UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie a ornitologická laboratoř

Bc. Jakub Horák

Ovlivnění pohyblivosti střevlíka *Carabus ullrichii* v závislosti na hmotnosti transmitteru

Diplomová práce

v oboru Zoologie

Vedoucí práce: RNDr. Milan Veselý, Ph.D.

Olomouc 2019

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně pod vedením RNDr. Milana Veselého, Ph.D. a že veškeré citované zdroje uvádím v seznamu literatury.

V Olomouci 31. července 2019 podpis:……

Poděkování

V první řadě bych chtěl velmi poděkovat mé rodině za podporu při studiu a projevenou trpělivost. Děkuji vedoucímu bakalářské práce RNDr. Milanu Veselému, Ph.D. za odborné vedení práce, materiální, metodické zajištění studie a cenné rady. Obrovský dík patří Mgr. Janě Růžičkové, Ph.D. za konstruktivní kritiku manuskriptu a pomoc se statistickou analýzou dat. Velké poděkování patří Mgr. Bartoszi Baranovi a Michaelovi Ashkerovovi za pomoc s analýzou obrazu. Výzkum byl financován z interního grantu UPOL: IGA_PrF_2019_024.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Bc. Jakub Horák

Název práce: Ovlivnění pohyblivosti střevlíka *Carabus ullrichii* v závislosti na hmotnosti transmitteru

Typ práce: diplomová práce

Pracoviště: Katedra Zoologie

Vedoucí práce: RNDr. Milan Veselý, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2019

Abstrakt:

Cílem této práce bylo zjistit, zda zátěž odpovídající váze transmitteru ovlivňuje pohyblivost druhu střevlíka *Carabus ullrichii* (Germar, 1824). V laboratorním experimentu byl pořízen videozáznam čtyřdenní aktivity celkem 16 jedinců (8 samic, 8 samců). Videozáznam byl úspěšně analyzován pomocí programu DeepLabCut, využívající neuronovou síť s prvky hlubokého učení. Automatická analýza obrazu prokázala velkou individuální variabilitu v aktivitě mezi jednotlivými exempláři. Vliv transmitteru na úroveň aktivity prokázán nebyl. Statisticky významný rozdíl v aktivitě nebyl zjištěn ani mezi pohlavími, ačkoliv samci byli aktivnější. Výsledky této práce dokládají, že *Carabus ullrichii* není přítomností telemetrického transmitteru ovlivněn a radiotelemetrie je vhodná metoda k výzkumu pohybové aktivity rodu *Carabus*.

Klíčová slova: Carabidae, pohybová aktivita, radiotelemetrie, váha transmitteru, analýza obrazu

Bibliographical identification

Author's first name and surname: Bc. Jakub Horák

Title: The influence of transmitter weight on the movement of *Carabus ullrichii*.

Type of thesis: Diploma thesis

Department: Dept. Of Zoology

Supervisor: RNDr. Milan Veselý, Ph.D.

The year of presentation: 2019

Abstract:

The main goal of this thesis is to estimate the influence of radio transmitters on the movement activity of *Carabus ullrichii* (Germar, 1824). Laboratory experiment was conducted to obtain video record of four days activity of 16 individuals (equal sex ratio). The video record captured during the experiment was analyzed using DeepLabCut, which is deep convolutional network. Automated pose estimation revealed high interindividual variability of movement activity. The activity was not affected by weight of the transmitter. Although males were more active than females, the difference between sexes was not singnificant. Thus, based on our findings, radio transmitter is applicable device to study movement of ground beetles of genus *Carabus*.

Key words: ground beetles, Carabidae, movement aktivity of insect, radiotelemetry, influence of transmitter on movement, video analysis

Obsah

Úvod 1

Obecná charakteristika čeledi střevlíkovitých 2

Radiotelemetrie 4

Rozměry transmitteru 5

Maximální hmotnost transmitteru 5

Test vlivu hmotnosti transmitteru 7

Laboratorní experiment 8

Analýza obrazu 8

Cíle práce 9

Materiál a metodika 10

Experiment 10

Pokusné arény 10

Design experimentu 10

Transmitter 11

Videotechnika 12

Videoanalýza 12

Tvorba trajektorie 13

Statistická analýza 13

Výsledky 15

Diskuze 19

Závěr 30

Literatura 31

Úvod

Aktivní pohyb projevující se přesunem v prostoru, je pro živočichy zásadním a historicky definujícím atributem. Porozumění mechanismům pohybové aktivity je důležité pro studium evoluce, ekologii a ochranu životního prostředí. Pojmem „pohybová aktivita“ se obvykle myslí pohyb jak na velkoprostorové škále (disperze, migrace), tak na menším prostoru, například lov, hledání partnera nebo přesun mezi habitaty „spillover“ (Schneider *et al.* 2016). Změna pohybové aktivity živočichů má potenciál zpětně odhalovat změny v ekosystému. Například změny vlhkosti, chemického složení půdy nebo přítomnost průmyslových chemikálií mohou ovlivnit výskyt i chování živočichů, kam patří i pohybová aktivita. Aplikovaná ochrana životního prostředí do značné míry stojí na poznatcích primárního výzkumu různých projevů pohybové aktivity modelových skupin organismů. Modelové skupiny velmi často zastupují některé řády či čeledi hmyzu.

Existuje hned několik praktických důvodů, proč se zabývat hmyzem. Je to skupina živočichů s velkým ekologickým, hospodářským a hygienickým významem (Hemingway & Ranson 2000; Klein *et al*. 2006; Losey & Vaughan 2006). Hmyz se přirozeně podílí na opylení rostlin, redukci populací pro člověka ekonomicky škodlivých živočichů, rozkladu organické hmoty, ale i přenosu chorob a mnoha dalších z lidského hlediska pozitivních či negativních procesů v přírodě. Losey & Vaughan (2006) vyčíslili celkový přínos ekosystémových služeb hmyzu v USA na 60 miliard USD/rok. Výzkum hmyzu je tedy zajímavý i z ekonomického hlediska a investice do něj se může mnohonásobně vrátit.

Pokud studujeme jakýkoliv jev v živočišné říši, je vhodné jej studovat na skupině dobře probádaných a široce rozšířených druhů. Je tak možnost opakovat studie na různých lokalitách díky presenci daných živočichů i odborníků. Důležitá je také citlivost skupiny k abiotickým podmínkám, které jsou často měněny lidskou činností, například kontaminace těžkými kovy nebo chemickými látkami (Koivula 2011). Bezobratlí mají potenciál odhalovat změny složení společenstev a druhové diverzity více než obratlovci, jelikož jsou mnohem diverzifikovanější a početnější. Mají také mnohem větší reprodukční potenciál a kratší generační čas. Ke změnám v ekosystému proto vykazují rychlejší numerickou odpověď. Pro hodnocení kvality životního prostředí jsou z epigeicky žijících bezobratlých běžně využívány mnohonožky (Diplopoda), pavouci (Araneae), například čeleď skálovkovití (Gnaphosidae), sekáči (Opiliones), mravenci (Hymenoptera, Formicidae) a brouci čeledi Staphylinidae (Hůrka 1996; Gerlach *et al.* 2013).

Obecná charakteristika čeledi střevlíkovitých

Střevlíkovití brouci (Carabidae) splňují všechny obecné charakteristiky z předchozího odstavce (Farkač 1994; Hůrka 1996; Avgin & Luff 2010; Langraf *et al.* 2016). Taxonomických i bionomických dat je ve srovnání s jinými čeleděmi mnoho (Farkač *et al*. 2005) také proto, že existuje velká základna profesionálních i amatérských entomologů, jež se skupině věnují. Brouci čeledi střevlíkovití patří do podřádu masožravých (Adephaga). Obývají prakticky všechny biotopy celého světa a mají velmi rozmanité životní strategie. Počet druhů je odhadován až na 40 000 (Lövei & Sunderland 1996). Veselý *et al.* (2017) uvádí v České republice 517 evidovaných druhů, z nichž je 171 (33 %) druhů a poddruhů uvedeno v Červeném seznamu ohrožených druhů České republiky (Hejda *et al.* 2017). Ačkoliv je třetina druhů ohrožených, jiné jsou velmi běžné. Některé druhy dokonce v minulosti způsobovaly škody na zemědělských plodinách, například příslušníci rodu *Zabrus*.

Většina druhů jsou predátoři, generalisti, velmi dobře přizpůsobení k rychlému pohybu po povrchu půdy. Mají dlouhé kráčivé končetiny a existují druhy makropterní (schopné letu), brachypterní (redukce křídel) až apterní formy, které zcela postrádají křídla (Hůrka 1996). Ekologická tolerance čeledi je značná. Existují eurytopní druhy, vyskytující se v různých geografických oblastech často ve velkých početnostech, ale i stenotopní druhy, jež jsou vázány na konkrétní biotopy, jinde se nevyskytující. Stenotopní i eurytopní druhy lze nalézt pohromadě na většině stanovišť (Rainio & Niemelä 2003). Hlavními faktory ovlivňující rozšíření jsou teplota, vlhkost, typ půdy, ale také její zastínění (Veselý 2002). Střevlíci díky citlivosti a vysoké mobilitě měřitelně reagují změnou pohybové aktivity na změny abiotických i biotických faktorů prostředí.

Při pohybu po zemi mají střevlíci v poměru k tělesné velikosti velký disperzní potenciál, kdy už larvální stadia mohou překonávat vzdálenosti přesahující stovky metrů (Burges 1911 ex Thiele 1977). Příčinou je dravý způsob života. Velcí střevlíci rodu *Carabus* jsou typičtí střídáním period vysoké aktivity a inaktivity. V aktivní periodě jsou schopni překonat během několika hodin desítky metrů i v hustém porostu (Růžičková & Veselý 2018). Naopak v době inaktivity jsou běžně schopni zůstat několik hodin až dní na jediném místě téměř bez hnutí (Negro *et al.* 2008; Růžičková & Veselý 2018; Elek *et al.* 2019). Vysvětlení pro toto chování zatím nebylo podáno, důvodem však může být např. šetření energie po pozření potravy či přečkávání nepříznivých podmínek nebo dokonce antipredační strategie (Elek *et al.* 2019).

Periody aktivity se střídají velmi nepravidelně a nelze je přesněji předpovídat, což výrazně znesnadňuje jak plánování experimentů in situ, tak i interpretaci získaných dat.

Pomineme-li let, existují dva základní vzorce terestrického pohybu. Rychlý, takřka přímočarý pohyb je střídán pohybem s velmi častými přestávkami, změnami směru a rychlosti (Firle *et al.* 1998). Již Baars (1979) pozoroval a popsal tyto dva základní pohybové vzorce. Rychlejší pojmenoval *directed movement* „cílený pohyb“. Ten zahrnuje většinou krátké časové úseky, kdy jedinec překonává dlouhé vzdálenosti bez významnější změny směru. Díky tomu lze odhadnout cíl pohybu. Pomalejší, *random walking*, volně přeloženo jako „náhodné pobíhání“ je charakteristický krátkými vzdálenostmi v náhodném směru. Jinými slovy jedinec během dlouhého časového úseku neustále mění směr pohybu a nelze určit kterým směrem se cíleně pohybuje. Pro zjednodušení bude dále užito anglických názvů. Dané pohybové charakteristiky byly poprvé pozorovány u druhů *Poecilus versicolor* (Sturm, 1824) a *Calathus melanocephalus* (Linnaeus, 1758) na vřesovištích v Nizozemsku pomocí radioaktivně značených jedinců (Baars 1979).

Výše uvedené typy pohybu byly pozorovány u mnoha zástupců čeledi (Rijnsdorp 1980; Wallin & Ekbom 1988; Wallin & Ekbom 1994; Drees *et al*. 2008). *Directed movement* je disperzní, migrační nebo únikovou strategií z nevhodného prostředí. Toto intuitivní vysvětlení publikoval Baars (1979). *Random walking* by mohl být například vhodnou strategií při hledání potravy.

Pro studium pohybové aktivity střevlíků se používá řada metod, lišících se převážně spolehlivostí a kvalitou získaných dat (Horák 2017). Studium střevlíků pomocí telemetrie začalo nejprve značením pomocí radioaktivních izotopů (Baars 1979). Tato poměrně invazivní metoda byla poměrně brzy nahrazena harmonickým radarem, použitelným i na menší druhy, například rod *Pterostichus* (Mascanzoni & Wallin; Wallin & Ekbom 1994). Později se začala používat také radiotelemetrie, ovšem pouze na větších druzích střevlíků, například rod *Carabus* (Riecken & Raths 1996). Nejmenší střevlík, na němž byla dosud radiotelemetrie s úspěchem použita je *Carabus nemoralis* (Müller, 1764), který měří okolo 22 mm (Thiele 1977; Deichsel 2007).

