

Genetická inventarizácia populácie medveďa hnedého v západných Karpatoch

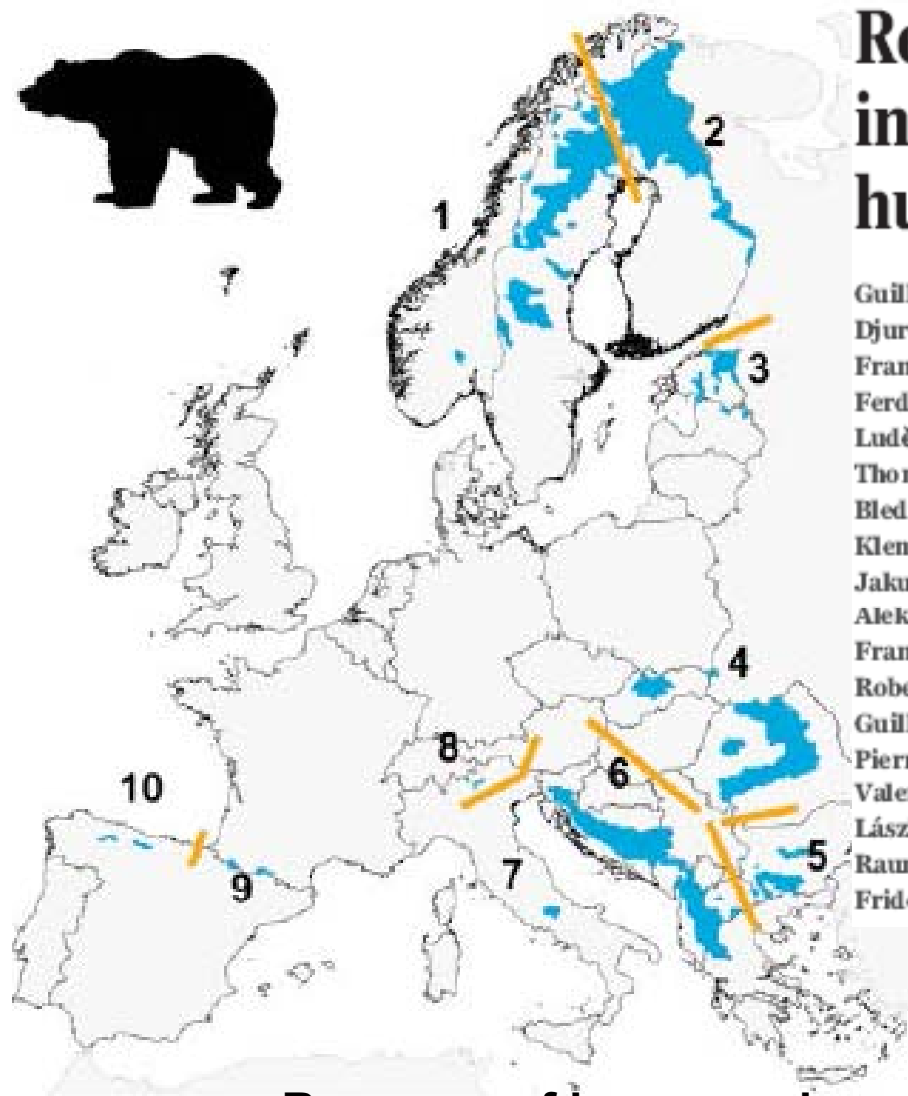
Ladislav Paule, Diana Krajmerová,
Jana Bakan, Tomáš Skrbinšek,
Peter Klinga, Veronika Slivková



Koľko medved'ov sa nám túla po Slovensku?

- Potrebujeme to vôbec vedieť?





Recovery of large carnivores in Europe's modern human-dominated landscapes

Guillaume Chapron,^{1*} Petra Kaczensky,² John D. C. Linnell,³ Manuela von Arx,⁴ Djuro Huber,⁵ Henrik Andrén,¹ José Vicente López-Bao,^{1,6} Michal Adamec,⁷ Francisco Álvares,⁸ Ole Anders,⁹ Linas Balčiauskas,¹⁰ Vaidas Balys,¹¹ Péter Bedő,¹² Ferdinand Bego,¹³ Juan Carlos Blanco,¹⁴ Urs Breitenmoser,^{4,15} Henrik Brøseth,³ Luděk Bufka,¹⁶ Raimonda Bunikyte,¹⁷ Paolo Ciucci,¹⁸ Alexander Dutsov,¹⁹ Thomas Engleder,²⁰ Christian Fuxjäger,²¹ Claudio Groff,²² Katja Holmala,²³ Bledi Hoxha,²⁴ Yorgos Iliopoulos,²⁵ Ovidiu Ionescu,^{26,27} Jasna Jeremić,²⁸ Klemen Jerina,²⁹ Gesa Khuth,³⁰ Felix Knauer,² Ilpo Kojola,³¹ Ivan Kos,²⁹ Miha Krofel,²⁹ Jakub Kubala,³² Saša Kunovac,³³ Josip Kusak,⁵ Miroslav Kutal,^{34,35} Olof Liberg,¹ Aleksandra Majić,²⁹ Peep Männil,³⁶ Ralph Manz,⁴ Eric Marboutin,³⁷ Francesca Marucco,³⁸ Dime Melovski,^{39,40} Kujtim Mersini,⁴¹ Yorgos Mertzanis,²⁵ Robert W. Mysłajek,⁴² Sabina Nowak,⁴³ John Odden,³ Janis Ozolins,⁴⁴ Guillermo Palomero,⁴⁵ Milan Paunović,⁴⁶ Jens Persson,¹ Hubert Potočník,²⁹ Pierre-Yves Quenette,⁴⁷ Georg Rauer,² Ilka Reinhardt,³⁰ Robin Rigg,¹² Andreas Ryser,⁴ Valeria Salvatori,⁴⁸ Tomaž Skrbinšek,²⁹ Aleksandar Stojanov,³⁹ Jon E. Swenson,^{3,49} László Szemethy,⁵⁰ Aleksandër Trajçe,²⁴ Elena Tsingarska-Sedefcheva,¹⁹ Martin Váňa,³⁵ Rauno Veeroja,³⁶ Petter Wabakken,⁵¹ Manfred Wölfl,⁵² Sybille Wölfl,⁵³ Fridolin Zimmermann,⁴ Diana Zlatanova,⁵⁴ Luigi Boitani¹⁸

Recovery of large carnivores in Europe's modern human-dominated landscape

Guillaume Chapron *et al.*
Science **346**, 1517 (2014)

