

Lesy České republiky, s.p., Hradec Králové

**VÝZKUMNÉ PROJEKTY
GRANTOVÉ SLUŽBY LČR**

LESYČR



Projekt

**Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu
populace a přeshraniční migrace losa evropského
v oblasti LS Vyšší Brod**

Řešitel

Mendelova univerzita v Brně



Odpovědný řešitel:

Ing. Martin Ernst, Ph.D.

Spoluřešitelé:

Luboš Křížek, Ing. Jarmila Matoušková, Jan Märzl, Ing. Jiří Švanda, Jan Veselý

Brno, 2011

Mendelova univerzita v Brně



VYUŽITÍ MIKROSATELITNÍCH ANALÝZ PŘI MONITORINGU POPULACE A PŘESHRANIČNÍ MIGRACE LOSA EVROPSKÉHO V OBLASTI LS VYŠŠÍ BROD

ZÁVĚREČNÁ ZPRÁVA

výzkumného projektu Grantové služby LČR

Období řešení:

1. 9. 2008 – 31. 8. 2011

Brno 2011

Ing. Martin Ernst, Ph.D.

Luboš Křížek

Ing. Jarmila Matoušková

Jan Märtil

Ing. Jiří Švanda

Jan Veselý

OBSAH

1. ÚVOD.....	4
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	8
2. 1 Systematické zařazení losa evropského	8
2. 2 Popis losí zvěře	9
2. 3 Biologie losí zvěře	9
2.4 Škody způsobené losem	15
2.5 Vývoj početních stavů losa v Evropě.....	16
2.6 Historie výskytu losí zvěře na území Čech a Moravy	17
3. METODIKA	26
3.1 Literární zdroje.....	26
3.2 Mapování výskytu losa a škod losem	26
3.3 Odběr biologických vzorků a databanka.....	27
3.4 Molekulárně-genetické analýzy	27
4. VÝSLEDKY A DISKUSE	34
4. 1 Evidence.....	34
4.2 Biologické vzorky	34
4.3 Genetika	35
4.4 Výskyt losa evropského	38
4.5 Škody losem.....	45
4.6 Fotopasti.....	50
5. ZÁVĚR	53
PŘÍLOHA 1 Metodiky odběrů biologických vzorků	
PŘÍLOHA 2 Monitoring losů v České republice	
PŘÍLOHA 3 Seznam zjištěných genotypů studovaných lokusů losa evropského.	
PŘÍLOHA 4 Škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod za období 2002 – 2011	
PŘÍLOHA 5 Výskyt losa na LS Vyšší Brod	
PŘÍLOHA 6 Pracovní deník monitoringu losa evropského	

1. ÚVOD

Los evropský (*Alces alces*) je největším žijícím zástupcem čeledi jelenovitých (*Cervidae*). Vyskytuje se v širokém pásmu, které začíná v oblasti Západní Evropy, pokračuje přes Asii až do Severní Ameriky. Rozšíření losa v současné Evropě je téměř v celé Skandinávii, dále pak v oblastech Pobaltí, Ruska, Běloruska, Ukrajiny a Polska. Tyto oblasti můžeme označit za místa, kde je populace stálá a početnější. Západní hranice rozšíření probíhající Polskem a Ukrajinou zasahuje na jihu až k Černému moři. Zároveň lze zaznamenat migrující jedince v jiných zemích Evropského kontinentu - Dánsko, Německo, Rakousko, Maďarsko, Rumunsko a Slovinsko (BRIEDERMANN, 1981; DANILOV, 1987; STEINER, 1995). Zaznamenány jsou také malé stálé populace čítající několik jedinců v horním Rakousku a Bavorsku na hranicích s Českou Republikou a dále pak na území Oravy na Slovensku v blízkosti Polských hranic.

V České Republice byl zaznamenán výskyt losa v oblasti jižních Čech, na Českomoravské vrchovině (HOMOLKA, HEROLDOVÁ, 1997), Tábořsku, Plzeňsku a Mělnicku. HOMOLKA A HEROLDOVÁ (1997) uvádějí dále severní Moravu, kde se podle nich nachází jedna z hlavních migračních cest z Polska. Průkazně se putující losí zvěř objevila také na východě Krkonoš a na Liberecku.

Ze strany ochránců přírody, lesníků i myslivců byl náhled na výskyt této zvěře na našem území rozporuplný. V minulosti padly návrhy na redukci početních jejích stavů v zájmu ochrany lesních porostů před rozsáhlými škodami, které působí v jižních Čechách. Zároveň byl los zařazen mezi zvěř s vymezenou dobou lovu, ale také do seznamu kriticky ohrožených druhů v Červené knize ČSSR (BARUŠ, 1989) a v současnosti patří mezi druhy silně ohrožené.

Los na našem území je druh zvěře, který si zaslouží příslušnou ochranu pro svoji jedinečnost, ale na straně druhé se musí vzít v potaz jeho možný vliv na lesní hospodářství. Na obyvatelích ČR je tedy rozhodnutí, do jaké výše lze tolerovat škody losem na lesních dřevinách (resp. na LH) a jak velká musí být populace zde žijících losů, aby byla životaschopná a zůstal tak tento majestátní druh živočicha zachován v ČR pro další generace.

Zachování genetické různorodosti je důležitý faktor v ochraně evolučního potenciálu a propagace dlouhodobé udržitelnosti populací (LEBERG, 1992; FRANKHAM, 1995; LACY, 1997). Pohyb zvířat a následný pohyb genů uvnitř metapopulační struktury může udržovat genetickou proměnu mezi místními podskupinami (HARRISON A

HASTINGS, 1996). Nízké hodnoty genetické variability uvnitř subpopulací vzniklých z větších metapopulací jsou považovány jako příčinný faktor, který zvyšuje pravděpodobnost zániku místních populací (WESTEMEIER ET AL., 1998). Z těchto důvodů byly DNA ukazatele používány v rozsáhlém studování genetické proměny populační struktury u přirozených populací (FERRIS A PALUMBI, 1996; CARVALHO, 1998; ESTOUP A ANGERS, 1998).

Mikrosatelitní analýza je nejběžněji užívaná DNA metoda, která slouží jako ukazatel systému při hodnocení genetické proměny ve funkčním místě genu (HEDRICK, 1994; MURRAY ET AL., 1995; MURRAY A WHITE, 1998; WENINK ET AL., 1998; MURRAY ET AL., 1999).

Los je největší pozemní savec v boreálních lesech Kanady a Eurasie (TELFER, 1984). Navzdory významu losa jako lovné zvěře ve většině provincií Kanady a několika států v USA (CUMMING, 1974; RITCHEY, 1974; TIMMERMAN A BUSS, 1998) však existuje nejistota o pohybu jedinců mezi jednotlivými losími populacemi.

Migraci losa lze rozlišit mezi rozptylování nebo stěhování. Rozptylování je definované jako pohyb losa z rodné oblasti, tedy z oblasti, kde se pravděpodobně narodil. Stěhování je definované jako sezónní pohyb losa mezi obdobími páření (HUNDERTMARK, 1998).

Studie losích populací poukázala na rozdíl v množství losů, kteří migrovali (LERESCHE, 1974; TELFER, 1984). Částečně lze tvrdit, že rozptylování popisované pro losa (HUNDERTMARK, 1998) ukazuje, že na množství rozptylování může mít efektivní vliv sousední populace, tedy i na zvýšení genetické kvality, a to zejména u losích populací v regionech s vysokým lovem.

DNA studie BRODERSE ET AL. (1999) ukázala, že vysoký potenciál pro rozptylování losa způsobil genetickou homogenizaci mezi losími populacemi. Populační struktura byla identifikovaná mezi kanadským losem reprezentovaná populacemi z různých provincií.

Odhady z kanadských národních a provinciálních parků ukázaly, že parky obklopené krajinou pozměněnou člověkem redukuje migraci savců do parkových systémů (GURD A NUDDS, 1999) a vytváří se tak území s vysokým potenciálem pro osamocení populace. V důsledku toho je důležité určit úroveň genetické variability mezi vzdálenými oblastmi s potenciální migrací a určit zde množství genetické proměny uvnitř populace ve srovnání se sousedními zeměpisnými regiony. Informace zde uvedené je nutné také zohlednit při managementu losa na území ČR, které je sice

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod

malé, ale poměrně hustě osídlené a protkané sítěmi liniových bariér, které omezují migraci této zvěře, čímž může docházet ke snižování genetické variability a životaschopnosti populací na našem území.

V prvním roce řešení (1.9. 2008 až 30.11. 2009) byl vytvořen návrh databanky losa evropského pro potřeby LČR, s.p., LS Vyšší Brod, která však do současnosti není umístěna na webových stránkách LČR, s.p. Další náplní v tomto období byl odběr biologických vzorků pro DNA analýzy a monitoring škod losem na LS Vyšší Brod.

V průběhu dalšího období řešení projektu byl na LS Vyšší Brod prováděn zejména monitoring výskytu losa evropského, škod jím způsobených a sběr biologických vzorků pro DNA analýzy. Činnost byla prováděna kolektivem řešitele ve spolupráci s personálem LS Vyšší Brod. Další informace byly zaevidovány ve spolupráci s personálem VLS, s.p., divize Horní Planá, LS Jindřichův Hradec, LS Český Rudolec a společnosti Agrowald, s.r.o., Rožmberk nad Vltavou. Podklady o výskytu losů v Rakousku (okolí Schlägelu) a Německu (okolí Hauzenbergu) přebíral od zahraničních kolegů bývalý lesní správce LS Vyšší Brod p. Jan Mártl, stejně jako biologické vzorky pro testování DNA. Od druhého kvartálu 2010 byl monitoring výskytu losa na LS Vyšší Brod prováděn také sběrem dat pomocí čtrnácti fotopastí (instalovány v květnu 2010).

Při řešení projektu bylo využíváno mikrosatelitních analýz, pomocí kterých bylo možné zhodnotit stav populace (ověřování příbuzenských vztahů u volně žijící populace losa evropského, identifikace jedince a stanovení stupně inbreedingu v populaci) a byla vyhodnocena přeshraniční migrace *Alces alces* v posledním roce řešení.

Podobnou problematikou se v Polsku zabývá Doc. Mirosław Ratkiewicz, na kterého jsme obdrželi kontakt od paní Fiony Schönfeld z Bavorska, která byla přizvána na úvodní jednání tehdejším lesním správcem LS Vyšší Brod panem Janem Mártlem. Z tohoto řešitelského kolektivu se nám podařilo získat dvě publikace, které se zabývají problematikou genetických analýz u losa v Polsku – ŚWISLOCKA ET AL. (2008) a BORKOWSKA ET AL. (1994). Bližší spolupráci s polskou stranou jsme však navázali s kolektivem prof. dr. hab. Romana Dziedzice (Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie), který s námi osobně konzultoval problematiku kolem losa evropského 29. – 30. 5. 2009 a 12. – 14. 2. 2010 na Ústavu ochrany lesů a myslivosti a také 15. 6. 2011 v Bratislavě, přičemž tato spolupráce bude probíhat i nadále po ukončení řešení projektu.

V návaznosti na tento projekt byly také řešeny dvě bakalářské práce (dále BP) související s jeho tematikou. V současnosti jsou obě BP dokončeny (p. Jan Veselý „Populace losa evropského a jeho vliv na lesní porosty Jindřichohradecka a Třeboňska“

Projekt Grantové služby LČR

*Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského
v oblasti LS Vyšší Brod*

a p. Luboš Křížek „Populace losa evropského a jeho vliv na lesní porosty LS Vyšší Brod“), ale doposud nejsou obhájeny.

Od roku 2010 byl odebírán vzorek trusu s větším množstvím jednotlivých bobků, nežli v předchozí době řešení projektu. Důvodem bylo navázání spolupráce s prof. Jiřím Lamkou (Univerzita Karlova v Praze - Farmaceutická fakulta v Hradci Králové) a prof. Ivo Pavlíkem (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.), kteří provedou jeho parazitologické rozbory v posledním kvartálu roku 2011.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2. 1 Systematické zařazení losa evropského

soustava	<i>Vitae</i> - živé organismy
doména	<i>Eukaryota</i> Whittaker & Margulis, 1978 - jaderní
nadříše	<i>Unikonta</i>
	<i>Opisthokonta</i> Cavalier-Smith, 1987b
říše	<i>Animalia</i> Linnaeus, 1758 - živočichové
podříše	<i>Eumetazoa</i> Butschli, 1910
oddělení	<i>Bilateria</i> Hatschek, 1888
pododdělení	<i>Deuterostomia</i> - druhoústí
kmen	<i>Chordata</i> Bateson, 1885 - strunatci
podkmen	<i>Vertebrata</i> Cuvier, 1812 - obratlovci
infrakmen	<i>Gnathostomata</i> Zittel, 1879 - čelistnatí
nadtrída	<i>Tetrapoda</i> Gaffney, 1979 - čtyřnožci
trída	<i>Mammalia</i> Linnaeus, 1758 - savci
podtrída	<i>Theria</i> (Parker & Haswell, 1897) McKenna & Bell, 1997 - živorodí
infratrída	<i>Eutheria</i> Thomas Henry Huxley, 1880 - placentálové
řád	<i>Artiodactyla</i> Owen, 1841 - sudokopytníci
podřád	<i>Ruminantia</i> - přežvýkavci
infrařád	<i>Pecora</i> Flower, 1883
čeleď	<i>Cervidae</i> - jelenovití
podčeleď	<i>Capreolinae</i> Brookes, 1828 - jelenci
rod	<i>Alces</i> Gray, 1821 - los
druh	<i>Alces alces</i> (Linnaeus, 1758) - los
poddruh	<i>Alces alces alces</i> (Linnaeus, 1758) - los evropský

Dále se rozlišují ještě poddruhy *Alces alces americanus* Clinton, 1822 - los aljašský; *Alces alces cameloides* Milne-Edwards, 1867 - los mandžuský a *Alces alces pfitzenmayeri* Zukowsky, 1910 - los sibiřský.

(ANDĚRA, 2011)

2. 2 Popis losí zvěře

Pojmenování: samec – býk, samice – kráva, mládě - tele.

Průměrná výška v kohoutku: býk – 182 - 220 cm, kráva – 150 - 170 cm.

Průměrná délka těla: býk – 200 - 290 cm, kráva – 200 - 270 cm.

Los dosahuje hmotnosti až 500 kg z toho kůže 7 % a zvěřina asi 60 % z celkové hmotnosti těla (DZIECIOŁOWSKI A PIEŁOWSKI, 1975). Losice dosahuje hmotnosti 270 – 380 kg. Velký vliv na tělesnou hmotnost mají roční období, ve kterých se uplatňuje střídání teplot od silných mrazů po vyšší plusové hodnoty. Stále působící chladnější klima má kladný vliv na tělesnou hmotnost. I samotná výše sněhové pokrývky a počet dní, které se udrží na povrchu, ovlivňuje tělesnou hmotnost losa. Kromě uvedeného činitele může mít kladný vliv na hmotnost zvěře věk, kvalitní výživa (úrodnost půd, v lese pak zastoupení okusových dřevin) a samozřejmě při zhoršeném zdravotním stavu se projevuje větší náchylnost na parazity, čímž dosahuje zvěř nižší hmotnosti. Hmotnost jedinců, kteří se vyskytují u nás, lze zjistit pouze z nalezených úhynů. VRANÝ (1994) uvádí hmotnost pětiletého samce 370 kg po vyvržení. HROMAS A KOL. (2000) uvádějí, že los dosahuje 350 – 450 kg a losice asi 300 – 350 kg. Tělo je poměrně krátké s převýšením v kohoutku, na vysokých bězích. Hlava se vyznačuje převislým horním pyskem, krk kožovitým lalokem a kelka je dlouhá 10-15 cm. Spárky jsou hluboce rozeklané a spojené roztažitelnou blanou, což umožňuje losovi pohyb po zamokřelé a bažinaté půdě. Nejvhodnějším životním prostředím jsou pro něj rozsáhlé lesy prostoupené rašeliništi, močály a jezery.

Losíče se rodí s 20 zuby mléčného chrupu. Chybí mu všechny stoličky. Tento mléčný chrup začíná nahrazovat v osmi měsících stáří a zároveň mu dorůstají stoličky. Úplný chrup je utvořen nejpозději ve stáří dvaceti měsíců a má vzorec 0033/3133. (KOSTEČKA, 1997)

2. 3 Biologie losí zvěře

Potrava

Los je z hlediska potravní specializace typickým okusovačem, který je přizpůsoben k příjmu potravy bohaté na koncentrované živiny. Tuto potravu získává především z mladých letorostů listnatých dřevin. HROMAS A KOL. (2000) uvádějí, že vyhledává především měkké listnáče jako vrby, topoly, břízy, olše aj., různé keře, vřes, ale také vodní rostliny při plování a potápění. HEPTNER A NASIMOVIC (1967) a JORDON (1987) poukazují také na možnost dominance mokřadní a vodní vegetace v potravní složce

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod

losa, avšak za předpokladu, že se v místech jeho pobytu nachází vydatné zdroje s touto potravou. Nízkou trávu nespásá, neboť ji nemůže uchopit horním pyskem. K trávení hrubé vlákniny není přizpůsoben, proto v jeho potravě zpravidla chybí traviny (HOFMANN, 1989). Jeho úzká potravní specializace spolu s potřebou značného množství potravy jsou příčinou jeho obtížného přežívání v kulturní krajině.

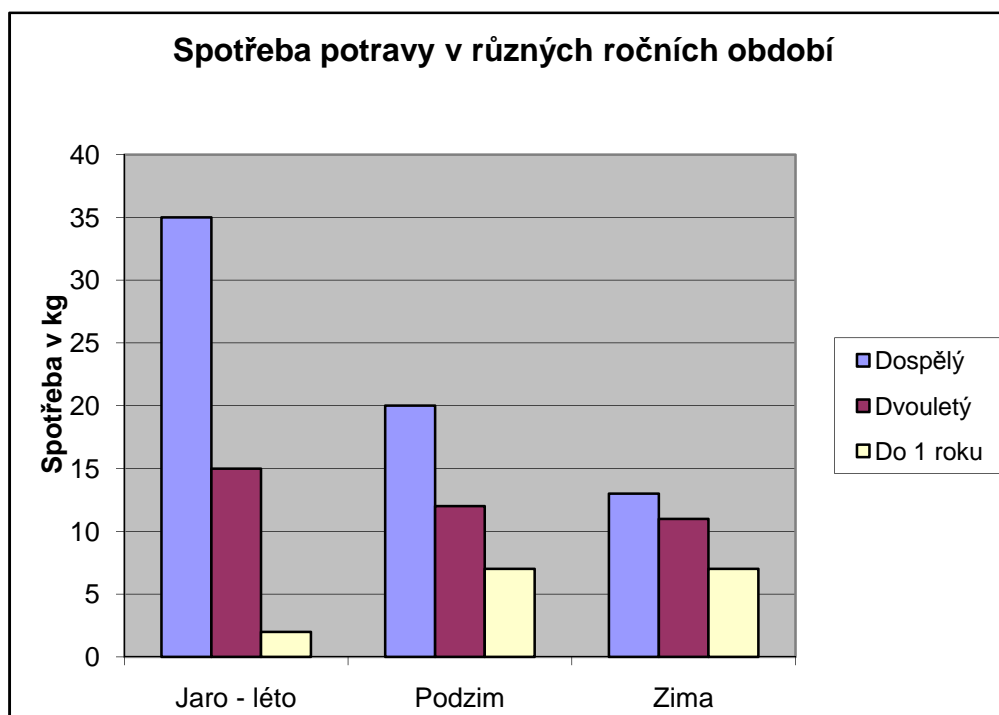
V severní a východní Evropě jsou pro losa nejvýznamnějším potravním zdrojem porosty vrby, topolu, jeřáb ptačí, na jaře bříza pýřitá a v zimě borovice lesní, jedle a jalovec obecný. Na jaře a na podzim konzumuje borůvku, brusinku a přes léto některé druhy z mokřadní vegetace. V zimě při nedostatku jiné potravy rád loupe kůru listnatých i jehličnatých dřevin. (TIMOFEJEVA, 1974; DZIECILOWSKI A PIELOWSKI, 1975; CEDERLUND ET AL., 1980; KOZLO, 1983)

Tab. č.1 Procentické zastoupení jednotlivých dřevin konzumovaných losy v jiných částech Evropy za jednotlivá období. (KOSTEČKA, 1997)

Druh	% dřeviny a keře				
	Jaro	Léto	Podzim	Zima	Rok
Vrby	6,3	14,2	52,9	24,4	24,9
Osika	6,7	14,4	16	20,1	17,8
Borovice			1,3	22,3	15,6
Jalovec			2,4	13,7	9,8
Bříza	23,4	12,8	5,7	4,7	7,3
Jeřáb	6,2	4,1	2,4	5,3	4,9
Olše	0,1	2	1,5	4,8	3,7
Krušina		0,5	1,6	2,2	1,7
Ostatní	2,4	0,9	2	1,6	1,7
Celkem	45,1	48,9	85,8	99,1	87,4
% travin a polokeřů					
Byliny	29,7	20,8	5,9	0,2	5,8
Rusnicovité	4,2	0,1	0,1	0,4	0,7
Ostatní	3,7	0,3	0,2	0,1	0,4
Celkem	54,9	51,1	14,2	0,9	12,6

