

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

KATEDRA EKOLOGIE



**VLIV POHLAVÍ MLÁĐAT SÝCE ROUSNÉHO NA JEJICH
RŮST V OBDOBÍ POBYTU NA HNÍZDĚ**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor: Karolina Mahlerová

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

2015

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Katedra ekologie

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Karolina Mahlerová

Aplikovaná ekologie

Název práce

Vliv pohlaví mláďat sýce rousného na jejich růst v období pobytu na hnízdě

Název anglicky

The effect of the Tengmalm s owl offspring sex on their growth during nesting period

Cíle práce

- a) Vyhodnotit vliv pohlaví mláďat na rychlost růstu, tj. hmotnost a délku křídla v období pobytu mláďat na hnízdě,
- b) vyhodnotit poměr pohlaví mláďat v jednotlivých hnízdech v závislosti na počtu mláďat v hnízdech.

Metodika

Studentka shromáždí a statisticky vyhodnotí data o pohlaví a růstu mláďat, které byly získány v Krušných horách v roce 2006. Součástí bakalářské práce bude osvojení si metody určení pohlaví u ptáků analýzou DNA.

Doporučený rozsah práce30-40 stran

Doporučené zdroje informací

- Drdáková M. 2005. Růst mláďat sýce rousného (*Aegolius funereus*) v Krušných horách. *Buteo* 14: 37-50.
- Hipkiss T., Hörnfeldt B. 2004: High interannual variation in the hatching sex ratio of Tengmalm s owl broods during a vole cycle. *Population ecology* 46: 263-268.
- Hörnfeldt B., Hipkiss T., Fridolfsson A. K., Eklund U., Ellegren H. Sex ratio and fledging success of supplementary-fed Tengmalm s owl broods. *Molecular Ecology* 9: 187-192.
- Korpimäki E. 1981: On the ecology and biology of Tengmalm s Owl *Aegolius funereus* in Southern Ostrobothnia and Soumensekka, western Finland. *Acta Univ. Oul. A* 118. *Biol.* 13: 1-84.
- Schwerdtfeger O., Wink M. 2014: Lack of correlation between sex ratio and food supply or other biotic variables in nestlings of Tengmalm s Owl *Aegolius funereus*. *Journal of Ornithology* 155: 497-505.

Předběžný termín obhajoby

2015/06 (červen)

Vedoucí práce

Ing. Markéta Zárybnická, Ph.D.

Elektronicky schváleno dne 18. 9. 2014**prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.**

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 13. 2. 2015**prof. Ing. Petr Sklenička, CSc.**

Děkan

V Praze dne 08. 03. 2015

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala sama s použitím uvedené literatury, pod vedením Ing. Markéty Zárybnické, Ph.D.

V Praze 15. 4. 2015

.....

Poděkování: Ráda bych poděkovala Ing. Markétě Zárybnické, Ph.D. za její ochotu, trpělivost, poskytnutí dat a literatury a vstřícnost během vypracovávání bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala Mgr. Lucii Brejškové, Ph.D. odborné vedení v laboratoři, kde jsem si mohla vyzkoušet a osvojit si metody, které jsou popsány v této bakalářské práci a za poskytnutí literatury k laboratorní části bakalářské práce, profesorce Mgr. Ing. Markétě Sedmíkové, Ph.D. za poskytnutí odborné literatury k praktické laboratorní části bakalářské práce.

Abstrakt

Předložená studie vyhodnocuje hmotnost a délku křídla mládřat sýce rousného (*Aegolius funereus*) v době pobytu na hnízdě vzhledem k pohlaví mládřat. Studie byla provedena v Krušných horách v hnízdní sezóně 2006. Ve studovaném roce bylo pohlaví mládřat sýce rousného určeno u 25 jedinců v 7 hnízdech. U všech mládřat byla v průběhu růstu zaznamenávána hmotnost a délka křídla. Každému mládřeti bylo odebráno 50 µl krve z brachiální žíly. Pomocí PCR a elektroforézy bylo determinováno jeho pohlaví na základě odlišné délky intronů genu CHD1 mezi chromozomy Z a W. Růst křídla u samců i samic měl dle očekávání lineární charakter a nebyl prokázán signifikantní rozdíl v délce křídla mezi pohlavími při pobytu na hnízdě. Přibývání na váze se u obou pohlaví vyhodnocovalo na základě růstových křivek ($y = A / (1 + e^{-K * (x - T_i)})$). Aktuální hmotnost samců a samic byla statisticky analyzována v průběhu pobytu na hnízdě, přičemž nebyl prokázán rozdíl mezi jejich hmotnostmi. Zároveň byl hodnocen poměr pohlaví mládřat v závislosti na počtu mládřat v hnízdě a na pořadí líhnutí. V hnízdech, ve kterých byly nalezeny 3 – 4 mládřata, byl poměr pohlaví vychýlen ve prospěch samců (60 – 70 %). V hnízdech, kde bylo 5 mládřat, byl poměr pohlaví vychýlen ve prospěch samic (80 %). Poměr pohlaví u mládřat, která se vylíhla první, byl poměr vychýlen ve prospěch samic (57 %), u druhých a třetích byl poměr pohlaví vychýlen ve prospěch samců (71,5 %), u čtvrtých byl poměr vychýlen ve prospěch samic (50 – 60 %).

Klíčová slova:

Sýc rousný, hnízdění, Krušné hory, mládřata, pohlaví, růstové křivky, hmotnost, délka křídla

Abstract

The present study analyses the mass and wing length in nestlings of the Tengmalm's owl (*Aegolius funereus*) during the period of time they spend in the box and the influence of the sex was studied. The study was located in the Ore Mountains of northwest Bohemia during the season 2006. The analysis was performed on collected nestlings. The gender was determined for 25 of the nestlings in 7 bird boxes. Additionally, the rate of mass gained and the rate of wing growth were observed. Blood was sampled from each nestling – 50 µl of blood from the brachial vein. PCR and electrophoresis were used to reveal the different lengths of introns of the gene CHD on the W and Z chromosomes. The rate of wing growth was linear and did not differ significantly between sexes. Mass growth was analyzed by growth curves ($y = A / (1 + e^{-K * (x - T_i)})$) based on the actual mass of the nestlings at the time of data collection. The analysis did not show significant differences in the mass growth between sexes. The sex ratio in the nests was analyzed based on the amount of nestlings in the nest and on the order of hatching. Nests with 3 – 4 nestlings had a sex ratio that was male biased (60 – 70 %). Nests with 5 nestlings had a sex ratio that was female biased (80 %). The sex ratio in the nestlings that had hatched first were female biased (57 %), second and third were male biased (71,5 %). Nestlings that had hatched fourth were female biased (50 – 60 %).

Key words:

Boreal Owl, nesting, Ore Mountains, youngs, sex, growth curves, mass, wing length

Obsah

1.	Úvod.....	10
1.1.	Cíl práce	11
2.	Popis druhu	12
3.	Pohlavní dimorfismus	13
3.1.	Pohlavní dimorfismus u adultních jedinců.....	13
3.2.	Pohlavní dimorfismus u mlád'at	13
4.	Výskyt	14
4.1.	Výskyt v ČR	15
5.	Potrava.....	17
6.	Hnízdní biologie.....	18
7.	Role pohlaví	20
7.1.	Rodičovská péče.....	20
7.2.	Poměr pohlaví mlád'at na hnízdě.....	20
7.3.	Přežívání mlád'at	21
8.	Určení pohlaví mlád'at u ptáků	22
8.1.	Extrakce DNA ze vzorku	22
8.1.1.	Metoda extrakce DNA za pomoci „kitů“	23
8.1.2.	Metoda HotSHOT.....	23
8.1.3.	Metoda extrakce pomocí Chelexu	23
8.2.	Polymerázová řetězová reakce (PCR).....	24
8.3.	Gelová elektroforéza	25
9.	Metodika	26
9.1.	Charakteristika studijního území.....	26
9.2.	Sběr dat.....	26
9.3.	Analýza vzorků.....	27
9.3.1.	PCR.....	27
9.3.2.	Elektroforéza	28
9.4.	Analýza dat.....	29

9.4.1. Vyhodnocení vlivu pohlaví mlád'at na rychlost růstu a délku křídla v období pobytu mlád'at na hnízdě	29
10. Výsledky	30
10.1. Vliv pohlaví na růst mlád'at	30
10.1.1. Vliv pohlaví na hmotnost mlád'at	30
10.1.2. Růstové křivky.....	30
10.1.3. Vliv pohlaví na délku křídla	32
10.2. Poměr pohlaví mlád'at vzhledem k počtu mlád'at a pořadí líhnutí	34
11. Diskuse.....	37
12. Závěr	39
13. Seznam zdrojů.....	40
14. Seznam obrázků a tabulek.....	46
15. Přílohy	47

1. Úvod

Sýc rousný (*Aegolius funereus*) je monitorován na území Krušných hor od roku 1999. Tato bakalářská práce se zabývá daty z roku 2006, kdy se podařilo analyzovat údaje z celkem 7 hnízd. Hlavním cílem této práce bylo rozšířit poznatky o sýci rousném nejen v Krušných horách, ale také přinést poznatky na úrovni druhu, jelikož genetické analýzy poměru pohlaví mládřat v hnízdě jsou u tohoto druhu stále vzácné.

Práce týkající se studia pohlaví, hmotnosti a případně mortality mládřat jsou například ze Švédska, kde se vztahem mezi množstvím poskytnuté potravy a mortalitou mládřat s ohledem na pohlaví zabýval Hipkiss & Hörnfeldt (2004). Hipkiss (2002) se také zabýval sexuálním dimorfismem mládřat i adultních jedinců. Na našem území byl do současné doby studován jen růst mládřat na hnízdě mezi roky 2000 - 2001 (Drdáková-Zárybnická 2005), ale z důvodu poměrně obtížného zjišťování pohlaví mládřat v útlém věku, se tato práce nevztahovala na jednotlivá pohlaví, ale pouze na mládřata na hnízdě obecně.

1.1. Cíl práce

- a) Vyhodnotit vliv pohlaví mlád'at na rychlost růstu, tj. hmotnost a délku křídla v období pobytu mlád'at na hnízdě.
- b) Vyhodnotit poměr pohlaví mlád'at v jednotlivých hnízdech v závislosti na počtu mlád'at v hnízdech.

2. Popis druhu

Sýc rousný je menší sova dosahující velikosti 24 – 26 cm (Cramp & Simmons 1985) a rozpětí křídel přibližně 54 cm (Witt & al. 1995). Sýc rousný je velikostně podobný sýčkovi obecnému (*Athene noctua*), avšak oproti němu má disproporčně velkou, zakulacenou hlavu, delší křídla (Korpimäki 1981) a silně šedobíle opeřené běháky s černohnědými drápy (Korpimäki & Hakkarainen 2012). Velice zřetelný je také šedobíle zbarvený obličejový závoj, který je černohnědě ohraničen (Korpimäki & Hakkarainen 2012). Dalším typickým znakem jsou poměrně blízko k sobě posazené oči, toto posazení tvoří se zobákem, charakteristické žluté barvy, rovnostranný trojúhelník (Obr. 1), na rozdíl od sýčka obecného, který má od sebe oči více vzdáleny (Bejček & Šťastný 2001). Zorničky jsou ohraničeny výrazně žlutě zbarvenou duhovkou (Hudec & Šťastný 2005).



Obrázek 1: Sýc rousný (*Aegofolius funereus*) (Bejček & Šťastný 2001).

Horní strana per je zbarvená tmavohnědě s bílými tečkami, toto kropenaté zbarvení dalo sýci rousnému jméno ve finštině a švédštině, kde je nazýván „pearl owl“ (perlová sova) (Korpimäki & Hakkarainen 2012). Světlé zbarvení je patrné zejména na hlavě a může tvořit na zátylku světleji zbarvenou skvrnu ve tvaru písmene V. Další světlejší skvrny se nacházejí nad křídly (Bejček & Šťastný 2001). Na ventrální straně je tato sova krémově bílá a může se také vyskytnout mírně hnědé nebo červenohnědé zbarvení, které je znatelnější na prsou než na břiše. Obecně platí, že mladí jedinci jsou většinou tmavší (Příloha 1) (Korpimäki & Hakkarainen 2012).

3. Pohlavní dimorfismus

Tak jako u většiny dravců se i u sýce rousného objevuje takzvaný obrácený sexuální dimorfismus, kdy je samice větší než samec (Korpimäki 1981).

3.1. Pohlavní dimorfismus u adultních jedinců

U adultních jedinců je rozdíl mezi pohlavími nejvíce patrný během začátku hnízdění a v průběhu hnízdění sezóny, kdy samice ukládají zásoby tuku, aby byly schopny přečkat případné období nedostatku potravy (Newton 1979). V této době dosahují samice až o 50 % větší hmotnosti než samci. (Korpimäki 1981; Mikkola 1983), přičemž větší samice jsou schopny rozmnožování dříve než menší, tento jev je obvykle označován jako tzv. hypotéza hladovění (Korpimäki 1986a). Ze studie Hipkisse (2002) tedy logicky vyplývá, že váha samců je během roku podstatně konstantnější než váha samic. Hipkiss (2002) uvádí, že v období mimo hnízdění sezónu byl pozorován jen méně patrný váhový rozdíl, kdy samice byly asi o 4 % těžší než samci a křídla měly delší o 2,5 %. Delší křídla u samic jsou pravděpodobně kompenzací k větší hmotnosti, aby nebyl narušen jejich let a schopnost lovu (Wheeler & Greenwood 1983).