Slovensko

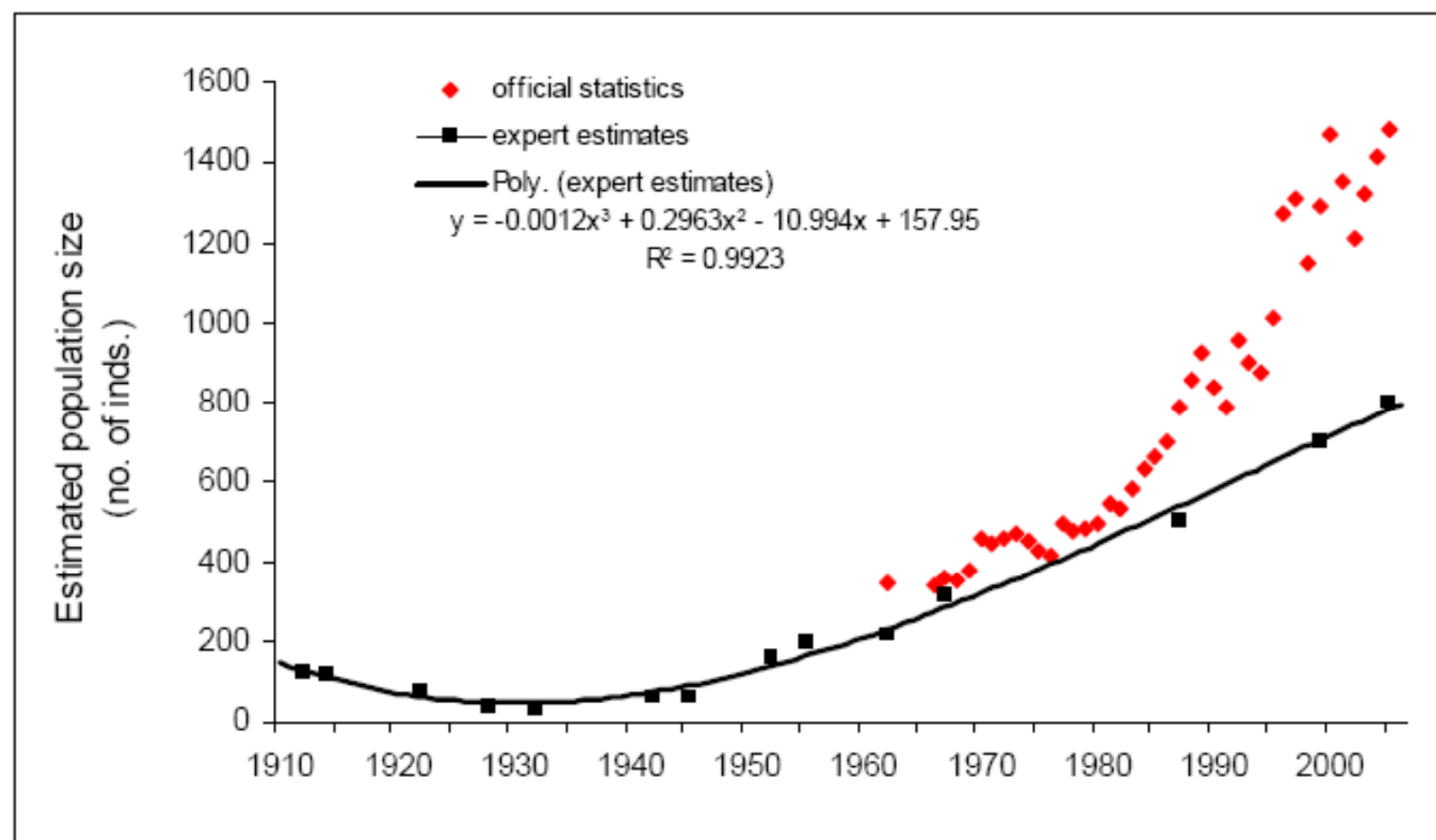
Genetické metódy CMR, telemetria, fotopasce, stopovanie na snehu, suma JKS , expertný odhad

Population	Permanent range	Sporadic range	Total range	Past range	Change factor
1. Scandinavian	169,100	298,600	467,700	95,600	> 4
2. Karelian	80,100	301,400	381,500	108,000	> 3
3. Baltic	20,800	29,600	50,400	12,400	> 4
4. Carpathian	99,200	23,400	122,600	72,600	> 1.5
5. East-Balkan	18,900	20,100	39,000	13,000	> 3
6. Dinaric-Pindus	78,700	35,400	114,100	71,100	> 1.5
7. Central Apennines	2,300	41,00	6,400	imprecise data	-
8. Alps	1,400	10,800	12,200	600	> 20
9. Pyrenean	7,900	5,000	12,900	imprecise data	-
10. Cantabrian	7,700		7,700	1,800	> 4
<i>Total</i>	<i>485,400</i>	<i>726,200</i>	<i>1,211,600</i>	-	-

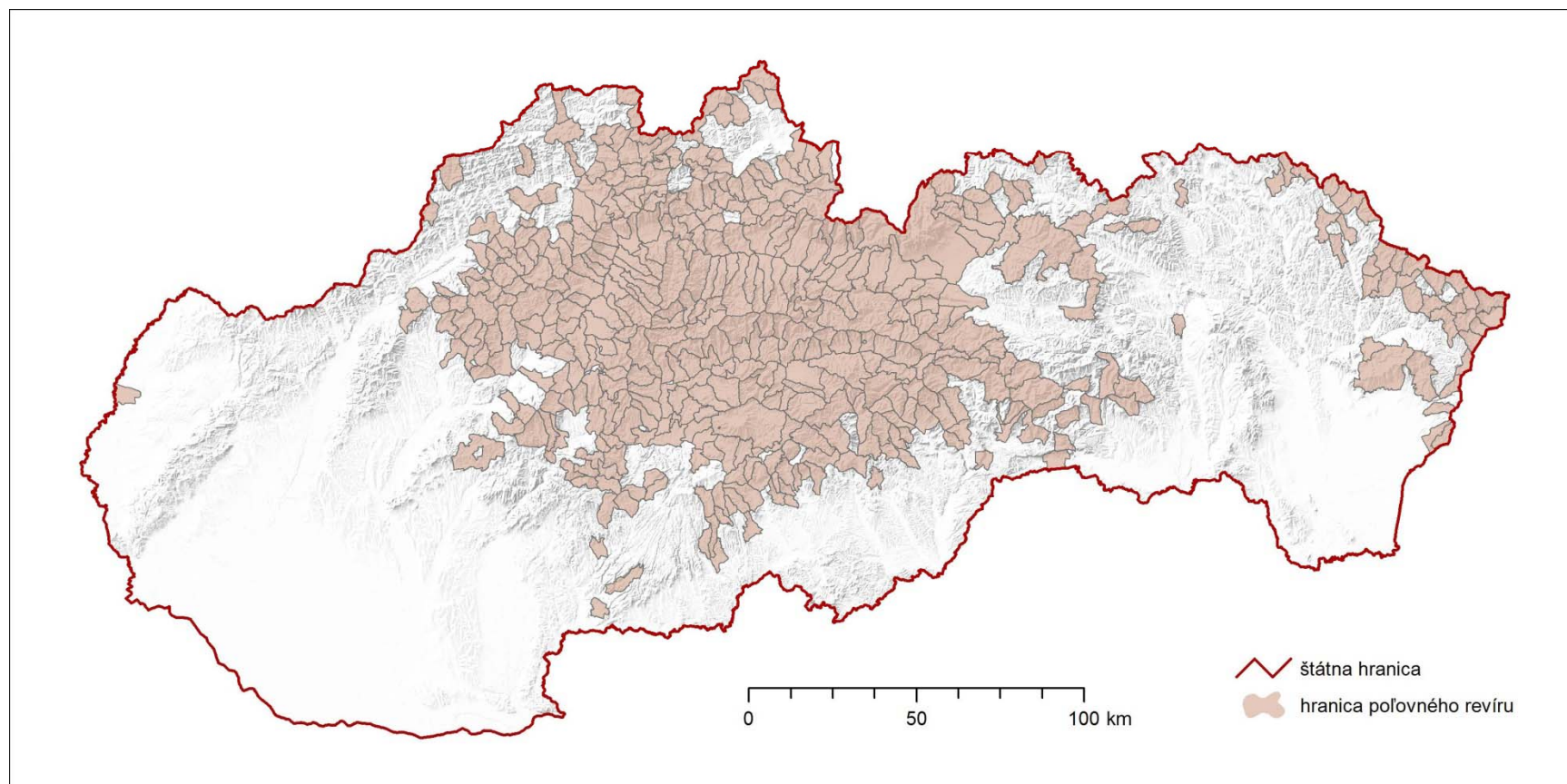
4. Carpathian	Poland	80	10–14	> 5
	Romania	6,000	860	> 5
	Serbia	6	-	-
	Slovakia	800–1,100	300	> 3
	<i>Total</i>	<i>7,200</i>	-	-

Vývoj veľkosti populácie

- Pred 1. svetovou vojnou – 120 medved'ov
- 1928 – 35–40 jedincov
- 1932 – 20–30 jedincov (Hell a Bevilaqua 1988)
- 1948 – 50–80 jedincov (Turček, 1948)
- 1953 – 200 jedincov (Feriancová, 1955)
- 1962 – 300 jedincov (Janík *et al.* 1986)



