

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ
KATEDRA EKOLOGIE

Přesnost při určení stadia inkubace vajec čejek chocholatých (*Vanellus vanellus*) a kulíků říčních (*Charadrius dubius*) pomocí flotační metody
Accuracy in usage floatation method to determine incubation stadium of eggs in the Northern Lapwing (*Vanellus vanellus*) and the Little Ringed Plover (*Charadrius dubius*)

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vedoucí práce: Mgr. Martin Sládeček

Autor: Eva Bursíková

2019

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením Mgr. Martina Sládečka. Uvedla jsem všechny literární prameny a publikace, ze kterých jsem čerpala.

Prohlašuji, že tištěná verze se shoduje s verzí odevzdanou přes Univerzitní informační systém.

V Praze 25.4.2019

PODĚKOVÁNÍ

Mé obrovské díky patří Mgr. Martinu Sládečkovi za cenné rady, připomínky a za trpělivost při práci se mnou. Děkuji za čas, který mi věnoval při zpracování této práce. Dále bych chtěla poděkovat celému „čejčímu týmu“. V neposlední řadě mé díky patří mé rodině a partnerovi za podporu.

V Praze 25.4.2019

ABSTRAKT

Určování inkubačního stadia vajec je důležitou součástí řady výzkumů ptáků. Problematice určování inkubačního stadia vajec a tím spojených destruktivních či nedestruktivních metod se věnuje spousta prací. Byli vyvinuty metody pro vizuální odhad inkubačního stadia i metody zahrnující přesná měření.

Tato práce zkoumá přesnost jedné z nedestruktivních metod a tou je metoda flotační. Zkoumanými druhy byla čejka chocholatá (*Vanellus vanellus*) a kulík říční (*Charadrius dubius*), oba druhy se řadí mezi bahňáky.

Studovaná vejce obou druhů vykazovala kolísavé hodnoty dat v průběhu celého svého vývoje. Hodnoty flotačních úhlů i flotační výšky vykazovaly ze dne na den obrovskou variabilitu. Vejce čejky se dostalo nad hladinu v polovině inkubační doby, vejce kulíka bylo nad hladinou již před polovinou inkubační doby. Přesnější odhad inkubačního stadia je pro oba druhy v rané fázi inkubace. Použité modely vysvětlily příliš malé procento variability a jsou v porovnání s ostatními studiemi značně nepřesné.

KLÍČOVÁ SLOVA

Inkubace, hnízdní ekologie, flotační metoda, bahňáci

ABSTRACT

Determining the incubation stage of eggs is an important part of a number of bird researches. A lot of work is devoted to the problem of determining the incubation stage of eggs and destructive or non-destructive methods. Methods have been developed for visual estimation of the incubation stage and the methods with accurate measurements.

This study focuses the accuracy of one of the non-destructive methods, the floatation method. Two species of waders were studied - Northern Lapwing (*Vanellus vanellus*) and Little Ringed Plover (*Charadrius dubius*).

The eggs of both species showed fluctuating data throughout their development. The values of egg angle and float height showed high variability from day to another day. The Northern Lapwing eggs have reached the water level in the middle of the incubation period. The Little Ringed Plover eggs have reached the water level a few days before the half of the incubation period. A more accurate estimation of the incubation stage is for both species in the early incubation. The models have explained too small a percentage of variability. Other studies are more accurate.

KEY WORDS

Incubation, nest ecology, floatation method, wader breeding

OBSAH

1. ÚVOD	7
1.1. Přínos znalosti stáří vajec	7
1.2. Destruktivní metody pro určení inkubačního stadia.....	7
1.3. Nedestruktivní metody pro určení inkubačního stadia.....	8
1.4. Vývojové procesy ve vejci	9
1.5. Princip flotační metody	10
1.5.1. Měřicí nádoba a její použití	11
1.5.2. Inkubační den.....	13
1.5.3. Odhad inkubačního stadia.....	13
1.5.4. Datum vylíhnutí	14
1.6. Flotační metoda – výzkum bahňáků.....	14
1.7. Flotační metody – výzkum mimo druhy bahňáků.....	19
1.8. Doporučení	20
1.9. Vliv flotační metody na schopnost líhnutí	21
1.10. Cíle	22
2. METODIKA	22
3. VÝSLEDKY	23
3.1. Výsledky – čejka chocholátá.....	23
3.2. Výsledky – kulík říční	25
4. DISKUZE.....	26
5. LITERATURA A POUŽITÉ ZDROJE	28
6. SEZNAM OBRÁZKŮ	31
7. SEZNAM TABULEK.....	31

1. ÚVOD

1.1. Přínos znalosti stáří vajec

Určování inkubačního stadia vajec je významnou součástí výzkumu ptáků. V terénních studiích, kde se nalezne hnízdo, je důležité určit stáří hnízda a zjistit tak, zda jde o hnízdo aktivní, opuštěné či predované (Liebezeit a kol. 2007). Úspěšné hnízdo je ukazatel reprodukční míry u mnoha druhů ptáků. Za úspěšné hnízdo se považuje hnízdo, které přežije od počátku do konce a má minimálně jednoho potomka, který opustí hnízdo. Díky znalosti stáří vejce lze omezit návštěvy hnízd na minimum a je zde větší šance, že se zabrání selhání vylíhnutí vajec. Selhání vylíhnutí vajec může být z důvodu predace, environmentálně vyvolaného stresu nebo špatným stavem inkubujících rodičů, což může vést k opuštění hnízda. Všechny tyto důvody jsou posíleny návštěvami výzkumníků. Pokud výzkumník zná stáří vejce, omezí počet návštěv na nutné minimum, odhadne datum líhnutí a návštěvu omezí na dny kolem data líhnutí. Určování inkubačního stadia vajec slouží také pro odhad míry přežití hnízda. (Dinsmore a kol. 2002, Shaffer 2004). Znalost těchto dat je mimo jiné důležitá při managementu k zabránění ublížení hnízdících ptáků a pro určení fenologie hnízdění na realizaci programů pro správu stanovišť. V neposlední řadě tato data slouží pro vybrání optimální doby k zachycení inkubujících dospělých (Brua a Machin 2000).

1.2. Destruktivní metody pro určení inkubačního stadia

Existuje několik metod pro určení inkubačního stadia vajec. Nejpřesnější, avšak destruktivní metodou je otevření vejce. Výzkumník vejce otevře a pokud chce s embryem dále pracovat vloží se embryo do nádoby s formaldehydem. V každé fázi vývoje má embryo specifické znaky a dle těchto znaků lze určit stáří embrya. Tato metoda je však naprosto nevhodná pro vzácné a vymírající druhy nebo pro výzkumníka, který chce zjistit například úspěšnost líhnutí (Liebezeit a kol. 2007). Přesnost metody prezentovali Hays a LeCroy při výzkumu rybáka obecného (*Sterna hirundo*) (Hays a LeCroy 1971).

1.3. Nedestruktivní metody pro určení inkubačního stadia

Výzkumníky je ve většině případech využíváno nedestruktivních metod. Nedestruktivními metodami jsou například prosvěcování vajec, vážení vajec nebo flotační metoda. Prosvěcování vajec je založeno na vizuálním určení stáří embrya, kdy se vaječná skořápka prosvítí. Tato metoda má však určité omezení. Je vhodná pro vejce, která jsou světlá, bez skvrn a s tenkou skořápkou (Westerskov 1950, Hanson 1954, Weller 1956, Lokemoen a Koford 1996). Reiter a Andersen porovnávali přesnost flotační metody s prosvěcováním vajec u bernešky velké (*Branta canadensis*). Došli k závěru, že i když jsou data flotační metody přesnější, jsou obě metody vhodné a srovnatelné (Reiter a Andersen 2008).

Metoda vážení vajec je závislá také na hmotnosti jako u flotace, ale záleží i na měření velikosti vejce. Vejce mají tendenci lineárně ztrácet hmotnost. Tímto se zjistí relativní úbytek hmotnosti v průběhu času. Tato metoda ovšem není příliš vhodná pro podmínky v terénu. Práce s vejci v terénu vyžaduje opatrné přenášení a citlivé zacházení, protože je zde vyšší riziko rozbití vajec. V porovnání s ranou fází inkubace je tato metoda méně přesná v pozdních fázích inkubace (Westerskov 1950, O'Malley a Evans 1980).