Radiotelemetrie

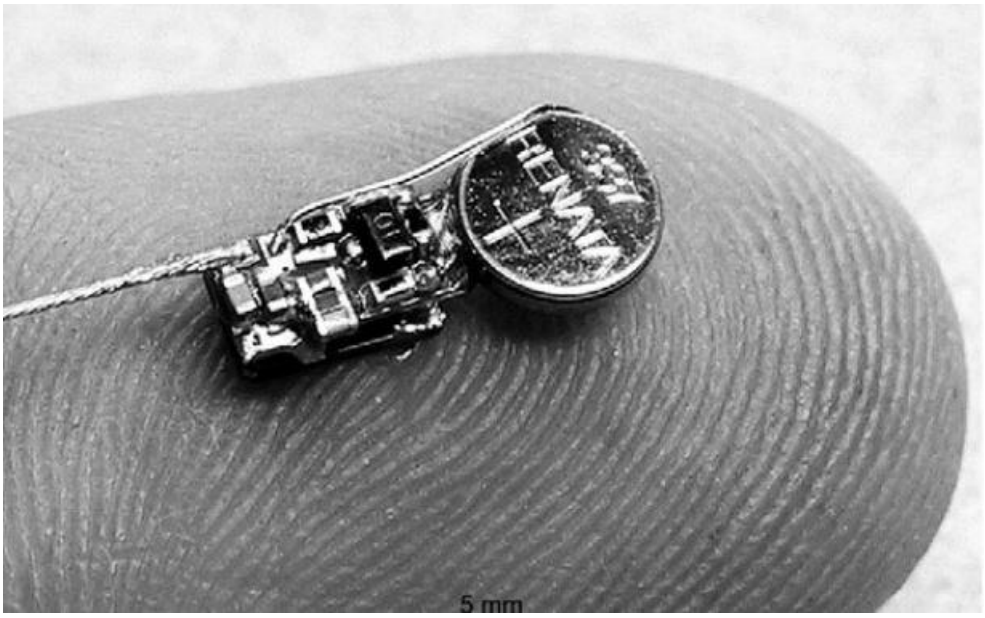
Od 60 let 20. století byla radiotelemetrie použita pro řadu výzkumných záměrů. Technologie využívá radiové vlny o velmi vysoké frekvenci (30–300 MHz; VHF). Přijímací zařízení musí být nastaveno na frekvenci vysílače, jehož signál chceme detekovat (Hedin & Ranius 2002). Radiotelemetrický transmitter emituje radiové vlny se specifickou frekvencí, díky čemuž lze snadno rozlišit, kterého jedince (který transmitter) právě sledujeme. Součástí transmitteru je baterie, má tedy vlastní zdroj energie. Proto se také často užívá pojem „aktivní telemetrie".

Dosah signálu je při použití na epigeickém hmyzu poměrně velký, desítky až stovky metrů, ovšem na úkor vyšší hmotnosti kvůli baterii (Levett & Walls 2011). Je tedy zapotřebí volit kompromis a u každé studie pečlivě zvážit použití konkrétního transmitteru. S vhodnou anténou a přijímacím zařízením je možné najít střevlíka o délce těla 25 mm i v hustém travním porostu a z vegetace jej vyjmout (Růžičková & Veselý 2018). V terénu ale většinou není vhodné zvíře fyzicky dohledávat z důvodu rizika zabití (zašlápnutí) jedince nebo jeho rušení a tím potenciálního ovlivnění jeho chování. Každopádně máme přehled, o kterého jedince se jedná a většinou jej stačí lokalizovat s přesností na půl metru.

U hmyzu byla dosud největší radiotelemetricky detekovatelná vzdálenost 500 metrů (výjimečně více než 1 kilometr) a to v otevřeném terénu u šídla královského *Anax imperator* Leach, 1815 (Levett & Walls 2011). Radiotelemetrie má velký potenciál v ochraně ohrožených druhů hmyzu, jako nezastupitelná technologie podávající informace o využívání biotopů (Moskowitz & May 2017). Velmi zajímavé je právě využití na létajícím hmyzu z různých taxonomických skupin (Moskowitz & May 2017).

Rychlý technický vývoj má za následek komerční dostupnost radiotelemetrických transmitterů o hmotnosti pod 0,3 g. Zejména se jedná o výrobky britské firmy *Biotrack Ltd*., australské *Titley Scientific* a kanadské *Holohill Systems Ltd*. Nejlehčí, v současné době komerčně dostupný aktivní tag váží 0,22 g, má rozměry těla 8 x 4 x 2,8 mm a anténu o délce 140–160 mm. Vysílač nese označení LB-2X a vyrábí jej firma *Holohil Systems Ltd*. Životnost baterie je 3 až 7 dní, což umožňuje praktické využití v radiotelemetrii hmyzu *in situ*. Další možností je použít komerčně nedostupné transmittery, které lze zkonstruovat dle veřejně dostupných elektrotechnických schémat. Celkovou hmotnost je potom možné s nejmenší baterií snížit až na 0,2g (Naef-Daenzer *et al.* 2005). Hmotnost těla transmitteru bez baterie je 0,084g.

Obr. č. 1: V současnosti nejlehčí komerčně dostupný radiotelemetrický transmitter s označením LB-2X o hmotnosti 0,22 gramu. Výrobce *Holohil Systems Ltd.*



Obr. č. 2: Nejlehčí radiotelemetrický transmitter o hmotnosti 0,2g (Naef-Daenzer *et al.* 2005).

Rozměry transmitteru

Je samozřejmě třeba brát v potaz rozměry transmitteru a vybrat vhodné místo na těle zvířete kam lze transmitter umístit. Hlavně z důvodu znemožnění nebo ovlivnění pohybu tvarem a umístěním transmitteru. V případě brouků je zásadní, jestli jedinci otevírají krovky či ne. Pokud je otevírají, je nejlépe transmitter upevnit na pronotum. U brouků, kteří mají krovky srostlé jako někteří střevlíci, lze transmitter pohodlně nalepit na šev krovek, kde je většinou mnohem více místa než na pronotu. Tvar transmitteru může způsobovat problémy při prolézání hustou vegetací nebo při zahrabávání. Bylo pozorováno, že se anténa transmitteru může zachytávat mezi větévky nebo listí stromů při volném pohybu zvířete (Dubois & Vignon 2008).

Maximální hmotnost transmitteru

Hmotnost spolu s rozměry jsou zásadní proměnné určující, na které živočichy bude možno metodu použít. Přítomnost tagu může zvíře ovlivnit a měnit přirozené pohybové vzorce,

což by mohl být metodický problém. Je intuitivní, že pokud upevníme telemetrický transmitter jakéhokoliv typu na tělo zvířete, může danému jedinci způsobovat při pohybu obtíže. To může být velký problém jednak z pohledu týrání zvířat, ale i kvůli ovlivnění přirozeného chování. Většinou nám jde o zachycení přirozeného pohybu zvířete. Pokud chceme zobecňovat výsledky studií provedených na několika málo jedincích z celé populace, potřebujeme, aby projevy jedinců nebyly ovlivněny danou metodou. Stejný princip platí pro jakýkoliv výzkum.

Pro suchozemské obratlovce je všeobecně dodržováno pravidlo, že by hmotnost vysílače neměla překročit 5 % tělesné hmotnosti. Pro ryby je dokonce doporučována zátěž tagem o váze maximálně 2 % hmotnosti ryby vážené na suchu (Nielsen & Johnson 1983). Naproti tomu u bezobratlých žádné pravidlo neexistuje. U většiny studií nepřekračuje váha tagu 33–50 % hmotnosti těla živočicha (Kissling *et al.* 2013). Používané vysílače ale někdy váží až 100 % tělesné hmotnosti zvířete (Hagen *et al.* 2011). Hmyz má však odlišnou fyziologii, anatomii příčně pruhované svaloviny a výhodnější poměr plochy svalů k objemu těla, dokáže tak nést výrazně větší zátěž než obratlovci.

Hlavním předpokladem použití telemetrie na konkrétním druhu tedy je, aby mu transmitter žádnou svou vlastností nezpůsoboval potíže. Základní charakteristiky transmitteru jsou velikost a hmotnost. Toxicita samotného transmitteru je vzhledem k použitým materiálům velmi nepravděpodobná. Toxicky by ale mohlo působit lepidlo použité k připevnění tagu na tělo zvířete. Právě hmotnost je nejdůležitější proměnnou, kterou je třeba zvažovat při výběru transmitteru. Použití baterie s větší kapacitou vzhledem k její hmotnosti by zpřístupnilo telemetrii pro menší živočichy, nebo by se při stejné hmotnosti zvýšila výdrž transmitteru.

Velký potenciál pro výzkum drobných bezobratlých, ale i obratlovců má telemetrie díky postupnému vývoji menších transmitterů. Další pokrok je ale závislý na vyřešení otázky zvýšení relativní kapacity baterií. V současné době probíhá velmi intenzivní vývoj nových typů akumulátorů. Sice je snaha obecně více soustředěna na vývoj velkých akumulátorů k pohonu vozidel či vyrovnávání spotřeby elektrické energie (Chandrashekhara & Østergaard 2009), ale tlak je kladen i na vývoj malých baterií do drobné elektroniky (Nanobatteries stop Exploding Batteries 2017). Cílem je zvýšit počet nabíjecích cyklů a kapacitu. Slibné se jeví např. použití grafenu, který je využíván jako součást nových nanokompozitních materiálů, jež mohou zvýšit kapacitu stávajících lithium-iontových baterií (Zhu *et al.* 2019).

Změnu chování zvířete s telemetrickým transmitterem není snadné testovat. Existují v zásadě dvě možnosti: 1) zaznamenávat prvky chování a porovnávat je s přirozenými projevy

daného druhu. Zde však dostaneme pouze výčet prvků chování, který lze jen velmi omezeně statisticky analyzovat. 2) pokusit se chování označených zvířat kvantifikovat a srovnat s jedinci bez tagů, což je cíl této práce.

Test vlivu hmotnosti transmitteru

Hmotnost transmitteru jakožto zásadní proměnnou určující použitelnost metody je nutné ve studiích zohlednit. Jelikož větší, a tedy těžší baterie umožňuje větší dosah nebo výdrž je vhodné použít co největší transmitter. Absence smluveného pravidla pro bezobratlé má za následek, že se často použijí transmittery, které nepřesahují hmotnost jedince. Poté se zkouší, zda jsou zvířata schopna transmittery unést bez výrazných změn chování. Pokud chování a pohyb zvířat není zátěží ovlivněn, jsou použity. K výraznému ovlivnění chování však může dojít i pokud se jedinec s transmitterem může pohybovat (Hagen *et al.* 2011).

Kvantitativních srovnání testujících vliv hmotnosti bylo provedeno jen několik. Jedním z nich byla studie pohybu larev střechatky *Protohermes grandis* (Thunberg, 1781), při níž bylo prokázáno, že zatížení jedinci nejeví rozdíly v zacházení s kořistí a rozměry kořisti byly taktéž stejné (Hayashi & Nakane 1989). Zátěž přitom činila 10–40 % hmotnosti larvy. Lorch & Gwynne (2000) použili jako model cvrčky druhu *Anabrus simplex* (Haldeman, 1852). Bylo testováno 6 různých prvků pohybu (rychlost, doba pohybu, překonaná vzdálenost, změna směru dle překonané vzdálenosti, frekvence a úhel otáčení). Při zátěži 30–40% hmotnosti jedince vliv transmitteru prokázán nebyl.

Je známo že čmeláci jsou schopni při sběru nektaru unést stejnou zátěž jako váží jejich tělo. Další zátěž v podobě transmitteru už však může pohyb ovlivnit (Hagen *et al.* 2011). V citované studii bylo prokázáno, že jedinci druhu *Bombus terrestris* (Linnaeus, 1758) označeni vysílačem (60 % hmotnosti čmeláka) prokazatelně více času strávili opylováním jednotlivých květin, kterých zároveň opylovali menší počet. Zatížení jedinci tedy mezi jednotlivými přelety více odpočívali.

Další možností, jak měřit vliv tagu je sledovat energetické nároky vyjádřené změnou hmotnosti jedince. U páchníka *Osmoderma eremita* Scopoli, 1763 (Scarabaeidae) bylo zaznamenáno snížení hmotnosti o 13 %, které lze přičíst zvýšeným energetickým nárokům z důvodu přítomnosti transmitteru (Dubois & Vignon 2008). Negro *et al.* (2008) v terénní telemetrické studii píše, že transmitter (40 % hmotnosti) neovlivňuje chování střevlíka druhu

Carabus olympiae (Sella, 1855). V diskuzi stejné studie však možné ovlivnění chování připouští.