Areál medveďa hnedého na Slovensku

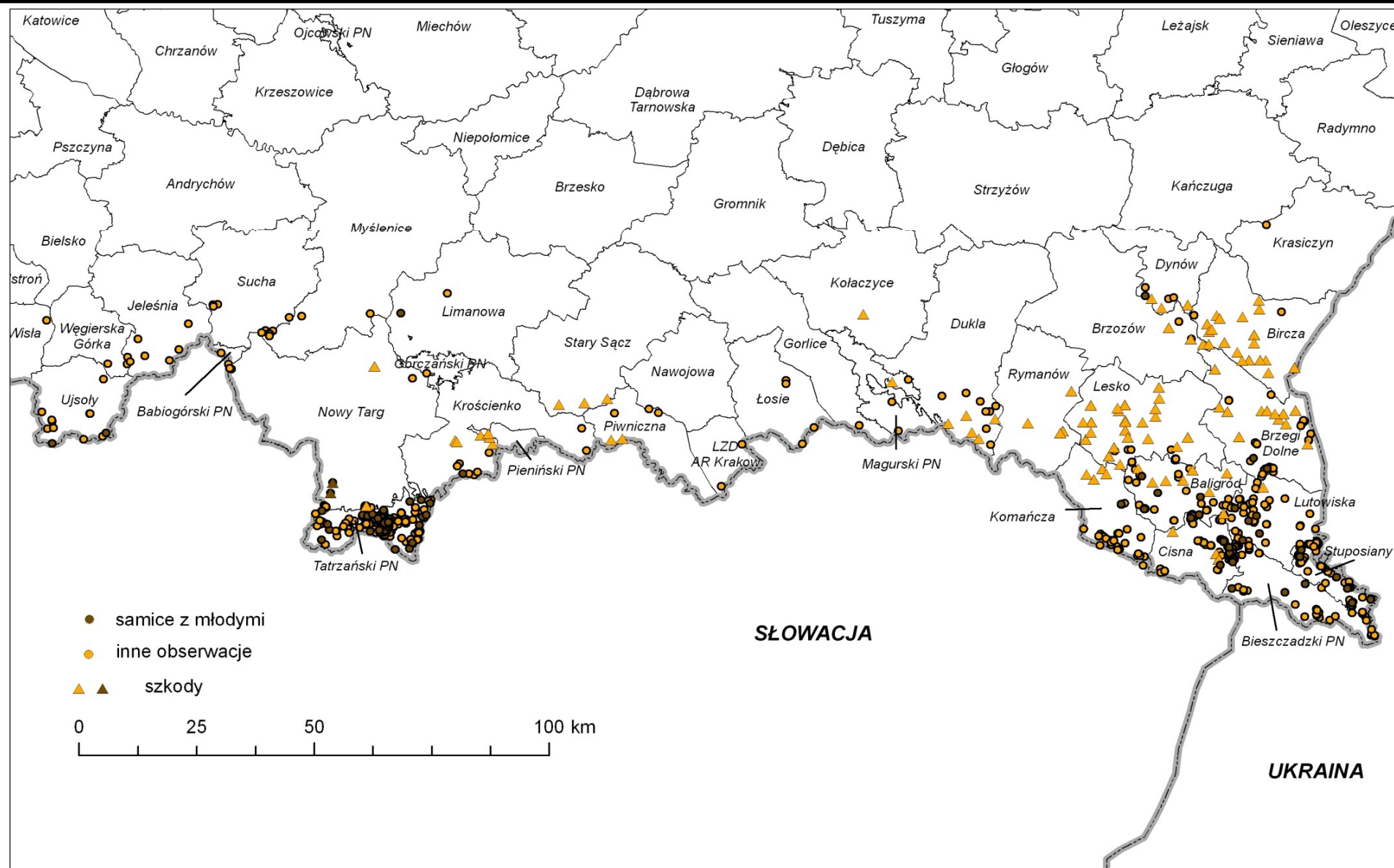


Údaje z poľovníckej štatistiky 2010-2012, zdroj NLC, Zvolen, 2013

5. 12. 2015



Výskyt medveďa v poľských Karpatoch v rokoch 2009-2011



Ako môžeme odhadnúť veľkosť populácie

- Priame počítanie – nepresné
- Odchyt a označenie – časovo náročné a v prípade medvedíov nerealizovateľné
- Genetické metódy
 - Invazívne vzorky – nerealizovateľné (podobne ako v prípade odchytu a označenia)
 - **Neinvazívne vzorky – jediná možná a presná cesta;** napriek tomu, že je časovo náročná a drahá





DER BE AUTOR

Te
der

Die Braunbärenpopul
bereits seit einigen Jal
auf. Oft handelt es sich
uns ein Geheimnis sin
dauerhaft das Gebie
können verschwinden
mehr über ihr Schicks

Dauerhafte Migration
jungen Individuen bek
suchen. Migrationen
bei Populationen
normales Phänomen
beobachten wir solche
benachbarten orograf
Migrationen finden b



Michal ♂, 250 - 300 kg, 15-20 Jahre
Foto: R. Hlavica



Maximus ♂, 250 - 300 kg, 20-25 Jahre
Foto: J. Nádka



Gašpar ♂, 200 - 300 kg, 10-15 Jahre
Foto: J. Nádka



Vlado ♂, 200 - 250 kg, 10-15 Jahre
Foto: T. Patáry



Adriano ♂, 150 - 200 kg, 9-12 Jahre
Foto: T. Patáry



Miro ♂, 140 - 190 kg, 9-12 Jahre
Foto: T. Patáry



Harlekyn ♂, 100 - 120 kg, 5-7 Jahre
Foto: J. Slovák



Kráľ ♂, 100 - 120 kg, 6-8 Jahre
Foto: J. Nádka



Gašparko ♂, 80 - 100 kg, 4-6 Jahre
Foto: J. Slovák



Luca ♀, 120 - 180 kg, 15-20 Jahre
Foto: T. Patáry



Gufa ♀, 120 - 180 kg, 19-25 Jahre
Foto: J. Slovák



Xena ♀, 140 - 160 kg, 19-25 Jahre
Foto: T. Patáry



Zuza ♀, 120 - 140 kg, 10-15 Jahre
Foto: J. Nádka



Nora ♀, 120 - 140 kg, 10-15 Jahre
Foto: V. Vician



Dáša ♀, 100 - 120 kg, 7-11 Jahre
Foto: J. Nádka



Bleduša ♀, 100 - 120 kg, 8-12 Jahre
Foto: V. Vician



Beta ♀, 80 - 110 kg, 8-12 Jahre
Foto: R. Hlavica



Belka ♀, 80 - 100 kg, 6-9 Jahre
Foto: V. Vician



Misa ♀, 80 - 100 kg, 6-9 Jahre
Foto: V. Vician



Zita ♀, 80 - 100 kg, 5-8 Jahre
Foto: J. Nádka



Derota ♀, 80 - 90 kg, 5-7 Jahre
Foto: J. Nádka



Kristina ♀, 90 - 90 kg, 5-7 Jahre
Foto: T. Patáry



Tereza ♀, 50 - 70 kg, 6-8 Jahre
Foto: T. Patáry

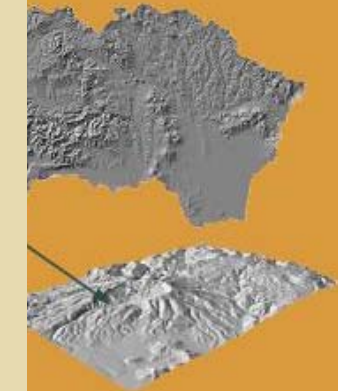


Hneduša ♀, 50 - 70 kg, 4-6 Jahre
Foto: J. Slovák



EBIRGE r, PhD.

it
ird.



Neinvazívne vzorky – srst'



Neinvazívne vzorky – trus

- Na povrchu trusu sú bunky z epitelu čriev vhodné pre izoláciu DNA a genotypovanie



Genotypovanie

- Každý jedinec má **unikátny genotyp** – okrem monozygotických dvojčiat
- Analýzou tkanív, krvi a tiež trusu **môžeme spoľahlivo** určiť genotyp jedinca a jeho pohlavie
- **Čo nemôžeme zistiť, to je vek**
- Dve vzorky s identickým genotypom pochádzajú z toho istého jedinca (okrem monozygotických dvojčiat)



K čomu nám genetické metódy slúžia?

