

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE**

**FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ**

**KATEDRA APLIKOVANÉ GEOINFORMATIKY A ÚZEMNÍHO PLÁNOVÁNÍ**



**Poměr pohlaví mlád'at v hnízdech sýce rousného  
(*Aegolius funereus*) v Krušných horách v období  
2014 – 2016**

**Sex ratio in Tengmalm's owl broods in the Ore Mts.  
in 2014 – 2016**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**Diplomant: Veronika Sítková**

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

**2017**

# ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Veronika Sítková

Aplikovaná ekologie

Název práce

Poměr pohlaví mláďat v hnízdech sýce rousného (*Aegolius funereus*) v Krušných horách v období 2014-2016

Název anglicky

Sex ratio in Tengmalm's owl broods (*Aegolius funereus*) in the Ore Mts. in 2014-2016

---

Cíle práce

Cílem práce je:

- 1) Vyhodnotit poměr pohlaví mláďat v hnízdech sýce rousného v období 2014-2016 vzhledem k početnosti potravní nabídky.
- 2) Vyhodnotit poměr pohlaví vylíhlých a vylétlých mláďat z hnízda.
- 3) Vyhodnotit poměr pohlaví mláďat vzhledem k období zahnízdění (tzv. sezónní efekt).

Součástí diplomové práce bude účast studentky na terénních pracích a samostatné stanovení pohlaví mláďat sýce rousného metodou analýzy DNA.

Metodika

Krevní vzorky budou odebírány mláďatům v hnízdech sýce rousného ve studijní oblasti v Krušných horách. Odběr krve bude prováděn odborným pracovníkem za účasti studenta. Pohlaví mláďat bude stanoveno metodou analýzy DNA v laboratoři FŽP.

Doporučený rozsah práce

30-40 stran

Klíčová slova

Aegolius funereus, poměr pohlaví, potravní nabídka, Krušné hory

---

Doporučené zdroje informací

Hipkiss T, Hörnfeldt B (2004) High interannual variation in the hatching sex ratio of Tengmalm's owl broods during a vole cycle. *Pop Ecol* 46: 263-268.

Hipkiss, T. 2002. Brood sex ratio and sex differences in Tengmalm's owl (*Aegolius funereus*). PhD thesis. Umea University.

Hörnfeldt B, Hipkiss T, Fridolfsson AK, Eklund U, Ellegren H (2000) Sex ratio and fledging success of supplementary-fed Tengmalm's owl broods. *Mol Ecol* 9: 187-192.

Korpimäki, E. & Hakkaraïnen, H. 2012. *The Boreal Owl: ecology, behaviour and conservation of a forest-dwelling predator*. Cambridge: Cambridge University Press.

---

Předběžný termín obhajoby

2016/17 LS – FŽP

Vedoucí práce

Ing. Markéta Zárybnická, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra aplikované geoinformatiky a územního plánování

Konzultant

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Elektronicky schváleno dne 5. 4. 2017

doc. Ing. Petra Šimová, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 5. 4. 2017

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 08. 04. 2017

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci na téma „Poměr pohlaví mláďat v hnízdech sýce rousného (*Aegolius funereus*) v Krušných horách v období 2014 – 2016“ vypracovala samostatně pod vedením Ing. Markéty Zárybnické, Ph.D. a uvedla jsem všechny literární prameny, ze kterých jsem čerpala.

v Příbrami dne .....2017

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala Ing. Markétě Zárybnické, Ph.D. za její ochotu při vedení této práce, za data, která mi byla poskytnuta, za její vstřícnost při konzultacích, za připomínky k textu diplomové práce a celkovou pomoc s dokončením práce.

## Abstrakt

Studie se zabývala poměrem pohlaví vylíhlých a vylétlých mláďat v hnízdech sýce rousného (*Aegolius funereus*). Bylo zjišťováno, zda je poměr pohlaví mláďat ovlivněn potravní nabídkou a datem zahnízdění. Studie probíhala během hnízdních sezón 2014 – 2016 v Krušných horách. V tomto období byl poměr pohlaví mláďat určen u 134 jedinců ve 34 hnízdech. Každému mláděti bylo odebráno 50  $\mu$ l krve z brachiální žíly a analýza DNA proběhla pomocí PCR a následné elektroforézy. Pohlaví bylo určeno na základě délky intronů CHD1 mezi chromozomy Z a W. Během této studie nebyl nalezen prokazatelný rozdíl mezi poměrem pohlaví vylíhlých a vylétlých mláďat v jednotlivých hnízdech. Za celé studované období 2014 – 2016 činil roční průměrný poměr pohlaví vylíhlých samců 49,0 % a vylétlých 39,7 %. V letech 2014 a 2015 byl poměr pohlaví vylíhlých a vylétlých mláďat v jednotlivých hnízdech podobný; v roce 2014 byl podíl vylíhlých samců 58,3 % a vylétlých 59,7 %. V roce 2016 byla zaznamenána vysoká úmrtnost mláďat na hnízdě (53,9 %) a následně podíl vylíhlých a vylétlých samců se značně lišil, tj. 40,0 % vs. 10,0 %. V této práci nebyl nalezen prokazatelný vztah mezi potravní nabídkou a poměrem pohlaví vylíhlých a vylétlých mláďat. Nicméně, je zřejmé, že v letech nízké dostupnosti potravní nabídky a vysoké úmrtnosti mláďat (2016) může být rozdíl v poměru pohlaví vylíhlých a vylétlých mláďat značný. Dále bylo zjištěno, že poměr pohlaví vylíhlých i vylétlých mláďat nebyl ovlivněn datem zahnízdění. Úspěšnost určení pohlaví z tkání byla 64 %, zatímco úspěšnost určení pohlaví z krve činila 100 %.

**Klíčová slova:** *Aegolius funereus*, poměr pohlaví, potravní nabídka, Krušné hory

## **Abstract**

A nest box population of Tengmalm's owl (*Aegolius funereus*) was studied in the Ore Mountains during the breeding seasons 2014 – 2016. The study deals with the sex ratio of hatchlings and fledglings in owl broods. The main aim of the study was to analyse the sex ratio of owl hatchlings and fledglings in relation to food supply and laying date. The sex ratio was determined in 134 nestlings from 34 nests. Each hatched nestling was blood sampled 50 µl from the brachial vein and the DNA analyses were realised by polymerase chain reaction (PCR) and subsequent electrophoresis. Sex determination was based on the length of introns CHD1 between chromosomes Z and W. There was found no difference in the sex ratio between hatchlings and fledglings in studied nests. Over the entire study period (2014 – 2016), the annual average on male hatchling sex ratio was 49.0% and male fledgling sex ratio was 39.7%. In 2014 and 2015, there was found similar sex ratio of hatchlings and fledglings. In 2014, male sex ratio of hatchlings was 58.3% and male sex ratio of fledglings was 59.7%. In 2016, when the high mortality of nestlings was documented (53.9%), male sex ratio of hatchlings and fledglings differed substantially, i.e., 40% vs. 10%, respectively. There was found no relationship between sex ratio of nestlings and food availability. However, when food supply is low and high nestling mortality in owl nests occurred, sex ratio of nestlings and fledglings may differ. Further, it was found that sex ratio of nestlings was not related to laying date. Finally, sex determination was successful in 64.0% of tissue samples, while it was successful in 100% blood samples.

**Key words:** *Aegolius funereus*, sex ratio, food supply, Ore Mountains

## Obsah

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 1     | Úvod.....                                       | 10 |
| 1.1   | Cíle bakalářské práce: .....                    | 11 |
| 2     | Literární rešerše .....                         | 12 |
| 2.1   | Hnízdní biologie.....                           | 12 |
| 2.2   | Struktura potravy .....                         | 14 |
| 2.3   | Pohlavní dimorfismus .....                      | 15 |
| 2.3.1 | Dospělí jedinci .....                           | 15 |
| 2.3.2 | Mláďata.....                                    | 15 |
| 2.4   | Péče o mláďata.....                             | 16 |
| 2.5   | Poměr pohlaví mláďat.....                       | 17 |
| 2.5.1 | Rozdíl mezi vylíhlými a vylétlými.....          | 17 |
| 2.5.2 | Závislost na potravní nabídce .....             | 17 |
| 2.6   | Odběr krve .....                                | 17 |
| 3     | Metodika .....                                  | 19 |
| 3.1   | Studijní oblast .....                           | 19 |
| 3.2   | Hnízdní budky.....                              | 19 |
| 3.3   | Získávání dat.....                              | 19 |
| 3.4   | Potravní nabídka .....                          | 20 |
| 3.5   | Určování pohlaví.....                           | 20 |
| 3.5.1 | PCR (Polymerase Chain Reaction).....            | 20 |
| 3.5.2 | Elektroforéza.....                              | 21 |
| 3.6   | Statistická analýza.....                        | 22 |
| 4     | Výsledky .....                                  | 23 |
| 4.1   | Početnost potravní nabídky .....                | 23 |
| 4.2   | Souhrnné výsledky determinace pohlaví .....     | 23 |
| 4.3   | Vylíhlá versus vylétlá mláďata .....            | 23 |
| 4.4   | Meziroční rozdíly v poměru pohlaví mláďat ..... | 26 |



|     |  |    |
|-----|--|----|
| 4.5 | Rozdíly v poměru pohlaví mezi vylíhlými a vylétlými mládřaty ..... | 26 |
| 4.6 | Poměr pohlaví mládřat vzhledem k datu zahnízdění .....             | 26 |
| 4.7 | Poměr pohlaví mládřat vzhledem k početnosti potravní nabídky ..... | 26 |
| 4.8 | Úspěšnost určení pohlaví z krve vs. tkáně .....                    | 29 |
| 5   | Diskuze .....  | 30 |
| 5.1 | Rozdíl mezi vylíhlými a vylétlými mládřaty .....                   | 30 |
| 5.2 | Vliv potravní nabídky na poměr pohlaví .....                       | 31 |
| 5.3 | Závislost poměru pohlaví mládřat na datu zahnízdění .....          | 32 |
| 5.4 | Určení pohlaví z tkáně versus krve .....                           | 32 |
| 6   | Závěr .....  | 33 |
| 7   | Seznam literatury .....  | 34 |
| 8   | Přílohy .....  | 40 |

# 1 Úvod

V průběhu 20. století byla krajina Krušných hor výrazně ovlivněna těžebním a chemickým průmyslem. Emise pocházející z průmyslu výrazně narušily ekosystémy lesa na hřebenech Krušných hor. Mnoho původních lesních porostů bylo zničeno a odstraněno. Poté se desítky let porosty obnovovaly, ale proces byl zpomalen přírodními podmínkami. Pro obnovu lesa se používaly náhradní dřeviny. Nejvíce smrk pichlavý (*Picea pungens*), který lépe odolává drsným klimatickým podmínkám (Drdáková-Zárybnická 2004).