Potravní nabídka a dostatek vhodné potravy je bezesporu jedním z limitujících faktorů, který výrazně omezuje distribuci losa v daném prostředí. Na velkém území naší republiky se větší porosty atraktivních okusových dřevin, které jsou nezbytným předpokladem pro život losa, vyskytují jen výjimečně. Bez dostatečných zásob letorostů vhodných druhů dřevin nemůže los v prostředí trvale přežít. Ostatní zdroje potravy jsou méně významné a tvoří jen doplněk nebo více či méně vhodnou náhražku jeho potravy. (HOMOLKA, HEROLDOVÁ, 1997)

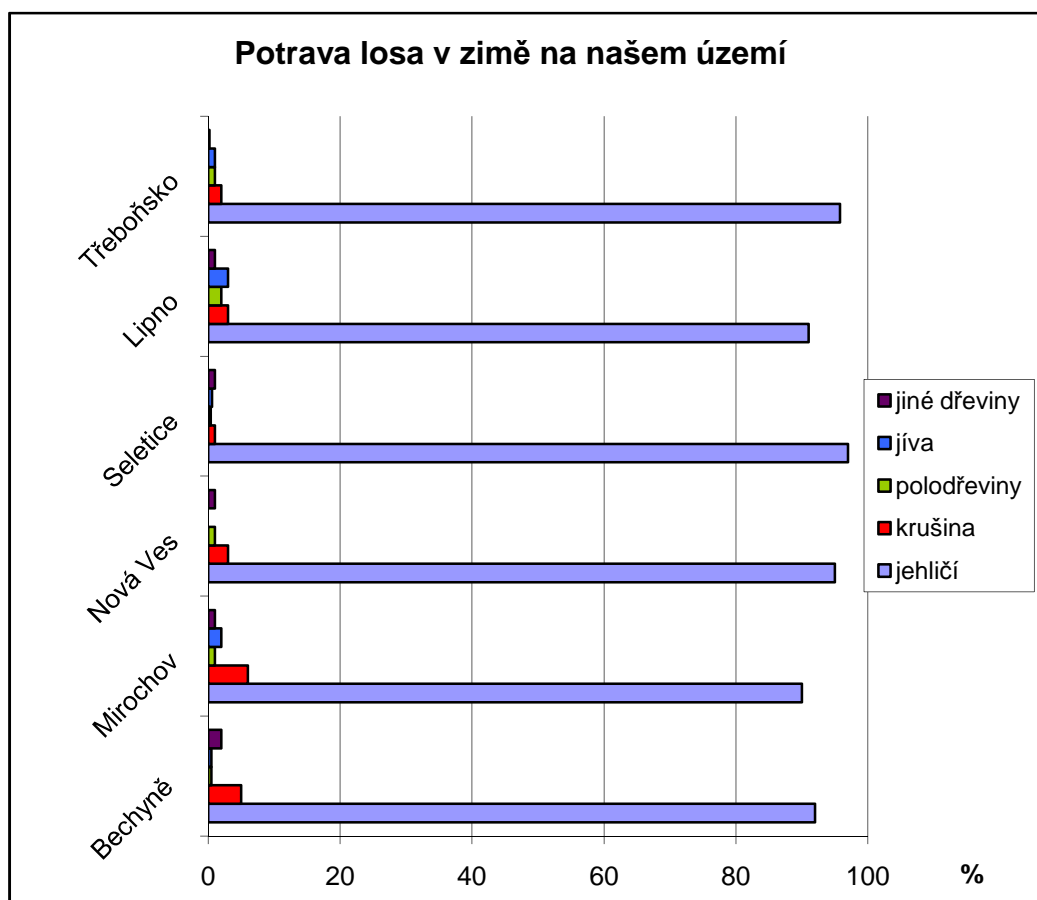
Spotřeba potravy je rovněž různá podle pohlaví. V zimním období samci přijímají potravu méně intenzivně než losice. Množství spotřebované potravy je přímo závislé na průběhu zimy. V zimním období s vysokou sněhovou příkrývkou a tuhými mrazy se losi pohybují velmi málo a spotřeba potravy klesá. Je to dáno také tím, že se los v takto nepříznivých podmínkách nerad pohybuje na delší vzdálenosti. (HOMOLKA, HEROLDOVÁ, 1997)



Obr. č. 1 Spotřeba potravy losem v různých ročních obdobích dle KOSTEČKY (1997)

Na základě studií HOMOLKY A HEROLDOVÉ (1997) obsahovala v zimě potrava losa z Bechyňska, Jindřichohradecka (Mirochov, Nová Ves), Nymburska (Seletice), Lipna a Třeboňska více než 90% objemu jehličí borovice, z čehož vyplývá, že je borovice hlavní potravou losa v zimním období v ČR. Na Třeboňsku byla potravní nabídka losa zkoumána v oblasti na jihu a východě ohraničené Staňkovským rybníkem, na severu

obcí Lásenice – sedlo a na západě spojnice Lásenice – Libořezy – Staňkov. Velikost potravní nabídky pro losa se na tomto území výrazně liší mezi letním a zimním obdobím. Zatímco v zimním období je postačující, protože borové mlaziny spolu s jednotlivými kotlíky a krušinovým podrostem poskytují dostatek pastvy, v letním období je nabídka chudá. Z okusových dřevin, mimo krušiny olšové, která běžně roste v podrostu v oblasti rašelinišť ve větší míře než jiné druhy, se zde jiné druhy nevyskytují. To je zřejmě důvod, proč se los v této oblasti zdržuje ve většině případů pouze v zimním období. V létě se přesouvá západněji do oblasti rybníků a mokřin, kde se nalézají místy rozsáhlé porosty vrby jívy a dalších druhů měkkých listnáčů. V porostu polí může sezónně využívat i některé zemědělské plodiny (mladé obilí, řepku, kukuřici). V zimním období je z dřevin nejintenzivněji využívána jedle a krušina. Borovice, která zde představuje pro losa nejvýznamnější zdroj potravy se zde vyskytuje v dostatečném množství, a proto je její okus relativně slabý.



Obr. č. 2 Potrava losa v zimě v zájmových lokalitách ČR dle HOMOLKY (2000); upraveno VESELÝM (2011)

Smysly

Losí čich je jedinečný. Sliznice s čichovými buňkami je v losím velkém čenichu o jednu čtvrtinu větší než list papíru A4, tj. celkově 800 cm². Znamená to, že je 200x větší než u člověka a 4x větší ve srovnání s německým ovčákem. Kromě toho má los speciální sliznici s čichovými buňkami nazývanou Jakobsonův orgán. Díky němu je schopen zachytit a rozpoznat molekuly extrémně slabých pachů, které uvolňují jeho predátoři, lidé nebo naopak losi v období říje. Los na útěku má proto ve zvyku točit se proti větru, aby tak minimalizoval riziko svého ohrožení.

Losí slechy jsou veliké a pohyblivé, což mu umožňuje vnímat zvuky najednou z několika stran. Je známo, že los slyší zvuky mimo dosah lidského sluchu až na vzdálenost 3 kilometrů. Paroží losího samce pravděpodobně zlepšuje jeho sluch i tím, že soustřeďuje zvuky a zesiluje slabé signály (touto problematikou se zabýval Bubeník, ale komplexní výsledky nebyly doposud publikovány).

Zrak je u losa nejméně vyvinutým smyslem. O losím zraku nemáme zatím mnoho dostupných vědeckých informací, nicméně spektrální citlivost je zřejmě podobná jako u člověka, tedy vidí barvy víceméně stejně, jako je vnímají lidé. Los má oči (světla) po obou stranách své lebky, má tedy široký úhel zorného pole, ovšem vzdálenosti odhaduje jen obtížně. Los vidí dobře, co se děje na zemi, avšak na vyšší místa dobře nevidí, neboť má své slepé skvrny. Z tohoto důvodu se vysoké posedy ukázaly být nejvýhodnějším pozorovacím nebo střeleckým stanovištěm. Není vzácností, když se los prochází hned vedle vysokého posedu, aniž by měl sebemenší tušení o přítomnosti člověka.

Rozmnožování

Losí zvěř patří mezi zvěř polygamní. To znamená, že po oplození jedné samice samec vyhledává a oplozuje další, která přišla do říje později. Nikdy však nemá celou tlupu jako třeba jelen, ale vždy se zdržuje pouze s jednou losicí po dobu její říje a rovněž nikdy nepečuje o své potomky. HROMAS A KOL. (2000) uvádějí délku říjnosti 4-6 dnů.

Říje probíhá nejčastěji v září a na těch místech, kde se losi vyskytovali na konci léta. Tedy na pasekách, okrajích lesů a vodních ploch. Velikost říjiště dospělých losů je 100 – 200 ha. Mladší losi nemají stálé říjiště a jsou z teritoria starších nemilosrdně zaháněni. Říje neprobíhá na jednom místě, ale losí pár se v obsazeném teritorium

pohybuje. V období říje jsou losi nesnášenliví a často mezi sebou bojují. Někdy dochází i ke zranění soka, k usmrcení méně často. Většinou mladší a slabší los rychle prchá.

HROMAS A KOL. (2000) uvádějí březost u losic v délce 35-38 týdnů. První losíčata se objevují již v měsíci dubnu. Nejvíce losícat se narodí v první polovině května. Losice kladou převážně jedno až dvě mlád'ata, mohou však být kladena i trojčata. Pohlavní dospělosti dosahují losíčata po dvou a půl roce (HROMAS A KOL., 2000).

Paroží

Paroží losů se vyskytuje pouze u samců, které vyrůstají z pučnic. Stejně jako u jelenovité zvěře s rozdílným uložením na lebce. Lodyhy vyrůstají z pučnic, sedí nízko na lebce. Zpočátku svírají s osou lebky pravý úhel a později se svými konci stáčí vzhůru. Ve věku 3-4 měsíců se na čelních kostech losičete samčího pohlaví začínají tvořit pučnice. U pětiměsíčního mláděte jsou tvořeny chomáčky delších chlupů. Avšak teprve v květnu následujícího roku nasazují první paroží. Má většinou tvar špičáka, ale může se objevit rovnou i vidlák nebo šesterák. První paroží bývá vytloukáno v září. Druhé paroží vyrůstá ve formě vidláka nebo šesteráka a lodyhy jsou větší a masivnější než u paroží prvního. Na třetím paroží se již začínají vytvářet lopaty a to tak, že se přední a zadní vidlice lopatovitě rozšiřují a prodlužují. Někteří losi však lopaty nevytvářejí. Je to projev určitého zakolísání či odchylky ve vývoji druhů, který se dnes prosazuje hlavně u evropských losů. Paroží těchto losů, které nazýváme bidlovitým, může zůstat na stupni vidlic nebo se může ještě dále větvit. Avšak více než dvanáct výsad nemívají. Názorů na to, proč je utvářen tento typ paroží, existuje několik. Jeden hovoří o dědičnosti, další o vlivu prostředí a výživných podmínkách. Z pohledu kvality trofeje nelze v současné době považovat tento typ paroží za vadný, pokud dosahuje dostatečné velikosti a hmotnosti. Losi, kteří nosí takovéto paroží, nazýváme špičáky, vidláky, šesteráky a tak dále. Oba typy paroží lze hodnotit mezinárodní hodnotitelskou metodou C.I.C., která byla schválena v Paříži v roce 1976. Nejmohutnější paroží nasazují samci ve stáří od osmi do dvanácti let. Růst nového paroží a jeho shazování je rozdílný dle zeměpisných šířek, kde los žije. Čím se jedinec vyskytuje severněji, tím později nasazuje a shazuje paroží. Rovněž mladší jedinci nasazují a vytloukají později než starší. V našich podmínkách podle pozorování losů na Jindřichohradecku a v okolí Vítkova kamene na Šumavě shazují losi v listopadu až lednu a vytloukají od července do srpna. Vytlučené paroží nosí oproti jiným jelenovitým krátkou dobu, v průměru čtyři měsíce. (KOSTEČKA, 1997)

HROMAS A KOL. (2000) uvádějí shazování paroží u dospělého losa již koncem října až počátkem listopadu.

2.4 Škody způsobené losem

Na základě studií HOMOLKY A HEROLDOVÉ (1997) patří los k potravním specialistům, jehož stravu tvoří v průběhu celého roku převážně dřeviny, přičemž lze předpokládat, že má na keřové patro určitý vliv. V oblastech s vysokou populační hustotou a nevyrovnanou potravní nabídkou může působit značné škody, což uvádí řada autorů, např. PŘIBAL A MOTTL (1981), KUZNICOV (1983) a LAVSUND (1987). Poškození dřevin spočívá dle HOMOLKY A HEROLDOVÉ (1997) v silném okusu letorostů keřů, mladých stromků nebo loupání jejich kůry. Letorosty jsou obvykle okusovány ve výšce 1 – 2,5 m. Preferované okusové dřeviny jsou vrby, osika, jeřáb, borovice a jedle. U nás je dopad okusu losa na vegetaci rozdílný podle místních podmínek. V letním období je možné označit jeho vliv na dřeviny za zanedbatelný. Významnější vliv na vegetaci má los v zimním období, kdy nemůže konzumovat druhy rostlin z bylinného patra ani listů z keřů, a proto intenzivně spásá letorosty dřevin, především jejich distální části, kde se nachází nejvíce živin a proporce mezi využitelnou částí a nestravitelnou dřevnatou složkou je nejpříznivější. Tomu odpovídá i jimi zjištěná síla letorostů, které los konzumoval v oblasti Lipna. U borovice lesní se pohybovala tloušťka v průměru okolo 4,5 mm, u jedle 3,7 mm, jívy a krušiny okolo 2,9 mm a jeřábu 4,4 mm. Většina z letorostů nebyla okusována celá a měla možnost v následujícím roce znovu vyrašit. Při okusu borovice dával los přednost jemným letorostům na větvích starých stromů, před spásáním silných letorostů na mladých kulturách, kde místy z terminálních výhonů obíral pouze jehličí.

Mezi nejčastěji poškozované dřeviny losem na našem území pak HOMOLKA A HEROLDOVÁ (1997) řadí jedlí bělokorou (*Abies alba*) a jedlí obrovskou (*Abies grandis*), které jsou poškozovány okusem i loupáním. K nejvýznamnějším zimním potravním složkám losa pak řadí borovici lesní (*Pinus sylvestris*) a naopak k okrajovým druhům smrk ztepilý (*Picea abies*), duby (*Quercus spp.*) a buk lesní (*Fagus sylvestris*). Pokud se jedná o okus jeřábu ptačího (*Sorbus acuparia*), prováděli výzkum na Jindřichohradecku, kde v potravě losa zjistili jeho zastoupení v průběhu celého roku, ale ne v příliš velkém množství, protože jeho zastoupení v nabídce je relativně nízké. Poněkud horší situaci zjistili v případě starších stromů, na kterých los intenzivně loupal kůru. Bříza pýřitá (*Betula pubescens*) může, dle jejich názoru, tvořit v jarním období

významnější složku potravy losa, ale celkově patří k druhům obecně spíše opomíjeným. Z jejich studie dále vyplývá, že vrba jíva (*Salix caprea*) patří na Lipně i na Jindřichohradecku k nejdůležitějším druhům v potravní nabídce losa a ihned po ní řadí jeřáb ptačí a pak krušinu olšovou (*Frangula alnus*). V jejich zájmových oblastech se jasan (*Fraxinus*) a javor (*Acer*) vyskytovaly v malém množství, proto nemohli množství škod na těchto dřevinách objektivně hodnotit, přestože jsou ve východní Evropě ve velkém množství vyhledávány.

Podle HOMOLKY A HEROLDOVÉ (1997) škody na hospodářských dřevinách z pravidla vznikají v oblastech, kde dosahuje los vysokých populačních hustot (5 a více kusů na 100 hektarů) a také tam, kde je málo potravy a dochází ke koncentraci na omezeném prostoru. V období jejich studií však k takové situaci u nás nedošlo a konstatují, že je poškození lesních porostů v celku malé. Podle HOMOLKY ET AL. (1996) byly tehdy největší škody vyčísleny na území lesní správy Vyšší Brod, kde za posledních 5 let dosáhly výše 36 tisíc korun a na Nymbursku 15 tisíc korun. V prvním případě se jednalo o okus a loupání na jedlovém a jasanovém porostu, ve druhém byla zničena borová kultura. Přestože v ostatních oblastech s vyšší frekvencí výskytu losa (Jindřichohradecko, Třeboňsko) byly škody zaznamenány, konkrétní vyčíslení nebylo provedeno. Poškozené stromy byly odklizeny při prořezávkách. Vliv na bylinnou vegetaci je zcela zanedbatelný. Závěrem k tomuto tématu konstatují HOMOLKA A HEROLDOVÁ (1997), že za více než 30 let existence losí zvěře v naší zemi nepřesáhly škody na lesních porostech přisouzené losu částku 100 000 Kč a nespátřují riziko zatížení státního rozpočtu za škody jím způsobené.

2.5 Vývoj početních stavů losa v Evropě

Ve střední Evropě byl los evropský vyhuben během 16. století. KOSTEČKA (1997) uvádí, že opětovné rozšiřování jeho areálu pokračovalo až do první světové války, během níž došlo, zejména vlivem pytláctví, opět k drastickému poklesu stavů např. Polsko r. 1914 – stav 3000 ks, r. 1918 – 50 ks, Litva r. 1914 – stav 1000 až 1200 ks, r. 1920 – 25 ks. Koncem 20. a 30. letech 20. století došlo k opětovnému zvýšení stavů v Evropě. Následný pokles stavů začal opět během druhé světové války, což zapříčinilo pytláctví a nárůst stavů vlků. Například v Polsku přežilo druhou světovou válku jen 18 kusů losů. Od konce 40. let 20. stol. však byl zaznamenán velký vzestup stavů losů a jejich rozšiřování na nových územích např. ve Skandinávii, Polsku, Pobaltí, Bělorusku, Ukrajině a Moldávii. Ke zvýšení početnosti losa v Evropě po II. světové

válce přispěla nejen jeho důsledná ochrana, ale také změny ve způsobu lesního hospodářství. S rozvojem velkoplošných holosečí zarůstali vytěžené plochy pionýrskými dřevinami. Početnost losa se např. v Polsku zvýšila od 40. let do počátku 80. let 20. stol. z 18 jedinců na 6200, v Litvě z 91 na 9900 ks, v Bělorusku z 600 na 29000 ks. Nárůst početnosti populace byl ukončen v 70. a 80. letech 20. stol. především v důsledku zvýšeného lovu. Na řadě míst početnost poklesla v důsledku narůstání početnosti jelena evropského. Po rozpadu Sovětského svazu v průběhu 90. let 20. stol. došlo v Pobaltských republikách i Bělorusku k destrukci myslivosti a populace losa byla značně zdecimována pytláctvím (HOMOLKA, HEROLDOVÁ, 1997). Tito autoři dále poukazují populační explozi v Polsku v letech 1950 – 1960, která byla nejvýznamnější z pohledu výskytu losa na našem území. Polská populace losa se silně zvětšovala a většinou mladí jedinci začali hledat nová teritoria, migrovali až do tehdejšího Československa a dále do Rakouska, Německa, Dánska a Maďarska.

2.6 Historie výskytu losí zvěře na území Čech a Moravy

KOTHERA (2007) uvádí, že patrně nejstarší zmínkou o lovech na losy v našich západních hraničních horách „lesů hercynských“ popisuje již v prvním století našeho letopočtu C. Tacitus, který zároveň popisuje oblast dnešní Šumavy na českobavorském pomezí, jako krajinu doslova panenskou a divokou s neprostupnými pralesy, močály a rašeliništi. TICHÝ (1977) naopak popisuje, že byl poslední los v Českých zemích zastřelen roku 1570 poblíž města Děčína a od té doby nebyl výskyt losa na našem území zaznamenán.

Podle KOTHERY (2007) započal návrat losů do střední Evropy po druhé světové válce, přičemž veškerá populace této zvěře přicházela z Polska. Poprvé, téměř po 400 letech, byl opět los spatřen na našem území v říjnu roku 1957, kdy se mladý samec objevil v honitbách Němčí na Litoměřicku. Po roční potulce severočeskými revíry byl zastřelen 6. září 1958 u Nového Města v Krušných horách neukázněným lovcem, který si jej prý „spletl s jelenem“.

TICHÝ (1977) uvádí, že s tímto prvním pozorováním losa mezi Ústím nad Labem a Litoměřicemi byla započata migrace losa na našem území. Později byli další jedinci pozorováni na Českomoravské Vysočině, v Průhonicích u Prahy, u Kralup a i v dalších lokalitách po republice. Jejich výchozím místem pro migraci do České republiky byl pravděpodobně polský národní park nedaleko Varšavy, kam byli jedinci losa evropského vysazeni z východního Ruska, kde se přemnožili. Při náhodném výskytu

u nás byli především pozorováni mladí jedinci samčího pohlaví. Jejich výskyt na našem území uvádí většina zoologů v souvislosti s vyhledáváním samic v době říje, jak tomu nasvědčovala doba jejich pozorování. Postupem času se začali objevovat také samice i samice s mlád'aty.