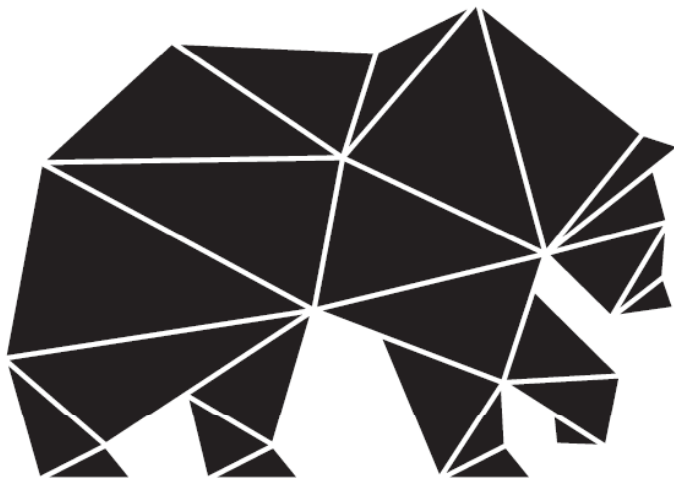
- Odhad abundancie (veľkosť populácie)
- Pohlavná štruktúra
- Zhľukovanie
- Prežívanie
- Migračné cesty

Genetické metódy sú tiež prostriedkom pre druhovú ochranu !

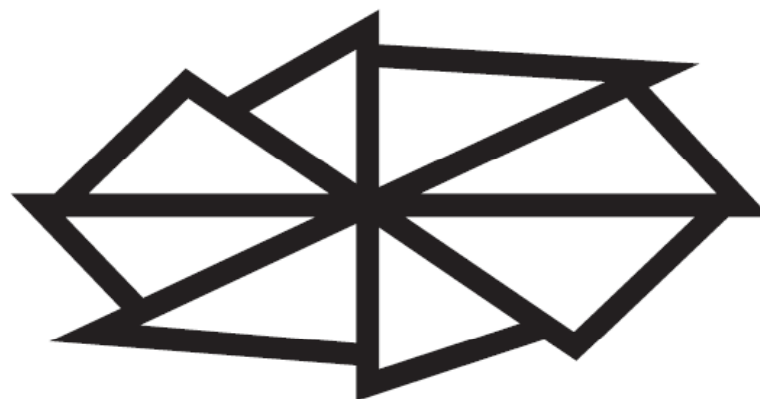


Genetická inventarizácia populácie medveďa hnedého v západných Karpatoch

- Projekt sa začal v auguste 2013; ukončený bol v roku 2015
- Financovaný Štátnou ochranou prírody SR zo Štrukturálnych fondov – operačný program Životné prostredie
- Výskum a monitorovanie populácií veľkých šeliem a divej mačky na Slovensku – ITMS 24150120039



GENETICKÝ
VÝSKUM
MEDVEĎA
na Slovensku



TECHNICKÁ UNIVERZITA VO ZVOLENE

Dizajn zberu pre CMR analýzy

- Uzavretá oblasť
- Krátke obdobie
- Veľa vzoriek (približne trojnásobok odhadnutej veľkosti populácie)

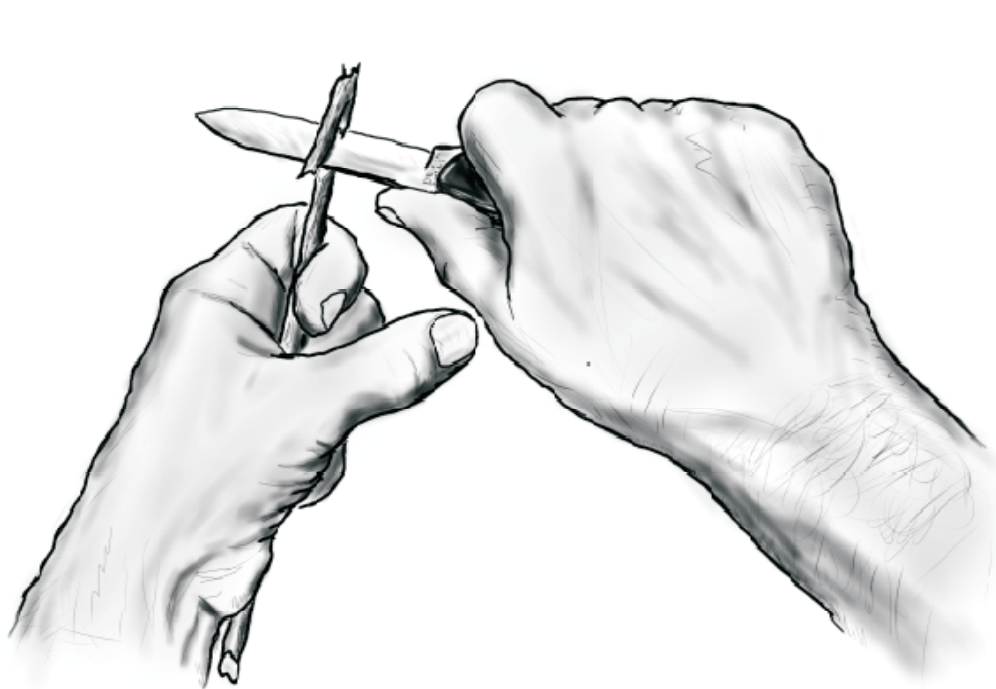


Neboli sme prví v Európe

- Genetické metódy sa úspešne použili pre odhad veľkosti populácie
 - Škandinávsky projekt (NO + SE)
 - Počet vzoriek bol dvojnásobný než odhadnutý počet jedincov v modelových územiach
 - Slovinsko a Chorvátsko
 - SI a HR, počet vzoriek bol trojnásobný než odhadnutý počet jedincov
 - Taliansko, Rakúsko a Španielsko
 - Počet vzoriek viac než 10-násobný než skutočný (malý) počet jedincov
 - Grécko
 - Register medveďov, zber vzoriek srsti

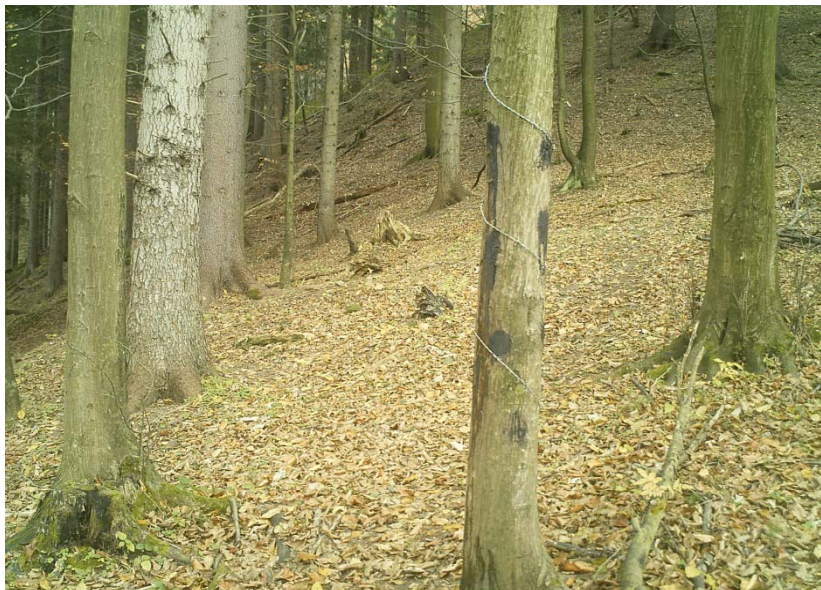


Zber trusu



Zber vzoriek srsti


- Grécko – pre zber vzoriek intenzívne využívajú stĺpy elektrického a telefónneho vedenia
- Na Slovensku nepoužiteľné, pretože pre osádzanie stĺpov používame betónový základ
- Vlasové pasce (ostnatý drôt) na stromoch a bukový tér ako vnadidlo
- Fungujú dobre (škoda, že sme ich nepoužili aj v prvom roku)