Laboratorní experiment

Monitorované prostředí laboratoře se dá obecně dobře využít k posouzení vhodnosti metod využívaných ke studiu chování zvířat *in situ*. Laboratorní experiment díky monitorovaným podmínkám umožňuje přesnější replikaci. Je možné testovat vliv samotné metody na chování pokusných jedinců (Allema *et al.* 2012). Pokud však chceme výsledky získané v umělém prostředí extrapolovat na přirozené podmínky musíme být obezřetní. Laboratorní experimenty se ke studiu pohybu, chování nebo cirkadiánních rytmů využívají často (Weseloh 1993) a bylo vyvinuto mnoho metod (Reynolds & Riley 2002). V laboratorním experimentu bylo například zjištěno, že je možné dle morfologie hlavy střevlíků odhadovat jejich životní styl (Bauer & Kredler 1993).

Analýza obrazu

V laboratorních podmínkách lze ke studiu chování střevlíků jednodušeji použít kamery s infračerveným přísvitem (Allema *et al*. 2012). Infračervený přísvit (IRR) je vhodné řešení pro nahrávání videozáznamu objektu i v naprosté tmě (Ou-Yang *et al*. 2011). Je obecně známo, že cena elektroniky vzhledem ke kvalitě v čase rychle klesá. Tento trend se týká také kamer s infračerveným přísvitem a pevných disků k zápisu dat. Pořídit záznam experimentu tedy není z technického a finančního pohledu velký problém. Získat ze záznamu použitelná a statisticky srovnatelná data však není snadná záležitost.

Původním přístupem k analýze videozáznamu bylo manuální prohlížení. Samozřejmě lze podle potřeby upravit rychlost přehrávání, celkově je však toto řešení nesmírně časově náročné a spolehlivost excerpce dat může být snížena individuální variabilitou pozorovatele. V dnešní době existuje relativně mnoho přístupů, jak analyzovat videozáznam pomocí počítačového programu (Dell *et al.* 2014).

Cíle práce

- Hlavním cílem diplomové práce je zjistit, zda radiotelemetrický transmitter detekovatelně ovlivní pohyblivost individuí střevlíka ullrichova ve stanoveném časovém intervalu.
- Hypotéza H_0 je následující: zátěž rovnající se hmotnosti transmitteru pohyblivost modelového organismu neovlivňuje.
- Vedlejším cílem diplomové práce je zjistit, zda radiotelemetrický transmitter detekovatelně ovlivní pohyblivost individuí střevlíka ullrichova v závislosti na pohlaví jedince.
- Z uvedené hypotézy vycházely předchozí radiotelemetrické studie in situ provedené za využití uvedeného druhu (Růžičková & Veselý 2016; Růžičková & Veselý 2018), na jejichž realizaci jsem se podílel.

Materiál a metodika

Experiment

Výzkum probíhal během let 2017–2019. Pro studii byl vybrán střevlík ullrichův *Carabus ullrichii* (Germar, 1824). Střevlík ullrichův je apterní, robustní brouk o délce těla 22–33 mm. Má měděné zbarvení a skulpturované krovky. Rozmnožuje se na jaře, larvy se vyvíjí během léta a zimují dospělí jedinci. Rozmnožování probíhá pouze jednou za sezónu. Dospělci se objevují v druhé polovině srpna a jsou aktivní až do hibernace (Hůrka 1996; Turin *et al.* 2003).

Odchyt proběhl na území CHKO Litovelské Pomoraví v červnu roku 2018. Jedinci použiti v experimentu pocházeli z jedné lokality poblíž informačního střediska CHKO Litovelského Pomoraví – Šargoun (49°41'29.5"N 17°06'11.0"E, cca 230 m.n.m.). Jedince jsem odchytával pomocí živolovných zemních pastí zhotovených z plastových kelímků o objemu 0,5l. Návnadou byla kočičí konzerva. Pastí jsem instaloval 100 kusů a kontroloval jsem je každý den.

Pokusné arény

Celkem bylo použito 8 experimentálních výběhů (arén) pro brouky. Jako arény byly použity plastové nádoby s dnem ve tvaru kruhu. Arény měly hladké vnitřní stěny, aby po nich brouci nemohli vyšplhat ven. Vnitřní průměr dna nádoby byl 380 mm a barva nádoby šedo/béžová. Dno arény bylo vyplněno 30 mm vysokou vrstvou říčního písku. Experiment byl prováděn v podmínkách s konstantní teplotou a vlhkostí (22 °C, 60 %). Uprostřed arény byl umístěn úkryt pro brouka, vyrobený z plastové misky pod květináč. Miska byla otočena dnem vzhůru a na protějších stranách byly až po strop úkrytu vyříznuty 2 otvory, tím vznikly vstupy do úkrytu.

Design experimentu

Každou arénu snímala jedna kamera a byl v ní přítomen právě jeden brouk. Experiment probíhal ve dvou blocích po čtyřech dnech, přičemž pro druhý blok byli vybráni noví jedinci, opět v poměru pohlaví 1:1. Dohromady se tedy experimentu zúčastnilo 16 jedinců. V osmi arénách bylo tedy v jeden okamžik 8 jedinců v poměru pohlaví 1:1. První den experimentu měli

jedinci číslo 1–4 nalepen na krovkách transmitter, druhá polovina (jedinci č.5–8) byla bez transmitteru (kontrolní skupina).

Při kontrole za 24 hodin byli všichni brouci z arén vytaženi a transmittery byly nasazeny druhé polovině jedinců. Tento postup byl každý den opakován. Během výměny transmitteru byly zaznamenány následující údaje: hmotnost střevlíka, hmotnost transmitteru, celková hmotnost střevlíka s transmitterem, teplota v laboratoři a vzdušná vlhkost. Hmotnosti byly váženy s přesností na setinu gramu. Brouci byli nakrmeni ad libitum před započetím experimentu. Jako potrava byly použity kousky masa z kočičí konzervy. Druhé krmení proběhlo po dvou dnech, tedy v polovině trvání experimentu. Potrava byla broukům zpřístupněna po dobu dvou hodin, poté byla odebrána.

Transmitter

Byl použit komerčně dostupný transmitter PicoPip o hmotnosti 0,4 gramu a rozměrech 13 × 5 × 3 mm, (Biotrack Ltd., Wareham, United Kingdom, www.biotrack.co.uk). Tedy stejný typ transmitteru, jaký byl použit v terénních radiotelemetrických studiích pohybové aktivity (Růžičková & Veselý 2016; Růžičková & Veselý 2018. Jedná se o stejné stejné (už neaktivní) kusy, které jsme používali při terénním výzkumu v Litovelském Pomoraví (Růžičková & Veselý 2018).

Průměrná hmotnost použitých transmitterů je 0,4 gramu (0,36–0,44). To představuje v průměru 48 % hmotnosti samce a 36 % hmotnosti samice střevlíka. Hmotnosti jednotlivých jedinců jsou uvedeny v **tabulce č. 1.** K přilepení transmitteru na krovky brouka jsem použil sekundové lepidlo Loctite Super Attak Power Flex Gel, které má gelovou konzistenci. Střevlík ullrichův krovky neotvírá. Nejvhodnější je tedy transmitter umístit podélně na šev krovek, počínaje od báze krovek dále. Anténou směrem k distálnímu konci těla.

ID	pohlaví	den experimentu					průměrná hmotnost	hmotnost transmitter/jedinec (%)
		1	2	3	4	5		
1	M	0.80	0.80	0.80	1.18	0.79	0.87	**46%**
2	F	1.47	1.39	1.39	1.82	1.40	1.49	**27%**
3	M	0.81	0.81	0.80	1.23	0.81	0.89	**45%**
4	F	1.08	1.06	1.08	1.47	1.07	1.15	**35%**
5	M	0.96	0.81	0.93	0.81	0.71	0.84	**47%**
6	F	1.06	1.07	1.10	1.15	1.03	1.08	**37%**
7	M	0.89	0.84	0.86	0.80	0.82	0.84	**48%**
8	F	0.97	0.86	0.92	0.83	0.82	0.88	**45%**
9	M	0.79	0.78	0.79	0.90	0.91	0.83	**48%**
10	F	1.18	0.98	0.98	0.78	0.78	0.94	**43%**
11	M	0.80	0.77	0.77	0.93	0.91	0.84	**48%**
12	F	0.91	0.91	0.91	0.78	0.73	0.85	**47%**
13	M	0.75	0.80	0.79	0.76	0.70	0.76	**53%**
14	F	1.15	1.20	1.17	1.20	1.13	1.17	**34%**
15	M	0.80	0.83	0.80	0.77	0.73	0.79	**51%**
16	F	1.41	1.40	1.35	1.30	1.28	1.35	**30%**

Tabulka č. 1: Hmotnosti transmitteru vzhledem k hmotnostem střevlíků, ID značí číslo jedince

Videotechnika

Kontinuální videozáznam byl pořízen pomocí bezpečnostních videokamer značky BML Safe CCTV 8CH. Maximální rozlišení kamer je 1280 x 720, za dostatku světla je snímaný obraz barevný. Kamery jsou vybaveny infračerveným přísvitem (IRR) pro natáčení i v úplné tmě (poté je videozáznam ve stupních šedi). Přísvit je zajištěn 24 infračervenými led diodami o průměru 5 mm. DVR procesor vytvářel videa o délce jedné hodiny. Odstranil jsem záznam aktivity, který by mohl být ovlivněn činností člověka. Z datasetu jsem odstranil videa od 18:00 do 22:00, jelikož výměna transmitteru probíhala v 19:00 každý den.

Videoanalýza

Rozlišení videozáznamu je 1280 x 720 při 12 snímcích za sekundu. Velikost pořízených videí jsem nejprve zredukoval pomocí softwaru ffmpeg na cca 15 Mb/hodinu záznamu. Dataset s videozáznamem analyzoval Mgr. Bartosz Baran (PhD Student, Department of Animal Physiology and Ecotoxicology, University of Silesia in Katowice), který na data aplikoval automatickou analýzu obrazu. Videoanalýza byla provedena v programu **DeepLabCut** (McLean & Volponi 2018). Program lze získat zdarma jako balíček programovacího jazyka Python (Rossum 1995). Výsledkem videoanalýzy byla data o poloze střevlíka v aréně. Jde

o kartézskou soustavu souřadnic v rovině, jednoduše řečeno souřadnice x, y polohy objektu ve dvourozměrném časoprostoru.

Tvorba trajektorie

Ze souřadnic polohy jsem vypočítal trajektorie pohybu brouka. K výpočtu trajektorie jsem použil funkce knihovny *trajr* (McLean & Volponi 2018) programu R 3.5.2 (R Core Team 2018). Konkrétně se jednalo o funkce *TrajFromCoords, TrajScale a TrajLength*. Výpočet reálné velikosti jednoho pixelu jsem provedl odečtením maximálních souřadnic polohy brouka z videozáznamu a pomocí funkce *TrajScale* jsem reálnou vzdálenost implementoval do trajektorie. Z trajektorie jsem pak získal údaje o celkové délce pohybu v metrech během jednotlivých hodinových intervalů.

Knihovna *trajr* je volně dostupná na internetové adrese: https://cran.r-project.org/web/packages/trajr/index.html. Z důvodu velkého množství souborů, jsem proces zautomatizoval pomocí mnou vytvořeného skriptu v programu R. Celková délka trajektorie byla využita jako závislá proměnná ve statistické analýze a byla vypočítána z každého hodinového úseku zvlášť. Každý úsek začínal v celou hodinu.

Statistická analýza

Experiment pro zjištění vlivu transmitteru testuje rozdíly mezi experimentálním zásahem a kontrolní skupinou, hlavní vysvětlující proměnná je přítomnost/nepřítomnost tagu. Celkovou délku trajektorie představující vysvětlovanou proměnnou jsem zaokrouhlil na celé metry. Pro každou hodinu záznamu jsem pracoval s celkovou délkou trajektorie, číslem jedince, přítomností/nepřítomností transmitteru a pohlavím jedince.