Délka křídla u samic je obvykle v rozmezí 165 – 183 mm, u samců je 160 – 170 mm (Jirsík 1944). Váha samců bývá 92 – 115 g a 120 – 230 g je obvyklá hmotnost samic (Korpimäki 1981; Hudec & Šťastný 2005). Díky těmto markantním rozdílům je sýc rousný považován za sovu s největším váhovým sexuálním dimorfismem v Evropě (Newton 1979; Hipkiss 2002).

3.2. Pohlavní dimorfismus u mlád'at

U ptáků se zřetelným sexuálním dimorfismem u adultních jedinců je patrný také rozdíl v rychlosti růstu mlád'at. Větší pohlaví roste většinou rychleji a má také vyšší energetické nároky (Teather & al. 1994, Slagsvold & al. 1986). Hipkiss (2002), který jako jediný doposud provedl studii zabývající se rozdílem hmotností a délkou křídla mezi mlád'aty s ohledem na jejich pohlaví, uvádí, že byl zjištěn průkazný rozdíl v asymptotě hmotnosti mlád'at, která byla o 5 % vyšší u samic než u samců. Nebyl však nalezen rozdíl v délce křídla mezi pohlavími. Pohlaví mlád'at nelze určit jinak než DNA analýzou (Hipkiss 2002), a to je důvod, proč více studií chybí.

4. Výskyt

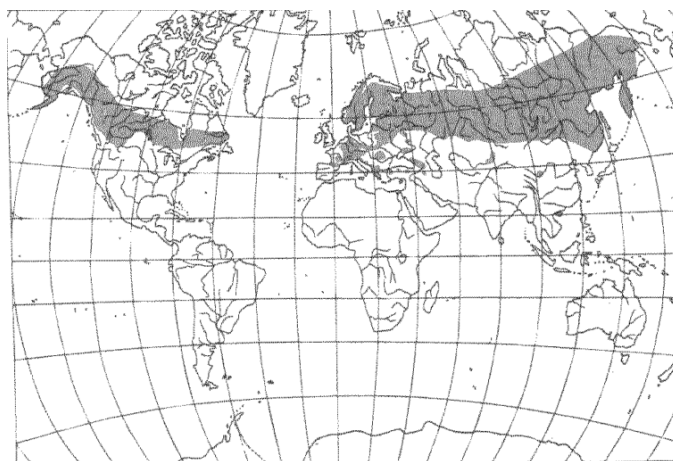
Přirozeným prostředím sýce rousného je severský les tajgového typu, který se nachází v Eurasii a Severní Americe. V Evropě se sýc rousný vyskytuje ostrůvkovitě (Bejček & Šťastný 2001) (Obr. 2), tyto izolované populace jsou pravděpodobně relikty z doby poledové (Voous 1962 in Hudec & Šťastný 2005). Ačkoliv sýc rousný preferuje vzrostlý jehličnatý les, ve střední Evropě se vyskytuje i ve smíšených a listnatých porostech. Například ve Francii, kde hnízdí již od roku 1962, byl lokalizován v bukových a dubových lesích, také se může vyskytovat na imisních lokalitách s doupnými stromy, jak je tomu například v České Republice (Hudec & Šťastný 2005).

Druh sýc rousný je na základě geografického rozšíření rozdělen na pět poddruhů (Tab. 1). Platí, že ptáci směrem k východu jsou větší, světlejší, šedší s většími bílými skvrnami. Na našem středoevropském území se nachází poddruh sýc rousný evropský (*Aegolius funereus funereus*) (Hudec & Šťastný 2005, Zárybnická & al. 2015).

Poddruh	Rozšíření
<i>Aegolius funereus funereus</i>	Kontinentální a severní Evropa
<i>Aegolius funereus magnusa</i>	Severovýchodní Sibiř
<i>Aegolius funereus caucasicus</i>	Kavkaz
<i>Aegolius funereus pallens</i>	Západní a střední Sibiř
<i>Aegolius funereus richardsoni</i>	Severní Amerika

Tabulka 1: Poddruhy sýce rousného a jejich výskyt (Korpimäki & Hakkarainen 2012).

V současné době je uváděno, že evropská populace sýce rousného je tvořena 110 000 - 350 000 páry (Birdlife international 2004). Tento odhad je poměrně stabilní, k menšímu poklesu došlo jen mezi lety 1990 – 2000 v několika zemích (Birdlife international 2004). Hlavním územím výskytu sýce rousného v Evropě je Skandinávie, kde žije 16 – 54% celé evropské populace (Hoyo & al. 1999).



Obrázek 2: Rozšíření sýce rousného ve světě. (Hudec & Šťastný 2005)

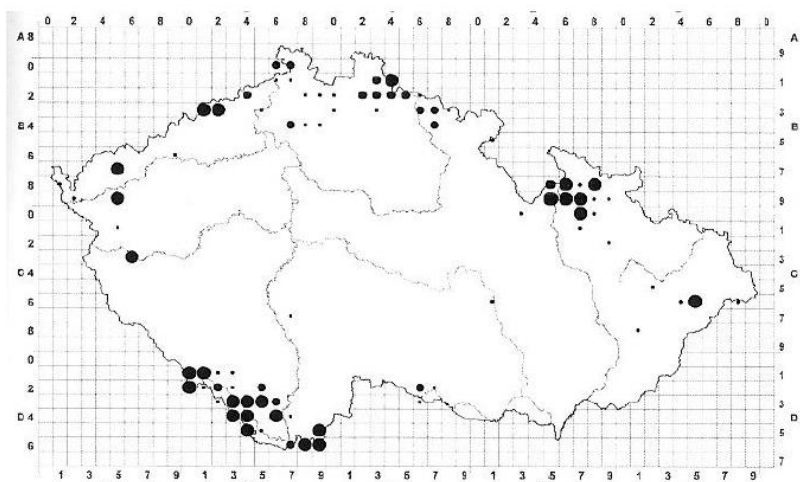
4.1. Výskyt v ČR

Sýc rousný byl zaznamenán jako hnízdní druh na území ČR již v 19. století, a to zejména v pohraničních oblastech. Od 70. a 80. let 20. století se začal objevovat i ve vnitrozemí (Hudec & Šťastný 2005).

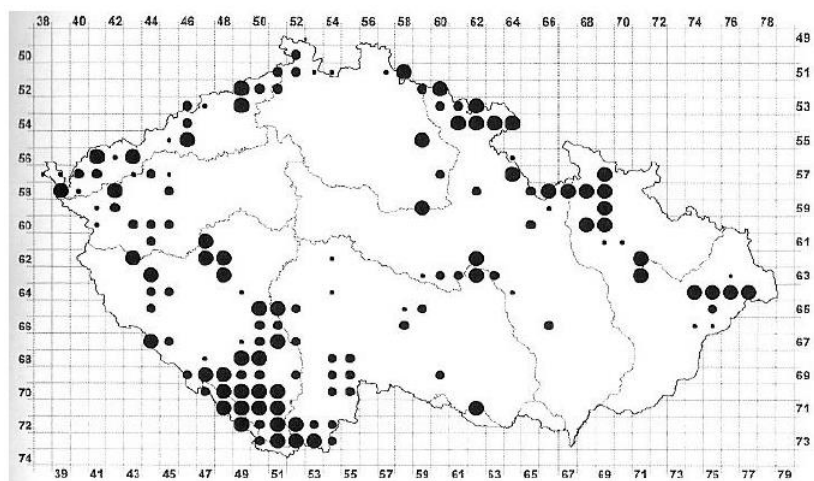
Sýc rousný byl považován za jednu z nejméně poznanych sov na našem území (Kloubec 1986), avšak z části díky zvýšenému zájmu ornitologů a z části díky přirozenému šíření této sovy se značně zvýšilo množství informací o tomto druhu (Drdáková-Zárybnická 2005). Během 80. let 20. století bylo zjištěno, že sýc rousný poměrně snadno proniká do nižších poloh a do vnitrozemí a vyskytuje se v jižních a západních Čechách, například na Českomoravské vrchovině a dále například v Moravském krasu nebo na Znojemsku (Hudec & Šťastný 2005). Tyto poznatky se značně odlišují od studie Vacíka (1991), který ještě v 60. letech 20. století považoval sýce rousného za vzácnou horskou sovu.

V současné době jsme schopni charakterizovat a popsat populaci sýce rousného na našem území na základě mnoha studií ekologie sýce rousného a jeho hnízdní biologie (Hudec & Šťastný 2005). Způsob šíření sýce rousného je nejlépe poznatelný z map atlasů hnízdního rozšíření ptáků (Obr. 3-5), kde dle velikosti bodů lze poznat rozsah rozšíření. Největší bod značí prokázané hnízdění, střední pravděpodobné a nejmenší možné hnízdění (Šťastný & al. 2009). Odhady početnosti sýce rousného na našem území z let 1985 – 1989 se pohybují mezi 550 – 800 páry (Hudec & Šťastný 2005), během let 2001 – 2003 byly odhady o něco vyšší, přibližně 1500 – 2000 párů (Šťastný & al. 2009).

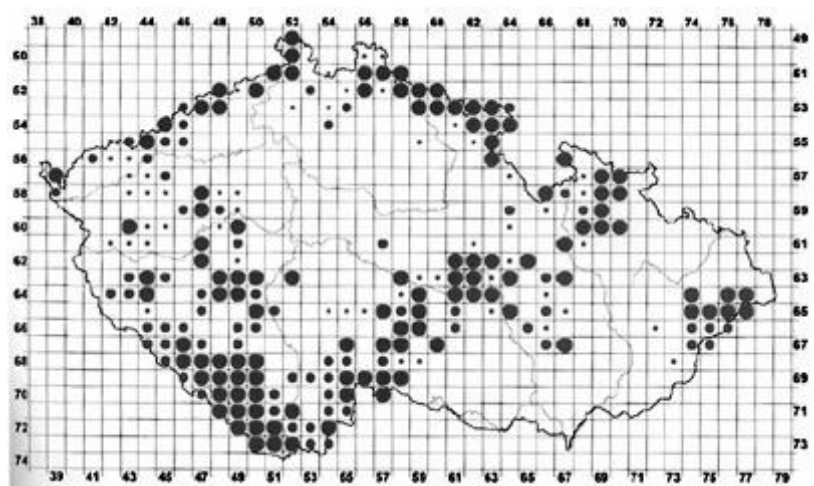
Sýc rousný se obvykle vyskytuje v nadmořských výškách od 380 m n. m. (jižní Čechy) do 1360 m n.m. (Krkonoše). Výskyt sýce rousného v oblastech pod 800 m n.m. je výrazně ovlivňován přítomností puštíka obecného (*Strix aluco*) (Hudec & Šťastný 2005).



Obrázek 3: Rozšíření sýce rousného (*Aegolius funereus*) v ČR mezi roky 1973 – 1977 (Štátný & al. 2009).



Obrázek 4: Rozšíření sýce rousného (*Aegolius funereus*) v ČR mezi roky 1985 – 1989 (Štátný & al. 2009).



Obrázek 5: Rozšíření sýce rousného (*Aegolius funereus*) v ČR v současné době (Štátný & al. 2009).

5. Potrava

Žaludek sov je uzpůsoben rychlému trávení, avšak kosti, peří a chlupy jsou pro ně nestravitelné a jsou vydávány jednou až dvakrát denně ve formě vývržků (Bejček & Šťastný 2001). Vývržky společně s trusem zaplňují dno hnízdní dutiny (Hudec & Šťastný 2005).

Sýc rousný se živí výhradně živočišnou potravou (Hudec & Šťastný 2005). Hlavní složkou potravy jsou drobní savci, zejména hlodavci, menší část kořisti tvoří hmyzožravci a netopýři. V případě nedostatku potravy loví ptáky (do velikosti sýkorky) a výjimečně i hmyz (Witt & al. 1995). Lov je charakteristický útokem z vyvýšeného místa (například větev stromu) přímo na kořist (Norberg 1970). Sýc rousný obvykle shání potravu v okolí hnízdní dutiny na území o rozloze 3 km² (300 ha) (Korpimäki 1986b). Ačkoliv v Krušných horách byla zjištěna velikost loveckého okrsku v rozmezí 182 ± 48 ha (Kouba & al. 2010).

6. Hnízdní biologie

Sýc rousný hnízdí v dutinách stromů vyhloubených většinou datlem černým (*Dryocopus martius*) (Mikkola 1983) nebo strakapoudem (Witt & al. 1995), avšak poměrně snadno zahnízdí i v budce. V dutinách i budkách hromadí trus, zbytky potravy a vývržky (Hudec & Šťastný 2005). Přírozená dutina se obvykle nachází ve výšce přibližně 4 – 12 m nad zemí. Hloubka dutiny je 45 cm a vletový otvor má průměr nejméně 5,4 cm (Hudec & Šťastný 2005).