Populace sýce rousného (*Aegolius funereus*) je v Krušných horách studována již od roku 1999. Doposud byla zjištěna řada poznatků o tomto druhu, ale o poměru pohlaví mlád'at na hnízdě zatím existuje pouze málo studií. V Krušných horách byla studována pouze rychlost růstu mlád'at s ohledem na jejich pohlaví v letech 2006 – 2014 (Zárybnická et al. 2015b) a základní studii o poměru pohlaví mlád'at v 7 hnízdech provedla Mahlerová (2015). Výzkum, který probíhal ve Švédsku, se zabýval úmrtností mlád'at v závislosti na jejich pohlaví a potravní nabídce (Hipkiss et Hörnfeldt 2004). Hipkiss (2002a) zjišťoval informace o míře sexuálního dimorfismu dospělců a mlád'at. Poměrem pohlaví mlád'at na hnízdě sýce rousného se v Německu zabývali Schwerdtfeger et Wink (2013).

Data pro tuto práci byla sbírána v letech 2014 – 2016. Diplomová práce se věnuje především poměru pohlaví vylíhlých a vylétlých mlád'at na hnízdě a faktory, které mohou poměr pohlaví ovlivňovat. Stanovení pohlaví mlád'at bylo provedeno molekulárními metodami v laboratořích FŽP ČZU v Praze. Zjištěné informace a realizované metodiky jsou důležité z hlediska hnízdění biologie studovaného druhu a z hlediska dalšího rozvoje projektu.

## **1.1 Cíle bakalářské práce:**

- 1) Vyhodnotit poměr pohlaví mlád'at v hnízdech sýce rousného v období 2014 – 2016 vzhledem k početnosti potravní nabídky.
- 2) Vyhodnotit poměr pohlaví vylíhlých a vylétlých mlád'at z hnízda.
- 3) Vyhodnotit poměr pohlaví mlád'at vzhledem k období zahnízdění (tzv. sezónní efekt).

## 2 Literární rešerše

### 2.1 Hnízdní biologie

Sýc rousný je menší druh sovy z čeledi puštíkovitých (*Strigidae*). Samci i samice jsou primárně monogamní, ale při některých podmínkách mohou být samci polygamní a samice polyandrické. Tyto situace nastávají v letech, kdy je dostatek potravy a to především dostatek hrabošů a myšic (Eldegard et Sonerud 2009; Zárybnická 2009). Samec většinou neopouští svůj domovský okrsek v průběhu celého roku. Jeho volání, typické „pupupupu“ můžeme slyšet zejména na jaře, nejčastěji od poloviny března, kdy se ozývá téměř celou noc (Hudec 1983). Samec si volí přibližně 1 – 5 hnízdních dutin vhodných pro hnízdění. Okolo těchto dutin se pak intenzivně pohybuje, nosí dovnitř potravu a ozývá se výrazným a vytrvalým trylkovitým voláním (Hudec 1983; del Hoyo et al. 1999). Tím láká samici do své oblasti a ukazuje jí vybrané dutiny, ona si z nich vybere tu, která jí vyhovuje nejvíce (del Hoyo et al. 1999). Při páření, které obvykle probíhá v korunách stromů, vydávají sýci pronikavý křik, který může být slyšet nejčastěji v noci (Hudec 1983). Hnízdí od března do července (del Hoyo et al. 1999) v dutinách stromů nebo v člověkem vyrobených budkách, výjimečně i ve skalní dutině či ve staré budově (Hudec 1983). V evropských podmínkách hnízdí v dutinách, které jsou vytvořeny datlem černým (*Dryocopus martius*) ve výšce 4 až 12 m nad zemí. Vletový otvor bývá více než 5,4 cm široký v průměru a hloubka dutiny je 45 cm (Hudec 1983; del Hoyo et al. 1999).

Ve studii, která probíhala v Krušných horách v letech 2000 – 2012 bylo zjištěno, že průměrná velikost snůšky sýce rousného je 5 vajec, průměrně se vylíhne 4,4 mládřat z jedné snůšky a poté z této snůšky vylétne průměrně 3,5 mládřat (Marešová 2015). V podmínkách ČR bývá velikost snůšky menší než v severních oblastech, například ve Finsku (Zárybnická et al. 2012). Vejce jsou bílá, slabě se lesknou a jejich velikost je v průměru 26,8 x 32,8 mm (Hudec 1983; Drdáková-Zárybnická 2002). Samice vejce snáší po 1 – 2 dnech a sedí na vejcích obvykle 26 – 27 dní, ale někdy to může být dokonce až 31 dní (Hudec 1983). Samice zůstává na hnízdě po celou dobu inkubace, kdy jí samec přináší potravu. Samice opouští hnízdo jen v noci a to několikrát na krátkou dobu obvykle 5 – 10 minut.

Samec krmí samici v průběhu noci, ale přes den se nezdržuje v blízkosti hnízda (Hudec 1983; Drdáková-Zárybnická 2004).

Podle Hudce (1983) bylo vysledováno, že první mládřata se líhnou téměř současně a další mládřata se líhnou asynchronně v rozestupu 1 – 2 dní. Celková doba procesu líhnutí je v průměru 6 – 7 dní, ale někdy to může být až 13 dní. Čím větší je snůška, tím delší je doba líhnutí (Valkama et al. 2002). Když se mládřata vylíhnou, jsou nesamostatná, slepá a neschopna samostatného pohybu (Šťastný et al. 2010). Pobyt mládřat na hnízdě trvá 27 – 38 dní od vylíhnutí (Zárybnická 2009, Zárybnická et al. 2015b; Obr. 1). Během tohoto období opouští samice hnízdo jen na pár minut (3 – 9 min.), za účelem vyprázdnění a upravení vzhledu načechráním peří (Zárybnická 2009). Poté co mládřata opustí hnízdo, se obvykle nevzdalují od hnízda dále než 100 m. V noci vydávají žadonivé zvuky a rodiče je stále krmí ještě další 2 týdny. Nezávislí na rodičích se stávají přibližně v 3. – 6. týdnu po vylétnutí z hnízda (Šťastný et al. 2010).

Nadměrná péče rodičů o své potomky je pro mládřata výhodná, ale někdy může vznikat konflikt mezi rodiči a jejich mládřaty (Trivers 1985). Tento konflikt může mít vliv na dobu, kdy mládě vylítne z hnízda. Důvodem dřívějšího vylétnutí z hnízda může být také vysoké riziko predace. Z tohoto důvodu, je pro rodiče i mládřata výhodnější opustit hnízdo dříve (Michaud et Leonard 2000). Dalším důvodem dřívějšího opuštění hnízda může být konkurence mládřat na hnízdě (Nilsson 1993). Nejkratší doba pobytu mláděte na hnízdě v Krušných horách byla zaznamenána 27 dní a bylo to v roce s nízkou potravní nabídkou. Tento jedinec vylétl o 6 dní dříve než starší sourozenec a to pravděpodobně kvůli kompetici s větším sourozencem (Kouba et Šťastný 2012). V letech 2004 a 2006 byl v Krušných horách prováděn výzkum na hnízdech sýce rousného. Bylo zkoumáno chování samic na hnízdě pomocí monitorování kamerovým systémem v období od vylíhnutí mládřat do vylétnutí. Samice zůstávaly na hnízdě přibližně do 24 dnů od vylíhnutí prvního mláděte. Během pobytu na hnízdě opouštěly hnízdo každý večer a to jen na krátkou dobu. Tyto krátké výlety byly častější se zvyšujícím se věkem mládřat. Bylo zjištěno, že v roce s vysokou potravní nabídkou samice opouštěly hnízdo předčasně (v době, kdy na hnízdě pobývala nesamostatná mládřata), zatímco v letech s nízkou potravní nabídkou samice pokračovala v péči a krmení (Zárybnická

2009). Na severu jsou noci o dost kratší, proto jsou severští samci více limitováni v přinášení potravy. (Zárybnická et al. 2012).

**Obrázek 1:** Mláďata sýce rousného



Autor foto: Veronika Laryšová

## 2.2 Struktura potravy

Dostupnost potravní nabídky je důležitým faktorem pro hnízdění sýce rousného. Ovlivňuje zejména hustotu hnízdění, datum zahnízdění, velikost snůšky, úspěch reprodukce a strukturu potravy (Korpimäki et Hakkarainen 2012). Hlavní zdroj potravy sýce rousného jsou převážně drobní hlodavci, především hraboši (*Microtus* spp.), myšice (*Apodemus* spp.) a rejsci (*Sorex* spp.) (König et al. 2008; Zárybnická et al. 2013). Alternativní kořisti v obdobích špatné dostupnosti hlavní kořisti (hrabošů a myšic) jsou rejsci a menší ptactvo (Hudec 1983; Korpimäki 1988; König et al. 2008; Zárybnická et al. 2013).

Hlavní kořisti v západním Palearktu jsou drobní hlodavci a s měnící se zeměpisnou šířkou se mění struktury potravy (Korpimäki et Marti 1995). V severní Evropě jsou dominantní kořisti dravých ptáků především hraboši a norníci (*Myodes* spp.). Jejich podíl v potravě je závislý na jejich dostupnosti v přírodě (Korpimäki 1985, 1992). Ve vyšších zeměpisných šířkách mají hraboši 3 – 4 leté cykly a jejich počty se mění mezi roky a během sezóny (Hansson et Henttonen 1985, Korpimäki et al. 2005). Ve střední Evropě je početnost hrabošů mezi roky relativně

stabilní, jsou zřetelné především meziroční změny. Charakteristická je nízká hustota hrabošů na jaře a vysoká na podzim (Hansson et Hettonen 1985; Zárbybnická et al. 2015a).

Také u sýce rousného je zaznamenán rozdíl ve struktuře potravy vzhledem ke geografické poloze. Oproti severní Evropě se ve střední Evropě vyskytuje vyšší druhová rozmanitost drobných zemních savců, například v potravě jsou zastoupeny myšice rodu *Apodemus*. Vztah mezi procentem hrabošů v potravě sýce rousného a jejich dostupností v terénu nemusí být v mírných zeměpisných šířkách zřetelný (na rozdíl od severních oblastí) právě díky dostupnosti další hlavní kořisti, tj. myšic (Zárbybnická et al. 2013).