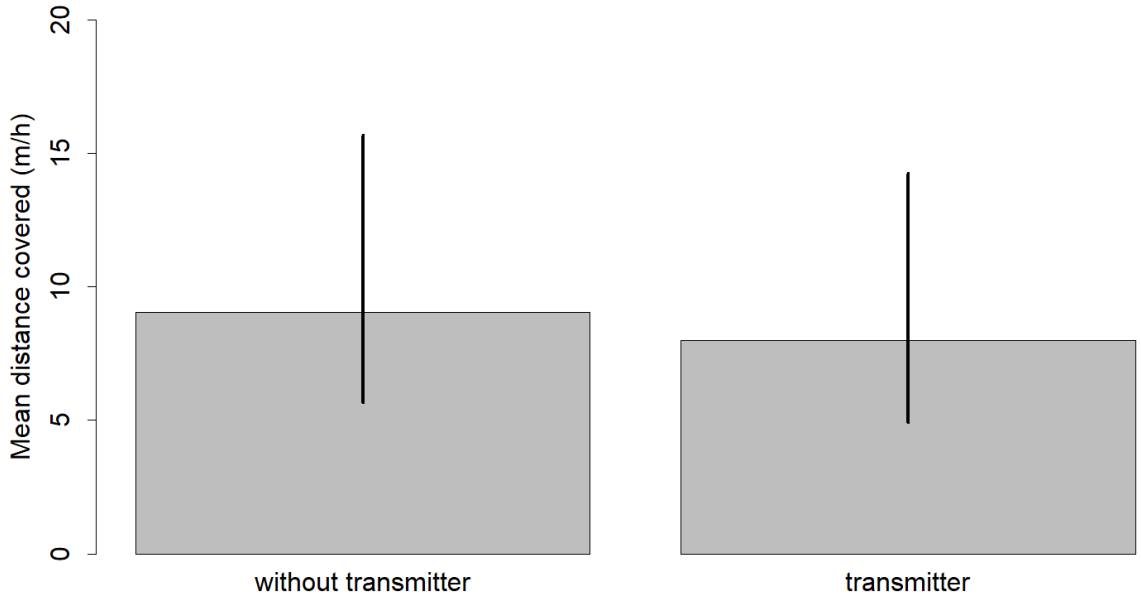
Pro zjištění vlivu transmitteru na pohyblivost jedinců jsem použil zobecněné lineární smíšené modely (*generalized linear mixed models – GLMM*) s negativně binomickým rozdělením z důvodu velkého množství nul přítomných v datasetu (tzv. *zero-inflated dataset*, Ver Hoef & Boveng 2007; Bolker *et al.* 2009). Ve smíšených modelech jsem překonanou vzdálenost za hodinu použil jako vysvětlovanou proměnnou. (Ne)přítomnost tagu jako (kategorická proměnná, přítomnost/nepřítomnost) a pohlaví (kategorická proměnná) jsem použil jako fixní efekty, zatímco ID jedince jako efekt náhodný. Nejprve jsem zkonstruoval tzv. plný model (*full model*), obsahující všechny vysvětlující proměnné a jejich interakci. Poté jsem

z modelu postupně odstraňoval nesignifikantní interakce a proměnné pomocí tzv. *backward selection*. Pro výpočet jsem použil funkce *glmer.nb* z knihovny *lme4* (Bates *et al.* 2015)

Výsledky

Během celého experimentu neuhynul žádný střevlík a nedošlo ani k samovolnému odlepení transmitteru. Videoanalýza byla aplikována na více než 1500 hodin videozáznamu. Z toho bylo po vytřídění statisticky analyzováno 1268 hodin videozáznamu, z nichž bylo 1112 hodin (87,6 %) bez aktivního pohybu.

Výsledky zobecněných minerálních smíšených modelů neukázaly signifikantní vliv přítomnosti transmitteru na pohyblivost sledovaných střevlíků (χ^2 = 1.941, df = 1, p = 0.163), přijímáme tedy nulovou hypotézu. Průměrná vzdálenost uběhnutá střevlíkem za jednu hodinu byla pro nezatížené/zatížené jedince 9,04/7,98 metru, viz **obr. č. 3.**

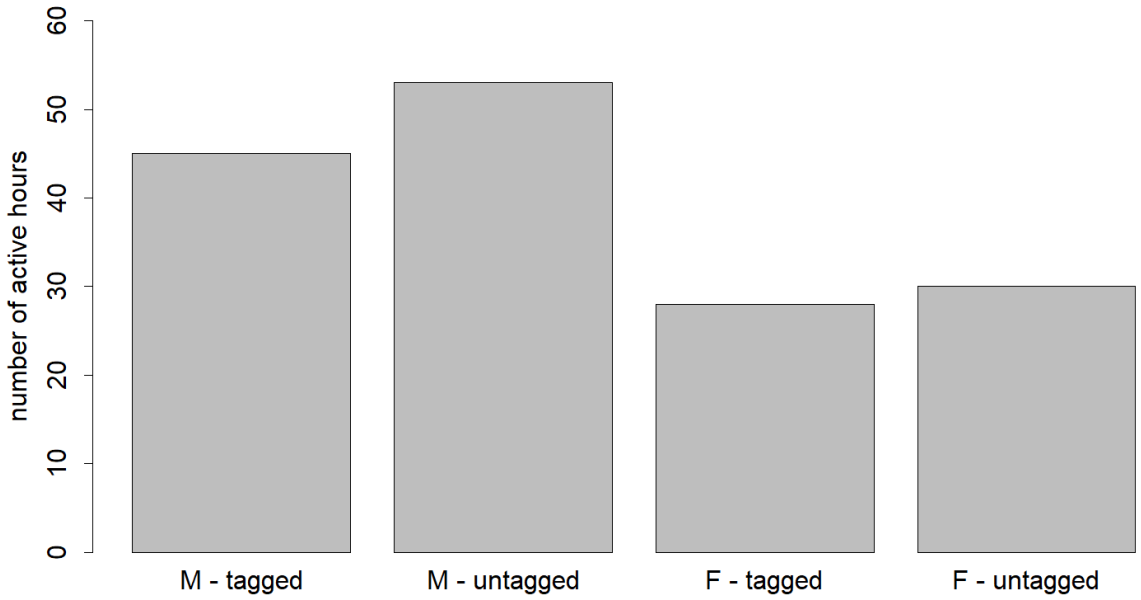


Obr. č. 3: Průměrná délka trajektorie v metrech za hodinu u zatížených (transmitter) a nezatížených (without transmitter) jedinců. Chybové úsečky značí 95 % konfidenční intervaly.

Statisticky významný rozdíl nebyl zjištěn ani mezi pohlavími (χ^2 = 0.003, df = 1, p = 0.954). Průměrná vzdálenost uběhnutá samicí za hodinu byla 4,5 metru, zatímco samci uběhli průměrně 12,41 m/h. Počet aktivních hodin (délka trajektorie delší než 0 metrů) byl u samců vyšší viz **tabulka č. 2** a **obr. č. 4.**

počet aktivních hodin			
samec		samice	
tag	bez	tag	bez
45	53	26	30

Tabulka č. 2: Počet hodin, kdy byli jedinci aktivní dle pohlaví a zátěže/bez zátěže (tag/bez).



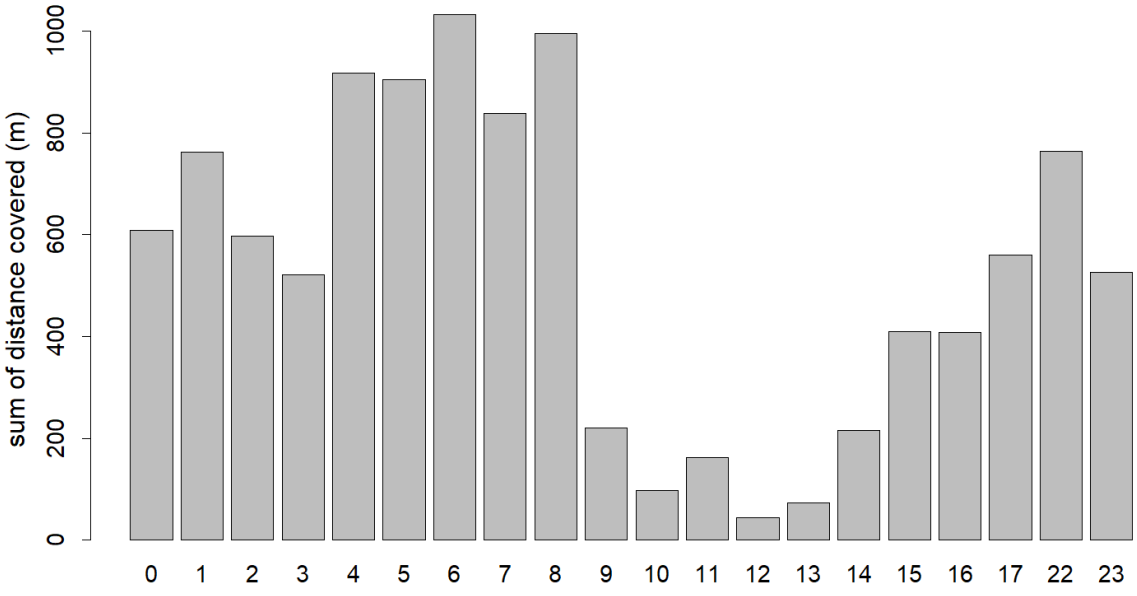
Obr. č. 4: Počet hodin, kdy byli jedinci aktivní, členěný dle zátěže/bez zátěže (tagged/untagged) a samců/samic (M/F).

Každý jedinec měl na sobě transmitter celkem 2 dny a dva dny se pohyboval bez něj. Je tedy možno znázornit celkovou uběhnutou vzdálenost každého jedince bez ohledu na přítomnost transmitteru viz v **tabulka č. 3.** U jedince číslo 5 je celková vzdálenost velmi vysoká, možné důvody jsou rozebrány v diskuzi.

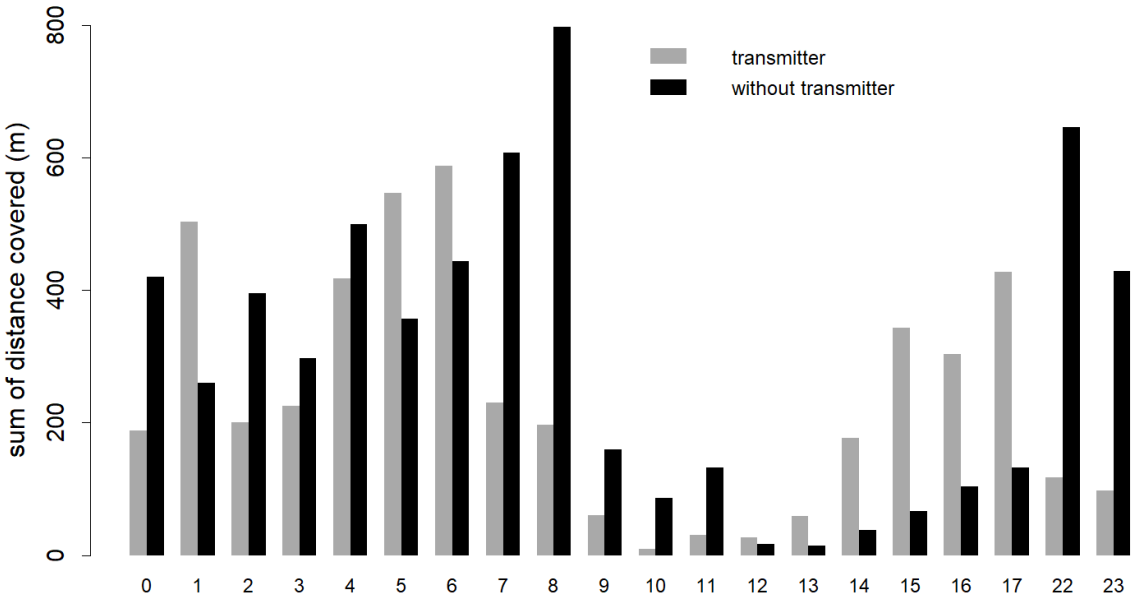
ID	pohlaví	**hmotnost transmitter/jedinec (%)**	**celková uražená vzdálenost (m)**
1	F	**46%**	**187**
2	M	**27%**	**0**
3	F	**45%**	**0**
4	M	**35%**	**0**
5	F	**47%**	**5413**
6	M	**37%**	**407**
7	F	**48%**	**250**
8	M	**45%**	**1104**
9	F	**48%**	**1203**
10	M	**43%**	**351**
11	F	**48%**	**6**
12	M	**47%**	**143**
13	F	**53%**	**753**
14	M	**34%**	**219**
15	F	**51%**	**0**
16	M	**30%**	**546**

Tabulka č. 3: Celková vzdálenost v metrech uběhnutá jednotlivými střevlíky bez ohledu na přítomnost transmitteru, ID značí číslo jedince.

Střevlíci byli bez ohledu na pohlaví nebo experimentální zásah aktivní převážně ráno a večer viz **obrázek č. 5. a 6.** Z datasetu byla odstraněna videa od 18:00 do 22:00 viz metodika. Diurnální aktivita nebyla statistickým modelem testována.



Obr. č. 5: Celková délka trajektorie v metrech během jednotlivých hodin pro všechny jedince.