Hnízdní páry zpravidla nebývají stálé (Hudec & Šťastný 2005); samci jsou většinou věrní svému okrsku několik let (Drdáková-Zárybnická 2005), což je pravděpodobně vyvoláno výhodnou potravní nabídkou daného okrsku (Hakkarainen & al. 1998), ale samice částečně migrují (Drdáková-Zárybnická 2005). Páry hnízdí většinou jednou za sezónu, avšak pokud jsou příznivé podmínky, mohou zahnízdit i víckrát (Hudec & Šťastný 2005, Zárybnická 2009), samice obvykle klade 3 – 6 vajec a inkubace trvá 26 – 31 dní (Bejček & Šťastný 2001). Líhnutí probíhá ve dvoudenních intervalech (Korpimäki 1981).

Sýc rousný v Krušných horách hnízdí zpravidla od konce února do června (Drdáková-Zárybnická 2005), avšak doba a úspěšnost hnízdění se odvíjí od dostupnosti potravní nabídky. Mezi roky 1999 – 2009 byla vyhodnocena data z pravidelných odchytů na území Krušných hor, kde jsou nejčastěji dostupní hraboši (*Microtus* sp.) a myšice (*Apodemus* sp.). Ze studie vyplývá, že zastoupení myšic v potravě sýce rousného pozitivně koreluje s jejich dostupností v terénu a zároveň množství myšic v potravě pozitivně ovlivňuje reprodukční úspěšnost sov. Podobné vztahy nebyly prokázány u hrabošů (Zárybnická & al. 2013).

Zajímavá studie, která byla aktuálně zveřejněna, se zabývá reprodukční úspěšností sýce rousného ve střední a severní Evropě (Zárybnická & al. 2015). Z výsledků vyplývá, že severské sovy kladou větší snůšky, ale produkují stejné množství mláďat jako středoevropské sovy. Toto je způsobeno tím, že mortalita mláďat v severní Evropě se zvyšuje během průběhu hnízdní sezóny, přičemž tento trend se ve střední Evropě neprokázal. Autoři vysvětlují tento efekt několika způsoby. Větší mortalita může být způsobena tím, že v severní Evropě potravní nabídka drobných savců výrazně kolísá nejen v průběhu sezóny, ale i mezi jednotlivými roky (Valkama & al. 2002) a sovy tak těžko předpovídají množství potravy dostupné v době krmení mláďat (Korpimäki & Hakkarainen 1991, Korpimäki & Norrdahl 1998). Dalším vysvětlením je rozdílná délka dne a noci v průběhu hnízdní sezóny. Sýc rousný je zcela výhradně noční sovou (Zárybnická & al. 2012) a krátké noci v severní Evropě limitují čas obstarávání potravy i na několik málo hodin (Zárybnická & al. 2015). Vyšší přežívání mláďat sýce rousného ve střední Evropě lze také vysvětlit přítomností

alternativní potravy. Kromě hrabošů (*Microtus* sp.) se ve střední Evropě vyskytuje také myšice (*Apodemus* sp.), která může tvořit důležitou složku potravy v době absence hrabošů, což zajistí dostatečný počet alternativní kořisti (Zárybnická & al. 2013). Posledním vysvětlením je menší množství konkurenčních predátorů na území střeoevropské populace, a tím i menší nárůst drobných savců výrazně ovlivní množství potravy připadající na jednotlivce (Zárybnická & al. 2015).

7. Role pohlaví

7.1. Rodičovská péče

Role rodičů je pro obě pohlaví velmi odlišná. Samci sýce rousného se ozývají charakteristickým voláním již od půlky března, v této době se zdržují v blízkosti vybrané dutiny či budky, kam nosí potravu. Samice svého partnera do vybrané dutiny následuje (Hudec & Šťastný 2005). Samec obvykle nabízí více dutin, samice si vybere jednu z nich a v té se zdržuje již několik dní před snesením prvního vejce (Zárybnická in verb.). Samec obstarává potravu pro samici v průběhu celého hnízdění, tedy během inkubace vajec a výchovy mlád'at (Zárybnická 2009). Samice zůstává na hnízdě po dobu inkubace téměř nepřetržitě, opouští hnízdo pouze 1 – 3 krát za noc. Doba inkubace vajec je 26 – 30 dní, avšak inkubace posledního vejce je průměrně o 2,6 dne kratší (Korpimäki 1981). Samice setrvává na hnízdě po dobu 3 – 4 týdnů po vylíhnutí mlád'at. Poté samice buď pomáhá samci se sháněním potravy, nebo mlád'ata opustí (Zárybnická 2009, Eldegard & Sonerud 2009). V tomto případě samec sám pokračuje v krmení mlád'at do doby, kdy se mlád'ata stanou plně nezávislá (Korpimäki 1981).

7.2. Poměr pohlaví mlád'at na hnízdě

Uvádí se, že až u 65 % druhů ptáků převládají samci, avšak u mlád'at tento jev nebývá patrný (Donald 2007). Je předpokládáno, že podmínky prostředí, jako je dostupnost potravy, mohou mít vliv na počet mlád'at a jejich pohlaví. Toto se předpokládá zejména u druhů ptáků, kde můžeme pozorovat sexuální dimorfismus (Trivers & Willard 1973). Hippkiss & Hörnfeldt (2004) uvádí, že pohlaví mlád'at je značně ovlivněno potravní nabídkou. Tato studie porovnává tři hnízdní sezóny, během kterých docházelo k zmenšování dostupnosti potravní nabídky. V roce, kdy bylo největší množství potravy, byl zaznamenán nárůst počtu samců. Když byla potrava dostupná, ačkoliv ne v nadbytku, rodili se samci i samice ve stejném poměru. Během roku, kdy bylo málo potravy, došlo opět k vychýlení, tentokrát ve prospěch samic. Tyto poměry naznačují, že rodiče adaptivně upravili poměr pohlaví podle očekávané dostupnosti potravy. Jiné výsledky přináší například Schwerdtfeger & al. (2014). V této studii bylo hodnoceno 176 mlád'at během sezón 2001 – 2010 na území Německa. Avšak zde nebyla nalezena přímá korelace mezi poměrem pohlaví mlád'at a potravou uskladněnou v hnízdě.

7.3. Přežívání mlád'at

Hipkiss & Hörnefeldt (2004) uvádějí, že úmrtnost samců sýce rousného je na hnízdě pravděpodobnější v období nedostatku potravy, jelikož větší samice jsou schopnější v boji o jídlo na hnízdě, tudíž si jsou schopny zajistit více potravy pro sebe. Hörnefeldt & al. (2000) však tyto výsledky nepotvrdil.

U sýce rousného můžeme také pozorovat asynchronní líhnutí mlád'at, což znamená, že samice zahájí inkubaci po snesení prvního vejce a mlád'ata se líhnou postupně v 1 – 2 denních intervalech (Korpimäki 1981). Asynchronní líhnutí je u sov poměrně běžné (Stoleson & Beissinger 1995) a existuje několik hypotéz, proč k tomu dochází. Lack (1954) uvádí, že se jedná o adaptaci pro případ omezení dostupnosti potravy, v tomto případě by přežila jen nejstarší mlád'ata a bylo by tedy zajištěno přežití alespoň části mlád'at. Z výsledků studie Valkama & al. (2002) vyplývá, že s rostoucí velikostí snůšky, rostla pravděpodobnost asynchronního líhnutí. Na asynchronní líhnutí měla také vliv velikost samice a její stáří, přičemž čím starší a větší byla samice, tím pravděpodobněji docházelo k asynchronnímu líhnutí.

Tak jako u jiných dravců se u sýce rousného poměrně běžně vyskytuje kainismus a kronismus. Kainismus je druh sourozenecké agrese, která se vyskytuje zejména u druhů, které disponují asynchronním líhnutím (Newton 1979). Asynchronním líhnutím lze předcházet agresi mezi mlád'aty stejné velikosti (Hahn 1981). Například Simmons (1988) uvádí, že více než 90 % nejmladších mlád'at je usmrceno sourozencem. Drdáková-Zárybnická (2005) ve svém článku popisuje data z let 2000 a 2001, kdy byl zjištěn rozdíl v úmrtnosti mlád'at na hnízdě způsobený kainimsem. V roce 2000 bylo tímto způsobem usmrceno 9 % mlád'at, v roce 2001 18 %, nárůst v roce 2001 byl pravděpodobně způsoben nedostatkem potravy. V tomto článku není zohledněno pohlaví mlád'at. Dalším typem agrese je kronismus, kdy rodiče usmrtí a pozřou svoje nemocná nebo slabší mlád'ata (Schüz 1957 in Campbell & al. 1985).

8. Určení pohlaví mlád'at u ptáků

Ptáci mají dva typy chromozómů - Z, W. Samice jsou heterogametní, disponují tedy chromozomem Z i W. Samci jsou homogametní a mají pouze chromozom Z, který je podstatně větší než chromozom W (Stevens 1996). Molekulární určení pohlaví ptáků prodělalo největší pokrok v roce 1995, kdy byl objeven první gen lokalizovaný na W chromozomu (Griffiths & Tiwari 1995) a o několik let později byl stejný gen objeven i na chromozomu Z (Griffiths & Korn 1997).

Doposud bylo objeveno jen málo genů na chromozomu W, ale nejvhodnější gen pro určení pohlaví ptáků je CHD gen, který se vyskytuje téměř u všech ptáků. Výjimkou je podtřída *Ratitae*, u které nejsou rozlišené pohlavní chromozomy (Griffiths & al. 1996). CHD gen obsahuje minimálně dva introny (nekódující úseky DNA) mezi exony (kódující úseky DNA), které se liší ve své délce u chromozomů W a Z (Fridolfsson & Ellegren 1999).

8.1. Extrakce DNA ze vzorku

Pro určení pohlaví ptáků a získání DNA ze vzorku je nejvhodnější použít vzorek krve nebo peří. V případě odběrů krve je nutné odebranou krev skladovat při 4°C a pokud možno zpracovat do 24 h. V případě peří je nutné se ujistit, aby se špička pera, která je používána k extrakci DNA, nedostala do kontaktu s lidskou pokožkou, jelikož tím by byl vzorek znehodnocen. Ideální průměr brku je 1 – 2 mm. Brk se po sběru uchovává v plastickém sáčku, dokud není zpracován (Tomášek & al. 2008).

DNA může být izolována ze vzorku několika odlišnými metodami. Jejich hlavním rozdílem je efektivita, cena a náročnost práce. Na základě těchto poznatků a zvolené techniky určování pohlaví se lze rozhodnout, která je nejvhodnější. V současné době lze vybírat z několika metod (Dubiec & Zagalska-Neubauerova 2006). Metoda extrakce DNA za pomoci „kitů“ (Dubiec & Zagalska-Neubauerova 2006), fenol-chloroformová extrakce (Sambrook & al. 1989 in Dubiec & Zagalska-Neubauerova 2006), metoda s použitím guanidium thiocyanátu (Hammond & al. 1996 in Dubiec & Zagalska-Neubauerova 2006), metoda extrakce pomocí Chelexu (Walsh & al. 1991) (Dubiec & Zagalska-Neubauerova 2006), nebo například metoda HotSHOT (Truett 2000). Metody za pomoci fenol-chloroformu a guanidium thiocyanátu jsou poměrně časově náročné, avšak poměr kvalita a kvantita DNA je velmi dobrý. Metoda extrakce pomocí Chelexu je naopak velmi rychlá s poměrně vysokou kvalitou extrahované DNA (Dubiec & Zagalska-Neubauerova 2006).

8.1.1. Metoda extrakce DNA za pomoci „kitů“

V současné době se na trhu vyskytuje velké množství takzvaných „kitů“, jedná se o „krabičky“, které obsahují veškerý materiál, včetně návodu na extrakci DNA ze vzorku. Jejich hlavní výhodou je vysoká kvalita extrahované DNA, avšak nevýhodou je vysoká cena, která v případě potřeby určení pohlaví u většího množství vzorků, poměrně znatelně navýší rozpočet (Dubiec & Zagalska-Neubauerova 2006).

8.1.2. Metoda HotSHOT

Metoda HotSHOT je poměrně rychlá, nenákladná a lze ji provádět ve velkém množství. Tato metoda je velice spolehlivá a dá se využívat pro různé vzorky včetně tkáně. Na metodu HotSHOT je potřeba vytvořit dva roztoky, první roztok je reakčním činidlem a druhý neutralizačním. Pro extrakci DNA se ke vzorku tkáně přidá reakční činidlo a poté je směs zahřáta na teplotu 95°C na 10 min (až jednu hodinu), následně je teplota směsi snížena na 4°C a je přidáno neutralizační činidlo (Truett 2000).

8.1.3. Metoda extrakce pomocí Chelexu

Metoda extrakce DNA z krve za pomoci Chelexu 100 trvá přibližně 45 minut. Jedná se o metodu relativně levnou a časově velmi výhodnou. Metodu lze poměrně snadno uplatnit pro tkáně i krev (Tomášek & al. 2008). Jednotlivé vzorky krve jsou napipetovány v množství 1 – 2 µl do mikrozkušavek, je přidán 5% Chelexu 100. Vzorky jsou pak inkubovány při teplotě 56°C po dobu 30 min za stálého protřepávání. Následně jsou vzorky míchány po dobu 5 sekund a vařeny 8 minut a poté dalších 5 sekund míchány a centrifugovány po dobu 4 min. Po první centrifugaci je odstraněn supernatant a vzorek znovu centrifugován, aby byl Chelex s jistotou odstraněn a nedošlo k inhibici PCR reakce (Hess & al. 2004).