TICHÝ (1977) dále popisuje, že se migrací losa ve střední Evropě v letech 1957 – 1966 blíže zabýval Briederman z akademie věd NDR, který uvádí, že v ČSSR v tomto období bylo pozorováno 7 převážně mladých losů. Z těchto výsledků dále vyplývalo, že u nás měli losi paroží obou typů, tj. bidlovité nebo lopatovité a v dalších letech začali po mladých kusech přicházet i starší jedinci obojího pohlaví.

Mezi roky 1967 – 1976 se snažil TICHÝ (1977) získat a zmapovat materiál o pozorování losa evropského na celém území Čech a Moravy.

- 1) 16. a 17. 2. 1968 byl pozorován los s bidlovitým parožím na Pardubicku, stáří odhadnuto na 2 roky. Pohyboval se směrem na Bašnici u Hořic a naposledy byl spatřen 29. 6. 1969 u Šubířova, kde se zdržoval delší dobu.
- 2) 4. 3. 1969 byl silný los pozorován u Přerova, stáří bylo odhadnuto na 12 let.
- 3) 4. 7. 1969 byl los spatřen při zdolávání řeky Moravy u Spytihněvi. Šlo o samce s mohutným parožím.
- 4) Na počátku srpna 1970 se zdržoval další silný los u Kamenice nad Lipou. 8. 8. 1970 byl spatřen u Českého Rudolce. Z našeho území přešel do Rakouska, brzy se však vrátil zpět a zde se k němu přidal další los.
- 5) 29. 9. 1971 byl pozorován čtyřletý los u Osoblahy. Den na to byl zastřelen. Parožím byl vidlák, v kohoutku měřil 180 cm, délka 265 cm, váha 400 kg.
- 6) 4. až 8. 12. 1971 byli u České Čeremné v okrese Náchod spatřeni los s losicí.
- 7) 19. 11. 1972 byl los spatřen u Jindřichova Hradce.
- 8) Bez bližších údajů byla v červenci 1972 pozorována losice ve chvojenských lesích nad Ústím nad Labem.
- 9) 19. 5. 1974 byl pozorován los s parožím osmeráka v okolí Pelhřimova.
- 10) Počátkem srpna 1974 byly pozorovány v Břežanech u Prahy dvě losice. Jedna z nich byla 3. 1. 1975 sražena vlakem.
- 11) 9. 9. až 8. 10. 1974 byla viděna losice u Domašova na okrese Olomouc.

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod

- 12) 30. 9. 1974 byla spatřena losice mezi Frýdlantem v Čechách a Novým Městem pod Smrkem.
- 13) 28. 7. 1974 mladý los s parožím špičáka se pohyboval v okolí Kutné Hory. Stopa měla rozměr 13 x 10 cm.
- 14) 21. 7. 1974 byl spatřen mladý los s parožím osmeráka u Kostelce nad Černými lesy. Jeho stopa měřila 14,5 x 11 cm.
- 15) 23. 9. 1975 se los zdržoval v okolí Nové Včelnice u Jindřichova Hradce.
- 16) Zář 1975 byla pozorována losice u Stožeče na Prachaticku.
- 17) 22. 9. 1975 se zdržoval mladý los se slabým parožím u Milíčova na okrese Náchod.
- 18) 12. 9. 1975 byla podána zpráva o výskytu losa a losice u Horní Plané. Oba kusy se zde zdržovaly asi 18 měsíců. Los měl paroží vidláka.
- 19) 29. 9. 1975 se mladý los pohyboval u Starého Města v okrese Frýdek - Místek. Tentýž kus byl později pozorován v Beskydech pod horou Ondřejník.
- 20) 24. 10. 1975 byla spatřena losice u České Vsi u Velkého Jeseníku. Stopa měla rozměr 17 x 11 cm.
- 21) 12. až 19. 3. 1976 byl zaznamenán výskyt mladého kusu bez určení pohlaví na Mladoboleslavsku.
- 22) 7. 6. 1976 v 10:00 hod. byla na poli u Lhoty pod Hoříčkami v okrese Česká Skalice viděna losice. Do Hoříček přišla od Ratibořic.
- 23) 24. 6. 1976 byly spatřeny dvě losice u obce Vyžice na Chrudimsku. Obě byly pozorovány delší dobu.
- 24) 4. 9. 1976 byla další losice spatřena u Tasova v okrese Třebíč.
- 25) 13. 10. 1976 byl los a losice bez bližšího udání pozorováni na Šumavě.
- 26) v roce 1976 byl spatřen los též u budovy SL v polesí Smědov na okrese Frýdlant

Celkem bylo v letech 1967 – 1976 na území ČSR pozorováno 32 kusů losí zvěře, z toho bylo 18 losů a 14 losic. Z výsledků pozorování je patrné výrazné zvýšení migrujících jedinců oproti předchozímu období, které zpracoval Briederman (1957-1966). Převážná část pozorování byla v období říje, což potvrzuje názor o vyhledávání

losic samci. Skutečnost, že v mnohých případech šlo o staré kusy, pak potvrzuje názor Bobrinského a Briedermana o osídlování nových teritorií.

KUCHYŇKA (1988) považuje 70. léta za průlomovou dobu, která se podílela na vzniku první stálé populace v oblasti Jindřichohradecka a Třeboňska. Tato oblast s nejstarším trvalým výskytem losa na našem území patří do území Třeboňské pánve. Je to oblast bažinatých lesů kolem Staré a Nové řeky (Lužnice), 5 – 8 km od Třeboně, tzn. rovné močálové dno Třeboňské pánve a jádro tehdy zřizované chráněné krajinné oblasti „Třeboňsko“. Vedle smrkových monokultur jsou tu časté borové, bukové a smíšené lesy s bohatým křovinným a bylinným podrostem. Během zimy losi téměř tyto porosty neopouštějí, pokud nemusejí. Toto území s nadmořskou výškou 430 – 550 m n. m. se nejvíce podobá podmínkám místům největšího rozšíření losů.

První mládě se zde narodilo v roce 1973 a od té doby se zde losi rozmnožují prakticky pravidelně. První losí dvojčata byla zjištěna v roce 1975. V letech 1974 – 1987 bylo v oblasti prokázáno 23 narozených losích mláďat. Na podzim 1979 zde byla výjimečně pozorována devítičlenná tlupa. V roce 1980 byl odhadován stav losů na Třeboňsku 10 – 15 jedinců, na konci 80. let byl odhadován stav losů kolem 10 ks. V širší oblasti (okres Jindřichův Hradec) se v té době pohybovalo 20 – 30 losů (HOMOLKA ET AL., 1995). Z dostupných informací je patrné, že populace losa v této oblasti výrazně nenarůstá, naopak se spíše snižuje. Důvodem je to, že odrostlá mláďata odcházejí z místa svého narození a hledají si vhodná stanoviště v širším okolí. V letním období se losi přesouvají západněji do mokřin okolo Nové řeky a mezi rybníky, kde byli také náhodně pozorováni. Na podzim a v zimě se opět vracejí do lesních komplexů okolo Mirochova.

Na pravém břehu Lipenské nádrže byl zaznamenán výskyt mladé losice a losičete koncem roku 1970 a v letech 1983 až 1987 zde byli pozorováni býk a kráva. V roce 1994 zaznamenal Hanzal z pozorování místních lesníků první počty losů, odhad byl 15 jedinců.

Po odstranění zátarasů na hranicích los migruje do Rakouska, kde je loven a v důsledku tohoto došlo k úbytku jeho početnosti na našem území. V roce 1991 byly zastřeleny dva kusy v oblasti Litchau. Los se postupem dvou let stáhl a mimo pohraniční oblast se již nevyskytuje. Další snížení početnosti losa (nebo zdánlivé snížení početnosti) v oblasti prvního výskytu může souviset s počátkem těžby rašeliny právě v severní části Příbrazského rašeliníště, které bývalo od samého počátku centrem místní populace. Na tomto území se vyskytovalo v letech 1994 – 1995 okolo 8 jedinců

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod

(dva dospělí samci, dvě samice s mláďaty a jeden až dva neidentifikované kusy). Losí zvěř se rozdělila do většího území až do Rakouska, takže unikají větší pozornosti a setkání nebývá tak časté. Dalším negativním faktorem úbytku jsou časté dopravní nehody s auty a vlaky. Většina místních znalců, ale tvrdí, že losí zvěře ubylo. Předpokládá se, že v prostoru mezi Třeboní, Suchdolem nad Lužnicí a Novou Bystřicí se stabilně vyskytuje okolo 10 jedinců losa, kteří jednotlivé části tohoto porostu využívají podle momentálních podmínek. (HOMOLKA ET AL., 1996).

V následující tabulce jsou uvedeny početní stavy losů v období 1974 až 2006 na základě mapování KOSTEČKY (1999) a podle statistiky ČSÚ od roku 1989.

Tab. č. 2 Početní stavy losů v ČR dle KOSTEČKY (1999) a ČSÚ od roku 1989 do 2006.

Výskyt losa evropského v našich oblastech							
Rok	JKS	Rok	JKS	Rok	JKS	Rok	JKS
1974	10	1984	8	1991	22	2000	21
1975	5	1985	35	1994	13	2001	24
1977	10	1986	7	1995	24	2003	26
1978	3	1987	8	1996	20	2004	52
1979	4	1988	15	1997	60	2005	30
1980	17	1989	25	1998	21	2006	29
1983	13	1990	22	1999	33		

Od roku 1986 - 2008 monitorují a zapisují pohyb losa v oblasti kolem Jindřichova Hradce také místní lesníci.

Pozorování losí zvěře na Jindřichohradecku:

- 1) 23. 5. 1986 ve 21:10 hod. spatřen 1 los s parožím v lýčí, odhad věku na 3 až 4 roky
- 2) 25. 5. 1986 v 5:45 hod. viděna losice, odhad 3 roky
- 3) 28. 11. 1986 v 16:00 hod. pozorována losice
- 4) 6. 12. 1986 ve 20:00 hod. losice a jedno lůse
- 5) 23. 4. 1987 v 10:00 hod. los, losice a lůse
- 6) 24. 4. 1987 v 11:30 hod. losice a lůse

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod

- 7) 24. 11. 1987 v 15:00 hod. viděny 3 kusy, bez určení pohlaví
- 8) červen 1988 ve 20:00 hod. los s parožím v lýčí
- 9) červen 1988 ve 21:00 hod. spatřen los, losice a lůse
- 10) 4. 8. 1988 v 8:30 hod. losice, roční losice a lůse
- 11) 15. 12. 1988 v 8:00 hod. starý los s parožím lopatovitého tvaru
- 12) 5. 5. 1989 v 6:30 hod. mladý los
- 13) 19. 5. 1989 nalezena kostra staré losice
- 14) 6. 9. 1989 v 6:25 hod. losice, lůse
- 15) 18. 10. 1989 v 6:40 hod. mladý los
- 16) 10. 11. 1989 v 15:00 hod. nalezeny čerstvé stopy jednoho mladého kusu
- 17) 28. 12. 1989 ve 14:30 hod. losice a lůse
- 18) 3. 3. 1990 v 19:30 hod. los, losice, lůse
- 19) 5. 5. 1990 v 19:30 hod. los bez bližších údajů
- 20) 13. 9. 1990 ve 21:00 hod. asi 10 let starý los
- 21) 20. 9. 1990 v 18:00 hod. los, losice, lůse
- 22) 4. 11. 1990 v 16:40 hod. los
- 23) 12. 11. 1990 v 10:00 hod. nalezeny stopy losa
- 24) 8. 9. 1991 v 18:00 hod. los, losice a lůse
- 25) 15. 1. 1992 v 13:00 hod. los, losice a lůse
- 26) 11. 2. 1992 v 7:00 hod. los, losice a lůse
- 27) 7. 9. 1992 v 21:30 hod. los s parožím šesteráka
- 28) 4. 12. 1992 v 15:00 hod. los, losice a lůse
- 29) 10. 2. 1993 ve 20:00 hod. los bez dalších údajů
- 30) 8. 8. 1993 v 19:00 hod. los s parožím šesterák
- 31) konec května 1994 v 7:00 hod. losice a dvě lůsata
- 32) 17. 9. 1994 v 8:00 hod. losice a lůse
- 33) 28.10. 1994 16:00 hod. jedno lůse
- 34) 17. 11. 1994 v 11:00 hod. jedno lůse
- 35) 19. 11. 1994 jedna losice
- 36) konec listopadu 1994 v podvečer los, losice, lůse a loňské lůse
- 37) 24. 1. 1995 nalezeny od třech kusů stopy ve sněhu
- 38) 16. 4. 1995 ráno jeden los, dvě losice a jedno lůse
- 39) 26. 5. 1995 ve 20:30 hod. losice a lůse
- 40) 9. 1. 1996 v 9:00 hod. los, losice a lůse

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod

- 41) 26. 2. 1996 8:00 hod. losice a lůse
- 42) 7. 12. 1996 v 8:00 hod. los
- 43) 12. 12. 1996 nalezeny stopy od jednoho losa
- 44) 26. 2. 1997 v 7:00 hod. losice
- 45) 1. 11. 1998 v 19:00 hod. mladý los
- 46) 8. 2. 1999 v 8:30 hod. jeden kus bez určení pohlaví
- 47) 16. 2. 2000 po celý den viděn mladý los s lopatovitým parožím
- 48) 18. 5. 2000 v 14:00 hod. losice
- 49) začátek roku 2001 navečer jeden los

Za období 2002 – 2005 se bohužel nepodařilo získat informace o pozorování

- 50) 15. 5. 2006 večer losice
- 51) 12. 9. 2006 v 7:30 hod. los s parožím vidláka
- 52) 2. 10. 2008 v 14:30 hod. mladý los
- 53) 27. 10. 2008 v 8:30 hod. mladý los
- 54) 10. 11. 2008 v 7:00 hod. mladý los s parožím osmeráka

Dalšími údaji o výskytu losí zvěře jsou jednotlivá pozorování místních lesníků na LS Vojvírov za období 1986 – 1992.

- 1) 23. 5. 1986 ve 21:20 hod. los, paroží v lýčí, lokalita – Remíz – rybníčky
- 2) 25. 5. 1986 v 5:45 hod. losice, lokalita – Remíz
- 3) 28. 11. 1986 v 16:00 hod. losice, lokalita – Písečná
- 4) 6. 12. 1986 ve 20:00 hod. losice, lůse, lokalita – Písečná
- 5) 23. 4. 1987 v 10:00 hod. los, losice, lůse, lokalita – Hřebenová
- 6) 24. 4. 1987 v 11:30 hod. losice, lůse, lokalita – 74B1
- 7) 24. 11. 1987 v 15:00 hod. stopy 3ks losů, lokalita – 74B1 (místy lámána borovice na ploše cca 0,30 ha)
- 8) zima 1987/88 losice, dvě lůsata, los, lokalita – plochy kolem rašeliny, Kovářky, Valentky, Za T. Dvorem (místy lámána borovice a jedle, loupání /ohryz - jáva, olše, buk)
- 9) 13. 6. 1988 v 20:00 hod. los v lýčí, lokalita – 23B8
- 10) 18. 6. 1988 v 21:00 hod. los, losice, lůse, lokalita – kolem Příbrazského rybníka
- 11) 4. 8. 1988 v 8:30 hod. losice, roční losice, lůse, lokalita - Za Beránků
- 12) 15. 12. 1988 v 8:00 hod. starý los, velké lopaty, lokalita – Kršička

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod

- 13) 5. 5. 1989 v 6:30 hod. mladý los v lýčím, lokalita – Cihelny
- 14) 19. 5. 1989 nalezena kostra staré losice utopené v odvodňovací stoce, lokalita – 70D3
- 15) 6. 9. 1989 v 6:35 hod. losice, lůse lokalita – 68B1
- 16) 18. 10. 1989 v 6:40 hod. los, lokalita – BL rybník
- 17) 10. 11. 1989 v 15:30 hod. čerstvé stopy mladého losa, lokalita – Prant, 74A
- 18) 28. 12. 1989 v 14:30 hod. losice, lůse, lokalita – Za Beránků
- 19) 3. 3. 1990 v 11:00 hod. los, losice, lůse, lokalita – P-kříž, 27B1 (místy lámána jedle)
- 20) 5. 5. 1990 v 19:30 hod. los lokalita – Za Beránků
- 21) 13. 9. 1990 v 21:00 hod. los - desaterák, bidlovité paroží, lokalita – za Beránků
- 22) 20. 9. 1990 v 18:00 hod. los, losice, lůse, lokalita – Šikmá kazatelna
- 23) 4. 11. 1990 v 16:40 hod. los – desaterák, lokalita – Rašelina
- 24) 12. 11. 1990 v 10:00 hod. stopy losa, lokalita – st. Hranice s Rakouskem
- 25) 8. 9. 1991 v 18:00 hod. los, losice, lůse, lokalita – Královka
- 26) 17. 11. 1991 v 17:30 hod. los, losice, lůse, lokalita – Valentka u lizu
- 27) 15. 1. 1992 v 13:00 hod. los, losice, lůse, lokalita – cesta Královská 66C2
- 28) 11. 2. 1992 los, losice, lůse, lokalita – cesta Královská (lámání jedlových kotlíků)
- 29) 12. 2. 1992 los, losice, lůse (lámání jedlových kotlíků)
- 30) 13. 2. 1992 los, losice, lůse, lokalita – Rašelina

Dalšími údaji o výskytu losí zvěře jsou jednotlivá pozorování z území CHKO Třeboňsko za období od roku 1977 do září 1983.

- 1) 1977 losice, lůse a jeden los, lokalita – Příbraz
- 2) 1979 losice, dvě lůsata a jeden los + loňské mládě, lokalita – Příbraz
- 3) 1980 losice, dvě lůsata, mladá losice, los, lokalita – Příbraz
- 4) 12. 7. 1981 los, lokalita – Branná
- 5) 13. 6. a 1. 7. 1982 losice, lokalita – Domanín
- 6) 16. 6. 1982 stopy různého stáří, lokalita – Novořecké močály
- 7) 2. 12. 1982 stopy, lokalita – Stará řeka
- 8) celá zima 1982/83 nálezy stop a trusu v lokalitách – Modříč, Novořecké močály, Stará řeka

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod

- 9) červen 1983 nalezeny stopy
- 10) 1. polovina září 1983 losice, dvě lůsata
- 11) září 1983 viděn silný los, lokalita – Žofina Huť

Dalšími průkaznými pozorováními jsou údaje Anděry (2011), přičemž některé převzal na základě již výše uvedených hlášení:

- 1) 6. březen 2010, Lásenice, JH
- 2) 8. říjen 2010, Líně, PR Nový rybník, Plzeň-sever
- 3) 13. září 2009, Stříbřec, Nová řeka, cca 1 km pod Stříbřeckým mostem, přecházel řeku zleva do prava při pohledu po proudu. Čas pozorování v 07,30 hod., Jindřichův Hradec
- 4) 11. červenec 2009, Dolní Žďár, Horní Lhota, cyklostezka, Jindřichův Hradec
- 5) 7. duben 2009, Světlík, Bedřichov, CK
- 6) 19. duben 2008, Všetaty, Hřeben, který se táhne od Všetat směrem k Ovčárům., Mělník
- 7) leden 2002, Raspenava, Oldřichovské sedlo, les, silnice., Liberec
- 8) 21. duben 2006, Loučovice (bývalá obec Kapličky), PR Rašeliniště Kapličky, Český Krumlov

Pro úplnost informací ještě doplňujeme pozorování Ernsta v Krkonoších:

- 1) únor 1993 jeden kus losí zvěře v okolí Bystřice (Svoboda nad Úpou, okr. Trutnov)

3. METODIKA

3.1 Literární zdroje

Při sestavování literárního přehledu a částečně i výsledků byly informace čerpány ze studia odborné literatury nebo časopisů uvedených v seznamu literatury a ze zápisků pozorovatelů z lokalit LS Jindřichův Hradec, CHKO Třeboň, LS Vyšší Brod a Divize Horní Planá.

3.2 Mapování výskytu losa a škod losem

Monitoring výskytu losa probíhal na LS Vyšší Brod v období od 1. 9. 2008 do 14. 8. 2011 řešitelským týmem v nepravidelných intervalech. V období 2010/11 byl terénní průzkum směřován minimálně jeden do kvartálu se zvláštním zaměřením na období se sněhovou pokrývkou a měsíce květen až září. Při mapování výskytu losa byly dále využívány informace o jejich pozorování zaměstnanci LS Vyšší Brod, Divize Horní Planá, LS Jindřichův Hradec, LS Český Rudolec a společnosti Agrowald Rožmberk, s.r.o., místními obyvateli a také z informačních médií. Podklady o výskytu losů v Rakousku (okolí Schlägelu) a Německu (okolí Hauzenbergu) zajišťoval od zahraničních kolegů bývalý lesní správce LS Vyšší Brod p. Jan Märzl. Pro monitorování výskytu losa na území LS Vyšší Brod byl také sestaven dotazník s názvem „Monitoring losů v České republice“. Škody losem na LS Vyšší Brod byly monitorovány a vyhodnocovány především zaměstnanci LS, kteří zároveň spolupracovali při odběrech biologických vzorků pro genetické analýzy, jmenovitě Ing. R. Mičan, Ing. R. Kotrla, p. M. Kubišta, p. R. Perfol, p. J. Řepa a p. P. Řepa. Na jejich základě byla bývalým lesním správcem p. Janem Märtle a současným lesním správcem Ing. Martinem Honetschlägerem sumarizována a předána evidence škod způsobených losem za dané období. V průběhu řešení projektu zároveň probíhalo šetření škod losem (resp. části jeho potravního spektra) v terénu řešitelským týmem.

