

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra ekologie a životního prostředí



Použití PIT tagu u čolka velkého (*Triturus cristatus*)

The use of the PIT tags for the Great crested newt (*Triturus cristatus*)

Ivana Mančíková

Bakalářská práce
předložená
na Katedře ekologie a životního prostředí
Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

jako součást požadavků
na získání titulu Bc. v oboru
Ekologie a ochrana životního prostředí

Vedoucí práce: Mgr. Lukáš Weber
Olomouc 2020

Bibliografická identifikace:

Mančíková I. 2020. Použití PIT tagu u čolka velkého (*Triturus cristatus*). Bakalářská práce. Katedra ekologie a životního prostředí, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci. 36 pp.

Abstrakt:

Během posledních desetiletí populace obojživelníků výrazně ubývají, ohroženi jsou celou řadou faktorů (degradace a ztráta habitatů, používání hnojiv a pesticidů, plošná eutrofizace, predace, vysoušení krajiny a další). Čolek velký (*T. cristatus*) je silně ohrožený, přestože existuje celá řada studií tohoto druhu, stále mnoho informací o něm nevíme. Použití pasivního integrovaného transpoderu (PIT tagu) jako monitorovací metody u tohoto druhu může přinést užitečná data a pomoci tak k jeho ochraně. Cílem této práce je experimentálně zhodnotit, zda aplikace PIT tagu ovlivňuje chování jedinců *T. cristatus* a stavit míru přežívání po implantaci PIT tagu. Druhá část experimentu probíhala v terénních podmínkách s cílem určit zpětnou detekci jedinců označených PIT tagem po vypuštění do přirozeného prostředí. Dále jsme stanovili denní aktivitu v závislosti na pohlaví a sledovali pohybovou aktivitu. Behaviorální změny u jedinců *T. cristatus* nebyly v laboratorních podmínkách prokázány. Stejně tak vysoká míra přežití značí o vhodnosti užití této metody. Nejvíce detekovaných jedinců (97 %) jsme zaznamenali první tři dny po vypuštění, poté tuň rychle vysychala. Během těchto tří dnů byli vždy aktivnější samci. Samci také urazí průměrně větší vzdálenost než samice. Použití této metody tak celkově poskytuje cenná data o chování, aktivitě, uražené vzdálenosti a rozdílech v chování mezi samci a samicemi.

Klíčová slova: čolek velký (*T. cristatus*), behaviorální změny, detekce, PIT tag

Bibliographical identification:

Mančíková I. 2020. The use of the PIT tag for Great crested newt (*Triturus cristatus*). Bachelor thesis. Department of Ecology and Environmental Sciences, Faculty of Science, Palacky University in Olomouc. 36 pp.

Abstract:

Population of amphibians has decline distinctly during last decades. They are threatened by lot of factors (degradation and habitat loss, using fertilizers and pesticides, eutrophication, predation and drying of the landscape, etc.). The Great crested newt (*T. cristatus*) is threatened, although there are several studies about this species, still we don't have enough information about it. Using Passive Integrated Transponder (PIT) tag as a monitoring method, can bring useful data and helps to protect this species. The aim of this study is to experimentally evaluate whether the application of the PIT tag affects the behavior of *T. cristatus* and to determine the survival rate after PIT tag application. The second part of the experiment considered about detection of individuals marked with a PIT tag in natural environment. We also determined the daily activity depending on the sex and monitored physical activity. Behavioral changes by *T. cristatus* were not proven in the laboratory conditions. However, high survival rate also proves that this method is good for using. The most individuals (97 %) we detected for first three days, then the breeding pond dried up. Males were more active than females and also reached longer distance on average. The using of this method provides valuable data about behavior activity, reached distance and differences in behavior between male and female.

Key words: Great crested newt (*T. cristatus*), behavioral changes, detection, PIT tag

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením
Mgr. Lukáše Webera a s použitím citovaných literárních zdrojů.

V Olomouci dne 24.7.2020

.....

Ivana Mančíková

Obsah

1. Úvod.....	11
1.1. Čolek velký (<i>Triturus cristatus</i>).....	12
1.2. Metody sledování jedinců	14
2 Cíle práce	16
3 Materiál a metody	17
3.1. Charakteristika lokality	17
3.2. Odchyt, aklimatizace a sledování jedinců <i>Triturus cristatus</i>	17
3.3. Aplikace PIT tagu	18
3.5. Terénní monitoring.....	18
4 Výsledky	21
4.1. Aplikace PIT tagu u <i>Triturus cristatus</i>	21
4.2. Aplikace a analýza dat získaných při použití PIT tagu v rámci terénního monitoringu	23
5 Diskuse.....	25
5.1 Aplikace PIT tagu u <i>Triturus cristatus</i>	25
5.2. Aplikace a analýza dat získaných při použití PIT tagu v rámci terénního monitoringu	27
6. Závěr	30
7. Literatura.....	31
8. Přílohy.....	35

Seznam tabulek

Tab. 1: Setrvání jedinců v jednotlivých kvadrantech před aplikací PIT tagu (Sex– pohlaví, F – female, M– male).....	21
Tab. 2: Setrvání jedinců v jednotlivých kvadrantech po aplikaci PIT tagu (Sex– pohlaví, F – female, M– male).....	22
Tab. 3: Počet detekovaných samců a samic za 24 hod, 48 hod, 72 hod (F – female, M– male)	24
Tab. 4: Průměrný počet záznamů na jednoho jedince za jednu hodinu (F – female, M– male)	24

Seznam obrázků

Obr. 1: Sledovaná akvária v laboratoři, noc (vlevo), den (vpravo), akvária dělená na 4 kvadranty (Q1 – Q4)	18
Obr. 2: Rozmístění antén na lokalitě (Weber et al. 2019), upraveno.....	19
Obr. 3: Průměrný čas (s) strávený v jednotlivých kvadrantech (Q1 – Q4). Q= volná hladina s vegetací, Q2= volná hladina bez vegetace, Q3= dno s vegetací, Q4= dno bez vegetace.....	23

Seznam zkratek

PIT— pasivní integrovaný transpondér

AOPK— Agentura ochrany přírody a krajiny

Poděkování

Za odborné vedení mé práce a podnětné připomínky velmi děkuji Mgr. Lukáši Weberovi. Další velké poděkování patří Dr. Martinu Bitomskému za pomoc při statistickém zpracování dat.

Výzkum proběhl na základě povolení: KUOK 31961/2016.