8.2. Polymerázová řetězová reakce (PCR)

Polymerázová řetězová reakce neboli PCR (polymerase chain reaction) je metoda umožňující izolaci genů při práci s DNA. Celý proces PCR probíhá *in vitro*. PCR umožňuje velice rychle exponenciálně namnožit z komplexní DNA vybraný úsek pomocí dvou specifických primerů, které se napojí na začátek a konec vybraného úseku DNA, který se má amplifikovat (Alberts & al. 1998). Jedná se o automatizovaný proces probíhající v termocykleru, což je přístroj umožňující automatizaci celého procesu. Termocykler je naprogramován tak, aby byla dodržena potřebná délka a teplotní podmínky jednotlivých fází (Velký lékařský slovník 2008b).

PCR má tři fáze. První fáze, denaturace DNA, probíhá krátkou dobu za vysokých teplot, během této fáze dojde k rozvolnění vlákna DNA. Po krátkém zvýšení teploty během první fáze nastává fáze druhá, dojde k ochlazení roztoku a primery nasedají na oddělená vlákna DNA. V poslední, třetí fázi dojde k amplifikaci komplementárních vláken DNA mezi primery. Během PCR tedy dochází ke kopírování matriční molekuly DNA. Tento proces se opakuje 20x – 30x a počet molekul roste exponenciálně. Délka trvání jednoho cyklu PCR je přibližně 5 minut (Alberts & al. 1998).

Složky potřebné k přípravě roztoku pro PCR jsou: vzorek DNA, nukleotidy (dNTP), pufr, hořčičnaté ionty, voda, dva primery a Taq DNA-polymeráza (Bonifacino & al. 2004, Altshuler 2006). Taq polymeráza se získává z bakterie *Thermophilus aquaticus*, která se vyskytuje v termálních pramenech, a tím zajišťuje termostabilitu (Velký lékařský slovník 2008a), proto tedy nedochází k denuraci DNA-polymerázy během první fáze PCR a není nutné ji přidávat v každém opakování cyklu (Alberts & al. 1998).

8.3. Gelová elektroforéza

Elektroforéza se používá jako pojem popisující pohyb iontů v elektrickém poli. Klíčovým prostředím elektroforézy je nosné médium, kterým se molekuly přenáší. Toto médium je například agarózový gel (Alberts & al. 1998). Množství agarózy v agarózovém gelu je přizpůsobeno velikostí fragmentů DNA. Například pro velké fragmenty je využíván obsah agarózy v roztoku 0,3 %, pro menší fragmenty je to 0,8 %. Po připravení roztoku agaru je roztok vlit do vyhrazeného prostoru. Po ztuhnutí je gel umístěn do vany pro elektroforézu s připojenými elektrodami. Je nutné zajistit dostatečné množství pufu tak, aby byl rovnoměrně pokryt i agarózový gel. V agarózovém gelu jsou pomocí plastového hřebene vytvořeny jamky, které udržují vzorek v jedné linii (Příloha 3). Do každé jamky je pomocí pipety přidán vzorek DNA z PCR. Do vzorků je nutné před pipetováním přidat sledovací barvivo, které umožní pozorovat postup fragmentů agarózovým gelem, k tomuto účelu se využívá například bromfenolová modř (bromophenol blue). Do prostřední jamky se přidá standard, který charakterizuje jednotlivé délky fragmentů (Příloha 6) (Jones & al. 1998).

DNA molekuly mají negativní náboj, putují tedy agarózovým gelem směrem ke kladně nabitě anodě rychlostí, která je určena velikostí fragmentů. Malé molekuly se jsou schopny v agarózovém gelu pohybovat jako skrze síto, putují tedy gelem snáz než větší fragmenty, které jsou více ovlivněny strukturou gelu. Putující molekuly se rozdělí podle velikosti (Alberts & al. 1998). Elektroforéza probíhá tak dlouho, dokud vzorky neprojdou 80 % délky gelu. Je potřeba se ujistit, že nádoba, ve které elektroforéza probíhá, je uzavřena po celou dobu procesu, aby nedocházelo k evaporaci. Po ukončení elektroforézy je gel vyjmut a osvětlen UV světlem. Díky ethidiumbromidu, který se přidává přímo do gelu během jeho přípravy, který se vloží do struktury DNA, můžeme pak pozorovat roztřídění úseků DNA podle velikosti (Příloha 4, 5) (Jones & al. 1998).

9. Metodika

9.1. Charakteristika studijního území

Studijní území se nachází v Krušných horách v okolí Flájské přehrady (50°40' N, 13°35' E) na ploše velké přibližně 70 km². Nejnižším bodem území je vodní hladina přehrady Fláje (735m n. m.), nejvyšším bodem je vrch Loučná (765m n. m.) (Drdáková-Zárybnická 2003).

Člověk formoval krajinu Krušných hor již od 13. století a je ovlivňována do současnosti. Během této doby zde docházelo vlivem těžby a následného znečištění ovzduší k nepřehlédnutelným změnám prostředí (Holý 2002). Současná mozaikovitost krajiny nabízí mnoho různých biotopů, tvořených zejména zbytky vzrostlých lesních porostů smrku ztepilého (*Picea abies*), rozvolněné porosty třtiny chloupkaté (*Calamagrostis villosa*) a porosty náhradních dřevin, zejména smrku pichlavého (*Picea pungens*), bříz (*Betula sp.*) a modřinu opadavého (*Larix decidua*) (Zárybnická & al. 2015). Tyto biotopy se staly vhodným prostředím pro sýce rousného, který zde nachází dostatek potravy i vhodné hnízdní prostředí (Drdáková-Zárybnická 2004).

Ve studijní oblasti v Krušných horách jsou ke studiu sýce rousného využívány budky od roku 1999. Budky jsou vyvěšené ve vzrostlém smrkovém lese nebo na soliterních stromech, jako jsou například duby či jeřáby (Drdáková-Zárybnická 2002). Každoročně je ve studijní oblasti nabízeno průměrně 126.6 budek (SD = 26.8, období 1999-2012) a nacházeno 16.7 hnízd (SD = 5,6, data z období 1999-2012, Zárybnická & al. 2015). V roce 2006 bylo vyvěšeno 115 budek.

9.2. Sběr dat

Data byla sbírána v Krušných horách v období hnízdní sezóny od května do července. Všechny budky byly kontrolovány přibližně každých 7 - 14 dní. V případě nálezu hnízda, byla mláďata okroužkována, zvážena, byla změřena délka křídla a odebrána krev. Hnízdo bylo nadále pravidelně kontrolováno. Odběry krve byly provedeny na základě metodiky popsané v Hipkiss (2002). Každému mláděti bylo odebráno 50μl krve z brachiální žíly ze spodní strany křídla (Příloha 2). Vzorky krve byly uloženy do lihu a poté zamrazeny a skladovány do doby, než byly zpracovány.

Během sezóny 2006 bylo nalezeno celkem 24 hnízd a 76 mláďat, 15 hnízd bylo úspěšně dokončeno (tzn. z hnízda vylétlo alespoň jedno mládě). Krevní vzorky mláďat se úspěšně podařilo analyzovat v 7 hnízdech u 25 mláďat. Délka křídla a hmotnost mláďat byla pravidelně přeměřována u všech mláďat, avšak statisticky analyzována byla jen ta mláďata, u kterých bylo determinováno pohlaví.

9.3. Analýza vzorků

Důležitou součástí této práce bylo přesné zjištění pohlaví mlád'at na hníždě, jelikož u mlád'at nelze určit pohlaví na základě sexuálního dimorfismu, tak jak tomu je u adultních jedinců (Hipkiss 2002). Ve své práci jsem využila data, která již byla určena ze vzorků krve z periferií.

V prvním kroku byla extrahována DNA ze vzorku krve jednotlivých mlád'at metodou extrakce DNA pomocí Chelexu tak, jak je popisována v literární rešerši (kapitola 8.1.3.). V druhém kroku byla provedena PCR, kdy došlo k namnožení vybraných úseků DNA pomocí primerů. Ve třetím kroku byly vzorky vyjmuty z termocyklu po provedení PCR a rozděleny pomocí pipety do jednotlivých jamek v agarózovém gelu. Následně byla provedena elektroforéza. Na závěr, po proběhnutí elektroforézy, byl gel přesunut pod UV lampu a bylo determinováno pohlaví z elektrogramů na základě odlišné délky intronů na chromozomech Z a W (Příloha 4, 5).

9.3.1. PCR

Roztok pro průběh PCR byl připraven na 10ti vzorkový premix v těchto poměrech:

- H₂O 163μl
- pufr 20 μl
- dva primery (Fridolfsson & Ellegren 1999)
 - 2550F (5'- GTTACTGATTCGTCTACGAGA-'3) 2 μl
 - 2718R (5'- ATTGAAATGATCCAGTGCTTG - '3) 2 μl
- dNTP 2,5 μl
- Dream Taq Polymerase 0,5 μl
- DNA 1 -1,5 μl

Nastavení pro termocyklu pro amplifikaci DNA sýce rousného (Tab. 2). Příprava PCR proběhla na základě metodiky Fridolfssona & Ellegrena (1999).

První krok	Denaturace	94°C	30 s	29x
Druhý krok	Anneling	60,5°C	40 s	29x
Třetí krok	Amplifikace (primer extension)	72°C	1 min 10 s	29x
Závěr	Final extension	72°C	10min	

Tabulka 2: Nastavení termocyklu pro PCR u sýce rousného

9.3.2. Elektroforéza

Výsledné vzorky pro elektroforézu z PCR byly rozděleny pomocí pipety do předem vytvořených jamek v 0,8% agarózovém gelu. Následně byla provedena elektroforéza a jednotlivé vzorky vyhodnoceny pod UV lampou.

Ke korektnímu průběhu elektroforézy je nutné správně zvolit prostředí, ve kterém bude elektroforéza probíhat. Pro sýce rousného je vhodný agarózový gel (např. SeaKem®LE Agarose, gel for electrophoresis, LONZA). Obvykle se připravuje 0,8% gel pro většinu použití, 2% pro krátké úseky DNA (kolem 300 párů bazí). Pro přípravu gelu je nutné dodržet přesný poměr složek. Prášek se rozpouští v mikrovlnné troubě v 1x koncentrace TBE⁽¹⁾ pufru. Poměry pro přípravu TBE pufru jsou uvedeny v Tab. 3. Do zcela rozpuštěné agarózy se následně přidá ethidium bromid (cca 5 µl na 50 ml). Vytvořený roztok je nalit do vany s hřebenem. Po přibližně 20 min se pipetují smíchané vzorky s bromfenolovou sledovací barvou (Brejšková in verb.).

10x koncentrace TBE na 100ml.		
Tris base ⁽²⁾	5,4 g	
H ₃ BO ₃	2,75 g	
EDTA ⁽³⁾	2 ml	0,5 M, pH=8

Tabulka 3: Poměry složek pro TBE pufru.

Samice byly detekovány na základě zobrazení CHD1W (gen CHD na chromozómu W) fragmentů, které se zobrazily ve velikosti 1,2 kb od začátku elektroforézy a zároveň se zobrazily i kratší fragmenty CHD1Z (gen CHD na chromozómu Z) ve velikosti 0,7 kb. Samci byly charakterističtí zobrazením pouze kratších fragmentů CHD1Z (Příloha 4, 5) (Hipkiss 2002). Velikosti fragmentů byly určeny dle srovnání s DNA standardem (Příloha 6).

⁽¹⁾ TBE = Tris-borát-EDTA pufr

⁽²⁾ Tris base = triviální název organické látky tris(hydroxymethyl)aminomethanu, která se běžně používá v molekulární biologii jako pufr

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

9.4. Analýza dat

9.4.1. Vyhodnocení vlivu pohlaví mládřat na rychlost růstu a délku křídla v období pobytu mládřat na hnízdě

K vyhodnocení vlivu pohlaví mládřat na rychlost růstu bylo využito programu R studio, konkrétně balíčku lme4, který umožňuje vytváření smíšených lineárních modelů (Linear mixed models). Byly stanoveny dvě nulové hypotézy H_0 : rychlost přibývání na váze nezávisí na pohlaví mládřat a H_{0*} : rychlost růstu křídla nezávisí na pohlaví.