## **2.3 Pohlavní dimorfismus**

### **2.3.1 Dospělí jedinci**

Pohlavní dimorfismus u sýce rousného v období hnízdění je jedním z nejvýraznějších u sov v Evropě a Severní Americe (Korpimäki 1986). U dospělců se vyskytuje tzv. obrácený pohlavní dimorfismus, tj. samice bývá až o 50 % těžší než samec v období rozmnožování (Mikkola 1983; Hakkarainen et Korpimäki 1991). Samice v tuto dobu váží přibližně 140 – 180 g, zatímco samci pouze 100 – 110 g (Drdáková-Zárbybnická 2004). Mimo rozmnožovací období jsou samice těžší než samci pouze o 4 % (Hipkiss 2002b). Je zajímavé, že i přes výrazné hmotnostní rozdíly mezi pohlavími, mají samice delší křídla jen o několik procent. Váhový rozdíl je způsoben tím, že hnízdění sýce rousného začíná poměrně brzy (již v únoru či březnu) a proto je potřeba hmotnostních zásob u samic, aby přečkaly nepříznivé podmínky (sněhovou pokrývkou), při kterých je dostupnost potravní nabídky limitována (Drdáková-Zárbybnická 2004). Menší velikost těla samce mu umožňuje efektivnější let a lov potravy (Hipkiss 2002b). Poté co mláďata vylétnou z hnízda, mohou mít samice větší úmrtnost než samci, protože jejich vývoj trvá delší dobu a mají větší energetické požadavky (Korpimäki et Lagerstrom 1988).

### **2.3.2 Mláďata**

Fyzická zdatnost mláďat samců a samic se může lišit za různých podmínek, proto se mohou rodiče naučit upřednostňovat jedno pohlaví více než to druhé (Trivers et Willard 1973; Charnov 1981). Při změnách potravní nabídky se poměr pohlaví mláďat může významně lišit ve prospěch jednoho pohlaví (Kilner 1998).

Větší pohlaví roste rychleji a má větší požadavky na potravu než pohlaví menší (Fisher 1930). To může mít vliv na upřednostňování pohlaví. Mahlerová (2015) zjistila, že v hnízdech, kde byla 3 – 4 mlád'ata převažoval poměr pohlaví samců (60 – 70 %). Ale v hnízdech, kde bylo mlád'at 5, převažovaly na hnízdě samice (80 %). Po vylíhnutí byly samice v průměru o 2,1 g těžší než samci a v období 30 – 36 dní po vylíhnutí byly až o 8,2 g těžší (Zárybnická et al. 2015b). Pravidelné měření mlád'at ukázalo, že samice vážili o 5 % více než samci a to v období okolo tří týdnů po vylíhnutí. Nebyl zjištěn žádný rozdíl v délce křídla mezi pohlavími, protože růst pokračuje i po vylétnutí mlád'at z hnízda. Rychlost růstu se také výrazně nelišila mezi pohlavími (Hipkiss 2002a).

## **2.4 Péče o mlád'ata**

Rodičovská péče o mlád'ata během hnízdění se velmi liší mezi samicemi a samci. Samice má na starost inkubaci a zahřívání mlád'at dokud nejsou sama schopna regulovat teplotu a požívat potravu. Toto období trvá přibližně do stáří 20. dne nejstaršího mláděte (Mikkola 1983; Drdáková-Zárybnická 2004). Po tomto období může samice pomáhat samci s lovem a sháněním potravy pro mladá. V mnoha případech však samice svá mlád'ata i partnera opustí a může i znovu zahrnout. Úlohou samců je shánění potravy po celou dobu, kdy jsou mlád'ata a samice na hnízdě. V pozdější době už se většinou starají o mlád'ata sami až do jejich osamostatnění (Eldegard et Sonerud 2009, 2012; Zárybnická 2009; Korpimäki 1989). Samice zůstávají na hnízdě více kontinuálně, když jim samec donáší dostatek potravy. Pokud samec přináší potravy málo, samice může sama zabít mlád'ata a hnízdo předčasně opustit (Zárybnická et Vojar 2013). Až 70 % samic opouští svá mlád'ata předčasně (před vylétnutím z hnízda), zatímco její partner se i nadále stará o své potomstvo (Eldegard et Sonerud 2009). V hnízdě se mohou vyskytovat střety zájmů mezi rodiči a jejich potomky, a také mezi samicí a samcem (tzv. konflikt v rodičovské péči). Byly provedeny experimenty, které zahrnovaly manipulaci se snůškami a pěstounstvím nově vylíhlých mlád'at. Bylo zjištěno, že mlád'ata mohou přežít stejným způsobem i po přemístění z původního hnízda. Což znamená, že dospělci nedělají rozdíly mezi jejich vlastními mlád'aty a těmi nově přidanými (Korpimäki 1987b; Thomson et al. 2014).



## **2.5 Poměr pohlaví mlád'at**

### **2.5.1 Rozdíl mezi vylíhlými a vylétlými**

Jako u ostatních dravců, mlád'ata se líhnou postupně a to v intervalu 1 – 2 dní. Velmi často se stává, že nejmladší mládě zahyne ještě před vylétnutím, což může být způsobeno hladověním a agresí starších sourozenců (Newton 1979; Mikkola 1983). Když je nedostatek potravy a nejmladší mládě zahyne, může se stát potravou pro své starší sourozence (Korpimäki et Hakkarainen 2012). Počet mlád'at na hnízdě se snižuje mezi obdobími vylíhnutí a vylétnutí mlád'at. Hörnfeldt et al. (2000) však nezjistili rozdílný poměr pohlaví mezi vylíhlými a vylétlými mlád'aty.

### **2.5.2 Závislost na potravní nabídce**

Podle výzkumu ze severu Skandinávie je hnízdní biologie sýce rousného velmi flexibilní a přizpůsobuje se cyklům drobných savců. Datum zahníždění a velikost snůšky je značně ovlivňována početností potravní nabídky (Korpimäki 1987a; Hörnfeldt et. al 1990). Experimenty s potravní nabídkou během dvou let ukázaly, že samci na hnízdě umírají častěji než jejich větší sestry v období, kdy je nižší potravní nabídka (Hipkiss et al. 2002). Během tříletého výzkumu ve Švédsku byla zjištěna velká variabilita poměru pohlaví. V roce s vysokou potravní nabídkou bylo mezi mlád'aty více samců (65%), další rok byl poměr pohlaví vyrovnaný (49 % samci) a v roce s nízkou potravní nabídkou převažovaly na hnízdě samice (33 % samci) (Hipkiss et Hörnfeldt 2004). V příznivých letech jsou produkovány snůšky s nadbytkem samců, protože mají větší šanci přežít na hnízdě a také po vylétnutí (Trivers et Willard 1973; Hipkiss et Hörnfeldt 2004). Předpokládá se, že větší velikost těla poskytuje samicím konkurenční výhodu při boji o potravu na hnízdě v období, kdy je nedostatek potravy. Menší samci proto trpí větší mortalitou než samice v období nízké potravní nabídky (Hipkiss 2002a).

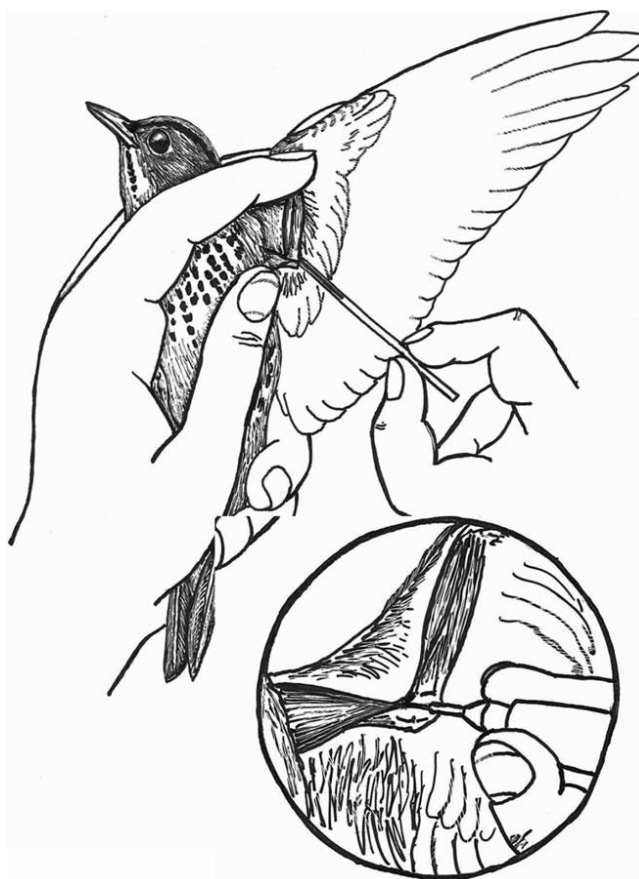
## **2.6 Odběr krve**

Krevní vzorky odebrané ptákům jsou užitečné při vyhodnocování jejich kondice, zdraví, metabolického stavu, ale také pro posuzování míry stresu a zjišťování fylogenetických vztahů. Krev se může odebírat z brachiální krční žíly nebo z žíly na noze, drápů, srdce. Nejčastěji se však odebírá z brachiální a krční žíly. Odběr z brachiální žíly je výhodný, protože je jednoduchý a ideální metodou pro

osoby, které s odběrem nemají dlouholeté zkušenosti (Obr. 2). Používá se především pro odběr krve u malých ptáků (Owen 2011).

Krev se odebírá do kapiláry, která by se měla držet na konci a směřovat dolů, což umožňuje snadnější naplnění kapiláry krví. Poté je krev přemístěna do jiné nádoby. Po odběru vzorku by mělo být zastaveno krvácení. Obvykle není potřeba zastavovat krvácení zvláštní technikou, ale pokud ano, položí se kousek bavlny na místo vpichu a křídlo se složí do přirozené polohy (Fair et al. 2010). Množství krve, které může být odebíráno, se odvíjí od tělesné hmotnosti. Může být odebíráno maximálně 1 % z tělesné hmotnosti ptáka a nemělo by být odebíráno více jak 2 % tělesné hmotnosti v průběhu 14 dnů (McGuill et Rowan 1989; Fair et al. 2010). Pro zjištění množství přijatelného vzorku, násobíme hmotnost ptáka v gramech x 10 (například 250 ml krve může být odebráno ptákovi, který váží 25 g) (Owen 2011).

**Obrázek 2:** Odběr krve z brachiální žíly (Owen 2011)



## 3 Metodika

### 3.1 Studijní oblast

Studijní oblast se nachází ve východních Krušných horách, v oblasti Flájské přehrady (50° N, 13° E, 730 – 960 m n. m.) na ploše 70 km<sup>2</sup>. Místní lesy byly v posledních desetiletích výrazně poškozeny průmyslovými imisemi. Ve studijní oblasti se nacházejí zejména pozůstatky vzrostlých lesů smrku ztepilého (*Picea abies*), rozvolněné mýtiny s převládající třtinou chloupkatou (*Calamagrostis villosa*) v bylinném patře, a porosty náhradních dřevin smrku pichlavého, břízy (*Betula* spp.), modřínu opadavého (*Larix decidua*) a jeřábu ptačího (*Sorbus aucuparia*). Roztroušeně se vyskytují také staré doupné stromy zejména buk lesní (*Fagus sylvatica*). Každoročně jsou v této oblasti nabízeny budky pro sýce rousného, v letech 2014 – 2016 to bylo 233 – 245 budek. Kvůli nedostatku přirozených dutin po datlu černém, sýc rousný budky hojně využívá. Ve studovaném období zahnízil sýc rousný v 66 budkách.