Ve druhé polovině období řešení projektu byly pro monitoring využívány také fotopasti, které byly instalovány na lokalitách s předchozím zjištěným výskytem losů v různých časových obdobích.

3.3 Odběr biologických vzorků a databanka

Odběr biologických vzorků pro následné analýzy DNA byl prováděn řešitelským kolektivem přímo v terénu po celé období řešení projektu, přičemž byl odebírán především trus losí zvěře, dále pak srst zachycená při procházení oplocenkami či z uhynulých jedinců a výjimečně také svalovina z uhynulých, ulovených nebo auty poražených kusů. Na sběru vzorků se také podílel personál LS Vyšší Brod a zahraniční partneři. Zcela mimořádně pak byly odebírány vzorky z kostních tkání z ulovených losů v zahraničí. V období 2010/11 byly zároveň odebírány vzorky trusu o vyšší početnosti jednotlivých bobků, u kterého bude do konce roku 2011 prováděno parazitologické vyšetření ve spolupráci s prof. Jiřím Lamkou (Univerzita Karlova v Praze - Farmaceutická fakulta v Hradci Králové) a prof. Ivo Pavlíkem (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.). Mimo srsti s chlupovými cibulkami a kostních tkání, které byly skladovány při teplotě do 24°C, byly veškeré biologické vzorky uskladněny v genobance na Ústavu ochrany lesů a myslivosti v hlubokomrazcím boxu při teplotě – 85°C. Metodiky odběru jsou uvedeny v příloze č. 1.

Při vytváření databanky losa evropského se vycházelo ze zkušeností získaných při tvorbě databáze bílých jelenů a kozy bezoárové chovaných u Lesy ČR, s.p. Databanka losa evropského je nachystána v souboru aplikace Microsoft Office Excel a obsahuje následující údaje – evidenční číslo jedince, datum, čas, lokalita, pohlaví, odhadované stáří, popis paroží, charakteristika pozorování, druh biologického vzorku, popis škod. Dále je možné ke každému jedinci připojit oskenovaný formulář „Monitoring losů v České republice“, fotografie nebo videozáznam. Zároveň je u každého kusu tabulka s jeho genetickou identifikací na základě mikrosatelitních analýz, tzv. identifikační karta. V současnosti není tato databáze umístěna na webových stránkách Lesy ČR, s.p., podobně jako databáze kozy bezoárové na LS Česká Lípa. Na základě konzultací s Ing. Greplem jsou důvodem úpravy těchto webových stránek, které by měly probíhat do 31. 8. 2011. Pokud však bude ze strany Lesy ČR, s.p. přetrvávat zájem o jejím umístění na webu, je toto předjednáno.

3.4 Molekulárně-genetické analýzy

Izolace DNA

Izolace DNA z trusu

Izolační podmínky tohoto protokolu jsou optimalizovány pro zvýšení poměru zvířecí DNA k cizí DNA. Jiná DNA se však tímto postupem nevyloučí.

Důležité body před zahájením izolace

- Všechny odstředovací kroky by měly být prováděny za pokojové teploty (15-25 ° C) při cca 14000 ot. / min. Pokud odstředivka nedosahuje požadovaných otáček, úměrně zvýšte odstředovací čas, (např. místo odstředování po dobu 5 min při cca 14000 ot. / min, odstřed'te po dobu 10 min při 7000 ot. / min).
- 2 ml zkumavky používané v kroku 4 by měl být dostatečně široké, aby do nich mohly být vloženy InhibitEX tablety.

Co je třeba před zahájením

- Ujistěte se, že pufr AW1 a AW2 byly připraveny podle pokynů na etiketách.
- Smíchejte všechny buffery před použitím.
- Pokud vznikla sraženina v pufru ASL nebo AL, rozpustí se inkubací při 70 ° C.
- Připravte termoblok na 70 ° C pro použití v kroku 11.

Postup:

1. Odvažte 180-220 mg trusu do 2 ml zkumavky (ependorfky - není součástí dodávky) a umístěte zkumavku na led.

Tento protokol je optimalizován pro použití 180-220 mg trusu, ale může být použito i menšího množství. Není však zapotřebí snižovat množství bufferů nebo InhibitEX tablet. U vzorků > 220 mg, využijte protokolu na izolaci z většího množství trusu. Pokud je vzorek kapalný, odpipetujte 200 µl do zkumavky. Malým zkrácením špičky na pipetě dojde k snadnějšímu nasátí vzorku.

Pokud je vzorek zmražený, použijte skalpel nebo špachtli na odlomení kousku trusu do 2 ml zkumavky na ledu.

Poznámka: Při použití zmražených vzorků trusů, hlídejte, aby vzorky nerozmrzly do přidání pufru ASL, který je přidáván v kroku 2 do vzorku, jinak DNA ve vzorku může částečně degradovat. Po přidání pufru ASL, mohou být další kroky prováděny při pokojové teplotě (15-25 ° C).

2. Přidejte 1.6 ml pufru ASL do každého vzorku trusu. Vortexujte nepřetržitě po dobu 1 minuty, nebo dokud není vzorek trusu důkladně homogenizován.

Poznámka: Je důležité, aby byl vzorek ve zkumavce dostatečně rozvířen, to pomáhá zajistit maximální koncentrace DNA v konečném eluátu.

3. Odstřed'te vzorky v plné rychlosti po dobu 1 minuty, až se usadí částice trusu.

4. Odpipetujte 1.4 ml supernatantu do nové 2 ml ependorfky a zlikvidujte pelety.

Poznámka: Používané 2 ml zkumavky by měly být dostatečně široké, aby do nich mohly být vloženy InhibitEX tablety.

Přepipetování malého množství granulovaného materiálu neovlivňuje další postup.

5. Přidejte jednu InhibitEX tabletu do každého vzorku, okamžitě a průběžně vortexujte po dobu 1 minuty, nebo dokud se tableta zcela nerozpustí. Inkubujte suspenzi po dobu 1 min. při pokojové teplotě, aby se inhibitory adsorbovali na tabletu InhibitEX.

6. Odstřed'te vzorek v plné rychlosti 3 min, aby se usadili pelety trusu, drobné částice a inhibitory, které jsou vázány na tabletu InhibitEX.

Poznámka: U většiny vzorků jsou 3 min odstřed'ování dostačující, s některými vzorky však odstřed'ování po dobu 3 minut vytvoří směs, která není dostatečně kompaktní, proto může být dost obtížné odpipetovat 600 μ l supernatantu, určenému k centrifugaci v dalším kroku (krok 9). V těchto případech odstřed'te vzorek 6 min.

Pro tento krok a krok 7 nezpracovávejte více než 12 vzorků najednou. To proto, že pelety vytvořené po centrifugaci se postupně rozejdou po zkumavce, pokud není supernatant neprodleně odstraněn.

7. Ihned po odstřed'ování odpipetujte všechny supernatanty do nové 1.5 ml eppendorfky (není součástí kitu) a zlikvidujte pelety. Odstřed'te vzorek v plné rychlosti po dobu 3 min.

Převedení malého množství granulovaného materiálu z kroku 6, nemá vliv na další postup.

8. Napipetujte 30 μ l proteinázy K do nové 2 ml zkumavky (není součástí dodávky).

9. Napipetujte 600 μ l supernatantu z kroku 7 do 2 ml zkumavky obsahující proteinázu K.

10. Přidejte 600 μ l pufru AL a vortexujte 15 s.

Poznámka: Nepřidávejte proteinázu K přímo do bufferu AL.

Je důležité, aby vzorek a buffer AL byly důkladně promíchány a vytvořily tak homogenní roztok.

11. Inkubujte směs při 70 ° C po dobu 10 min.

Krátce odstřed'te, aby se odstranily kapky zespod víčka.

12. Přidejte 600 μ l ethanolu (96-100%) a promíchejte vortexováním.

Krátce odstřed'te, aby se odstranily kapky zespod víčka.

13. Připravte si Spin kolonky (2 ml zkumavka s membránou) a sběrnou zkumavkou do stojánku. Opatrně do ní přepipetujte 600 μ l lyzátu z kroku 12, aniž byste se dotkli kroužku nad membránou. Zavřete víčko a odstřed'te v plné rychlosti po dobu 1 min.

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod

Vylijte obsah nebo vyměňte sběrnou zkumavku s filtrátem za novou. Vždy zavírejte každou spin kolonku, aby se zabránilo tvorbě aerosolu v průběhu odstředování. Pokud lyzát úplně neprošel membránou po centrifugaci, znovu jej odstředte, až bude spin kolonka prázdná.

14. Opatrně otevřete spin kolonku a přepipetujte dalších 600 µl lyzátu a odstředte stejným způsobem jako v kroku předchozím.

15. Opakujte krok 14 se třetím množstvím lyzátu.

16. Opatrně otevřete spin kolonku a přidejte 500 µl pufru AW1. Zavřete víčko a odstředte v plné rychlosti po dobu 1 min. Vylijte obsah nebo vyměňte sběrnou zkumavku s filtrátem za novou.

17. Opatrně otevřete spin kolonky a přidejte 500 µl pufru AW2. Zavřete víčko a odstředujte v plné rychlosti po dobu 3 min.

18. Doporučení: Vylijte sběrnou zkumavku s filtrátem a znovu odstředujte v maximálních otáčkách 1 min. Tento krok pomáhá eliminovat možnost případného přenosu AW2 do lyzátu.

19. Místo sběrné zkumavky dejte pod spin kolonku eppendorfku na konečný vzorek - lyzát. Pečlivě otevřete spin kolonky a přidejte 180 µl pufru AE a zavřete víčko. Inkubujte při pokojové teplotě (15-25 ° C) po dobu 1 minuty, a pak odstředujte v plné rychlosti po dobu 1 min.

Pro dlouhé období skladujte DNA při -20 ° C.

Izolace DNA z většího množství trusu

Postup:

1. Odvažte vzorek trusu a přidejte 10 množství bufferu ASL (např. přidejte 10 ml bufferu ASL do 1 g trusu). Vortexujte po dobu 1 min. dokud není vzorek úplně homogenizován.

2. Napipetujte 2 ml lyzátu do 2 ml zkumavky. Malým zkrácením špičky na pipetě dojde k snadnějšímu nasátí vzorku.

3. Pokračujte postupem běžné izolace od kroku 4 (viz předchozí postup)

Izolace DNA z chlupových cibulek a tkání

Tento protokol je určen pro získání celkové (genomové, mitochondriální a virové) DNA z chlupových cibulek a tkání.

Důležité body před zahájením

- Vzhledem ke zvýšenému objemu pufru AL, který je potřebný pro tento protokol, může nastat nedostatek tohoto pufru. Dodatečné množství AL lze objednat zvlášť.
- Všechny kroky při odstředování jsou prováděny při pokojové teplotě (15-25 ° C).

Co je třeba před zahájením

- Připravte termoblok na 56 ° C pro použití v kroku 3.
- nechte ustát buffer AE při pokojové teplotě - vymytí v kroku 10.
- Ujistěte se, že buffer AW1, buffer AW2 a proteináza byly připraveny podle pokynů.
- Pokud vznikla sraženina v pufru AL, rozpustí se inkubací při teplotě 56 ° C.

Postup:

1. Vložte rozmělněný vzorek do 2 ml zkumavky. Přidejte 600 µl PBS do vzorku.
 2. Přidejte 25 µl proteinázy K 600 µl bufferu AL ke vzorku. Vše vortexujte 15 s.
V zájmu zajištění účinného rozpadu, je nezbytné, aby vzorek, proteináza K a buffer AL byly smíšený okamžitě a důkladně.
- Poznámka: Nepřidávejte proteinázu K přímo do bufferu AL.
3. Inkubujte při teplotě 56 ° C po dobu 10 min., po skončení krátce odstředte, aby došlo k odstranění kapek zespod víčka.
 4. Přidejte 600 µl ethanolu (96-100%) do vzorku a důkladně zvortexujte. Posléze opět krátce odstředte, aby byly odstraněny kapky zespodu víčka.
 5. Opatrně přepipetujte cca 700 µl směsi z kroku 4 na do kolonky s membránou (2 ml zkumavka z kolekce) bez dotyku s kroužkem, který upevňuje membránu. Zavřete víčko a odstředte při 8500 ot. minimálně po dobu 1 min. Vylijte odstředěný filtrát ze sběrné zkumavky a vraťte ji zpět. Pokaždé zavírejte membránové kolonky, aby se zabránilo tvorbě aerosolu v průběhu odstředování.
 6. Opakujte krok 5 s použitím až 700 µl zbývající směsi z kroku 4.
 7. Opatrně otevřete QIAamp Mini spin kolony a přidejte 500 µl pufru AW1. Zavřete víčko a odstředte při 8500 ot. minimálně po dobu 1 min.
Vylijte nebo vyměňte sběrnou zkumavku s filtrátem za novou. Není nutné zvyšovat objem pufru AW1 pokud původní vzorek není větší než 200 µl.
 8. Opatrně otevřete QIAamp Mini spin kolony a přidejte 500 µl pufru AW2. Zavřete víčko a odstředte v plné rychlosti 13000 ot. minimálně po dobu 3 min.

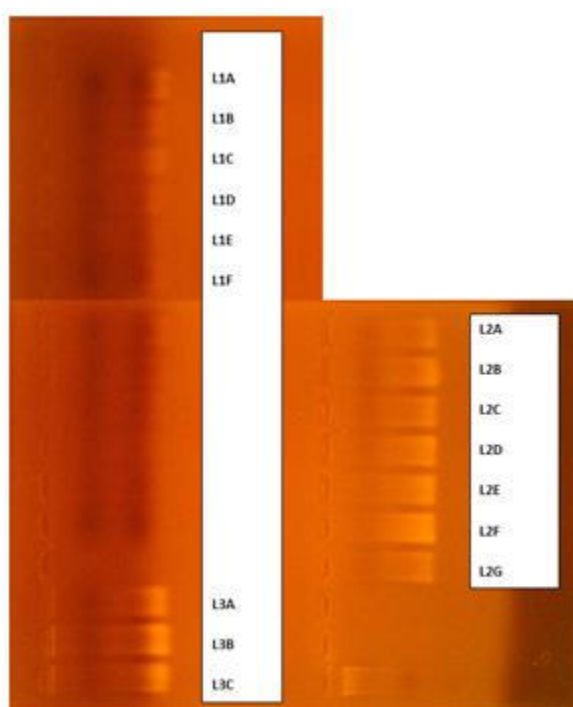
9. Doporučení: Vylíjete sběrnou zkumavku s filtrátem a znovu odstředíte v maximálních otáčkách 1 min. Tento krok napomáhá eliminovat možnost případného přenosu AW2 do lyzátu.

10. Místo sběrné zkumavky dejte pod spin kolonku označenou eppendorfku na konečný vzorek - lyzát. Pečlivě otevřete spin kolonky a přidejte 200 µl pufru AE. Inkubujte při pokojové teplotě (15-25 ° C) po dobu 1 minuty, a pak odstředíte při 8500 ot. minimálně po dobu 1 min.

Pro dlouhé období skladujte DNA při -20 ° C.

Kontrola kvality izolované DNA

Probíhá s využitím elektroforézy na 1 % agarózovém gelu (fa. Serva) obarveném ethidium bromidem (0,5 µg/ml, fa. BIO-RAD) a vizualizací izolované DNA v UV světle při napětí max. 5 V/cm. Elektroforéza probíhala při stejnosměrném elektrickém proudu o napětí 120 V po dobu cca 90 min. Množství nanášení genomové DNA bylo 20 µl a jako nanášecí pufr byl použit 6×Loading Dye Solution (fa. MBI Fermentas).



Obr. č. 3 Vizualizace izolované DNA ze srsti tří losů z LS Vyšší Brod (ozn. L1, L2 a L3) při optimalizaci způsobu izolace. (Pozn.: výřez z gelu)

Analýza mikrosatelitních sekvencí

PCR reakce probíhaly v cykleru „GeneAmp™ PCR System 9600“ (fa. Applied Biosystems, Perkin-Elmer) při celkovém objemu 5,4μl, obsahujícím 200μM každého dNTP, 2,5mM MgCl₂, 1,25U *Taq* polymerázy (Ampli *Taq* Gold™, Perkin-Elmer), 1× PCR buffer, cca 25ng/μl denaturované DNA a následujících mikrosatelitů: *BM888*, *BM1818*, *BM1824*, *BM2113*, *CSRM060*, *CSSM066*, *ETH3*, *ETH10*, *ETH225*, *ILSTS006*, *MGTG4B*, *SPS113*, *OarFCB193*, *OarFCB304*, *RM067*, *RM188*, *RT1*, *RT13*, *T26*, *T156*, *T193*, *T501*, *TGLA122*, *TGLA126*. PCR podmínky zahrnovaly krok počáteční denaturace 10 min při 95 °C, 30 cyklů po 95 °C/30 sec, 60 °C/30 sec, 72 °C/90 sec a finální extenzi 60 min při 72 °C. Ke standardizaci a obarvení byl použit FORMAMID a GS TAMRA 500 (fa. Applied Biosystems, Perkin-Elmer). PCR fragmenty byly denaturovány a separovány v sekvenátoru ABI 310 Genetic Analyzer (fa. Applied Biosystems, Perkin-Elmer) a jejich analýza proběhla na Genescan 2.1 a Genotyper 2.0 softwaru. Identifikace uvedenými mikrosatelity je v současnosti provedena u 42 odebraných vzorků z celkově odebraných 63 biologických vzorků. U 21 vzorků trusu se nepodařilo izolovat kvalitní DNA.

Ze všech výše uvedených mikrosatelitů jsou pro testování losů v České republice využitelné pouze mikrosatelity *BM888*, *OarFCB193*, *OarFCB304*, *RM188*, *T26* a *T501*.



Obr. č. 4 Genetický analyzátor – Výuková laboratoř molekulární biologie v lesnických disciplínách LDF MENDELU v Brně

4. VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1 Evidence

Databanka losa evropského byla vytvořena na základě zkušeností získaných při tvorbě databáze bílých jelenů a kozy bezoárové chovaných u Lesy ČR, s.p. a je nachystána v souboru aplikace Microsoft Office Excel. U každého analyzovaného biologického vzorku, tj. u každého předpokládaného kusu, nebo u každého pozorování je uvedeno evidenční číslo jedince, datum, čas, lokalita, pohlaví, odhadované stáří, popis paroží, charakteristika pozorování, druh biologického vzorku, popis škod. U některých pozorovaných jedinců je připojen oskenovaný formulář „Monitoring losů v České republice“ (viz příloha č. 2), fotografie nebo videozáznam. Dále je u každého kusu, kde byl odebrán biologický vzorek a izolována DNA, tabulka s jeho genetickou identifikací na základě mikrosatelitních analýz, tzv. identifikační karta. V současnosti není tato databáze umístěna na webových stránkách Lesy ČR, s.p., podobně jako databáze kozy bezoárové na LS Česká Lípa. Na základě konzultací s Ing. Greplem jsou důvodem úpravy těchto webových stránek, které by měly probíhat do 31. 8. 2011. Pokud však bude ze strany Lesy ČR, s.p. přetrvávat zájem o jejím umístění na webu, je toto předjednáno a reálně proveditelné.

4.2 Biologické vzorky

V současnosti je v DNA bance na Ústavu ochrany lesů a myslivosti LDF MZLU v Brně uskladněno 6 vzorků srsti, 5 vzorků svaloviny, 3 vzorky kostní tkáňe a 49 vzorků trusu losa evropského z oblasti LS Vyšší Brod, Jindřichohradecka i dalších oblastí jižních Čech, Turnova, ale také Rakouska a ze Švédska. Na počátku řešení projektu bylo z důvodu optimalizace metodiky izolace DNA testováno 20 vzorků losího trusu různého stáří ze ZOO Brno, které se však již v DNA bance nenacházejí, neboť byly zpracovány. Optimalizace metody izolace DNA z těchto vzorků byla prováděna měsíci lednu 2009, trus byl ponechán v přírodních podmínkách po různou časovou expozici (1; 2; 3; 5; 7; 10; 15; 20; 25; 30 dní). Pro získání DNA vhodné k mikrosatelitním analýzám prokázaly výsledky použitelnost trusu do stáří 20 dnů při těchto teplotních podmínkách.



Obr. č. 5 Čerstvý trus losa

4.3 Genetika

Z celkem 24 testovaných mikrosatelitních sekvencí bylo možné u studovaného vzorku losa evropského ($n = 42$) využít pouze 6 mikrosatelitů, z nichž 4 byly monomorfní (*BM888*, *OarFCB304*, *RM188* a *T501*) a pouze dva polymorfní (*OarFCB193* a *T26*). Z tohoto je již patrné, že veškeré vypočítané genetické ukazatele nemají statisticky průkaznou hodnotu. Přesto jsou některé výsledky zajímavé a mohou částečně poukázat na problematiku migrace losa evropského.