V případě vyhodnocení vlivu pohlaví mládřat na jejich růst (délka křídla = wing, hmotnost = mass) byly vytvořeny nejprve nulové modely (md1, md3), které byly následně porovnány s modely zahrnujícími efekt pohlaví (md2, md4) (Tab. 4). V modelech je věk (age) zahrnut jako kovariáta a kroužek (ring) a budka (box) jako náhodný efekt. Pohlaví (sex) je vysvětlující proměnná. Modely md1 a md2 stejně tak jako md3 a md4 byly následně mezi sebou porovnány ANOVOU. Z dat byly nakonec vytvořeny růstové křivky v programu statistika pro váhový přírůstek mládřat v závislosti na pohlaví. Růstové křivky byly vyhodnoceny na základě rovnice: $y = A / (1 + e^{-(K * (x - T_i))})$ ⁽⁴⁾, tak jak ji popisuje Starck & Ricklefs (1998). Růstové křivky byly vytvořeny pro obě pohlaví odděleně v programu statistika. Do růstové křivky pro samce bylo vyneseno 44 záznamů hmotnosti 14 mládřat (Obr. 6), růstová křivka pro samice byla vytvořena z 36 záznamů hmotnosti 11 mládřat (Obr. 7). Během sezóny 2006 byla délka křídla měřena u všech 25 mládřat, u kterých bylo determinováno pohlaví. Vztah věku a délky křídla byl vyjádřen lineární regresí na základě rovnice $y = ax + b$ ⁽⁵⁾. Graf růstu křídla pro samice byl vytvořen z 36 záznamů od 11 mládřat (Obr. 9), růst křídla samců popisuje křivka, vytvořená ze 44 záznamů od 14 mládřat (Obr. 8).

md1=lmer(mass~age+(1 ring)+(1 box))
md2=lmer(mass~age+sex+(1 ring)+(1 box))
md3=lmer(wing~age+(1 ring)+(1 box))
md4=lmer(wing~age+sex+(1 ring) + (1 box))

Tabulka 4: Zadání modelů do R (R 2015)

⁽⁴⁾ y = hmotnost, A = asymptota (maximální hmotnost), K = rychlost růstu, T_i = inflexní bod (bod dosažení největší rychlosti růstu, x = věk

⁽⁵⁾ y = závislá proměnná (délka křídla), a = intercept, x = nezávislá proměnná, b = regresní koeficient

10. Výsledky

10.1. Vliv pohlaví na růst mlád'at

10.1.1. Vliv pohlaví na hmotnost mlád'at

Desátý den po vylíhnutí samci vážili $66 \pm 9\text{g}$ ($n = 3$), 16. den $94 \pm 18\text{g}$ ($n = 3$) a 20. den $123 \pm 18\text{g}$ ($n = 3$). Váha samic během 9. a 10. dne byla průměrně $80 \pm 18\text{g}$ ($n = 3$), 16. den $85 \pm 33\text{g}$ ($n = 3$) a 20. den po vylíhnutí $101 \pm 24\text{g}$ ($n = 3$). Z vyhodnocení modelů md1 a md2 ANOVOU vyplývá, že pohlaví mlád'at nemá vliv na rychlost růstu ($P = 0.4784$, $\chi^2 = 0.5026$, $N = 25$).

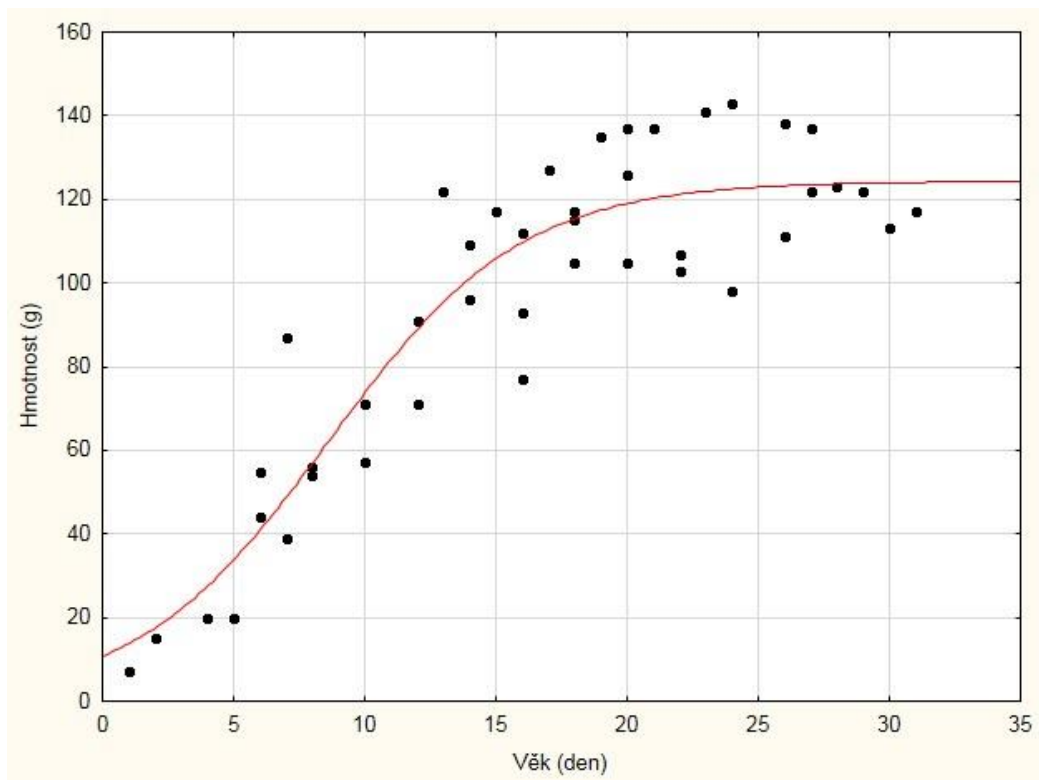
10.1.2. Růstové křivky

Růstové křivky pro samice a samce znázorněné na základě růstové rovnice (viz analýza dat 9.4.1.) jsou znázorněny na Obr. 6, 7.

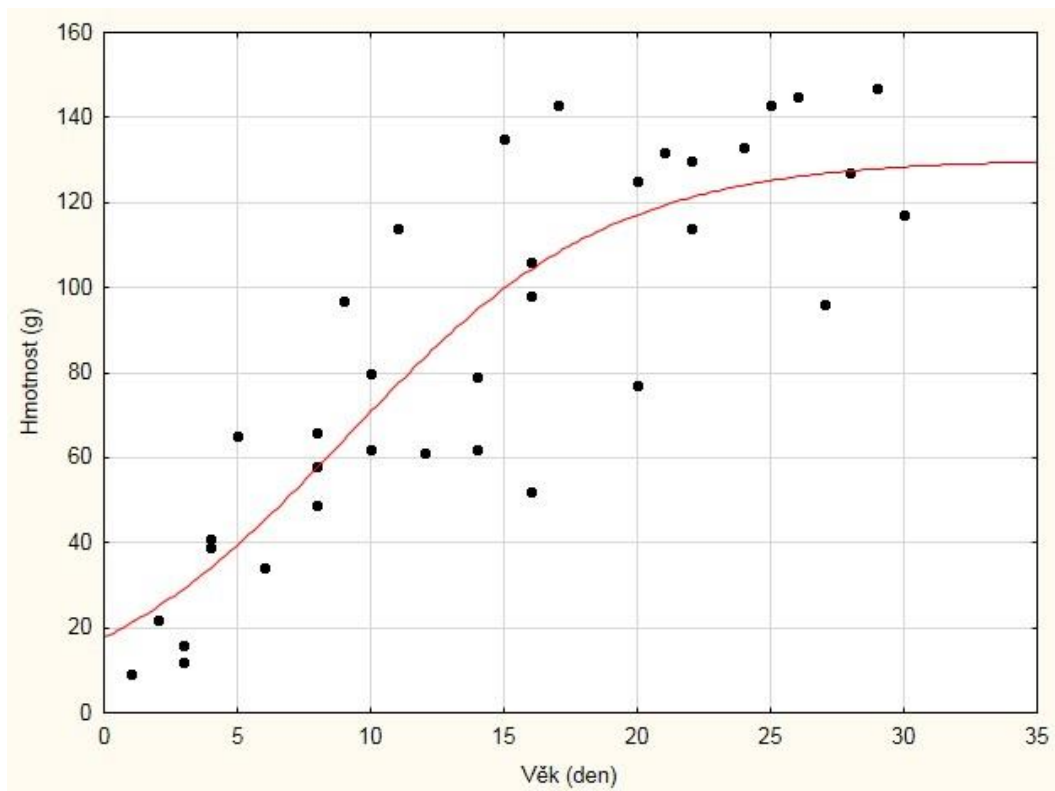
Asymptota i inflexní bod byly vyšší u samic než u samců, ale vyšší růstové rychlosti dosahovali samci (Tab. 5).

	A	K	Ti
samci	124,6 g	0,323	8,289 dnů
samice	130,3 g	0,202	9,145 dnů

Tabulka 5: Parametry rovnice růstové křivky pro jednotlivá pohlaví



Obrázek 6: Růstová křivka – samci

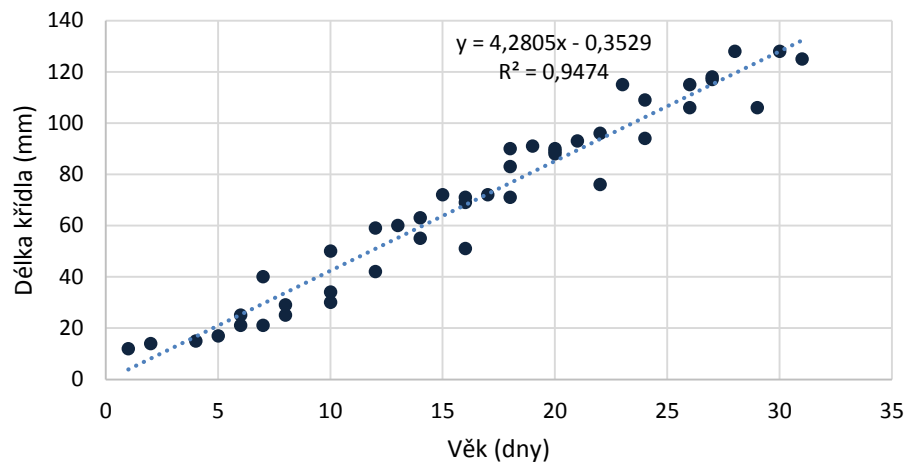


Obrázek 7: Růstová křivka – samice

10.1.3. Vliv pohlaví na délku křídla

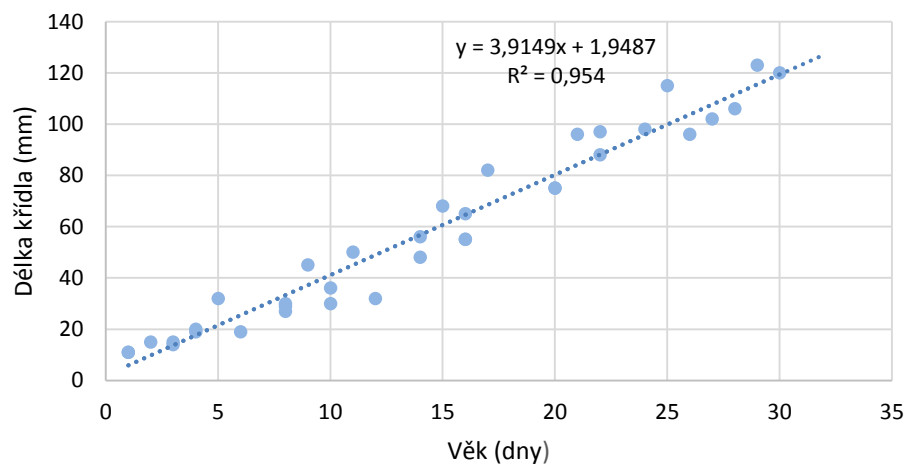
Průměrná délka křídla samců 10. den po vylíhnutí byla 38 ± 12 mm ($n = 3$), 16. den po vylíhnutí 64 ± 7 mm ($n = 3$) a 20. den 89 ± 1 mm ($n = 3$). Průměrná délka křídla samic během 9. a 10. dne po vylíhnutí byla 37 ± 8 mm ($n = 3$), 16. den 58 ± 7 mm ($n = 3$) a 20. den 75 mm ($n = 2$). Trend růstu křídel samců je vidět na obrázku 8, samic na obrázku 9. Mezi 27. – 31. dnem byla délka křídla u samců 119 ± 13 mm ($n = 5$) a u samic 113 ± 11 mm ($n = 4$). Křídlo rostlo nepřetržitě až do výletu mláděte z hnízda. Rychlost růstu křídla nebyla rozdílná mezi samci a samicemi ($P = 0.1622$, $\chi^2 = 1.954$, $N = 25$).