Obr. č. 6: Celková délka trajektorie v metrech během jednotlivých hodin pro zatížené (tmavě šedá-transmitter) a nezatížené (černá-without transmitter) jedince.

Diskuze

S rostoucí technologickou a finanční dostupností telemetrie se zvyšují možnosti výzkumu pohybové aktivity živočichů, včetně hmyzu (Kissling *et al.* 2013). Každá výzkumná metoda má svoje limity, u telemetrie jsou to především rozměry a hmotnost transmitteru. Vliv hmotnosti radiotelemetrického vysílače na pohybovou aktivitu střevlíků byl prozatím kvantifikován pouze v jediné disertační práci (Deichsel 2007), ačkoliv se tato metoda k výzkumu střevlíků běžně využívá. V citované studii byl však prokázán pouze vliv na tvar trajektorie, ne na celkovou míru aktivity.

Mého experimentu se zúčastnilo 16 jedinců v poměru pohlaví 1:1. Rozdíl v průměrné délce trajektorie mezi skupinami s/bez transmitteru byl 1,06 metru/hodinu ve prospěch jedinců bez zátěže. Výsledek srovnání není statisticky signifikantní. Je pravděpodobné, že výsledek není statisticky signifikantní, protože rozdíl opravdu neexistuje. Právě vysvětlení, že střevlíci nejsou hmotností transmitteru ovlivněni, je dle mého názoru nejreálnější. Rozdíl v průměrné délce trajektorie/hodinu mezi skupinami je totiž vzhledem k variabilitě mezi jedinci pouze 1.06 metru viz **obr. č. 3.** a **tabulka č. 3.** Variabilita v uběhnuté vzdálenosti mezi jedinci byla mnohem větší, než rozdíly mezi skupinami s/bez transmitteru. Tato variabilita byla pozorována i v terénních studiích (Negro 2008; Růžičková & Veselý 2016; Růžičková & Veselý 2018). Mezipopulační variabilita v aktivitě byla v mé práci částečně potlačena výběrem brouků ze stejné lokality (Thiele 1977; Tuf *et al.* 2012).

Další vysvětlení poskytuje samotný design experimentu. Jedinec byl zatížen transmitterem pouze po dobu jednoho dne, přitom doba zátěže může být pro ovlivnění pohyblivosti také důležitým faktorem. Dá se předpokládat, že jedinec s nepřetržitě připevněným transmitterem po delší dobu (týden), bude zátěží ovlivněn více. Pro budoucí výzkum bych tedy navrhoval spolu se zvýšením počtu sledovaných jedinců také delší nepřetržitou dobu expozice transmitterem u jednoho jedince. To by však vedlo k zásadně většímu objemu dat a výpočetně náročnější analýze obrazu.

Aktivita střevlíků, bez ohledu na pohlaví nebo experimentální zásah, byla nejvyšší v ranních a večerních hodinách. Období nejvyšší aktivity (viz **obrázek č. 5. a 6.**), bylo soustředěno okolo východu a západu slunce, který byl v době experimentu přibližně v 5:00 a 21:00. Světelné podmínky se v laboratoři díky přítomnosti malých oken měnily přirozeně.

Střevlíci tedy mohli změny osvětlení vnímat. Diurnální aktivita však nebyla kvůli charakteru experimentu statisticky testována.

Periodicita aktivity střevlíků během dne je běžně známá, přičemž je primárně řízena endogenními fyziologickými faktory (Thiele 1977). Vnější podmínky mají na aktivitu střevlíků, jakož i ostatních poikilotermních živočichů, velký vliv. Proměnné, které zásadně ovlivňují aktivitu střevlíků jsou světlo teplota a vlhkost (Thiele 1977). Aktivita střevlíků pozitivně koreluje s teplotou s druhově specifickým teplotním optimem (Brunsting 1983; Růžičková & Veselý 2016). Vliv denní doby na aktivitu střevlíka *Carabus ullrichii* byl pozorován také v radiotelemetrických studiích in situ (Růžičková & Veselý 2016; Růžičková & Veselý 2018). Diurnální aktivita jedinců v těchto studiích vykazovala velmi podobný charakter jako v mé práci.

Jelikož experiment sledoval pouze vliv hmotnosti transmitteru, bylo vhodné zachovat teplotu i vlhkost konstantní. Umístění laboratoře v suterénu katedry Zoologie UPOL postačilo k zajištění konstantní vlhkosti a teploty prostředí. Místnost je totiž téměř celá pod povrchem terénu.

Brouci po většinu doby experimentu nebyli aktivní, přičemž převážnou většinu inaktivní doby byli schovaní v úkrytu. V úkrytu se pravděpodobně cítili bezpečněji, jelikož zde bylo méně světla. Poměrně málo času strávili zahrabaní v písčitém substrátu. Jen malý časový úsek experimentu trávili na volném prostoru bez pohybu. Nízká aktivita střevlíků mohla být způsobena i teplotou v laboratoři, která byla sice stabilní, ale pro střevlíka ullrichova nejspíš moc vysoká. Obě citované studie (Růžičková & Veselý 2016; Růžičková & Veselý 2018) naznačují, že optimální teplota druhu je okolo 15 ºC, zatímco teplota v mém experimentu byla 22 °C.

Reynolds & Riley (2002) uvádí, že ke studiu chování hmyzu je nejvhodnější světlo, které se blíží infračervenému spektru (750–900nm), protože nemá na chování hmyzu vliv. U střevlíka druhu *Pterostichus melanarius* (Illiger, 1798) byl zjištěn rozdíl v aktivitě pod bílým (320–780nm), červeným (620,5–645nm) a infračerveným světlem (880nm), přičemž bílé světlo snižovalo aktivitu nejvíce, a infračervené nejméně (Allema 2012). Efekt však zcela vyloučit nelze a jako nejvhodnější (i když náročné) řešení by mohla být replikace celého experimentu s různými světelnými zdroji.

V úkrytu bylo méně světla i během noci, a to z důvodu IRR přísvitu kamer. Přísvit navíc nebyl zapnut jenom v noci, ale kromě nejsvětlejší části dne (8–13:00) byl zapnut pořád. IRR

přísvit mohl být důvodem proč byli střevlíci většinu času schovaní v úkrytu. Je možné, že celkové vzdálenosti pohybu střevlíků byly přísvitem ovlivněny. Jelikož však byli všichni jedinci snímáni stejnými kamerami a byl testován pouze vliv transmitteru, nepředpokládám, že by byly ovlivněny výsledky srovnání.

Trajektorie střevlíků měly dle předpokladu kruhový tvar, způsobený kruhovým půdorysem arény. Jinak řečeno brouci většinu aktivního času běhali okolo okrajů arény. Jev bych v tomto případě nejvýstižněji nazval anglickým termínem *edge-walking*, volně přeloženo jako „chůze okolo okraje“, převzato ze studie (Berry & Holtzer 1990). Besson & Martin (2004) uvádí, že stejný pohybový projev byl pozorován i u octomilky obecné *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (čel. Drosophilidae, Diptera). Pohyb okolo stěn nebo předmětů je běžný napříč systémem živočichů a zná jej každý, kdo viděl běhat zvíře uvnitř malého výběhu. Potemník skladištní *Tribolium confusum* Jacquelin du Val, 1863 (čel. Tenebrionidae), byl testován na přítomnost daného jevu v experimentální aréně o čtvercovém půdorysu a délce stěny 20 x 20 cm (Young *et al.* 2013). Brouci strávili u okraje arény o 25 % více času, než predikoval model s pohybem nezávislým na okrajích. Rozdíl byl statisticky signifikantní při velikosti vzorku 54 jedinců. Zároveň se jedinci vyskytovali v rozích arény vzhledem k ploše nepoměrně mnoho času. Výše uvedené skutečnosti vedly k rozhodnutí použít v mém experimentu kruhový půdorys arény. Dle mého názoru by se v aréně s hranatým půdorysem střevlíci zdržovali v rozích, případně by se zde snažili zahrabat.

V některých studiích je použitelnost radiotelemetrie pro střevlíky potvrzována na základě pozorování zatížených jedinců při běžných činnostech. Běžnými prvky chování se rozumí pohyb, zahrabávání se, lov, konzumace potravy nebo kopulace (Negro *et al.* 2008; Růžičková & Veselý 2016; Růžičková & Veselý 2018). Tyto přirozené projevy potvrzují, že jsou střevlíci s připevněným radiotelemetrickým transmitterem schopni žít. Pozorovaný lov a kopulace dávají předpoklad, že mohou v přirozeném prostředí s transmiterem perzistovat dlouhodobě, a dokonce se rozmnožovat. Na základě těchto pozorování však nelze vyloučit, že je chování včetně pohybu pozměněno.

Deichsel (2007) v jediné podobně zaměřené studii testoval vliv transmitteru na tvar trajektorie, další řádky budou věnovány této studii. Jako modelový druh byl vybrán *Carabus nemoralis* (Müller, 1764). Použity byly pouze samice, jelikož jsou větší než samci. Experiment proběhl v laboratorních podmínkách, chování bylo snímáno na videokameru a transmitter vážil v průměru 70 % hmotnosti jedince, což je přibližně o 20 % více než v mé studii. Pokusní jedinci byli nahráváni při pohybu mezi překážkami, aby se dal testovat i vliv tvaru transmitteru.

Zatížení jedinci (na rozdíl od nezatížených) po oběhnutí obvodu překážky změnili směr pohybu, aby pokračovali ve stejném směru, ve kterém k překážce přiběhli. Velmi podobné chování měla i skupina brouků, kteří nebyli zatíženi, pouze drážděni k útěku poklepáváním na dorsální stranu abdomenu. Pohyb zatížených a drážděných brouků byl cílený a dal by se charakterizovat jako *directed movement,* viz úvod.

Bylo zjištěno, že transmiter má vliv na směr pohybu testovaných jedinců. Trajektorie zatížených brouků vykazovaly oproti kontrolní skupině průkazně přímější směr od místa vypuštění. Transmitter měl tedy vliv na tvar trajektorie, ne na celkovou míru aktivity. Výsledky citované dizertační práce vnáší nové světlo do problematiky, kdy je pravděpodobné, že analýzy trajektorií získané radiotelemetrií mohou být hmotností transmitterů ovlivněny. *Directed movement* může být artefaktem chování brouků ovlivněných hmotností transmitteru (Deichsel 2007).

Průměrná hmotnost transmitteru v mém experimentu byla 0,4 g (0,36–0,44), což je o 0,1 gramu více než hmotnost nového transmitteru (0,3 g). Vyšší hmotnost je způsobena použitím transmitterů, které byly použity již při telemetrické studii (Růžičková & Veselý 2018). Při lepení v terénu jsme totiž použili mnohem více lepidla a zároveň se na ne zcela vytvrzené lepidlo nalepil prach a drobné kamínky. Lze tedy předpokládat, že daný transmitter při praktickém použití v terénu váží o 0,1 gramu více než je deklarováno.

Průměrná hmotnost samice byla 1,1 g (0,73–1,82), průměrná hmotnost samce pak 0,8 g (0.7–1,23). Mezi jedinci byla velká variabilita ve hmotnosti. Tato variabilita byla u samic větší, což mohlo být způsobeno tím, že některé ještě nebyly vykladené. Dalším vysvětlením by mohlo být, že někteří jedinci se před zahájením experimentu nasytili více než jiní. Je totiž prokázáno, že střevlíci jsou schopni pozřít v poměru k hmotnosti těla velké množství potravy. U testovaného druhu je to průměrně 1,051 g/den při hmotnosti brouka 0,680 gramu (Thiele 1977).

V mé diplomové práci jsem vliv tvaru transmitteru netestoval. Jeho případný vliv byl potlačen designem experimentu. Střevlíci se do substrátu na dně arény zahrabávali bez sebemenších problémů, což bylo možno sledovat na videozáznamu. Lze to brát jako důkaz, že střevlíci nejsou tvarem transmitteru ovlivněni. Je však třeba si uvědomit, že říční písek v této vrstvě neklade velký odpor, ve srovnání například s hutnější půdou propletenou kořeny rostlin. Každopádně transmitter tvar těla střevlíka zásadně změní. Ačkoliv to nepředpokládáme, vliv

tvaru na pohyb v přirozeném biotopu vyloučit nemůžeme. Pro testování vlivu tvaru by bylo vhodné navrhnout jiný experiment, kdy by byli jedinci nuceni prolézat prostorem s překážkami.

V biologických/etologických studiích nás většinou zajímají změny parametrů chování v čase, například poloha zvířete v prostoru, natočení těla, poloha tělních částí a podobně. Z těchto parametrů se poté dají analyzovat, případně kvantifikovat jednotlivé prvky chování. V mé studii šlo o zjištění polohy jedince ve dvourozměrném časoprostoru. Jednalo se o relativně jednoduchý požadavek, kterého však nebylo vůbec jednoduché dosáhnout.