V Olomouci, dne 24.7. 2020

1. Úvod

Přežívání obojživelníků je silně limitováno prostředím (Zavadil 2011). Obojživelníci často migrují mezi více typy prostředí během roku, a proto je ochrana této skupiny živočichů obtížná a její metody nikdy nejsou definitivní (Vojar 2007, Zavadil et al. 2011). Četné a účinné bariéry bránící přirozené migraci obojživelníků, jako třeba neobhospodařované louky a pole, husté lesní monokultury a rozsáhlé zemědělské plochy, společně s nedostatkem drobných útočišť, mohou vést až k vyhynutí některých populací (Zavadil 2011). K velkému úbytku populací obojživelníků došlo zejména během posledních desetiletí (Houlán et al. 2000). Jde dokonce o největší úbytek mezi všemi skupinami obratlovců (Bock et al. 2009, Zavadil et al. 2011). Úbytek je z velké části způsoben ztrátou biotopů a jejich degradací (Langton 2001, Beckett & Foster 2001, Jehle 2011, Thiesmeier & Foster 2011), nadměrným využíváním krajiny (Gustafson 2011), změnami v hospodaření (Dervo 2014) a nadměrným používáním hnojiv a pesticidů (Maštera & Mašterová 2017). Dále také plošnou eutrofizací, vysušováním krajiny a úbytkem mokřadních biotopů i zamokřených terénů bez stálé vodní hladiny (Zavadil 2011). Neopomenutelným faktorem může být i predace jinými živočichy (Dervo 2014), jako jsou larvy chrostíků, pijavice, plži, larvy potápníků a vážek, dále ptáci, plazi i savci. (Miaud 1993, Axelsson et al. 1997, Majecki & Majecka 1998, Merilä & Sterner 2002, Krishna & Vijayalaxmi, 2004, Wells 2007). Hlavním predátorem jsou však ryby, jejichž chov je nadměru intenzivní (Maštera & Mašterová 2017), konzumují jak vajíčka a larvy, tak i dospělé obojživelníky (Wells 2007). Nutno zmínit i predaci domácími kočkami a psi, kteří často loví obojživelníky pro zábavu, aniž by je poté konzumovali (Maštera & Mašterová 2017). Všechny výše zmíněné faktory často působí ve vzájemných interakcích, a proto se klasická biotopová ochrana může jevit jako nedostatečná (Vojar 2007). V řadě případů nejsme vůbec schopni rozpoznat, z jaké příčiny poklesla početnost populace (Semlitsch 2003, Vojar 2007). Je tedy důležité sledovat změny v rozmanitosti organismů, zároveň porozumět vlivům lidských aktivit na jednotlivé druhy a na základě toho vyvinout praktické přístupy k ochraně i obnově biodiverzity (Primack et al. 2001). Jednotlivé druhy můžeme chránit, pouze jsme-li si vědomi příčin jejich ohrožení a zároveň známe jejich ekologii a roli

v ekosystému (Vojar 2007), zároveň vyžaduje používání metod, které jsou efektivní, minimalizující vnější vlivy a poskytující reálná data o zkoumané populaci (Jenkins et al. 2003, Dervo 2014).

Obojživelníci jsou přitom velmi významní, jsou např. bioindikátory, zejména díky své mimořádné citlivosti na kvalitu prostředí a její změny (Welsh & Ollivier 1998, Vojar 2007, Sansiñena et al. 2018). V ekosystému mají nezastupitelnou roli jako konzumenti bezobratlých živočichů i jako potrava mnoha druhů (Langton et al 2001, Vojar 2007, Zavadil et al. 2011). Velký význam představují také pro člověka, hojnější druhy se využívají při studiu tkáňových transplantací, v embryologických a jiných experimentech (Rehák 1992). Zájem budí také schopnost ocasatých obojživelníků regenerovat složité tkáňové struktury, např. končetiny, ocas, kůži či míchu (Vojar 2007). Látky obsažené v jejich kůži mohou být využitelné při léčbě schizofrenie, Parkinsonovy choroby, bulimie nebo třeba vysokého krevního tlaku (Cohen 2001, Vojar 2007).

1.1. Čolek velký (*Triturus cristatus*)

T. cristatus (Laurenti, 1768) patří dle Červeného seznamu obojživelníků a plazů ČR (Chobot & Němec 2017) do kategorie druh ohrožený (EN), podle vyhlášky č. 395/1992 Sb. ve znění vyhlášky 175/2006 Sb. spadá do kategorie silně ohrožených druhů. V Červeném seznamu IUCN (IUCN 2017) je klasifikován jako druh málo dotčený (LC). Je chráněn také v rámci práva Evropského společenství, kdy je uveden v příloze II a IV Směrnice o stanovištích (92/43/EEC) a příloze II Bernské úmluvy o ochraně evropských planě rostoucích rostlin, volně žijících živočichů a přírodních stanovišť.

T. cristatus je ze skupiny velkých čolků náš nejrozšířenější čolek (Fischer et al. 2015). V ČR dorůstá velikosti 150 mm, vzácně až 200 mm (Roček 1992), přičemž samice jsou většinou větší než samci (Gustafson 2011, Jehle et al. 2011). Hlava je široká a plochá, tělo štíhlé a ocas stejně dlouhý nebo kratší než zbytek těla (Sparreboom 2014). Hřbetní strana je černá až tmavě hnědá s černými tečkami a velkým množstvím malých bílých, někdy nažloutlých, skvrn na bocích (Jehle et al. 2011). Na mramorovaném hrdle jsou bílé skvrny (Gustafson 2011), břišní strana je zbarvena žlutě až oranžovočerveně s černými skvrnami charakteristickými

pro každého jedince (Sparreboom 2014). Zejména v akvatické fázi je patrný pohlavní dimorfismus (Jehle et al. 2011), kdy u samců pozorujeme stříbrný pruh po celé délce ocasu a kožní hřeben na zádech a ocasu (Gustafson 2011, Sparreboom 2014). Tyto znaky samci využívají k nalákání samice (Malmgren & Enghag 2008, Gustafson 2011). Během namlouvání provádí samci tzv. svatební tance – specifické trhavé pohyby s pohybem ocasu, kdy přivádějí feromony k samici (Sparreboom 2014). Když je samice připravena k páření dotkne se jeho ocasu nosem (Langton 2001, Gustafson 2011). Samec následně vypustí spermatofor do vody a samice jej kloakou přijme, tak dochází k vnitřnímu oplození vajíček (Langton 2001). Samice kladou většinou 250, vzácněji až 400 vajec za sezónu (Griffiths 1996, Jehle et al. 2011). Larvy, velmi citlivé na změny chemismu vody, se líhnou 10–15 dnů od naklazení (Jehle et al. 2011). Larvy se živí drobnými bezobratlými, zoobentosem i planktonem (Langton et al. 2001, Sparreboom 2014). Larva *T. cristatus* má dlouhý ocas, který končí prodlouženým černým vláknem (Gustafson 2011). Na hřbetu a ocase má černé tečky (Langton 2001, Sparreboom 2014). Mladí jedinci připraveni na přechod na souš mají již podobu dospělého a měří od 40 do cca 90 mm (Gustafson 2011, Jehle et al. 2011). *T. cristatus* migruje do vodního prostředí obvykle koncem února a začátkem března za účelem rozmnožování (Langton et al. 2001, Sparreboom 2014), zbytek aktivního období stráví na souši. Krátce po skončení páření samci opouští vodu a přemístí se do terestrického prostředí, zatímco samice spolu s juvenilními jedinci zůstávají ve vodě často až do konce srpna, ojedinelé po celý rok (Gustafson 2011, Jehle et al. 2011, Botorová 2018). *T. cristatus* preferuje stojaté vody, přírodní i člověkem vytvořené (Gustafson 2011). Nejčastěji se vyskytuje v nádržích o rozloze 500 až 750 m² (Oldham 2000, Unglaub et al. 2015) plošně nezastíněných a bez rybí obsádky (Dervo 2014). Nádrže jsou často periodické, vysychání často napomáhá redukci predátorů (Gustafson 2011). Při zastínění hladiny větším než 20 % může dojít ke snížení teploty vody a tím k ovlivnění délky metamorfózy larev (Cooke et al. 1994, Jehle et al. 2011). V nezastíněných nádržích se také lépe daří vegetaci (Jehle et al. 2011). *T. cristatus* často obývá lokality se středně i více zarostlými břehy a značným množstvím submerzních makrofyt (Langton et al. 2001, Jehle et al. 2011). Struktura rostlinného složení je důležitá jak pro ukládání vajec, tak pro larvy. Dalším důležitým faktorem rozmnožování je poměr mezi vegetací a otevřenou hladinou (Jehle et al. 2011, Oldham 2000). Během terestrické fáze *T. cristatus* preferuje lokality

s hustým vegetačním krytem nebo prostředí s velkým množstvím substrátu a pozemních úkrytů (Gustafson 2011). Obývají stanoviště smíšených, jehličnatých, opadavých lesů s bylinným podrostem, křoviny, louky, mokřady, pastviny, parky i zahrady (Oldham 2000, Botorová 2018). Někteří jedinci mohou zimovat ve vodním prostředí, nebo v bahnitěm dně (Langton et al. 2001). Nejčastěji však zimují v úkrytech na souši, jako např. ve štěrbinách pod kořeny stromů a pod balvany, v puklinách skal, vývratech stromů nebo také ve sklepech (Schabetberg 2004, Sparreboom 2014).

