP Podyjí	1993-94	6 (2/2)	ze zajetí	neúspěšný
Kampinosská	NP Kampinos	1992-99	31 (14/17)	ze zajetí	nejistý
Hartzká	Hartz	2000	28 (9/15)	ze zajetí	nejistý

Tabulka 1: Reintrodukce rysa (*Lynx lynx*) ve střední a západní Evropě. Data sestavená z Breitenmoser et al., 2001; von Arx a kol., 2004; Breitenmoser a Breitenmoser-Würsten; 2008, Linnell a kol., 2009.

* m/f= samec/samice. Někdy informace nejsou dostupné nebo jsou dostupné jen částečně.

** Osud: „Úspěšný“ v závorkách, protože tyto populace dosud přežily 20–30 let s přiměřeným počtem zvířat, nicméně jejich dlouhodobé přežití ještě není zajištěno.


















a Polsku (tabulka 1). Celkem bylo vypuštěno 172–177 rysů. Za tuto dobu považujeme čtyři projekty za úspěšné, šest projektů za neúspěšné a čtyři z nich, zatím nelze vyhodnotit. Mnohé z těchto reintrodukcí bylo špatně připraveno a zdokumentováno. Srovnání požadavků na reintrodukci, jak jsou definovány ve Směrnících IUCN pro reintrodukce (IUCN, 1998), s ohledem na informace o reintrodukcích, které jsou k dispozici, stále poskytuje důležité poznatky o příčinách úspěchu či neúspěchu reintrodukčních projektů (von Arx et al., 2009).

3.9 Počátky reintrodukce – získání jedinců

V roce 1968 vypracoval mezinárodní tým odborníků pod vedením akademika J. Kratochvíla dvě zprávy o historickém a současném výskytu rysa ostrovida v Evropě (Kratochvíl, 1968). Zprávy vypracované pro IUCN a WWF analyzovaly

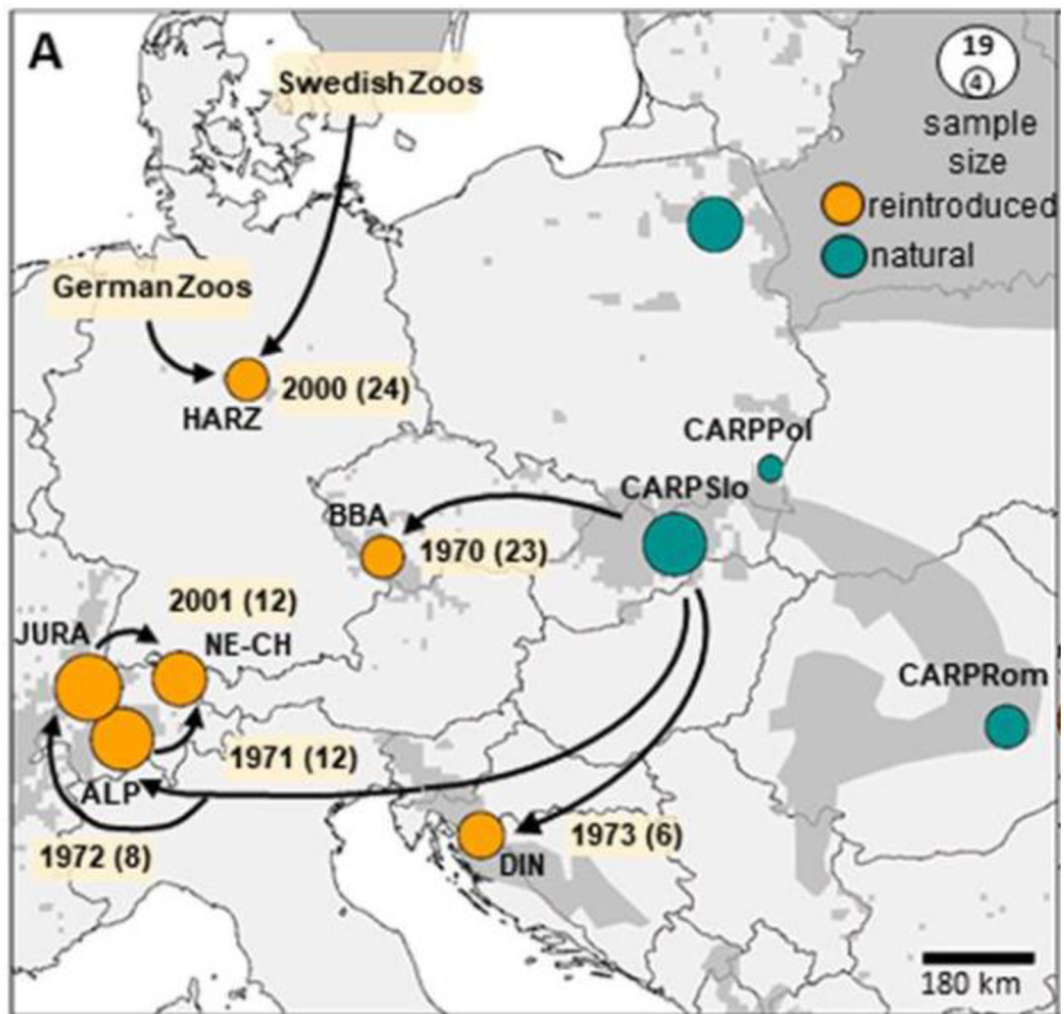
příčiny vyhubení rysa ostrovida v mnoha evropských zemích a zkoumaly způsoby jeho ochrany v zemích, kde se ještě vyskytoval. Ve druhé polovině 20. století došlo ke změně ve vnímání ochrany přírody a živočichů. Změnil se i přístup k velkým šelmám. Díky legislativní ochraně rysa a dalších druhů se objevila snaha o jejich navrácení do oblastí původního výskytu (Volfová & Toman, 2018).

Ve 2. polovině 20. století stála na začátku evropských projektů reintrodukce rysa skupina slovenských lesníků a myslivců. Podíleli se na odchytu v oblastech Kysucké Beskydy, Slovenský kras či Revúcká vrchovina. Jednotlivé kusy odchycených šelem pocházely z karpatské populace rysů. Regulovaný odchyt na Slovensku hlídal Ústřední výbor Slovenského poľovníckeho, který udával kvóty odchytu, stanovoval cenu a kontroloval stav odchycených kusů. V letech 1970–1984 se do projektu zapojila ostravská zoologická zahrada, která se pro rysy stala přestupnou stanicí. Probíhaly zde potřebné veterinární prohlídky a karanténní příprava před vypuštěním. Následně byla jednotlivá zvířata odesílána na místa určeného vysazení v západní a střední Evropě, konkrétně Itálie, Francie, Německo, Rakousko, Slovinsko, Švýcarsko a České republiky (Stehlík, 2004). Od roku 1984 převzala zajišťující karanténní přípravu Zoologická zahrada Dvůr Králové. Díky historickým záznamům ZOO Dvůr Králové víme, jak takové karanténní držení probíhalo. Zvířata byla držena v okrajové části areálu pro maximální možné odloučení od návštěvníků a řízení provozu. Styk s člověkem byl omezen na minimum, pouze krmení a úklid výběhů (Volfová & Toman, 2018). Důkazem je popis chování a života v dočasném zavření od bývalého pracovníka ostravské zoo. Ze vzpomínek Ludvíka Kunce: *„Divocí ryši snášeli pobyt v karanténě naprosto odlišně – každý kus jinak. Od vyděšených mladých jedinců po agresivní, nepřizpůsobivé, většinou starší jedince, kteří třeba 14 dnů odmítali jakoukoli živou potravu. Vedl jsem si velmi podrobné záznamy o chování každého zvířete. Kvůli rysům bylo tehdy chováno několik set králíků a dostávali po řadu týdnů jen živou potravu. Do sklopců se nejčastěji chytali mladí jedinci ve věku zhruba jednoho a půl roku, kteří měli zejména zpočátku menší lovecké zkušenosti.“*

32	♀	JASENKA	●		3	2. 11 1971	Scoba?	Plot. Rudolfov TORKA	11. 4. 1972 ZOO BAZILEJ - TRV. DO PŘÍRODY	
33	♂	VARDAK	○		3	6. 11. 1971	lntr	"	11. 1. 1972 H. WEINERL - BAVORING DO PŘÍRODY	
34	♂	SLOP	ML.		3	17. 11. 1971		Plotík Pohádk	11. 4. 1972 ZOO GAILLED - TRV. DO PŘÍRODY	
35	♂	PLEŠKO	●		3	8. 12. 1971		Plotík Pohádk	16. 5. 1972 ZOO BAZILEJ - TRV. DO PŘÍR.	
36	♀	DOBSINA	●		3	8. 1. 1972		SLOP RÁP	16. 5. 1972 ZOO BAZILEJ - TRV. DO PŘÍR.	
37	♂	VLAŠÁK	●		3	12. 2. 1972		SPÍŠ. VLAKS	Koceni - 5. 1. 73 Jagrd. do přír.	
38	♂	TIBORKO	●		3	18. 2. 1972		Plot. Poh.	ZOO - ŽITAVA 2. 12. 1972	
39	♀	VESNA	●		3	14. 3. 1972	Matko Viko	SPÍŠ. VLADY	Jug. Koceni 5. 1. 73 do přír.	
40	♂	VÍTEK	ML.		3	14. 3. 1972	vyn Vesky	"	Jug. Koceni 5. 1. 73 do přír.	

Obrázek 5: Evidenci odchycených rysů, kteří prošli veterinární přípravou v Zoo Ostrava (z archivu Ludvíka Kunce)

V letech 1971 až 2006 bylo realizováno 17 různých reintrodukčních a translokačních projektů s cílem obnovit rysí populace v západní a střední Evropě (Idelberger et al., 2021 a; Linnell et al., 2009). Tyto projekty se potýkaly s řadou problémů a neúspěchů. V rámci mnoha projektů bylo vypuštěno pouze několik jedinců a nebylo možné populace po vypuštění adekvátně monitorovat (Linnell et al., 2009). Vzhledem k počátečním neúspěchům pouze šest reintrodukcí založilo populace, které v letech po vypuštění zaznamenaly demografický růst. Téměř dvě desetiletí po posledních reintrodukcích dochází u několika populací ke zdatelným demografickým změnám. Úmrtnost vyvolaná člověkem, zejména legální a nelegální lov a pronásledování, negativně ovlivnila několik populací (Mueller et al., 2020).



Obrázek 6: Historie reintrodukce rysa ostrovida. A) Mapa šesti vybraných reintrodukovaných populací (ALP, JURA, LUNO, BBA, DIN a HARZ). Zobrazeny jsou velikosti vzorků, které se pohybovaly od 8 do 18 jedinců. Rok označuje, kdy byla poprvé zahájena reintrodukce na každé příslušné lokalitě, v závorce je uveden minimální počet vypuštěných jedinců. Šipky ukazují zdrojovou populaci pro každou příslušnou reintrodukci (Mueller et al., 2022).

3.10 Průběh reintrodukce (vývoj populací, úspěšnost, dnešní populace)

3.10.1 Reintrodukce v České republice

V průběhu 19. století byl rys ostrovid na Šumavě vyhuben. Do 70. let 20. století byla hlášena sporadická pozorování v regionech kolem příhraničních regionů.

V letech 1982–1989 bylo na české straně Šumavy vypuštěno celkem 17–18 rysů. Profesor Červený a kolektiv autorů (Červený et al., 2006) popisují toto vypuštění jako posílení spontánně vznikající populace. Tato populace navazovala na předchozí úspěšnou reintrodukci v Bavorském lese mezi lety 1970–1972. Bývalý ředitel ostravské zoologické zahrady Stehlík (2004), upřesňuje celkový počet rysů na 18 kusů, v poměru pohlaví 12:6.

Populace rysa ostrovida v České republice podle profesora Červeného a kolektivu autorů (2001) byla na vrcholu v letech 1997–1998, kdy se její odhady pohybovaly mezi 100 a 150 jedinci. Růst populace rysa ostrovida byl spojen s jeho rozšiřováním do sousedních zemí a následnou migrací zpět z Německa a Rakouska. Narůstajícími konflikty s chovateli hospodářských zvířat a myslivci, kteří tvrdili, že jejich zvěř trpí zvýšenými „škodami“ od tohoto predátora. Přestože je rys ostrovid v České republice od roku 1947, resp. 1965 pod zákonnou ochranou (stanovenou jak v myslivecké legislativě, tak v legislativě na ochranu přírody), stává se často obětí nelegálního lovu. Plán péče o populaci rysa ostrovida v České republice z roku 1998 rozdělil Českou republiku na tři zóny s různým stupněm ochrany, přičemž ve dvou z nich byl povolen výjimečný zákonný odstřel (Koubek et al., 1997). Výše zmíněné předpisy však nebyly myslivci dodržovány. Jen v období 1989–2001 bylo ke kranioметриckému vyšetření přijato více než 50 lebek pytlácky uloveného rysa ostrovida (Červený & Koubek, 2000). Vztah myslivců k rysu ostrovidovi byl zkoumán na základě anonymních dotazníků v oblastech výskytu rysa ostrovida. Pouze 19,2 % dotázaných myslivců se domnívá, že rys ostrovid hraje v ekosystémech pozitivní roli, 36,9 % z nich zná konkrétní případy nelegálního lovu a 10,3 % z nich se přiznalo k nelegálnímu zabíjení rysa ostrovida. Pytláctví se ukazuje jako nejzávažnější příčina poklesu populace rysa ostrovida v ČR. Vztah studentů myslivosti k rysu ostrovidovi byl pozitivnější. (Červený et al.,

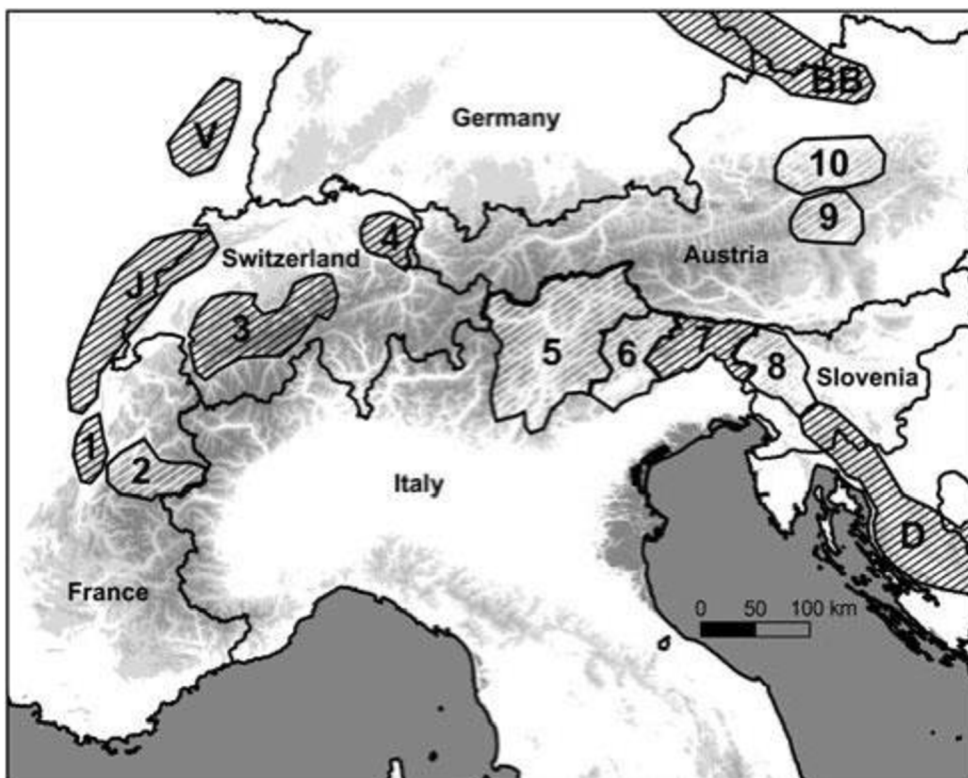
2002) Osud a přežití rysa ostrovida v České republice je tedy především v rukou myslivců.