Bushnell  Camera Name0 951.9mb↑ 13°C ○


11-06-2014 14:07:29



Bushnell  Camera Name0 952.8mb→ 8°C ○


11-07-2014 02:00:16



Bushnell  Camera Name0 952.8mb→ 8°C ○

11-07-2014 02:00:31



Bushnell  Camera Name0 954.6mb→ 12°C ○

11-09-2014 19:07:06

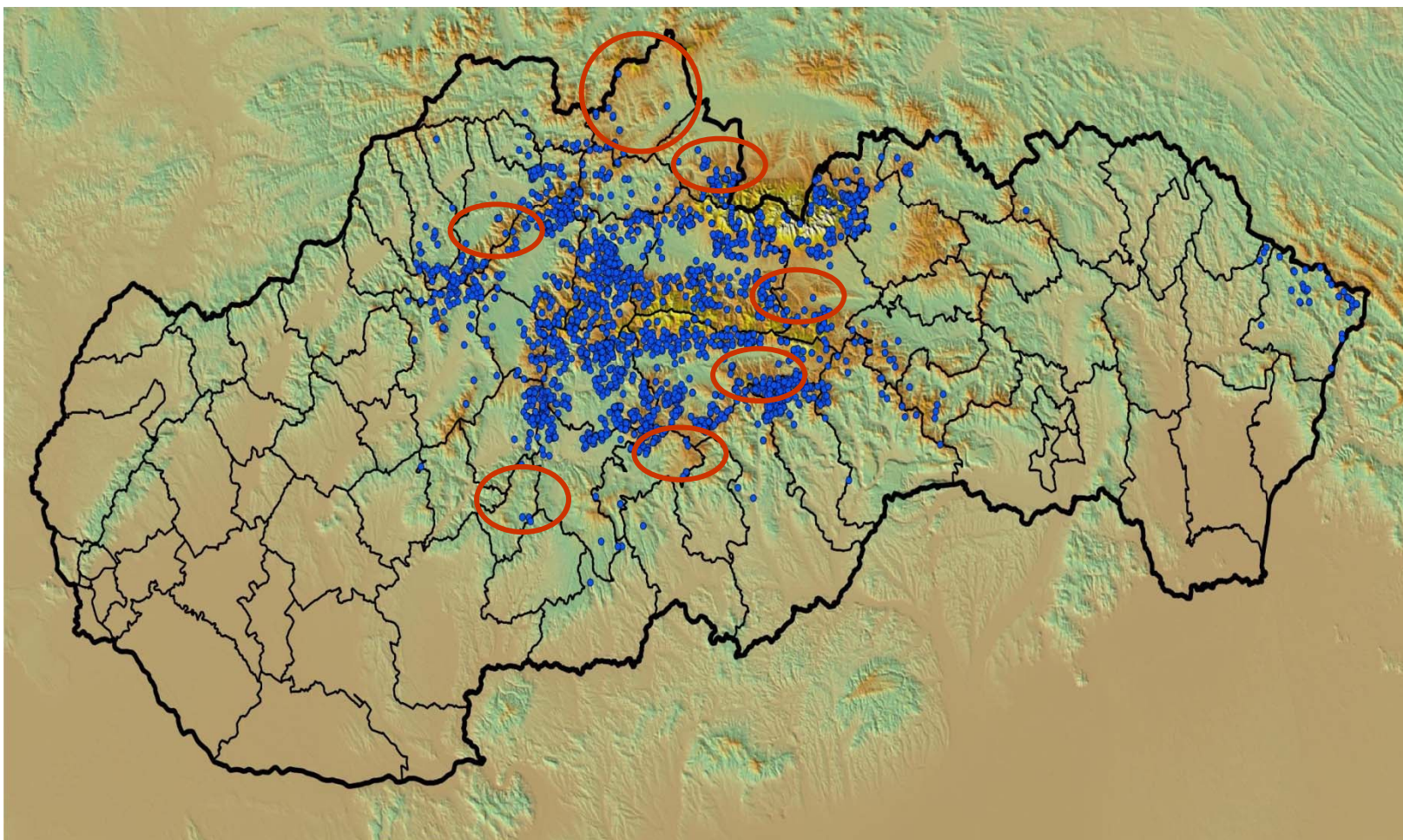
Logistika

- Komunikácia s poľovnými združeniami, lesnými správami, ŠOP a dobrovoľníkmi
- 25 inštruktáží po okresoch
- Rozdelenie 10,000 skúmaviek naplnených konzervačným roztokom, mapy, manuály, tužky a pod.
- Výzva v printových médiách, TV, rozhlas
- Všetko v nádeji, že získame pozitívny ohlas a spoluprácu

Výsledok zberu

- Počas prvej sezóny sme získali naspäť okolo 1600 skúmaviek so vzorkami
- Málo !!
- Pokračovanie v druhom roku
- Celkom sme získali 2813 vzoriek trusu, 98 vzoriek chlpov a 66 vzoriek tkanív z usmrtených jedincov (ulovených a dopravné nehody)

Výsledky zberu vzoriek trusu v rokoch 2013–2014



Výsledky zberu

- Rozdelenie vzoriek pokrýva územie **pomerne** dobre a zahŕňa areál
- Existujú oblasti s nedostatkom vzoriek ale s prítomnosťou medved'ov
- Kvalita vzoriek bola premenlivá – úspech izolácie DNA 45-65 %

Genotypovanie

- Izolácia DNA pomocou komerčných kitov určených na trus a vlasy
- Fragmentačná analýza 12 mikrosatelitov jadrovej DNA + jeden pohlavný primer (SRY)
- Testovanie spoľahlivosti genotypovania
- 3–4 opakovania v prípade neistých genotypov
- Genotypy boli základom pre zistenie **unikátnych genotypov** a následnej simulácie pre **CMR analýzy**

Otvorené otázky

- **Koľko medved'ov sa nám túla po SLOvensku ?**

**Ak by sme to vedeli, nebolo by potrebné
započať s týmto projektom**

- Je vôbec táto informácia potrebná?
- Sú dôležité informácie o hustote populácie a migráciách?
- Sú dôležité informácie o pohlavnej štruktúre a vývojových trendoch v oblastiach ?



Výsledky

- Pre nejednoznačnosť štyroch lokusov sme pre vyhodnotenie a modelovanie použili 8 lokusov
- V prvej sezóne sme na strednom Slovensku mali 1100 dobrých vzoriek a identifikovali sme 616 jedincov – 260 samcov a 356 samíc s priemerným počtom opakovaní u samcov 1,60 a u samíc 1,34.
- V Poloninách sme identifikovali 19 jedincov s priemerným počtom opakovaní 1,79

East Slovakia

Migrating animals

- F, Blood
- F, Hair
- F, Scat
- × F, Tissue
- M, Blood
- M, Hair
- M, Scat
- × M, Tissue
- NA, Hair
- NA, Scat
- × NA, Tissue

West Slovakia

Animals known from before

Start of
intensive sampling

Some saturation starting in sampling
(less and less new animals)