### 3.2 Hnízdní budky

Budky vhodné pro hnízdění sýce rousného byly umísťovány na různé lokality, zejména v porostech smrku ztepilého, v porostech náhradních dřevin smrku pichlavého nebo na solitérní stromy, zejména buku lesního. Budky byly vyrobeny ze dřeva a jejich rozměry činily 25 x 25 cm, výška 40 cm a vstupní otvor v průměru 8 cm (Drdáková-Zárybnická 2002). Dno budky bylo vyplněno pilinami.

### 3.3 Získávání dat

Pro objevení hnízd, byly budky kontrolovány od března do června. Budky, které byly obsazeny, se kontrolovaly pravidelně každých 7 – 10 dní (min. 2, max. 14 dní). Tyto kontroly umožnily zjistit datum zahnízdění samic, velikost snůšky a počet vylíhlých a vylétlých mlád'at (Drdáková-Zárybnická 2002). Mlád'ata byla kroužkována přibližně ve stáří 14 dnů po vylíhnutí. Vzorky krve v množství 50 µl pro molekulární určení pohlaví byly odebrány každému mláděti z brachiální žíly pod křídlem a to přibližně 14. – 21. den po vylíhnutí (Hörnfeldt et al. 2000). Krevní vzorky byly uchovány v 96% ethanolu a skladovány v -20 °C. Krevní vzorky byly odebrány 198 mlád'atům ve 42 budkách. Vajíčka z hnízd, která byla opuštěna samicí (n = 5) byla z hnízda odebrána. Z vejce byl poté vyjmut zárodek, z kterého byla provedena analýza pro zjištění pohlaví mláděte. Analýza probíhala stejnou metodou

jako u vzorků krve. Tato data však nebyla zahrnuta do statistické analýzy, protože pohlaví nebylo určeno u všech vzorků vajec. Úspěšnost určení pohlaví z tkání je však zajímavou informací a proto je zahrnuta do výsledků.

### 3.4 Potravní nabídka

Početnost drobných savců v terénu byla zjišťována pomocí metody pastování v období 2014 – 2016. Vždy na začátku června byly prováděny odchyty na třech kvadrátech o velikosti 1 hektaru. Na plochu 100 x 100 m bylo položeno 11 x 11 pastí, které od sebe byly vzdáleny 10 m. Pastí ležely na místě po dobu 3 dnů a každý den v dopoledních hodinách byly kontrolovány. Celkový počet odchycených drobných savců byl přepočítáván na 100 pastí na každém kvadrátu. Chycení hlodavci byli determinováni do druhů.

### 3.5 Určování pohlaví

Pro analýzu vzorků byla nejdříve použita metoda HOTSHOT<sup>(1)</sup>, poté proběhla PCR a nakonec elektroforéza a určení pohlaví.

Metoda HOTSHOT je levná a rychlá. Příprava činidel na HOTSHOT metodu je jednoduchá. První roztok, který slouží jako alkalické reakční činidlo, byl připraven z 25 mmol/l NaOH<sup>(2)</sup> a 0,2 mmol/l disodium EDTA<sup>(3)</sup>. Pro získání hodnoty pH 12 byla rozpuštěna sůl ve vodě bez úpravy pH. Druhý roztok použitý jako neutralizační reakční činidlo byl připraven z 40 mmol/l Tris – HCl<sup>(4)</sup> a pH 5 bylo připraveno rozpuštěním Tris – HCl ve vodě bez úpravy pH. Do každé ependorf zkumavky se vzorkem bylo přidáno 40 µl alkalického roztoku a poté byly vzorky zahřáty na 95 °C po dobu 12 minut. Po vyjmutí byly vzorky zchlazeny na 4 °C a byl přidán neutralizační roztok (40 µl) (Truett et al. 2000).

#### 3.5.1 PCR (Polymerase Chain Reaction)

Při PCR probíhá nejprve denaturace DNA, kdy za vysokých teplot dochází k rozvolnění DNA vlákna. Tato fáze trvá jen krátkou chvíli. Při další fázi dojde k mírnému ochlazení, při kterém přisedají primery na separovaná vlákna DNA.

---

(1) HOTSHOT = Hot sodium hydroxide and tris

(2) NaOH = Hydroxid sodný

(3) EDTA = Ethylenediamine tetraacetic acid (kyselina ethylendiamintetraoctová)

(4) Tris-HCl = Tris hydrochlorid

Při poslední fázi nastane namnožení mezi primery pomocí komplementarity vláken DNA. Při PCR vznikne zkopírovaná původní molekula DNA. Tyto tři fáze se opakují 20 – 30 krát. Jeden tento cyklus trvá zhruba 5 minut (Alberts et al. 2013).

Pro PCR byl připraven roztok na 20ti vzorkový premix v poměrech: H<sub>2</sub>O 326 µl, pufr 40 µl, dNTP 5 µl, Dream Tag Polymerase 0,8 µl, DNA 1 – 1,5 µl, dva primery (Fridolfsson et Ellegren 1999):

2550F (5' - GTTACTGATTCGTCTACGAGA - 3) 2 µl

2718R (5' - ATTGAAATGATCCAGTGCTTG - 3) 2 µl

PCR reakce probíhá v termocykleru. Pro amplifikaci DNA sýce rousného byly na termocykleru nastavena tato data: denaturace 94 °C na 30 s, annealing 60 °C na 40 s, extenze 72 °C na 70 s, final extensit 72 °C na 10 minut, vše proběhlo ve 31 cyklech.

### 3.5.2 Elektroforéza

Pro elektroforézu byl nejdříve připraven 0,8% agarózový gel. Pro přípravu gelu musí být dodržen přesný poměr složek. V mikrovlnné troubě byl rozpuštěn agarózový prášek v TBE<sup>(5)</sup> pufru. V tabulce 1 je uvedeno množství jednotlivých složek pro přípravu TBE pufru. Do rozpuštěné agarózy byl přidán ethidium bromid<sup>(6)</sup> (přibližně 5 µl na 50 ml). Připravený roztok byl nalit do vany s hřebenem. Roztok ztuhl přibližně za 20 minut. Vzorky byly smíchány s bromfenolovou sledovací barvou (loading buffer) a 5 µl této směsi bylo pipetováno do jamek agarózového gelu (Brejšková in verb ex Mahlerová 2015).

---

(5) TBE = Tris-borát-EDTA pufr

(6) Ethidium bromid = používá se v molekulární biologii k detekci DNA při agarózové elektroforéze

**Tabulka 1: Příprava TBE pufru**

|   |        |             |
|---|--------|-------------|
| 10x koncentrace TBE na 100ml.                 |        |             |
| Tris base <sup>(7)</sup>                      | 5,4 g  |             |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> <sup>(8)</sup> | 2,75 g |             |
| EDTA  | 2 ml   | 0,5 M, pH=8 |

Samice byly charakterizovány zobrazením CHD1<sup>(9)</sup>W fragmentů, které byly ve velikosti 1,2 kb a také kratším fragmentem CHD1Z o velikosti 0,7 kb. U určení pohlaví samců byl zobrazen jen kratší Z fragment (Hipkiss 2002a). Pro zjištění délky fragmentů byl použit DNA standard. V příloze 1 je výsledný elektrogram z roku 2016.

### 3.6 Statistická analýza

Do statistické analýzy byly zařazeny pouze ta hnízda, v kterých bylo určeno pohlaví u všech vylíhlých mlád'at. Pro výpočet závislostí a vztahů mezi daty byl použit program R version 3.1.2 (2014-10-31). Pro zjištění vztahu mezi roky a poměru pohlaví vylíhlých jedinců (vyjádřených procentem samců) a poté poměru pohlaví vylétlých jedinců (vyjádřených procentem samců) byla použita ANOVA. Poměr pohlaví samců byl vyjádřen jako průměr na hnízdo v procentech. Dále byl použit párový t-test, kterým bylo zjišťováno, zda je prokazatelný rozdíl mezi poměrem vylíhlých a vylétlých samců. Závislost poměru pohlaví samců na datu zahnízdění byla testována pomocí lineární regrese. Den zahnízdění v jednotlivých hnízdech byl vždy přepočten na počet dní od 1. ledna.

---

(7) Tris base = triviální název pro tris(hydroxymethyl)aminomethan, běžně se používá v molekulární biologii jako pufr

(8) H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> = kyselina boritá

(9) CHD1 = Chromodomain-helicase-DNA-binding protein

## 4 Výsledky

### 4.1 Početnost potravní nabídky

Metodou odchyťů do sklapovacích pastí byla ve studijním období 2014 – 2016 zjišťována početnost potravní nabídky. V roce 2014 bylo odchyceno celkem 0,5 ex. / 100 past'onocí (SD = 0,42), v roce 2015 3,7 ex. / 100 past'onocí (SD = 0,69) a v roce 2016 0,8 ex. / past'onocí (SD = 0,95).

V roce 2014 bylo odchyceno celkem 5 kořistí, z toho 60 % představovala myšice lesní (*Apodemus flavicollis*), 20 % hraboš mokřadní (*Microtus agrestis*) a 20 % rejsek malý (*Sorex minutus*).

V roce 2015 bylo odchyceno celkem 40 kořistí, z toho 20,0 % hraboš mokřadní, 12,5 % norník rudý (*Myodes glareolus*) a 7,5 % rejsek obecný (*Sorex araneus*).

V roce 2016 bylo odchyceno celkem 9 kořistí, z toho 55,6 % představoval hraboš mokřadní, 33,3 % norník rudý a 11,1 % rejsek obecný.

### 4.2 Souhrnné výsledky determinace pohlaví

Pohlaví bylo určeno ve 42 hnízdech, z toho poměr pohlaví úplného počtu vylíhlých mlád'at byl zjištěn v 34 hnízdech (Tab. 2). Celkový počet vylíhlých mlád'at ve 42 hnízdech činil 198, následně však bylo pracováno jen se 134 vylíhlými mlád'aty (n = 34 hnízd).

U kompletně určených pohlaví, tj. všech vylíhlých mlád'at na hnízdě, činila průměrná velikost snůšky 3,6 vajec (SD = 1,27, n = 34 hnízd). Průměrně se vylíhlo 3,3 mlád'at (SD = 1,66, n = 34 hnízd) a vylétlo 2,6 mlád'at (SD = 1,82, n = 34 hnízd) (Tab. 3).

### 4.3 Vylíhlá versus vylétlá mlád'ata

V letech 2014 – 2016 se vylíhlo celkem 134 mlád'at (n = 34 hnízd). Zaznamenán byl vyšší počet samic (66 samců vs. 68 samic). Průměrné procento vylíhlých samců a samic v hnízdě činilo 49,0 % (SD = 26,4, n = 34 hnízd) a 51,0 % (SD = 26,1, n = 34 hnízd), respektive (Tab. 3). Úmrtnost mlád'at byla nízká; vylétlo celkem 121 mlád'at (59 samců, 63 samic, Tab. 2). Průměrné procento vylétlých

samců a samic z hnízda činilo 39,7 (SD = 30,0, n = 34 hnízd) a 60,3 % (SD = 29,59 %, n = 34 hnízd) (Tab. 3).