3.10.2 Reintrodukce v Itálii

V červenci 1971 se vedení národního parku Gran Paradiso (GPNP) obrátilo na orgány IUCN (Mezinárodní svaz ochrany přírody) a WWF (Světový fond na ochranu přírody) s žádostí o pomoc při reintrodukci tří druhů savců (srnec obecný, vydra říční a rys ostrovid) a dvou druhů ptáků (sup bradatý a tetřev hlušec). Všechny tyto druhy byly vyhubeny v průběhu 20. století, rys ostrovid v roce 1918. Základní studii o reintrodukci vypracovali C. W. Holloway (IUCN) a H. Jungius (WWF), kteří doporučili k reintrodukci zvířata z Karpat, nejlépe z Vysokých Tater (Stehlík, 2004).

Ostravská zoologická zahrada získala pro vypuštění v italském národním parku pouze dva mladé, výrazně skvrnitě samce, kterým byly údajně 2 a 3 roky. Pocházeli z jihu Slovenského rudohoří. Do Milána byli odesláni letecky 18. 6. 1975. Po té byli drženi v karanténě v zoologické zahradě v Turíně (ZOOM Turin). Během třítydenní karantény byli rysové očkováni proti vzteklině, zváženi a vybaveni radiotelemetrickými obojkami. V noci 11. července 1975 byli vypuštěni poblíž Gran Clapey ve Valsavaranche (údolí Aosta, severní Itálie), v nadmořské výšce 1750 m n. m. Několik dní po vypuštění se ryši zdržovali v blízkosti stejného místa. Vysílače brzy přestaly fungovat a o zvířatech nikdo neměl žádné zprávy. Později jeden ze samců překročil alpský průsmyk ve výšce 3 000 m n. m. a přesunul se do Francie. V březnu 1976 byla jeho mrtvola nalezena poblíž La Ferrière d'Allevard nedaleko Chambéry, 90 km vzdušnou čarou od místa vypuštění. Po druhém rysovi nebyly nalezeny žádné stopy (Festetics, 1980). Od roku 1981 probíhaly pokusy o reintrodukci rysa ostrovida do italských Alp z nově vzniklých populací v Rakousku, Slovinsku a Švýcarsku. První zprávu o migrantech do severovýchodní a severozápadní Itálie z reintrodukované slovinské populace podali (Breitenmoser & Breitenmoser-wursten, 1990). V Itálii údaje z let 2000–2004 ukazují na souvislou populaci od severovýchodního Friuli po provincii Belluno (Obrázek č. 7, Molinari-Jobin, Wölfl, et al., 2012). Kromě toho byl zjištěn výskyt rysa v oblasti Trentino

Alto Adige, kde se rys vyskytoval ještě v 80. letech 20. století, ale v letech 1995–1999 už bohužel ne (Molinari, 1998).



Obrázek 7: Populace a výskyt rysa v Alpách z monitoringu 2000–2004, oblasti v Itálii č. 5 Trentino Alto Adige, 6 Belluno, 7 Friuli (Molinari-Jobin et al., 2010)

3.10.3 Reintrodukce ve Francii

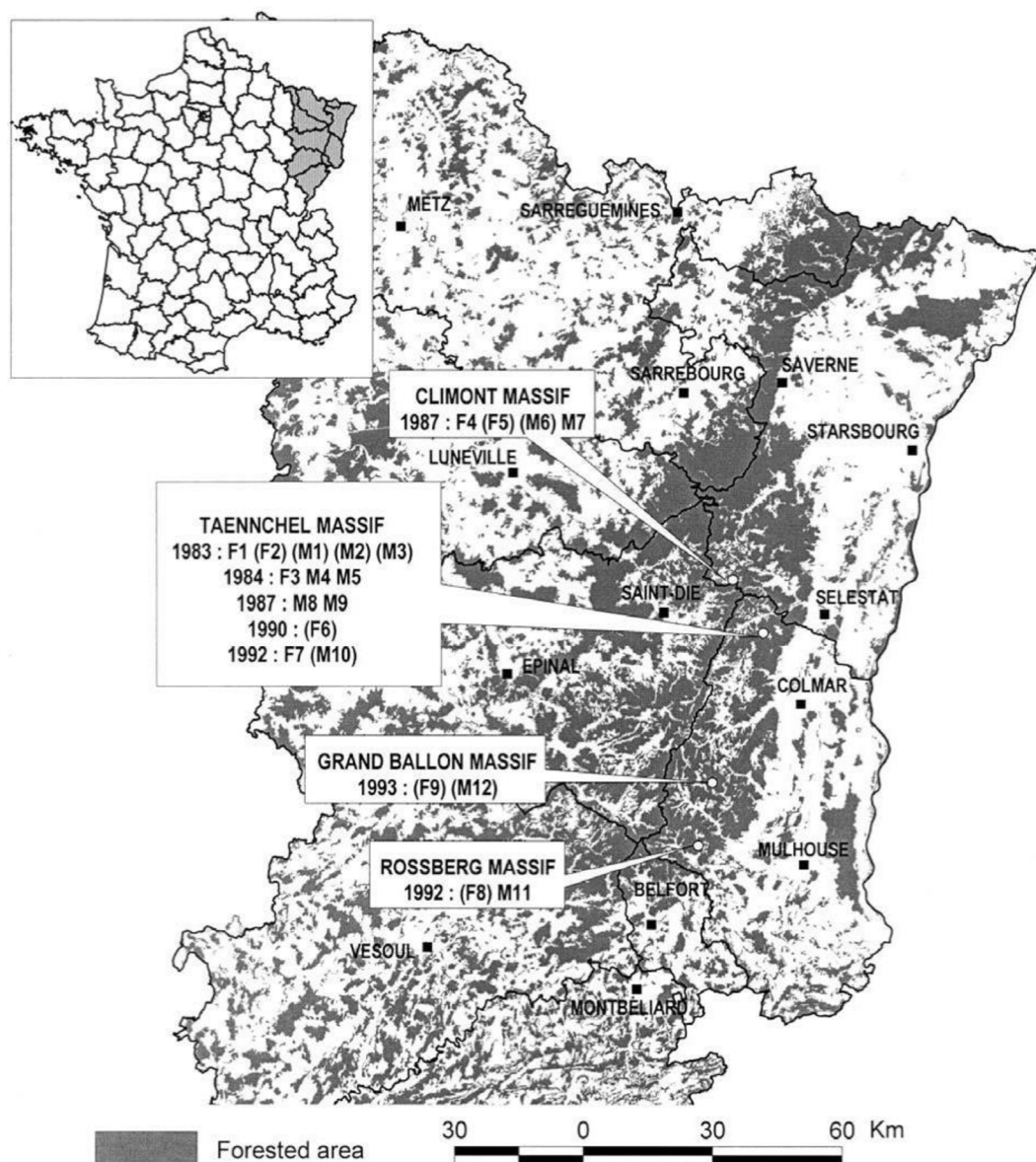
Rysové byli v regionu vyhubeni v 17. a 18. století. Historii vymírání rysa ve Francii podrobně popisuje (Festetics, 1980). Stejně tak píše o populaci rysa ve francouzských Pyrenejích. Autoři (Breitenmoser & Breitenmoser-wursten, 1990) píší o reliktní zbytkové populaci přežívající ve třech oblastech v blízkosti španělských hranic.

Fenomén reintrodukce rysa ostrovida se ve Francii rozvinul později než v sousedních zemích. V roce 1976 byly zveřejněny dva projekty: plánovaná reintrodukce v Alpách, kterou měla na starosti FRAPNA (Fédération Rhone-Alpe de Protection de la Nature), a reintrodukce v Alsasku, kterou připravila skupina odborníků „Groupe Lynx Alsace“. (Breitenmoser & Breitenmoser-wursten, 1990)

uvádějí, že v letech 1983–1988 bylo ve Vogézách vypuštěno celkem 14 rysů (v poměru 9:5). Dvanáct z nich pocházelo z Československa a dva z Velké Británie.

(Linnell et al., 2009; Vandel et al., 2006) uvádějí, že v letech 1983–1993 bylo ze zoologických zahrad v České republice, na Slovensku, ve Slovinsku a ve Velké Británii odvezeno 21 rysů; ačkoli původním záměrem bylo, aby všichni rysové byli původně odchyceni ve volné přírodě a nebyli zvyklí na lidi. Zvířata byla vypuštěna do čtyř různých horských masivů v rámci regionu, a to v 11 různých operacích s použitím metod měkkého i tvrdého vypouštění. Zvířata byla sledována pomocí telemetrie. Z 21 vypuštěných zvířat přežily maximálně 4 samice a 6 samců dostatečně dlouho na to, aby se mohli rozmnožovat. Z ostatních 11 jedinců jich 5 bylo ztraceno v populaci ve fázi okamžitého vypouštění. 2 byli znovu odchyceni, protože se zdálo, že si příliš zvykli na lidi, 1 uhynul hlady a 2 byli nelegálně usmrceni. V následujícím období byli nelegálně zastřeleni další 4 jedinci a 2 uhynuli z neznámých příčin. Je možné, že došlo k několika dalším tajným vypuštěním rysů v zajetí přes hranice v německém Pfalzerwaldu, ale nezdá se, že by se díky nim vytvořila chovná populace. Ve Vogézách bylo první rozmnožování potvrzeno v roce 1987 a od té doby bylo zjištěno nejméně 12 dalších případů rozmnožování. V letech 2000–2002 se zdálo, že rysové jsou trvale přítomni na 2 000–3 000 km² z celkových 5 000 km² potenciálních stanovišť. Neexistuje přímý odhad velikosti populace, ale z oblasti rozšíření se odhaduje, že by v regionu mohlo potenciálně žít 30 rysů. Rys zde stále rozšiřuje svůj areál a může se usadit v celém masivu Vogéz za předpokladu, že současný nárůst jeho početnosti opět neklesne, např. nedojde k nárůstu úmrtnosti způsobené člověkem (Vandel et al., 2006).

Obrázek 8: Umístění míst vypuštění rysů v masivu Vogéz. (Zvířata v závorkách: vypuštěná, ale nepodílela se na založení populace.) (Vandel et al., 2006)



3.10.4 Reintrodukce v Německu

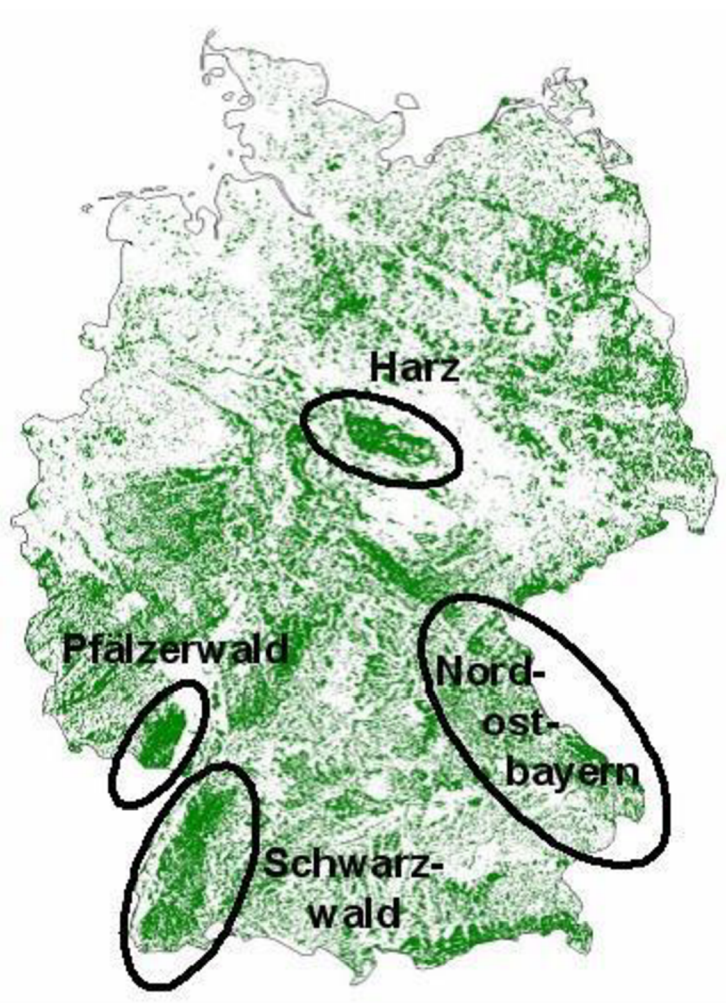
V letech 1970–1989 bylo vypuštěno asi 22–27 jedinců k doplnění populace na bavorské (Bayerischer Wald) i české (Šumava) straně (Červený & Bufka, 1996). Přesný počet a původ rysů vyskytujících se v Bavorsku není znám. Festetics (1980) uvádí, že kromě tří rysů z ostravské zoo byli v Bavorsku vypuštěni další ryši nejasného původu. Dále vysvětluje, že populace rysa kulminovala v roce 1975, kdy

bylo v Bavorském lese a sousedním českém pohraničí zjištěno 10 až 12 rysů, většina z nich mimo území Národního parku Bayerischer Wald. Bavorskou populaci rysa ostrovida příznivě ovlivnila reintrodukce rysa ostrovida v Chráněné krajinné oblasti (CHKO) Šumava, kam bylo v letech 1982–1989 reintrodukováno 18 rysů. V zimě 1995/96 byla populace v Bavorském lese odhadována na 8 až 13 zvířat, a to jak ve státních lesích, tak v Národním parku Bayerischer Wald. K tomuto počtu můžeme připočítat také 3 až 5 dospělých jedinců žijících v soukromých honitbách. Bylo také zjištěno, že mladá zvířata migrují do lesnatých a skalnatých oblastí na severovýchodě Bavorska, např. do Steinwaldu a Fichtelgebirge (Manfred et al., 2014 ex. Kiener et Strunz 1996).

V letech 2000–2006 bylo v Národním parku Harz oficiálně vypuštěno 24 rysů (Anders & Sacher, 2004). Všechna zvířata pocházela ze zajetí a před vypuštěním byla 6–8 týdnů držena v aklimatizačním výběhu. Vypuštěná zvířata nebyla označena rádiovým štítkem. 2 z vypuštěných zvířat musela být znovu odchycena kvůli nedostatečné plachosti vůči lidem a u 7 dalších rysů bylo zdokumentováno, že po vypuštění uhynuli (pouze 1, se zlomenou nohou uhynul ve fázi bezprostředně po vypuštění; 4 další uhynuli na kombinaci hladu a sarkoptový svrab, 1 uhynul při srážce s vlakem a 1 příčina smrti nebyla určena). Byly zjištěny nejméně čtyři rysové, kteří byli tajně vypuštěni ve stejné oblasti. V letech 2002 až 2006 bylo každoročně zjištěno rozmnožování 1 až 4 mláďat (Linnell et al., 2009).

V Německu žijí rysové v současné době ve třech izolovaných populacích: česko-bavorské populaci, populaci v pohoří Harz a populaci ve Vogézách a Falci. Všechny tři německé populace rysa jsou od sebe v současnosti izolovány nejméně 280 km (přibližná vzdálenost populace v Harzu od populací v Bavorském lese i v Palatinském lese). Zároveň jsou všechny tři populace izolovány i od ostatních populací rysa v Evropě (Chapron et al., 2014). Zatímco populace v Bavorském lese již několik let stagnuje a v Pfalzském lese pokračuje reintrodukce, populace v Harzu je v současnosti jedinou německou populací rysa, která rozšiřuje svůj areál. Početnost této populace byla nedávno odhadnuta na 55 neomezeně žijících jedinců, kteří osídlili celou oblast Harzu o rozloze 2 200 km² (Middelhoff & Anders, 2018). I přes populační růst v této oblasti dochází ke ztrátě genetické diverzity. Pokud bude populace růst i nadále, mohla by se stát jedním ze základních kamenů

předpokládané vzájemně propojené středoevropské metapopulace, která zajistí dlouhodobé usídlení a přežití rysa ve středoevropské krajině (Mueller et al., 2020).