Cubs of the year
becoming detectable

Assumption of population closure

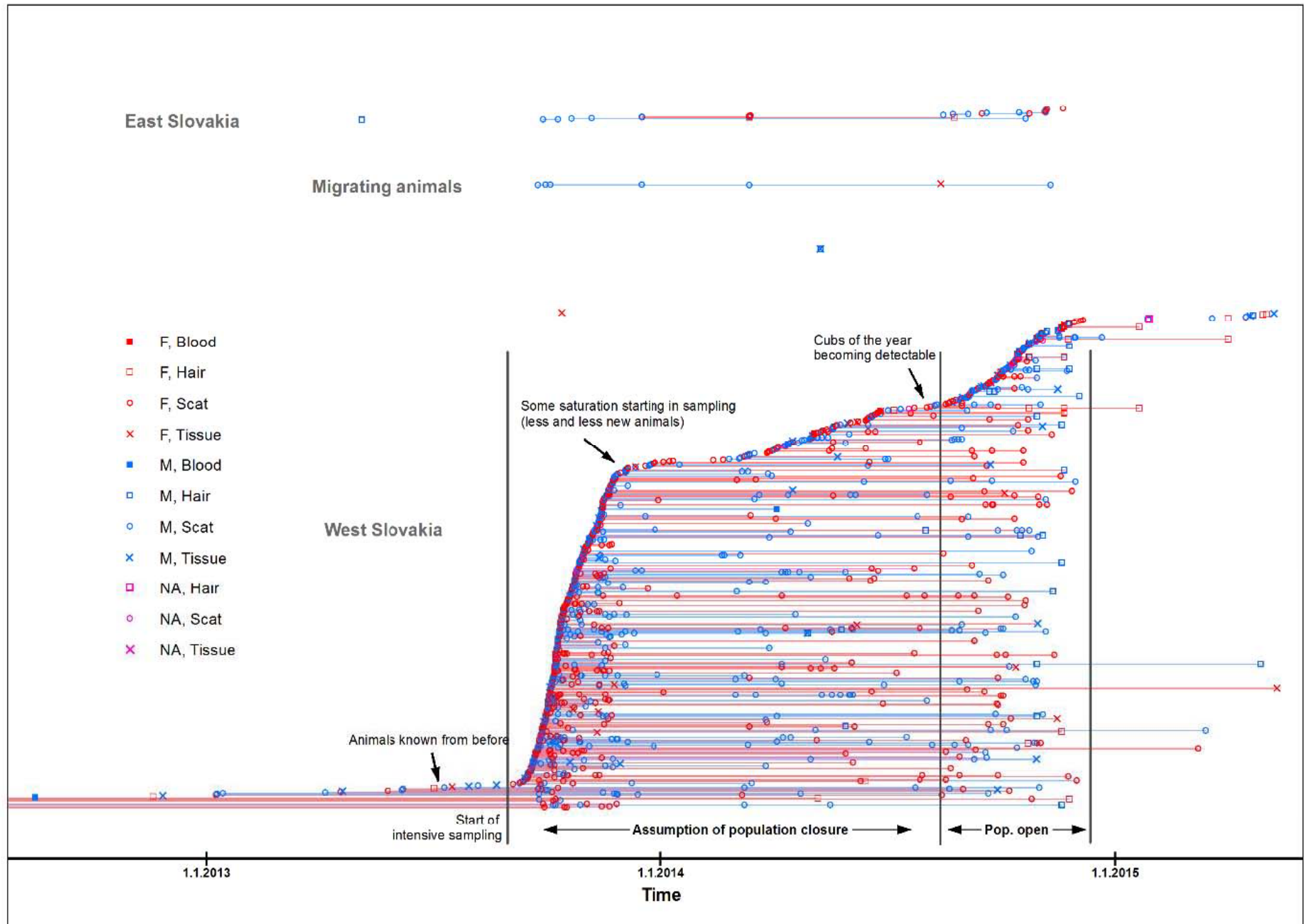
Pop. open

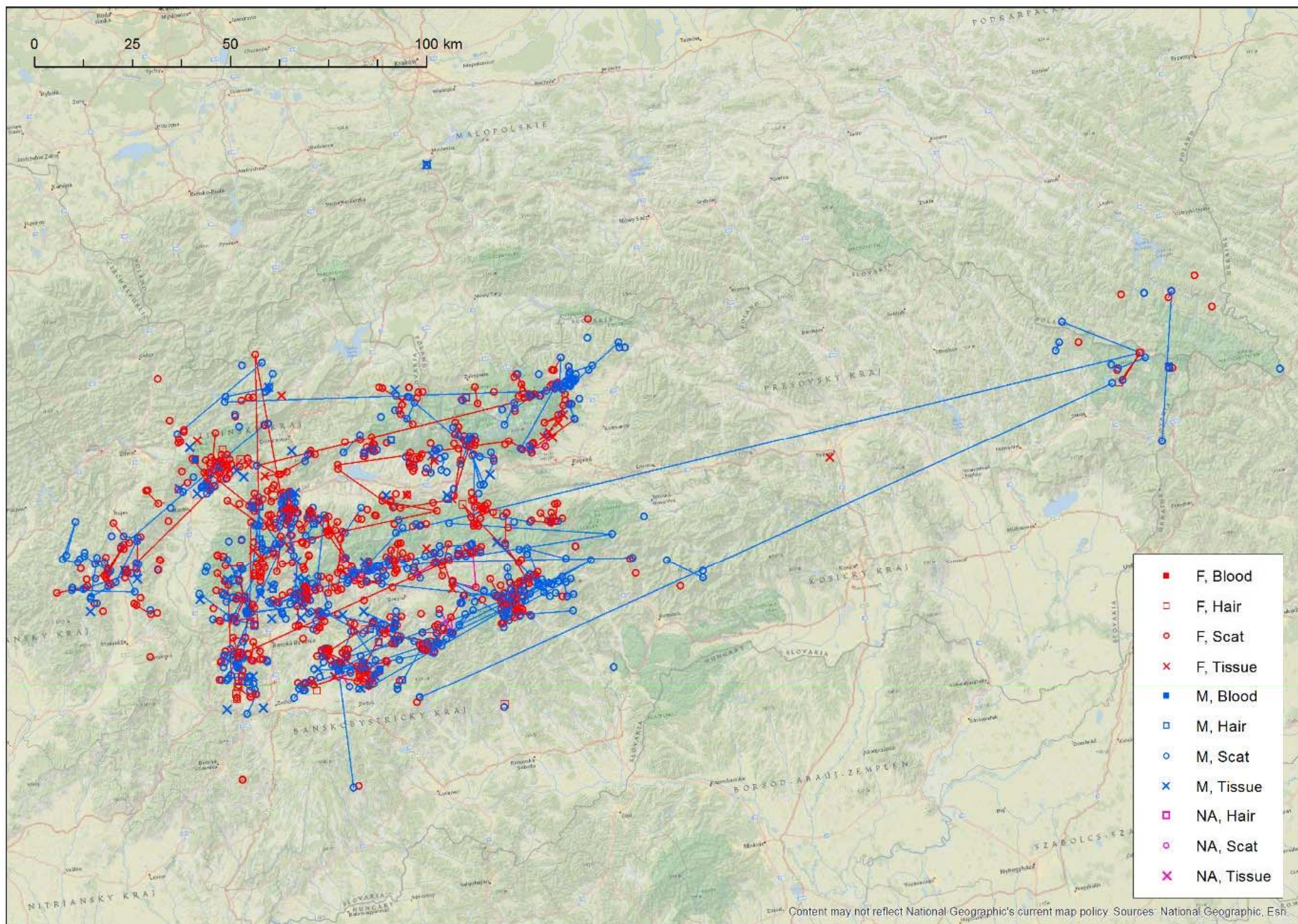
1.1.2013

1.1.2014

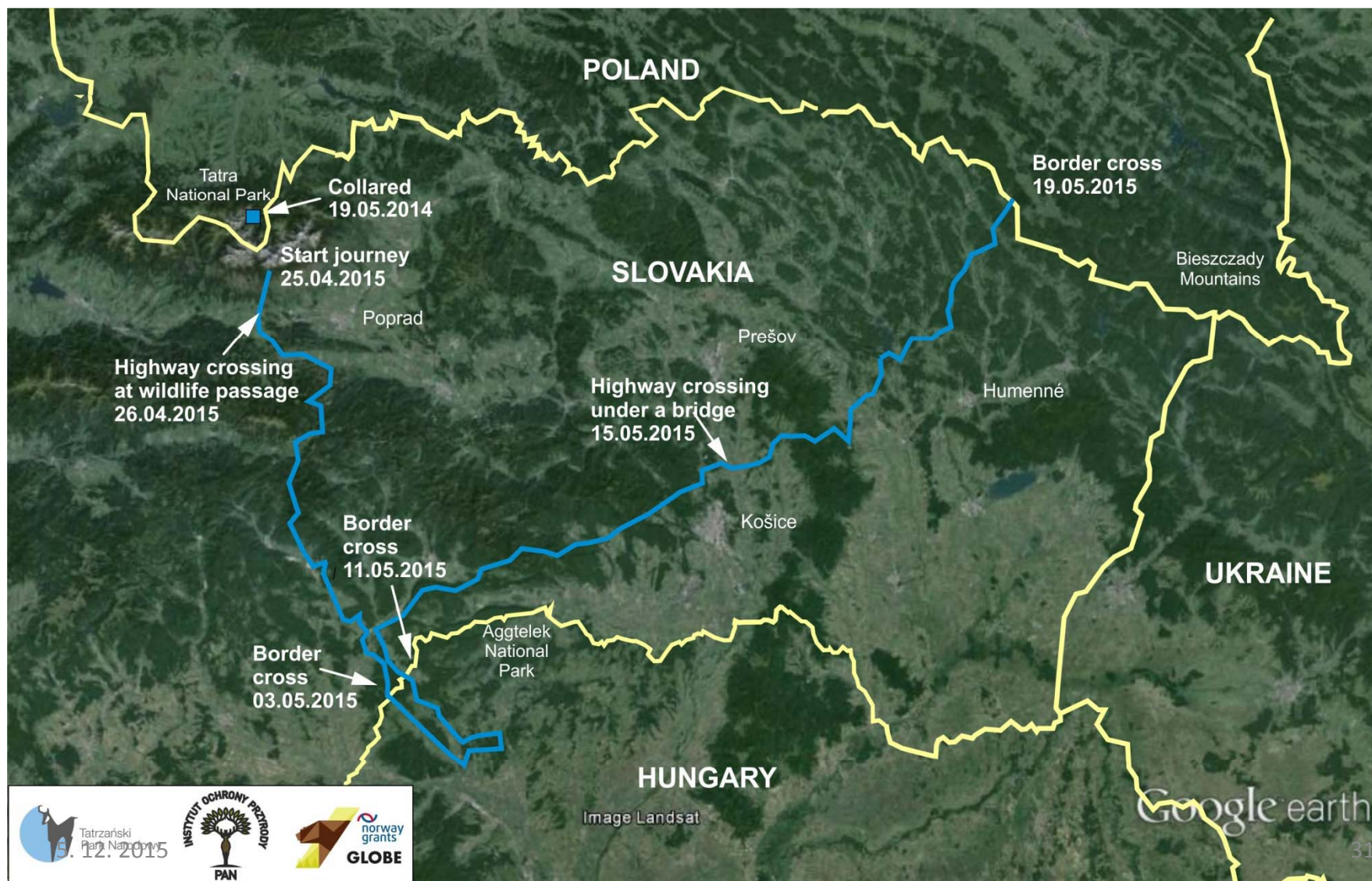
1.1.2015

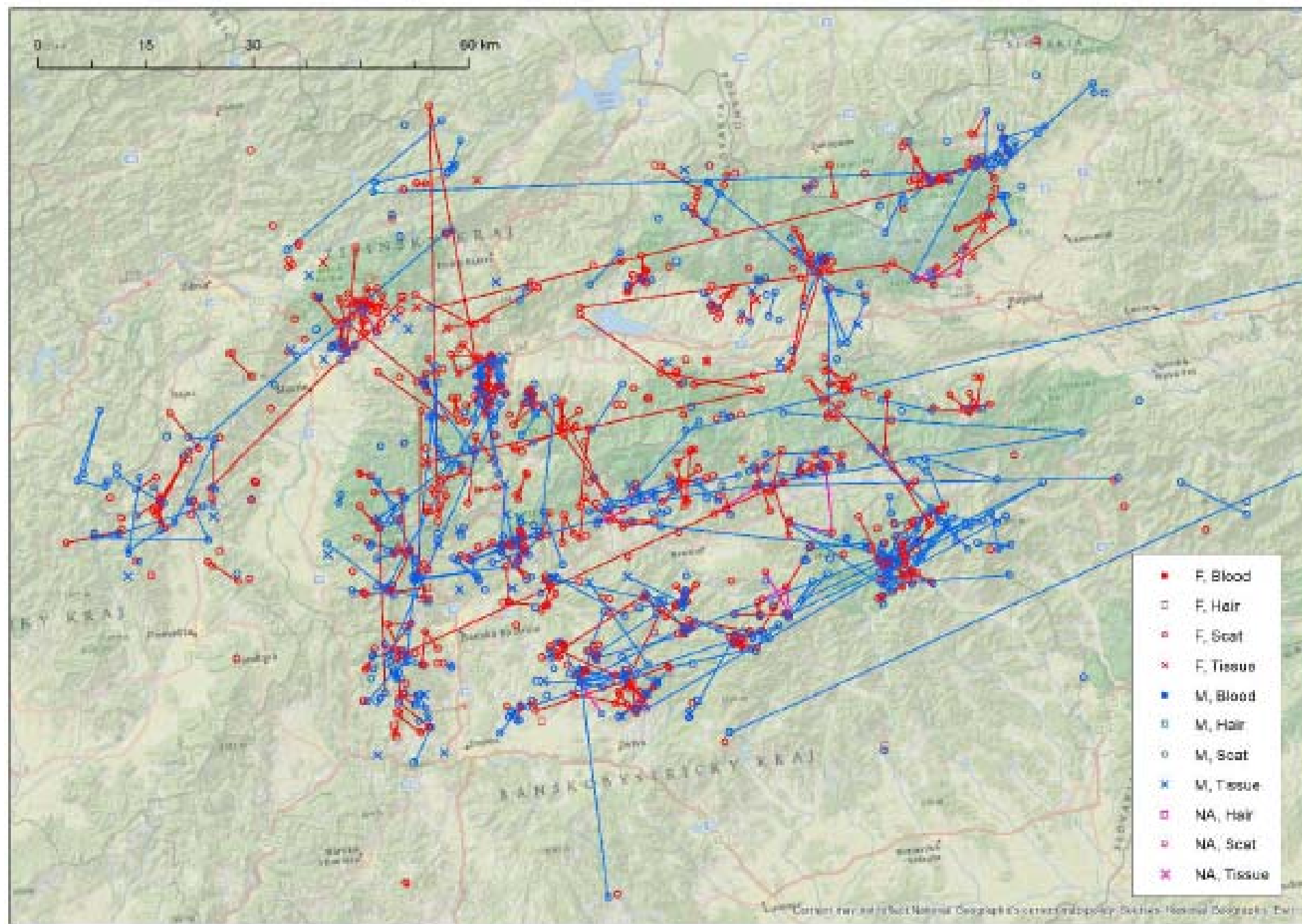
Time





Putovanie medveďa Iwa z Tatier do Bieszczad cez Maďarsko a ďalej do Gorgan





Výsledky