Původní myšlenka byla analyzovat videozáznam manuálně. To jsme po domluvě a úvodních pokusech zavrhli. Automatická analýza videozáznamu v dynamicky se měnících podmínkách, jakými jsou změny světlosti, podkladu apod, je však poměrně náročná (Mathis *et al.* 2018).

Standardem podobných experimentů je značení jedinců reflexními barvami nebo značkami, které odrážejí přirozené světlo nebo infračervený přísvit z kamery, čímž se detekce polohy značně usnadňuje (Vargas-Irwin *et al*. 2010). Toto reflexní značení může v určitých případech sledované jedince ovlivňovat (Nakamura *et al.* 2016). Reflexní značení jsme v experiment nevyužili, měli jsme totiž k dispozici kvalitní kamery a byl silný předpoklad, že videoanalýza bude bezproblémová.

Ze všech vyzkoušených možností měl nejlepší výstup při relativně malých hardwarových nárocích použitý program **DeepLabCut** (Mathis *et al.* 2018). Tento program je neuronovou sítí s prvky hlubokého učení. Využívá nástroje **DeeperCut** jednoho z nejlepších algoritmů k multiobjektovému určování polohy (Insafutdinov *et al.* 2016). Zároveň využívá umělé modely neuronových sítí **ResNet**. Využité varianty **ResNet** jsou předtrénované na obrovských obrazových datasetech s názvem **ImageNet** (He *et al.* 2016). Díky tomu a také díky využívání takzvaného přenosového učení vykazuje program **DeepLabCut** obrovskou efektivitu. K natrénování neuronové sítě stačí pouze stovky obrázků (Mathis *et al.* 2018). Analýza je navíc velmi progresivní, jelikož je využito informace o poloze objektu z předchozích obrázků a neanalyzuje se každý obraz zvlášť jako by byl jedinečný. Rychlost je obrovská, obrázek o rozlišení 278 x 278 pixelů je možné analyzovat rychlostí 250 obrázků za sekundu již na relativně běžné grafické kartě, NVIDIA GeForce GTX1080 Ti (Mathis & Warren 2018).

K analýze pohybu není třeba fyzické značení jedinců nebo částí jejich těl. Struktury, které chceme sledovat se při trénování neuronové sítě zadávají manuálně až na základě

videozáznamu. Poté je program schopen rozeznávat polohu naučených struktur, a navíc se s narůstajícím počtem zpracovaných dat rozpoznání struktur zdokonaluje.

Analýza obrazu pomocí neuronových sítí je velmi nový a progresivní přístup (Dell 2014). Neuronová síť DeepLabCut okamžitě vyvolala rozruch a dá se očekávat její rozvoj a významné praktické využití (Nath *et al.* 2019; Wei & Kording 2018). Troufnu si říci, že pro ekologii, etologii, ale i medicínu začíná s rozšířením podobných modelů zcela nová kapitola.

Při dostatečném rozlišení obrazu umožňuje **DeepLabCut** analyzovat například pohyb jednotlivých hmatových chloupků laboratorního hlodavce. Taková citlivost analýzy umožňuje studovat chování na základě mnohem kvalitnějších a objemnějších datových souborů, než tomu bylo kdykoliv předtím.

Obrovská celková vzdálenost, kterou uběhl brouk číslo 5 může být způsobena chybou videoanalýzy. U ostatních brouků se délky trajektorií pohybují v reálných hodnotách. Možným vysvětlením by mohly být časté změny osvětlení, zejména z důvodu mnohonásobného zapnutí/vypnutí IRR přísvitu během období mezních světelných podmínek čidla. Existuje určitá chyba videoanalýzy, kterou lze jen těžko definovat. Na výsledek analýzy mohl mít vliv poměrně vysoký počet snímků za sekuntu (12) spolu s typem pozadí. Při pohybu střevlíka totiž docházelo k přesunu zrnek říčního písku, který byl použit jako substrát. Program mohl tuto změnu podkladu vyhodnocovat jako pohyby brouka do stran, čímž celkové vzdálenosti narostly. Není důvod předpokládat, že by případná chyba videoanalýzy byla nebalancovaná a působila jen na některá videa. Použití stejných kamer a analýzy pro celý experiment zaručuje, že poměry uběhnutých vzdáleností změněny nebyly.

Pro případný příští experiment doporučuji na každé kameře mechanicky inaktivovat senzor IRR přísvitu. To by mělo za následek neustále zapnutý přísvit kamer a videozáznam by měl stabilnější obraz, čímž by se velmi pravděpodobně zjednodušila analýza obrazu. Další možnost je změnit podklad, tedy vyměnit říční písek například za bílý papír. Tím by se zvýšil kontrast a výrazně zjednodušila analýza obrazu, ačkoliv za cenu méně přirozených podmínek experimentu. Další možností, jak zjednodušit analýzu obrazu by bylo reflexní značení zvířat, tím by se opět zvýšil kontrast. Jelikož střevlíci nevykazují žádnou negativní reakci na použité lepidlo, reflexní značka přilepená malým množstvím lepidla na pronotum by je podle mého názoru neměla ovlivnit.

Pokusil jsem se verifikovat analýzu obrazu provedenou programem **DeepLabCut**. S pomocí Michaela Askerovova (Institute of Computer Science and Information and Media Technology, Brandenburg University of Technology Cottbus-Senftenberg, Cottbus, Germany) jsem spustil analýzu obrazu přes algoritmus v programu MatLab. Tento algoritmus však hledá objekt na každém snímku zvlášť, což je výpočetně velmi náročné. Analýza jedné hodiny záznamu na mém notebooku trvala 6 hodin (8 Gb RAM (DDR4); Intel(R) Core(TM) i7-7500U @ 2,70 GHz).

Ze souřadnic polohy střevlíka bylo nutno nejprve vytvořit trajektorii pohybu. Využil jsem program R, konkrétně knihovnu *trajr*. Ta byla uvolněna na jaře roku 2018, jde tedy o velmi aktuální projekt (McLean & Volponi 2018). Již krátce po zveřejnění bylo knihovny využito k analýze chování motýlů čeledi Sesiidae. Trajektorie vytvořené pomocí knihovny poskytly první experimentální důkaz o behaviorální mimezi u této čeledi (Volponi *et al*. 2018).

Využil jsem hlavně funkce *TrajFromCoords*, *TrajScale* a *TrajLength*. Trajektorie jsem vytvořil spojením jednotlivých bodů, průsečíků x,y souřadnic v čase (funkce *TrajFromCoords*). Pomocí funkce *TrajScale* jsem poté spočítal reálnou délku jednoho pixelu a zadal do trajektorie. Výstup funkce *TrajLength* jsem využil jako závislou proměnnou pro statistickou analýzu.

Při jiném designu experimentu by bylo možné pomocí knihovny *trajr* analyzovat 2 základní typy epigeického pohybu střevlíků, tedy *random walking* a *directed movement*. Jiným designem mám na mysli delší čas experimentu a větší arénu s podmínkami potlačujícími *edge-walking*. Tento přístup by mohl být využit i při analýze prostorových dat získaných jinými metodami.

Knihovna *trajr* byla vytvořena speciálně pro vytváření a analýzu trajektorií pohybu živých organismů. *Trajr* pracuje s trajektoriemi ve 2D i 3D prostoru. Obsahuje funkce využitelné pro analýzu různých pohybových projevů od jednobuněčných organismů po kytovce. Funkce je možno samozřejmě také upravit a vyladit dle specifických požadavků. Je možné počítat různé charakteristiky trajektorie včetně rychlosti a zakřivenosti, nebo trajektorie vytvářet. Charakteristiky pohybu, které je možné modelovat, jsou implementované matematické modely z různých vědeckých publikací. Autoři přepsali tyto modely do funkcí spolu s citací originálního zdroje, je tedy možné se snadno dopátrat jejich významu. Velmi výhodná je implementace funkcí do knihovny pro velmi účinný statistický software, kterým

program R bezesporu je. Velké plus je bezplatná dostupnost. Knihovnu hodnotím jako účinný a uživatelsky přívětivý nástroj k analýze prostorových dat.

Dostupné relevantní alternativy knihovny *trajr* jsou dvě (McLean & Volponi 2018). Lze použít jinou knihovnu programu R a sice *adehabitatLT* (Calenge *et al.* 2008). Balíček obsahuje množství funkcí umožňujících analýzu trajektorií pohybu, opět s odkazy na podklady k daným funkcím. Oproti knihovně *trajr* obsahuje *adehabitatLT* jednodušší funkce charakterizující pohyb, je tedy vhodnější pro základní analýzu.

EthoVision je komerčně dostupný, a tedy placený software, použitelný k automatizaci studia pohybu pomocí videozáznamu (Noldus *et al.* 2001). Je určen k automatickému nahrávání videozáznamu, vytváření a analýze trajektorií. Umožňuje výpočet parametrů popisujících 2D i 3D trajektorie. Primární účel programu je analýza chování z videozáznamu, zatímco *trajr* se dá použít k tvorbě a analýze trajektorií získaných jakoukoliv metodou. Nevýhoda programu *EthoVision* tkví v absenci propojení s prostředím statistického softwaru, jako je například program R nebo některé knihovny programu Python.

Použité kyanoakrylátové lepidlo se osvědčilo. Během experimentu nedošlo ani jednou k uvolnění transmitteru. Odlepování vyžadovalo značné úsilí a bylo zapotřebí špičatého skalpelu. Zároveň však bylo možno transmitter odejmout i se zbytky lepidla, jedinec bez transmitteru měl tedy krovky čisté a nepředpokládám ovlivnění chování zůstatkovou expozicí lepidla. Základní složkou použitého lepidla je ethyl-2-kyanoakrylát. Osvědčilo se mi lepidlo ve formě gelu. Klasické řídké vteřinové lepidlo vhodné není, jelikož krovky brouka jsou skulpturované a nedojde k důkladnému přilepení. Stejný typ lepidla jsme použili v terénní studii (Růžičková & Veselý 2018) a ověřili jsme, že transmittery takto přilepené na krovkách brouků opravdu drží a nesloupnou se ani při prolézání hustou vegetací nebo rytí v půdě. Lepidlo na tekuté bázi drželo podstatně méně a v terénu se transmittery občas ztrácely. Hmotnost lepidla naneseného pro potřeby experimentu, získaná porovnáním hmotnosti zatíženého brouka se součtem hmotností brouka a transmitteru zvlášť, byla zanedbatelná.

Boiteau *et al.* (2009) zkoumal účinnost třech různých komerčně dostupných kyanoakrylátových lepidel používaných pro lepení harmonického radaru. Jako model byly vybrány čtyři druhy brouků, *Conotrachelus nenuphar* Herbst, 1797 (čel. Curculionidae), *Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824), *Diabrotica virgifera virgifera* (LeConte, 1868) a *Diabrotica longicornis* Say, 1824 (čel. Chrysomelidae). U druhu *Leptinotarsa decemlineata* byla prokázána vysoká odolnost lepeného spoje. Spoj vydržel pro každý druh lepidla u více než

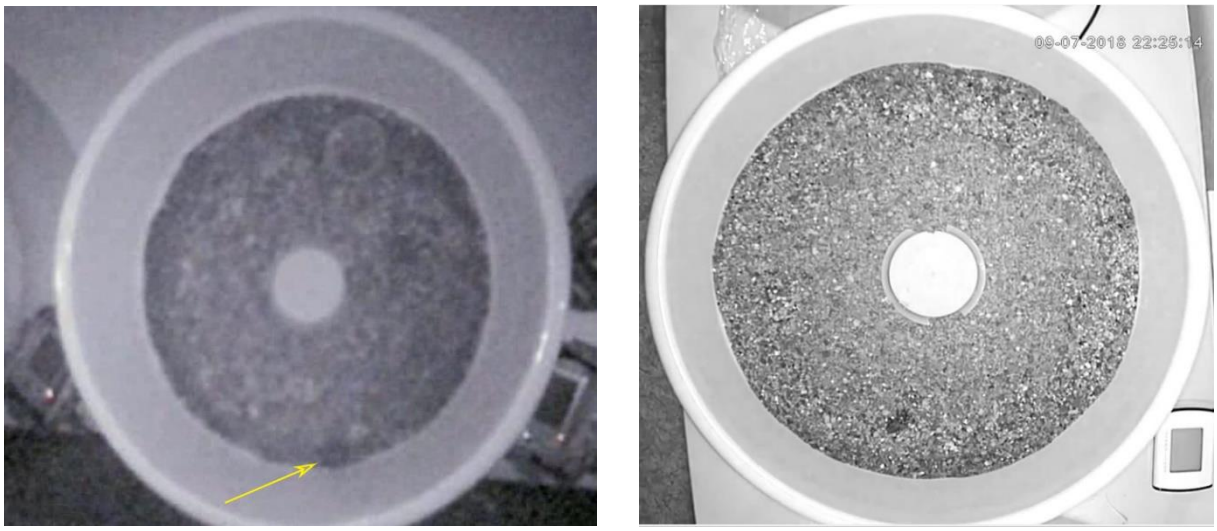
85 % jedinců po dobu 5 dní, n = 20. Autor zároveň testoval možnost zdrsnění pronota druhu *Leptinotarsa decemlineata* smirkovým papírem. Výsledkem bylo ještě kvalitnější spojení tagu s pronotem. Tento postup ale nebyl vhodný pro další dva testované druhy, z důvodu nízké sklerotizace či velmi nepravidelného tvaru pronota. U druhu *Conotrachelus nenuphar* během prvních 24 hodin od nalepení zůstalo nalepeno jen 53 % tagů (n = 15). Druhy *Diabrotica virgifera virgifera* a *Diabrotica longicornis* na pevnost spoje testovány nebyly. Lee *et al.* (2013) testoval u ploštice *Halyomorpha halys* Stål, 1855 (čel. Pentatomidae), vliv obroušení pronota smirkovým papírem zrnitosti 600. Toto vedlo k odstranění kutikulárních vosků a způsobilo signifikantní zvýšení pevnosti spojení pronota s tagem. Autor diskutuje, že obroušení pronota nebo jiné části kutikuly hmyzu by mohlo vést k zvýšení permeability pro potenciálně toxické látky obsažené v lepidlech, popřípadě by mohlo vést k pozdějším ztrátám vody přes kutikulu a způsobovat dehydrataci jedince. V našem experimentu broušení krovek střevlíka použito nebylo.