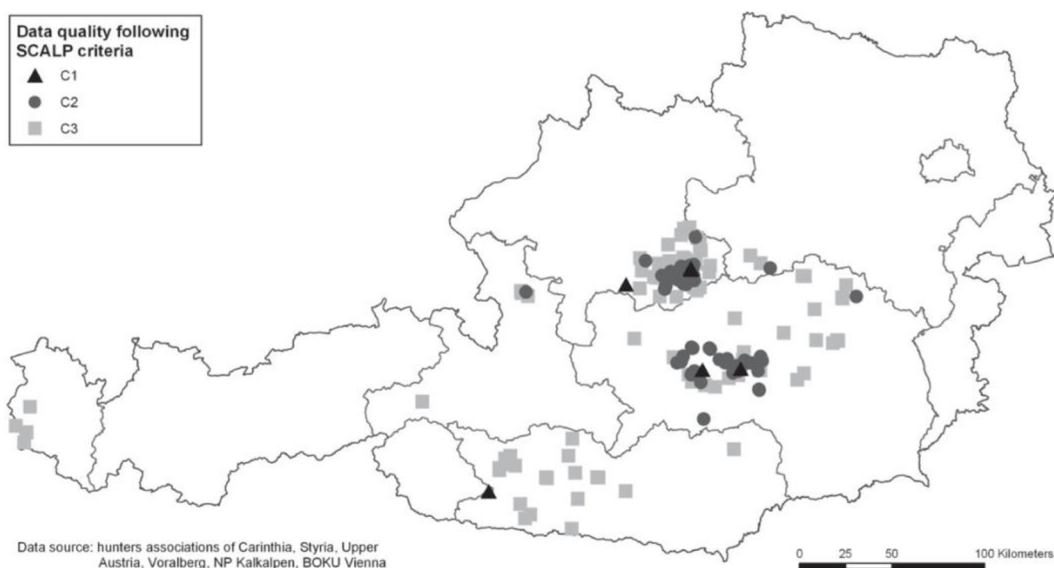


Obrázek 9: Výskyt rysa v Německu (Manfred et al., 2014)

3.10.5 Reintrodukce v Rakousku

V prosinci 1976 uzavřel göttingenský ústav se Zoologickou zahradou a botanickým parkem Ostrava smlouvu o vědeckotechnické spolupráci týkající se výzkumu a reintrodukce rysa ostrovida ve střední Evropě. Na základě této smlouvy poskytla Zoologická zahrada a botanický park v Ostravě v letech 1976–1979 devět dospělých rysů, poměr pohlaví 6:3. Kromě jednoho samce a jedné samice, kteří pocházeli ze Slovenského krasu, byla zvířata ze Slovenského rudohoří (Stehlík, 2004). Ačkoli byla zvířata označena rádiovými obojkami, všechny se brzy po

vypuštění porouchaly. Terénní projekty pokračovaly až do roku 1982, kdy bylo sledování vypuštěných zvířat ukončeno. Po pěti letech se rysové rozšířili až 120 km od místa reintrodukce, ale pozorování bylo málo a jen zřídka se potvrdila. Pouze ve spolkové zemi Korutany, kde byla aktivita rysa nejsilnější, shromažďovalo myslivecké sdružení údaje pomocí formulářů pro hlášení pozorování. V osmdesátých letech 20. století hlášení o výskytu rysů ubývala a zdálo se, že reintrodukce selhala. Když se v Korutanech kolem roku 1989 série zabití ovcí rysem potvrdila, zájem veřejnosti o rysa se znovu obnovil a bylo hlášeno více pozorování. Korutanský svaz myslivců vytvořil pracovní skupinu, která měla tato hlášení ověřit. Intenzivnější školení členů této skupiny od roku 1992 ukázalo, že většina shromážděných informací nebyla platným důkazem výskytu rysa. V současné době není v rakouských Alpách žádná zjištěná rysí populace, rozptýlená hlášení o pozorování poskytují pouze indicie o přítomnosti několika osamělých jedinců potulujících se ve středním Rakousku (Huber & Kaczensky, 1998). Autor Lass a kolektiv autorů (LAASS et al., 2006) v nové studii o výskytu rysa v Rakousku publikované v roce 2006 dospěli k závěru, že v Rakousku neexistuje žádný důkaz o ustálené populaci rysa. Domnívají se, že roztroušené známky přítomnosti rysa svědčí pouze o několika osamocených jedincích. Ve sledovaném období (2000–2004) se počet doložených známek přítomnosti rysa zvýšil oproti minulému sledování, ale velká část hlášení byla soustředěna pouze do dvou oblastí. Z časového a prostorového rozložení známek usuzují, že v obou těchto oblastech, v Dolních Taurách a v oblasti zahrnující národní park Kalkalpen, se vyskytuje více rysů. Mimo tyto dvě oblasti existuje mnoho pověstí o výskytu rysa, ale doložených záznamů o kořisti nebo stopách jen velmi málo.



Obrázek 10: Rozložení záznamů o výskytu rysa v rakouských Alpách v období 2000–2004 (LAASS et al., 2006).

3.10.6 Reintrodukce ve Slovinsku

Ještě na počátku 19. století se rys ostrovid potuloval po celém Balkánském poloostrově. Po ukončení turecké nadvlády se zvýšila lidská populace a s ní i těžba dřeva a nadměrný lov divokých šelem, predátoři byli pronásledováni jako škůdci. Ve Slovinsku se v letech 1821–1909 vyplácela odměna 20 až 25 Guldenů za každého zabitého rysa. Ze Slovinska druh vymizel v roce 1908, z Chorvatska v roce 1903 a z Bosny a Hercegoviny v roce 1911 (Cop, 1977). Dnes je autochtonní populace rysa na Balkáně omezena na jih bývalé Jugoslávie (Černá Hora a Makedonie) a na Albánii (Breitenmoser & Breitenmoser-wursten, 1990).

Slovinsko je místem, kde se stýkají Alpy a Dinárské pohoří. Kočevsko se rozkládá na ploše asi 100 000 ha, je porostlé smíšenými lesy a má krasový charakter s mnoha rysy podobnými slovenským Karpatům. Rysi zmizeli ze severní části Dinárských hor na počátku 20. století (Linnell et al., 2009).

Díky mimořádné shodě okolností se v roce 1972 podařilo ostravské zoo zajistit několik rysů z jihu Slovenského rudohoří a sestavit je do tří párů. Jeden pár tvořila matka se synem, kteří byli odchyceni společně. Čtyři rysy byli každý dvouletý, o dvou se předpokládalo, že jsou starší než čtyři roky. Reintrodukce ve Slovinsku

byla velmi dobře připravena, odborníci se přijeli podívat na místo, kde byla zvířata odchycena, a prohlédli si domovské stanoviště (Stehlík, 2004). Zvířata byla do Záhřebu odeslána letadlem 15. ledna 1973. Odtud byla převezena do karantény v Trove (Gojitveno lovisce Rog) v nadmořské výšce 1 099 m, která byla totožná s místem jejich vypuštění (Cop & Frkovic, 1998). Před vypuštěním strávili dva měsíce v aklimatizačních výběžích. Reprodukce byla zdokumentována v roce vypuštění a v následujících pěti letech. Od roku 1978 byla populace otevřena pro lov a její vývoj byl sledován podle distribuce zastřelených rysů. Zdá se, že populace se rychle rozšířila a kolonizovala dinárské pásmo v jižním Slovinsku, západním Chorvatsku a v severozápadní Bosně. Některá zvířata se dokonce rozšířila na sever do Alp na hranicích s Itálií a Rakouskem. Na počátku 21. století se zdá, že expanze stagnovala a možná začala klesat, a dnes se předpokládá, že populace čítá přibližně 130 jedinců (Linnell et al., 2009).

3.10.7 Reintrodukce ve Švýcarsku

Švýcarsko je jednou z alpských zemí, kde se rys ostrovid udržel poměrně dlouhou dobu. Autor Kratochvíl (1968) píše, že tam byl běžným druhem ještě na počátku 19. století. V letech 1971–1976 bylo do čtyř oblastí západních švýcarských Alp reintrodukováno 12 rysů, a to kombinací oficiálně schváleného a tajného vypouštění. Zvířata byla údajně divokého původu (ze slovenské části Karpat) a byla vypuštěna natvrdo bez následných opatření. Ze zápisků ostravské zoo vyplývají tyto konkrétní informace. Autor Stehlík (2004) píše, že Zoologická zahrada a botanický park v Ostravě poskytla na tento projekt v letech 1971–1976 12 rysů evropských (v poměru 7:5). Dva samci z tohoto počtu pocházeli ze Slovenského krasu, zbývající samci a všechny samice byli odchyceni ve Slovenském rudohoří. Rysi byli reintrodukováni v Alpách (kantony Obwald, Grisons, Vaud) a ve švýcarské Juře.

Další tajné vypouštění do jihovýchodních Alp a na Švýcarskou plošinu zřejmě okamžitě selhalo. Populace rysa v západních švýcarských Alpách se rozšířila a nyní zaujímá velkou část severozápadních Alp. Toto rozšíření je již více než deset let víceméně stabilní, i když se objevují lokální výkyvy. Značné plochy stanovišť zůstávají neobsazené. Nedávné přemístění rysa do východních Alp v letech 2001–2007 vedlo k výraznému rozšíření jeho areálu. V současné době se odhaduje, že ve

švýcarských Alpách obývá 60–90 rysů na 12 000 km² (U. Breitenmoser, 1998; Molinari et al., 2001). Rysové rozšířili své území také do francouzských Alp, kde potenciálně žije 10–15 rysů obývajících 1200 km² (Vandel et al., 2006). Nedávné přemístění rysů ze západního Švýcarska do východních švýcarských Alp je zatím v příliš rané fázi na to, aby bylo možné je hodnotit, i když první údaje naznačují, že rysové přežili a usadili se. Cílem této reintrodukce je překlenout propast mezi západním a východním výskytem ve švýcarských Alpách a také přispět ke konektivě v rámci celého alpského oblouku. Podmínky pro skutečný návrat rysa do severovýchodního Švýcarska byly nakonec vytvořeny vývojem v roce 2000. Švýcarská koncepce rysa, kterou v roce 2000 přijal SAEFL (Federální úřad pro životní prostředí, lesy a půdu) a která počítá s možností zasahovat do rysí populace jejím přemístěním a dává kantonům větší slovo při řízení rysí populace (Ryser et al., 2004).

3.11 Genetická diverzita

Mezinárodní svaz ochrany přírody (IUCN) je zodpovědný za vedení a údržbu Červeného seznamu, v němž jsou uvedeny druhy z celého světa, které vyžadují úsilí o zachování v zájmu dlouhodobé udržitelnosti. Po přidělení ochrannářského označení ohroženým taxonům používá IUCN několik specifických kritérií pro jednotlivé druhy. Mezi tyto faktory patří důkazy o úbytku populace, rozsah a obsazenost areálu a odhadovaný počet dospělých jedinců (Breitenmoser-Würsten et al., 2014). Odhady malé velikosti populace odvozené pomocí poklesu populace, počtu dospělých jedinců nebo jiných ukazatelů jsou pravděpodobně správnými indikátory ochrannářského zájmu pro mnoho druhů. Efektivní velikost populace je také kritickým hlediskem a je často mnohem menší než skutečná velikost populace (Frankham, 1995). Teorie populační genetiky a její údaje naznačují, že snížení efektivní velikosti populace má za následek ztrátu genetické rozmanitosti, což může mít dopad na dlouhodobou odolnost populace (Crow & Kimura, 1970).

Úroveň genetické diverzity v populacích savců je dána různými faktory, včetně jejich evoluční historie a klimatických událostí v minulosti, stejně jako současnými změnami prostředí způsobenými lidskou činností (Freeland, 2005). Velké šelmy byly dříve považovány za méně citlivé než ostatní savci na faktory způsobující genetickou strukturovanost, a to z důvodu jejich vysoké mobility a efektivního toku genů (Schwartz et al., 2002). U mnoha savčích predátorů však došlo v důsledku záměrného vyhubení k výraznému snížení jejich počtu i rozšíření (Wilson & Mittermeier, 2009). Tato situace spolu s přirozeně nízkou populační hustotou by měla mít negativní vliv na jejich genetickou diverzitu (Garner et al., 2005).

Pochopení toho, co určuje vzorce genetické diverzity a populační struktury, je důležité zejména u populací druhů s širokým areálem rozšíření, protože nedostatečný tok genů mezi populacemi v rámci areálu může vést k izolaci a malé velikosti populací, což nakonec vyústí v příbuzenské křížení, ztrátu genetické variability a vyšší riziko vymření (Frankham et al., 2002).

Rys euroasijský je jednou z nejrozšířenějších kočkovitých šelem, která se vyskytuje od středovýchodní Evropy až po dálný východ Asie (Nowell & Jackson,

1996). V posledních desetiletích nicméně došlo v některých oblastech Skandinávie a střední Evropy díky ochraně a reintrodukcím k úspěšnému obnovení rysí populace. V současné době je evropské rozšíření rysa souvislé v oblasti zahrnující severozápadní Rusko a Skandinávii, zatímco směrem k jihozápadnímu okraji areálu je fragmentovanější. Největší žijící populace, která je izolovaná od hlavního rysího areálu, zaujímá oblast Karpat. Menší, i když méně zřetelně oddělené populace obývají území severovýchodního Polska, Běloruska a Litvy (von Arx et al., 2004). Historické i geografické faktory tedy mohly mít zásadní vliv na genetickou variabilitu a diferenciaci populací rysa ostrovida.

Rys ostrovid je vhodným příkladem pro studium genetických důsledků reintrodukcí pomocí celogenomových markerů vzhledem k různorodé populační historii a demografii v celém areálu, včetně řady pokusů o reintrodukci. Jedná se o velkou samotářskou šelmu, jejíž historický areál se rozprostíral v Palearktu od západní Evropy po východní Asii. Během 19. a 20. století čelily populace v Evropě rozsáhlému pronásledování a v několika regionech lokálně vyhynuly (Chapron et al., 2014).

Karpatská populace je hlavním zdrojem reintrodukcí rysa evropského v celé Evropě. Populace je považována za stabilní, nicméně v západní části došlo v průběhu minulého století k výrazným populačním výkyvům, včetně zásadního poklesu ve 30. letech 20. století, který byl důsledkem silného loveckého tlaku, a rychlého oživení po zavedení zákonné ochrany (Salvatori et al., 2002).

Genetické faktory mohou mít zásadní vliv na celkový výsledek reintrodukčních snah. V krátkodobém horizontu jsou hlavními problémy genetické složení vypuštěných jedinců, velikost zakladatelské populace a inbreedingová deprese. Pokud populace zůstávají malé a izolované po více generací, čelí dvěma genetickým hrozbám. Jejich alely jsou náhodně fixovány nebo se z populace ztrácejí, tím klesá úroveň kvantitativní genetické variability nezbytné pro adaptivní evoluci. Malé a izolované populace jsou ze své podstaty zranitelnější vůči poruchám vnějšího prostředí a náhodným výkyvům v lokálním přežívání a plodnosti (Keller & Waller, 2002). Předchozí genetické studie evropských populací rysů pomocí mikrosatelitních markerů a sekvencí mitochondriální DNA (mtDNA) zjistily nejnížší úroveň diverzity a silnou populační diferenciaci v rámci Evropy,

ale také poměrně vysokou úroveň toku genů mezi populacemi v centrální části jeho areálu (Hellborg et al., 2002; Ratkiewicz et al., 2012).