1.2. Metody sledování jedinců

Individuální značení jedinců se stalo základní metodou pro studium ekologických charakteristik, jako jsou populační dynamika, disperzalita a životní historie (McCarthy and Parris, 2004, Chevalier et al. 2016). Přesné a efektivní individuální značení je tak rozhodující v řadě ekologických, evolučních a behaviorálních studiích (Winandy & Denoël 2011, Whiteman et al. 2016). Obojživelníky je snadnější najít ve vodní fázi, proto většina výzkumů probíhá v tomto prostředí. (Swan & Oldham 1993, Griffiths et al. 1996, Langton et al. 2001, Malmgren et al. 2005). Ke sledování obojživelníků jsou využíván, jak metody, kdy nedochází k manipulaci se zvířaty (pozorování a sčítání snůšek, larev nebo adultních jedinců) tak i metody vyžadující odchyt a manipulaci s jedinci (Jeřábková 2011). Mezi tyto metody patří např.: stříhání prstů, tetování nebo připevňování čipů (Feber 2001, Winandy & Denoël 2011). Tyto metody však mohou být zdrojem velkého stresu kvůli opětovnému odchytu, dále mohou poškodit tkáň nebo zvýšit riziko infekce (Parris & McCarthy 2001, McCarthy & Parris 2004, Funk et al. 2005, Chevalier 2016). Identifikace dle fotografií je další běžnou metodou (Hoque et al. 2011), jedinci jsou rozpoznáni na základě specifických externích znaků (Arntzen et al. 2004, Chevalier et al. 2016), v případě *T. cristatus* díky unikátním skvrnám na břicho (Hoque et al. 2011). Tento proces však může být velmi časově náročný, dokonce i s použitím automatických programů (např. WildId) pro fotografickou identifikaci (Arntzen et al. 2004, Chevalier et al. 2016). Nově se využívá metody značení pomocí implantování pasivních integrovaných transpondérů (PIT) tagů (Arntzen et al. 2004).

PIT tag je elektronický mikročip s unikátním kódem (Donnelly et al. 1994) válcovitého tvaru, nejčastěji 12 až 14 mm dlouhý s průměrem 2 mm (Gibbons & Andrews 2004). Tato metoda může sloužit k rychlému rozpoznávání jedinců a minimalizaci chyb, ke kterým dochází při identifikaci z fotografických snímků (Chevalier et al. 2016). PIT tagy se aplikují přímo do těla zvířat, jsou permanentní a lehce čitelné (Gibbons & Andrews 2004, Chevalier et al. 2016). Další výhodou je, že některá skenovací zařízení dokážou přečíst PIT tag i ze vzdálenosti několika centimetrů až metrů (Gibbons & Andrews 2004) a nedochází tak ke zbytečnému stresování zvířat z opětovného odchyty a manipulace (Chevalier et al. 2016). Kvůli těmto výhodám jsou stále používanější a často preferované před např. tetováním a stříháním prstů, které jsou dočasné kvůli blednutí kůže a regeneraci prstů (Feber, 2001, Gibbons & Andrews, 2004, Winandy & Denoël 2011, Chevalier et al. 2016). Nicméně PIT tagy vyžadují minimální velikost zvířete pro vložení (Gibbons & Andrews 2004) a jejich užití může být dražší než jiné metody (Artzen et al. 2003). Někdy mohou být také zpochybnovány biologické, právní a etické otázky této metody (Artzen et al. 2003). Studie spojené s použitím PIT tagů u čolků se zabývaly především vlivem na růst, úmrtnost a plodnost, dále také zotavovacím procesem po aplikaci (Winandy & Denoël 2011). I když nedávné studie neprokázaly negativní vliv PIT tagů na přežívání a fyzickou kondici jedinců (Jehle & Hödl, 1998, Perret & Joly 2002, Chevalier et al. 2016), tak dle jiných studií může být změněno chování, čímž může dojít k ovlivnění kondice jedince v přirozeném prostředí (Winandy & Denoël 2011). PIT tagy se však v posledních letech neustále zmenšují (dochází tak k menšímu zásahu do těla jedinců), tento trend by měl přetrvat i do budoucnosti (Gibbons & Andrews 2004, Cooke et al. 2013, Chevalier et al. 2016).

Přestože studií, které se zabývají aspekty spojenými s aplikací PIT tagu u obojživelníků je hned několik, žádná z nich není přímo zaměřena na *T. cristatus*. Tyto poznatky mohou přispět, jak ke zlepšení metod pracujících s PIT tagy, tak zejména k efektivnější ochraně *T. cristatus*.

2 Cíle práce

1. Aplikace PIT tagu u *Triturus cristatus*
 - a. stanovení míry přežívání
 - b. určit, zda nedošlo k behaviorálním změnám po aplikaci PIT tagu
2. Aplikace a analýza dat získaných při použití PIT tagu v rámci terénního monitoringu
 - a. zpětná detekce jedinců s PIT tagem
 - b. stanovení denní aktivity v závislosti na pohlaví
 - c. sledování pohybové aktivity v terénu

3 Materiál a metody

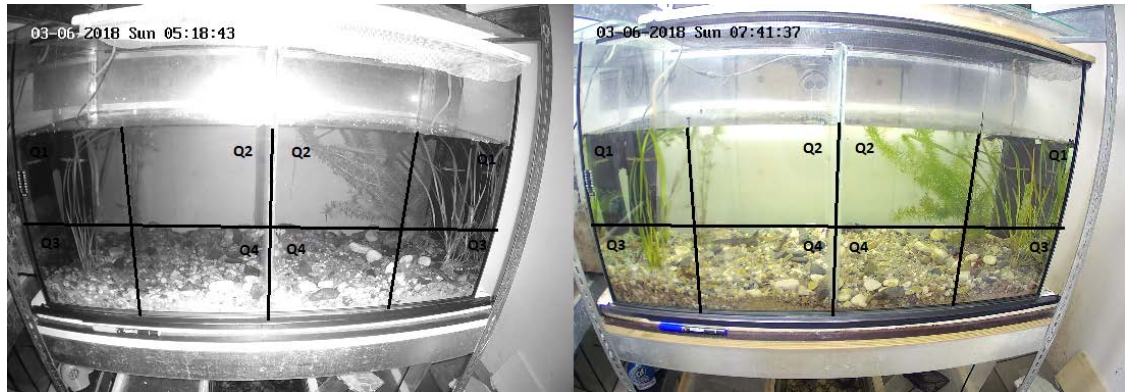
3.1. Charakteristika lokality

Lokalita, kde jsem prováděla výzkum, se nachází v obci Tovér 8 km severovýchodně od Olomouce v nadmořské výšce 235 m n. m. Lokalita leží v mírně teplé klimatické oblasti (Quitt 1971). Rozloha nádrže je asi 500 m² v závislosti na aktuálním množství srážek, hloubka může dosahovat více než 2 m (Weber 2016). Nádrž je propojena s rybníkem uprostřed obce přepadovým zařízením a potrubím. V létě může téměř vyschnout. Rybí obsádka nebyla v nádrži potvrzena (Weber 2016). Kromě čolka velkého (*T. cristatus*) zde můžeme nalézt další druhy obojživelníků, jako jsou: čolek horský (*Ichthyosaura alpestris*), čolek obecný (*Lissotriton vulgaris*), skokan štíhlý (*Rana dalmatina*), ropucha obecná (*Bufo bufo*), ropucha zelená (*Bufo viridis*), kuňka obecná (*Bombina bombina*), rosnička zelená (*Hyla arborea*) a mlok skvrnitý (*Salamandra salamandra*). Z predátorů se vyskytuje užovka obojková (*Natrix natrix*), kachna divoká, psi a kočky. Na začátku léta většina hladiny zarůstá okřehkem (*Lemna sp.*) a je z více než 50 % zastíněna okolními listnatými stromy, jako např. lípa srdčitá (*Tilia cordata*), dub letní (*Quercus robur*), jilm (*Ulmus sp.*) a nepůvodní trnovník akát (*Robinia pseudoacacia*).