Flotace využívá ztráty hmotnosti vajec během vývoje, sleduje se poloha vejce ve vodě a je jednou z nejpoužívanějších metod (Ackerman a Eagles-Smith 2010). V průběhu vývoje rychle ztrácí hmotnost, tato ztráta je zapříčiněna náhradou vzduchu za část vody, která uniká. Po snesení vejce se obsah vejce zmenší a membrány se oddělí a tím vznikne na tupém konci vejce vzduchová komůrka, která zvětšuje svůj objem s vývojem embrya. Během prvních pár dnů je embryo malé, lehké a plove na vaječném žloutku. Bílek, který zpočátku obklopuje žloutek, rychle ztratí vodu, stává se hustým a těžkým. Bílek se postupně usadí směrem ke špičatému pólu vejce a postupem času zmizí. Žloutek během vývoje také ubírá na velikosti (Prout 1822). Co ovšem ovlivňuje a komplikuje odhad stáří embrya jsou různé environmentální či biotické podmínky. Mezi ně se řadí vliv stanoviště, teplota prostředí a její změny, vliv ostatních organismů nebo také chování inkubujících rodičů (Nol a Blokpoel 1983).

1.4. Vývojové procesy ve vejci

Ptačí vejce vyžadují externí teplo, aby došlo k optimálnímu a kompletnímu vývoji embrya. Toto externí teplo je zajišťováno metabolickými výdaji rodičů. Dalšími požadavky pro vývoj embrya je otáčení vajec, kterým se zabraňuje přilnutí embrya k membránám vaječné skořápky a vlhkost vzduchu (Drent 1970, Ar a Rahn 1979). Vejce je soběstačný systém, co se týče živin nutných pro vývoj embrya. Čerstvě snesené vejce obsahuje všechny důležité živiny, energetické zdroje a vodu (Ar a Rahn 1979).

Princip dýchání vajec je založen na jednoduché difúzi. Embryo si bere kyslík a vypouští oxid uhličitý. Difúze probíhá přes mikroskopické póry ve skořápce a je řízeně regulována geometrií a délkou pórů. Tato geometrie se liší mezi různými druhy ptáků. Nižší koncentrace kyslíku uvnitř vejce přivádí nový kyslík z vnějšího prostředí, kde je koncentrace kyslíku vyšší. Naopak koncentrace oxidu uhličitého je vyšší ve vejci a molekuly tohoto plynu difundují ven (Ar a Rahn 1979). U různých druhů s různými velikostmi vajec jsou rychlosti odpařování podobné (Nol a Blokpoel 1983).

Výměna CO_2 a O_2 ve vejci a struktura pórů jsou přizpůsobeny hmotnosti vejce i délce inkubační doby. Hmotnostně specifický metabolismus je úměrný rychlosti embryonálního vývoje. Hmotnostně specifická vodivost skořápky je úměrná vývoji embrya a tím i podobně se vyvíjejícím se napětí CO_2 a O_2 (Rahn a Ar 1980). Stejný princip je u hmotnostně specifického počtu pórů, protože počet pórů je úměrný vodivosti (Ar a Rahn 1979).

V obecném měřítku lze říct, že míra úbytku hmotnosti koreluje s vývojovým stádiem embrya, přičemž úbytek hmotnosti se s vývojovým stádiem zrychluje (Liebezeit a kol. 2007).

Na vejcích lze kolem data líhnutí pozorovat znaky „opotřebení“ a trhlinu ve skořápce. Opotřebení je prezentováno hmotnostně specifickou mírou metabolismu, čím je vejce menší, tím je metabolismus rychlejší a tím rychleji se objeví díra ve skořápce, která značí blížící se konec inkubace (Rahn a Ar 1980).

1.5. Princip flotační metody

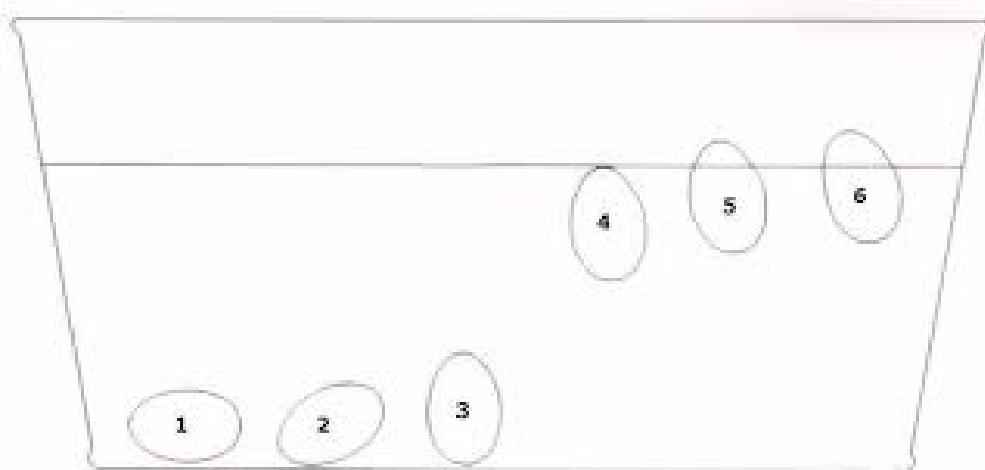
Flotační metoda je založena na principu změny specifické hmotnosti vejce. Vyvíjející se embryo ztrácí konstantní rychlostí hmotnost (Ar a Rahn 1980). Pravděpodobně první, kdo tuto skutečnost doložil, byl Prout ve svých experimentech ohledně změn ve vejci během inkubace z roku 1822. Tyto experimenty prováděl na domácí drůbeži (Prout 1822).

Dle Ricklefse a Smeraskiho (1983) flotace závisí na vnitřních a vnějších faktorech, které jsou spojené s vývojem embrya. Mezi vnitřní faktory patří velikost vejce, rychlost metabolismu a velikost žloutku. Vnější faktory jsou faktory ovlivňující teplotu vajec. Dále je mezi ně řazeno inkubační úsilí rodičů a mikroklima v hnízdě (Ricklefs a Smeraski 1983).

Drent (1970) uvádí, že ztráta hmotnosti je způsobena především ztrátou vody (Drent 1970). Ke ztrátě hmotnosti dále dochází vlivem dýchání, úbytkem vlhkosti a přítomná vzduchová komůrka ve vejci se zvětšuje (Westerskov 1950, Ar a Rahn 1980). Ar a Rahn (1980) popisují, že ztráta hmotnosti ve vejci je způsobena ztrátou vody difuzí. Porovnávali počáteční hmotnost vejce a hmotnost vejce po 18 dnech inkubace. Pokud má obsah vody ve vejci být relativně stejný jako na začátku, je ztráta vody během inkubace nezbytná. Během rané fáze inkubace je ztráta vody větší než její produkce a koncentrace vody tak klesá. V polovině inkubace se tento trend začne měnit a množství vody začne růst během exponenciální fáze embryonálního růstu. Vejce je v této fázi dokonce hyperhydratované. V další fázi se množství vody opět snižuje, ale po „naťuknutí“ skořápky se metabolismus a produkce vody zrychlí a upraví celkové množství vody na počáteční úroveň. Konečná koncentrace vody je důležitá pro optimální úspěšné vylíhnutí. Tento proces způsobuje změnu hustoty ve vejci (Ar a Rahn 1980).

Při vývoji embrya se hustota ve vejci změní z větší hodnoty na hodnotu menší, než má hustota čisté vody (tj. 1 g/ml) (Ackerman a Eagles-Smith 2010). Tento jev lze vidět při ponoření vejce do vody. Čerstvě nakladené vejce s nevyvinutým embryem klesá ke dnu a jeho dlouhá osa je se dnem rovnoběžná. V průběhu času, kdy embryo roste a vzduchová komůrka se zvětšuje lze pozorovat, jak postupně stoupá nahoru až do fáze, kdy špička vejce prorazí hladinu vody (Ackerman a Eagles-Smith 2010).

Princip flotační metody je založen na poloze vejce ve vodním sloupci. Každá poloha vejce představuje určitou vývojovou fázi embrya. Měří se úhel mezi horizontální rovinou a podélnou osou vejce, poloha vejce ve vodním sloupci a pokud vejce proráží hladinu, tak výška části vejce, které je nad hladinou (Liebezeit a kol. 2007). Obecně můžeme fáze vývoje vajec rozdělit do 5-6 kategorií dle jejich polohy, kterou zaujímají ve vodním sloupci (Obrázek 1).