Předchozí zjištění ukázala, že rys euroasijský měl v rámci svého bývalého evropského areálu až donedávna společnou evoluční historii (Gugolz et al., 2008). To by mohlo naznačovat vysokou míru genetické výměny v rámci většiny evropských populací v historických dobách. Na druhou stranu jiné studie odhalily existenci genetické struktury mezi některými populacemi rysa ve východní a severní Evropě (Hellborg et al., 2002), což naznačuje přítomnost faktorů omezujících tok genů. Tyto studie se však zaměřily na oddělené části geografického areálu rysa s odlišnou populační historií a charakteristikou biotopu a použily různé genetické markery.

V současnosti byla na základě genetické analýzy vzorků srsti naznačena substrukturalizace v rámci Západních Karpat. Analýza zkoumala změny v zastoupení tří fenotypů u volně žijících zvířat v původní karpatské populaci za posledních šedesát let. Vzor srsti byl u každého geograficky vymezeného poddruhu vysoce dědičný, neboť potomci se značně podobali svým rodičům. V posledním desetiletí bylo v původní karpatské populaci zaznamenáno výrazné snížení podílu skvrnitých jedinců, kteří představovali fenotyp charakteristický pro tuto linii (poddruh) a v minulosti převažovali. Podíl skvrnitých a růžkatých jedinců se v populaci v posledním období vyrovnal, přičemž v nejmenším, nejvíce ochuzeném populačním podsouboru dokonce převládal růžkatý fenotyp. Rychlou změnu frekvence dominantního fenotypu lze přičíst zmenšující se velikosti populace s omezeným tokem genů do okrajových částí rozšíření. Předpokládá se, že vysoká intenzita rozvoje dopravy a antropogenně podmíněná mortalita jsou hlavními faktory, které fragmentují místní populaci a snižují počet rozmnožujících se rysů v regionu. Slovenská populace rysa je hlavním zdrojem pro projekty reintrodukce rysa ve střední Evropě, a proto může být fenotypový profil použit jako účinný indikátor potenciálních problémů ochrany na genetickém základě v této autochtonní populaci (Kubala et al., 2020).

Ve studii od Krojerová-Prokešová a kol. (2022) se autoři zaměřili na srovnávací genetické hodnocení zahrnující populace in situ. Analýza porovnávala vzorky 97 rysů v žijících v zajetí ze 45 evropských zoologických

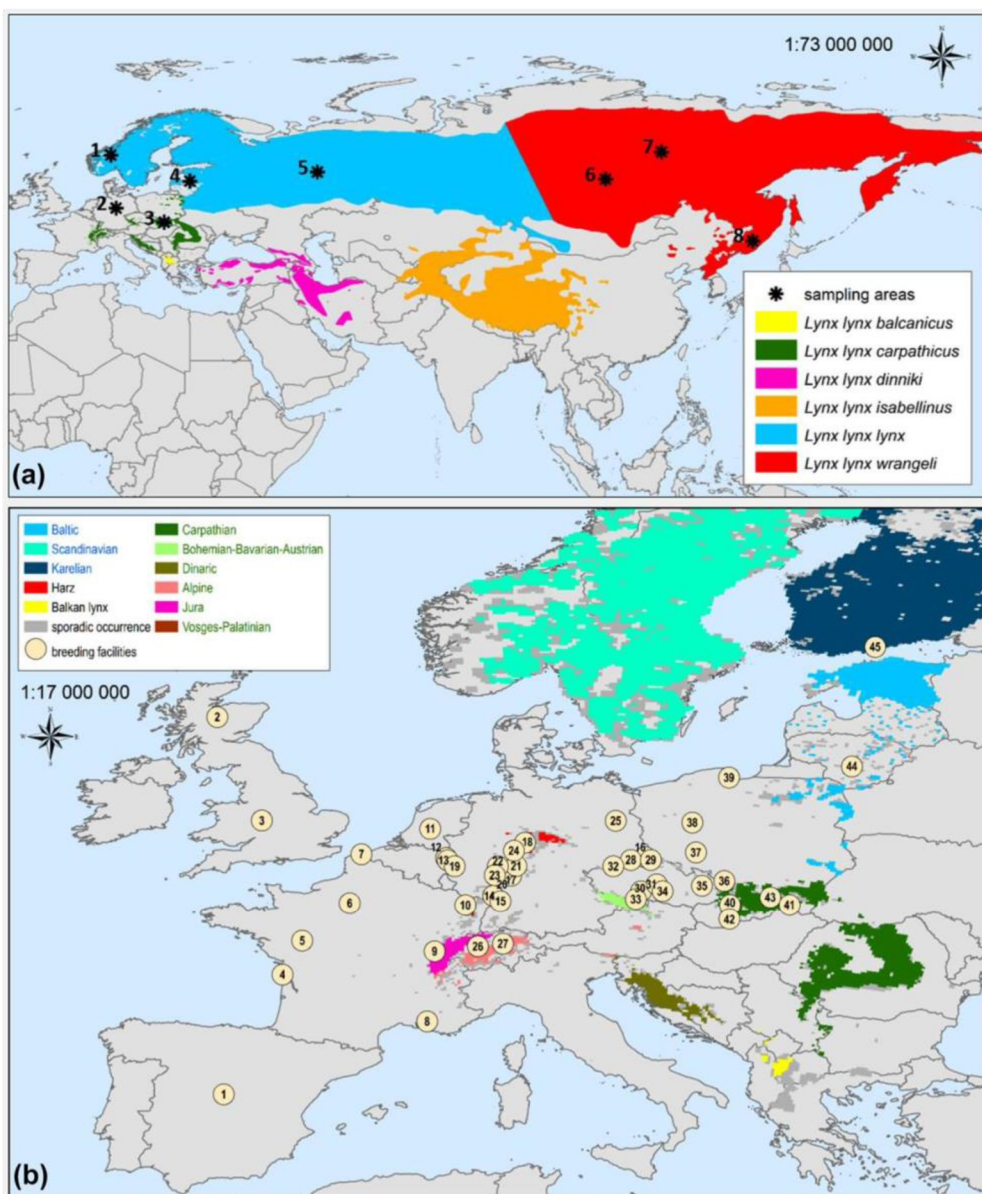
zahrad, parků pro volně žijící zvířata a soukromých chovů společně s využitím 124 rysů z různých volně žijících euroasijských populací patřících do tří evolučních linií: karpatské, severské a sibiřské. Výsledky ukázaly vysoký podíl sibiřských rysů (51 %) v evropské populaci rysů chovaných v zajetí. Zbývající zvířata chovaná v zajetí byla přiřazena buď ke karpatské (28 %), nebo severní linii rysa (13 %). Příměs mezi liniemi byla poměrně nízká (8 %). Pozoruhodné je, že mezi volně žijícími populacemi rysů a populacemi rysů v zajetí nebyl zjištěn žádný nebo jen velmi nízký rozdíl v genetické diverzitě. Tyto výsledky podporují myšlenky o chování populací v zajetí pro možnost poskytnutí geneticky vhodného jedince pro záchranné reintrodukční programy.

Jako evoluční faktory působí selekce, mutace, migrace, náhodný tlak – ty vyvolají změnu genetické struktury populace. Vlivy, které narušují rovnováhu populace, tak mohou být systematické, u nichž lze předpovědět směr a velikost změny četnosti alel a genotypů (migrace, mutace, selekce) nebo stochastické – náhodné, u nichž lze předpovědět velikost změny četností, ale ne směr působení (náhodný tlak, změny migrace a selekce). Specifický účinek na genové frekvence má genotypové složení populace a tím zdrojem změn je též příbuzenské páření – inbreeding (Hruban & Majzlík, 2002).

Inbreeding je páření příbuzných jedinců, kteří mají jednoho či více společných předků. Dochází tím ke spojení původně identických genů a k homozygotizaci, čímž vzrůstá podíl identických homozygotů. Inbreeding působí výrazně na změnu frekvencí genotypu zejména v malých populacích (Hruban & Majzlík, 2002).

Potenciál druhu vyvíjet se, přizpůsobovat se a reagovat na změny prostředí závisí především na genetické rozmanitosti (Frankham et al., 2002). Světový svaz ochrany přírody (IUCN) uznal, že zachování genetické rozmanitosti je jednou ze tří priorit, které jsou nezbytné pro zachování biologické rozmanitosti jako celku. Kromě toho se ukázalo, že genetická rozmanitost má zásadní význam pro obnovu a fungování ekosystémů (Frankham, 2005). Vzhledem k tomu je zjišťování historických i současných vzorců genetické diverzity zásadní součástí řízení druhů a populací za účelem jejich ochrany. Nicméně nízká úroveň genetické variability u

jedinců používaných pro translokace přináší dvě potenciální rizika. Prvním je, že reprodukce mezi příbuznými jedinci může vést ke snížení vitality, reprodukčního výkonu a přežití (inbreedingová deprese). Druhým je nedostatek dostatečné genetické variability, která by umožnila dlouhodobé přežití a adaptaci tvář v tvář změnám prostředí (Breitenmoser-Würsten et al., 2014).



Obrázek 11: a) Rozsah rozšíření evolučních linií rysa euroasijského podle Kitchener et al. (2017). Vzorky v rámci volně žijících populací jsou označeny hvězdičkami (1 Skandinávská, 2 Harcká, 3 Karpatská, 4 Baltská, 5 Kirovský, 6 Irkutský, 7 Sačský, 8 Primorský kraj). b) Umístění chovných zařízení. Areály rozšíření jednotlivých populací rysa evropského podle mapování Červeného seznamu IUCN 2012-2016 (včetně korelací LCIE et al. 2020) jsou zobrazeny jako podklad, jejich příslušnost ke karpatské a severní linii je vyznačena v legendě zelenou, resp. modrou barvou

3.12 Typy DNA

U živočichů existují dva hlavní typy DNA, které nesou genetickou informaci: genomová DNA a mitochondriální DNA. Tyto typy se od sebe liší způsobem dědičnosti a mírou variability. Souhrnně lze říci, že jaderná DNA vykazuje biparentální dědičnost a vysoký stupeň variability, zatímco mtDNA vykazuje uniparentální dědičnost a nižší stupeň variability (Reeve & Black, 2001).

3.12.1 Genomová (jaderná) DNA

Jaderná DNA je genetický materiál, který je obsažen v jádře buňky. Dědí se od obou rodičů, a proto se nazývá biparentální dědičnost. Jaderná DNA u rysa se skládá z 38 párů chromozomů (Nie et al., 2012). Díky biparentální dědičnosti vykazuje jaderná DNA vysoký stupeň variability, což znamená, že může vytvářet různé genetické kombinace u potomků dvou jedinců. Variabilita jaderné DNA přispívá ke genetické rozmanitosti v populaci a umožňuje přírodnímu výběru působit na znaky, které poskytují výhody pro přežití (Jacobs, 2001).

DNA, která se nachází v chromozomech uvnitř jádra a obsahuje veškerou biologickou informaci a bude předána další generaci, se nazývá genomová deoxyribonukleová kyselina (zkráceně gDNA). Slova „genom“ a „genomická“ pocházejí ze slova „gen“. Gen je soubor kodonů, které určují specifický bílkovinný řetězec, spolu s příslušnými start a stop kodony. Slovo genom je rozšířením tohoto pojmu a znamená soubor všech genů a dalších informací obsažených uvnitř jader buněk organismu. Často se při použití slova „DNA“ bez dalšího upřesnění odkazuje na gDNA (BioChain Institute Inc., 2017).

Detekci genomové DNA využili autoři studie (Bouchard et al., 2023) k určení přítomnosti parazitického prvoka (*Toxoplasma gondii*) u rysů kanadských (*Lynx canadensis*). K analýze využili vzorky tkání uhynulých jedinců a vzorky trusu posbíraných mezi lety 2015–2020. Studie potvrdila skutečnost, že rysy kanadští jsou mezihostiteli i hostiteli *T. gondii* a mohou být rizikem v případě kontaminace prostředí a infikování ostatních volně žijících zvířat.

3.12.2 Mitochondriální DNA

Mitochondriální DNA (mtDNA) je fyzickým ztělesněním genetické informace zakódované v mitochondriích. Technicky vzato pojem „mitochondriální DNA“ zahrnuje nejen mitochondriální genom jako takový, ale i další typy DNA, které jsou přítomny v mitochondriích některých organismů. Jak již název napovídá, mtDNA je lokalizována v rámci mitochondrie, a je tedy fyzicky a transkripčně oddělena od hlavního jaderného genomu eukaryotické buňky (Gray, 2013). Na rozdíl od jaderné DNA se mtDNA dědí pouze po matce, a vykazuje tedy jednorodičovskou dědičnost. To znamená, že nepodléhá rekombinaci a má pomalejší rychlost vývoje. V důsledku toho mtDNA vykazuje menší variabilitu než jaderná DNA. Proto je mtDNA užitečná pro sledování mateřských linií a studium evoluční historie populací (Reeve & Black, 2001).

Živočišná mtDNA je běžně popisována jako malá kruhová molekula, která je zachována co do velikosti, obsahu genů a uspořádání. Údaje shromážděné v posledním desetiletí tento názor zpochybnily a odhalily značnou rozmanitost v organizaci mitochondriálního genomu živočichů. Velká část této rozmanitosti byla nalezena u nebilaterálních živočichů (např. žahavci, žebernatky, vložkovci a houbovci), kteří z fylogenetického hlediska tvoří spolu s *Bilateria* – dvoustranně souměrní (Hatschek, 1888) hlavní větve živočišného stromu. V rámci těchto skupin se mt-genomy vyznačují různým počtem lineárních i kruhových chromozomů, extra geny, velkou variabilitou v počtu kódovaných mitochondriálních přenosových RNA, nejméně sedmi různými genetickými kódy, přítomností/nepřítomností intronů, editací tRNA a mRNA, fragmentovanými geny ribozomální RNA, velmi variabilní mírou substitucí a velkým rozsahem velikostí genomů. Tato nově objevená rozmanitost umožňuje lépe pochopit evoluční plasticitu a zachování živočišné mtDNA a poskytuje vhled do molekulárních a evolučních mechanismů utvářejících mitochondriální genomy (Lavrov & Pett, 2016).

Souhrnně lze říci, že mtDNA je nejlepším nástrojem pro řešení taxonomických problémů v ochranářské genetice. Přesto je třeba určité opatrnosti s genově specifickou, druhově specifickou a liniově specifickou evolucí v mtDNA. Mateřská dědičnost mtDNA ji omezuje na zkoumání událostí v mateřském úhlu a předurčuje ji k tomu, aby byla užitečným markerem k jaderné DNA. Dále je třeba poznamenat,

že mtDNA je málo užitečná při zkoumání nedávné ztráty genetické variability a jakýchkoli událostí na individuální úrovni, jako je ztotožnění, individuální rozptyl a systémy páření.

Studie od Sindičić a kolektivu autorů (2012) popisuje analýzu mtDNA u 35 vzorků rysa ostrovida na přítomnost repetitivní sekvence RS3, která však do té doby nebyla u rysa zjištěna. Analýzou a porovnáním s repetitivními sekvencemi zjištěnými u jiných druhů kočkovitých šelem zjistili přítomnost 80 párů bází (bp) repetitivní sekvence (RS2) na 5f konci vlákna mtDNA rysa euroasijského a poprvé popsali repetitivní sekvenci RS3 na jeho 3f konci. Studium repetitivních sekvencí je důležité, protože může poskytnout vhled do funkce genomu a evoluce jaderného a mitochondriálního genomu (Ray & Densmore, 2003).

Velkoplošná genetická analýza vzorků, 148 muzejních exemplářů nasbíraných za posledních 150 let popsala rozsáhlou genetickou strukturovanost rysa ostrovida. Pomocí sekvencí mtDNA a mikrosatelitních lokusů autoři studie prozkoumali prostorové genetické vzorce a popsali tři fylogenetické klany a jasnou strukturovanost podél gradientu od východní části Asie až po západní Evropu (Rueness et al., 2014).