V prvním období řešení projektu (1. 9. 2008 – 6. 5. 2009) byla izolovaná DNA ze tří vzorků losa z LS Vyšší Brod podrobena mikrosatelitním analýzám, kdy byl vyzkoušen panel pro jelení zvěř, který má 9 lokusů (*BM888*, *OarFCB5*, *RM188*, *RT1*, *RT13*, *T26*, *T156*, *T193*, *T501*). Finální analýzy proběhly v dubnu 2009 na genetickém analyzátoru ve spolupráci s Ústavem morfologie, fyziologie a genetiky zvířat AF MENDELU v Brně. Z uvedených lokusů byly identifikovány alely pouze u čtyřech (*BM888*, *RM188*, *T26*, *T501*) a polymorfismus byl nalezen pouze u mikrosatelitu *T26*, kde se nacházely alely 326 a 338. Ostatní 3 lokusy se jevily jako monomorfní. V dalších obdobích řešení byl počet testovaných mikrosatelitů rozšířen na 24, avšak pro analýzy bylo zachováno pouze 6 výše uvedených.

Z přílohy č. 3 je patrné, že u mikrosatelitu *BM888* byla nalezena ve sledovaném vzorku z našeho území a příhraničních oblastí pouze alela 182. Ze závěrečné výzkumné zprávy projektu HUNDERTMARKA ET AL. (2000) vyplývají pro tento lokus poněkud

odlišné výsledky. Nalezli zde totiž polymorfismus, přičemž u 32 losů z oblasti Afognak Island (Alaska) zjistili 5 alel (180, 182, 188, 190 a 192) a ve skupině 13 jedinců z Olympic Peninsula (Washington) detekovali 3 alely (182, 190 a 192). Dále uvádějí, že jde o stejný počet alel pro tento lokus, který zjistil Coffin u západokanadské populace losů. Zde prezentované výsledky pro mikrosatelit *BM888* mohou tedy poukazovat na možnost vysoké příbuzenské plemenitby vlivem malého počtu jedinců v populaci. Zároveň by mohla losí populace vyskytující se v ČR pocházet z jedné oblasti a bylo by proto vhodné provést stejné analýzy v Polsku, které je považováno za původní oblast výskytu naší současné populace losa evropského. Může však jít také o genetickou odlišnost americké populace od evropské, což by musel potvrdit další výzkum. Využití tohoto mikrosatelitu pro testování losů na americkém kontinentu dokládá jeho zařazení do mikrosatelitního panelu (n = 12) pro DNA testování losů kanadskou forenzní biologickou laboratoří RPC. Řešení projektu však jeho využitelnost při testování příbuzenských vztahů losů v ČR neprokázalo. HUNDERTMARK (2009) využíval tohoto mikrosatelitu také při své studii snížení genetické diverzity u dvou introdukovaných a izolovaných populací losa na Aljašce.

V lokusu *OarFCB304* byla detekována alela 132, což je identický výsledek, který uvádí RØED (1998) při analýzách 22 jedinců losí zvěře pocházejících ze severního a jižního Norska.

Lokus *RM188* byl také monomorfní a nacházela se zde pouze alela 119. Výsledek však nebylo možné porovnat s dostupnými literárními zdroji, neboť tento mikrosatelit nebyl u losa jinými autory dosud zřejmě testován.

Podobná je situace pro lokus *T501*, kde byla zjištěna pouze alela 221.

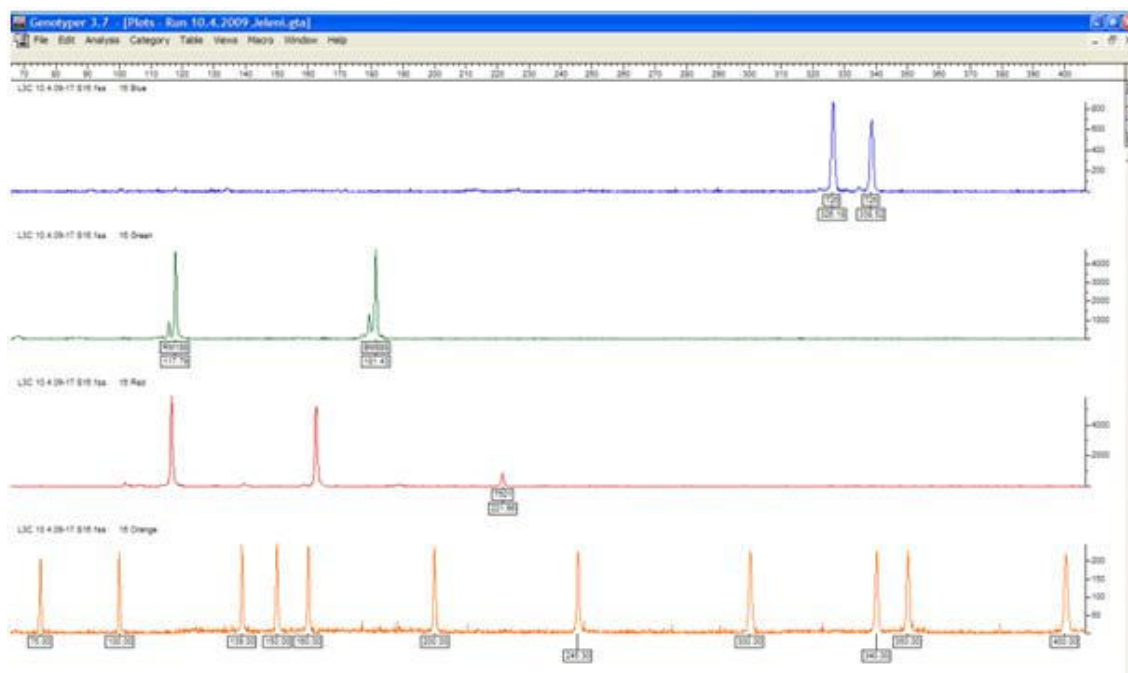
Jelikož u všech výše uvedených mikrosatelitů nebyl prokázán polymorfismus, nejeví se být vhodnými pro testování příbuzenských vztahů u losích populací na našem území a využitelnými k identifikaci jedince. Diskutabilní je však mikrosatelit *BM888*, který je na americkém kontinentu běžně využíván k testování. Na základě dostupných literárních zdrojů však dosud nebyl využit při DNA analýzách losí zvěře v Evropě, přičemž by bylo vhodné tento výzkum provést a výsledky následně porovnat. Opačně by bylo zajímavé provést srovnávací studie amerických populací losů u mikrosatelitu *OarFCB304*, což doposud zřejmě také nebylo provedeno a lokusů *RM188* a *T501* u amerických i evropských populací.

Pro zajímavost je také nutné doplnit, že se nám při základním testování na panelu pro jelení zvěř nepodařilo v lokusech *OarFCB5* a *RT1* identifikovat žádnou alelu. RØED

(1998) však zjistil u vzorku norské populace ($n = 22$) alelu 78 pro lokus *OarFCB5* a kanadská forenzní biologická laboratoř RPC využívá mikrosatelit *RT1*, kde jsme však také neidentifikovali žádnou alelu. WILSON ET AL. (1997) detekovali pro tento mikrosatelit u 11 losů dvě alely (232 a 234).

Polymorfním mikrosatelitem byl *OarFCB193*, u kterého jsme zjistili výskyt alel 96 a 100. RØED (1998) zjistil v tomto lokusu na vzorku norské populace ($n = 22$) celkem 8 alel v rozpětí 96 – 126. Tento mikrosatelit studoval u losů na Aljašce také HUNDERTMARK (2009), ale z jeho práce nelze vyčíst, které alely zjistil. Jeho využitelnost pro populační studie losů však dokládá také zařazení do mikrosatelitního panelu pro testování losů kanadskou forenzní biologickou laboratoří RPC.

Druhým polymorfním mikrosatelitem byl *T26*, kde byly nalezeny opět dvě alely (326 a 338). Na základě dostupné literatury nebylo možné tyto výsledky porovnat s jinými autory, kteří se zabývali studiem losích populací a výsledky pro losa se v tomto lokusu jeví jako prvotní.



Obr. č. 6 Ukázka výstupu z genetického analyzátoru - mikrosatelitní analýza losa evropského

Z výsledků zjištěných pro oba polymorfní lokusy, tj. z nízkého počtu nalezených alel (dvě na lokus), je patrná vysoká příbuznost české losí populace. Utvrzují v tom také výsledky u dalších mikrosatelitů, které byly monomorfní (jedna alela na lokus). Výstupy z této studie dále podporují hypotézu o původu naší současné populace

z Polska. Důvodem je především vysoký inbreeding v populaci, velmi nízká četnost observovaných alel, nízká heterozygotnost a genetická variabilita. Veškeré tyto genetické ukazatele vypovídají o malé početnosti jedinců vyskytujících se na našem území nebo o vzniku naší subpopulace z několika jedinců, kteří se zde usadili při migraci a hledání nových teritorií. K potvrzení je však do budoucna nutné provést mikrosatelitní analýzy u polské populace, což je rozjednáno s kolektivem prof. dr. hab. Romana Dziedzice (Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie).

Výsledky, které napovídají o možné přeshraniční migraci losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod se podařilo získat, jsou však neprůkazné, neboť není zajištěna spolehlivá identifikace jedince s přesností 99,99 %. U vzorků trusu č. 12 z dílce 318D byly pro lokus *OarFCB193* zjištěny alely 96 a 100 a pro *T26* pouze homozygotní genotyp 326/326. V ostatních sledovaných lokusech byla zjištěna vždy pouze jedna alela – *BM888* = 182, *OarFCB304* = 132, *RM188* = 119 a *T501* = 221. Mikrosatelitní analýzy vzorku trusu z Rakouska (č. 32) prokázaly výskyt stejných genotypů, jako u vzorku č. 12. Přestože jsou výsledky statisticky neprůkazné, mohlo jít o stejného jedince, neboť jsme při řešení projektu zjistili identickou kombinaci alel v jednotlivých lokusech (tj. identické genotypy) pouze u těchto dvou vzorků (viz příloha č. 3). Pro potvrzení této hypotézy by však bylo nutné provést další analýzu jiných polymorfních lokusů, abychom získali přesnost 99,99 %.

Na základě zjištěných genotypů jednotlivých lokusů lze konstatovat, že se studovaný vzorek losů skládal minimálně z 8 jedinců.

4.4 Výskyt losa evropského

1) Výskyt losa evropského v ČR za období řešení projektu:

V březnu 2009 zjištěn výskyt jednoho býka s losicí v okolí Stráže nad Nežárkou. Jednalo se o statnou losici tmavého až černého zbarvení. Biologické vzorky z těchto losů nejsou k dispozici.

Autonehoda – srážka s losicí, 7. dubna 2009 u Hodkovic nad Mohelkou, losice nepřezila. Vzorky srsti a svaloviny z tohoto losa jsou uloženy v DNA bance ÚOLM LDF MENDELU v Brně.

Losice s losíčetem prošla 22. 5. 2009 oborou Metlice (informaci podal p. Mártl a upřesnil Dr. Urbanec). Biologické vzorky z těchto losů nejsou k dispozici.

25. 5. 2009 pozorován ve večerních hodinách Doc. Hanzalem losí špičák u obce Lásenice. Biologické vzorky nebyly odebrány, ani vyhledávány, neboť se jednalo o náhodné zjištění z automobilu.

Losí býk (vidlák) se pásal v prosinci 2008 u obce Lásenice na poli se zasetou hořčicí společně se srnčí zvěří, byl vyfotografován kolegou Veselým a zdržoval se zde s přestávkami do ledna 2010 (v lednu 2009 pobýval cca 12 dní v okolí malého lesíku, kde se na delší dobu objevil opět v dubnu 2009 cca na 16 dní). Podle pobytových znaků a pozorování byla v létě jeho hlavní složkou potravy vodní vegetace, větvičky vrby, jeřábu, na okolních polích pak oves a kukuřice. Konzumoval také padaná jablka v sadě a v zimním období větvičky borovice, jedle, jeřábu a krušiny. Dosti často byla sloupána kůra na osikách, borovicích, jeřábu, který byl místy zcela zničen. Kolegou Veselým byly také zjištěny stopy v době nouze u jednoho krmelce pro spárkatou zvěř, kde se předkládalo seno a oves. Biologické vzorky jsou uskladněny v DNA bance.

Stopy losa pozorovány na lokalitě Zadní Zvonková v polovině července 2009. Biologické vzorky z tohoto losa nejsou k dispozici.

Počátkem září 2009 výskyt jednoho mladého losího býka severně od Kadolce. Vzorky trusu z tohoto losa jsou k dispozici.

V září 2009 pozorována u obce Lásenice losice s jedním mládětem. Biologické vzorky z těchto losů byly uskladněny v DNA bance.

3. 9. 2009 zjištěn prokazatelný výskyt losa (asi býk) v porostu 318D; nalezen čerstvý trus (jednotlivé bobky, hromádka 1×), stopy, stopní dráhy a čerstvý okus jeřábu, břízy a vrby. V porostu 320A2 (oplocenka JD) zjištěny pouze staré škody losem. Měkký trus (koláče 2×) a stopy losice s mládětem byly objeveny v porostech 318E11 a 324C3×5. Vzorky trusu z těchto jedinců jsou uloženy v DNA bance.

Autonehoda – srážka s losicí, 29. 9. 2009 u Českých Velenic, losice nepřežila (viz Příloha č. 12). Vzorek svaloviny z této losice zajistil p. Mártl a je uskladněn v hlubokomrazícím boxu DNA banky na ÚOLM.

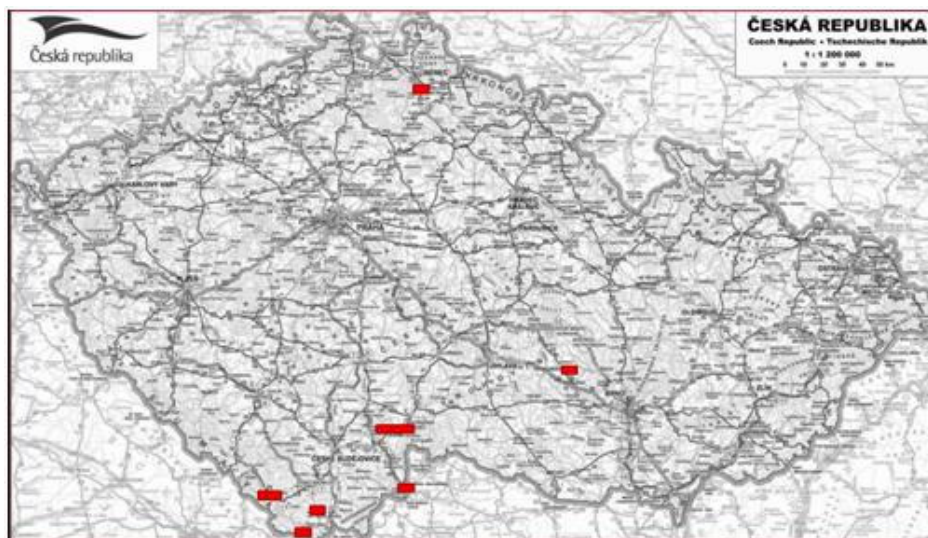
Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod



Obr. č. 7 Sražená losice u Českých Velenic

V okolí Přední Zvonkové a zaniklé obce Pestřice výskyt losice s losíčetem a jednoho býka v období prosinec 2009 až únor 2010. Biologické vzorky z těchto losů jsou uloženy v DNA bance.



Obr. č. 8 Výskyt losa evropského v roce 2009

Počátkem března 2010 zjištěn podle pobytových stop los v okolí Vlastkovce (pohlaví neurčeno; dospělý kus). Biologické vzorky z tohoto losa jsou k dispozici.

Na konci března 2010 pobývala jedna losice cca 3 týdny v blízkosti Račínské zátoky na Lipně – lokalita Borkoviště. Správa NP Šumava se bohužel bezvýsledně pokoušela o její imobilizaci z vrtulníku a následné nasazení GPS obojku pro monitoring jejího pohybu. Biologické vzorky z této losice nejsou k dispozici.

9. 4. 2010 sděleno p. Märtlem, že revírník p. Kubišta našel (8. 4. 2010) uhynulou dospělou losici se zbytky tkáně na kompletním skeletu v porostu 421 B 5b asi 150 metrů od státní hranice (prostor bývalé osady Mühldorf – Mlýnská, asi 1 km JZ od bývalé obce Kapličky). Zároveň udává výskyt škod způsobených losem na revíru Rožmberk, kde se pohybovala skupina 4 losů.

13. 4. 2010 pohyb dvou losů v porostu 410 F 8 (blíže nespecifikováno).

V měsících duben a počátkem května 2010 pozorován mladý býk (asi 4 letý) v okolí Lásenice, který se zde více méně zdržuje již od prosince 2008. Biologické vzorky z tohoto losa jsou k dispozici.

Červen 2010 starý trus (zřejmě z března 2010) u bývalé obce Kamenná nad rybníkem směrem ke státní hranici. Odhadem mohlo jít o 3 kusy.

Koncem srpna 2010 starší trus v porostech na levém břehu Staré hráze. Zřejmě šlo o jeden kus. Dále nalezen trus na rašeliništi Kapličky, zřejmě losice s losíčetem.

18. 8. 2010 v 10:20 pozorován los v oddělení 228 p. Janem Poláčkem.

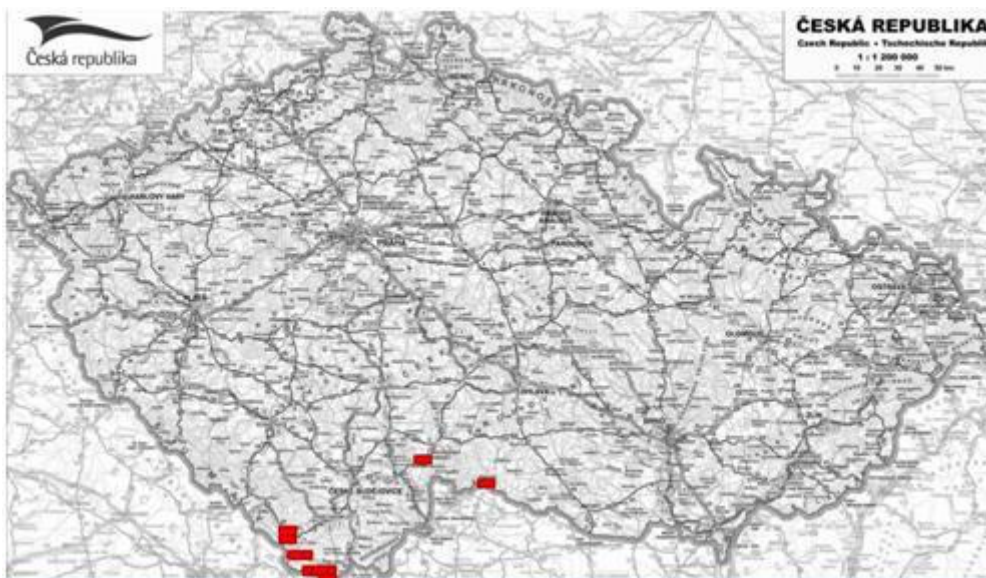
Září 2010 nalezen poměrně čerstvý trus na rašeliništi Kapličky, zřejmě jeden kus.

Říjen 2010 nalezen trus a stopy jednoho dospělého kusu na Hvězdné a starší trus v lokalitě Závora. Dále nalezen trus v lokalitě Malý Plešný a na Přední Zvonkové.

Listopad 2010 nalezen trus a jedna větší stopa na Svatém Tomáši.

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod



Obr. č. 9 Výskyt losa evropského v roce 2010

Únor 2011 velké množství trusu různého stáří na rašelinšti Kapličky, místy poškozena borovice na rašelinšti. Další velké množství trusu různého stáří nalezeno nad rybníkem u bývalé obce Kamenná.

Březen 2011 nalezen trus v okolí Staré hráze.

Červen 2011 nalezen starší trus západně od Kamenné.