3.2. Odchyt, aklimatizace a sledování jedinců *T. cristatus*

Odchyt jedinců jsem prováděla v květnu a červnu 2018. Jedince jsem odchytávala do živolovných pastí (Mačát et al. 2010, Madden & Jehle 2013, Jeřábková 2011). Při odchytu jsem použila dva typy pastí – rybářskou vrš typu „hranol“ a rybářskou vrš typu „deštník“. U každé pasti byla přiložena karta s informacemi o probíhající výzkumu, proto, aby nedošlo k poranění, popřípadě k usmrcení jedinců náhodným nálezcem, který by se pokoušel zvířata neodborně vysvobodit (Jeřábková & Boukal 2011, Botorová 2018). Pasti byly umístěny v litorální vegetaci a ukotveny, a protože pasti sloužili jako živolovné byl v každé umístěn kus polystyrenu pro zajištění vzduchové kapsy (Jeřábková & Boukal 2011, Madden & Jehle 2013, Dervo 2014). Jako návnadu jsem použila kuřecí játra a tyčinky na bázi chemického světla (Botorová 2018). Pasti jsem vybírala každé ráno (Jeřábková & Boukal 2011) a odchycené jedince (celkem 140) poté neprodleně převezla do akvárií v laboratoři. Při teplotě 18 °C byli jedinci aklimatizováni v laboratorních podmínkách po dobu jednoho týdne. Poté jsem dva jedince umístila do jiného akvária o objemu 80 l.

Akvárium pak bylo rozděleno na 4 kvadrant Q1= volná hladina s vegetací, Q2= volná hladina bez vegetace, Q3= dno s vegetací a Q4= dno s vegetací, které snímala 24 h síťová (IP) kamera se záznamem. Po 48 hodinách pozorování jsem jedincům implantovala PIT tag



Obr. 1: Sledovaná akvária v laboratoři, noc (vlevo), den (vpravo), akvária dělená na 4 kvadranty (Q1 – Q4)

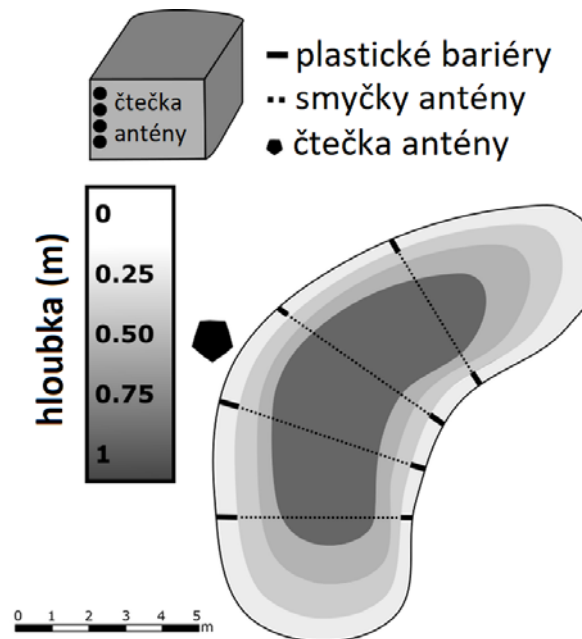
3.3. Aplikace PIT tagu

Do krabičky s víčkem jsem připravila roztok 150 ml dechlorované vody se 4 až 5 kapkami 100 % hřebíčkového oleje. Po 5 až 7 minutách od vložení jedinců do roztoku se jedinci začali otáčet na bok a vzápětí následovalo anestezie. Po vyjmutí z uspávacího roztoku jsem provedla 2 mm incizi sterilním skalpelem na boku jedince, přibližně 5 mm od zadní nohy. Sterilní jehlou s tupým koncem jsem vytvořila subdermální prostor pro vložení PIT tagu (12.0 mm x 2.12 mm, 0.1 g half duplex HDX, Oregon RFID; Portland, Oregon, USA). Poté jsem PIT tag jemně vložila do vzniklého prostoru (Příloha 2). Celý zákrok netrval déle než 2 minuty. Po zákroku jsem jedince umístila na vlhký podklad až do doby jejich probuzení. Po úplném probuzení jsem jedince vrátila do akvária. Po dobu dalších 48 hodin jsem sledovala, zda nedojde k abnormálnímu chování, či vyloučení PIT tagu.

3.5. Terénní monitoring

Experiment v terénu probíhal od 30. 5. do 11. 6. 2018 na lokalitě v Tovéři, kde bylo vypuštěno 100 jedinců s PIT tagem. Na této lokalitě bylo instalováno vícekanálové čtecí zařízení (Oregon RFID, Multi-Antenna HDX Reader), tzn. čtyři antény, každá o délce 4 m s průměrem oka 0,4 m. Antény byly umístěny cca 5 m od sebe (obr. 2) a okraje tůň byly ohraničeny plastovou bariérou, která bránila pohyb *T. cristatus* mimo

sledovaný prostor (Weber et al. 2019). Antény periodicky vytvářely magnetické pole, které zaznamenávalo PIT tag spolu s datem a časem. Frekvence záznamu čtečky byla nastavena na 10 přijímaných cyklů za sekundu. Během vybraných 72 hodin monitoringu jsem také pozorovala rozdíl pohybové aktivity mezi samci a samicemi během dne (5:00– 21:00) a noci (21:00– 5:00). Denní a noční nastavení vycházelo z meteorologických údajů Českého hydrometeorologického ústavu.



Obr. 2: Rozmístění antén na lokalitě (Weber et al. 2019), upraveno

Data, která popisují dobu strávenou v jednotlivých kvadrantech před a po aplikaci PIT tagu, jsem vyhodnotila prostřednictvím Wilcoxonova testu. Rozdíl uražených vzdáleností mezi pohlavími jsem testovala zobecněným lineárním modelem (GLM) s Poissonovou distribucí. Pro vyhodnocení rozdílů ve frekvenci detekce mezi pohlavími jsem použila binomijní obecný lineární model (GLM) mezi samci a samicemi při jejich denní / noční aktivitě. Za tímto účelem jsem porovnávala detekce (ano / ne) všech jedinců *T. cristatus* mezi nocí a následujícím dnem. K dispozici jsem měla celkem tři srovnatelné sady den-noc, pro každou jsem testovala rozdíly mezi samci a samicemi pomocí generalizovaného lineárního modelu (GLM) za předpokladu binomické struktury chyb. Rovněž jsem testovala rozdíly v pohybové aktivitě mezi samci a samicemi během 72 hodin. V intervalu během dne (05: 00–21: 00) a noci (21: 00–05: 00). Pro každou hodinu jsem odečetla počet detekovaných samic od počtu detekovaných samců a na tyto hodnoty jsem použila jeden vzorek t-testu. Před analýzou

jsem vizuálně zkontrolovala data z hlediska normality. Všechna data byla zpracována ve statistickém softwaru R, verze 3.4.3.

4 Výsledky

4.1. Aplikace PIT tagu u *Triturus cristatus*

Celkem byl PIT tag implantován 140 jedincům. Ze všech označených *T. cristatus* přežilo 98.57 %. Bez zjevné příčiny zemřeli 2 jedinci během zotavování se po implantaci. V roce 2020, tedy 2 roky po implantaci byli nalezeni jedinci *T. cristatus* bez zjevného ovlivnění PIT tagem (viz. Příloha 3).