Zatímco mtDNA lze použít k řešení taxonomie, genetické variability a populační struktury, jaderné mikrosatelitní markery jsou vhodnější pro odvození nedávné populační historie a současného toku genů (Wan et al., 2004).

3.13 Genetické markery

Genetické markery jsou důležitým nástrojem pro hodnocení a monitorování druhů volně žijících živočichů a poskytují cenné informace jak na úrovni populací (např. genetická diverzita, velikost populací a migrace), tak na úrovni jedinců (např. reprodukční úspěšnost, příbuznost a domovské okrsky). Zvláště důležitou roli hrají při studiu a ochraně divokých šelem, protože genetické údaje získané z neinvazivně odebraných vzorků (např. srsti nebo trusu) poskytují informace, které je obtížnější získat pomocí tradičního monitoringu. Genetický monitoring může významným způsobem informovat výzkumné pracovníky a agentury o parametrech populace, které je téměř nemožné získat pouhým pozorováním (Schwartz et al., 2007).

Genetický marker je variace v sekvenci nukleových kyselin nebo jiná genetická charakteristika, kterou lze snadno zjistit a použít k identifikaci jedinců, populací nebo druhů nebo k identifikaci genů, které se podílejí například na dědičné chorobě. Typ genetického markeru je definován identifikovaným polymorfismem, který rozděluje jedince od populace do odlišných kategorií. Genetické markery hrají klíčovou roli při genetickém mapování, konkrétně při určování polohy různých genů, které se nacházejí blízko sebe na stejném chromozomu a mají tendenci se dědit společně. Takové skupiny vazeb lze využít k identifikaci neznámých genů, které ovlivňují riziko onemocnění (Britannica, 2023).

Jako genetické markery slouží více typů polymorfismů, včetně jednonukleotidových polymorfismů (SNP), jednoduchých polymorfismů délky sekvence (SSLP) a polymorfismů délky restrikčních fragmentů (RFLP). SSLP zahrnují opakované sekvence, varianty známé jako minisatelity (variabilní počet tandemových repetice, VNTR) a mikrosatelity (jednoduché tandemové repetice, STR) (Britannica, 2023). Pro popis a určení velikosti genetické proměnlivosti v rámci populace a charakteru genetické variability mezi populacemi potřebujeme znaky, u kterých jsme z jejich fenotypového projevu schopni odvodit jejich genotyp (Gömöry & Longauer, 2014).

Genetické markery tvoří tři hlavní kategorie: morfologické markery, biochemické markery a molekulární markery. Morfologické a biochemické markery jsou také označovány jako pre-DNA markery (Manzo-Sánchez et al., 2015). Morfologické markery jsou klasické markery, které zahrnují vizuální identifikaci. Před rozvojem DNA markerů byly izozymy jedním z nejoblíbenějších a nejčastěji používaných markerů. Jedná se o proteiny, enzymy kódované jedním nebo více lokusy a oddělené pomocí elektroforézní techniky (Jinek et al., 2012).

Molekulární DNA markery jsou definovány jako variace v DNA, která je nositelkou dědičné informace a lze použít k detekci polymorfismu mezi různými genotypy identifikující různé alely v populaci nebo genofondu (Jiang, 2013).

K výpočtu těchto ukazatelů je třeba nejprve definovat skupiny jedinců a poté použít jejich genotypy k výpočtu rozptylu frekvencí alel. Základním předpokladem jakýchkoli závěrů o genetické struktuře populací je tedy definice samotných populací. Určení populace se obvykle zakládá na geografickém původu vzorků

nebo fenotypů. Genetická struktura populací se však ne vždy odráží v geografické blízkosti jedinců. Populace, které nejsou diskrétně rozmístěny, mohou být přesto geneticky strukturované v důsledku neidentifikovaných bariér toku genů. Naopak skupiny jedinců s různou geografickou polohou, vzorci chování nebo fenotypy nemusí být nutně geneticky odlišné (Evanno et al., 2005).

3.13.1 Mikrosatelity

Identifikace a následné využití mikrosatelitových sekvencí DNA mělo významný dopad na genetiku. Například genotypizace mikrosatelitních markerů na základě PCR výrazně usnadnila oblasti, jako je ochránářská genetika, populační genetika a forenzní medicína, a umožnila detailní posouzení příbuznosti a genetické variability mezi jedinci, populacemi a druhy (Ellegren, 2000).

Jedním z molekulárních markerů pro identifikaci jedinců v ekologických studiích jsou mikrosatelity; tyto kodominantní markery využívají na polymerázovou řetězovou reakci při amplifikaci DNA v malých nebo znehodnocených vzorcích, jsou vysoce variabilní a lze je snadno interpretovat z hlediska frekvencí alel (Parker et al., 1998). Mikrosatelity jsou vysoce polymorfní a využívají se k identifikaci rodičovství, pravosti odrůd, mapování genomu a v nepřímé diagnostice (Hruban & Majzlík, 2002).

Mikrosatelity jsou definovány jako tandemově se opakující úseky krátkých (1-6 bp) motivů (např. CACACACACACA). Někdy se označují jako krátké tandemové repetice (STR) nebo jednoduché repetice. Pro označení typu opakovaného motivu se často používají termíny jako mono-, di-, tri- nebo tetranukleotidové repetice. Mikrosatelity proto patří do třídy sekvencí označovaných jako variabilní počet tandemových repetic (VNTR), které označují jakoukoli tandemově se opakující DNA, která může vykazovat délkový polymorfismus (Ellegren, 2000).

Variabilita mikrosatelitů je často tak vysoká, že i při malém počtu lokusů a velkém počtu jedinců mají všichni jedinci jedinečný multilokusový genotyp (kombinaci alel, které organismus vlastní). Proto je možné řešit otázky, jako je rozlišování, příbuzenské vztahy, struktura a klasifikace, nejen na úrovni populace

(pomocí alelických frekvencí), ale také na individuální úrovni (pomocí genotypu) (Estoup et al., 2002).

Mikrosatelitní mutace lze studovat pomocí řady přístupů. Nejjednodušším a nejprůkaznějším způsobem je přímá detekce mutačních událostí při rodokmenovém genotypování.

Allendorf a kolektiv autorů (Allendorf et al., 2013) popisují mikrosatelitní analýzu jako mocný nástroj pro výzkum populační genetiky. Uvádějí základní kroky mikrosatelitní analýzy, které zahrnují:

- PCR amplifikace: Mikrosatelitní lokusy se amplifikují pomocí PCR s primery navrženými tak, aby obklopovaly repetitivní sekvenci.
- Analýza fragmentů: Produkty PCR se rozdělí podle velikosti pomocí gelové elektroforézy nebo kapilární elektroforézy a výsledné fragmenty se vizualizují a vyhodnotí.
- Genotypizace: Výsledné velikosti fragmentů se porovnají se standardním žebříčkem, aby se určila velikost každé alely na každém mikrosatelitním lokusu. Tuto informaci lze použít k určení genotypu každého jedince na každém lokusu.
- Analýza dat: Výsledné údaje o genotypu lze použít k odhadu různých genetických parametrů populace, jako je alelická diverzita, heterozygotnost a genetická diferenciací mezi populacemi.

Mikrosatelity mají sice mnoho výhod, ale také některá omezení. Například jsou náchylné k výpadku alel a chybám ve skórování a mohou být ovlivněny chybami při genotypování a mutacemi. Kromě toho jsou omezeny na poskytování informací o neutrální genetické variabilitě a nemusí přesně odrážet vzorce selekce působící na genom (Allendorf et al., 2013).

V rámci monitoringu velkých šelem v České republice, které proběhlo v posledním desetiletí, bylo odebráno několik biologických vzorků rysa ostrovida mimo místa trvalého výskytu tohoto druhu. Pomocí mikrosatelitního genotypování byli identifikováni čtyři disperzní rysí samci. A díky použití několika metod došlo k jejich přiřazení k možným zdrojovým populacím. Na základě této studie byl analyzován rozptyl, který je klíčovým procesem pro udržení vnitrodruhové

genetické rozmanitosti, protože zajišťuje tok genů uvnitř populací a mezi nimi (Gajdárová et al., 2021).

3.13.2 SNPs

Jednonukleotidový polymorfismus, častěji označován jako SNPs (z anglického Single-nucleotide polymorphism) je odchylka na jedné pozici v sekvenci DNA u různých jedinců. Pokud se SNP vyskytuje v rámci genu, pak se gen označuje jako gen s více než jednou alelou. V těchto případech mohou SNP vést k odchylkám v sekvenci aminokyselin. SNP však nejsou spojeny pouze s geny; mohou se vyskytovat i v nekódujících oblastech DNA. I když konkrétní SNP nemusí způsobovat poruchu, některé SNP jsou spojeny s určitými onemocněními. Tyto asociace umožňují vědcům hledat SNP, aby mohli vyhodnotit genetickou predispozici jedince k rozvoji nemoci. Pokud je navíc známo, že určité SNP jsou spojeny s určitým znakem, mohou vědci zkoumat úseky DNA v blízkosti těchto SNP ve snaze identifikovat gen nebo geny odpovědné za daný znak (Sherry et al., 1999).

V posledních letech probíhá přechod od používání mikrosatelitů k používání jednonukleotidových polymorfismů v molekulárních studiích volně žijících druhů (Seeb et al., 2011). Markery založené na SNP mají několik výhod ve srovnání s mikrosatelity, včetně jejich celogenomové distribuce v kódujících a nekódujících oblastech, přenositelnosti dat díky nezávislosti technologie genotypování a potenciálu pro vysokokapacitní screening (Brumfield et al., 2003). Za předpokladu, že je k dispozici dostatečný počet markerů, lze SNP porovnávat s mikrosatelity ve studiích důležitých pro ochranu přírody, např. identifikace jedinců, rozboru struktury populace, přiřazení jedinců k populacím nebo určení rodičovství a příbuznosti. Jednou z nevýhod markerů SNP je nízká úroveň získaných informací ve srovnání s vysoce polymorfními mikrosatelity, což však lze kompenzovat použitím většího počtu markerů (čipů SNP) a celogenomového sekvenování (Werner et al., 2002). Celkově lze říci, že SNP umožňuje zvýšení přesnosti většiny genetických analýz, pokud jsou k dispozici v dostatečném počtu (Kleinman-Ruiz et al., 2017).

Zmíněný Kleinman-Ruiz a kolektiv autorů (2017) dokazují úspěšnost a efektivitu SNP markeru ve své celogenomové studii o rysu iberském. Analyzovali vzorky pro získání informací o individuálních jedincích, přiřazení rodičovství, odhadu příbuznosti, původu a detekci hybridizace. Povedlo se jim identifikovat další marker, který vykazoval významné rozdíly mezi pohlavími. Závěrem studie bylo konstatování, že nové, vysoce informativní genomové SNP panely, poskytují výkonnější, účinnější a flexibilnější nástroje pro genetický management a neinvazivní monitoring.

Mueller et al., (2022) přinesli ve své studii při využití jednonukleotidových polymorfismů (SNP) komplexní pohled na ztrátu genetické diverzity a příbuzenského křížení v šesti reintrodukovaných a ve dvanácti přirozených populacích rysa ostrovida v Evropě a Asii. Všechny reintrodukované populace vykazovaly nižší genetickou diverzitu a zvýšenou úroveň inbreedingu ve srovnání se zdrojovými a ostatními přírodními populacemi. Toto zjištění vyvolává otázku, zda jedinci odebraní z těchto populací mohou zajistit dostatečnou genetickou diverzitu pro budoucí reintrodukcce. Autoři studie se vzhledem ke zjištěným konsekvencím, zasazují o standardizované a pravidelné genomické hodnocení zdrojových a cílových populací.

3.13.3 RFLP

Anglicky Restriction fragment length polymorphism (RFLP) – restrikční analýza je technika, kterou v roce 1984 vynalezl anglický vědec Alec Jeffreys při výzkumu dědičných chorob a nyní patří mezi nejstarší a nejrozšířenější techniky používané v diagnostice DNA. Její praktické využití spočívá v rozpoznání a studia vnitrodruhové i mezidruhové variability. Při analýze RFLP se vzorek DNA štěpí na fragmenty jedním nebo více restrikčními enzymy a výsledné restrikční fragmenty se pak rozdělí pomocí gelové elektroforézy podle velikosti (National Library of Medicine, 2017). RFLP vychází ze tří typů mutací: 1) přítomnost nebo nepřítomnost specifického místa rozpoznávání restrikčního enzymu v doprovodných oblastech úseků tandemových repetitiv; 2) inserce/delece v doprovodné sekvenci lokusů VNTR; 3) variabilita v délce úseků tandemových repetitiv (Wan et al., 2004).

Mezi hlavní výhody RFLP patří: 1) Vysoká spolehlivost, protože je generován ze specifických míst pomocí známých restričních enzymů a výsledky jsou konstantní v čase i místě. 2) Ko-dominance, což znamená, že výzkumníci jsou schopni odlišit heterozygoty od homozygotů. 3) Selektivní neutralita se vztahuje k situaci, kdy různé alely určitého genu poskytují stejnou zdatnost.

Nevýhody RFLP jsou následující: 1) pracnost a časová náročnost, 2) RFLP mohou prověřit pouze specifické mutace na enzymových místech, což omezuje identifikaci celých genomových variací u zvířat, 3) polymorfismus RFLP markerů je relativně nízký a musí být detekován radioizotopem, což omezuje jeho použití (Yang et al., 2013).

Příkladem použití restriční analýzy je studie, ve které bylo cílem zjistit možný výskyt parazitárního onemocnění viscerální leishmaniózy u volně žijících masožravců, včetně rysa, ve Španělsku (Sobrino et al., 2008).

3.13.4 AFLP

AFLP vyvinuli výzkumníci Zabeau a Vos v roce 1993. Jedná se o kombinaci technik RFLP a PCR. Postup AFLP je následující: nejprve se genomická DNA naštěpí restričním enzymem a poté se fragmenty navážou na syntetické adaptory a amplifikují se určenými primery, které jsou komplementární k selektivní sekvenci na adaptorech. Následná separace amplifikovaných fragmentů se získá pomocí selektivních primerů a vizualizuje se pomocí autoradiografie (Blears et al., 1998). AFLP překonává nevýhody pracné a časově náročné metody RFLP a řeší problém spolehlivosti způsobený nespecifickými amplifikacemi u RAPD. AFLPs se vyznačují genetickou stabilitou, poskytují účinný, rychlý a ekonomický nástroj pro detekci velkého počtu polymorfních genetických markerů, které lze genotypizovat automaticky. AFLP jsou však dominantní bialelické markery a nejsou schopny rozlišit dominantní homozygoty od dominantních heterozygotů. Metoda AFLP je ideálním molekulárním přístupem pro populační genetiku a typizaci genomu, proto se široce používá k detekci genetických polymorfismů, hodnocení a charakterizaci genetických zdrojů zvířat (Negrini et al., 2007).

4. Výsledné hodnocení a diskuse

Celkový počet rysů euroasijských se odhaduje na přibližně 9 000 jedinců a většina populací je v posledním desetiletí obecně stabilní, i když se zdá, že většina reintrodukovaných populací stagnuje na relativně malých počtech (Chapron et al., 2014). Přestože reintrodukce ve středoevropském prostoru začala již v 70. letech 20. století (Kaczensky et al., 2013), zavedené populace jsou většinou izolované a dosahují menší velikosti (méně než 200 nebo dokonce méně než 100 jedinců) (Chapron et al., 2014). Dále byl ve všech případech počet vypuštěných jedinců nízký a v některých případech se jednalo dokonce o blízcě příbuzné jedince. To mělo nevyhnutelně za následek nízkou úroveň genetické rozmanitosti a zvýšené riziko inbreedingové deprese (Linnell et al., 2009; Mueller et al., 2022). Bylo však prokázáno, že i jednotliví dispergující jedinci mohou v malých populacích výrazně posílit genofond a životaschopnost populace (Frankham et al., 2002).