Obr. č. 10 Výskyt losa evropského v roce 2011



Obr. č. 11 Typický biotop losa evropského na LS Vyšší Brod – lokalita Kamenná

2) Výskyt losa evropského v Rakousku a Německu za období řešení projektu (podkladový materiál od zahraničních kolegů zajistil p. Jan Mártl):

Dne 15. 5. 2009 byl z posedu lovcem pozorován los nedaleko českých hranic v revíru Sonnenwald am Rotbach (Rakousko), který měl zdravotní problémy. Tento jedinec měl evidentně podváhu, polehával na zemi, ze které se opakovaně pokoušel vstávat. Podle pobytových stop v okolí bylo zřejmé, že se zde zdržoval delší dobu. Vzhledem k jeho špatnému zdravotnímu stavu byl tento mladý los zastřelen. Po ohledání kusu nebyly zjištěny žádné vnější příčiny nějakého zranění, v hrtanu byli nalezeni střečci a v srsti kloši jelení. Jednalo se o losa starého něco málo přes rok, kterého revírník Hubert Katzlinger a p. Karl Zimmerhackl naložili pomocí zvedáku na automobilu a dopravili do chladničky kláštera Schlägl. Celková váha nevyvrženého kusu byla 97 kg, přičemž se v literatuře pro jednoletého losa uvádí živá hmotnost 109 kg. Los byl 18. 5. 2009 převezen k preparaci (provádí zoolog Stefan Weigl) do Biologického centra v Linci. Vypreparovaný los by měl být umístěn do Biologického centra na žádost starosty obce Aigen im Mühlkreis

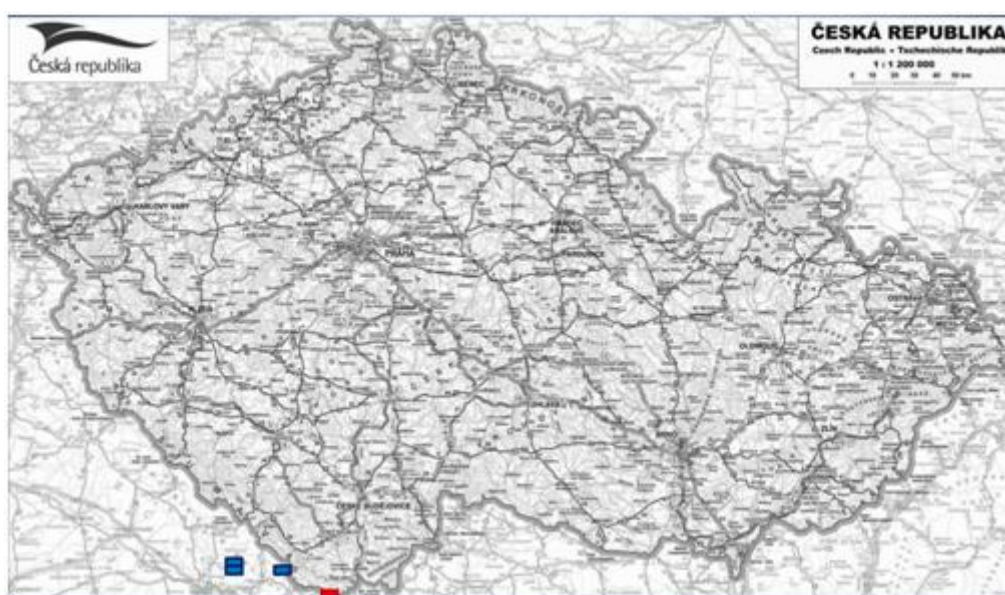
Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod

p. Hanse Petera. Vzorek tkáně z tohoto losa dopravil do ČR p. Jan Mártl a je dosud uložen v mrazáku na LS Vyšší Brod.

Dne 16. 5. 2009 v 6:00 hodin pozorována lovcem na čekané zřejmě losice (dospělá nebo roční; klidná, popocházející) ve vzdálenosti cca 800 m od posedu v oblasti Kainzöd (okres Passau, Německo).

Dne 16. 5. 2009 ve 12:00 hodin byl místním zemědělcem pozorován utíkající a zřejmě mladý los (pohlaví neurčeno, asi losí šmola; bez paroží) v okolí obce Jahrdorf (okres Passau, Německo) na vzdálenost 100 m. Biologické vzorky z tohoto losa nejsou k dispozici.



Obr. č. 12 Výskyt losa evropského v Německu; rok 2009 (modře), 2010 (červeně)

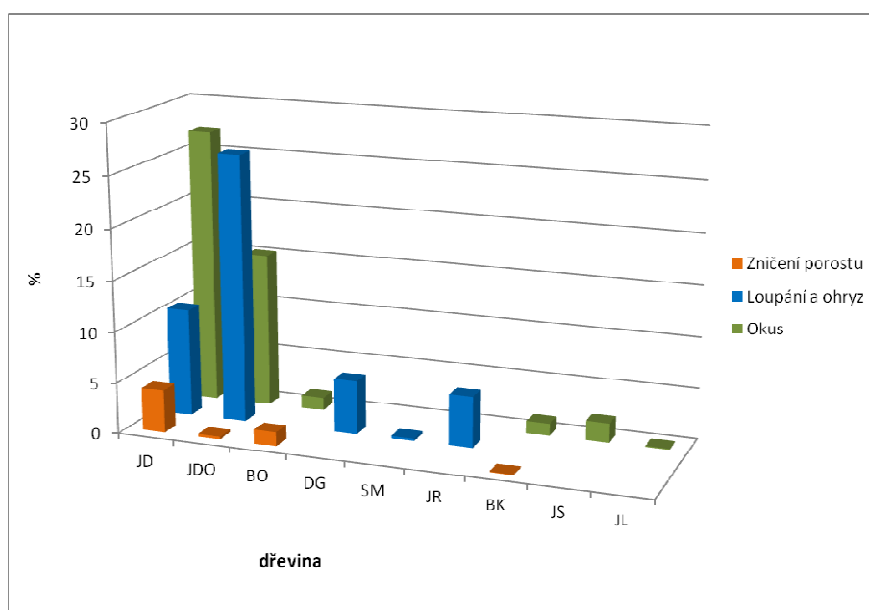
Dne 16. 5. 2009 ve 12:30 hodin pozorována z automobilu spolupracovníkem Úřadu pro zemědělství, výživu a lesnictví zřejmě losice (roční/šmola; bez paroží). Sledována byla na vzdálenost cca 100 m, přičemž byla spatřena asi 300 m východně od obce Jahrdorf (okres Passau, Německo), odkud utíkala na sever.

Dne 21. 5. 2009 zaznamenány pobytové stopy losů severně od Ruhmannsdorfu (Německo).

Dne 26. 6. 2010 odebrány 3 vzorky trusu mezi obcemi Vorderweissenbach a Weigetschlag.

4.5 Škody losem

Škody losem na LS Vyšší Brod byly monitorovány a vyhodnocovány zaměstnanci již před zahájením řešení projektu, jmenovitě Ing. R. Mičan, Ing. R. Kotrla, p. M. Kubišta, p. R. Perfol, p. J. Řepa a p. P. Řepa. Evidenci škod způsobených do roku 2008 poskytl bývalý lesní správce p. J. Mártl a za další roky současný lesní správce Ing. M Honetschläger. Veškeré zjištěné škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod jsou zpracovány v následujícím grafu:

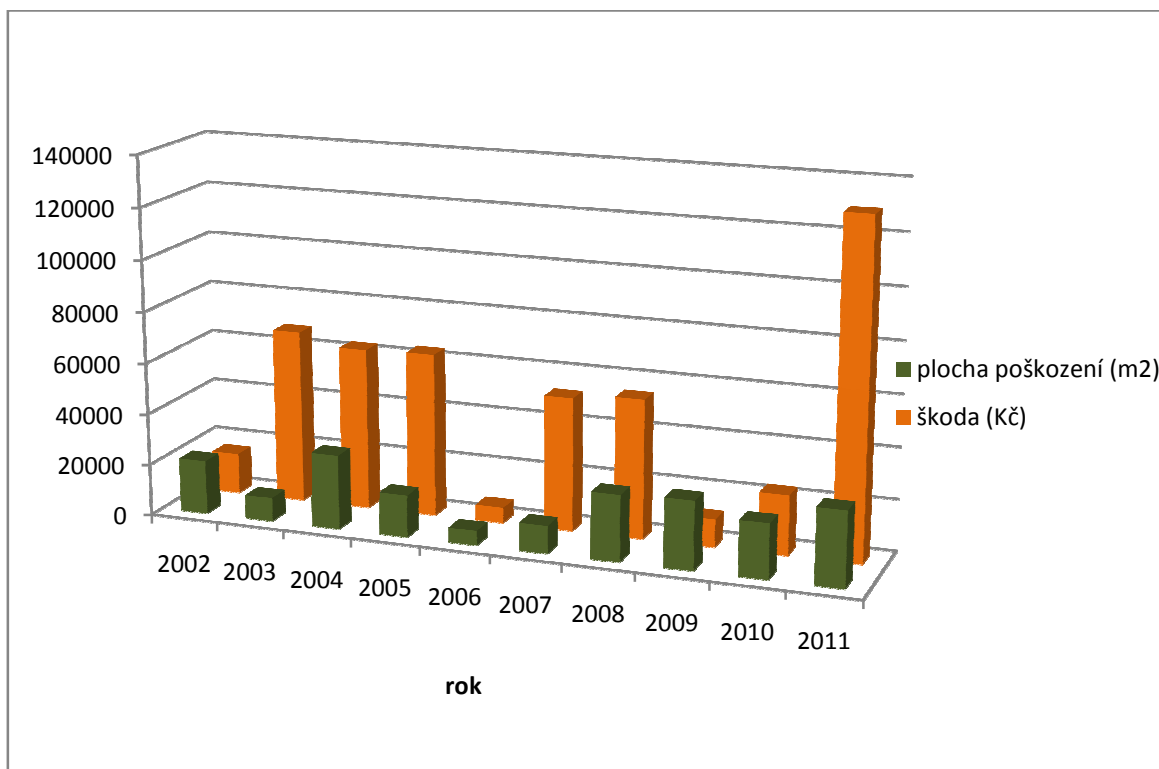


Graf č. 1 Škody losem (2002 – 2011)

Souhrn škod losem vzhledem k ploše porostu na LS Vyšší Brod znázorňuje graf č. 2. V roce 2002 byla škoda způsobená losem vyčíslena na 15 849,- Kč na ploše 20 923 m², přičemž šlo především o poškození JD a JDO okusem a v porostu 522A3a byla JD poškozena ohryzem.

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod



Graf č. 2 Škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod za období 2002 – 2011

V roce 2003 byla škoda 67 547,- Kč a plocha poškození porostů 9 200 m². Nejvyšší podíl z vyčíslené škody byl za poškození dvou oplocenek (65 133,- Kč), který bohužel nelze, dle současné platné legislativy, nárokovat k náhradě. Z pohledu poškození dřevin se opět jednalo o okus a ohryz JD a JDO.

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod



Obr. č. 13 Pro odpuzování losů od oplocenek jsou využívány pachové repelenty

V roce 2004 představovalo 63 016,- Kč částku za poškození 28 905 m², přičemž šlo zejména o okus JD (5 případů), JDO (2 případy) a BK (1 případ). Dále pak byly zničeny porosty JD (3×), JDO (1×) a BO (1×). Loupání či ohryz byly zaznamenány především na JDO, ale také na JR.



Obr. č. 14 Staré poškození jeřábu ptačího ohryzem losa evropského

V roce 2005 byla škoda 63 600,- Kč s poškozenou plochou 16 323 m², přičemž šlo ve čtyřech případech o poškození loupáním a ohryzem JD a JDO a v jednom o DG. Ve čtyřech případech pak byly okusem poškozeny JD (3×) a JDO (1×) a dále došlo ke zničení dvou jedlových porostů.

V roce 2006 vyčíslena škoda 6 085,- Kč na ploše 5 660 m², jeden jedlový porost zničený a dále okus JD (2×), JL (1×) a JS (1×).

V roce 2007 škoda ve výši 51 931,- Kč na 10 730 m². V sedmi případech šlo o zničení porostu JD a dalších šest případů představovala škoda okusem JD a jednou BO. Vyskytovalo se také loupání a ohryz JD (3×) a DG (1×).

V roce 2008 byla škoda 54 089,- Kč a plocha poškození porostů 25 700 m². Jednalo se zejména o okus JD (6×), BK (1×) a BO (2×), dále o zničení porostů JD (5×), JDO (1×), BK (1×) a BO (1×) a loupání či ohryz JD (2×), JDO (1×) a DG (1×).

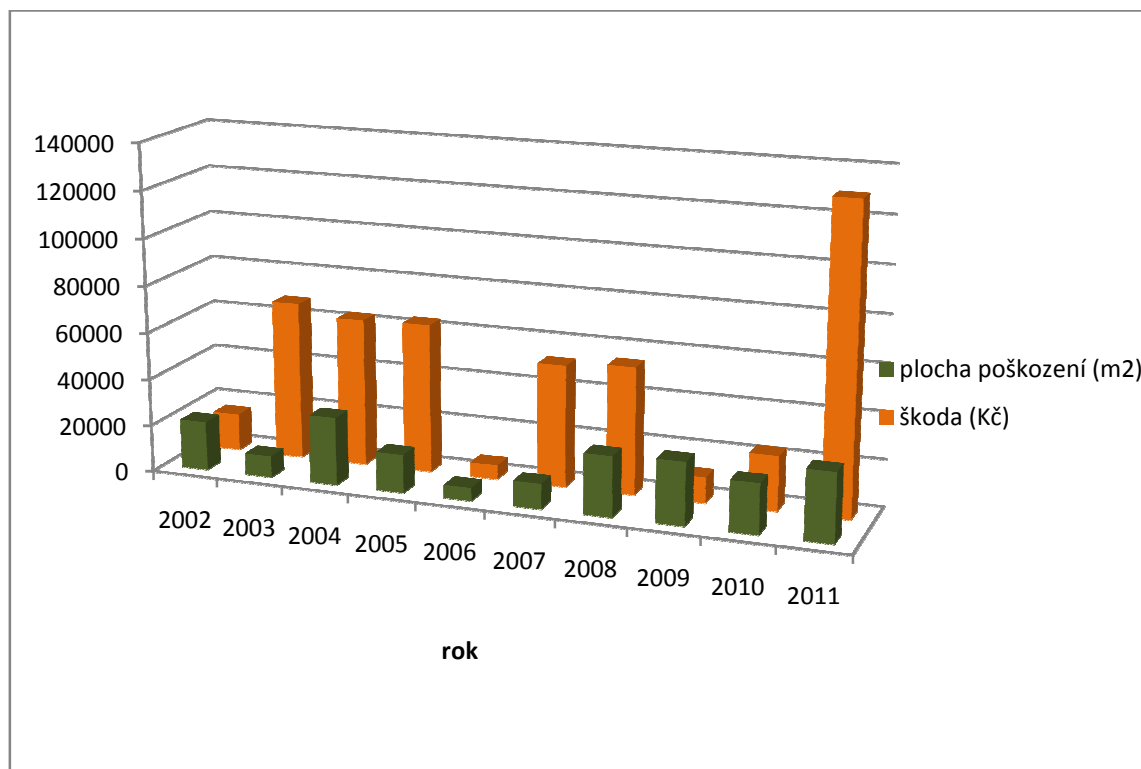
V roce 2009 představovalo 10 928,- Kč částku za poškození 26 600 m², přičemž šlo zejména o okus JD (6×) a JDO (1×), dále pak byly zničeny čtyři jedlové porosty a loupání či ohryz byly zaznamenány především na JDO (2×), JD (1×) a DG (1×).



Obr. č. 15 Zlom způsobený losem hledajícím mladší letorosty k okusu.

V roce 2010 vznikla škoda 23 288,- Kč a byla poškozena plocha 21 286 m², přičemž šlo v pěti případech o poškození loupáním a ohryzem JD a po jednom JDO a DG. Ve třech případech došlo ke zničení jedlových porostů a okusem byly poškozeny tři porosty JD.

V roce 2011 byla škoda 129 416,- Kč s poškozenou plochou 29 210 m², přičemž došlo ke zničení deseti porostů (JD 5× a BO 5×). V deseti případech pak byly loupáním nebo ohryzem poškozeny JD (6×), DG (2×), JDO (1×) a SM (1×). Okus byl zaznamenán na JD (5×), JDO (2×) a BO (1×).



Graf č. 3 Škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod za období 2002 až 2011

Za období 2002 až 2011 byly škody losem na LS Vyšší Brod tvořeny ze 47,36 % loupáním a ohryzem, přičemž nejvíce byla poškozována JDO a JD, dále následovala DG, JR a SM. Četnost okusu byla 46,80 % a nejvíce poškozovanými dřevinami byly JD a JDO. Méně byly poškozovány JS, BO, BK a okrajově JL. Obecně lze dále konstatovat, že jsou v místě svého výskytu na LS Vyšší Brod poškozovány okusem také jeřáby ptačí, krušina olšová a vrby. Ke zničení porostů pak došlo v 5,84 %. Především byly zničeny porosty jedlové, dále pak BO, JDO a BK.

4.6 Fotopasti

Při řešení projektu se bohužel nepodařilo vyfotografovat pomocí fotopastí žádný snímek losa evropského. Jejich instalace započala 7. – 10. 5. 2010 a celkem bylo na LS Vyšší Brod umístěno 13 fotopastí v lokalitě rašeliniště Kapličky (5 ks), Hvězdná (1 ks), Mlýnská (2 ks), Kamenná (3 ks), Plešný (1 ks) a Svatý Tomáš (1 ks). Odinstalování fotopastí proběhlo ve dnech 24. – 26. 6. 2011. Používány byly fotopasti značky Bushnell, Cuddeback, Stealth a Scout.

V průběhu ročního používání fotopastí byla vyfotografována zvěř jelení, srnčí a černá. Dále byly pořízeny videosekvence zvěře černé a hnízdění sluky na rašeliništi Kapličky.

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod



Obr. č. 16 Ukázka snímků z fotopastí – jelení zvěř, lokalita rašeliniště Kapličky



Obr. č. 17 Ukázka snímků z fotopastí – černá zvěř, lokalita Kapličky

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod



Obr. č. 18 Ukázka snímků z videosekvence fotopastí – černá zvěř, lokalita Kapličky



Obr. č. 19 Ukázka snímků z videosekvence fotopastí – sluka lesní s hnízdem, lokalita Kapličky

5. ZÁVĚR

Na základě výsledků řešení projektu lze konstatovat, že se na LS Vyšší Brod pohybuje nejméně 8 jedinců losa evropského a probíhá přeshraniční migrace do sousedního Rakouska. Pro zjištění původu losí populace na našem území by bylo vhodné provést stejné analýzy také u polské populace a rozšířit počet sledovaných mikrosatelitů.

Škody losem na LS Vyšší Brod jsou způsobovány především na JD (41,90 %), JDO (41,71 %), DG (5,26 %) a JR (5,00 %). Méně často jsou pak poškozovány BO, JS, BK, SM a JL. Z grafu č. 2 je patrná určitá periodicitu nárůstu škod losem, což by bylo v budoucnosti zajímavé porovnat s vývojem početních stavů jelení zvěře nebo klimatologickými daty, což by mohlo ovlivňovat četnost losí zvěře v zájmové oblasti. Výskyt losů může také nepříznivě ovlivňovat zatížení prostředí turistickým ruchem a úbytek klidových oblastí. Patrný je také nárůst poškozených ploch losem, což společně se zvýšením setkání s losí zvěří při silniční dopravě může nasvědčovat na početní nárůst losů v zájmovém území. V současnosti nelze jednoznačně doporučit účinná opatření proti škodám způsobených losem evropským a problematika bude dále řešena na LS Vyšší Brod v rámci diplomové práce Bc. Jana Poláčka. Za nelogické je však možné označit nemožnost žádat náhradu škody za evidentní poškození oplocenek losem. Za problém lze také označit opakované škody, které umocňují stres na dřevinu a plošněji mohou způsobit až zničení porostu.

Za vhodné považujeme pokusit se ve spolupráci s Dr. Pavlem Šustrem (NP Šumava) o obeznání a imobilizaci losa a jeho následné označení GPS obojkem. Bohužel nám v současnosti není známo, na základě předchozích zkušeností, zda by byl zájem ze strany NP Šumava.

V Brně, dne 31. 8. 2011

Ing. Martin Ernst, Ph.D.

Příloha č. 1

Metodiky odběrů biologických vzorků

Odběr vzorků srsti

Pro izolaci DNA ze srsti se nejlépe využívají nejsilnější chlupy z hřbetní – bederní oblasti, ale lze využít i chlupy z ostatních částí těla. Podmínkou je, aby vytržený (vypadnutý) chlup byl včetně vlasové cibulky. Stejně lze využít i chlupy, které vypadávají při výměně srsti.

Velikost vzorku - Nejdůležitější zásadou je množství chlupů. Za optimální množství lze považovat **200 kusů chlupů s vlasovými cibulkami**, pokud však není možnost nasbírání výše uvedeného množství, lze využít i nižších počtů. Do igelitového sáčku se samouzavíracím lemlem vložte vytrhnuté (nalezené) maximální množství chlupů, na sáček napište číslo vzorku. Toto číslo pak запиšte s ostatními údaji o vzorku do formuláře (viz. příloha č. 1).

Uskladnění – sáček se neprodleně uloží do mrazícího boxu; uchovávat nejlépe při teplotě
- 4°C a nižší.

Odběr vzorků z losa – trus

Vzorek trusu odebírat nejlépe v zimním období při teplotách 0°C a nižších, pokud možno z čerstvě nalezeného trusu (ze starších pouze nejsou-li již rozpadlé nebo plesnivé).

Velikost vzorku - Do igelitového sáčku se samouzavíracím lemlem vložte **5-6 hrudek** (bobků), na sáček napište číslo vzorku. Toto číslo pak запиšte s ostatními údaji o vzorku do formuláře.

Uskladnění – sáček se neprodleně uloží do mrazícího boxu, uchovávat nejlépe při teplotě
- 4°C a nižší.

Odběr vzorků tkání z ulovené (uhynulé) zvěře

Jako vzorek tkáně lze použít svalovinu – pohybové svalstvo, bránici, žvýkácí svaly, ale i jedlé vnitřnosti zvěře - srdce, játra apod. Menší příměs tuku není na závadu, tkáň však musí být bez nečistot.

Projekt Grantové služby LČR

*Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského
v oblasti LS Vyšší Brod*

Svalovinu (tkáň) z ulovené zvěře lze odebírat ihned po ulovení nebo při bourání v chladicím boxu, ale i z dlouhodobě skladované a řádně uložené zvěřiny.