Trend růstu křídla (samci)



Obrázek 8: Růst křídla mláďat dle věku (Samci)

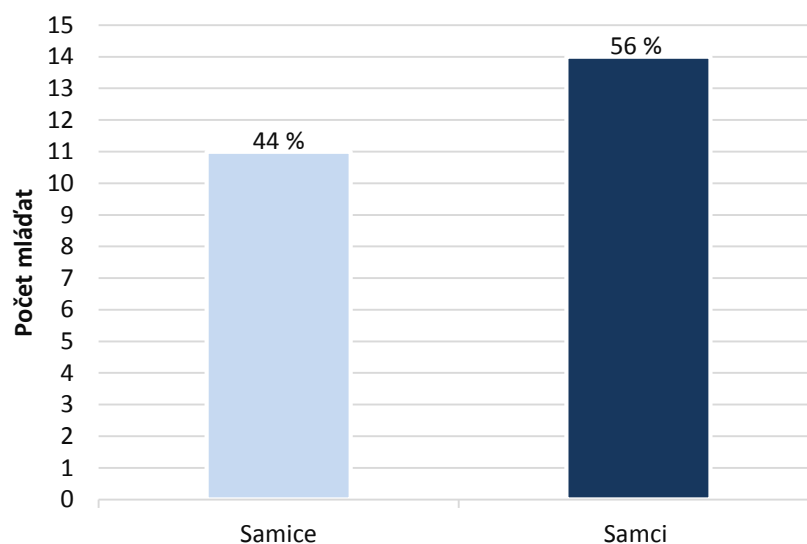
Trend růstu křídla (samice)



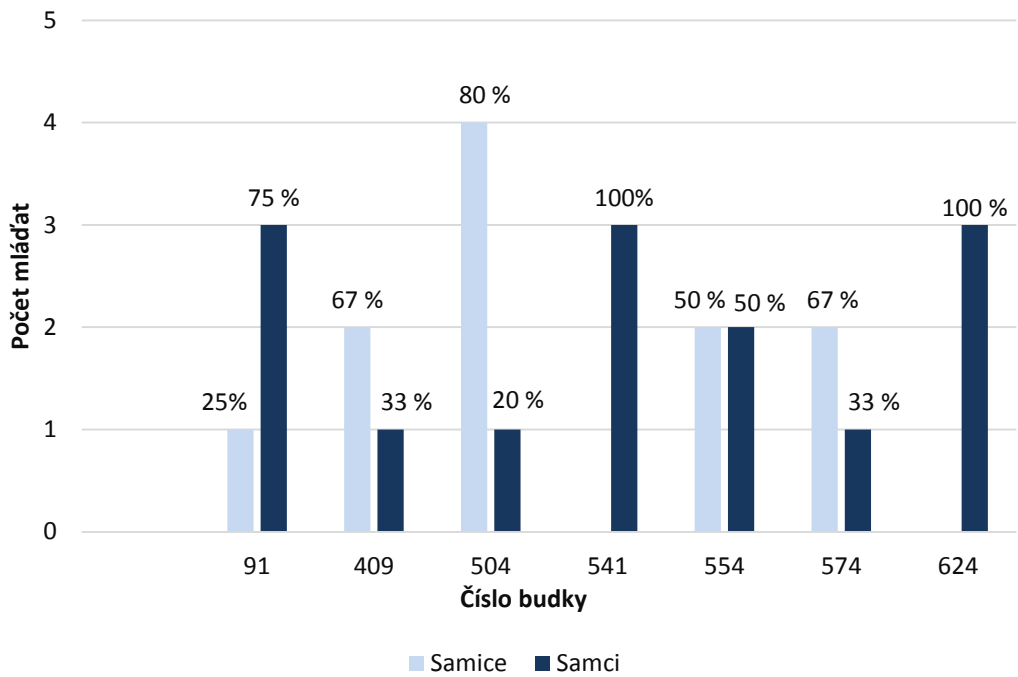
Obrázek 9: Růst křídla mláďat dle věku (Samice)

10.2. Poměr pohlaví mlád'at vzhledem k počtu mlád'at a pořadí líhnutí

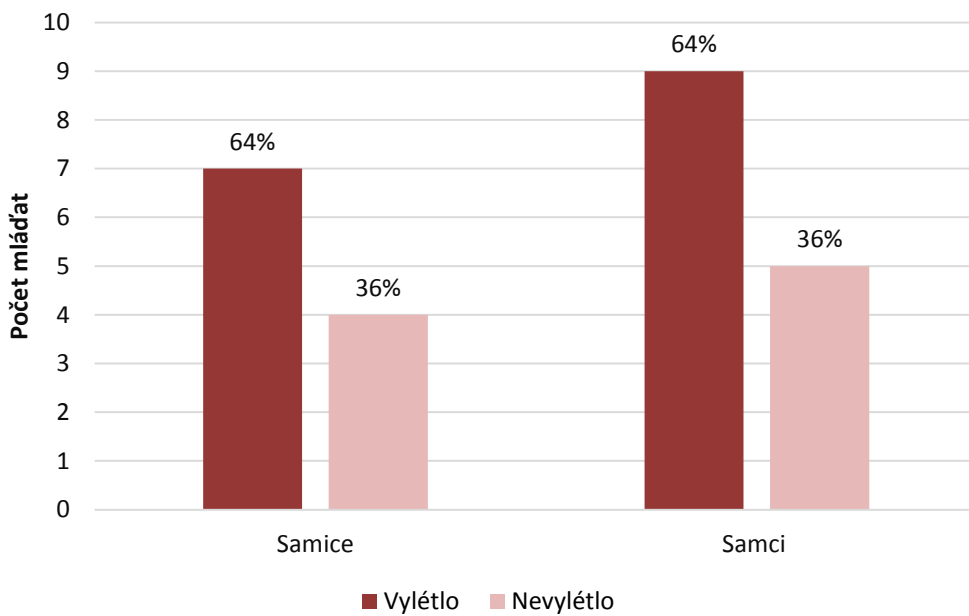
V celkem 7 hnízdech bylo determinováno 14 samců (56 %) a 11 samic (44 %) (Obr. 10). Poměry mlád'at v jednotlivých budkách jsou vyjádřeny na obrázku 11. Z celkového počtu 11 samic jich úspěšně opustilo hnízdo 7 (64%) a ze 14 samců bylo úspěšných 9 (64 %) (Obr. 12). Pohlaví mlád'at bylo také sledováno dle pořadí vylíhnutí (Obr. 13). První vylíhlá mlád'ata byla v 57 % samice, druhá a třetí převážně samci (71 %), čtvrtá vylíhlá mlád'ata byly převážně samice (67 %) a pátá mlád'ata byly také převážně samice (100%). V 7 analyzovaných hnízdech bylo nalezeno 3 – 5 mlád'at. Ve čtyřech hnízdech, kde byla nalezena 3 mlád'ata, bylo 67 % samců a 33 % samic. Ve dvou hnízdech, kde byla nalezen 4 mlád'ata, bylo 62 % samců a 38 % samic. V jednom hnízde, kde bylo nalezeno pět mlád'at, bylo 80 % samic a 20 % samců (Obr. 14).



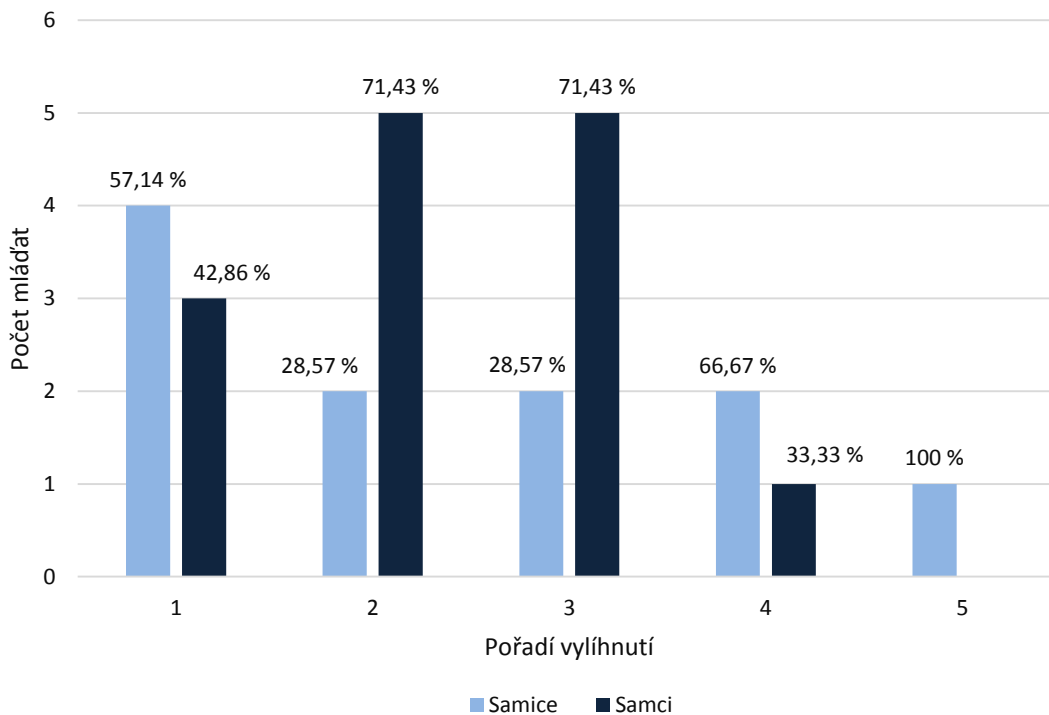
Obrázek 10: Poměr pohlaví mlád'at během hnízdní sezóny 2006 ($N = 25$ mlád'at).



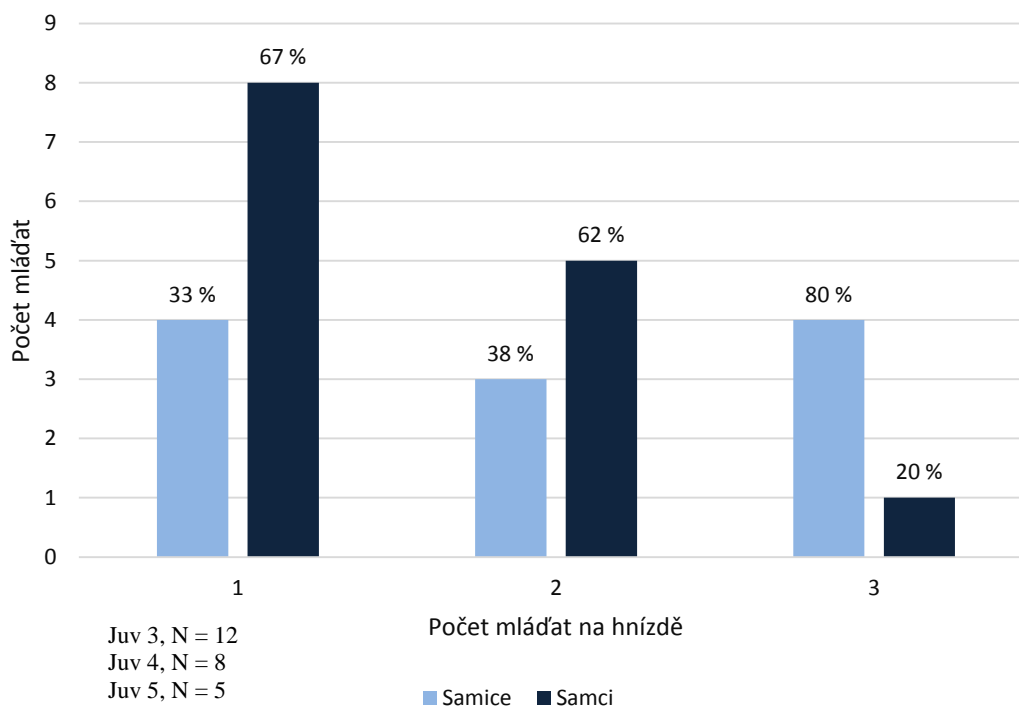
Obrázek 11: Poměr pohlaví mlád'at v budkách během hnízdní sezóny 2006 (N = 25 mlád'at).



Obrázek 12: Celková úspěšnost mlád'at v hnízdní sezóně 2006 (N = 25 mlád'at).



Obrázek 13: Poměr pohlaví mláďat v závislosti na pořadí líhnutí v Krušných horách v roce 2006 (N = 25 mláďat).



Obrázek 14: Poměr pohlaví mláďat v závislosti na počtu mláďat na hnízdě v hnízdní sezóně 2006 v Krušných horách (N = 25 mláďat).

11. Diskuse

V předložené studii bylo zjištěno, že samci a samice mláďat sýce rousného přibývají na váze podobně, tedy nebyl zjištěn signifikantní rozdíl v jejich hmotnosti, což je v souladu s nulovou hypotézou.

Tento výsledek se liší od závěrů Hipkisse (2002), který studoval pohlaví 61 mláďat v severním Švédsku. Z práce zmíněného autora vyplynul rozdíl asymptot růstových křivek mezi mláďaty. K dispozici byla data z let 1998 – 2000 a celkem bylo vyhodnoceno 41 samic a 20 samců. Asymptota samic byla přibližně o 5 % vyšší než u samců. V předložené práci vyšla asymptota samců o 4 % vyšší než u samic, ovšem hmotnost mláďat v průběhu růstu nebyla signifikantně odlišná. Tento výsledek může být do značné míry ovlivněn množstvím analyzovaných dat (pouze 25 mláďat) a je možné, že v případě většího množství dat by byl výsledek jiný. Studie Teathera & al. (1994) porovnávala rychlost růstu mláďat v závislosti na pohlaví u 31 druhů ptáků, z toho 11 dravců (krahujec obecný *Accipiter nisus*, jestřáb Cooperův *Accipiter cooperii*, krahujec americký *A. striatus*, jestřáb australský *A. fasciatus*, moták pilich *Circus cyaneus*, dřemlík rudohlavý *Falco chicquera*, dřemlík tundrový *F. columbarius*, poštolka pestrá *F. sparverius*, káně rudoocasá *Buteo jamaicensis*, orel skalní *Aquila chrysaetos*, orel bělohlavý *Haliaeetus leucocephalus*). Z výsledků této práce vyplynul patrný rozdíl v rychlosti růstu, kdy menší pohlaví roste rychleji než větší, tento jev je ještě více patrný u druhů, u kterých je znatelný obrácený sexuální dimorfismus, jako je například sýc rousný. Tento trend se projevil i z růstových křivek v této práci, kdy rychlost růstu samců byla 0,323 a u samic 0,202.