Ukazuje se, že na evropském kontinentu se daří udržovat a do jisté míry i obnovovat životaschopné populace velkých šelem v kontinentálním měřítku (Chapron et al., 2014).

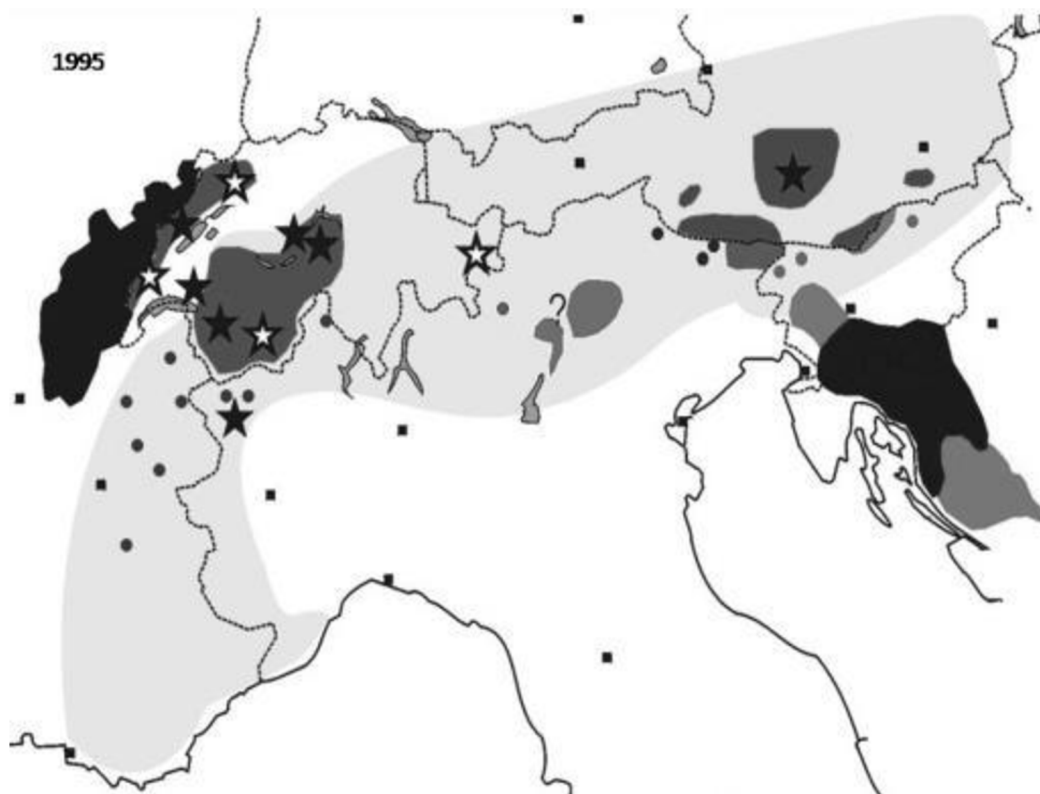
Navzdory pokračující expanzi velkých šelem v Evropě zůstávají populace rysa roztržštěné, izolované a ohrožené příbuzenským křížením a ztrátou genetické rozmanitosti. Alpy dnes představují pro rysa ostrovida vhodný životní prostor, pokud jde o stanoviště a množství kořisti, jak ukazují zkušenosti z reintrodukované populace ve Švýcarsku a na Slovensku. Téměř 40 let po reintrodukci rysa do Alp jsou však všechny výskyty stále malé a nesouvislé. Rozšíření a sloučení jeho areálu je klíčové pro jejich dlouhodobé udržení. Přírozené šíření rysa v Alpách je však velmi pomalé nebo vůbec žádné, pravděpodobně kvůli kombinaci druhových specifíků, krajinných omezení a vysokých antropogenních ztrát (Molinari-Jobin et al., 2012).

V letech 1995–1999 a 2000–2004 se zvýšil jak areál výskytu, tak odhadovaný počet jedinců. Odhadovaný počet rysů je 120–150 v celých Alpách a oblast výskytu 27 800 km² v šesti odlišných podoblastech. Ve vysoce fragmentovaném alpském prostředí se rysí populace rozšiřují pomalu, a to i v situacích vysoké lokální hustoty

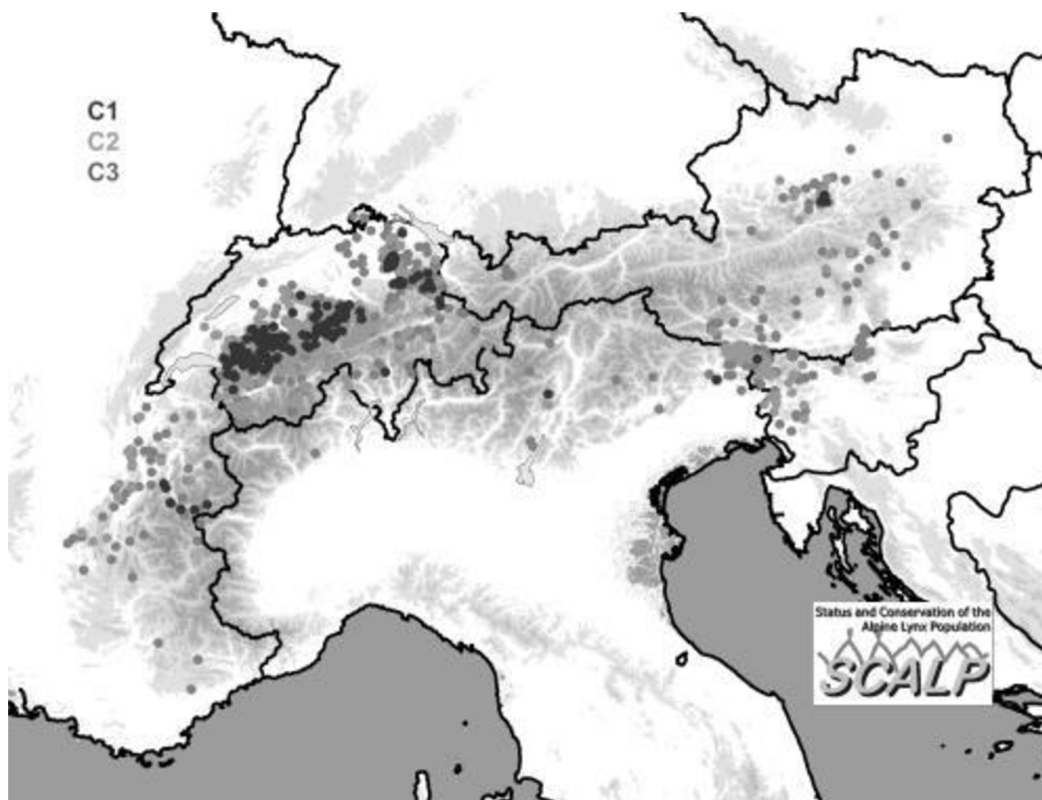
a při dostupnosti vhodného prostředí. Téměř 40 let po první reintrodukci tak bylo rysem znovu osídleno 20 % Alp. Kromě biologických a ekologických faktorů brání vytvoření konsenzu ohledně celoalpských cílů ochrany rysa a realizaci ochrannářských opatření, jako je translokace rysa, neustálé neshody ohledně návratu rysa mezi ochránci přírody a dalšími uživateli území, včetně chovatelů dobytka a myslivců, politická roztržičnost s různými regionálními prioritami a politikami vůči velkým šelmám (Molinari-Jobin et al., 2010). Výbor Bernské úmluvy ratifikoval v prosinci 2000 PACS (Panalpskou strategii ochrany rysa ostrovida), kterou se alpské země zavázaly k obnově a ochraně celoalpské populace rysa ostrovida (Ryser et al., 2004).

Všechny programy reintrodukce rysa ostrovida byly kontroverzní, ale neexistuje žádná souvislost mezi krátkodobým úspěchem a informovaností veřejnosti nebo zapojením zúčastněných stran. Paradoxně tři nejúspěšnější projekty (v severozápadních Alpách, Juře a v jižním Slovinsku) patřily k těm s nejnižší informovaností veřejnosti. Přesto se zdá, že vztah k veřejnosti je důležitý pro dlouhodobé přijetí projektu (von Arx et al., 2009).

S ohledem na neprofesionální přístup ve většině projektů reintrodukce rysa ostrovida prováděných v 70. a 80. letech 20. století bylo vytvoření volně žijících populací poměrně překvapivé. Všechny populace jsou stále ještě malé, což je činí nejen zranitelnými vůči lidem, ale také vůči genetickým a stochastickým procesům. Je zřejmé, že 30 až 40 let nestačí k tomu, aby bylo zajištěno dlouhodobé přetrvání rysa ve střední a západní Evropě a je nutná další aktivní podpora. I přestože, první pokusy nelze považovat za brilantně zvládnuté a úspěšné, umožnily nám alespoň získat poznatky o reintrodukci zvířat, a vyvinout lépe fungující programy. Reintrodukce šelem je vážná záležitost, která vyžaduje dlouhodobý závazek všech partnerů (von Arx et al., 2009).



Obrázek 12: Rozšíření rysa ostrovida v Alpách (šedý odstín) a v přilehlých pohořích Dinaric a Jura na počátku 90. let 20. století (podle Breitenmoser et al. 1998). Hvězdičky označují místa reintrodukce (černá = oficiální, bílá = neoficiální), tmavší plochy označují subpopulace, izolované tečky ukazují přítomnost tuláků (Molinari-Jobin, Wölfl, et al., 2012).



Obrázek 13: Rozšíření rýsa ostrovida v Alpách (2006–2008) na základě standardizované interpretace (C1 = tvrdá fakta; C2 = potvrzené záznamy; C3 = nepotvrzené záznamy). Znamky přítomnosti sousedních areálů nejsou zobrazeny (Molinari-Jobin, Wölfl, et al., 2012).

Vzhledem ke složitosti reintrodukcí (logistické, socioekonomické a politické) se obvykle jedná o přemístění pouze malého počtu jedinců, z nichž ne všichni přežijí a stanou se zakladateli (Vandel et al., 2006). Genetická variabilita reintrodukovaných populací tak může být ve srovnání se zdrojovou populací snížena. V takto malých populacích lze očekávat následnou ztrátu variability v důsledku genetického driftu umocněnou inbreedingem (Fickel et al., 2005).

Snížení fitness v důsledku nízké genetické variability nebo inbreedingu nebylo dosud u volně žijících rysů prokázáno, ale bylo prokázáno u rysů chovaných v zajetí (Laikre, 1999), kteří trpí podobnými problémy jako reintrodukované populace (nízká diverzita, málo zakladatelů, inbreeding). V minulosti byla publikována pouze jedna studie, která se zabývala genetickým hodnocením reintrodukované populace rýsa u dinárská populace (Sindičić et al., 2013). Analýza 204 vzorků

odebraných v letech 1979–2010 pomocí mikrosatelitních lokusů a sekvence kontrolní oblasti mitochondriální DNA, potvrdila na obou markerech nízkou genetickou variabilitu a značný inbreeding ve srovnání se zdrojovou karpatskou populací. Tato studie je v rozporu s předchozím „demografickým hodnocením“ téže populace - tj. z hlediska velikosti populace a jejího rozmístění v čase, které tuto reintrodukcii označilo za „úspěšnou“. (von Arx et al., 2009). Takové rozpory v hodnocení ilustrují potřebu vyhodnocení genetického stavu reintrodukovaných populací rysa, aby bylo možné stanovit vhodné cíle ochrany založené na genetice (Frankham et al., 2010) a poskytnout další metriku pro hodnocení genetické kvality pro sledování a porovnávání vývoje reintrodukovaných populací. Různý stupeň genetického driftu v jednotlivých populacích lze vysvětlit rozdíly v počtu zakladatelů a demografické historii od počátku reintrodukce. Genetický drift a genetická eroze se v různé míře projevují ve všech reintrodukovaných populacích rysa. Výrazně nižší pozorovaná heterozygotnost v reintrodukovaných populacích naznačuje, že reintrodukční úzká hrdla, izolace a management po vypuštění mají dlouhodobé důsledky na genetické složení populací (Mueller et al., 2022).

Rozsáhlé genetické studie (Bull et al., 2016; Mueller et al., 2022; Sindičić et al., 2013) prokázaly ztrátu genetické rozmanitosti v reintrodukované populaci rysa ostrovida.

Podle nejnovější publikované studie z února letošního roku se autorům (Huvier et al., 2023) podařilo pomocí mikrosatelitů prokázat, že francouzská populace rysa ostrovida trpí velkou ztrátou genetické výbavy a zároveň zvýšenou mírou příbuzenské plemenitby. Výsledky studie ukazují nízké změny úrovně heterozygotnosti v průběhu roku a s průměrnou úrovní 0.38 je jednou z nejnižších v celém sledovaném období zaznamenání mikrosatelitů od doby, kdy (Sindičić et al., 2013) zveřejnili ve své studii uváděnou kritickou hodnotu genetické diverzity v dinárské populaci ($H_o = 0.43$). Z výsledků měření v práci z roku 2003 od autorů Breitenmoser-Würsten a Obexer-Ruff, která byla založená na mikrosatelitech, úroveň heterozygotnosti v populaci tehdy vykazovala hodnotu 0.55. Za přibližně 15 let hodnota klesla o 0.17 bodů. To ukazuje, jak rychle tato populace ztratila genetickou rozmanitost. Na základě tohoto měření autor studie Huvier a kolektiv autorů (2023) odhadují, že přibližně za 30 let dojde k vyhynutí celé populace

v měřené oblasti. V nedávné době naměřili (Mueller et al., 2022) s využitím jednonukleotidových polymorfismů úroveň heterozygotity v populaci hodnotu 0.15, což je jedna z nejnižších úrovní, která kdy byla zaznamenána napříč populacemi rysa ostrovida v Evropě. Tato studie poskytuje přesvědčivé důkazy o závažných důsledcích velikosti zakladatelské populace na genetickou diverzitu reintrodukovaných populací velkých šelem, což má široké důsledky pro jejich ochranu.

Souhrn výsledků ze studie (Krojerová-Prokešová et al., 2022) nepotvrdil ani pokles heterozygotnosti, ani ztrátu alelické bohatosti v populaci rysa v zajetí a zároveň výsledky naznačily, že v zajetí i ve volné přírodě přetrvává podobná úroveň genetické diverzity. Dobře řízená geneticky zdravá populace, chovaná v zajetí tak může poskytnout vhodný rezervoár genetického materiálu pro příští reintrodukce do nových stepních lokalit nebo pro genetickou záchranu těchto stávajících divokých populací. Přenos genů mezi izolovanými populacemi, včetně těch v zajetí, by se měl stát důležitým nástrojem managementu pro zachování genetické variability a prevenci inbreedingové deprese v původních a reintrodukovaných populacích této ikonické šelmy (Krojerová-Prokešová et al., 2022).

5. Závěr

Reintrodukce rysa ve střední a západní Evropě nabízí řadu potenciálních výhod jak pro životní prostředí, tak pro lidskou společnost. Tyto přínosy zahrnují:

- **Obnovení ekologické rovnováhy:** Rys hraje důležitou roli při regulaci populací své kořisti, jako je zvěř srnčí, jelení a divoká prasata. Reintrodukcí rysa můžeme přispět k obnovení ekologické rovnováhy v oblastech, kde se takové populace přemnožily.
- **Podpora biologické rozmanitosti:** Rysové jsou důležitou součástí ekosystému a obnova jejich populace může pomoci podpořit biologickou rozmanitost tím, že obnoví chybějícího predátora. To může mít pozitivní efekt na další druhy a funkce ekosystému.
- **Podpora ekoturismu:** Přítomnost rysa může vytvořit příležitosti pro ekoturistiku, protože lidé mohou mít zájem vidět tato nepolapitelná a charismatická zvířata ve volné přírodě. To může místním komunitám přinést ekonomické výhody.
- **Poskytování vzdělávacích příležitostí:** Reintrodukce rysa může poskytnout příležitosti pro vzdělávání a výzkum a pomoci lidem lépe pochopit význam dynamiky predátorů a kořisti a složitých vztahů v ekosystémech.
- **Zachování kulturního dědictví:** Kromě ekologického významu jsou ryši v mnoha regionech také důležitou součástí kulturního dědictví. Reintrodukce rysa může pomoci zachovat tyto kulturní tradice a znovu spojit občany s jejich přírodním dědictvím.