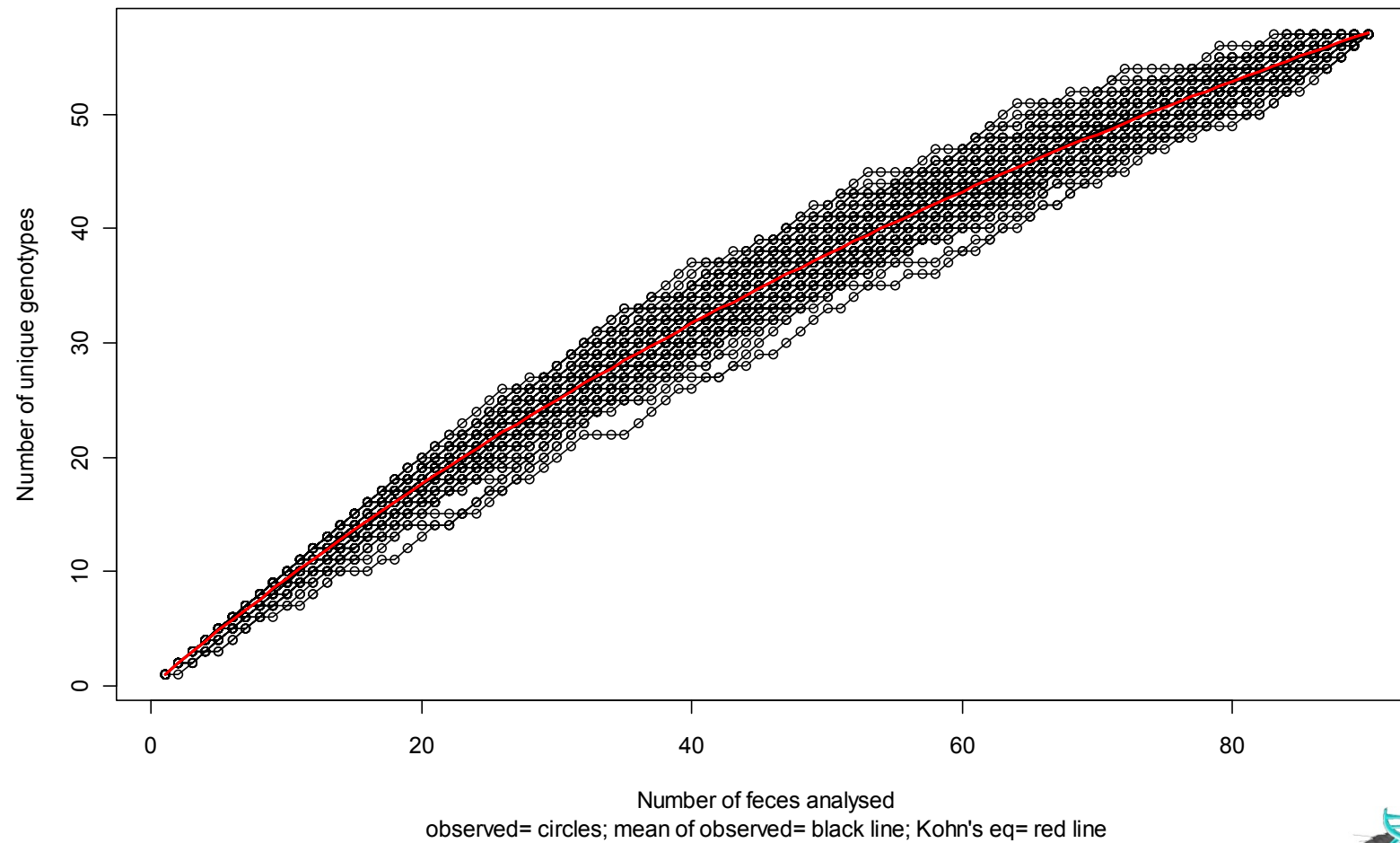
- Celkom (obe sezóny) dobrých 1834 vzoriek
- Identifikácia 831 jedincov s unikátnymi genotypmi
- 831 jedincov bolo zachytených v období Mark – Recapture procesu 04.09.2013 – 31.12.2014 (vylúčené boli vzorky mimo tohto obdobia)
- Prvý rok sme uvažovali s populáciou bez prírastku – predpoklad uzavretej populácie
- Identifikácia prírastkov až po 25.08.2014