Obrázek 1 Flotační kategorie (Baker L., 2009)

1.5.1. Měřicí nádoba a její použití

Pro flotační testy vyvinul Van Päässen jednoduché zařízení zvané „inkubometr“. Jedná se o plastovou nádobu. Rozměry nádoby lze upravovat dle druhu a velikosti vejce. Do nádoby se napustí voda a vloží se opatrně vejce. K eliminaci rozbití vejce je dno pokryto tenkou vrstvou pryže. Toto zařízení vyvinul Van Päässen za účelem jednoduchého sledování přímo v terénu a také ke standardizaci metody (Van Päässen a kol. 1984). Veldman pomocí inkubometru sledoval inkubační fáze čejky chocholaté (*Vanellus vanellus*) a břehouše černoocasého (*Limosa limosa*) (Veldman 1982). Vejce si označil a každý den byla podrobena flotačním testům. Použití inkubometru je výhodné pro porovnání mezi různými pozorovateli. U každého nového druhu se musí nejprve vytvořit kalibrační křivka (Van Päässen a kol. 1984).

Obecný postup dle Van Päässen a kol. (1984):

- 1) Fáze potopení
 - a) Úhel mezi podélnou osou vejce a horizontální rovinou
 - b) Přírůstek výšky, o kterou se tupý konec vejce zvedl

- 2) Fáze plování
 - a) Úhel mezi podélnou osou vejce a horizontální rovinou
 - b) Procento objemu vejce, které je viditelné nad hladinou
 - c) Výška části vejce, která je viditelná nad hladinou

Van Päässen (1984) popsal šest etap, které pomáhají při určení odhadu datumu vylíhnutí. Přesnost tohoto odhadu je do dvou dnů. V první polovině inkubační doby vejce neplavou a dle Van Päässena (1984) lze provádět pouze vizuální kontrolu bez přesného měření úhlu. V druhé polovině inkubační doby se chování vejce ve vodě rychle mění a vyžaduje se měření úhlu, který zaujímá vejce se dnem nádoby a v pozdních fázích inkubace i měření výšky vejce nad hladinou (Van Päässen a kol. 1984). Těchto šest etap je pro základní orientaci popsáno pro čejku chocholatou v tabulce č.1 (Van Päässen 1981).

stádium	Popis	Počet dní inkubace
1	Vejce leží horizontálně	0 až 2
2	Tupý konce vejce je zřetelně zvednutý	2 až 4
3	Vejce zaujímá svislou polohu, ale je stále ponořené	4 až 7
4	Vejce začíná plovat, ale není vynořené na hladině	8
5	Vejce rychle stoupá k hladině, vynoření je malé	9 až 11
6	Vejce je vynořené velkou částí	11 až 26

Tabulka 1 Inkubační stadia vajec čejky chocholaté (Van Päässen, 1981)

1.5.2. Inkubační den

Flotační metoda je jedna z nevyužívanějších metod, avšak je jen málo výzkumů, které hodnotí přesnost stanovení stáří embrya podle inkubačního stupně. Většina studií předpokládá, že inkubace začíná dnem, kdy byla dokončena snůška, respektive sneseno poslední vejce (Nol a Blokpoel 1983, Sandercock 1998, Mabee a kol. 2006, Liebezeit a kol. 2007, Rizzolo a Schmutz 2007). Další studie se spoléhají na průměrnou dobu inkubace a zpětný výpočet od data vylíhnutí (Sandercock 1998, Walter a Rusch 1997, Mabee a kol. 2006, Liebezeit a kol., 2007). Tyto data však mohou způsobit nepřesnosti při hodnocení přesnosti flotační metody. Důvod je ten, že ptáci poměrně často začínají inkubovat již před posledním položeným vejcem (Loos a Rohwer 2004). Flotační metoda reálně měří vývojový věk embrya. Neměří tedy studii využívající kalendářní věk (Westerskov 1950, Ar a Rahn 1980).

1.5.3. Odhad inkubačního stadia

Při monitorování hnízd mohou nastat dva jevy a dle toho se odhadují inkubační dny. U hnízd během snůšky vajec se porovnává odhad věku pomocí flotační metody s počtem inkubačních dnů od doby, kdy je snůška dokončena. Druhým jevem jsou hnízda, která se našla mimo kladení vajec a u těchto hnízd se porovnává předpokládané datum vylíhnutí na základě flotační metody při první návštěvě hnízda se skutečným datem vylíhnutí pozorovaných během dalších návštěv hnízd (Ackerman a Eagles-Smith 2010).

Stanovení datumu dokončení snůšky lze každodenní návštěvou hnízda až do doby, kdy je snůška dokončena. Lze také vycházet z předpokladu, že každý den samice nakladla jedno vejce do velikosti snůšky, která je charakteristická pro ten daný druh a inkubace začala od posledního dne dokončení snůšky (McNicholl a kol. 2001). U čejek chocholatých a kulíků říčních se jedná o snůšku se 4 vejci (Liebezeit a kol. 2007).

U hnízd, kde jsou vejce ve stadiu líhnutí se inkubační stáří určí zpětným odhadem z průměrné inkubační doby pro daný druh (Poole a kol. 2003). Pro kulíky se počítá se třemi dny od popraskání vejce do data vylíhnutí a jeden den od proklovnutí do data vylíhnutí (Poole a kol. 2003).

Podle dostupné literatury lze také k odhadnutí inkubačního dne brát v potaz, že se vejce nachází v jednom ze šesti inkubačních stádií, které jsou známa z flotační metody (Westerskov 1950, Walter a Rusch 1997). Pro ptáky s 28denní inkubací se inkubační den odhaduje dle následující rovnice (Walter a Rusch 1997):

Inkubační den = průměr stadia vajec z jedné snůšky *4,67 – 2,33

Tato rovnice vychází z toho, že každé stádium ve flotační metodě představuje jednu šestinu, tj. 4,67 dní z 28 inkubačních dní. Není ovšem reálné znát přesný inkubační den v daném stádiu, a proto bylo odečteno 2,33 dní jako odhad, že je vejce v polovině svého aktuálního stadia. Tato rovnice je ovšem nedostatečně přesná (Walter a Rusch 1997).

1.5.4. Datum vylíhnutí

Za skutečné datum vylíhnutí se považuje den, kdy bylo vylíhnuto první kuře. První metoda odhadu možného datumu vylíhnutí je jeden den poté, co jsou pozorována v hnízdě vejce se čtyřmi hvězdicovitými prasklinami nebo vejce rovnou proklovnuté (Ackerman a Eagles-Smith 2010). Další odhad data vylíhnutí jsou dva dny od chvíle, od které jsou na vejcích zřetelné dvě nebo tři hvězdicovité praskliny (McNicholl a kol. 2001). Poole a kol. (2003) popisuje úspěšné hnízdo dle výskytu úlomků skořápek do 24-72 hodin po nálezů v hnízdě (Poole a kol. 2003).

1.6. Flotační metoda – výzkum bahňáků

U bahňáků byla do roku 2006 popsána flotační metoda u malého množství druhů (van Päässen a kol. 1984, Sandercock 1998, Mabee a kol. 2006). Stále je potřeba více výzkumů pro další druhy bahňáků, aby se zjistilo, jak vysoká je účinnost a přesnost flotační metody. Málo vědců také publikovalo „flotační klíče“ pro jednotlivé druhy bahňáků (Van Päässen a kol. 1984, Sandercock 1998, Dinsmore a kol. 2002).

Visser a kol. (1995) se zabývali výměnou plynů a metabolismem vajec u 5 druhů bahňáků. Mezi zkoumanými druhy byl jespák bojovný (*Philomachus pugnax*), vodouš rudonohý (*Tringa totanus*), čejka chocholátá, břehouš černoocasý a koliha velká (*Numenius arquata*). Shromáždili data o metabolismu vody, metabolismu embrya,

hmotnosti vejce a hmotnosti kuřete, spotřebě kyslíku a produkci oxidu uhličitého. Jen u čejky a břehouše bylo 10 % variability vodivosti skořápky přičítáno hmotnosti vejce a 77 % rozdílu mezi snůškami, což naznačuje silnou mateřskou složku (Visser a kol. 1995).

Liebezeit a kol. se v roce 2007 zasadili o rozšíření výzkumu flotační metody pro bahňáky. Byla vyvinuta standardizovaná metoda, která předpovídá datum vylíhnutí z úhlu vejce a výšky vejce nad hladinou. Popsal data flotační metody u 24 druhů bahňáků na severní polokouli a vytvořil obecnou regresní rovnici použitelnou pro všechny druhy bahňáků. Ve většině případů byly odhady dat vylíhnutí do čtyř dní od skutečného data vylíhnutí. Jejich cílem bylo vyvinout regresní rovnici pro různé druhy bahňáků, porovnat vývoj embryí u druhů s různou taxonomií, inkubační délkou a způsobem rodičovské péče, určit chybu a minimalizovat ji. Z každé snůšky flotovali minimálně dvě vejce. Vejce flotovali v průhledné nádobě naplněnou vlažnou vodou a flotace byla prováděna několikrát po celou dobu inkubace. Pozorovatelé používali úhломěr a průhledné plastové pravítko k měření stupňů (přesnost 5°) a výšky vejce nad hladinou (přesnost 1 mm). Data pro predikci data líhnutí vycházela z kontinuálních dat časně a pozdní inkubace a kategorických dat. Pro vejce nalezené v časně fázi inkubace u 21 druhů použili lineární regresní analýzu. Pro vejce v pozdní fázi inkubace byla použita vícenásobná regresní analýza, protože se v pozdních fázích uplatňuje i výška vejce nad hladinou. U tří druhů bahňáků byl datum odhadnut dle kategorie flotace, tato data byla dle předpokladu méně přesná než kontinuálních data (Liebezeit a kol. 2007).