Velikost vzorku – k izolaci se používá malé množství, proto i odběrový vzorek nemusí být větší než 2x2 cm (cca půdorys palce), tloušťka vzorku do 1 cm. Ze zvěře se tak ostrým nožem vyřízne vzorek o požadované velikosti, vloží se do igelitového sáčku se samouzavíracím lemem. Sáček se vzorkem se popíše a vyplní se formulář s údaji, kde se číslo vzorku bude shodovat s číslem na sáčku. (formulář je shodný pro všechny druhy odběrů).

Uskladnění – sáček se neprodleně uloží do mrazicího boxu, uchovávat nejlépe při teplotě -4°C a nižší.

Monitoring losů v České republice	
Ohlašovna pro pozorování/odběr vzorků/dokumentaci: LS Vyšší Brod K Vltavě 416, Vyšší Brod, 38273, ls204@lesycr.cz	
<i>Údaje o čase a místě pozorování losa (ů)/důkazů o pobytu losa (ů).</i>	
Datum:	
Čas: (popř. doba trvání pozorování od – do)	
Odhadovaná vzdálenost jeho (jejich) migrační trasy(m; odkud - kam):	
Poznámky: (podmínky pozorování, např. počasí)	
Všeobecné údaje o místě (nejbližší město, okres)	
Podrobný popis místa (např. ozn. porostu, revír, lesní místo, lesní stanoviště, louka, vodní tok, pozemek p. č. apod.)	
Mapka s označením pozorovacího místa přiložena:	<input type="checkbox"/> ano <input type="checkbox"/> ne
<i>Údaje k losu (ům) a chování</i>	
Počet kusů:	
Pohlaví (počet):	<input type="checkbox"/> samice (.....ks) <input type="checkbox"/> samec (.....ks) <input type="checkbox"/> nerozpoznáno (.....ks)
Věk:	<input type="checkbox"/> dospělý (odhadovaný věk: let) <input type="checkbox"/> roček/šmolka <input type="checkbox"/> tele
Chování:	

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod

(např. důvěřivý, nemocný, prchající,...)	
Druh důkazu (vzorku): (vzorek uložit v plastovém sáčku, popsat evidenčním číslem dotazníku a zmrazit; u vzorků z paroží není zmrazení nutné)	<input type="checkbox"/> stopy/otisky stop (odhadovaný počet losů) <input type="checkbox"/> trus <input type="checkbox"/> srst <input type="checkbox"/> shozy <input type="checkbox"/> okus, loupání <input type="checkbox"/> mrtvý los, (příčina úhynu)..... Jiné:
<i>Údaje ke stopám po pastvení losa (ů).</i>	
Okousané/oloupané druhy rostlin:	
Velikost pozůstatků po pastvení: (např. počet rostlin, stromů, plocha,...)	
Věk porostu:	
Důkazy o losovi jako původci okusu/loupání: (např. výška stop po okusu/ohryzu v cm, nález otisku stop,...)	
Lokalizace škod: (oddělení, porost, porostní skupina apod.)	
<i>Údaje k výkladu a dokumentace</i>	
Foto/videonahrávka je k dispozici: (foto losa, trus,...)	<input type="checkbox"/> ano <input type="checkbox"/> ne
Zajištěné vzorky: (srst, trus, shozy,...)	<input type="checkbox"/> ano <input type="checkbox"/> ne

Projekt Grantové služby LČR

*Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského
v oblasti LS Vyšší Brod*

<p>Jiné poznámky:</p>	
<p>Pozorovatelka/pozorovatel: (jméno, instituce, adresa, telefon, e-mail)</p>	

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod

Příloha č. 3

Seznam zjištěných genotypů studovaných lokusů losa evropského.

Ev. č.	Lokus	Alela 1	Alela 2
1	BM888	182	182
2	BM888	182	182
3	BM888	182	182
4	BM888	182	182
5	BM888	182	182
6	BM888	182	182
7	BM888	182	182
8	BM888	182	182
9	BM888	182	182
10	BM888	182	182
11	BM888	182	182
12	BM888	182	182
13	BM888	182	182
14	BM888	182	182
15	BM888	182	182
16	BM888	182	182
17	BM888	182	182
18	BM888	182	182
19	BM888	182	182
20	BM888	182	182
21	BM888	182	182
22	BM888	182	182
23	BM888	182	182
24	BM888	182	182
25	BM888	182	182
26	BM888	182	182
27	BM888	182	182
28	BM888	182	182
29	BM888	182	182
30	BM888	182	182
31	BM888	182	182
32	BM888	182	182
33	BM888	182	182
34	BM888	182	182
35	BM888	182	182
36	BM888	182	182
37	BM888	182	182
38	BM888	182	182
39	BM888	182	182
40	BM888	182	182
41	BM888	182	182
42	BM888	182	182
1	OarFCB193	96	96
2	OarFCB193	96	100
3	OarFCB193	96	96
4	OarFCB193	96	96
5	OarFCB193	96	96
6	OarFCB193	96	96
7	OarFCB193	100	100
8	OarFCB193	96	96
9	OarFCB193	96	96
10	OarFCB193	96	96
11	OarFCB193	96	96
12	OarFCB193	96	96
13	OarFCB193	96	96
14	OarFCB193	96	100
15	OarFCB193	96	100
16	OarFCB193	96	96
17	OarFCB193	96	96
18	OarFCB193	96	96
19	OarFCB193	96	96
20	OarFCB193	96	96

21	OarFCB193	96	96
Ev. č.	Lokus	Alela 1	Alela 2
22	OarFCB193	96	96
23	OarFCB193	96	96
24	OarFCB193	96	96
25	OarFCB193	96	96
26	OarFCB193	96	96
27	OarFCB193	96	96
28	OarFCB193	96	96
29	OarFCB193	100	100
30	OarFCB193	96	96
31	OarFCB193	96	96
32	OarFCB193	96	96
33	OarFCB193	96	96
34	OarFCB193	96	96
35	OarFCB193	96	96
36	OarFCB193	96	96
37	OarFCB193	96	100
38	OarFCB193	96	96
39	OarFCB193	96	96
40	OarFCB193	96	96
41	OarFCB193	96	96
42	OarFCB193	96	96
1	OarFCB304	132	132
2	OarFCB304	132	132
3	OarFCB304	132	132
4	OarFCB304	132	132
5	OarFCB304	132	132
6	OarFCB304	132	132
7	OarFCB304	132	132
8	OarFCB304	132	132
9	OarFCB304	132	132
10	OarFCB304	132	132
11	OarFCB304	132	132
12	OarFCB304	132	132
13	OarFCB304	132	132
14	OarFCB304	132	132
15	OarFCB304	132	132
16	OarFCB304	132	132
17	OarFCB304	132	132
18	OarFCB304	132	132
19	OarFCB304	132	132
20	OarFCB304	132	132
21	OarFCB304	132	132
22	OarFCB304	132	132
23	OarFCB304	132	132
24	OarFCB304	132	132
25	OarFCB304	132	132
26	OarFCB304	132	132
27	OarFCB304	132	132
28	OarFCB304	132	132
29	OarFCB304	132	132
30	OarFCB304	132	132
31	OarFCB304	132	132
32	OarFCB304	132	132
33	OarFCB304	132	132
34	OarFCB304	132	132
35	OarFCB304	132	132
36	OarFCB304	132	132
37	OarFCB304	132	132
38	OarFCB304	132	132
39	OarFCB304	132	132
40	OarFCB304	132	132

Projekt Grantové služby LČR

*Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského
v oblasti LS Vyšší Brod*

41	OarFCB304	132	132
42	OarFCB304	132	132

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod

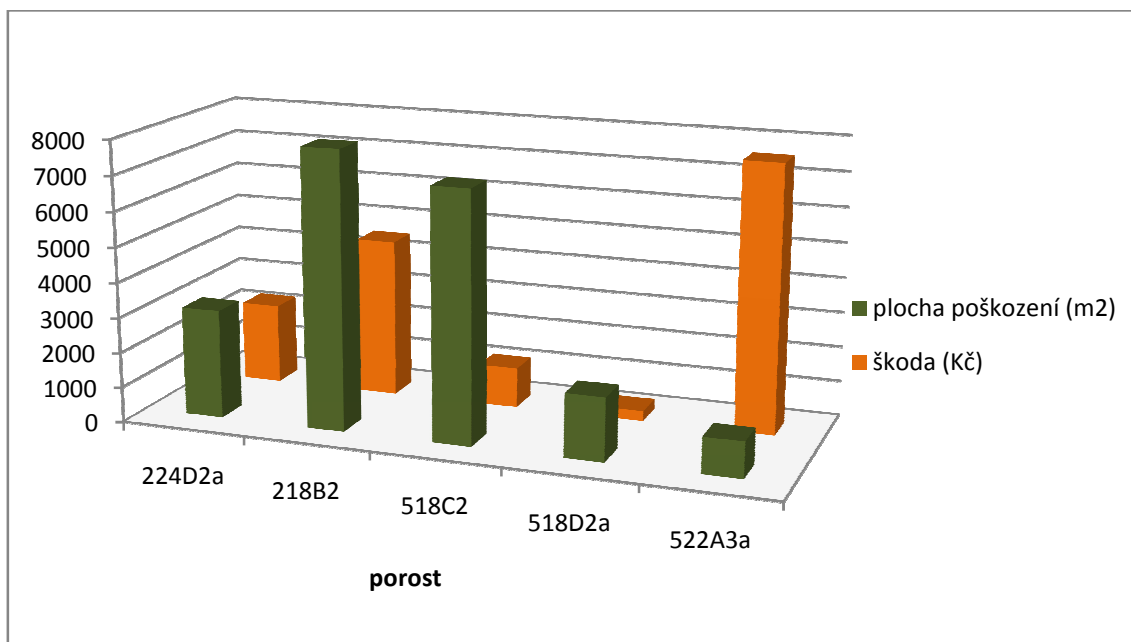
Seznam zjištěných genotypů studovaných lokusů losa evropského (pokračování).

Ev. č.	Lokus	Alela 1	Alela 2
1	RM188	119	119
2	RM188	119	119
3	RM188	119	119
4	RM188	119	119
5	RM188	119	119
6	RM188	119	119
7	RM188	119	119
8	RM188	119	119
9	RM188	119	119
10	RM188	119	119
11	RM188	119	119
12	RM188	119	119
13	RM188	119	119
14	RM188	119	119
15	RM188	119	119
16	RM188	119	119
17	RM188	119	119
18	RM188	119	119
19	RM188	119	119
20	RM188	119	119
21	RM188	119	119
22	RM188	119	119
23	RM188	119	119
24	RM188	119	119
25	RM188	119	119
26	RM188	119	119
27	RM188	119	119
28	RM188	119	119
29	RM188	119	119
30	RM188	119	119
31	RM188	119	119
32	RM188	119	119
33	RM188	119	119
34	RM188	119	119
35	RM188	119	119
36	RM188	119	119
37	RM188	119	119
38	RM188	119	119
39	RM188	119	119
40	RM188	119	119
41	RM188	119	119
42	RM188	119	119
1	T26	338	338
2	T26	326	338
3	T26	326	338
4	T26	326	338
5	T26	326	338
6	T26	326	338
7	T26	326	338
8	T26	338	338
9	T26	326	338
10	T26	338	338
11	T26	326	338
12	T26	326	326
13	T26	326	338
14	T26	326	326
15	T26	338	338
16	T26	338	338
17	T26	326	338
18	T26	338	338
19	T26	326	338
20	T26	326	338

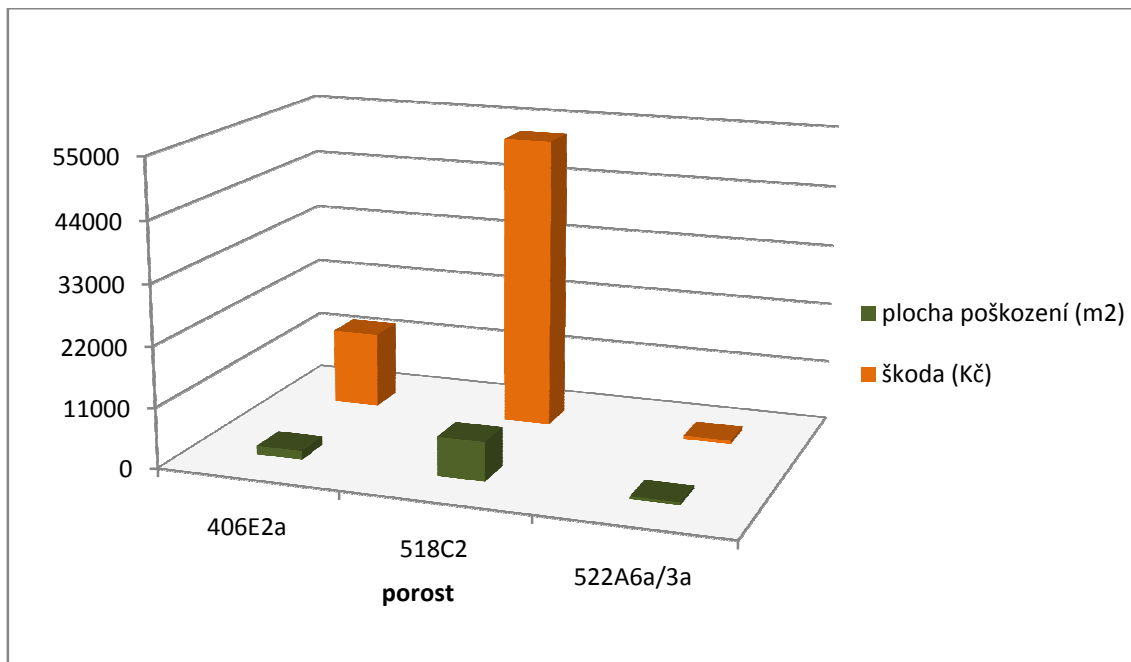
Ev. č.	Lokus	Alela 1	Alela 2
21	T26	326	338
22	T26	338	338
23	T26	326	338
24	T26	326	338
25	T26	338	338
26	T26	326	338
27	T26	326	338
28	T26	326	338
29	T26	338	338
30	T26	338	338
31	T26	326	338
32	T26	326	326
33	T26	326	338
34	T26	326	338
35	T26	326	338
36	T26	326	338
37	T26	326	338
38	T26	338	338
39	T26	326	338
40	T26	326	338
41	T26	326	338
42	T26	326	338
1	T501	221	221
2	T501	221	221
3	T501	221	221
4	T501	221	221
5	T501	221	221
6	T501	221	221
7	T501	221	221
8	T501	221	221
9	T501	221	221
10	T501	221	221
11	T501	221	221
12	T501	221	221
13	T501	221	221
14	T501	221	221
15	T501	221	221
16	T501	221	221
17	T501	221	221
18	T501	221	221
19	T501	221	221
20	T501	221	221
21	T501	221	221
22	T501	221	221
23	T501	221	221
24	T501	221	221
25	T501	221	221
26	T501	221	221
27	T501	221	221
28	T501	221	221
29	T501	221	221
30	T501	221	221
31	T501	221	221
32	T501	221	221
33	T501	221	221
34	T501	221	221
35	T501	221	221
36	T501	221	221
37	T501	221	221
38	T501	221	221
39	T501	221	221
40	T501	221	221
41	T501	221	221
42	T501	221	221

Příloha č. 4

Škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod za období 2002 – 2011



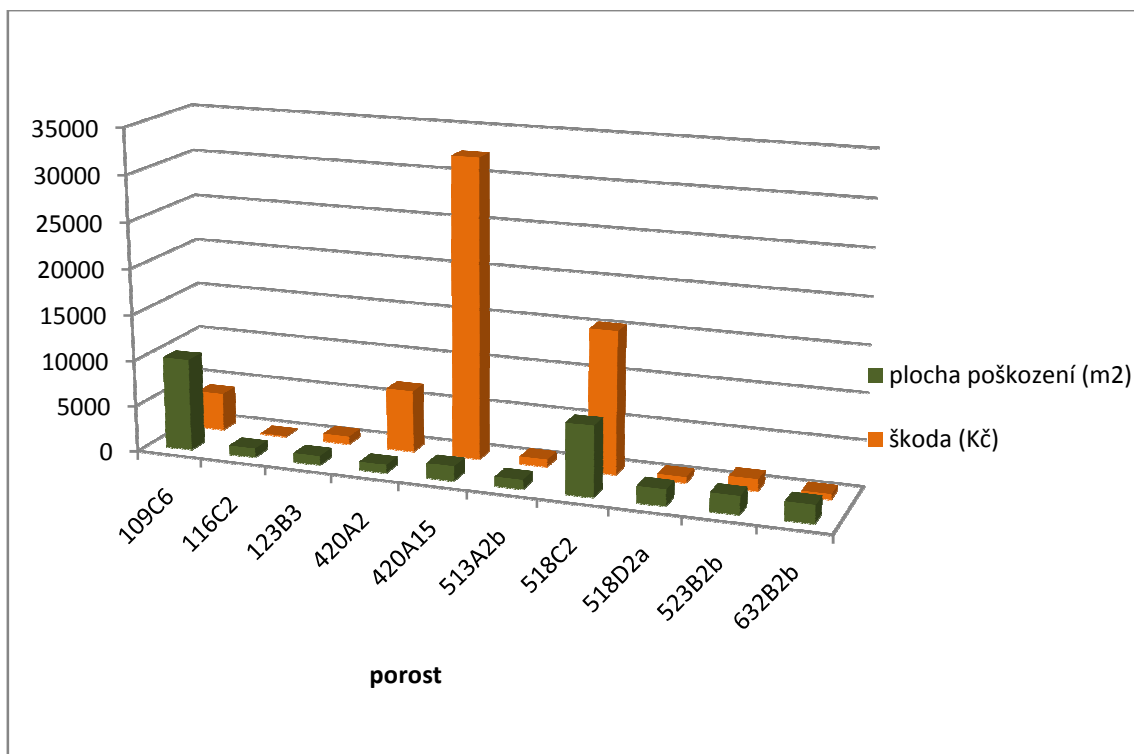
Graf č. 4 Škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod v roce 2002



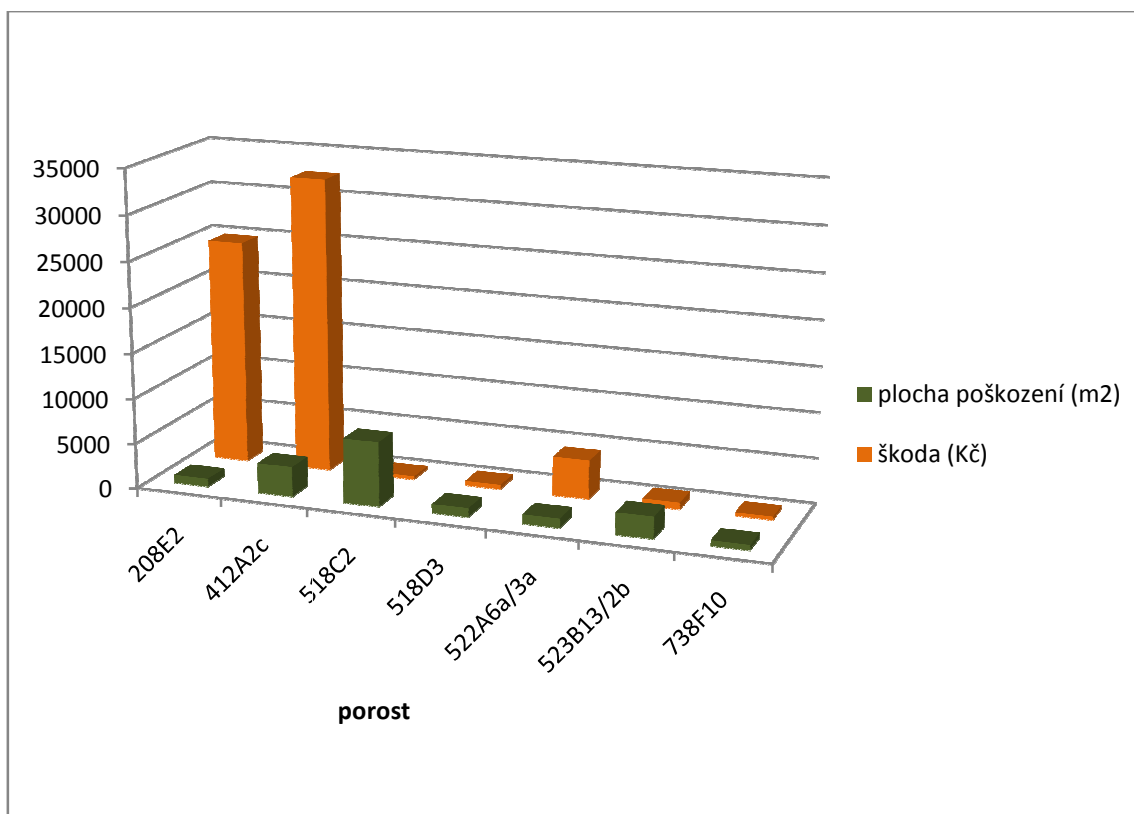
Graf č. 5 Škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod v roce 2003