Jedním z klíčových aspektů reintrodukčních programů je proto zajistit, aby vybraní jedinci byli geneticky rozmanití a reprezentativní pro zdrojovou populaci. To může zahrnovat řízený výběr jedinců z více zdrojových populací včetně využití molekulárně-genetických nástrojů, zefektivňujících chov v zajetí nebo umělé oplodnění, tedy obecně postupy vedoucí ke zvýšení genetické rozmanitosti.

Dalším důležitým faktorem, který je třeba z genetického hlediska zvážit, je možnost hybridizace s jinými blízce příbuznými druhy. Například v západní Evropě

může dojít ke kontaktu a potenciálnímu křížení rysa ostrovida s rysem iberským, který je samostatným poddruhem.

Aby bylo možné tento problém řešit, musí ochránci přírody reintrodukovanou populaci pečlivě monitorovat a provádět opatření, která hybridizaci zabrání, jako je prostorové oddělení nebo reprodukční izolace.

Při reintrodukci rysa ostrovida v Evropě je proto nutné kromě dalších ekologických a sociálních faktorů zohledňovat také genetickou diverzitu, aby byl zajištěn dlouhodobý úspěch a udržitelnost populace.

Genetická rozmanitost reintrodukovaných populací je důležitým faktorem, který určuje jejich dlouhodobou životaschopnost a schopnost přizpůsobit se měnícím se podmínkám prostředí. Genetická diverzita označuje rozsah genetické variability v rámci populace, která může ovlivňovat vlastnosti, jako je odolnost vůči chorobám, reprodukční úspěšnost a přizpůsobivost různým prostředím.

V případě reintrodukovaných populací může být genetická diverzita ovlivněna řadou faktorů, včetně počtu a genotypu vypuštěných jedinců, velikosti a propojenosti stanovišť či přítomnosti dalších jedinců nebo populací v okolní krajině.

Poslední analýzy potvrzují dřívější důkazy o snížené genetické diverzitě a zvýšeném inbreedingu v reintrodukovaných populacích rysa. K zajištění genetické rozmanitosti reintrodukovaných populací lze použít genetickou analýzu, která umožní vybrat pro reintrodukci jedince s různorodým genetickým původem a sledovat genetické zdraví a rozmanitost populace v průběhu času. Genetická analýza může například pomoci identifikovat jedince, kteří jsou si blízce příbuzní, což může upozornit na zvýšené riziko příbuzenského křížení a snížení genetické diverzity v další generaci. Výběrem geneticky různorodých jedinců mohou reintrodukční programy pomoci udržet genetickou variabilitu v populaci a snížit riziko negativních genetických vlivů.

Kromě výběru geneticky rozmanitých jedinců mohou reintrodukční programy také podniknout kroky ke zvýšení genetické rozmanitosti v průběhu času. Například přemístění jedinců z jiných populací může přinést novou genetickou variabilitu a zvýšit celkovou genetickou rozmanitost v populaci.

Celkově je zachování genetické rozmanitosti v reintrodukovaných populacích důležité pro jejich dlouhodobý úspěch a udržitelnost. Genetický monitoring a management mohou pomoci zajistit, aby reintrodukované populace měly genetickou rozmanitost a adaptabilitu potřebnou k tomu, aby se jim v novém prostředí dařilo.

6. Literatura

- Allendorf, F. William., Luikart, Gordon., & Aitken, S. N. (2013). *Conservation and the genetics of populations*. 602.
- Anděra, M., & Červený, J. (2009). *Velcí savci v České Republice: rozšíření, historie a ochrana: Vol. Příroda 34*. Národní muzeum.
- Anděra, M., & Červený, J. (2014). *Atlas šumavských savců*. Karmášek.
- Anděra, M., & Gaisler, J. (2019). *Savci České republiky: popis, rozšíření, ekologie, ochrana*. Academia.
- Anděra, M., & Hanzal, V. (2017). *Červený seznam savců České republiky*.
- Anders, O., & Sacher, P. (2004). Das Luchsprojekt Harz-ein Zwischenbericht. *Naturschutz Im Land Sachsen-Anhalt*, 42, 3–12.
- Apolloonio, M., Andersen, R., & Putman, R. (2010). *European Ungulates and Their Management in the 21st Century*.
- BioChain Institute Inc. (2017, December 5). *cDNA vs Genomic DNA: The Relationship and Differences in Genomic DNA and Complimentary DNA*. <https://www.biochain.com/blog/cdna-vs-genomic-dna/>.
- Blears, M. J., De Grandis, S. A., Lee, H., & Trevors, J. T. (1998). Amplified fragment length polymorphism (AFLP): a review of the procedure and its applications. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 21(3), 99–114. <https://doi.org/10.1038/SJ.JIM.2900537>
- Bouchard, É., Sharma, R., Hernández-Ortiz, A., Jung, T. S., Harms, N. J., Willier, C. N., Boonstra, R., Majchrzak, Y. N., Peers, M. J. L., Gouin, G.-G., Al-Adhami, B., Simon, A., Leighton, P., & Jenkins, E. J. (2023). Canada Lynx (*Lynx canadensis*) as Potential Reservoirs and Sentinels of *Toxoplasma gondii* in Northern Canada. *Zoonotic Diseases*, 3(1), 6–17. <https://doi.org/10.3390/zoonoticdis3010002>
- Breitenmoser, & Breitenmoser-wursten, Ch. (1990). *Status Conservation needs and reintroduction of lynx 1990*.
- Breitenmoser, M., Mallon, U., von Arx, D. P., & Breitenmoser-Wursten, C. (2008). IUCN Red List of Threatened Species: *Lynx lynx*. *IUCN Red List of Threatened Species*. <https://www.iucnredlist.org/en>

- Breitenmoser, U. (1998). Large predators in the Alps: The fall and rise of man's competitors. *Biological Conservation*, 83(3), 279–289. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(97\)00084-0](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(97)00084-0)
- Breitenmoser, U., & Breitenmoser-Würsten, C. (2008). *Der Luchs: ein Grossraubtier in der Kulturlandschaft*.
- Breitenmoser-Würsten, C., Breitenmoser, U., Avgan, B., & Lanz, T. (2014). IUCN Red List of Threatened Species: *Lynx lynx*. *IUCN Red List of Threatened Species*. <https://www.iucnredlist.org/en>
- Britannica. (2023, February 28). *Genetic marker, Single nucleotide polymorphism*. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/science/single-nucleotide-polymorphism>
- Brumfield, R. T., Beerli, P., Nickerson, D. A., & Edwards, S. V. (2003). The utility of single nucleotide polymorphisms in inferences of population history. *Trends in Ecology and Evolution*, 18(5), 249–256. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00018-1](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00018-1)
- Bull, J. K., Heurich, M., Saveljev, A. P., Schmidt, K., Fickel, J., & Förster, D. W. (2016). *The effect of reintroductions on the genetic variability in Eurasian lynx populations: the cases of Bohemian-Bavarian and Vosges-Palatinian populations*.
- CAMPBELL-PALMER, R., & ROSELL, F. (2010). Conservation of the Eurasian beaver *Castor fiber*: an olfactory perspective. *Mammal Review*, 40(4), 293–312.
- Červený, J., Anděra, M., Koubek, P., Homolka, M., & Toman, A. (2001). Nově se rozšiřující druhy savců v České republice: rozšíření, početnost a právní stav. *Beitrage Zur Jagd- Und Wildforschung* 26.
- Červený, J., & Bufka, L. (1996). *Lynx (Lynx lynx) in South-Western Bohemia. Acta Scientiarum Naturalium Academiae Scientiarum Bohemicae Brno. Roč. 30, č. 3.*
- Červený, J., & Bufka, L. (2000). *Velké šelmy v naší přírodě: rozšíření, určování pobytových znaků, ochrana hospodářských zvířat*. Koršach.
- Červený, J., & Koubek, P. (2000). Variability of body and skull dimensions of the lynx (*Lynx lynx*) in the Czech Republic. *Lynx (Prague)*.

- Červený, J., Koubek, P., & Bufka, L. (2002). Euroasian lynx (*Lynx lynx*) and its chance for survival in central Europe: The case of the Czech Republic. *Acta Zoologica Lituanica*, *12*.
- Červený, J., Koubek, P., & Bufka, L. (2006). *Velké šelmy v České republice*.
- Chapron, G., Kaczensky, P., Linnell, J. D. C., Von Arx, M., Huber, D., Andrén, H., López-Bao, J. V., Adamec, M., Álvares, F., Anders, O., Balečiauskas, L., Balys, V., Bedő, P., Bego, F., Blanco, J. C., Breitenmoser, U., Brøseth, H., Bufka, L., Bunikyte, R., ... Boitani, L. (2014). Recovery of large carnivores in Europe's modern human-dominated landscapes. *Science*, *346*(6216), 1517–1519.
- Cop, J. (1977). Die Ansiedlung des Luchses, *Lynx lynx* (Linné, 1758) in Slowenien. *Zeitschrift Für Jagdwissenschaft*, *23*(1), 30–40. <https://doi.org/10.1007/BF01904739/METRICS>
- Cop, J., & Frkovic, A. (1998). *The re-introduction of the lynx in Slovenia and its present status in Slovenia and Croatia*.
- Crow, J. F., & Kimura, M. (1970). *An Introduction To Population Genetics Theory*.
- Ellegren, H. (2000). Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends in Genetics : TIG*, *16*(12), 551–558.
- Estoup, A., Jarne, P., & Cornuet, J. M. (2002). Homoplasmy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. *Molecular Ecology*, *11*(9), 1591–1604.
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology*, *14*(8), 2611–2620. <https://doi.org/10.1111/J.1365-294X.2005.02553.X>
- Festetics, A. (1980). *Die Wiedereinbürgerung des Luchses in Europa*.
- Fickel, J., Putze, M., & Streich, W. J. (2005). *Genetic structure of populations of european brownhare: implications for management*.
- Filla, M., Premier, J., Magg, N., Dupke, C., Khorozyan, I., Waltert, M., Bufka, L., & Heurich, M. (2017). Habitat selection by Eurasian lynx (*Lynx lynx*) is primarily driven by avoidance of human activity during day and prey availability during night. *Ecology and Evolution*, *7*(16), 6367–6381.

- Fischer, J., & Lindenmayer, D. B. (2007). Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. *Global Ecology and Biogeography*, 16(3), 265–280.
- Frankham, R. (1995). Effective population size/adult population size ratios in wildlife: A review. *Genetical Research*, 66(2), 95–107.
- Frankham, R. (2005). Ecosystem recovery enhanced by genotypic diversity. *Heredity*, 95(3), 183.
- Frankham, R., Ballou, J. D., & Briscoe, D. A. (2002). *Introduction to Conservation Genetics*.
- Frankham, R., Ballou, J. D. (Jonathan D.), & Briscoe, D. A. (David A. (2010). *Introduction to conservation genetics*. Cambridge University Press.
- Freeland, J. (2005). *Molecular ecology*.
- Gajdárová, B., Belotti, E., Bufka, L., Duľa, M., Kleven, O., Kutal, M., Ozoliņš, J., Nowak, C., Reiners, T. E., Tám, B., Volfová, J., & Krojerová-Prokešová, J. (2021). Long-distance Eurasian lynx dispersal – a prospect for connecting native and reintroduced populations in Central Europe. *Conservation Genetics*, 22(5), 799–809.
- Garner, A., Rachlow, J. L., & Hicks, J. F. (2005). Patterns of Genetic Diversity and Its Loss in Mammalian Populations. *Conservation Biology*, 19(4), 1215–1221.
- Gavin, M. C., Solomon, J. N., & Blank, S. G. (2010). Measuring and Monitoring Illegal Use of Natural Resources. *Conservation Biology*, 24(1), 89–100.
- Gömöry, D., & Longauer, R. (2014). *Lesnická genetika*.
- Gray, M. W. (2013). Mitochondrial DNA. *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition*, 436–438. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.00958-X>
- Gugolz, D., Bernasconi, M. V., Breitenmoser-Würsten, C., & Wandeler, P. (2008). Historical DNA reveals the phylogenetic position of the extinct Alpine lynx. *Journal of Zoology*, 275(2), 201–208.
- Hellborg, L., Walker, C. W., Rueness, E. K., Stacy, J. E., Kojola, I., Valdmann, H., Viì, C., Zimmermann, B., Jakobsen, K. S., & Ellegren, H. (2002). Differentiation and levels of genetic variation in northern European lynx

- (Lynx lynx) populations revealed by microsatellites and mitochondrial DNA analysis. In *Conservation Genetics* (Vol. 3).
- Hruban, V., & Majzlík, I. (2002). *Obecná genetika*. Česká zemědělská univerzita.
- Huber, T., & Kaczensky, P. (1998). The situation of the Lynx(Lynx lynx) in Austria. In *n.s.* (Vol. 10, Issue 1).
- Huvier, N., Moyne, G., Kaerle, C., & Mouzon-Moyne, L. (2023). Time is running out: Microsatellite data predict the imminent extinction of the boreal lynx (Lynx lynx) in France. *Frontiers in Conservation Science*, 4.
- Idelberger, S., Back, M., Ohm, J., Prüssing, A., Sandrini, J., Huckschlag, D., & Krebsühl, K. (2021a). Reintroduction of Eurasian lynx in the Palatinate Forest, Germany. *CATnews Special*, 14.
- Idelberger, S., Back, M., Ohm, J., Prüssing, A., Sandrini, J., Huckschlag, D., & Krebsühl, K. . (2021b). *Reintroduction of Eurasian lynx in the Palatinate Forest, Germany*.
- Jacobs, H. (2001). Reading the history of humanity. *Nature* 2001 413:6853, 413(6853), 254–254.
- Jiang, G.-L. (2013). Molecular Markers and Marker-Assisted Breeding in Plants. *Plant Breeding from Laboratories to Fields*.
- Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science (New York, N.Y.)*, 337(6096), 816–821.
- Kaczensky, P., Chapron, G., von Arx, M., Huber, D., Andrén, H., Linnell, J., Adamec, M., Álvares, F., Anders, O., Balčiauskas, L., Balys, V., Bedo, P., Bego, F., Carlos Blanco, J., Boitani, L., Breitenmoser, U., Brøseth, H., Bufka, L., Bunikyte, R., ... Zlatanova, D. (2013). *Status, management and distribution of large carnivores-bear, lynx, wolf & wolverine-in Europe*.
- Keller, L. F., & Waller, D. M. (2002). Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(5), 230–241.
- Kleinman-Ruiz, D., Martínez-Cruz, B., Soriano, L., Lucena-Perez, M., Cruz, F., Villanueva, B., Fernández, J., & Godoy, J. A. (2017). Novel efficient genome-wide SNP panels for the conservation of the highly endangered Iberian lynx. *BMC Genomics*, 18(1), 1–12.