Data byla použita z hnízd, kde byl známý termín dokončení snůšky nebo termín líhnutí. U hnízd se známým termínem dokončení snůšky odhadli dny do vylíhnutí s použitím doby trvání inkubace uvedené v literatuře (Poole a kol. 2003). U hnízd se známým termínem vylíhnutí odhadli stáří embrya dle flotace a zpětným výpočtem od data vylíhnutí. Vyvinuli druhově specifické rovnice pro předpověď vývoje embryí a tím předpověděli den líhnutí (Liebezeit a kol. 2007).

Analýza kontinuálních dat probíhala odděleně pro ranou (vejce je potopené) a pozdní inkubaci (vejce plove). Použita byla lineární regrese s logit transformovanými úhly pro předpověď počtu dnů do vylíhnutí, kterou ve svém výzkumu použil McNew a kol. při studiu tetřívka prériového (*Tympanuchus cupido*) (McNew a kol. 2009).

Transformace úhlu na proporcionální úhel popisuje následující rovnice (McNew a kol. 2009):

$$P = \text{úhel}/90$$

Proporcionální úhly byly transformovány pomocí následujícího vzorce (Liebezeit a kol. 2007):

$$\text{logit } P = \ln [P / 1-P]$$

Liebezeit a kol. (2007) ve své práci uvádí obecnou regresní rovnici s přehledem koeficientů (a , b , c) pro výpočet stáří embrya. Koeficient c není definován a pro obecnou rovnici se tedy nepoužívá. Obecná regresní rovnice tedy nezohledňuje v pozdní inkubaci flotační úhel. Stáří embrya se měří jako „dny do vylíhnutí“, jinak řečeno jako podíl inkubační doby (Liebezeit a kol. 2007).

Pro výpočet odhadu stáří se data musí rozdělit na dvě skupiny. V první skupině jsou vejce, která jsou při flotaci potopená (raná inkubace). V druhé skupině jsou vejce, které při flotaci plovou (pozdní inkubace).

Pro ranou inkubaci se používá následující rovnice (Liebezeit a kol. 2007):

$$\text{stáří embrya} = a + b * \text{logit } P$$

Pro pozdní inkubaci se používá rovnice (Liebezeit a kol. 2007):

$$\text{stáří embrya} = a + b * \text{výška vejce nad hladinou v mm} + c * \text{flotační úhel vejce ve } ^\circ$$

Pro ranou inkubaci byla hodnota koeficientů $a = 0,21$ a $b = 0,05$. Pro pozdní inkubaci byla hodnota koeficientů $a = 0,79$, $b = 0,07$ a $c = 0$. Proporcionální úhel nabýval hodnot od 0 do 1. U vypočteného stáří vejce hodnota 0 znamenala první den inkubace a hodnota 1 znamenala den líhnutí (Liebezeit a kol. 2007).

U kategorických dat byly flotační údaje shromažďovány do pěti kategorií. Kategorie graficky propojili se stářím embrya a vytvořili průměrný věk pro každou kategorii (Liebezeit a kol. 2007).

Mabee a kol. (2006) zkoumali 11 druhů bahňáků na Aljašce v souvislosti s osudy hnízd. Mezi zkoumanými druhy byl kulík hnědokřídlý (*Pluvialis dominica*) a kulík bledý (*Pluvialis squatarola*). Uvedli také flotační klíč pro 9 druhů bahňáků pro usnadnění odhadu věku hnízda, tento klíč lze použít i na jiné druhy bahňáků. Flotace byla prováděna po 3 až 5 dnech. Měřil se úhel mezi středovou osou vejce a dnem flotační nádoby a odhadl se procentuální objem vejce nad povrchem vody. Při každé návštěvě hnízda se vzal průměrný flotační úhel a průměrný procentuální objem nad povrchem vody. Tyto střední hodnoty se zaznamenaly do flotačního klíče. Do flotačního klíče se počítala jen vejce v počáteční inkubační fázi, hnízda s téměř vylíhnutými kuřaty nebo hnízda s vylíhnutými kuřaty. Vejce všech zkoumaných druhů bahňáků procházely podobnými flotačními stádii. V časně inkubaci zaujímaly nízký úhel, během raného až středního období zaujímaly větší úhel a během pozdní inkubace vejce nad hladinou vyčnívaly a úhel se opět snižoval (Mabee a kol. 2006). V tomto výzkumu se potvrdilo, že nejlepší odhady věku jsou během časně fáze inkubace, protože v této fázi dochází k rychlým změnám v poloze vejce (Van Päässen a kol. 1984, Sandercock 1998, Dinsmore a kol. 2002, Mabee a kol. 2006).

Ackerman a Eagles-Smith (2010) hodnotili flotaci pro odhad data vylíhnutí, dne inkubace a vývojového stáří embrya u tří druhů bahňáků, a to tenkozobce amerického (*Recurvirostra americana*), pisily americké (*Himantopus mexicanus*) a rybáka forsterovo (*Sterna forsteri*). Hnízda byla navštěvována každých 6 až 8 dnů. Při každé návštěvě bylo každé vejce ze snůšky flotováno a voda byla pravidelně vyměňována, aby nedošlo ke změně hustoty vody a viditelnost byla stejná. Pozorovatelé nejprve odhadli úhel a výšku vejce nad hladinou a až poté se podívali na měření z předešlých měření, aby pozorovatelé nebyli ovlivněni přechozím měřením. Shromažďována byla vejce jak z aktivních hnízd, tak i z opuštěných. Aktivní hnízda byla rozlišována na základě následujících znaků – přítomnost rodičů u hnízda, rovnoměrně teplá vejce nebo vejce od poslední návštěvy pokročily v inkubaci a hnízda byla udržována. Pokud se ani jedna tato podmínka nevyskytovala během dvou týdnů, bylo hnízdo považováno za opuštěné. Shromážděná vejce byla otevřena pomocí nůžek a embryo bylo následně zkoumáno. Pro stanovení věkové kategorie byly také použity fotografické příručky embryí.

Přesnost předpokládaného data vylíhnutí se pohybovala od 2,3 do 1,7 dnů, u dne inkubace se pohybovala mezi 1,3 až 1,6 dnů a přesnost odhadu stáří embrya se

pohybovala od 1,9 do 1,6 dnů. Přesnost flotace se během inkubace měnila, nejpřesnější byla mezi 0. až 3. dnem a mezi 9. až 12. dnem. Flotace vajec byla nepřesná u opuštěných hnízd, pohybovala se mezi 7,5 až 6 dny. Předpovědi dat líhnutí byly obecně do tří dnů, stejně jako u jiných studií (van Päässen a kol., 1984, Walter a Rusch 1997, Sandercock 1998, Liebezeit a kol., 2007). Pro analýzu dat použili průměrný věk snůšky zjištěný dle flotace (Ackerman a Eagles-Smith 2010).