Poměr pohlaví u vylíhlých mlád'at byl stanoven pouze u snůšek s kompletně odebranými vzorky (n = 34 hnízd, 134 mlád'at). V roce 2014 se v takovýchto hnízdech vylíhlo celkem 16 mlád'at (n = 6 hnízd). Zaznamenán byl vyšší počet samců než samic (10 vs. 6). Průměrné procento vylíhlých samců a samic v hnízdě v roce 2014 činilo 58,3 % (SD = 32,6 %, n = 6 hnízd) a 41,7 % (SD = 32,6 %, n = 6 hnízd), respektive (Tab. 3). Úmrtnost mlád'at byla nízká (12,5 %); vylétlo celkem 14 mlád'at (9 samců, 5 samic, Tab. 2). Průměrné procento vylétlých samců a samic z hnízda činilo 59,7 % (SD = 30,6 %, n = 6 hnízd) a 40,3 % (SD = 30,6, n = 6 hnízd) (Tab. 3).

V roce 2015 se vylíhlo celkem 105 mlád'at (n = 23 hnízd). Zaznamenán byl vyšší počet samic než samců (51 samců vs. 54 samic). Průměrné procento vylíhlých samců a samic v hnízdě v roce 2015 činilo 49,3 % (SD = 25,7 %, n = 23 hnízd) a 51,3 % (SD = 24,09, n = 23 hnízd), respektive (Tab. 3). Úmrtnost mlád'at byla nízká (3,8 %); vylétlo celkem 101 mlád'at (49 samců, 53 samic, Tab. 2). Průměrné procento vylétlých samců a samic z hnízda činilo 49,3 % (SD = 25,7, n = 23 hnízd) a 51,7 % (SD = 5,1, n = 23 hnízd) (Tab. 3).

V roce 2016 se vylíhlo výrazně méně mlád'at než v roce předchozím, celkem 13 mlád'at (n = 5 hnízd). Zaznamenán byl vyšší počet samic než samců (5 samců vs. 8 samic). Průměrné procento vylíhlých samců a samic v hnízdě v roce 2016 činilo 40,0 % (SD = 25,0, n = 5 hnízd) a 60,0 % (SD = 2,6, n = 5 hnízd), respektive (Tab. 3). Úmrtnost mlád'at byla vysoká (53,9 %); vylétlo celkem 6 mlád'at (1 samec, 5 samic, Tab. 2). Průměrné procento vylétlých sameců a samic z hnízda činilo 10,0 % (SD = 20,0, n = 5 hnízd) a 90,0 % (SD = 20,0, n = 5 hnízd) (Tab. 3).



Tabulka 2: Celkové počty vylíhlých a vylétlých mlád'at z kompletně určených hnízd v jednotlivých letech 2014 – 2016

| Rok           | Počet hnízd | Vylíhlá    | Počet samců | Počet samic | Vylétlá    | Počet samců | Počet samic |
|---------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| 2014          | 6           | 16         | 10          | 6           | 14         | 9           | 5           |
| 2015          | 23          | 105        | 51          | 54          | 101        | 49          | 53          |
| 2016          | 5           | 13         | 5           | 8           | 6          | 1           | 5           |
| <b>Celkem</b> | <b>34</b>   | <b>134</b> | <b>66</b>   | <b>68</b>   | <b>121</b> | <b>59</b>   | <b>63</b>   |

Tabulka 3: Průměrné hodnoty poměru pohlaví u vylíhlých a vylétlých mlád'at (hodnoty jsou vždy průměr na budku za rok a směrodatná odchylka)

| Průměr na budku |                  |                 |                 |                 |                   |                 |                   |                  |                 |                   |                 |                   |
|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|
|                 | Vylíhlá mlád'ata |                 |                 |                 |                   |                 |                   | Vylétlá mlád'ata |                 |                   |                 |                   |
| Rok             | Počet hnízd      | Velikost snůšky | Počet mlád'at   | Počet samců     | Poměr samců (%)   | Počet samic     | Poměr samic (%)   | Počet mlád'at    | Počet samců     | Poměr samců (%)   | Počet samic     | Poměr samic (%)   |
| 2014            | 6                | 3,7±0,47        | 2,7±1,25        | 1,7±1,11        | 58,3±32,63        | 1,0±0,58        | 41,7±32,63        | 2,3±1,11         | 1,5±0,96        | 59,7±30,59        | 0,8±0,37        | 40,3±30,59        |
| 2015            | 23               | 4,6±1,21        | 4,6±1,56        | 2,2±1,21        | 48,7±24,09        | 2,3±1,34        | 51,3±24,09        | 4,4±1,50         | 2,1±1,19        | 49,3±25,68        | 2,3±1,37        | 51,7±5,10         |
| 2016            | 5                | 2,6±0,75        | 2,6±0,49        | 1±0,63          | 40,0±25,00        | 1,6±0,8         | 60,0±2,61         | 1,2±0,4          | 0,2±0,4         | 10,0±20           | 1,0±0,00        | 90,0±20           |
| <b>Celkem</b>   | <b>34</b>        | <b>3,6±1,27</b> | <b>3,3±1,66</b> | <b>1,6±1,21</b> | <b>49,0±26,38</b> | <b>1,6±1,28</b> | <b>51,0±26,13</b> | <b>2,6±1,82</b>  | <b>1,3±1,27</b> | <b>39,7±30,02</b> | <b>1,4±1,31</b> | <b>60,3±29,59</b> |

#### **4.4 Meziroční rozdíly v poměru pohlaví mlád'at**

Poměr pohlaví vylíhlých samců v jednotlivých hnízdech se mezi studovanými roky nelišil ( $P = 0,53$ ,  $F = 73,34$ ). V roce 2014 činil poměr samců 58,3 % na hnízdo ( $SD = 32,6$ ), v roce 2015 48,7 % ( $SD = 24,1$ ) a v roce 2016 40,0 % ( $SD = 25,0$ ).

Nicméně, poměr vylétlých samců v jednotlivých hnízdech se mezi studovanými roky prokazatelně lišil ( $P = 0,01$ ,  $F = 47,02$ ). V roce 2014 činil poměr samců 59,7 % ( $SD = 30,6$ ), v roce 2015 49,3 % ( $SD = 25,7$ ) a v roce 2016 10,0 % ( $SD = 20,0$ ) (Obr. 2).

#### **4.5 Rozdíly v poměru pohlaví mezi vylíhlými a vylétlými mlád'aty**

V souhrnném období 2014 – 2016 nebyl nalezen prokazatelný rozdíl mezi poměrem pohlaví mlád'at, resp. v podílu vylíhlých a vylétlých samců ( $P = 0,18$ ,  $df = 33$ ,  $t = 1,37$ ,  $n = 34$  hnízd). V roce 2016 byl nalezen indikativní rozdíl mezi vylíhlými a vylétlými samci ( $P = 0,09$ ,  $df = 4$ ,  $t = 2,25$ ,  $n = 5$  hnízd, Obr. 3). Ale tento rozdíl nebyl nalezen v letech 2014 ( $P = 0,7$ ,  $df = 5$ ,  $t = -0,42$ ,  $n = 6$  hnízd) a 2015 ( $P = 0,57$ ,  $df = 22$ ,  $t = -0,57$ ,  $n = 23$  hnízd).

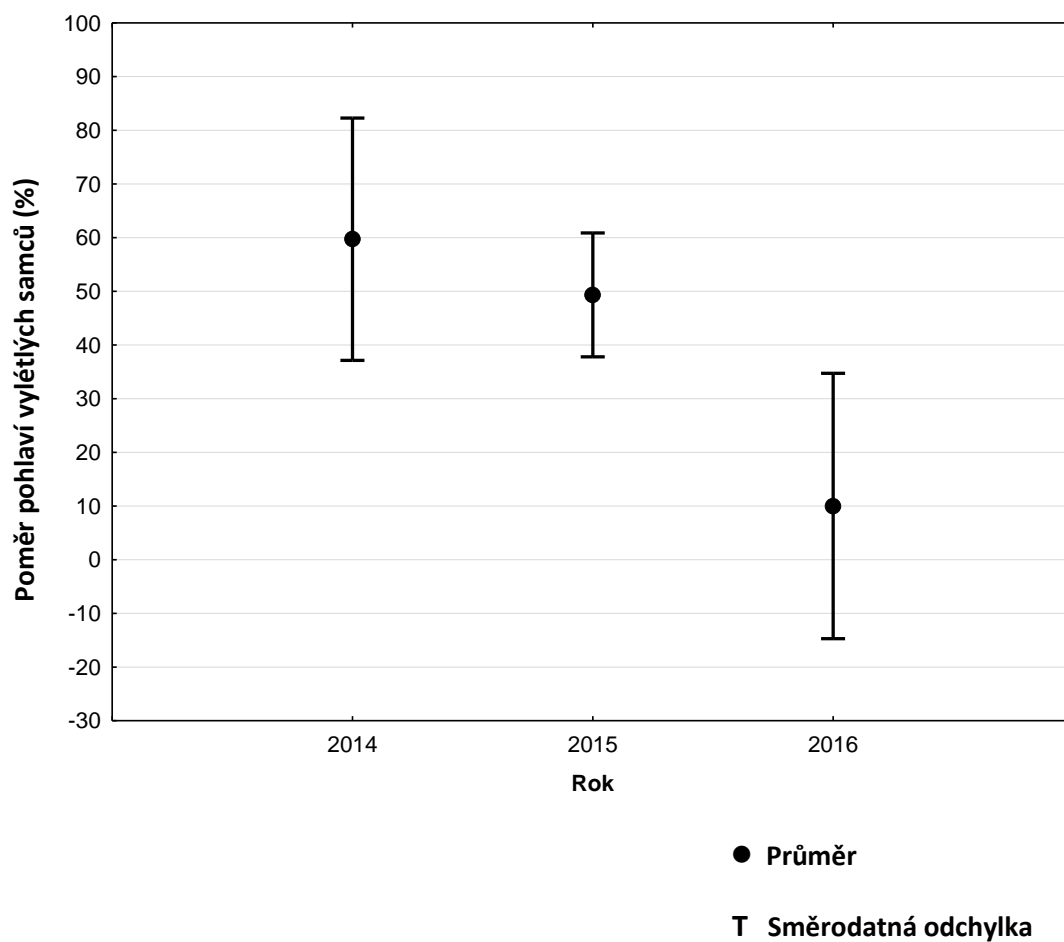
#### **4.6 Poměr pohlaví mlád'at vzhledem k datu zahnízdění**

Bylo zjištěno, že datum zahnízdění neovlivňuje poměr pohlaví mlád'at (podíl samců), která se v hnízdech vylíhla ( $P = 0,28$ ,  $df = 1,32$ ,  $F = 1,20$ ,  $n = 34$  hnízd), ani těch, která z hnízda vylétla ( $P = 0,24$ ,  $df = 1,32$ ,  $F = 1,46$ ,  $n = 34$  hnízd).