Behaviorální změny jsem sledovala u 8 jedinců *T. cristatus*, 4 samic a 4 samců (Tab. 1). Jedinci, bez ohledu na pohlaví, trávili nejvíce času před implantací PIT tagu v kvadrantu Q3, tedy v oblasti u dna s vegetací. Skryti u dna mezi vodními rostlinami trávili průměrně 2.453 s. Naopak nejméně času, průměrně 19 s, trávili v oblasti bez vegetace u hladiny v kvadrantu Q2. Mezi rostlinami v blízkosti volné hladiny, kvadrantu Q1, trávili průměrně 454 s. V kvadrantu Q4, u dna bez možnosti úkrytu ve vegetaci, trávili 674 s.

Tab. 1: Setrvání jedinců v jednotlivých kvadrantech (s) před aplikací PIT tagu (Sex – pohlaví, F – female, M – male)

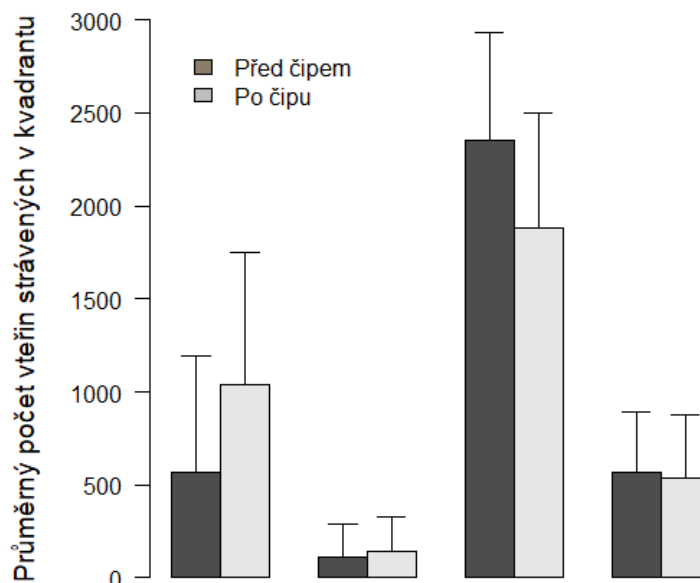
jedinec	sex	Q1	Q2	Q3	Q4
1	F	8	7	2341	1244
2	M	2	10	3064	524
3	F	907	21	1748	924
4	M	1766	0	1601	233
5	F	67	66	2810	717
6	M	675	20	2273	632
7	F	18	15	2568	999
8	M	279	72	2946	303

Po aplikaci PIT tagu se zvýšil čas strávený v obou kvadrantech u hladiny. V kvadrantu Q1, ukryti ve vegetaci trávili průměrně 1277s, v kvadrantu Q2, tedy v oblasti volné hladiny, 243s. Došlo k poklesu doby strávené v kvadrantu Q3, kde jedinci *T.cristatus* s implantovaným PIT tagem strávili 1776s. Pokles jsem zaznamenala i v prostoru u dna bez vegetace, kvadrantu Q4, na 404s (Tab. 2).

Tab. 2: Setrvání jedinců v jednotlivých kvadrantech (s) po aplikaci PIT tagu (Sex – pohlaví, F – female, M–male)

JEDINEC	SEX	Q1	Q2	Q3	Q4
1	F	3137	463	0	0
2	M	352	352	2366	350
3	F	2123	832	494	151
4	M	1314	152	1020	1114
5	F	7	2	3310	281
6	M	0	9	2863	728
7	F	932	117	2138	413
8	M	1375	18	2016	191

Rozdíl mezi časy strávenými v jednotlivých kvadrantech před a po aplikaci PIT tagu je statisticky signifikantní, p -value $<0,001$ (Obr.3).



Obr. 3: Průměrný čas (s) strávený v jednotlivých kvadrantech (Q1 – Q4). Q= volná hladina s vegetací, Q2= volná hladina bez vegetace, Q3= dno s vegetací, Q4= dno bez vegetace

4.2. Aplikace a analýza dat získaných při použití PIT tagu v rámci terénního monitoringu

Ze 100 vypuštěných jedinců *T. cristatus* označených PIT tagem jsem zpětně detekovala 97 jedinců pomocí čtyř antén spojených s HDX Multi-readerem. Nejvyšší počet zaznamenaných jedinců byl hned v den vypuštění a to 49 samic a 47 samců. Druhý den jsem detekovala 48 jedinců- 16 samic a 32 samců. Třetí den jsem detekovala už jen 38 jedinců (Tab. 3). Během dalších 7 dnů jsem stále registrovala několik jedinců. Celkově jsem během 13 dnů získala celkem 24 106 detekčních záznamů. Je však nutné říci, že tuň rychle vysychala a nebylo tak možné provést delší sledování.

Tab. 3: Počet detekovaných samců a samic za 24 hod, 48 hod, 72 hod (F – female, M – male)

	24 HOD	48 HOD	72 HOD
F	49	16	12
M	47	32	26
CELKEM	96	48	38

Během prvních 24 hodin, tedy v noci i ve dne byli aktivnější samci s četností průměrně 70 detekcí na jedince za jednu hodinu (Tab. 4). Druhý den byli výrazně aktivnější opět samci se 122 záznamy na jedince v noci a s 207 záznamy na jedince ve dne. Třetí den byly také aktivnější samci jak v noci, tak ve dne. Během prvních 72 hod jsem každou hodinu detekovala v průměru 6,5krát více samců než samic.

Tab. 4: Průměrný počet záznamů na jednoho jedince za jednu hodinu (F – female, M – male)

	NOC	DEN	NOC	DEN	NOC	DEN
F	67	70	61	103	40	67
M	68	72	122	207	86	145

Průměrná vzdálenost, kterou samci urazili v průběhu první noci byla, 15,5 m. Nejdelší uražená vzdálenost jedincem byla 72 m. Pokud byl jedinec detekován jen jednou anténou, tak nebylo možné stanovit uraženou vzdálenost. První den urazili průměrně 17 m, největší vzdálenost u samců tento den byla 56 m. Druhou noc urazili samci průměrně 6,7 m a druhý den bez mála 15 m. Celkově pak samci urazí za den průměrně 18 m a během noci průměrně 11 m.

Samice urazili první noc průměrně 15 m. Nejdelší uražená vzdálenost první noc byla 56 m. první den urazili samice průměrně 13 metrů a nejdelší uražená vzdálenost byla 52 m. Druhou noc urazili průměrně 11 m. Druhý den urazili průměrně 14,5 m. Samice urazí průměrně bezmála 14 m za den a 13 m během noci.

5 Diskuse

5.1 Aplikace PIT tagu u *Triturus cristatus*

PIT tagem jsem označila celkem 140 jedinců *T. cristatus*. Během prvních 48 hodin od aplikace zemřeli dva jedinci — jeden samec a jedna samice, bez zjevné příčiny. Zbylí jedinci se po anestezii a operaci zotavili dobře. Míra přežití jedinců *T. cristatus* byla 98,57 %. Takto nízká mortalita (1,43 %) je velmi běžná ve studiích spojených s aplikací PIT tagů, proto se může zdát, že aplikace PIT tagů do těl zvířat nemá zásadní vliv na úmrtnost jedinců (Cooke et al. 2013, Weber et al. 2019). Některé studie však uvádí vyšší úmrtnost, tyto výsledky mohou být způsobeny nevhodnou manipulací, nebo nesprávnou implantací (Gibbons & Andrews 2004, Chevalier et al. 2016). Je velmi obtížné určit, zda je příčinou úmrtí nebo změn zákrok nebo samotná přítomnost PIT tagu v těle. Jen operace všech jedinců, bez vložení PIT tagu u kontrolní skupiny, by mohla otestovat tuto hypotézu (Winandy & Denoël 2011).