Van Päässen a kol. (1984) pro své vlastní použití vyvinuli metody vizuální kontroly bez měření pro výzkum hnízd čejek chocholatých a břehoušů černoocasých. Pro prezentaci výsledků však prováděli měření. Čerstvá vejce leží a zaujímají úhel mezi 25 až 35 stupni. U vajec čejek je patrný rozdíl mezi vejci menšími a většími. Průměrný počáteční úhel u menších vajec je 27 stupňů a u větších vajec průměrný počáteční úhel 32 stupňů. Tento nárůst je největší mezi čtvrtým a sedmým dnem. Po 9 dnech zaujímá vejce svislou polohu. Menší vejce jsou potopené 11 dnů a větší vejce 12 dnů. Menší vejce mají nižší průměrný počáteční úhel, ale poté se jejich úhel zvyšuje rychleji než u větších vajec. Plovací fáze trvá 16 dní u menších vajec a u větších je tato délka o den delší. Celková inkubační délka je tedy jak u menších, tak u větších vajec stejná a trvá přibližně 27 dnů. Zvyšování výšky nad hladinou je lineární a výška nad hladinou se pohybuje mezi 6 až 7 mm těsně před vylíhnutím. Menší vejce mají o 0,5 mm větší výšku nad hladinou než větší vejce, protože začínají plovat o den dříve. Vejce zaujímají vertikální polohu v celé plovací fázi. Tato poloha se mění v několika posledních dnech před vylíhnutím, kdy kuře mění svou polohu ve vejci a tím dochází ke druhé změně úhlu. Úhel se zmenšil až na 65 stupňů. Přes 90 % odhadů je přesných do dvou dnů ve fázi potopení a do tří dnů v plovací fázi. Porovnání přesného měření a odhady podle zkušených pozorovatelů je srovnatelné a flotační metoda není přesnější než sledování pouhým okem podle Van Päässena (1984). Pokud dvě vejce ve snůšce vykazují při flotaci velký rozdíl, je vhodné, aby se obě vejce zvažila. Vejce s větší hmotností může být neplodné. Neplodná vejce plavou po 13 dnech a po 15 dnech vystoupají do výšky až 4 mm. Poškozená vejce plavou již během týdne (Van Päässen a kol. 1984).

Dinsmore a kol. zkoumali přežití hnízd kulíka pastvinného (*Charadrius montanus*). Ve své práci uvedli inkubační fáze a jejich rozsahy z dat 31 hnízd kulíka pastvinného. Rozsahy inkubačních fází jsou uvedeny v tabulce č. 2 (Dinsmore a kol. 2002).

Věk hnízda	Průměrný věk	Popis
1-3	2	Vejde leží na dně nádobí
2-6	4	Tupý konec vejce začíná plovat
6-18	12	Vejde stojí vertikálně, ale stále se dotýká dna
16-18	17	Vejde se vznáší k hladině vody
16-20	18	Vejde proráží hladinu vody
20-26	23	Vejde má víc než 25 % svého objemu nad hladinou
26-28	27	Vejde plove a viditelně se naklání, hvězdičky na skořápce
29-32	29	Líhnutí vejce

Tabulka 2 Stáří hnízd kulíka pastvinného určeno flotací vajec ve Phillips County (Dinsmore a kol. 2002)

1.7. Flotační metody – výzkum mimo druhy bahňáků

Walter a Rusch (1997) studovali bernešku velkou (*Branta canadensis*) a k dispozici měli vejce z 351 hnízd. Porovnávali skutečný věk vajec s věkem predikovaným flotací. Toto porovnání se od sebe výrazně nelišilo a predikce data vylíhnutí byla s 82% přesností do 4 dnů. Přesnost predikcí závisela na stáří vajec, která byla podrobena flotaci. U mladých vajec došlo k přeceňování věku a u starších vajec došlo k podceňování věku (Walter a Rusch 1997).

Rush a kol. zkoumali chřástala dlouhozobého (*Rallus longirostris*). Vejce z hnízd flotovali na místě výskytu hnízda a vrátili je zpět do hnízda. Hnízda byla flotována opakovaně po 2 až 5 dnech, dokud se vejce nevylíhla nebo pokud se hnízdo označilo za neúspěšné. Popisují zde opět tři fáze polohy vejce ve vodním sloupci, které dále dělí na 8 dílčích částí. Výsledkem jejich výzkumu je flotační klíč, který by měl poskytnout přesné odhady pro vejce starší než 6 dní pro všechny vodní ptáky s podobnou délkou inkubační doby (Rush a kol. 2007).

Brua a Machin (2000) vyvinuli flotační model pro stanovení inkubačního stupně vajec pro kachnici kaštanovou (*Oxyura jamaicensis*) a byla testována přesnost tohoto modelu. Nalezená hnízda byla navštěvována po 7 až 10 dnech, byla zaznamenána

snůška a vejce byla podrobena flotaci. Vejce flotovali v nádobě, na které byl nalepen úhloměr a pravítko, které měřilo výšku vejce nad hladinou vody. Vejce flotovali ve stejnou dobu a měření prováděl jen jeden pozorovatel, aby nedošlo ke zkreslení dat. Porovnával se úhel vajec při první flotaci a bylo přiřazeno předpokládané datum vylíhnutí podle modelu, pro zjištění prediktivní síly tohoto modelu. K testování síly modelu byly použity jen hnízda se známým datem vylíhnutí. Zjistili, že výška vejce nad hladinou stoupá lineárně a dochází k malé změně úhlu v době před proděravěním skořápky kuřetem. Po natuknutí skořápky dochází k náhlé změně úhlu a výška vajec se také změní, ale nepatrně. Inkubační věk v této studii byl určen s přesností do dvou dnů (Brua a Machin 2000). K nepřesnému určení inkubačního dne může vést několik chyb. Významný zdroj chyb souvisí s rozdílnou pórovitostí skořápky uvnitř snůšky a mezi jednotlivými snůškami. Poréznost vajec souvisí s hmotností vajec a proto vejce, která mají vyšší poréznost rychleji ubírají na hmotnosti a vznášejí se tak dříve oproti vejcům, která mají poréznost nižší. Menší vejce se vznášejí dříve než vejce větší, proto model, který zohledňuje velikost vejce, může zvýšit přesnost odhadu (Westerskov 1950). Další chybou jsou rozdíly ve snůšce zapříčiněné vaječným parazitismem nebo neplodnými vejci (Westerskov 1950). Ke snížení těchto chyb se používají střední hodnoty z měření vajec ve snůšce (Brua a Machin 2000).

1.8. Doporučení

Mabee a kol. (2006) uvádějí několik doporučení pro standardizovaný sběr údajů pro flotaci. Pro co nejpřesnější odhad inkubačního věku a datumu vylíhnutí doporučují dle svých výzkumů flotovat vejce během rané nebo pozdní inkubace, kdy je vejce již nad hladinou. Dalším doporučením flotovat minimálně dvě vejce ze snůšky pro minimalizaci variability snůšky. Měřit úhel vajec pomocí klinometru místo vizuálního odhadu. Vizuálně odhadnout procentuální objem vejce nad hladinou vody a následně vypočítat průměrný úhel vajec ze snůšky a průměrný procentuální objem nad vodou, pokud jsou vejce v různých stádiích vztlaku. V neposlední řadě kalibrovat tyto měření u všech pozorovatelů (Mabee a kol. 2006). Odhadnout procentuální objem je však náročné a lepší variantou je zmiňované měření výšky.

Liebezeit a kol. (2007) doporučují měřit úhel vejce se dnem nádoby a výšku vejce nad hladinou. Vejce by se měla několikrát flotovat, aby se potvrdilo první počáteční měření

a flotovat je na místě, kde se hnízdo nachází. Navštívit hnízdo v době cca 4 dny před plánovaným vylíhnutím pro kontrolu příznaků líhnutí. Použít obecnou regresní rovnici. V situacích, kdy je důležité být u hnízda jen krátce, používat kategorická data, je to rychlejší a přesnost je dostačující (Liebezeit a kol. 2007).

Ackerman a Eagles-Smith (2010) nedoporučují odhad věku v pozdní fázi inkubaci, tj. po 15 dnech inkubace, výsledky jsou výrazně méně přesné. Doporučují flotovat každé vejce ve snůšce a pravidelně monitorovat hnízda k přesnějšímu odhadu stáří (Ackerman a Eagles-Smith 2010).

1.9. Vliv flotační metody na schopnost líhnutí

U flotační metody existovaly jisté obavy, zda účinky této metody neovlivňují schopnost líhnutí (Martin a Arnold 1991, Alberico 1995). Schopnost líhnutí by mohla být ovlivněna mnoha faktory. Mezi tyto faktory můžeme například řadit manipulaci s vejci, vystavování rozdílným teplotám a teplota vody v nádobě, kde se vejce flotuje. Vejce jsou během inkubační doby vystavena teplotám mezi 30 °C až 40 °C. Vejce jsou však často zchlazena na nižší teploty. Nižší teploty nejsou pro vyvíjející se embrya škodlivá jako hypertermie, která je škodlivá pro embrya napříč všemi druhy. Tepelná tolerance se pohybuje mezi 16 °C až 41 °C pro krátké expozice (Webb 1987).

Martin a Arnold (1991) zjistili, že vejce křepelky japonské (*Coturnix japonica*), která byla flotována po dobu 30 sekund ve fázi pozdní inkubace vykazují prodloužení inkubační doby o více než 3 hodiny, a to není autory považováno za významné prodloužení. Vejce flotována po dobu 30 sekund ve fázi rané inkubace neprokazovala žádný vliv na délku inkubace. Vzhledem k této skutečnosti je flotace stále považována za pravděpodobně bezpečnou a častou používanou metodu (Martin a Arnold 1991).