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod



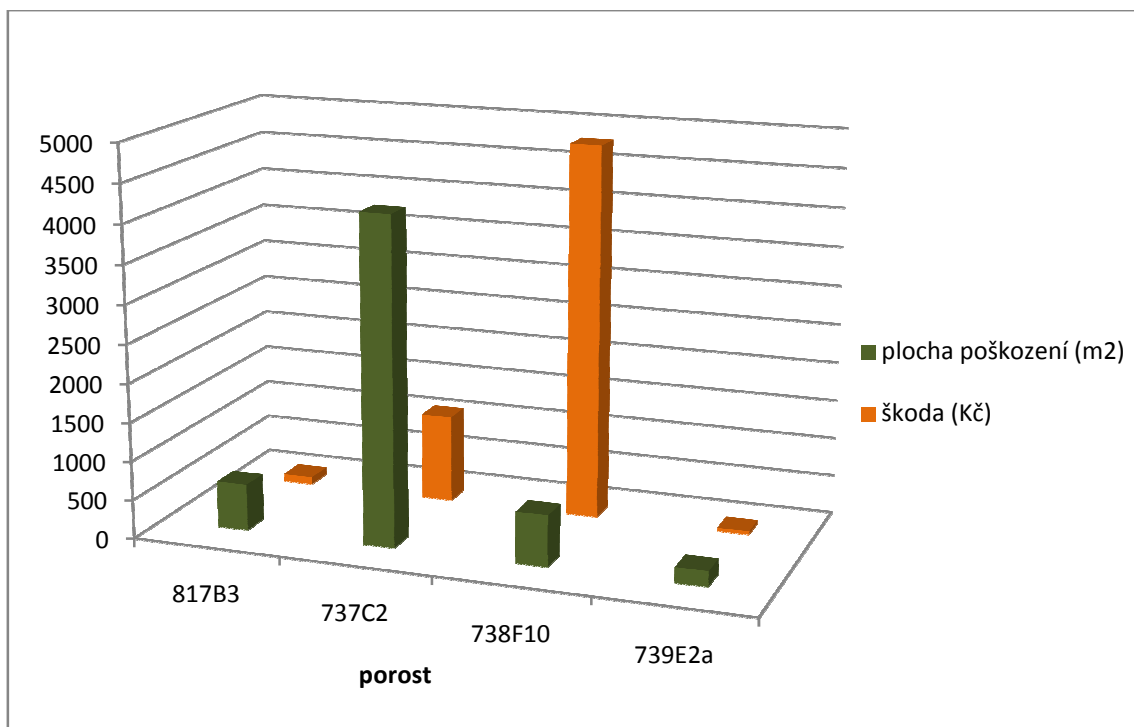
Graf č. 6 Škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod v roce 2004



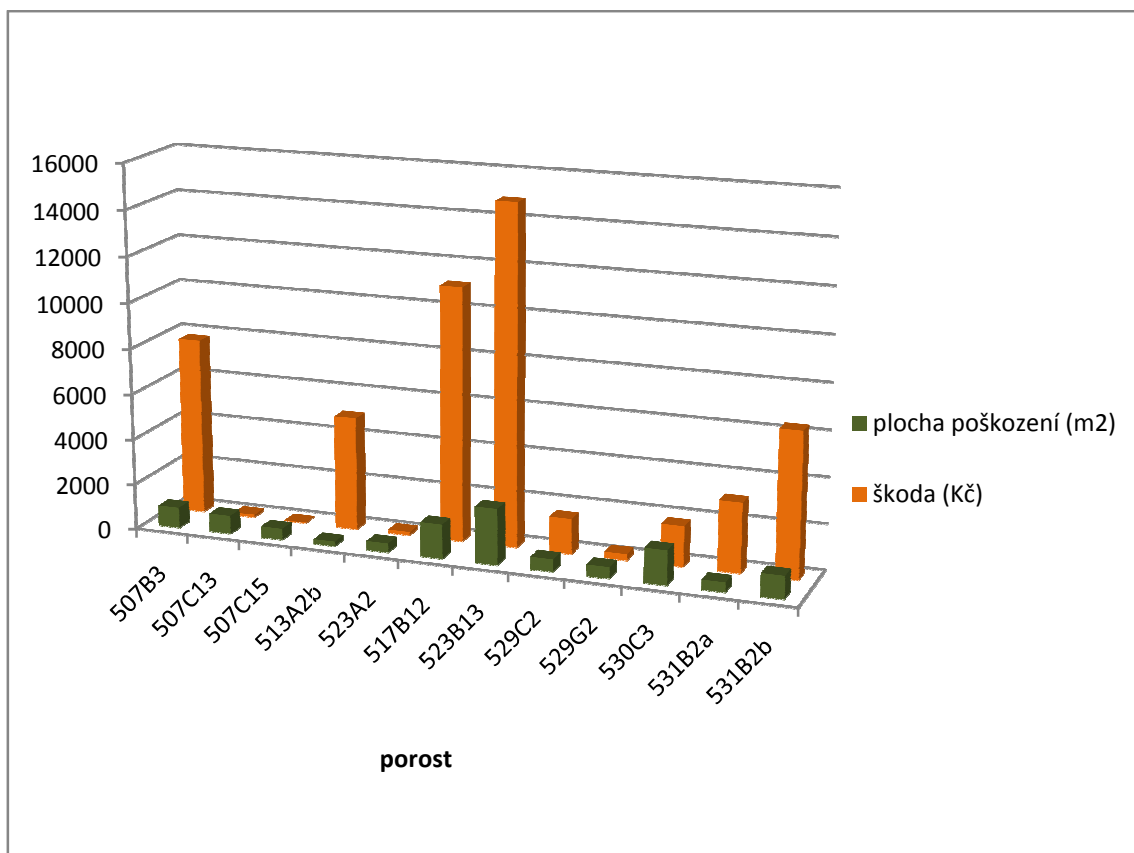
Graf č. 7 Škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod v roce 2005

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod



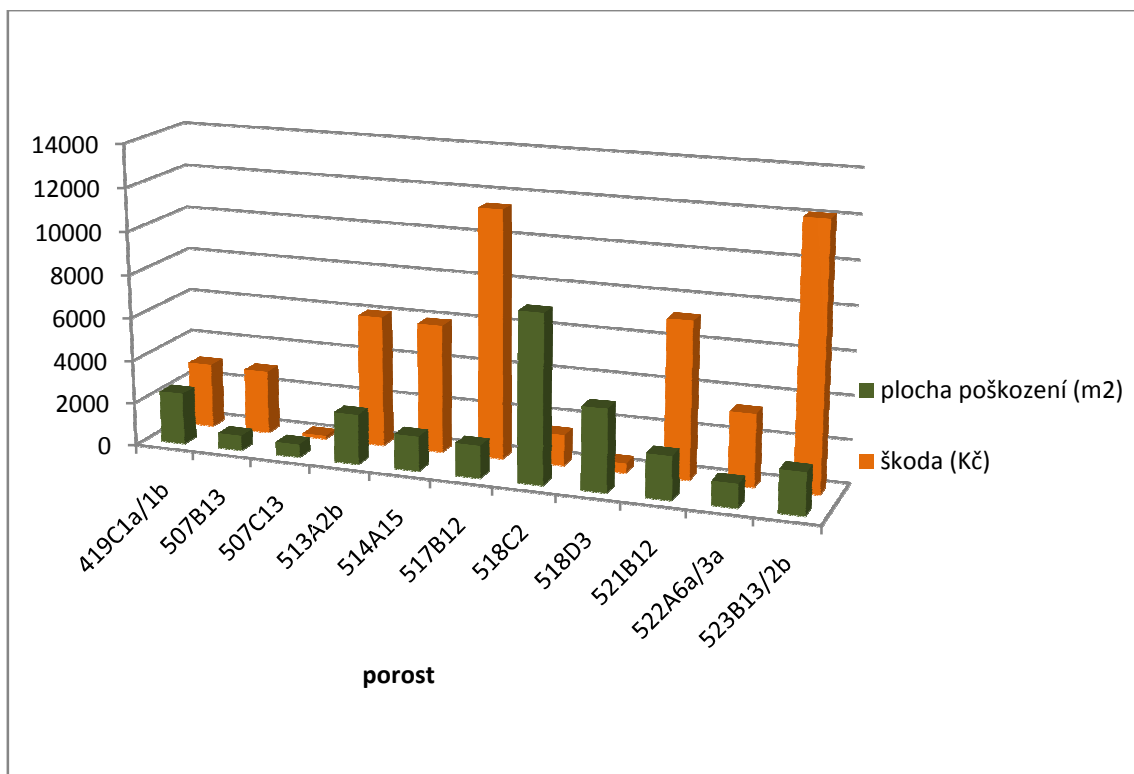
Graf č. 8 Škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod v roce 2006



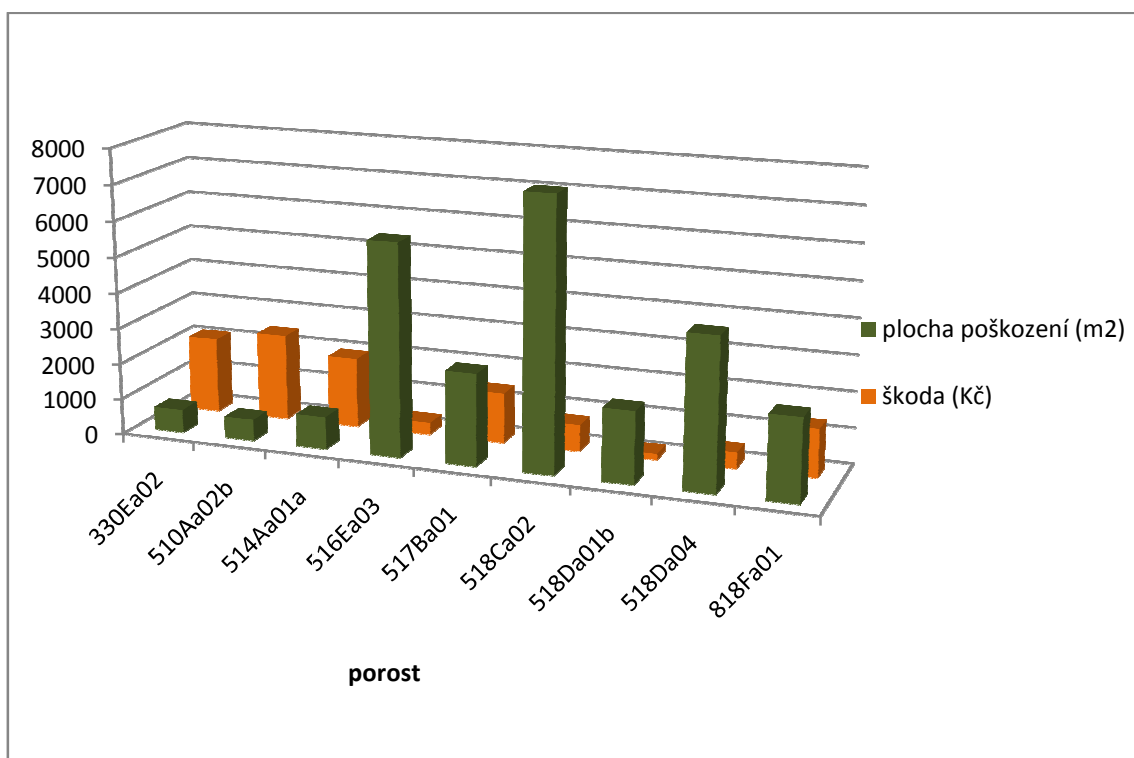
Graf č. 9 Škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod v roce 2007

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod



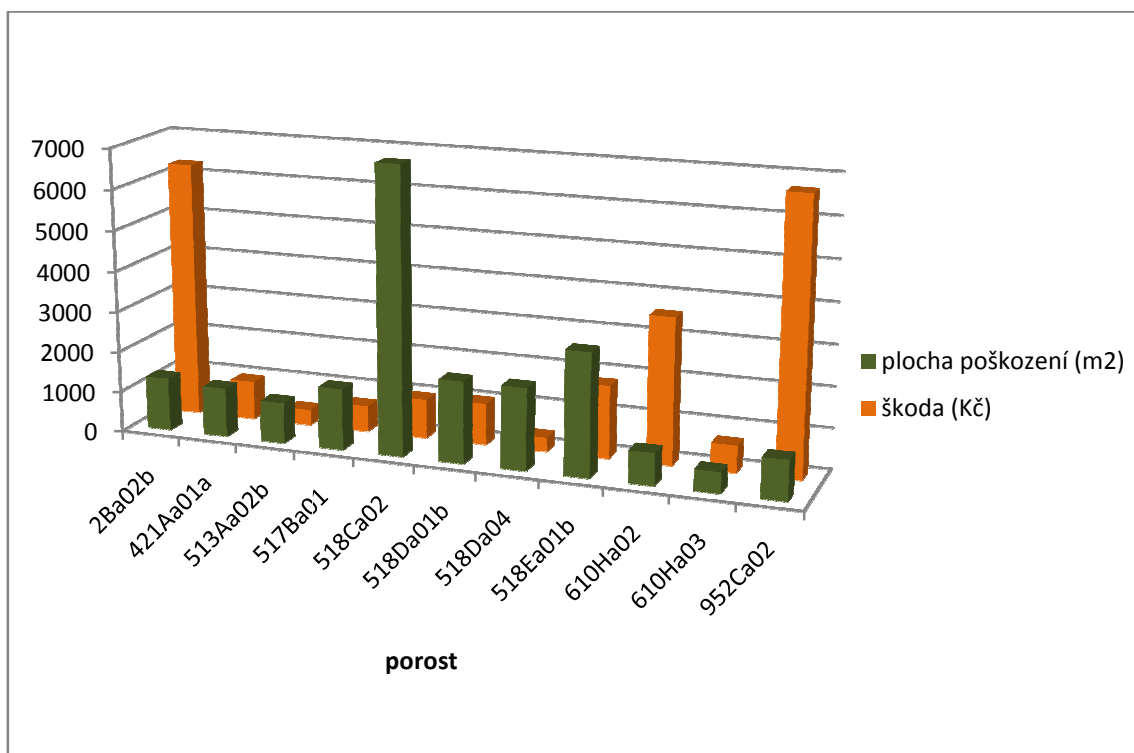
Graf č. 10 Škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod v roce 2008



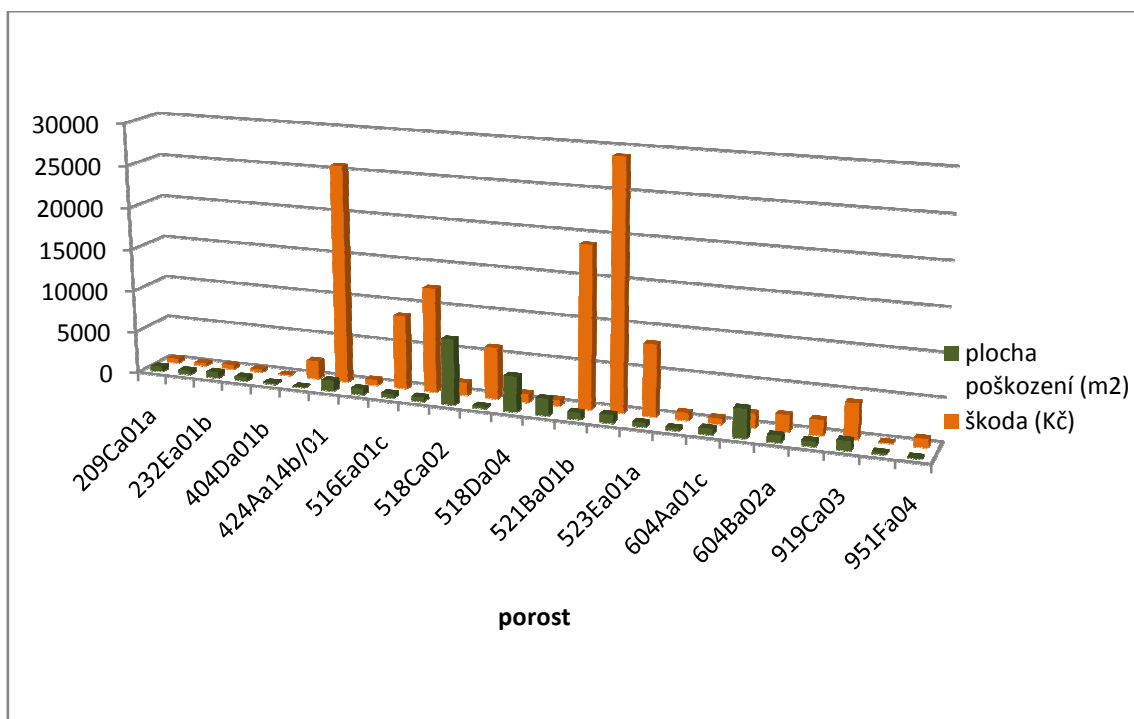
Graf č. 11 Škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod v roce 2009

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod



Graf č. 12 Škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod v roce 2010



Graf č. 13 Škody losem na lesních porostech LS Vyšší Brod v roce 2011

Příloha č. 5

Výskyt losa na LS Vyšší Brod



Obr. č. 20 Detailní zobrazení výskytu losa na LS Vyšší Brod v období 2009-2011

Projekt Grantové služby LČR

Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského v oblasti LS Vyšší Brod

Příloha č. 6

Pracovní deník monitoringu losa evropského

Datum	Lokalita	Poznámka*
16. – 17. 9. 2008	Kapličky	0
15. – 16. 11. 2008	Valdava	0
13. – 14. 12. 2008	Okolí obce Lásenice	1
Leden 2009	Okolí obce Lásenice	1
7. – 8. 2. 2009	Kapličky a Valdava	0
Duben 2009	Okolí obce Lásenice	1
6. 5. 2009	Kapličky	0
2. – 5. 7. 2009	Zvonková, Pestřice, Svatý Tomáš	0
29. 8. – 4. 9. 2009	Svatý Tomáš, Kapličky, Valdava, Podkova	1
Září 2009	Okolí obce Lásenice	1
18. – 20. 9. 2009	Kapličky, Valdava, Plešný, Výtoň	0
2. – 5. 10. 2009	Výtoň, Frymburk, Podkova	0
16. – 18. 11. 2009	Kapličky, Valdava, Svatý Tomáš	0
Prosinec 2009	Zvonková, Pestřice	1
6. – 7. 1. 2010	Zvonková, Pestřice	1
25. 1. 2010	Valdava - Kamenná	0
25. 1. 2010	Zvonková, Pestřice	1
Únor 2010	Zvonková, Pestřice	1
13. – 14. 3. 2010	Okolí obce Slavonice	1
Duben 2010	Okolí obce Lásenice	1
6. 4. 2010	Kapličky, Mlýnská	1
Květen 2010	Okolí obce Lásenice	1
7. – 10. 5. 2010	Kapličky, Mlýnská, Valdava, Kamenná, Svatý Tomáš, Plešný, Výtoň, Podkova	0
1. – 5. 6. 2010	Kamenná	1
1. – 5. 6. 2010	Kapličky, Mlýnská, Valdava, Svatý Tomáš, Plešný, Výtoň	0
21. – 26. 7. 2010	Kapličky, Mlýnská, Valdava, Kamenná, Svatý Tomáš, Plešný, Výtoň, Zvonková a příhraniční oblast Rakouska	0
26. – 31. 8. 2010	Kapličky	1
26. – 31. 8. 2010	Mlýnská, Valdava, Kamenná, Svatý Tomáš, Plešný, Výtoň a příhraniční oblast Rakouska	0
Září 2010	Kapličky	1
Září 2010	Mlýnská, Hvězdná, Spáleniště, Pasečná	0
Říjen 2010	Kapličky, Spáleniště, Pasečná, Svatý Tomáš	0
Říjen 2010	Kamenná, Hvězdná, Plešný, Zvonková	1
12. – 14. 11. 2010	Kapličky, Kamenná, Plešný	0
12. – 14. 11. 2010	Svatý Tomáš	1
Prosinec 2010	Kapličky, Kamenná, Mlýnská, Lásenice,	0

Projekt Grantové služby LČR

*Využití mikrosatelitních analýz při monitoringu populace a přeshraniční migrace losa evropského
v oblasti LS Vyšší Brod*

	Slavonice	
21. – 23. 1. 2011	Kapličky, Kamenná, Plešný, Slavonice	0
Únor 2011	Kapličky, Kamenná	1
Únor 2011	Plešný	0
26. – 27. 3. 2011	Okolí obce Lásenice, Kamenná	0
26. – 27. 3. 2011	Kapličky	1
16. 4. 2011	Kapličky	0
Květen 2011	Okolí obce Lásenice, Kamenná	0
24. – 26. 6. 2011	Okolí obce Slavonice, Plešný, Kapličky	0
24. – 26. 6. 2011	Kamenná	1
26. 6. 2011	Lokalita mezi obcemi Vorderweissenbach a Weigetschlag	1
26. 6. 2011	Ostatní příhraničí s Rakouskem	0
9. – 10. 7. 2011	Okolí obce Lásenice, Kapličky	0
14. 8. 2011	Kapličky, Kamenná	0

* Pozn.: 0 – nepozorovány pobytové stopy; 1 – pozorovány pobytové stopy