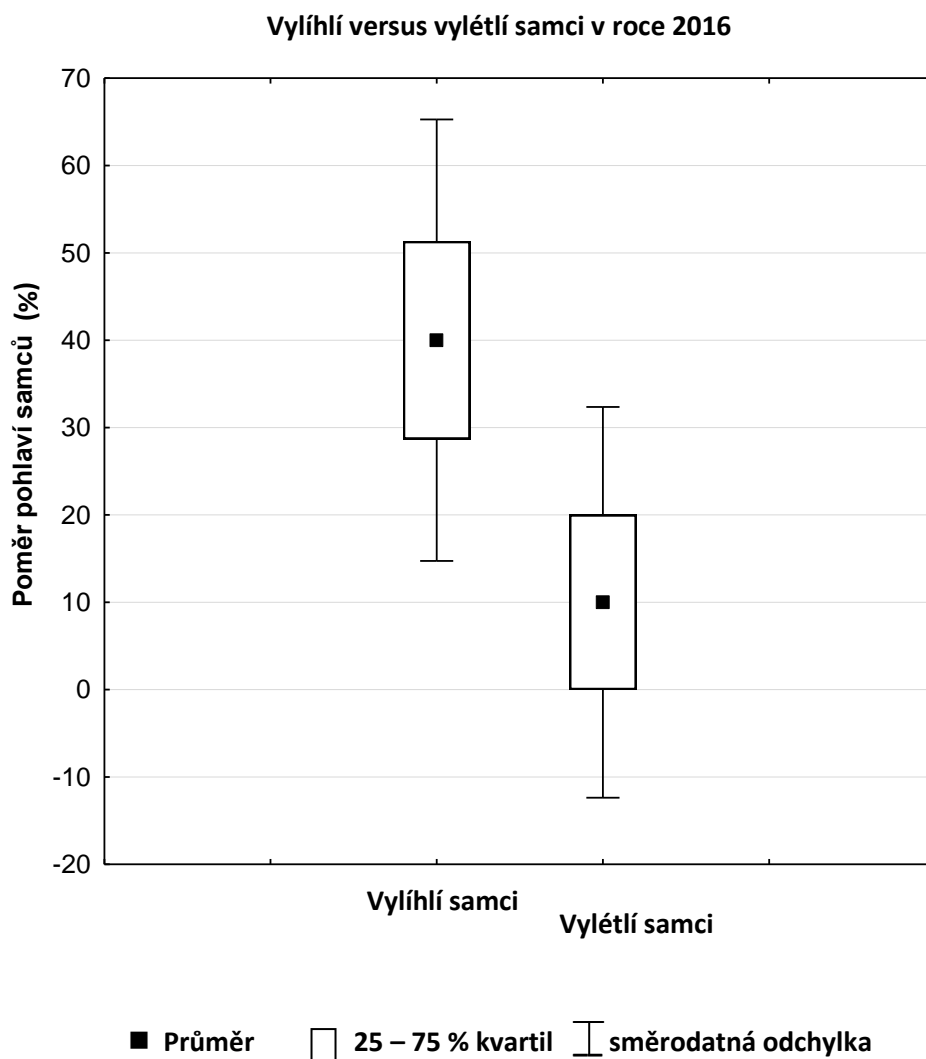
#### **4.7 Poměr pohlaví mlád'at vzhledem k početnosti potravní nabídky**

Navzdory rozdílným potravním podmínkám mezi roky 2014 – 2016 nebyl nalezen prokazatelný vztah mezi potravní nabídkou a poměrem pohlaví (podílem samců) vylíhlých ( $P = 0,92$ ,  $F = 0,02$ ,  $n = 34$  hnízd) ani vylétlých mlád'at ( $P = 0,86$ ,  $F = 0,05$ ,  $n = 34$  hnízd). Nicméně, je zřejmé (Obr. 4), že v roce 2014 a 2015 téměř všichni vylíhlí samci také úspěšně vylétli z hnízda. Velký pokles vylétlých samců však nastal v roce 2016. V tomto roce vylétlo pouze 10 % samců.

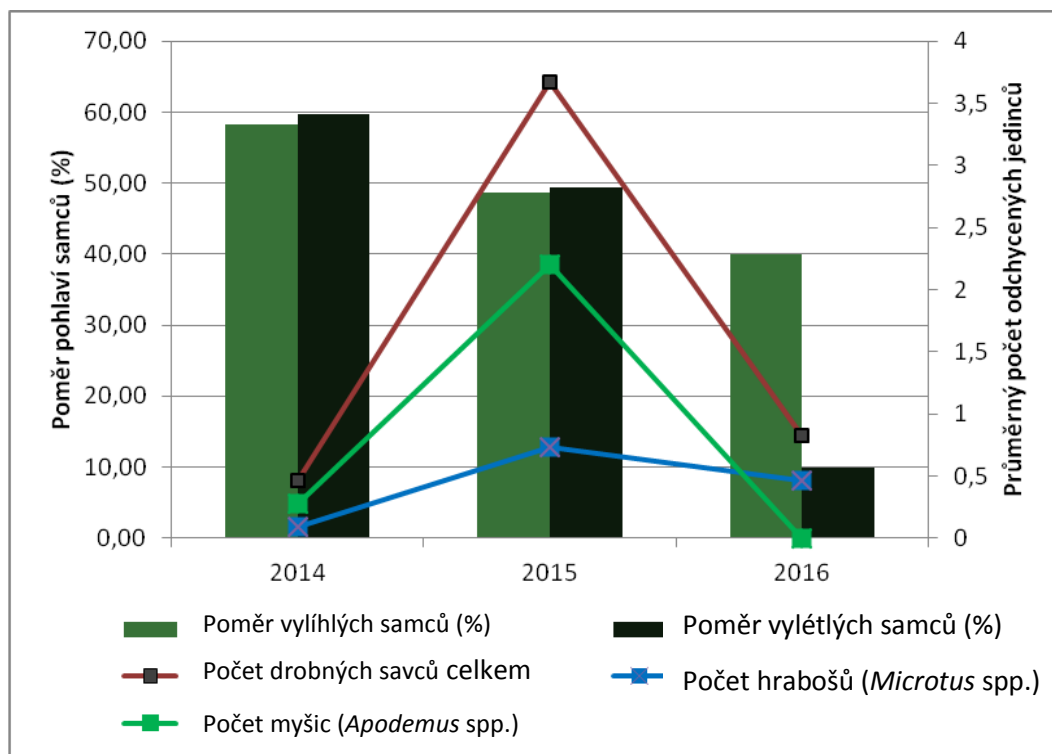
**Obrázek 2: Proměnlivost poměru pohlaví vylétlých samců z jednotlivých hnízd (n = 34 hnízd) mezi roky 2014 (n = 6 hnízd, n = 14 mlád'at), 2015 (n = 23 hnízd, n = 101 mlád'at), 2016 (n = 5 hnízd, n = 6 mládě). Poměr pohlaví samců je uveden jako průměr na rok v procentech. Zobrazeny jsou průměry a směrodatné odchylky.**



**Obrázek 3: Poměr pohlaví vylíhlých a vylétlých mlád'at v jednotlivých hnízdech (n = 6 hnízd, n = 13 mlád'at) v roce 2016. Poměr pohlaví je vyjádřen podílem (procentem) samců. Poměr pohlaví mlád'at samců je udáván v procentech. Boxploty znázorňují průměr, 25 – 75 % kvartil a směrodatnou odchylku**



**Obrázek 4: Poměr pohlaví vylíhlých a vylétlých mlád'at (procento samců), celková početnost drobných savců (*Microtus spp.*, *Apodemus spp.*, *Myodes glareolus*, *Sorex spp.*) a početnost hrabošů a myšic v terénu za rok (znázorněn je průměrný počet odchytených jedinců na 100 past'onocí).**



#### 4.8 Úspěšnost určení pohlaví z krve vs. tkáně

Vzorky tkání byly odebrány z 5 hnízd v roce 2016 a úspěšnost určení pohlaví byla průměrně 64 %. Úspěšnost určení pohlaví z krve byla 100 %.

## 5 Diskuze

Tato práce se zabývá poměrem pohlaví vylíhlých a vylétlých mlád'at na hnízdě sýce rousného. Bylo zjišťováno, zda se poměr pohlaví mlád'at liší mezi roky a také, které pohlaví vylétává z hnízda častěji.

V období 2014 – 2016 byla průměrná velikost snůšky 3,6 vajec na hnízdo, což je o něco méně, než bylo zjištěno v Krušných horách v předchozím období 2000 – 2012, kdy byla průměrná velikost snůšky 5,0 vajec (Marešová 2015). Průměrný roční počet vylíhlých mlád'at byl 3,3 mlád'at na hnízdo, což bylo rovněž méně než v minulých letech, kdy se vylíhlo průměrně 4,4 mlád'at (Marešová 2015). Z našich sledovaných hnízd poté průměrně vylétlo 2,6 mlád'at na hnízdo, což je v porovnání s předchozími roky opět méně, protože v předchozím studovaném období to bylo 3,5 mlád'at (Marešová 2015).

### 5.1 Rozdíl mezi vylíhlými a vylétlými mlád'aty

V období 2014 – 2016 nebyl nalezen prokazatelný rozdíl v poměru pohlaví vylíhlých a vylétlých mlád'at v jednotlivých hnízdech. Průměrný podíl vylíhlých a vylétlých samců v jednotlivých letech činil 49,0 % a 39,7 %. Rozdíl v poměru pohlaví nebyl zaznamenán ani v roce 2014 a 2015, kdy se v hnízdech vyskytovala nízká mortalita mlád'at (12,5 % a 3,8%). Procentuální podíl vylíhlých a vylétlých samců v jednotlivých hnízdech činil 58,3 % a 59,7 % v roce 2014 a 48,7 % a 49,3 % v roce 2015. K odlišné situaci však došlo v roce 2016. V tomto roce byla zaznamenána velmi nízká početnost potravní nabídky a vysoká mortalita mlád'at (53,9 %). V tomto roce se vylíhlo průměrně 40,0 % samců, ale vylétlo pouze 10,0 %.