Hansen a kol. (2011) také potvrdili, že líhivost není ovlivněna flotací vajec. Jejich výzkum zahrnoval 4 druhy bahňáků – jespáka obecného (*Calidris alpina*), jespáka rezavého (*Calidris canutus*), jespáka písečného (*Calidris alba*) a kameňáčka pestrého (*Arenaria interpres*). Vejce flotovali po dvou ze snůšky ve vodě o teplotě 25 °C vejce bylo flotováno jen jednou. Hnízda byla navštívena jen několikrát. Poprvé při objevení hnízda, podruhé 3 dny před očekávaným líhnutím a poté při líhnutí, případně naleznutí fragmentů ze skořápek (Hansen a kol. 2011).

1.10. Cíle

Mým cílem bylo shromáždit dostupné literární zdroje týkající se metodologie určování inkubačního stadia vajec v terénu. Přesně popsat vývoj modelových druhů na základě každodenního testování opuštěných, či vyplavených vajec inkubovaných v inkubátoru. Posledním cílem bylo zhodnotit variabilitu mezi vejci různých rozměrů.

2. METODIKA

Použili jsme uměle inkubovaná vejce. Vejce pocházela z opuštěných či vyplavených snůšek a byla inkubovaná v inkubátoru. Teplota v inkubátoru byla nastavena na 37,5 °C a vlhkost na 65 %. Každé vejce bylo na skořápce označeno tužkou. Vejce ze stejné snůšky se značila stejnou značkou jen s odlišnými čísly. Celkový počet vajec, se kterými jsme pracovali byl 58. Některá vejce jsem při dalším zpracování musela vyřadit. Byla to vejce, ke kterým jsem neměla žádné fotografie nebo nedostačující počet fotografií, u kterého by nemělo smysl zpracovávat data dále a analýza by mohla být zkeslena. Pracovala jsem celkem s 25 vejci čejky chocholaté a 20 vejci kulíka říčního. Nalezená vejce byla každý den flotována. K flotaci jsme použili malou umělohmotnou nádobu naplněnou vlažnou vodou. Na nádobě je vyznačen úhloměr a milimetrová stupnice. Všechna vejce byla při každé flotaci vyfocena a byl odhadnut úhel, pokud bylo vejce nad hladinou, byla odhadnuta i výška vejce nad hladinou.

Přesné měření bylo provedeno dle fotografií. U vajec, která byla ve vodě potopená jsem měřila úhel podélné osy vejce se dnem nádoby. Pro měření úhlů a výšek jsem používala software Malování a použila funkci „přímka“. Na fotografii jsem vedla přímku v místě podélné osy vejce, začátek přímky jsem dále přiložila ke středu úhloměru a zaznamenala zjištěný úhel. Úhel byl měřen s přesností na 1°. Podle McNewa a kol. (2009) jsem úhel 90° nastavila na 89°, aby jej bylo možné transformovat (McNew a kol. 2009). U vajec, která již plavala jsem měřila výšku vejce nad hladinou. Vedla jsem opět přímku v místě podélné osy vejce od hladiny vody ke konci vejce. Přímku jsem přiložila k milimetrové stupnici a zjistila tak výšku. Pokud vejce plavalo, ale bylo stále pod hladinou, měřila jsem vzdálenost tupého konce vejce od hladiny. Tuto vzdálenost jsem zaznamenávala v záporných hodnotách. Výška vejce nad hladinou či pod hladinou byla měřena s přesností na 1 mm.

Při analýze dat z vypočtených hodnot dle rovnic se ukázala tato data pro další hodnocení jako nevhodná. Většina vajec vykazovala v pozdní fázi inkubace hodnotu vyšší než 1 a tato hodnota v posledních dnech před vylíhnutím dále kolísala. Obecná regresní rovnice dle Liebezeit a kol. (2007) má pravděpodobně zavádějící koeficient. Liebezeit a kol. (2007) ve svém výzkumu zkoumali především druhy bahňáků, kteří mají malá vejce (Liebezeit a kol. 2007).

Data jsem zpracovala pro čejku a kulíka odděleně. Pro analýzu dat jsem použila jen vejce se známým datem líhnutí. Z 25 vajec čejek bylo úspěšně vylíhnuto 10 vajec. Z 20 vajec kulíka bylo úspěšně vylíhnuto 11 vajec.

Zhotovila jsem čtyři regresní modely pro predikci inkubačního dne, použitím dvou faktorů – flotačního úhlu a flotační výšky. Naměřená data jsem analyzovala odděleně. Modelována tak byla data pro vejce ležící a vejce plavající nad hladinou. Dva regresní modely jsem zhotovila podle dat čejky. První model se věnoval datům, kdy se vejce nacházelo ještě pod hladinou a jsou k dispozici jen data úhlů. V druhém modelu je vysvětlující proměnnou jen výška vejce nad hladinou. V obou modelech jsou vysvětlovanou proměnnou dny do vylíhnutí. Tento stejný princip byl použit i u dalších dvou regresních modelů kulíka. Na základě dat byly sestaveny krabicové grafy a graf s regresní přímkou.

3. VÝSLEDKY

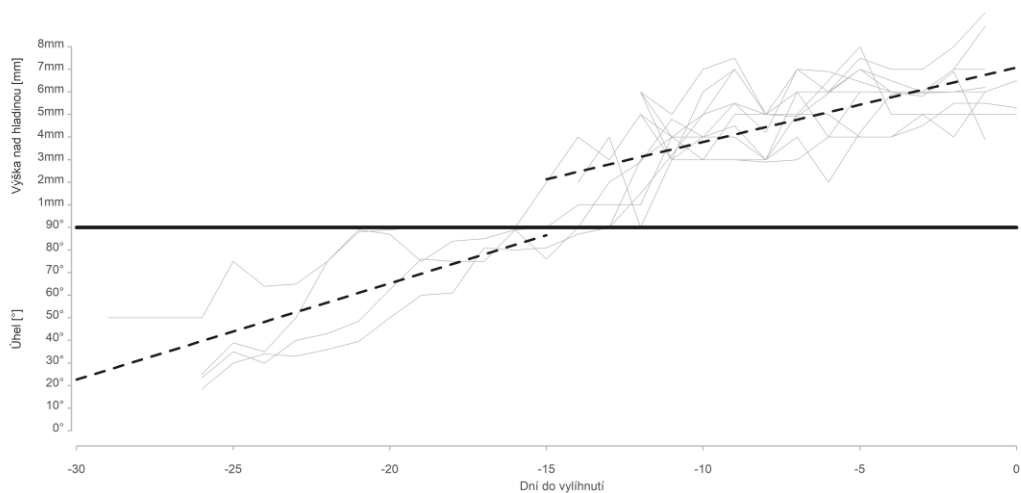
3.1. Výsledky – čejka chocholátá

Nejnižší naměřená hodnota úhlu je 20° a nejvyšší možná hodnota je 90° . Intercept je 150,47. Sklon dat je 4,26 a to by znamenalo, že by vejce denně zvýšilo svůj úhel o tuto hodnotu. Koeficient determinace je 0,52. Tímto modelem je tedy vysvětleno jen 52 % variability.

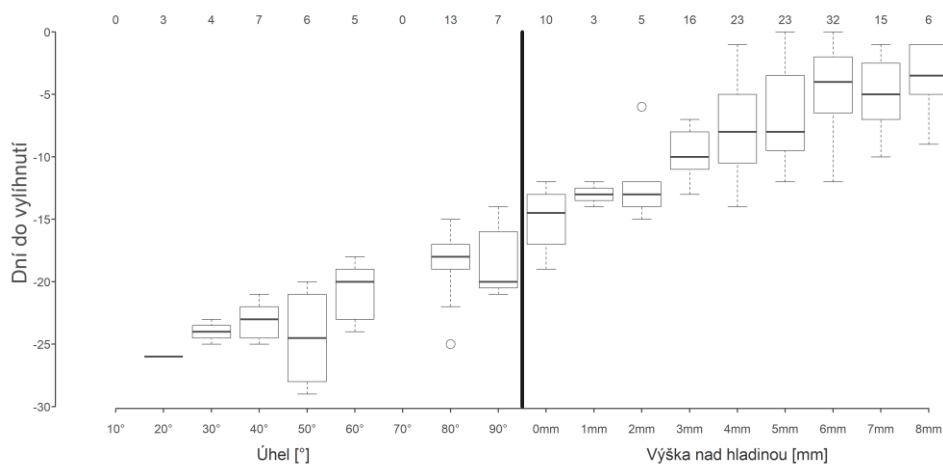
Model analyzující data výšky nad hladinou je ještě méně přesný. Koeficient determinace je 0,49 a tedy o 3% nižší. Kolem poloviny celkové inkubační doby se vejce začala objevovat nad hladinou. Intercept je 16,08 a sklon dat je 0,33.