Testovaná hypotéza, že pohlaví mláďat neovlivňuje rychlost růstu křídla, byla v předložené práci potvrzena. Ke stejnému závěru došel také Hipkiss (2002), který studoval tento trend na 61 mláďatech v severním Švédsku. Dráková-Zárybnická (2002) hodnotila data z hnízdní sezóny 1998 a 1999 a došla k závěru, že rychlost růstu křídla je přímo úměrná věku, což se shoduje s výsledky této práce.

V předložené práci bylo vyhodnoceno také pohlaví mláďat s ohledem na počet přítomných mláďat ve hnízdě a na pořadí líhnutí jednotlivých mláďat. První vylíhlá mláďata byla z 57 % samice, druhá a třetí mláďata byla převážně samci (71 %), čtvrtá byla převážně samice (67%) a pátá byla samice (100%, jedno hnízdo). Z výsledků je dále patrné, že v hnízdech se 3 – 4 mláďaty byl poměr pohlaví podobný, přičemž převažovali samci nad samicemi v poměru cca 60 – 70 % : 30 – 40 %. V hnízdech s pěti mláďaty však výrazně převažovaly samice (80 %). Hipkiss & Hörnfeldt (2004) uvádí, že sýc rousný je schopný ovlivnit pohlaví svých mláďat v závislosti na množství potravní nabídky. Když je nadbytek potravy, vychyluje se poměr pohlaví mláďat směrem k většímu množství samců, zatímco v letech nedostatku potravy se rodí více

samic. V roce 2006 došlo k poklesu potravní nabídky na území Krušných hor (Zárybnická & al. 2015), což by mohlo ovlivnit pohlaví mlád'at ve prospěch samic (Hipkiss & Hörnfeldt 2004). Nicméně, v roce 2006 bylo určeno 14 samců a 11 samic, což neodpovídá danému předpokladu. Je však nutné podotknout, že výsledky mohou být ovlivněny malým počtem mlád'at ($N = 25$).

12. Závěr

Hlavním cílem této práce bylo vyhodnotit růst mlád'at sýce rousného (*Aegolius funereus*) v Krušných horách v závislosti na jejich pohlaví. Určení pohlaví bylo stanoveno na základě analýzy DNA. V práci byla podrobně popsána metodika této analýzy. Z celkového počtu 24 hnízd se podařilo analyzovat DNA ze 7 hnízd u 25 mlád'at, což je 34 % z celkového počtu mlád'at vylíhlých během sezóny 2006.

Z 25 mlád'at bylo 14 samic a 11 samců, přičemž první vylíhlá mlád'ata byla v 57 % samice, jako druzí a třetí se líhli převážně samci (71 %) a čtvrté a páté samice (67 % a 100 %). Z výsledků je dále patrné, že v hnízdech se 3 a 4 mlád'aty byl poměr pohlaví podobný, přičemž převažovali samci nad samicemi v poměru ca 60- 70 % : 30- 40 %. V hnízdech s pěti mlád'aty však významně převažovaly samice (80 %). Z množství dat, které byly k předložené práci k dispozici, nevyšel průkazný rozdíl v hmotnosti, ani délce křídla mezi samci a samicemi.

Závěrem bych ráda zmínila, že práce mi poskytla velké množství nových informací a zkušeností, zejména v praktické části. Tímto tématem bych se ráda dále zabývala. Především bych ráda kompletovala a analyzovala vyšší počet vzorků a poskytla tak nové poznatky k hnízdní biologii daného druhu.

13. Seznam zdrojů

Alberts B., Bray D., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., 1998: Essential Cell Biology. Garland Publishing Inc., New York.

Altshuler L. M., 2006: PCR troubleshooting, The essential guide. Caister Academic Press, Norfolk.

Bejček V., Šťastný K., 2001: Encyklopedie ptáků. Rebo productions, Dobřejšovice.

Birdlife International 2004: Boreal Owl (*Aegolius funereus*) - BirdLife species factsheet. Online:

www.birdlife.org/datazone/userfiles/file/Species/BirdsInEuropeII/BiE2004Sp2291.pdf cit. 5.2.2015.

Bonifacino S. J. M. [eds], Harford B. J. [eds], Lippincott-Schwartz J., Yamada M. K. [eds], 2004: Short Protocols in Cell Biology. John Wiley&Sons, Inc. New Jersey.

Campbell B., Lack E. [eds], 1985: A Dictionary of Birds. Calton (poyser) and Vermillion (Buteo).

Cramp S., Simmons K. [eds], 1985: Handbook of the Birds of Europe, the Middle East and North Africa. The Birds of the Western Palearctic Vol. IV. Oxford University Press, Oxford & New York.

del Hoyo J., Elliott A., Sargatal J. [eds], 1999: Handbook of the Birds of the World. Vol.5. Barn-owls to Hummingbirds. Lynx Edicions, Barcelona.

Donald P. F., 2007: Adult sex ratio in wild bird populations. Ibis 149: 671–692.

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

Drdáková – Zárybnická M., 2003: Hnízdní biologie sýce rousného (*Aegolius funereus*) v imisních oblastech Krušných hor. Sylvia 39: 35 – 51.

Drdáková – Zárybnická M., 2004: Sýc rousný — úspěšný druh imisních holin. Živa 3: 128 – 130.

Drdáková - Zárybnická M., 2005: Růst mláďat sýce rousného (*Aegolius funereus*) v Krušných horách. BUTEO 14: 37-50.

- Dubiec A., Zagalska-Neubauerova M., 2006:** Molecular techniques for sex identification in birds. *BIOLOGICAL LETT* 43: 3 – 12.
- Eldegard K., Sonerud G. A., 2009:** Female offspring desertion and male-only care increase with natural and experimental increase in food abundance. *Proc R Soc B* 276: 1713-1721.
- Fridolfsson A. K., Ellegren H., 1999:** A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *Journal of Avian Biology* 30: 116–121.
- Griffiths R., Tiwari B., 1995:** Sex of the last wild Spix's macaw. *Nature* 375: 454.
- Griffiths R., Daan S., Dijkstra C., 1996:** Sex identification in birds using two CHD genes. *Proc. Royal Soc. London B* 263: 1251 – 1256.
- Griffiths R., Korn R., 1997:** A CHD1 gene is Z chromosome linked in the Chicken *Gallus domesticus*. *Gene* 197: 225 - 229.
- Hakkarainen H., Korpimäki E., 1998:** Why do territorial male Tengmalm's owls fail to obtain a mate? *Oecologia* 114: 578– 582.
- Hahn D. C., 1981:** Asynchronous hatching in the laughing gull: cutting losses and reducing rivalry. *Anim Behav* 29: 421±427.
- Hammond J. B. W., Spanswick G., Mawn J. A., 1996:** Extraction of DNA from preserved animal specimens for use in randomly amplified polymorphic DNA analysis. *Anal. Biochem* 240: 298 - 300.
- Hess M., Scope A., Heincz U., 2004:** Comparative sensitivity of polymerase chain reaction diagnosis of psittacine beak and feather disease on feather samples, cloacal swabs and blood from budgerigars (*Melopsittacus undulates*, Shaw 18005). *Avian Pathology* 33: 477 – 481.
- Hipkiss T., 2002:** Brood sex ratio and sex differences in Tengmalm's owl (*Aegolius funereus*), „nepublikováno“. Diplomová práce Ecology and Environmental Science Umeå University, Sweden: „Dep.: Umeå University“.
- Hipkiss T., Hörnfeldt B., 2004:** High interannual variation in the hatching sex ratio of Tengmalm's owl broods during a vole cycle. *Popul Ecol* 46: 263 – 268.
- Holý P., 2002:** Potravní ekologie sýce rousného (*Aegolius funereus* L.) v imisních oblastech Krušných hor, "nepublikováno“. Diplomová práce LF ČZU v Praze: „Dep.: Česká Zemědělská Universita“.

- Hörnfeldt B., Hipkiss T., Fridolfsson A.-K., Ekolund U., Ellegren H., 2000:** Sex ratio and fledging success of supplementary-fed Tengmalm's owl broods. *Molecular Ecology* 9: 187 – 192.
- Hudec K., Šťastný K., 2005:** Fauna ČR Ptáci 2/II. Akademie věd České Republiky, Praha.
- Jirsík J., 1944:** Naše sovy. Mladá fronta, Praha.
- Jones A., Reed R., Weyers J., 1998:** Practical skills in biology. Longman, Harlow.
- Kloubec B., 1986:** Rozšíření, početnost a ekologické nároky sýce rousného (*Aegolius funereus* L.) v jižních Čechách. Sborník z ornitologické konference Sovy 1986, Přerov: 85–93.
- Korpimäki E., 1981:** On the ecology and biology of Tengmalm's Owl *Aegolius funereus* in southern Ostrobothnia and Soumenselekä, western Finland. *Biol* 13: 1–84.
- Korpimäki E., 1986a:** Reversed size dimorphism in birds of prey, especially in Tengmalm's owl *Aegolius funereus*: a test of the "starvation hypothesis". *Ornis Scand* 17: 326–332.
- Korpimäki E., 1986b:** Gradients in population fluctuations of Tengmalm's owl *Aegolius funereus* in Europe. *Oecologia* (Berlin) 69: 195 – 201.
- Korpimäki E., Hakkarainen H., 1991:** Fluctuating food supply affects the clutch size of Tengmalm's Owl independent of laying date. *Oecologia* 85: 543–552.
- Korpimäki E., Norrdahl K., 1998:** Experimental reduction of predators reverses the crash phase of small-rodent cycles. *Ecology* 79: 2448–2455.
- Korpimäki E., Hakkarainen H., 2012:** The Boreal Owl. Ecology, Behaviour and conservation of a Forest-Dwelling predator. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kouba M., Tomášek V., Šťastný K., 2010:** Telemetrie sýce rousného (*Aegolius funereus*) v imisemi poškozených oblastech Krušných hor. Bryja J., Zasadil P. (Eds.): Zoologické dny Praha 2010. Sborník abstraktů z konference 11.-12. února 2010.(online: http://zoo.ivb.cz/doc/sborniky/sbornik_2010.pdf).
- Lack D., 1954:** The natural regulation of animal numbers. Clarendon Press, Oxford.
- Mikkola H., 1983:** Owls of Europe. T. & A. D. Poyser, Calton.
- Newton I., 1979:** Population ecology of raptors. T. & A. D. Poyser, London.

Norberg A., 1970: Hunting technique of Tengmalm's owl *Aegolius funereus* (L.). *Ornis Scand* 1: 51–64.

R Core Team 2014: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

Research instruments: Nucleic Acid Electrophoresis. Online: <http://www.ri.com.my/#!nucleic-acid-electrophoresis/cwed> cit. 13.3.2015.

Sambrook J., Fritsche E. F., Maniatis T., 1989: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Schüz E., 1957: Das Verschlingen eigener Junger ("Kronismus") bei Vogeln und seine Bedeutung, *Vogelwarte* 19: 1-15.

Schwerdtfeger O., Wink M., 2014: Lack of correlation between sex ratio and food supply or other biotic variables in nestlings of Tengmalm s Owl *Aegolius funereus*. *Journal of Ornithology* 155: 497-505.

Simmons R. E., 1988: Ofspring quality and the evolution of cainism. *Ibis* 130: 339 ± 357.

Slagsvold T., Røskaft E., Engen S., 1986: Sex ratio, differential cost of rearing young, and differential mortality between the sexes during the period of parental care: Fisher's theory applied to birds. *Ornis Scandinavica* 17: 117 – 125.

Stevens L., 1996: Sex chromosomes and sex determining mechanisms in birds. *Science progress* 80: 197-216.

Stoleson S. H., Beissinger S. R., 1995: Hatching asynchrony and the onset of incubation in birds, revisited. *Curr Ornithol* 12: 191–270.

Starck J. M., Ricklefs R. E., 1998: Avian growth rate data set. In: Starck J. M. & Ricklefs R. E. (eds.): *Avian Growth and Development, Evolution within the Altricial-Precocial Spectrum*, Oxford University Press, New York.

Šťastný K., Bejček V., Hudec K., 2009: *Atlas hnízdního rozšíření ptáků v České republice 2001–2003*. Aventinum s. r. o., Praha.

Teather K. L., Weatherhead P. J., 1994: Allometry, adaptation, and the growth and development of sexually dimorphic birds. *Oikos* 71: 515 – 525.

Trivers R. L., Willard D. E., 1973: Natural selection of parental ability to vary sex ratio of offspring. *Science* 179: 90–92.