I přes to, že podle studie Gustafson (2011) samci k namlouvání preferují otevřené litorální plochy obklopené vegetací, což v tomto experimentu odpovídá kvadrantu Q4, zkoumaní jedinci *T. cristatus* strávili nejvíce času v kvadrantu Q3, tedy u dna s vegetací. Ukrytí mezi rostlinami zde průměrně strávili více než 40 minut za hodinu. V prostoru u hladiny s vegetací, kvadrantu Q1, strávili přibližně stejný čas jako v kvadrantu Q4, průměrně asi 8 minut. Nejméně vyhledávaným prostorem byl kvadrant Q2, s otevřenou hladinou bez možnosti ukrytí se ve vegetaci, kde jedinci průměrně strávili méně než dvě minuty. Vodní vegetace skýtá útočiště před predátory (Griffiths et al. 1996, Oldham et al. 2000), nabízí bezpečné místo pro kladení vajec (Marco et al. 2001, Gustafson et al. 2006) i vhodné prostředí pro lov potravy (Oertli et al. 2002). Jak je již zmíněno výše, samci *T. cristatus* preferují ke svým svatebním tancům otevřený prostor, v přítomnosti samic předvádí své zbarvení, útočí na sebe navzájem a snaží se samice zaujmout (Gustafson 2011). Bez přítomnosti jiných jedinců v akváriu nejspíše neměli potřebu opouštět bezpečí vegetace a trávit více času v otevřeném prostoru.

Úkryt ve vegetaci vyhledávali i jedinci po zákroku nejčastěji, i když průměrná doba pobytu poklesla o více než 10 minut. Jedinci zde strávili průměrně 30 minut.

Naopak nárůst strávené doby jsem zaznamenala v kvadrantu Q1, tedy prostoru u hladiny s vegetací, jedinci zde strávili 21 minut, tedy skoro třikrát více času než před aplikací PIT tagu. Tento nárůst je nejspíše zapříčiněn umístováním jedinců po zákroku na vegetaci v tomto kvadrantu a s tím související apatie po narkóze. Doba strávená v kvadrantech Q2 a Q4 se nezměnila, lze tedy říct, že poměr času stráveného v prostoru ve vegetaci a času ve volném prostoru se nezměnil ani po aplikaci PIT tagu. Winandy & Denoël (2011) naopak uvádí, že zatímco neoznačení jedinci čolka horského (*Mesotriton alpestris*) preferovali ukrývání se ve vegetaci, označení jedinci byli častěji bez zjevného důvodu v otevřeném prostoru. Tato skutečnost může zvýšit riziko predace. Další studie spojené s použitím PIT tagů u čolků se zabývaly především vlivem na růst, příjem potravy, úmrtnost a plodnost, dále také zotavovacím procesem po aplikaci (Winandy & Denoël 2011). Většina takto zaměřených studií neprokázala žádné významné ovlivnění jedinců (Olders et al. 1985, Madison & Farrand 1998, Jehle & Hödl 1998, Perret & Joly 2002, Chevalier et al. 2016). Naopak Perret & Joly (2002) ve své studii poukazují na prokazatelné zvýšení produkce vajíček u označených samic *I. alpestris*, toto může být reakce na stres při zákroku. Adams et al. (1998) zase uvádí, že predátor — okounek černý ulovil signifikantně více označených lososů než lososů bez značky.

Vzhledem k relativně malé velikosti jedinců *T. cristatus* je zde také potencionální riziko tlaku na vnitřní orgány a s tím spojený stres (Winandy & Denoël 2011). S poměrem velikostí značených jedinců a velikostí aplikovaného PIT tagu mohou souviset i behaviorální změny a změny růstu (Chevalier et al. 2016, Trochet et al. 2017). Mnou použité PIT tagy představovali asi 1,5 % tělesné hmotnosti a 99,29 % jedinců po operaci nevykazovalo žádné abnormální chování. Nejmenší jedinec *T. cristatus* se po 24 hodinách od implantace začal otáčet na bok a kousat si kůži, proto byl PIT tag vyjmut. Dervo et al. (2010) ve své studii uvádí, že implantované PIT tagy mohou představovat 5 až 7 % tělesné hmotnosti jedinců bez zjevného negativního vlivu. Předmětem studia je často také možné vyloučení PIT tagu z těla zvířete. V tomto experimentu se podařilo PIT tag vyloučit 15,71 % jedincům během prvního týdne po operaci. To může být zapříčiněno nepřiměřeně velkou incizí, kdy PIT tag vyklouzne ještě před zhojením (Weber et al. 2019) nebo nedostačující zručností a zkušeností implantátora (Ratnayake et al. 2014). Vylučování PIT tagů bylo popsáno i u jiných druhů, nejčastěji

ryb, ptáků a hlodavců (Dieterman & Hoxmeier 2009, Ratnayake et al. 2014, Weber et al. 2019). V experimentu, kdy nebyla použita anestezie Rosnice Verreauxova vypudila dokonce 33,3 % celkového počtu implantovaných PIT tagů (Branelly et al. 2014). V jiné studii, zaměřené na ptáky, byla celková retence 77,2 % PIT tagů (Ratnayake et al. 2014). Možností, jak předcházet ztrátě či vyloučení PIT tagu může být použití tkáňového lepidla (Chevalier et al. 2017, Weber et al. 2019).

Dle výsledků této práce aplikace PIT tagu chování *T. cristatus* výrazně neovlivňuje, stejně jako už bylo pozorováno u jiných druhů obojživelníků (Madison 1998, Johnson 2006, Chevalier et al. 2016, Trochet et al. 2017). Možné behaviorální změny spojeny s aplikací PIT tagu, ale stále nemohou být vyloučeny, jelikož se jedná o poměrně novou metodiku a dlouhodobé pozorování chybí.

5.2. Aplikace a analýza dat získaných při použití PIT tagu v rámci terénního monitoringu

Ze 100 celkově vypuštěných jedinců *T. cristatus* se mi podařilo detekovat 97 % jedinců, míra zpětné detekce je vysoká podobně jako v jiných studiích (Ousterhout & Semlitsch 2014, Connette & Semlitsch 2012). Migrace jedinců z vodního prostředí do terestrického probíhá zpravidla na začátku června (Langton et al. 2001, Malmgren 2002, Sparreboom 2014), což potvrzují i naše výsledky. Celkově jsem během 13 dnů získala 24 106 detekčních záznamů. Hlavní detekce jedinců však probíhala pouze ve třech dnech, 30.5., 31.5. a 1.6., protože tůň postupně vysychala a jedinci ji opouštěli. To dokazuje klesající počet detekovaných jedinců. Během prvních 24 hodin bylo detekováno 47 samců a 49 samic, za 48 hodin bylo detekováno 32 samců a 16 samic a za 72 hodin bylo zaznamenáno 26 detekovaných samců a 12 samic. Kvůli rychlému vyschnutí tůně bylo dat jen omezené množství a nebylo možné provést další měření.

V roce 2020, dva roky po vypuštění, byli pozorováni jedinci bez jakýchkoliv zjevných problémů (Příloha 3).