Spodní výšková hranice pro líhnutí byla 4 mm a 8 mm byla nejvyšší hodnota, kterou jsem naměřila. Data jsou velmi kolísavá a denní rozdíly flotačních stupňů se pohybovaly i kolem 15° až 20° . Výškové hodnoty na tom byly stejně. V těchto

datových souborech bylo obvyklé, že denní rozdíly byly i 4 mm. Přesnější data se nabízí v rané inkubaci.



Graf 1 Regresní přímky naměřených dat 10 vajec čejek. Osa x znázorňuje dny do vylíhnutí a osa y dvě vysvětlující proměnné – úhel a výšku nad hladinou.

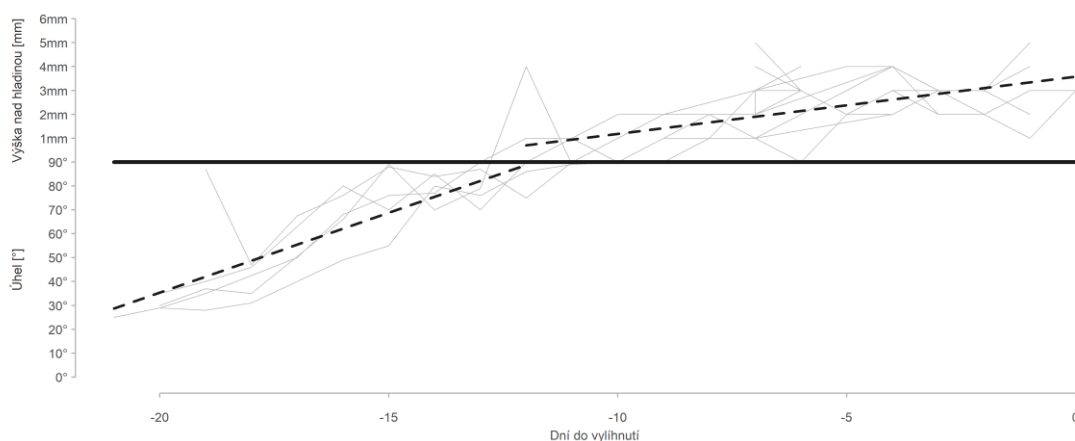


Graf 2 Krabicový graf znázorňující data 10 vajec čejek – medián, 1.kvartil, 3.kvartil, minimum, maximum a odlehlé hodnoty. Osa x znázorňuje dvě vysvětlující proměnné – úhel a výšku nad hladinou. Osa y znázorňuje dny do vylíhnutí, osa vychází ze známého data vylíhnutí a den líhnutí byl označen jako 0. V horní části grafu jsou hodnoty určující kolikrát se daná hodnota naměřila v daném datovém souboru.

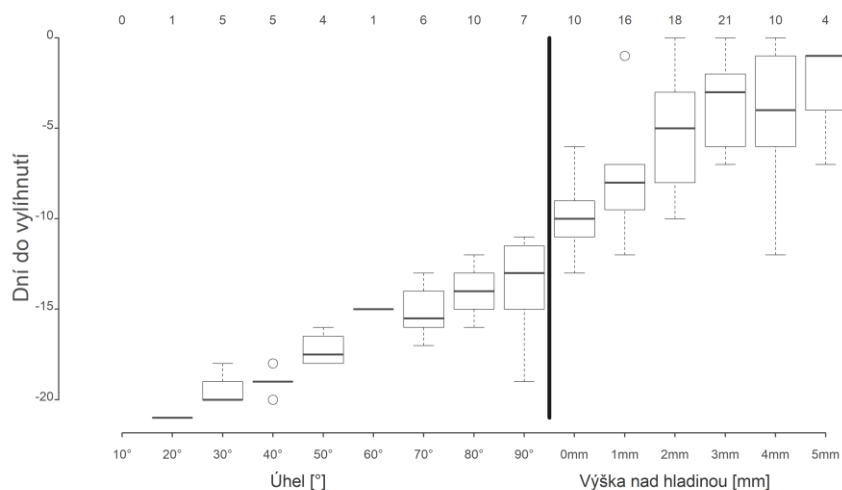
3.2. Výsledky – kulík říční

Nejnižší naměřená hodnota úhlu je 20° a nejvyšší možná hodnota je 90° . Intercept je 168,88 a sklon dat je 6,67. To by znamenalo, že by se vejce každý den zvedalo o $6,67^\circ$. Koeficient determinace pro regresní model analyzující data úhlů byl 0,7. Model vysvětlil tedy 70 % variability a je to nejpřesnější model v porovnání s ostatními modely. V případě kulíků data opět značně kolísala. U kulíků se vejce dostala nad hladinu již před polovinou jejich inkubační doby. Model opět potvrdil vyšší přesnost v rané fázi inkubaci.

Pro regresní model analýzy výšky nad hladinou byl koeficient determinace 0,37. Jedná se o tedy nejméně přesný model. Intercept je 12,58 a sklon dat je 0,24. Variabilita dat opět výrazně kolísala.



Graf 3 Regresní přímky naměřených dat 11 vajec kulíků. Osa x znázorňuje dny do vylíhnutí a osa y dvě vysvětlující proměnné – úhel a výšku nad hladinou.



Graf 4 Krabicový graf znázorňující data 11 vajec kulíků – medián, 1.kvartil, 3.kvartil, minimum, maximum a odlehlé hodnoty. Osa x znázorňuje dvě vysvětlující proměnné – úhel a výšku nad hladinou. Osa y znázorňuje dny do vylíhnutí, osa vychází ze známého data vylíhnutí a den líhnutí byl označen jako 0. V horní části grafu jsou hodnoty určující kolikrát se daná hodnota naměřila v daném datovém souboru.

4. DISKUZE

Datové soubory čejky a kulíka byly výrazně variabilní. Tato variabilita dat se vyskytovala jak u dat popisující flotační úhel, tak i u dat popisující výšku vejce nad hladinou. U obou vysvětlujících proměnných na denní bázi data výrazně kolísala. U několika vajec se tyto hodnoty v rámci úhlů změnily následující den v rozmezí o 10° až 30°. U hodnot popisujících výšku se pohyboval rozdíl výšek v rozmezí 2 až 4 mm.

Kolísavé hodnoty vykazují kolísavou hmotnost během několika dní, což se neslučuje s lineárním úbytkem hmotnosti vyvíjejícího se embrya popsaného v této práci (Liebezeit a kol. 2007). Kolísavé hodnoty nebyly ojedinělé a vyskytovaly se jak v rané fázi inkubace, tak i v pozdní fázi a u velkého množství vajec.

Úspěšně vylíhnutá vejce vykazovala stejný průběh fázemi inkubační doby, které byly popsány a shrnuty v této práci. Pro všechny vejce jsem neměla k dispozici data z průběhu celé periody. Vejce, u kterých jsem data z průběhu celé periody měla si prošla všemi 6 kategoriemi, které popsal Van Päässen a kol. (Van Päässen a kol. 1984).

O přesnosti flotace u opuštěných hnízd se ve své práci zmiňoval Ackerman a Eagles-Smith (2010). Je to jedna z mála prací, kde se berou v potaz data z opuštěných hnízd. Přesnost flotace dat z těchto hnízd je značně nižší ve srovnání s aktivními hnízdy. Přesnost se pohybovala kolem 7 dnů (Ackerman a Eagles-Smith 2010).

Ve studiích o přesnosti měření flotace nebyla nikde zmínka o možných příčinách variability dat v takovém rozsahu. Jediná zmínka o poklesu úhlu byla před vylíhnutím kuřete, kde se vertikální poloha vejce snížila o 20° (Van Päässen a kol. 1984). Lze se tedy zčásti přiklánět k nižší přesnosti predikce zapříčiněnou sběrem dat z opuštěných a vyplavených hnízd.

Liebezeit a kol. (2007) ve své práci uvedl obecnou regresní rovnici s hodnotami koeficientů. Dle obecného koeficientu a zohledňující pouze výšku nad hladinou (v tomto případě 0,79) by hodnota výšky 3 mm ukazovala přibližně den vylíhnutí (Liebezeit a kol. 2007). V mém případě by již tato výšková hodnota nasvědčovala většímu počtu dní do vylíhnutí. Mnou naměřené hodnoty výšky nad hladinou se kolem data líhnutí pohybují kolem 6 až 7 mm. Větší vejce mají i vyšší procentuální objem své velikosti nad vodou, a to bohužel rovnice nezohledňuje. Pro mé výpočty a další zpracování dat je tato obecná regresní rovnice nevhodující.