- Truett G. E., 2000:** Preparation of PCR - Quality Mouse Genomic DNA with Hot Sodium Hydroxide and Tris (HotSHOT). *BioTechniques* 29: 52-54.
- Tomášek O., Kubíček O., Tukač V., 2008:** Comparison of three template preparation methods for routine detection of beak and feather disease virus and avian polyomavirus with single and nested polymerase chain reaction in clinical specimens. *Avian Pathology* 37: 145 – 149.
- Vacík R., 1991:** Hnízdění biologie sýce rousného, *Aegolius funereus*, v Čechách a na Moravě. *Sylvia* 28: 95–113.
- Valkama J., Korpimäki E., Holm A., Hakkarainen H., 2002:** Hatching asynchrony and brood reduction in Tengmalm's Owl *Aegolius funereus*: the role of temporal and spatial variation in food abundance. *Oecologia* 133: 334–341.
- Velký lékařský slovník 2008a:** Taq-polymeráza. Online:
<http://lekarske.slovníky.cz/pojem/taq-polymeraza>. cit. 3.3.2015.
- Velký lékařský slovník 2008b:** Termocykler. Online:
<http://lekarske.slovníky.cz/pojem/termocykler>. cit. 3.3.2015.
- Voous K. H., 1962:** Die Vogelwelt Europas und ihre Verbreitung. Ein tiergeographischer Atlas über die Lebensweise aller in Europa brütenden Vögel. Verlag Paul Parey Hamburg – Berlin.
- Walsh P. S., Metzger D. A., Higuchi R., 1991:** Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 10: 506–513.
- Wheeler P., Greenwood P. J., 1983:** The evolution of reversed sexual dimorphism in birds of prey. *Oikos* 40: 145–149.
- Witt R. [eds], 1995:** Steinbachův velký průvodce přírodou PTÁCI, GeoCenter, Praha.
- Zárybnická M., 2009:** Parental investment of female Tengmalm's Owls *Aegolius funereus*: correlation with varying food abundance and reproductive success. *Acta Ornithol.* 44: 81–88.
- Zarybnická M., Korpimäki E., Griesser M., 2012:** Dark or short nights: differential latitudinal constraints in nestling provisioning patterns of a nocturnally hunting bird species. *PLoS One.* 5: 3692-3692.

Zarybnická M., Riegert J., Šťastný K., 2013: The role of Apodemus mice and Microtus voles in the diet of the Tengmalm's Owl in Central Europe. Pop. Ecol. 55: 353 - 361.

Zárybnická M., Sedláček O., Salo P., Šťastný K., Korpimäki E., 2015: Reproductive responses of temperate and boreal Tengmalm's Owl *Aegolius funereus* populations to spatial and temporal variation in prey availability. Ibis 157: 369–383.

Zárybnická M., Riegert J., Šťastný K., 2015: Non-native spruce plantations represent a suitable habitat for Tengmalm's Owl (*Aegolius funereus*) in the Czech Republic, Central Europe. Journal of Ornithology 156: 457 – 468.

14. Seznam obrázků a tabulek

Obrázek 1: Sýc rousný (<i>Aegofolius funereus</i>) (Bejček & Šťastný 2001).....	12
Obrázek 2: Rozšíření sýce rousného ve světě. (Hudec & Šťastný 2005)	15
Obrázek 3: Rozšíření sýce rousného (<i>Aegolius funereus</i>) v ČR mezi roky 1973 – 1977 (Šťastný & al. 2009).....	16
Obrázek 4: Rozšíření sýce rousného (<i>Aegolius funereus</i>) v ČR mezi roky 1985 – 1989 (Šťastný & al. 2009).....	16
Obrázek 5: Rozšíření sýce rousného (<i>Aegolius funereus</i>) v ČR v současné době (Šťastný & al. 2009).....	16
Obrázek 6: Růstová křivka – samci	31
Obrázek 7: Růstová křivka – samice.....	31
Obrázek 8: Růst křídla mlád'at dle věku (Samci).....	33
Obrázek 9: Růst křídla mlád'at dle věku (Samice).....	33
Obrázek 10: Poměr pohlaví mlád'at během hnízdní sezóny 2006 (N = 25 mlád'at) ..	34
Obrázek 11: Poměr pohlaví mlád'at v budkách během hnízdní sezóny 2006 (N = 25 mlád'at).....	35
Obrázek 12: Celková úspěšnost mlád'at v hnízdní sezóně 2006 (N = 25 mlád'at).....	35
Obrázek 13: Poměr pohlaví mlád'at v závislosti na pořadí líhnutí v Krušných horách v roce 2006 (N = 25 mlád'at).....	36
Obrázek 14: Poměr pohlaví mlád'at v závislosti na počtu mlád'at na hnízdě v hnízdní sezóně 2006 v Krušných horách (N = 25 mlád'at).	36
Tabulka 1: Poddruhy sýce rousného a jejich výskyt (Korpimäki & Hakkarainen 2012).	14
Tabulka 2: Nastavení termocykleru pro PCR u sýce rousného.....	27
Tabulka 3: Poměry složek pro TBE pufru.	28
Tabulka 4: Zadání modelů do R (R 2015)	29
Tabulka 5: Parametry rovnice růstové křivky pro jednotlivá pohlaví.....	30

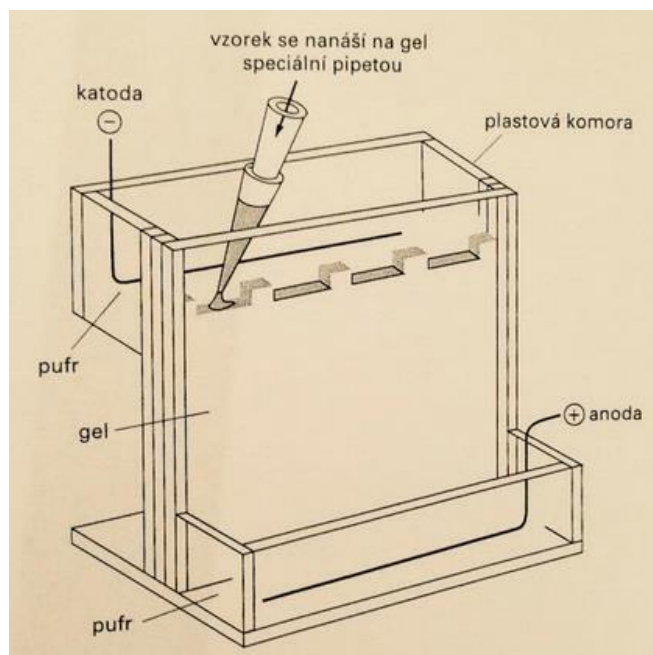
15. Přílohy



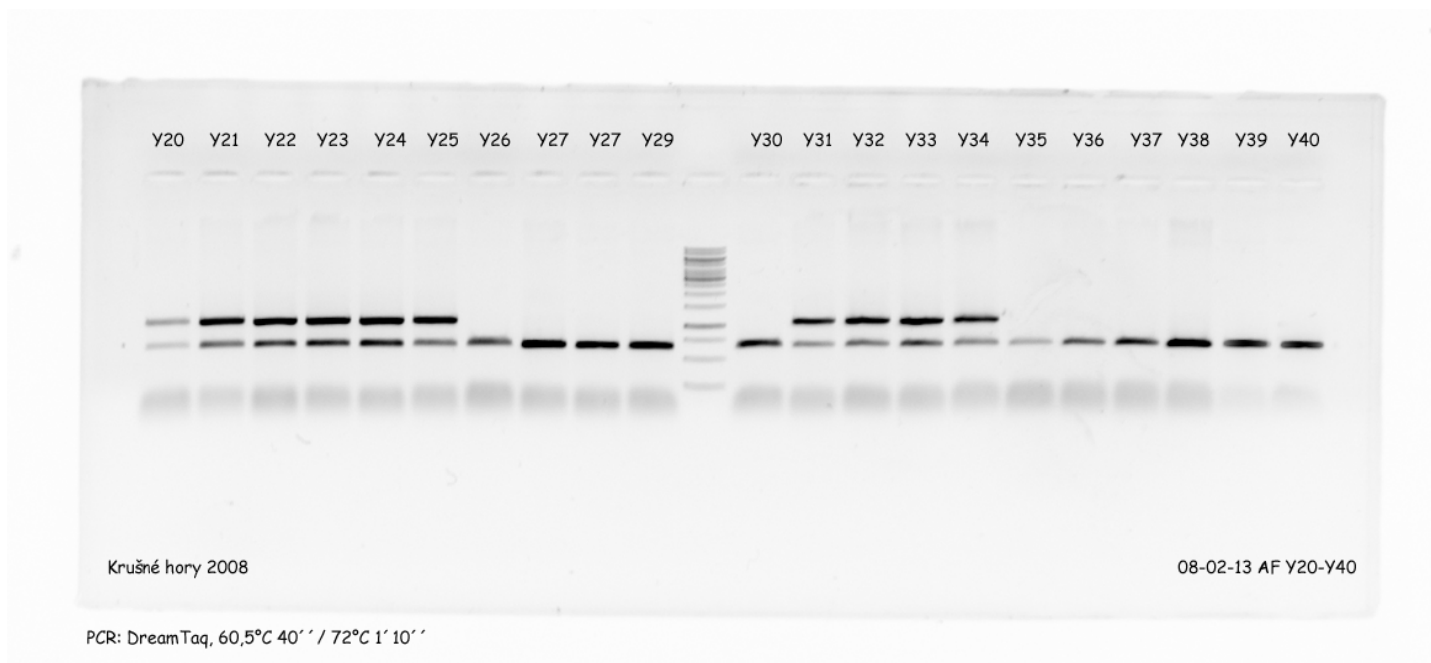
*Příloha 1: Mládě sýce rousného (*Aegolius funereus*). (Foto: Zárybnická 2014)*



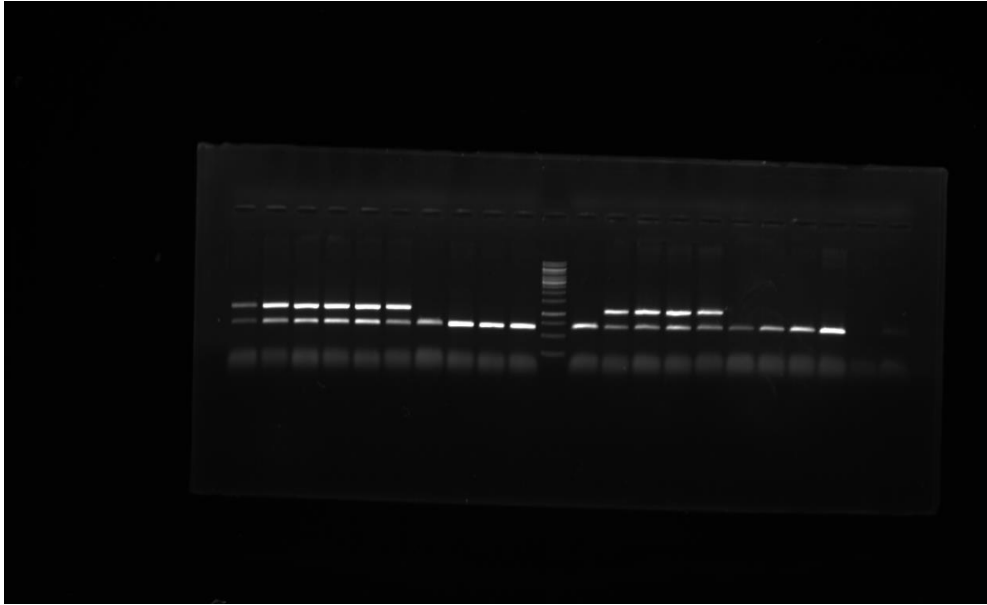
Příloha 2: Odběry krve z brachiální žíly. (Foto: Zárybnická 2014)



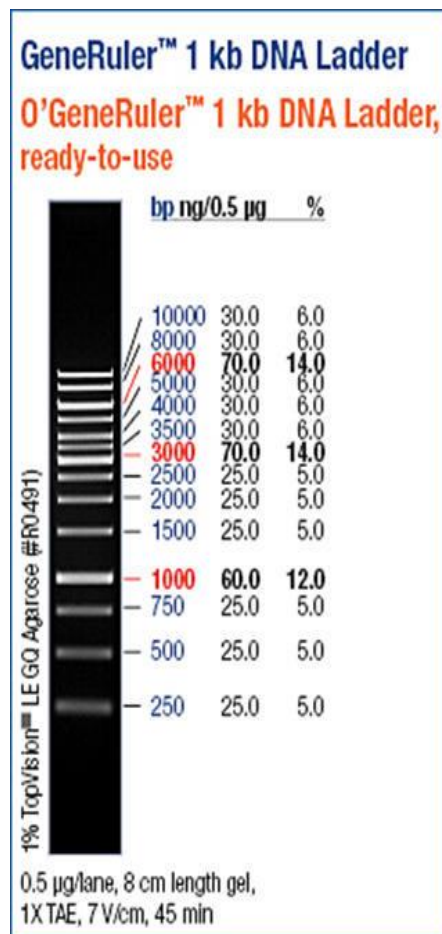
Příloha 3: Schéma elektroforézy (Alberts & al. 1998).



Příloha 4: Výsledný elektrogram – surový (ilustrační, sezóna 2008) (Foto: Lucie Brejšková 2013).



Příloha 5: Výsledný elektrogram – osvětlen UV (ilustrační, sezóna 2008) (Foto: Lucie Brejšková 2013).



Příloha 6: : Standard pro určení délky fragmentů (žebřík) (<http://www.ri.com.my>)