Výsledky

- V druhej sezóne pozvoľný nárast počtu nových jedincov (215) a zvýšenie počtu opakovaní
- Základ pre modelovanie pomocou **Capture – Mark – Recapture** metódy (CMR)
- **Predpoklady:** uzavretá populácia a väčší počet opakovane zachytených jedincov
- S narastajúcim počtom vzoriek stúpa počet zachytených jedincov, ktorý sa asymptoticky približuje ku konečnému počtu

Odhad veľkosti populácie

Number of unique genotypes against number of feces analysed

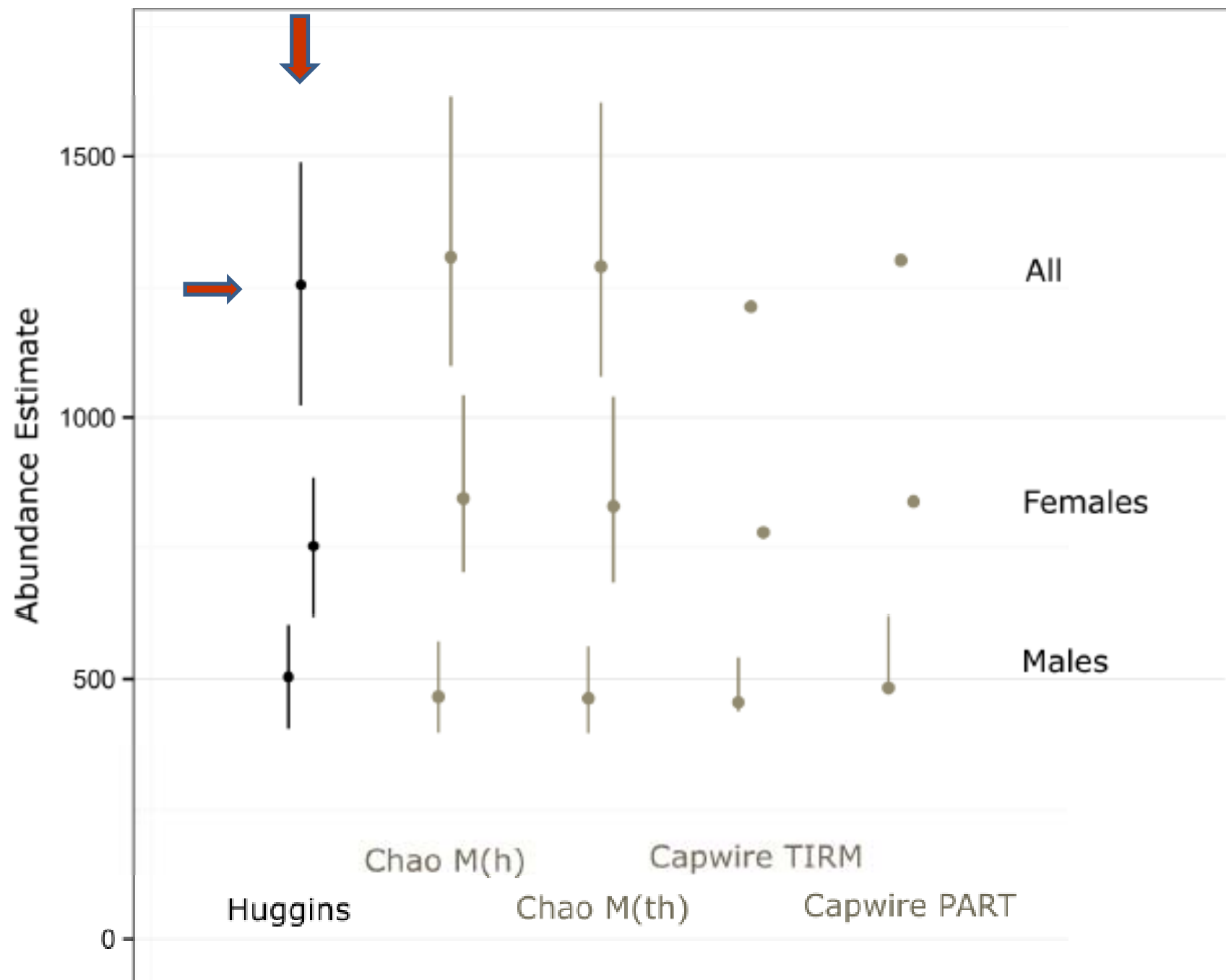


CMR modelovanie

- Použitých 5 CMR modelov:
 - Hugginsova heterogenita
 - Chao $M(h)$
 - Chao (th)
 - Capwire TIRM
 - Capwire PART

CMR modelovanie

Model	Samce			Samice			Spolu		
	N^	Cld	Clu	N^	Cld	Clu	N^	Cld	Clu
Hugginsova heterogenita	504	404	604	752	619	885	1256	1023	1489
Chao M(h)	466	397	572	843	702	1043	1309	1099	1615
Chao M(th)	463	396	563	828	682	1040	1291	1078	1603
Capwire TIRM	455	438	542	778	*	*	1214	*	*
Capwire PART	483	477	621	837	839	1019	1303	*	*



Závery

- Spoľahlivý odhad veľkosti populácie 1256 ± 233 jedincov bol podporený piatimi CMR modelmi
- Pomer pohlavia vychýlený v prospech samíc: skutočný 42,2 vs. 57,8 %, modelovaný 40,1 vs. 59,9 %
- Základný údaj pre aplikáciu v programe starostlivosti o medveďa a následný monitoring dynamiky vývoja populácie

Otvorené otázky

- **K čomu nám môže ešte slúžiť genetická inventarizácia populácie medved'ov ?**
 - Diferencovaný manažment v oblastiach s rôznou hustotou populácie (oblasti väčšie než poľovné revíry a okresy)
 - Monitoring migrácie, sezónneho zhľukovania a cezhraničnej migrácie
 - Základ pre modelovanie populačného rastu (pohlavná štruktúra)



Monitoring vývoja veľkosti populácie

- Pomer pohlavia
- Podiel reprodukujúcich samíc
- Počet potomkov vo vrhu
- Ročná mortalita mláďat



Záverom ...

- Naše poďakovanie patrí 648 zberačom, ktorí nám pomohli so zberom vzoriek – poľovníkom, lesníkom, pracovníkom ochrany prírody, ale aj dobrovoľníkom
- **Nech im tričko s logom projektu slúži ako ochrana pred napadnutím medveďom**
- Rád by som sa poďakoval mojim spolupracovníkom **Diane, Janke, Petrovi, Veronike a Tomažovi**, ako aj ďalším kolegom z Katedry fytológie. Bez ich entuziazmu by sa táto úloha nedala zvládnuť.



Ďakujem za pozornosť !!