V mnoha studiích se flotační metoda ukázala jako přesná a vhodná pro predikci dat vylíhnutí různých druhů. V této studii však byla přesnost nízká. Přesnost závisela i na množství vajec. Vyšší přesnost dat byla u rané fáze inkubace u obou studovaných druhů, ale i to je nedostačující. Z těchto výsledků lze usuzovat, že se na velké variabilitě dat podepsal souběh mnoha faktorů.

Přesnost flotační metody by mohla být ovlivněna chybou měření. V takovém rozsahu však není možná. Zpětně jsem se však dívala na některá problematická data a extrémní rozdíly tam skutečně byly. Další vliv na přesnost dat by mohla mít velikost vzorku, uměle inkubovaná vejce pocházející z opuštěných či vyplavených hnízd nebo vliv každodenního flotování.

5. LITERATURA A POUŽITÉ ZDROJE

Ackerman J.T. and Eagles-Smith C., 2010: Accuracy of egg flotation throughout incubation to determine embryo age and incubation day in waterbird nests. *The Condor* 3: 438–446.

Alberico J. A. R., 1995: Floating eggs to estimate incubation stage does not affect hatchability. *Wildlife Society Bulletin*: 212-216.

Ar A. and Rahn H., 1980: Water in the Avian Egg: Overall Budget of Incubation. *Integrative and Comparative Biology* 2: 373–384.

Brua R. B. and Machin K. L., 2000: Determining and testing the accuracy of incubation stage of Ruddy Duck eggs by floatation. *Wildfowl* 51: 181-189.

Dinsmore S. J., White G. C., Knopf F. L., 2002: Advanced techniques for modeling avian nest survival. *Ecology* 12: 3476-3488.

Drent R. H., 1970: Functional Aspects of Incubation in the Herring Gull. *The Herring Gull and Its Egg* 17: 1-132.

Fant R. J., 1957: Criteria for Aging Pheasant Embryos. *The Journal of Wildlife Management* 3: 324-328.

Hansen J., Schmidt N. M., Reneerkens J., 2011: Egg hatchability in high Arctic breeding wader species Charadriiformes is not affected by determining incubation stage using the egg flotation technique. *Bird Study* 4: 522-525.

Hanson H. C., 1954: Criteria of Age of Incubated Mallard, Wood Duck, and Bob-White Quail Eggs. *The Auk* 3: 267-272.

Hays H. and LeCroy M., 1971: Field Criteria for Determining Incubation Stage in Eggs of the Common Tern. *The Wilson Bulletin* 4: 425-429.

Internet Center for Wildlife Damage Management, ©2005: Waterfowl (online) [cit.2019.03.07], dostupné z <http://icwdm.org/handbook/birds/Waterfowl.asp>.

Liebezeit J. R., Smith P. A., Lanctot R. B., Schekkerman H., Tulp I., Kendall S. J., Tracy D. M., Rodrigues R. J., Meltofte H., Robinson J. A., Gratto-Trevor C., McCaffery B. J., Morse J., Zack S. W., 2007: Assessing the development of shorebird eggs using the flotation method: species-specific and generalized regression models. *The Condor* 1: 32–47.

Lokemoen J. T. and Koford R. R., 1996: Using candlers to determine the incubation stage of passerine eggs. *Journal of Field Ornithology* 4: 660-668.

- Loos E. R., Rohwer F. C., 2004: Laying-Stage Nest Attendance and Onset of Incubation in Prairie Nesting Ducks. *The Auk: Ornithological Advances* 2: 587–599.
- Mabee T. J., Wildman A. M., Johnson C. B., 2006: Using egg flotation and eggshell evidence to determine age and fate of arctic shorebird nests. *Journal of Field Ornithology* 77:163–172.
- Martin P. A. and Arnold T. W., 1991: Relationships among Fresh Mass, Incubation Time, and Water Loss in Japanese Quail Eggs. *The Condor* 1: 28-37.
- Matthew R. and Andersen D. E., 2008: Comparison of the egg flotation and egg candling techniques for estimating incubation day of Canada Goose nests. *Journal of Field Ornithology* 3: 429–437.
- McNew L. B., Gregory A. J., Wisely S. M., Sandercock B. K., 2009: Estimating the stage of incubation for nests of Greater Prairie-Chickens using egg flotation: a float curve for grouse. *Grouse News* 38: 12-14.
- McNicholl M. K., Lowther P. E., Hall J. A., 2001: Forster's Tern (*Sterna forsteri*). *The birds of North America* 595. In Poole A. F. and Gill F. B. [EDS.], *The birds of North America*. Birds of North America.
- Nol E. and Blokpoel H., 1983: Incubation Period of Ring-Billed Gulls and the Egg Immersion Technique. *The Wilson Bulletin* 2: 283-286.
- O'Malley J. B. E. and Evans R. M., 1980: Variations in measurements among white pelican eggs and their use as a hatch date predictor. *Canadian Journal of Zoology* 4: 603-608.
- Poole A. F., Stettenheim P., Gill F. B., editors. 2003: *The birds of North America: life histories for the 21st century*. The Academy of Natural Sciences.
- Prout W., 1822: Some experiments on the changes which take place in the fixed principles of the egg during incubation. *The Royal Society* 1: 377-400.
- Rahn H., Ar A., Paganelli C. V., 1979: How Bird Eggs Breathe. *Scientific American* 2: 46-55.
- Rahn H. and Ar A., 1980: Gas Exchange of the Avian Egg: Time, Structure, and Function. *Integrative and Comparative Biology* 2: 477–484.
- Reiter M. E. and Andersen D. E., 2008: Comparison of the egg flotation and egg candling techniques for estimating incubation day of Canada Goose nests. *Journal of Field Ornithology* 4: 429-437.

- Ricklefs R. E., Smeraski C. A., 1983: Variation in Incubation Period within a Population of the European Starling. *The Auk: Ornithological Advances* 4: 926–931.
- Rizzolo D. J. and Schmutz J. A., 2007: Egg flotation estimates nest age for Pacific and Red-throated Loons. *Waterbirds* 2: 207–213.
- Rotella J. J., Dinsmore S. J., Shaffer T. L., 2004: Modeling nest–survival data: a comparison of recently developer methods that can be implemented in MARK and SAS. *Animal biodiversity and Conservation* 27.1: 187-205.
- Rush S. A., Cooper R. J., Woodrey M. S., 2007: A nondestructive method for estimating the age of Clapper Rail eggs. *Journal of Field Ornithology* 4: 407–410.
- Sandercock B. K., 1998: Chronology of nesting events in Western and Semipalmated Sandpipers near the Arctic Circle. *Journal of Field Ornithology* 2: 235-243.
- Van Päässen A. G., Veldman D. H., Beintema A. J., 1984: A simple device for determination of incubation stages in eggs. *Wildfowl* 1950: 173–178.
- Veldman D. H., 1982: Bepaling van legdata van weidevogels en het broedverloop in verschillende biotopen. Research Institute for Nature Management (in Dutch).
- Visser G. H., Zeinstra E. C., van Gasteren F., Beintema A. J., 1995: Gas conductance and metabolism of shorebird eggs: variation within and between species. *Respiration Physiology* 2: 273–281.
- Walter S. E. and Rusch D. H., 1997: Accuracy of Egg Flotation in Determining Age of Canada Goose Nests. *Wildlife Society Bulletin* 4: 854-857.
- Webb D. R., 1987: Thermal Tolerance of Avian Embryos: A Review. *The Condor: Ornithological Applications* 4: 874–898.
- Weller M. W., 1956: A simple Field Candler for Waterfowl Eggs. *The Journal of Wildlife Management* 2: 111-113.
- Westerskov K., 1950: Methods for Determining the Age of Game Bird Eggs. *The Journal of Wildlife Management* 1: 56-67.

6. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Flotační kategorie (Baker L.: Canada Goose Egg Addling Protocol (online) [cit. 2019.04.20], dostupné z <<https://www.humanesociety.org/sites/default/files/docs/wild-good-egg-protocol.pdf>>).

7. SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Inkubační stadia vajec čejky chocholaté (Van Päässen 1981).

Tabulka 2: Stáří hnízd kulíka pastvinného určeno flotací vajec ve Phillips County (Dinsmore a kol. 2002).