- Koubek, P., Červený, J., & Anděra, M. (1997). Management der Luchs Populationen in der Tschechischen Republik. *Schriftenreihe Des Landesjagdverbandes Bayern*.
- Kratochvíl, J. (1968). *History of distribution of lynx in Europe*.
- Krojerová-Prokešová, J., Gajdárová, B., Reiners, T. E., Bolechová, P., Kleven, O., Koubek, P., Nowak, C., Ozoliņš, J., Tám, B., Voloshina, I., & Vallo, P. (2022). Ex situ versus in situ Eurasian lynx populations: implications for successful breeding and genetic rescue. *Conservation Genetics*. <https://doi.org/10.1007/S10592-022-01494-Y>
- Kubala, J., Gregorová, E., Smolko, P., Klinga, P., Il'ko, T., & Kaňuch, P. (2020). The coat pattern in the Carpathian population of Eurasian lynx has changed: a sign of demographic bottleneck and limited connectivity. *European Journal of Wildlife Research*, 66(1), 1–11.
- Kurten, B., & Werdelin, L. (1984). The relationships of *Lynx shansius* Teilhard. *Annales Zoologici Fennici*, 21(2), 129–133.
- Kutal, M., Belotti, E., Volfová, J., Mináriková, T., Bufka, L., Poledník, L., Krojerová, J., Bojda, M., Váňa, M., Kutalová, L., Beneš, J., Flousek, J., Tomášek, V., Kafka, P., Poledníková, K., Pospíšková, J., Dekař, P., Machciník, B., Koubek, P., & Duřa, M. (2019). Occurrence of large carnivores – *Lynx lynx*, *Canis lupus*, and *Ursus arctos* – and of *Felis silvestris* in the Czech Republic and western Slovakia in 2012–2016 (Carnivora). *Lynx, New Series*, 48(1), 93–107.
- Kutal, M., Váňa, M., Bojda, M., & Machalová, L. (2013). *Eurasian lynx (Lynx lynx) occurrence in the broader area of the Beskydy PLA in years Population ecology of the Eurasian lynx at the edge of Western Carpathians View project Monitoring of European wildcat in the Western Carpathians View project*.
- Laass, J., Fuxjager, C., Huber, T., & Gerstl, N. (2006). *Lynx in the Austrian* (Vol. 49).
- Laikre, L. (1999). Conservation genetics of Nordic carnivores: Lessons from zoos. In *Hereditas* (Vol. 130, Issue 3, pp. 203–216). Mendelian Society of Lund.

- Lavrov, D. V., & Pett, W. (2016). Animal Mitochondrial DNA as We Do Not Know It: mt-Genome Organization and Evolution in Nonbilaterian Lineages. *Genome Biology and Evolution*, 8(9), 2896.
- Li, G., Davis, B. W., Eizirik, E., & Murphy, W. J. (2016). Phylogenomic evidence for ancient hybridization in the genomes of living cats (Felidae). *Genome Research*, 26(1), 1–11.
- Liberg, O., Chapron, G., Wabakken, P., Pedersen, H. C., Thompson Hobbs, N., & Sand, H. (2012). Shoot, shovel and shut up: cryptic poaching slows restoration of a large carnivore in Europe. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1730), 910–915.
- Linnell, J. D. C., Breitenmoser, U., Breitenmoser-Würsten, C., Odden, J., & Von Arx, M. (2009). Recovery of Eurasian Lynx in Europe: What Part has Reintroduction Played? *Reintroduction of Top-Order Predators*, 72–91.
- Linnell, J. D. C., Swenson, J. E., & Andersen, R. (2001). Predators and people: conservation of large carnivores is possible at high human densities if management policy is favourable. *Animal Conservation*, 4(4), 345–349.
- Lucena-Perez, M., Bazzicalupo, E., Paijmans, J., Kleinman-Ruiz, D., Dalén, L., Hofreiter, M., Delibes, M., Clavero, M., & Godoy, J. A. (2022). Ancient genome provides insights into the history of Eurasian lynx in Iberia and Western Europe. *Quaternary Science Reviews*, 285, 107518.
- Magg, N., Müller, J., Heibl, C., Hackländer, K., Wölfl, S., Wölfl, M., Bufka, L., Červený, J., & Heurich, M. (2016). Habitat availability is not limiting the distribution of the Bohemian-Bavarian lynx *Lynx lynx* population. *ORYX*, 50(4), 742–752.
- Manfred, W., Dr. Franz, L., & Margot Wagner. (2014). *Naturschutz in Niederbayern Luchsmanagement in Mitteleuropa Regierung von Niederbayern • Heft 4*.
- Manzo-Sánchez, G., Buenrostro-Nava, M. T., Guzmán-González, S., Orozco-Santos, M., Youssef, M., & Escobedo-Gracia Medrano, R. M. (2015). Genetic Diversity in Bananas and Plantains (*Musa* spp.). *Molecular Approaches to Genetic Diversity*.

- Matyushkin, Ye. N., & Vaisfeld, M. A. (2003). *The lynx : regional features of ecology, use and protection*. IUCN: International Union for Conservation of Nature.
- Middelhoff, L., & Anders, O. (2018). *Abundanz und Dichte des Luchses im östlichen Harz Fotofallenmonitoring 2017 incl. einer Schätzung von Abundanz und Dichte im gesamten Harz*.
- Molinari, P. (1998). The lynx in the Italian South-Eastern Alps. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 10(1), 55–64.
- Molinari, P., Rotelli, L., Catello, M., Progetto, U. N., Italia, L., & Bassano, B. (2001). Present status and distribution of the Eurasian Lynx (*Lynx lynx*) in the Italian Alps. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 12(2).
- Molinari-Jobin, A., Kéry, M., Marboutin, E., Marucco, F., Zimmermann, F., Molinari, P., Frick, H., Fuxjäger, C., Wölfl, S., Bled, F., Breitenmoser-Würsten, C., Kos, I., Wölfl, M., Černe, R., Müller, O., & Breitenmoser, U. (2018). Mapping range dynamics from opportunistic data: spatiotemporal modelling of the lynx distribution in the Alps over 21 years. *Animal Conservation*, 21(2), 168–180.
- Molinari-Jobin, A., Kéry, M., Marboutin, E., Molinari, P., Koren, I., Fuxjäger, C., Breitenmoser-Würsten, C., Wölfl, S., Fasel, M., Kos, I., Wölfl, M., & Breitenmoser, U. (2012). Monitoring in the presence of species misidentification: the case of the Eurasian lynx in the Alps. *Animal Conservation*, 15(3), 266–273.
- Molinari-Jobin, A., Marboutin, E., Wölfl, S., Wölfl, M., Molinari, P., Fasel, M., Kos, I., Blažič, M., Breitenmoser, C., Fuxjäger, C., Huber, T., Koren, I., & Breitenmoser, U. (2010). Recovery of the Alpine lynx *Lynx lynx* metapopulation. *ORYX*, 44(2), 267–275.
- Molinari-Jobin, A., Wölfl, S., Marboutin, E., Molinari, P., Wölfl, M., Kos, I., Fasel, M., Koren, I., Fuxjäger, C., Breitenmoser, C., Huber, T., Blažič, M., & Breitenmoser, U. (2012). Monitoring the Lynx in the Alps. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 23(1), 49–53.
- Mueller, S. A., Prost, S., Anders, O., Breitenmoser-Würsten, C., Kleven, O., Klinga, P., Konec, M., Kopatz, A., Krojerová-Prokešová, J., Middelhoff, T.

- L., Obexer-Ruff, G., Reiners, T. E., Schmidt, K., Sindičič, M., Skrbinšek, T., Tám, B., Saveljev, A. P., Naranbaatar, G., & Nowak, C. (2022). Genome-wide diversity loss in reintroduced Eurasian lynx populations urges immediate conservation management. *Biological Conservation*, 266, 109442.
- Mueller, S. A., Reiners, T. E., Middelhoff, T. L., Anders, O., Kasperkiewicz, A., & Nowak, C. (2020). The rise of a large carnivore population in Central Europe: genetic evaluation of lynx reintroduction in the Harz Mountains. *Conservation Genetics*, 21(3), 577–587.
- MŽP. (2022). *Koncepce záchranných programů a programů péče zvláště chráněných druhů živočichů a rostlin v České republice*.
- National Library of Medicine. (2017). *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techrflp/>
- Negrini, R., Nijman, I. J., Milanesi, E., Moazami-Goudarzi, K., Williams, J. L., Erhardt, G., Dunner, S., Rodellar, C., Valentini, A., Bradley, D. G., Olsaker, I., Kantanen, J., Ajmone-Marsan, P., Lenstra, J. A., Laloë, D., Wiener, P., Burton, D., Weimann, C., Harlizius, B., ... Felius, M. (2007). Differentiation of European cattle by AFLP fingerprinting. *Animal Genetics*, 38(1), 60–66.
- Nie, W., Wang, J., Su, W., Wang, D., Tanomtong, A., Perelman, P. L., Graphodatsky, A. S., & Yang, F. (2012). Chromosomal rearrangements and karyotype evolution in carnivores revealed by chromosome painting. *Heredity*, 108(1), 17–27.
- Nowell, K., & Jackson, P. (1996). *Eurasian lynx, Lynx lynx. Wild cats: Status survey and conservation action plan (IUCN/SSC)*. The Burlington Press.
- Parker, P. G., Snow, A. A., Schug, M. D., Booton, G. C., & Fuerst, P. A. (1998). What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. *MOLECULAR TECHNIQUES IN ECOLOGY 361 Ecology*, 79(2), 361–382.
- Ratkiewicz, M., Matosiuk, M., Kowalczyk, R., Konopiński, M. K., Okarma, H., Ozolins, J., Männil, P., Ornicans, A., & Schmidt, K. (2012). High levels of population differentiation in Eurasian lynx at the edge of the species' western range in Europe revealed by mitochondrial DNA analyses. *Animal Conservation*, 15(6), 603–612.

- Ray, D. A., & Densmore, L. D. (2003). Repetitive sequences in the crocodilian mitochondrial control region: Poly-A sequences and heteroplasmic tandem repeats. *Molecular Biology and Evolution*, 20(6), 1006–1013.
- Reeve, E. C. R., & Black, Isobel. (2001). *Encyclopedia of genetics*. 952.
- Ripple, W. J., Estes, J. A., Beschta, R. L., Wilmers, C. C., Ritchie, E. G., Hebblewhite, M., Berger, J., Elmhagen, B., Letnic, M., Nelson, M. P., Schmitz, O. J., Smith, D. W., Wallach, A. D., & Wirsing, A. J. (2014). Status and ecological effects of the world's largest carnivores. *Science*, 343(6167).
- Rueness, E. K., Naidenko, S., Trosvik, P., & Stenseth, N. C. (2014). Large-scale genetic structuring of a widely distributed carnivore - The eurasian lynx (*Lynx lynx*). *PLoS ONE*, 9(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093675>
- Ryser, A., von Wattenwyl, K., Ryser-Degiorgis, M.-P., Willisich, C., Zimmermann, F., & Breitenmoser, U. (2004). *Luchsumsiedlung Nordostschweiz 2001 – 2003. Schlussbericht Modul Luchs des Projektes LUNO*.
- Salvatori, V., Okarma, H., Ionescu, O., Dovahanych, Y., Find'o, S., & Boitani, L. (2002). Hunting legislation in the Carpathian Mountains: implications for the conservation and management of large carnivores. *Wildlife Biology*, 8(1), 3–10.
- Sarrazin, F., & Legendre, S. (2000). Demographic approach to releasing adults versus young in reintroductions. *Conservation Biology*, 14(2), 488–500. <https://doi.org/10.1046/J.1523-1739.2000.97305.X>
- Schwartz, M. K., Luikart, G., & Waples, R. S. (2007). Genetic monitoring as a promising tool for conservation and management. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(1), 25–33.
- Schwartz, M. K., Mills, L. S., McKelvey, K. S., Ruggiero, L. F., & Allendorf, F. W. (2002). DNA reveals high dispersal synchronizing the population dynamics of Canada lynx. *Nature*, 415(6871), 520–522.
- Seeb, J. E., Carvalho, G., Hauser, L., Naish, K., Roberts, S., & Seeb, L. W. (2011). Single-nucleotide polymorphism (SNP) discovery and applications of SNP genotyping in nonmodel organisms. *Molecular Ecology Resources*, 11(SUPPL. 1), 1–8. <https://doi.org/10.1111/J.1755-0998.2010.02979.X>

- Sherry, S. T., Ward, M., & Sirotkin, K. (1999). dbSNP—Database for Single Nucleotide Polymorphisms and Other Classes of Minor Genetic Variation. *Genome Research*, 9(8), 677–679. <https://doi.org/10.1101/GR.9.8.677>
- Sindičić, M., Gomerčić, T., Galov, A., Polanc, P., Huber, D., & Slavica, A. (2012). Repetitive sequences in Eurasian lynx (*Lynx lynx* L.) mitochondrial DNA control region. *Mitochondrial DNA*, 23(3), 201–207. <https://doi.org/10.3109/19401736.2012.668894>
- Sindičić, M., Polanc, P., Gomerčić, T., Jelenčić, M., Huber, D., Trontelj, P., & Skrbinšek, T. (2013). Genetic data confirm critical status of the reintroduced Dinaric population of Eurasian lynx. *Conservation Genetics*, 14(5), 1009–1018.
- Sobrino, R., Ferroglio, E., Oleaga, A., Romano, A., Millan, J., Revilla, M., Arnal, M. C., Trisciuglio, A., & Gortázar, C. (2008). Characterization of widespread canine leishmaniasis among wild carnivores from Spain. *Veterinary Parasitology*, 155(3–4), 198–203.
- Sommer, R. S., & Benecke, N. (2006). Late Pleistocene and Holocene development of the felid fauna (Felidae) of Europe: a review. *Journal of Zoology*, 269(1), 7–19.
- Stehlík, J. (2004). Gazella. *Gazella* 31, 31, 7–38.
- Sunquist, M. E., & Sunquist, F. C. (2004). *Wild Cats of the World* (Issue April).
- Sunquist, M. E., & Sunquist, F. C. (2009). Handbook of the Mammals of the World Carnivores vol 1. *Wilson DE Mittermeier RA Eds*, 54–170.
- Treves, A., & Karanth, K. U. (2003). Human-Carnivore Conflict and Perspectives on Carnivore Management Worldwide. *Conservation Biology*, 17(6), 1491–1499.
- Vandel, J. M., Stahl, P., Herrenschmidt, V., & Marboutin, E. (2006). Reintroduction of the lynx into the Vosges mountain massif: From animal survival and movements to population development. *Biological Conservation*, 131(3), 370–385.
- Volfová, J., & Toman, L. (2018). Návrat rysa ostrovida na Šumavu ve 2. polovině 20. století. *Vlastivědný Sborník Muzea Šumavy*, X., 397–417.

- von Arx, M., Breitenmoser, C., & Breitenmoser, U. (2009). *Lessons from the reintroduction of the Eurasian lynx in Central and West Europe.*
- von Arx, M., Breitenmoser-Adaptation Würsten, C., Zimmermann, F., Urs Breitenmoser Bezugsquelle, E., von Arx, M., Breitenmoser-Würsten, C., Breitenmoser, U., Andersone, Z., Andrén, H., Angelovski, D., Balciauskas, L., Bashta, A.-T., Bego, F., Brøseth, H., Bufka, L., Catello, M., Cervený, J., Dyky, I., Engleder, T., ... Zoto, H. (2004). Status and conservation of the Eurasian lynx (*Lynx lynx*) in Europe in 2001. *KORA.*
- Wan, Q. H., Wu, H., Fujihara, T., & Fang, S. G. (2004). Which genetic marker for which conservation genetics issue? *Electrophoresis*, 25(14), 2165–2176.
- Werner, M., Sych, M., Herbon, N., Illig, T., König, I. R., & Wjst, M. (2002). Large-scale determination of SNP allele frequencies in DNA pools using MALDI-TOF mass spectrometry. *Human Mutation*, 20(1), 57–64.
- Wilson, D. E., & Mittermeier, R. A. (2009). *Handbook of the mammals of the world: vol. 1: carnivores.*
- Yang, W., Kang, X., Yang, Q., Lin, Y., & Fang, M. (2013). Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 4(1), 1–6.