Během rozmnožování se samci shromažďují do skupin, většinou v prostoru bez vegetace. Každý samec chce najít nejlepší místo k předvedení svého svatebního tance. Proto plave ve volnější hladině nebo obchází kolem samice (Gustafson 2011). To potvrzují i moje výsledky. Samci měli výrazně vyšší míru detekce než samice. V průměru jsme detekovali 6,5krát více samců než samic každou hodinu. Tento údaj potvrzuje i vzdálenost, kterou jedinci urazili během jednotlivých hodin. Největší uražená vzdálenost samce byla 72 m, zatímco největší vzdálenost uražená samicí byla „jen“ 56 m. Jehle et al. (2011) uvádí, že *T. cristatus* jsou aktivní převážně v noci, avšak samci mohou na vrcholu rozmnožovací sezóny vykazovat častější denní aktivitu. Což vyplývá i z mých výsledků, kdy samci urazili v průměru 18 m za den a v noci průměrně o 7 m méně. U samic byla průměrně uražená vzdálenost během dne a noci téměř srovnatelná, a to okolo 13 m. Gustafson (2011) uvádí, že námluvy probíhají nejintenzivněji od soumraku do půlnoci. Z výsledků této práce je zřejmé, že hlavní detekce probíhala mezi 18 h a 24 h, nižší záznam aktivity byl zaznamenán mezi 10 h a 14 h. Četnost a intenzitu detekcí může ovlivňovat také získávání potravy. Anthony et al. (1992) ve své studii popisuje tři strategie získávání potravy u ocasatých obojživelníků. Strategii „sit – and – wait“, kdy jedinci zůstávají na jednom místě a čekají, až se kořist přiblíží. Tato strategie je energeticky nenáročná, avšak časově ztrátová. Naopak větší aktivitu a úsilí vyžaduje aktivní vyhledávání kořisti. Nejvýhodnější je pro jedince střídání čekání na kořist a aktivního lovu dle aktuální situace (Schoener 1969, Jaeger a Barnard 1981, Anthony et al. 1992). Výběr strategie může záviset na potravní nabídce, velikosti těla jedince a podmínkách mikrohabitatu (Van Sluys & Rocha, 1998, Roşca et al. 2013, Weber 2016). Kentwood & Wells (2007) uvádí, že se jedinci *T. cristatus* pohybují pouze, pokud je to nezbytné, všechny pohyby jsou podmíněny získáváním zdrojů, včetně potravy, partnerů a úkrytu. Nicméně když se podíváme na záznamy aktivity u jednotlivých jedinců, ať už samic či samců, můžeme vidět velkou variabilitu. Během třech nejintenzivnějších dnů není jediná hodina bez záznamu.

Celkově výhody použití metody spočívají hlavně v tom, že rozpoznávání jedinců je rychlé a efektivní. PIT tagy jsou permanentní a lehce čitelné

(Gibbons & Andrews 2004, Chevalier et al. 2016). Za příznivých podmínek můžeme PIT tagy přečíst i z větší vzdálenosti. Zvířata tak nemusí být znovu vystavována stresu z opakovaného odchyty a manipulace (Chevalier et al. 2016). Minimalizují se chyby, které vznikají např. při identifikaci z fotografických snímků (Chevalier et al. 2016).

Značnou nevýhodou této metody je její nákladnost (Donnelly et al. 1994), která se může navýšit i schopností některých druhů PIT tag vyloučit (Dieterman & Hoxmeier 2009, Ratnayake et al. 2014). Důležitá je také zručnost implantátora a celkový průběh zákroku (Gibbons & Andrews 2004, Chevalier et al. 2016) Nevhodná manipulace může ovlivnit jak míru přežití jedinců, tak množství vyloučených PIT tagů (Pearson et al. 2016). Implantace PIT tagu také vyžaduje minimální velikost zvířete (Gibbons & Andrews 2004), avšak PIT tagy se v posledních letech neustále zmenšují, dochází tak tedy k menšímu zásahu do těla jedinců (Gibbons & Andrews 2004, Cooke et al. 2013, Chevalier et al. 2016). Také biologické, právní a etické otázky této metody mohou být někdy zpochybňovány (Artzen et al. 2003).

6. Závěr

Z výsledků této práce vyplývá, že aplikování PIT tagu může být velmi významnou a užitečnou metodou při dlouhodobém monitorování *T. cristatus*. Vysoká míra přežití- 98,57 % označených jedinců *T. cristatus* vypovídá o vhodnosti užití této metody a zároveň značí dobře zvládnutou manipulaci i implantaci. Behaviorální změny u jedinců *T. cristatus* nebyly v laboratorních podmínkách prokázány. V terénu bylo zpětně detekováno 97 % vypuštěných jedinců *T. cristatus*. Nejvíce jedinců bylo detekováno první tři dny po vypuštění, periodická tůň v Tovéři poté velmi rychle vyschla. Během prvních tří dnů, ve dne i v noci, byli aktivnější samci. V tomto čase bylo detekováno 6,5krát více samců než samic. Samci jsou schopni urazit až 72 m za noc. Průměrně však urazí 18 m během dne a 11 m během noci. Samice urazí až 52 m, průměrně bezmála 14 m za den a 13 m během noci.

Použití této metody tak celkově poskytuje cenná data o chování, aktivitě, uražené vzdálenosti a rozdílech v chování mezi samci a samicemi. V rámci metody *Capture – mark – recapture* (odchytit – označit – znovu odchytit) odpadá znovu odchycení jedinců a s tím spojený stres. Výsledky této práce budou poskytnuty AOPK na podporu aplikované ochrany zájmového druhu.

7. Literatura

Adams MJ, Richter KO, Leonard WP. 1997. Surveying and monitoring amphibians using aquatic funnel traps. *Northwest fauna* 4:47-54.

Artzen JW, Goudie IBJ, Halley J, Jehle R. 2003. Cost comparison of marking techniques in long-term population studies: PIT-tags versus pattern maps. *Amphibia-Reptilia* 25:305-3015.

Bock D, Hennig V, Steinfartz S. 2009. The use of fish funnel traps for monitoring crested newts (*Triturus cristatus*) according to habitats directive. *Zeitschrift fur Feldherpetologie, Supplement*. 15:317-326.

Botorová M. 2018. Efektivita živolovných pastí pro odchyt čolka velkého (*Triturus cristatus*). Bakalářská práce. Katedra ekologie a životního prostředí, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci. 49 pp.

Cooke SD, Cooke AS & Sparks TH. 1994. Effects of scrub cover on great crested newt breeding performance. In: Gent T, Bray R (eds.). *Conservation and management of Great crested newt breeding performance*. Peterborough: English Nature. p. 71–74.

Dervo BK, Museth J, Skurdal J, Berg OK & Kraabøl M. 2014. Comparison of active and passive sampling methods for detecting and monitoring the Smooth newt (*Lissotriton vulgaris*) and the endangered Northern Crested newt (*Triturus cristatus*). *Herpetology Notes*. 7:265-272.

Donnelly MA, Guyer G, Juterbock JE, & Alford RA. 1994. Techniques for marking amphibians. In W. R. Heyer (Ed.), *Measuring and monitoring biological diversity: Standard methods for amphibians*. Washington, DC: Smithsonian Institution Press. pp. 177–284.

Fischer D, Jeřábková L, Vlach P. 2015. Jsou čolci obecní a ropochy obecné stále ještě obecní? *Ochrana přírody*. 5: 32–37

Griffiths RA, Mylotte VJ. 1987. Microhabitat selection and feeding relations of smooth and warty newts, *Triturus vulgaris* and *T. cristatus*, at an upland pond in mid-Wales. *Holarctic Ecology*. 10: 1–7.

Griffiths, R. (1996): *Newts and Salamanders of Europe*. T & A D Poyser Natural History, London.

Gustafson D. 2011. *Choosing the best of both worlds: the double life of Great crested newt*. Doctoral thesis. Faculty of forest science, Swedish university of agricultural sciences. Skinnskatteberg. 64 pp.

Gibbons JW, & Andrews KM. 2004. PIT tagging: Simple technology at its best. *Biosciences*, 54, 447–454.

Houlan JE, Findlay C S, Schmidt B R, Meyer A H & Kuzmin, SL. 2000: Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature*, 404: 752–755.

Chevalier H, Calvez O, Martínez-Silvestre A, Picard D, Guérin S, Isselin-Nondedeu F et al. Marking techniques in the Marbled newt (*Triturus marmoratus*): PIT-Tag and tracking device implant protocols. *Acta Herpetol.* 2017; 12(1):79–88.