Kyanoakrylátové lepidlo za deště dostatečně nedrží. Pro tyto případy je vhodné spoj po obvodu zatěsnit silikonem, který se v dlouhodobě vlhkém prostředí nerozpouští a zaručí kvalitnější spojení (Růžičková 2019, pers. comm). Výsledky srovnání odolnosti lepeného spoje u uvedených studií spolu s mými zkušenostmi ukazují, že je velmi vhodné otestovat typ lepidla před započetím telemetrické studie s jiným druhem živočicha.

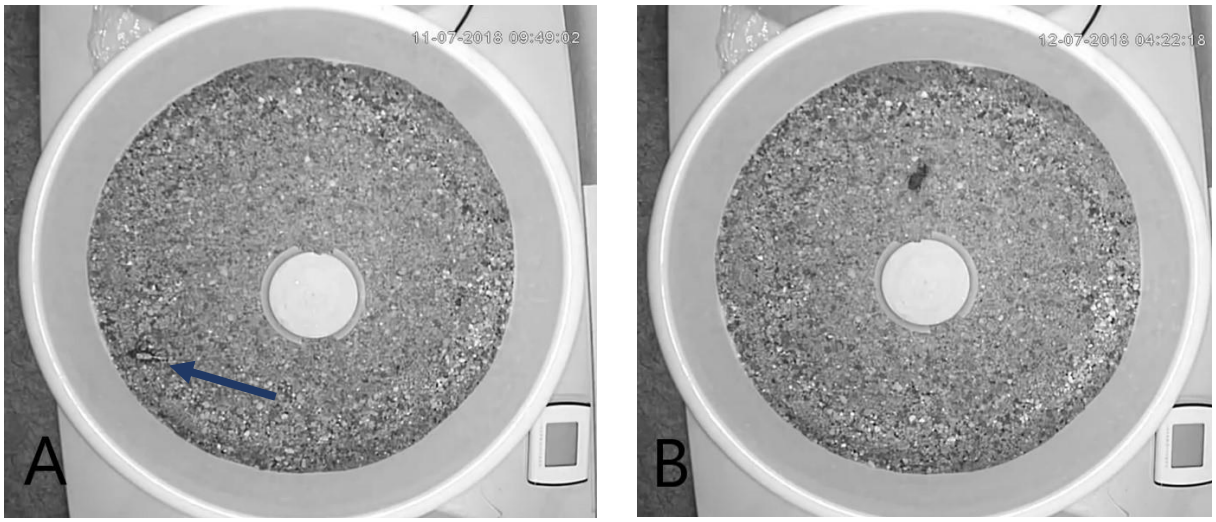
Další otázkou je účinek samotného lepidla na přežívání hmyzu. Obecně vzato mají chemické látky na aktivitu střevlíků velký vliv, některé insekticidy mohou dokonce aktivitu střevlíků zvyšovat (Prasifka *et al.* 2008). Lepidla na bázi kyanoakrylátu se úspěšně používají v humánní medicíně, a to jako alternativa k šití otevřených převážně tržných a řezných ran (Singer *et al.* 2008), u hmyzu však mohou způsobovat problémy. Kyanoakrylátová lepidla měla zásadní vliv na přežívání druhů *Diabrotica virgifera* a *Diabrotica longicornis* z experimentu popsaného výše (Boiteau *et al.* 2009). Už dávka lepidla o hmotnosti 0.115 ± 0.014 mg způsobila u druhu *Diabrotica longicornis* úmrtí 80 % a u druhu *Diabrotica virgifera* 70 % testovaných jedinců. Tento účinek mělo lepidlo již po čtyřech hodinách od aplikace. Efekt byl stejný u třech lepidel různých výrobců, což naznačuje, že jde o účinek hlavní složky lepidla tedy kyanoakrylátu. Konkrétně se jedná o ethyl-2-kyanoakrylát, který je také hlavní složkou lepidla použitého v mém laboratorním pokusu. Na přežívání zbylých dvou druhů neměla aplikace lepidla žádný vliv. Během terénní studie (Růžičková & Veselý 2018) nebyl zaznamenán úhyn, který by se dal připsat použitému lepidlu. Po skončení terénního výzkumu

citované studie byl jeden jedinec střevlíka ullrichova chován v laboratorním výběhu s nalepeným transmitterem ještě několik měsíců.

Laboratorní pokus proběhl ve dvou etapách, první z nich již v roce 2016. Data z prvního pokusu však nebyla dosud zpracována z důvodu jejich obrovského množství a nekvalitního videozáznamu, jež prakticky znemožňoval automatickou analýzu obrazu. Po úvaze, že čas strávený s manuální extrakcí dat pro analýzu by neodpovídal jejich nižší kvalitě byl navržen nový, výše popsaný pokus. Byly použity kvalitnějších kamery s vyšším rozlišením, což umožnilo zpracování videozáznamu automatickou analýzou obrazu. Na **obrázku č. 7.** lze vidět zásadní rozdíl v kvalitě obrazu jednotlivých kamer. **Obrázek č. 8.** ukazuje rozdíl ve viditelnosti střevlíka s/bez transmitteru na printscreenu z druhého kola experimentu.



Obr. č. 7: Printscreen z prvního kola pokusu (vlevo rozlišení záznamu: 640x496) a z druhého kola pokusu (vpravo, rozlišení záznamu: 1280 x 720). Žlutá šipka na obrázku vlevo ukazuje na střevlíka. Na obrázku vpravo lze určit polohu jedince velmi snadno.



Obr. č. 8: Printscreen videozáznamu z druhého kola pokusu. Na obrázku A je vidět střevlík s nalepeným transmiterem (modrá šipka), na obrázku B je střevlík bez transmitteru.

Baterie v radiotelemetrickém tagu je spolu s plošným spojem zalita v jeden celek do plastového nebo epoxidového obalu. Obal chrání elektroniku proti vlhkosti a jiným vnějším vlivům, zároveň je to důvod proč nelze baterii vyměnit. Technické řešení tedy použití metody značně prodražuje, jelikož výrobce nenabízí výměnu baterie v transmitteru. Vybitá baterie je totiž většinou jediný důvod proč transmitter přestane fungovat a je nutno zakoupit nový, jehož cena se běžně pohybuje nad hranicí 5 tisíc Kč. Baterie, které se v transmitterech používají, jsou přitom běžně používané a tedy levné. Neochota výrobce měnit baterie pramení zřejmě z důvodu technické náročnosti, vyžadující manuální práci a následná nemožnost poskytnout záruku. Podařilo se mi však vybitou baterii transmitteru pod binokulární lupou preparovat a mám v plánu ji zkusit vyměnit. To by z technického hlediska neměl být zásadní problém, jelikož informace k osvědčeným materiálům na obal transmitteru jsou zveřejněny (Naef-Daenzer *et al.* 2005).

Závěr

- Předložená diplomová práce testovala vliv raditelemetrického transmitteru na pohybovou aktivitu střevlíka *Carabus ullrichii*. V laboratorním experimentu bylo pořízeno více než 1500 hodin videozáznamu zatížených a nezatížených střevlíků.
- Celkově se experimentu zúčastnilo 16 střevlíků, kterým byl v jednodenních intervalech nasazován transmitter. Kontrolní skupinu tvořily stejní jedinci během dní, kdy neměli transmitter připevněn.
- K analýze obrazu byl úspěšně použit program DeepLabCut, využívající neuronovou síť s prvky hlubokého učení. Tento nový přístup k analýze videozáznamu je velmi efektivní, jelikož dokáže zpracovávat obrovské množství dat v krátkém čase při relativně malých hardwarových nárocích
- Průměrná hmotnost použitého transmitteru byla o 33 % větší, než se používá při terénních studiích.
- Opět se prokázala velká variabilita v aktivitě mezi jednotlivými střevlíky.
- Rozdíl mezi délkou trajektorie jedinců s nalepeným transmiterem versus bez něj byl minimální a zároveň statisticky neprůkazný.
- Samci uběhli za hodinu průměrně o 7,9 metrů více, ovšem lineární model nebyl statisticky průkazný. To je pravděpodobně důsledek velké variability mezi jedinci, která jako prediktor modelu vysvětlovala většinu variability. Dále na to má vliv velký počet nulových záznamů v datasetu (*zero-inflated dataset*), který nás nutí data transformovat. Roli hraje také poměrně malá velikost vzorku, její zvýšení by však z povahy experimentu problém s variabilitou a počtem nul nevyřešilo.
- Výsledky potvrzují radiotelemetrii jako relevantní metodu k zjišťování polohy střevlíků rodu *Carabus* v přirozeném prostředí.

Literatura

Allema AB, Rossing WAH, van der Werf W, Heusinkveld BG, Bukovinszky T, Steingröver E, van Lenteren JC, 2012. Effect of light quality on movement of *Pterostichus melanarius* (Coleoptera: Carabidae). Journal of Applied Entomology 136 (10): 793–800.

Avgin SS, Luff ML, 2010. Ground Beetles (Coleoptera: Carabidae) as bioindicators of human impact. Munis Entomology & Zoology 5 (1): 209–215.

Baars MA, 1979. Patterns of movement of radioactive carabid beetles. Oecologia 44 (1): 125–140.

Bates D, Mächler M, Bolker BM, Walker SC, 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4. Journal of Statistical Software 67 (1): 1–48.

Bauer T, Kredler M, 1993. Morphology of the compound eyes as an indicator of life-style in carabid beetles. Canadian Journal of Zoology 71 (4): 799–810.

Berry JS, Holtzer TO, 1990. Ambulatory dispersal behavior of *Neoseiulus fallacis* (Acarina: Phytoseiidae) in relation to prey density and temperature. Experimental and Applied Acarology 8 (4): 253–274.

Besson M, Martin J-R, 2004. Centrophobism/Thigmotaxis, a new role for the mushroom bodies in Drosophila. Journal of Neurobiology 62 (3): 386–396.

Boiteau G, Meloche F, Vincent C, Leskey T, 2009. Effectiveness of glues used for harmonic radar tag attachment and impact on survival and behavior of three insect pests. Environmental Entomology. 38 (1): 168–175.

Bolker BM, Brooks ME, Clark CJ, Geange SW, Poulsen JR, Stevens MHH, White JS, 2008. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution 24 (3): 127–135.

Brunsting AMH, 1983. The locomotor activity of *Pterostichus oblongopunctatus* F. (Col., Carabidae). Netherlands Journal of Zoology 33 (2): 189–210.

Burgess AF, 1911. Calosoma sycophanta: its life history, behavior, and successful colonization in New England. Bulletin Burreau of Entomology. United States Department of Agriculture, Washingon D.C. 101: 1–94.

Calenge C, Dray S, Royer-carenzi M, 2008. The concept of animals' trajectories from a data analysis perspective. Ecological Informatics. 4 (1): 34–41.