Na základě zjištěných výsledků lze konstatovat, že můžeme pro další práce pracovat pouze s daty mlád'at, která vylétla z hnízda, protože nebyl nalezen rozdíl mezi vylíhlými a vylétlými mlád'aty. To usnadní odběr krve mlád'at, zejména nebude potřeba odebírat krev příliš malým mlád'atům. Stejně výsledky byly zjištěny při výzkumu ve Švédsku, kde bylo zjištěno, že se poměr pohlaví mlád'at samců nemění mezi vylíhlými a vylétlými mlád'aty z hnízda (Hörnfeldt et al. 2000). Nicméně, je nutné poznamenat, že v letech velmi nízké potravní nabídky a vysoké úmrtnosti mlád'at může být rozdíl v poměru vylíhlých a vylétlých mlád'at značný.

V takovýchto letech je třeba zjišťovat poměr pohlaví jak u vylíhlých mlád'at, tak u vylétlých mlád'at.

Podíl vylíhlých samců v jednotlivých hnízdech v období 2014 – 2016 činil 49,0 %, což ukazuje, že při líhnutí je poměr pohlaví mlád'at v hnízdech sýce rousného vyrovnaný. Podobné výsledky byly zjištěny při výzkumu v Německu, kde na hnízdě mírně převažovali samci (53 %) (Schwerdtfeger et Wink 2013). Vyšší poměr pohlaví samců byl zjištěn v Dánsku u puštíka obecného (*Strix aluco*), kde na hnízdě také převažovali samci (59 %) (Desfor et al. 2007). Ve Švédsku byl však poměr vylíhlých samců (65 %) znatelně vyšší než v Krušných horách (Hörnfeldt et al. 2000).

V roce 2016, kdy panoval ve studijní oblasti významný nedostatek potravy činil podíl vylíhlých samců v jednotlivých hnízdech pouze 40 % a podíl vylétlých samců dokonce jen 10 %. Z těchto údajů plyne, že z hnízda nakonec vylétlo výrazně více samic. To mohlo být způsobeno tím, že samice rychleji rostou a mají větší tělesnou hmotnost. Samice pak mají výhodu oproti samcům při boji o potravu a to zejména v letech, kdy je nízká potravní nabídka. Samci pak mohou trpět větší úmrtností, kvůli nedostatku potravy či může dojít ke kainismu mezi sourozenci (Hipkiss et al. 2002).

## 5.2 Vliv potravní nabídky na poměr pohlaví

Nebyla nalezena závislost poměru pohlaví vylíhlých a vylétlých mlád'at sýce rousného na potravní nabídce. Stejně tak tomu bylo i v Německu (střední Evropa), kde nebyl nalezen rozdíl mezi roky s vysokou potravní nabídkou (n = 5 let) a roky s nízkou potravní nabídkou (n = 4 roky) (Schwerdtfeger et Wink 2013). Naopak ve Švédsku, bylo zjištěno, že poměr pohlaví mlád'at sýce rousného byl prokazatelně ovlivněn tříletým hraboším cyklem (Hipkiss et Hörnfeldt 2004). Tyto výsledky mohou být způsobeny tím, že sýc rousný není ve střední Evropě tolik závislý na dostupnosti hrabošů (*Microtus* sp.), neboť početně jsou dostupné i další typy alternativní kořisti, zejména myšice (*Apodemus* sp.) (Zárybnická et al. 2013).

V předložené studii je možné porovnat roky extrémně odlišné v početnosti potravní nabídky. V roce 2015 byla dokumentována vysoká dostupnost drobných zemních savců (tj. 3,7 odchycených drobných savců / 100 past'onocí), zatímco v roce 2014 a 2016 byla velmi nízká (tj. 0,5 ex. / 100 past'onocí). V roce 2015 mezi vylíhlými mlád'aty převažovaly samice (51,3 %), zatímco v roce 2014 převažovali samci (58,3 %). Stejně tak tomu bylo i ve Švédsku, kdy během tříletého výzkumu bylo zjištěno, že v letech s nízkou potravní nabídkou byl poměr pohlaví vylíhlých samců první rok 49 % a druhý rok 33 %. Mahlerová však zjistila, že když v roce 2006 na území Krušných hor poklesla potravní nabídka (Zárybnická et al. 2015a), poměr pohlaví vylíhlých mlád'at byl v prospěch samců (14 samců, 11 samic) (Mahlerová 2015). V roce 2015 v Krušných horách byla vysoká potravní nabídka a poměr pohlaví vylíhlých samců činil 48,7 %. Ve Švédsku byl však poměr pohlaví vylíhlých samců v roce s vysokou potravní nabídkou výrazně vyšší (65 %) (Hipkiss et Hörnfeldt 2004).

Nejzajímavějším rokem byl rok 2016, protože byl nalezen indikativní rozdíl mezi poměrem vylíhlých (40,0 %) a vylétlých (10,0 %) samců. Což bylo pravděpodobně způsobeno velmi nízkým počtem hrabošů a myšic a vysokou mortalitou mlád'at (53,9 %). V roce 2016 byla tedy zaznamenána vysoká úmrtnost samců (80 %), což je více než během studie ve Švédsku, kde byla úmrtnost samců 20 % (Hörnfeldt et al. 2000).

### **5.3 Závislost poměru pohlaví mlád'at na datu zahnízdění**

Bylo zjištěno, že poměr pohlaví vylíhlých ani vylétlých mlád'at není ovlivněn datem zahnízdění. Stejný výsledek zjistil i Hörnfeldt et al. (2000). Poměr pohlaví se také neměnil s datem zahnízdění podle Hipkiss et Hörnfeldt (2004) a stejně tak tomu bylo i během výzkumu puštíka obecného v Dánsku (Desfor et al. 2007).

### **5.4 Určení pohlaví z tkáně versus krve**

Úspěšnost určení pohlaví z hnízd v roce 2016 byla 64 % a úspěšnost z krve byla 100 %. Proto je zřejmé, že z tkáně se určuje pohlaví složitěji a pro budoucí studie není vhodné.



## 6 Závěr

Hlavním cílem této práce bylo, zjistit jak se liší poměr pohlaví vylíhlých a vylétlých mlád'at v hnízdech sýce rousného a zda je poměr pohlaví mlád'at ovlivněn potravní nabídkou a datem zahníždění. Pohlaví mlád'at bylo určeno pomocí analýzy DNA, která je popsána v metodice této práce. Data pro tuto práci byla sbírána v Krušných horách v letech 2014 – 2016. Celkem bylo analyzováno pohlaví u 134 mlád'at z 34 hnízd.

V období studie nebyl nalezen prokazatelný rozdíl mezi poměrem pohlaví vylíhlých a vylétlých mlád'at v jednotlivých hnízdech. Průměrný roční podíl samců mezi vylíhlými mlád'aty činil 49,0 %, mezi vylétlými mlád'aty činil 39,7 %. V roce 2014 a 2015 byl poměr pohlaví vylíhlých a vylétlých mlád'at v jednotlivých hnízdech podobný; v roce 2014 činil podíl vylíhlých samců 58,3 % a vylétlých 59,7 % (n = 6 hnízd, n = 16 mlád'at). V roce 2016, kdy panovala nízká dostupnost drobných zemních savců (0,8 ex. / 100 past'onoci) a vysoká mortalita mlád'at na hnízdě (53,9 %), činil podíl samců mezi vylíhlými mlád'aty 40 %, ale mezi vylétlými mlád'aty z hnízda pouze 10,0 % (n = 5 hnízd, 13 mlád'at).

Bylo zjištěno, že poměr pohlaví vylíhlých i vylétlých mlád'at nebyl ovlivněn datem zahníždění. Úspěšnost určení pohlaví z tkání (zárodků) byla 64 %, zatímco úspěšnost určení pohlaví z krve činila 100 %. Z toho plyne, že pro příští studie bude efektivnější determinovat pohlaví mlád'at z krve.

Výsledky této práce jsou cenné a rozšiřují poznatky o poměru pohlaví a hnízdní biologii sýce rousného. Zejména bylo poukázáno, že ve studijní oblasti v Krušných horách se neliší poměr pohlaví mezi vylíhlými a vylétlými mlád'aty. To usnadní odběr krve mlád'at, zejména nebude potřeba odebírat krev příliš malým mlád'atům. Nicméně, je nutné poznamenat, že v letech velmi nízké potravní nabídky a vysoké úmrtnosti mlád'at může být rozdíl v poměru pohlaví vylíhlých a vylétlých mlád'at značný. V takovýchto letech je třeba zjišťovat poměr pohlaví jak u vylíhlých mlád'at, tak u vylétlých mlád'at.

## 7 Seznam literatury

ALBERTS B., BRAY D., JOHNSON A., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WALTER P., 2013: Essential Cell Biology. Garland Science, New York, 865 s.

DEL HOYO J., ELLIOTT A., SARGATAL J. [eds], 1999: Handbook of the Birds of the World. Vol. 5. Barn-owls to Hummingbirds. Lynx Edicions, Barcelona, 759 s.

DESFOR K. B., BOOMSMA J. J., SUNDE P., 2007: Tawny Owls *Strix aluco* with reliable food supply produce male-biased broods. Ibis 149: 98–105.

DRDÁKOVÁ – ZÁRYBNICKÁ M., 2002: Hnízdní biologie sýce rousného (*Aegolius funereus*) v imisních oblastech Krušných hor, „nepublikováno“. Diplomová práce FŽP ČZU v Praze: „Dep.: Česká Zemědělská Univerzita“.

DRDÁKOVÁ – ZÁRYBNICKÁ M., 2004: Sýc rousný – úspěšný druh imisních holin. Živa 3: 128–130.

ELDEGARD K., SONERUD G. A. 2009: Female offspring desertion and male-only care increase with natural and experimental increase in food abundance. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences 276 (1662): 1713–1721.

ELDEGARD K., SONERUD G. A. 2012: Sex roles during post-fledging care in birds: female Tengmalm's Owls contribute little to food provisioning. Journal of Ornithology 153(2): 385-398.

FAIR J. M., PAUL E., JONES J., 2010: Guidelines to the use of wild birds in research, The Ornithological Council, Washington D.C., 215 s.

FISHER R. A., 1930: The Genetical Theory of Natural Selection. Clarendon Press, Oxford, 308 s.

FRIDOLFSSON A. K., ELLEGREN H., 1999: A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. Journal of Avian Biology 30: 116–121.

HAKKARAINEN H., KORPIMÄKI E., 1991: Reversed sexual size dimorphism in Tengmalm's owl: is small male size adaptive? Oikos 61: 337–346.