Chobot K & Němec M. 2017. Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Obratlovci. *Příroda*, Praha. 34:1–182

Christy M. 1996: The efficacy of using Passive Integrated Transponder (PIT) tags without anaesthetic in free-living frogs. *Aust. Zool.* 30: 139–142.

Jehle R, Thiesmeier B & Foster J. 2011. *The Crested Newt: A dwindling pond-dweller*. Bielefeld: Laurenti-Verlag. 152 pp.

Jenkins CL, McGarigal K, Gamble LR. 2003. Comparative effectiveness of two trapping techniques for surveying the abundance and diversity of reptiles and amphibians along drift fence arrays. *Herpetological Review*. 34(1):39-42.

Jeřábková L. 2011. *Obojživelníci a plazi: Metodika mapování*. AOPK ČR. 4 pp.

Jeřábková L & Boukal D. 2011. Živolovné pasti: účinná metoda průzkumu čolků a vodních brouků. *Ochrana přírody*. 5:23–25.

Kuzmin SL. 1990: Trophic niche overlap in syntopic postmetamorphic amphibians of the Carpathian Mountains (Ukraine: Soviet Union). *Herpetozoa* 3: 13–24

Langton T, Beckett C & Foster J. 2001. *Great crested newt conservation handbook*. Halesworth: Froglife. 59 pp.

Mačát Z, Jeřábková L & Reitter A. 2010: Aplikace nové metody při mapování obojživelníků. *Herpetologické informace* 9(1): 5–6.

Madden N & Jehle R. 2013: Farewell to the bottle trap? An evaluation of aquatic funnel traps for great crested newt *T. helveticus* surveys (*Triturus cristatus*). *Herpetological Journal* 23: 241–244.

Maštera J & Mašterová A. 2017. Obojživelníci Vysočiny. Jihlava: Pobočka České společnosti ornitologické na Vysočině. 64 pp.

Maštera J, Zavadil, V & Dvořák J. (2015): Vajíčka a larvy obojživelníků České republiky (Atlas), Academia, 212 pp.

Miaud, C. (1993): Predation of newt eggs (*Triturus alpestris* and *T. helveticus*) – Identification of predators and protective role of oviposition Behavior. *Journal of Zoology* 231: 575–582.

Oldham, R. S., Keeble, J., Swan, M. J. S. & Jeffcote, M. (2000): Evaluating the suitability of habitat for the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Herpetological Journal* 10: 143–155.

Quitt E. 1975. Mapa klimatických oblastí ČSR 1: 500 000. Geografický ústav ČSAV Brno

Red list: Guiding conservation for 50 years [internet]. The IUCN Red list of threatened species. Version 2017-3. IUCN.

Roček, Z. (1992): rod *Triturus* Rafinesque, 1815 – Čolek, Mlok, 107–132 pp. Baruš V., Oliva O., Král B., Opatrný E., Reháček I., Roček Z. Roth P., Špíňar Z. & Vojtková L.: Fauna ČSFR, svazek 25, Obojživelníci (*Amphibia*). Academia, Praha.

Sansiñena J, Peluso L, Salgado CC, Demetrio PM, Mac Loughlin TM, Marino D, Alcalde L & Natale G. 2018. Evaluation of the toxicity of the sediments from an agroecosystem to two native species, *Hyaella curvispina* (CRUSTACEA: AMPHIPODA) and *Boana pulchella* (AMPHIBIA). *Ecological Indicators*. 93: 100–110

Sparreboom M. 2014. Salamanders of the Old World: The salamanders of Europe, Asia and Northern Africa. The Netherlands: KNNV Publishing. 431 pp.

Unglaub B, Steinfartz S, Drechsler A, Schmidt BR. 2015. Linking habitat suitability to demography in pond-breeding amphibian. *Frontiers in Zoology*. 12(9).

Weber L. 2016. Srovnání trofického spektra druhů *Triturus cristatus*, *Lissotriton vulgaris* a *Ichtyosaura alpestris* na lokalitách s rozdílnou nadmořskou výškou a stanovení velikosti populace *T. cristatus*. Diplomová práce. Katedra ekologie a životního prostředí, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci. 67 pp.

Weber L, Šmejkal M, Bartoň D, Rulík M 2019. Testing the applicability of tagging the Great crested newt (*Triturus cristatus*) using passive integrated transponders. *PLoS ONE* 14(7): e0219069

Welsh H H & Ollivier L. M. 1998. Stream amphibians as indicators of ecosystem stress: A case study from California's redwoods. *Ecological applications*, 8: 1118–1132.

Wells D. K. 2007. *The Ecology and Behaviour of Amphibians*. The University of Chicago Press, Chicago.

Whiteman HH, Doyle JM, Earl J, Aubee C, Brown R, Thomason S & Schoberg T. 2016. A PIT

Zavadil V. 1993. Vertikale verbreitung der amphibian in der Tsechoslowakei. *Salamandra*. 28:202-222.

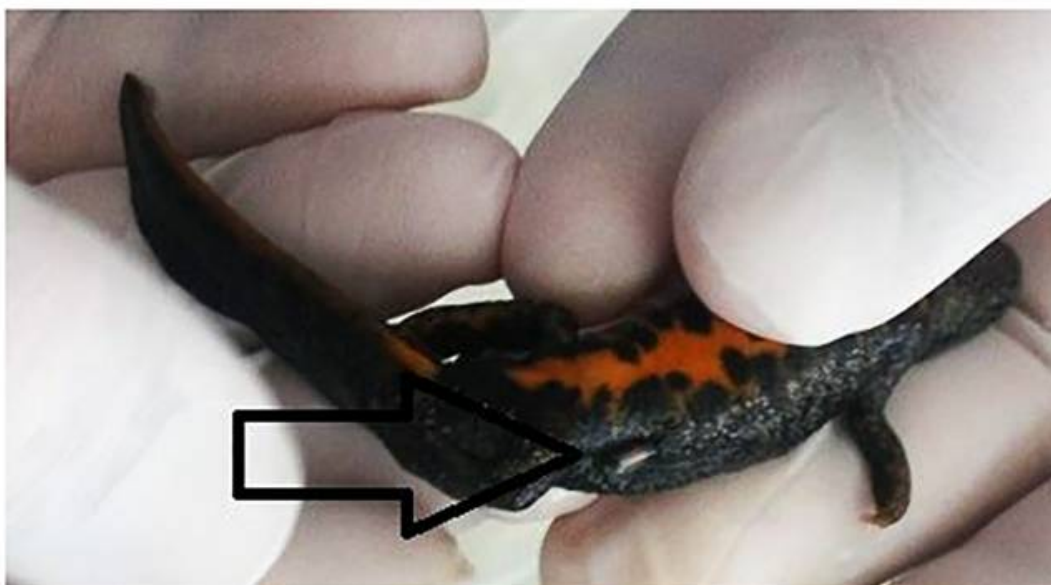
Zavadil V. 2001. Předběžné výsledky výzkumu obojživelníků a plazů (Amphibia, Reptilia) bývalého vojenského újezdu Mladá. In: Petříček V, Němec J, Plesník J. *Příroda bývalých vojenských výcvikových prostorů Mladá a Ralsko: 10 let od konverze*. Praha: Příroda. p. 75-83.

Zavadil V, Sádlo J, Vojar J, Fischer D, Šimonek J, Rozínek R, Mařík J, Smutný Z & Kautman J. 2011. *Biotopy našich obojživelníků a jejich management: Metodika AOPK ČR*. Praha: Agentura ochrany přírody a krajiny ČR. 178 pp.

8. Přílohy



Příloha 1: Fotografie retenční nádrže v Tovří



Příloha 2: Pozice PIT tagu při aplikaci



Příloha 3: fotografie nalezeného jedince z roku 2020