Deichsel R, 2007. Habitatfragmentierung in der urbanen Landschaft – Konsequenzen für die Biodiversität und Mobilität epigäischer Käfer (Coleoptera: Carabidae und Staphylinidae) am Beispiel Berliner Waldfragmente. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades. Universität Berlin. Fachbereich Biologie, Chemie und Pharmazie

Dell AI, Bender JA, Branson K, Couzin ID, Polavieja GG De, Noldus LPJJ, Pe A, Perona P, Straw AD, Wikelski M, Brose U, 2014. Automated image-based tracking and its application in ecology. Trends in Ecology & Evolution 29 (7): 1–12.

Drees C, Matern A, Assmann T, [eds.], 2008. Behavioural patterns of nocturnal carabid beetles determined by direct observations under red-light conditions. Back to the roots and back to the future: towards a new synthesis amongst taxonomic, ecological and biogeographical approaches in carabidology: proceedings of the XIII European Carabidologists' Meeting, Blagoevgrad. 75: 20–24

Elek Z, Růžičková J, Ódor P, 2019. Individual decisions drive the changes in movement patterns of ground beetles between forestry management types in Hungary, in: 2nd International Conference on Community Ecology. Bologna, Italy. 79.

Farkač J, 1994. Využití střevlíkovitých v bioindikaci. Vesmír, 73: 581.

Farkač J, Král D, Škorpík M [eds.], 2005. Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí. List of threatened species in the Czech Republic. Invertebrates. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha. 760 pp.

Firle S, Bommarco R, Ekbom B, Natiello M, 1998. The influence of movement and resting behavior on the range of three carabid beetles. Ecology 79 (6): 2113–2122.

Gerlach J, Samways M, Pryke J, 2013. Terrestrial invertebrates as bioindicators : an overview of available taxonomic groups. Journal of Insect Conservation 17: 831–850.

Hagen M, Wikelski M, Kissling WD, 2011. Space use of bumblebees (*Bombus* spp.) revealed by radio-tracking. PLOS ONE 6 (5): e19997.

Hayashi F, Nakane M, 1989. Radio tracking and activity monitoring of the Dobsonfly larva, *Protohermes grandis* (Megaloptera: Corydalidae). Oecologia 78 (4): 468

–472.

He K, Zhang X, Ren S, Sun J, 2016. Deep residual learning for image recognition. Conference on computer vision and pattern recognition. 770–778.

Hedin J, Ranius T, 2002. Using radio telemetry to study dispersal of the beetle Osmoderma eremita , an inhabitant of tree hollows. Computerts and Electronics in Agriculture 35 (2-3): 171–180.

Hejda R, Farkač J, Chobot K [eds.], 2017. Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí. Red list of threatened species of the Czech Republic. Invertebrates. Příroda. Praha. 36: 1–612.

Hemingway J, Ranson H, 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. Annu. Rev. Entomol. 45: 371–391.

Horák J, 2017. Disperzní schopnosti, migrace a pohybová aktivita střevlíkovitých brouků. bakalářská práce (Bc.). UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI. Přírodovědecká fakulta.

Hůrka K, 1996. Carabidae of the Czech and Slovak Republics. Kabourek, Zlín. 565 pp.

Chandrashekhara DK, Østergaard J, 2009. Battery energy storage technology for power systems – An overview. Electric Power Systems Research. 79 (4): 511–520.

Insafutdinov E, Pichulin L, Andres B, Andriluka M, Schiele B, 2016. DeeperCut: A deeper, stronger, and faster multi-person pose estimation model, in: 14th European Conference on Computer Vision. Amsterdam, Netherlands. 9910: 34–50.

Kissling WD, Pattemore DE, Hagen M, 2013. Challenges and prospects in the telemetry of insects. Biological Reviews 89: 511–530.

Klein A, Vaissie BE, Cane JH, Steffan-dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T, 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. Proceedings of the Royal Society 274 (1608): 303–313.

Koivula MJ, 2011. Useful model organisms, indicators, or both? Ground beetles (Coleoptera, Carabidae) reflecting environmental conditions. Zookeys 100: 287–317.

Langraf V, Petrovičová K, David S, Schlarmannová J, 2016. The bioindication importance of the carabidae communities of veporské vrchy and juhoslovanská

kotlina. Ekológia (Bratislava) 35 (2): 126–135.

Lee D-H, Wright SE, Boiteau G, Vincent C, Leskey TC, 2013. Effectiveness of glues for harmonic radar tag attachment on *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) and their impact on adult survivorship and mobility. Behavior 42 (3): 515–523.

Levett S, Walls SS, 2011. Tracking the elusive life of the Emperor Dagonfly *Anax imperator* Leach. Journal of the British Dragonfly Society 27 (1): 59–68.

Lorch PD, Gwynne DT, 2000. Radio-telemetric evidence of migration in the gregarious but not the solitary morph of the Mormon cricket (*Anabrus simplex*: Orthoptera: Tettigoniidae). The Science of Nature 87 (8): 370–372.

Losey JE, Vaughan M, 2006. The Economic Value of Ecological Services Provided by Insects. BioScience 56 (4): 311–323.

Lövei GL, Sunderland KD, 1996. Ecology and behavior of ground beetles (Coleoptera: Carabidae). Annual Review of Entomology 41: 231–256.

Mascanzoni D, Wallin H, 1986. The harmonic radar: a new method of tracing insects in the field. Ecological Entomology 11 (4): 387–390.

Mathis A, Mamidanna P, Cury KM, Abe T, Murthy VN, Mathis MW, Bethge M, 2018. DeepLabCut: markerless pose estimation of user-defined body parts with deep learning. Nature Neuroscience 21 (9): 1281–1289.

Mathis A, Warren R, 2018. On the inference speed and video-compression robustness of DeepLabCut. bioRxiv, Preprint Server for Biology 1–10.

Mclean DJ, Volponi MAS, 2018. trajr: An R package for characterisation of animal trajectories. Ethological methods 124 (6): 440–448.

Moskowitz D, May M, 2017. Adult tiger spiketail (*Cordulegaster erronea* Hagen) habitat use and home range observed via radio-telemetry with conservation recommendations. Journal of Insect Conservation 21 (5–6): 885–895.

Naef-Daenzer B, Früh D, Stalder M, Wetli P, Weise E, 2005. Miniaturization (0,2 g) and evaluation of attachment techniques of telemetry transmitters. The Journal of Experimental Biology 208: 4063-4068

Nakamura T, Matsumoto J, Nishimaru H, Bretas RV, Takamura Y, Hori E, Ono T,

Nishijo H, 2016. A markerless 3D computerized motion capture system incorporating a skeleton model for monkeys. PLOS ONE 11 (11): e0166154.

Nanobatteries stop Exploding Batteries [WWW Document], 2017. [cit. 2019-07-29]. The Future of Things. URL https://thefutureofthings.com/3059-nanobatteries-stop-exploding-batteries/.

Nath T, Mathis A, Chen AC, Patel A, Bethge M, Mathis MW, 2019. Using DeepLabCut for 3D markerless pose estimation across species and behaviors. Nature Protocols 14: 2152–2176.

Negro M, Casale A, Migliore L, Palestrini C, Rolando A, 2008. Habitat use and movement patterns in the endangered ground beetle species, *Carabus olympiae* (Coleoptera: Carabidae). European Journal of Entomology 105 (1): 105–112.

Nielsen LA, Johnson DL, 1983. Fisheries techniques. American Fisheries Society. 468 pp.

Noldus LPJJ, Spink AJ, Tegelenbosch RAJ, 2001. EthoVision : A versatile video tracking system for automation of behavioral experiments. Behavior Research Methods, Instruments, & Computers 33 (3): 398–414.

Ou-Yang T, Tsai M, Yen C, Lin T, 2011. An infrared range camera-based approach for three-dimensional locomotion tracking and pose reconstruction in a rodent. Journal of Neuroscience Methods 201 (1): 116–123.

Prasifka JR, Lopez MD, Hellmich RL, Prasifka PL, 2008. Effects of insecticide exposure on movement and population size estimates of predatory ground beetles (Coleoptera : Carabidae). Pest Management Science 64 (1): 30–36.

R Core Team, 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.

Rainio J, Niemela J, 2003. Ground beetles (Coleoptera : Carabidae) as bioindicators. Biodiversity and Conservation 12 (3): 487–506.

Reynolds DR, Riley JR, 2002. Remote-sensing, telemetric and computer-based technologies for investigating insect movement: a survey of existing and potential techniques. Computers and Electronics in Agriculture 35 (2–3): 271–307.

Riecken U, Raths U, 1996. Use of radio telemetry for studying dispersal and habitat use of *Carabus coriaceus* L. Annales Zoologici Fennici 33: 109–116.

Rijnsdorp AD, 1980. Pattern of movement in and dispersal from a dutch forest of *Carabus problematicus* Hbst. (Coleoptera, Carabidae). Oecologia 45 (2): 274–281.

Rossum van G, may 1995. Python tutorial, Technical Report CS-R9526, Centrum voor Wiskunde en Informatica (CWI), Amsterdam.

Růžičková J, Veselý M, 2016. Using radio telemetry to track ground beetles: Movement of *Carabus ullrichii*. Biologia 71 (8): 924–930.

Růžičková J, Veselý M, 2018. Movement activity and habitat use of *Carabus ullrichii* (Coleoptera: Carabidae): The forest edge as a mating site? Entomological Science 21 (1): 76–83.

Schneider G, Krauss J, Boetzl FA, Fritze MA, Steffan-Dewenter I, 2016. Spillover from adjacent crop and forest habitats shapes carabid beetle assemblages in fragmented semi-natural grasslands. Oecologia 182 (4): 1141–1150.

Singer AJ, Quinn JV, Hollander MD JE, 2008. The cyanoacrylate topical skin adhesives. American Journal of Emergency Medicine 26: 490–496.

Thiele HU, 1977. Carabid beetles in their environments. Springer Verlag. Berlin. 369 pp.

Tuf IH, Dedek P, Veselý M, 2012. Does the diurnal activity pattern of carabid beetles depend on season, ground temperature and habitat? Archives of Biological Science Belgrade 64 (2): 721–732.

Turin H, Penev L, Casale A, 2003. The Genus Carabus in Europe: A Synthesis. European Invertebrate Survey. 511 pp.

Dubois G, Vignon V, 2008. First results of radio-tracking of *Osmoderma eremita* (Coleoptera: Cetoniidae) in French chestnut orchards. Revue d'Ecologie (La Terre la Vie) 63 (10): 131–138.

Vargas-Irwin CE, Shakhnarovich G, Yadollahpour P, Mislow JMK, Black MJ, Donoghue JP, 2010. Decoding complete reach and grasp actions from local primary motor cortex populations. The Journal of Neuroscience 30 (29): 9659–69

Ver Hoef J, Boveng P, 2007. Quasi-poisson vs. negative binomial regression: how

should We model overdispersed count data? Ecology 88 (11): 2766–2772.

Veselý P, 2002. Střevlíkovití brouci Prahy. Tiskárna Flora, Praha. tiskárna Flóra, 167 pp.

Veselý P, Moravec P, Stanovský J, 2017. Carabidae (střevlíkovití), in: Hejda R, Farkač J, Chobot K [eds.] Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí. List of threatened species in the Czech Republic. Invertebrates., Příroda. Praha. 36: 295–301.

Volponi MAS, Mclean DJ, Volponi P, Dudley R, 2018. Moving like a model : mimicry of hymenopteran flight trajectories by clearwing moths of Southeast Asian rainforests. Biology Letters 14 (5): pii: 20180152.

Wallin H, Ekbom B, 1994. Influence of hunger level and prey densities on movement patterns in three species of *Pterostichus* beetles (Coleoptera: Carabidae). Environmental Entomology 23 (5): 1171–1181.

Wallin H, Ekbom BS, 1988. Movements of carabid beetles (Coleoptera: Carabidae) inhabiting cereal fields: a field tracing study. Oecologia 77 (1): 39–43.

Wei K, Kording KP, 2018. Behavioral tracking gets real. Nature Neuroscience 21 (9): 1146–1147.

Weseloh RM, 1993. Behavior of the gypsy moth predator, *Calosoma sycophanta* L. (Carabidae: Coleoptera), as influenced by time of day and reproductive status. Canadian Entomologist 125 (5): 887–894.

Young HC, Reid TG, Randall LA, Lachowsky LE, Foster DJ, Pengelly CJ, Latty T, Reid ML, 2013. Inluences of movement behavior on animal distributions at edges of homogeneous patches. International Journal of Zoology 1–8.

Zhu J, Jin M, Tang S, 2019. Fabrication of cobalt sulfide/graphene sheets nanocomposite harvesting improved anode performance for Lithium-Ion battery. Journal of Nanoscience and Nanotechnology 19 (9): 5921–5927.