- HANSSON L., HENTTONEN H., 1985: Gradients in density variations of small rodents: the importance of latitude and snow cover. *Oecologia* 67: 394–402.
- HIPKISS T., 2002a: Brood sex ratio and sex differences in Tengmalm's owl (*Aegolius funereus*), „nepublikováno“. Diplomová práce Ecology and Environmental Science Umeå University, Sweden: „Dep.: Umeå University“.
- HIPKISS T., 2002b: Sexual size dimorphism in Tengmalm's owl (*Aegolius funereus*) on autumn migration. *Journal of Zoology* 257(3):281 – 285. DOI: 10.1017/S0952836902000870.
- HIPKISS T., HÖRNFELDT B., EKLUND U., BELIN S., 2002: Year-dependent sex-biased mortality in supplementary-fed Tengmalm's owl nestlings. *Journal of Animal Ecology* 71: 693-699.
- HIPKISS T., HÖRNFELDT B., 2004: High interannual variation in the hatching sex ratio of Tengmalm's owl broods during a vole cycle. *Popul Ecol* 46: 263 – 268.
- HÖRNFELDT B., CARLSSON B. G., LÖFGREN O., EKLUND U., 1990: Effects of cyclic food supply on breeding performance in Tengmalm's owl (*Aegolius funereus*). *Canadian Journal of Zoology* 68(3): 522-530.
- HÖRNFELDT B., HIPKISS T., FRIDOLFSSON A. K., EKLUND U., ELLEGREN H., 2000: Sex ratio and fledging success of supplementary-fed Tengmalm's owl broods. *Molecular Ecology* 9: 187-192.
- HUDEC K. [eds], 1983: Fauna ČSSR. Ptáci. Vol. 3/I. Academia, Praha: 109–116.
- CHARNOV E. L., 1981: The Theory of Sex Allocation. *Monographs in population biology* 18: 1-355.
- KILNER R., 1998: Primary and secondary sex ratio manipulation by zebra finches. *Animal Behaviour* 56: 155–164.
- KÖNIG C., WEICK F., 2008: *Owls of the World*. Christopher Helm Publishers, London, 519 s.

- KORPIMÄKI E. 1985: Prey choice strategies of the Kestrel *Falco tinnunculus* in relation to available small mammals and other Finnish birds of prey. *Annales Zoologici Fennici* 22: 91–104.
- KORPIMÄKI E., 1986: Reversed size dimorphism in birds of prey, especially in Tengmalm's owl (*Aegolius funereus*): a test of the "starvation hypothesis". *Ornis Scand* 17: 326–332.
- KORPIMÄKI E., 1987a: Timing of breeding of Tengmalm's owl *Aegolius funereus* in relation to vole dynamics in western Finland. *Ibis* 129:58–68.
- KORPIMÄKI E., 1987b: Clutch size, breeding success and brood size experiments in Tengmalm's Owl *Aegolius funereus*: a test of hypotheses. *Ornis Scand* 18:277–284
- KORPIMÄKI E., 1988: Costs of reproduction and success of manipulation broods under varying food conditions in Tengmalm's owl. *Journal of Animal Ecology*. 57: 1027–1039.
- KORPIMÄKI E., LAGERSTRÖM M., 1988: Survival and natal dispersal of fledglings of Tengmalm's owl in relation to fluctuating food conditions and hatching date. *Journal of Animal Ecology* 57: 433–441.
- KORPIMÄKI E. 1989: Mating system and mate choice of Tengmalm's Owls *Aegolius funereus*. *Ibis* 131: 41–50.
- KORPIMÄKI E. 1992: Fluctuating food abundance determines the lifetime reproductive success of male Tengmalm's owls. *Journal Animal Ecology* 61: 103–111.
- KORPIMÄKI E., MARTI C. D., 1995: Geographical trends in trophic characteristic of mammal-eating and bird-eating raptor in Europe and North America. *The Auk* 112: 1004–1023.
- KORPIMÄKI E., OKSANEN L., OKSANEN T., KLEMOTA T., NORRDAHL K., BANKS P. B., 2005: Vole cycles and predation in temperate and boreal zones of Europe. *Journal Animal Ecology* 74: 1150–1159.

- KORPIMÄKI E., HAKKARAINEN H. 2012: The boreal owl: ecology, behaviour and conservation of a forest-dwelling predator. Cambridge University Press, New York, 359 s.
- KOUBA M., ŠŤASTNÝ K., 2012: Home ranges of Tengmalm's Owl *Aegolius funereus* fledglings during post-fledging dependence period in polluted areas of the Krušné hory Mts. *Sylvia* 48: 115–125.
- MAHLEROVÁ K., 2015: Vliv pohlaví mláďat sýce rousného na jejich růst v období pobytu na hnízdě, „nepublikováno“. Bakalářská práce FŽP ČZU v Praze: „Dep.: Česká Zemědělská Univerzita“.
- MAREŠOVÁ J., 2015: Hnízdní biologie sýce rousného (*Aegolius funereus*) v Krušných horách: souhrnné zhodnocení údajů z období 1999-2012, „nepublikováno“. Bakalářská práce FŽP ČZU v Praze: „Dep.: Česká Zemědělská Univerzita“.
- MCGUILL M. W., ROWAN A. N., 1989: Biological effects of blood loss: implications for sampling volumes and techniques. *ILAR Journal* 31: 5–18.
- MICHAUD T., LEONARD M., 2000: The role of development, parental behavior, and nestmate competition in fledging of nestling Tree Swallows. *The Auk*; 117: 996–1002.
- MIKKOLA H., 1983: Owls of Europe. T. & A.D. Vermillion, SD USA: Buteo Books, 397 s.
- NEWTON I., 1979: Population ecology of raptors. Poyser, London
- NILSSON J. Å., SVENSSON M., 1993: Fledging in altricial birds: parental manipulation or sibling competition. *Animal Behaviour* 46(2): 379–386.
- OWEN J. C., 2011: Collecting, processing, and storing avian blood: a review. *Journal of Field Ornithology* 82(4): 339-354. DOI: 10.1111/j.1557-9263.2011.00338.x.
- SCHWERDTFEGGER O., WINK M., 2013: Lack of correlation between sex ratio and food supply or other biotic variables in nestlings of Tengmalm's Owl *Aegolius funereus*. *Journal of Ornithology* 155(2), 497-505.

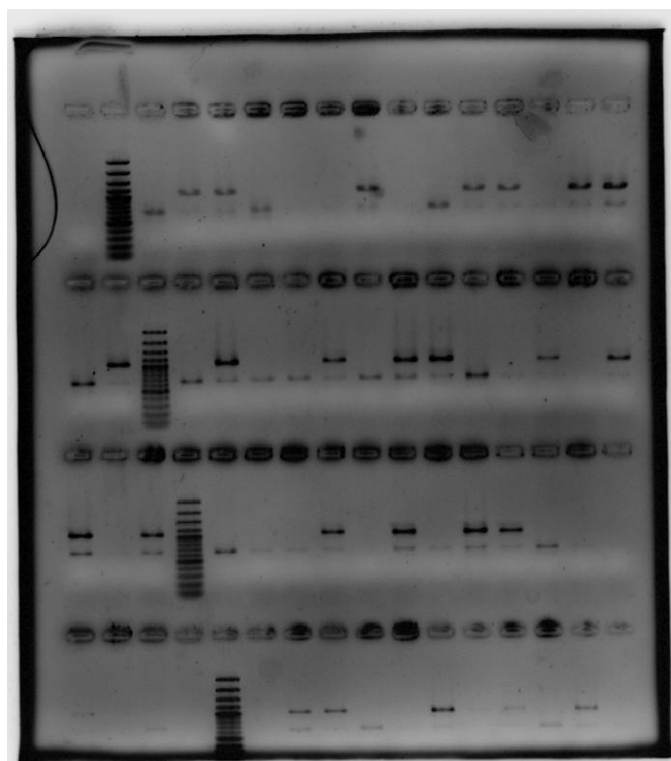
- ŠŤASTNÝ K., BEJČEK V., ZÁRYBNICKÁ M., 2010: Využití predátorů v biologickém boji s drobnými hlodavci ve vyhlášených ptačích oblastech na Krušných horách (závěrečná zpráva 2007-2009). Lesy České republiky, Hradec Králové, 76 s.
- THOMSON R. L., GRIESSER M., LAAKSONEN T., KORPIMÄKI E., 2014: Brood size manipulations in a spatially and temporally varying environment: male Tengmalm's Owls pass increased reproductive costs to offspring. *Oecologia* 176:423–430.
- TRIVERS R. L., WILLARD D. E., 1973: Natural selection of parental ability to vary sex ratio of offspring. *Science* 179: 90–92.
- TRIVERS R. L., 1985: Social evolution. Menlo Park, CA: Benjamin/Cummings, 462 s.
- TRUETT G. E., HEEGER P., MYNATT R. L. [eds], 2000: Preparation of PCR-quality mouse genomic DNA with hot sodium hydroxide and tris (HotSHOT). *BioTechniques* 29:52-54.
- VALKAMA J., KORPIMÄKI E., HOLM A., HAKKARAINEN H., 2002: Hatching asynchrony and brood reduction in Tengmalm's owl (*Aegolius funereus*): the role of temporal and spatial variation in food abundance. *Oecologia* 133: 334–341.
- ZÁRYBNICKÁ M., 2009: Parental investment of female Tengmalm's Owls *Aegolius funereus*: correlation with varying food abundance and reproductive success. *Acta Ornithol.* 44: 81–88. DOI 10.3161/000164509X464911
- ZÁRYBNICKÁ M., KORPIMÄKI E., GRIESSER M., 2012: Dark or short nights: Differential latitudinal constraints in nestling provisioning patterns of a nocturnally hunting bird species. *PLoS ONE* 7(5): e36932. DOI:10.1371/journal.pone.0036932.
- ZÁRYBNICKÁ M., VOJAR J., 2013 : Effect of male provisioning on parental behavior of female Boreal Owls *Aegolius funereus*. *Zoological studies* 52: 36. DOI: 10.1186/1810-522X-52-36.
- ZÁRYBNICKÁ M., RIEGERT J., ŠŤASTNÝ K., 2013: The role of Apodemus mice and Microtus voles in the diet of the Tengmalm s owl in Central Europe. *Population Ecology* 55(2): 353-361.

ZÁRYBNICKÁ, M., SEDLÁČEK, O., SALO, P., ŠTASTNÝ, K., KORPIMÄKI, E., 2015a: Reproductive responses of temperate and boreal Tengmalm's Owl *Aegolius funereus* populations to spatial and temporal variation in prey availability. *Ibis*, 157: 369-383.

ZÁRYBNICKÁ M., RIEGERT J., BREJŠKOVÁ L., ŠINDELÁŘ J., KOUBA M., HANEL J., ET AL., 2015b: Factors Affecting Growth of Tengmalm's Owl *Aegolius funereus* Nestlings: Prey Abundance Sex and Hatching Order. *PLoS ONE* 10(10): e0138177. DOI: 10.1371/journal.pone.0138177

## 8 Přílohy

**Příloha 1:** Výsledný elektrogram – sezóna 2016



Autor foto: Veronika Sítková

**Příloha 2:** Odběr krve z brachiální žily.



Autor foto: Markéta Zárybnická



**Příloha 3:** Mláďe sýce rousného (*Aegolius funereus*)



Autor foto: Markéta Zářbynická

**Příloha 4:** Termocykler



Autor foto: Karolína Mahlerová