



### Záverečná správa projektu IPA

<b>Doba riešenia</b>	jún 2015 – január 2016
<b>Registračné číslo projektu</b>	17/2015
<b>Dátum prijatia správy na VVČ (vyplní IPA)</b>	

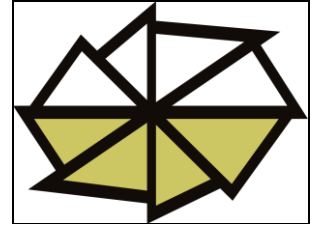
<b>Názov projektu</b>	Vytvorenie digitálneho určovacieho kľúča na botanickú kategorizáciu rastlinných fragmentov v truse raticovej zveri pomocou mikroskopických znakov
-----------------------	---

#### Vedúci projektu

Priezvisko, meno, tituly: <b>Veselovská Alexandra, Ing.</b> Tel. číslo a e-mail: <b>0902 297 799,</b> <b>xveselovska@gmail.com</b>	Potvrdzujem správnosť údajov v správe  ..... Dátum a podpis vedúceho projektu:
---	---

#### Spoluriešitelia

Priezvisko, meno, tituly: <b>Smolko Peter, Ing., PhD.</b> Kontakt: <b>0915 936 256, xsmolko@tuzvo.sk</b>
--



### a.) spôsob, metódy a priebeh riešenia

Realizácia projektu prebiehala v 5 krokoch:

#### 1. Zisťovanie preferovanej potravy raticovej zveri

Zisťovanie prebiehala pomocou štúdia literatúry a reálnym pozorovaním v teréne. Literatúra zameraná na potravnú ekológiu raticovej zveri bola získaná vo forme kníh, zborníkov a článkov v Lesníckej a drevárskej knižnici, Knižnici Ludovíta Štúra, Štátnej vedeckej knižnici v Košiciach, Knihovni Jiřího Maheny v Brne, Národnej knižnici v Českej republike a Knihovni Univerzity Karlovy. Články a vedecké publikácie boli taktiež získavané z internetových portálov web of science, researche gate, books google, google scholar atď. Zo všetkých dostupných prameňov bol vytvorený zoznam rastlín, drevín, krov a plodov.

#### 2. Zber referenčného materiálu.

Od júla do decembra 2015 prebiehal zber referenčného materiálu na území Kremnických vrchov, v týchto habitatoch (listnaté, ihličnaté, zmiešané, mladiny a kroviny, lúky) a v rámci výškového gradientu. Na tomto území totiž od roku 2005 prebieha výskum jelenej zveri, pričom lete 2014 bol na 150 výskumných plochách v 5 typoch habitatov zozbieraný trus jelenej zveri na mikrohologické analýzy.

Zo zozbieraných druhov bol vytvorený herbár, ktorý bol následne doplnený o chýbajúce položky z herbárov Technickej Univerzity. Herbár obsahuje 170 položiek preferovanej potravy raticovou zverou.

#### 3. Zisťovanie diagnostických znakov.

Pomocou literatúry získanej obdobne ako je popísané v bode jedna boli vypísané základné diagnostické znaky používané na taxonomickú klasifikáciu. Následne boli použité pri analýze referenčných vzoriek

#### 4. Laboratórne spracovanie a tvorba referenčných vzoriek.

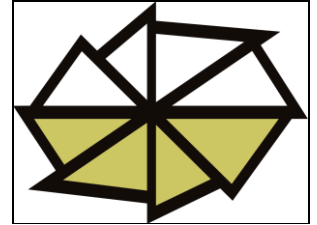
Z vysušenej biomasy jednotlivých druhov sa následne pripravili referenčné vzorky. Z každého reprezentatívneho druhu boli odobraté fragmenty veľkosti približne 1cm<sup>2</sup> z rôznych častí rastliny ako vrchol listu, čepeľ listu, stopka, stonka podľa metodiky Carrière (2001). Rastlinné časti boli na 1 deň namočené vo vode. Niektoré druhy najmä trávy, listy drevín, plody a ihličie boli namočené vo vode niekoľko dní. Následne boli uložené na dobu 5 minút do petriho misky s chlórnanom sodným. Voda zmäkčila vzorku a chlórnan sodný odstránil farebné pigmenty metodika podľa Johnson et al.(1983). Vzorka bola následne umytá teplou vodou a pomocou skalpulu alebo žiletky bola jemne odstránená epiderma a opatrne vyškrabkané vnútorné tkanivo. Epiderma bola odstránená na jednej fragmente z abaxiálnej aj z adaxiálnej strany čím vznikli dve vzorky. Táto časť bola jednou z najnáročnejších. Macerované vzorky boli veľmi krehké a urobenie správneho rezu a následné vyčistenie epidermy bolo časovo veľmi náročné. V niektorých prípadoch trvalo pripravenie rezu aj niekoľko dní. Vyčistený fragment epidermy bol uložený na podložné sklíčko. Aplikovali sa dve kvapky Hertwigovho čistiaceho roztoku a nad otvoreným ohňom sa následne odparil zbytok roztoku.

#### 5. Digitálna dokumentácia mikroskopom a diagnostika charakteristických znakov.

Pripravené referenčné vzorky boli následne pozorované pod svetelným mikroskopom. Vypísané diagnostické znaky z dostupnej literatúry boli následne určované na pozorovanej vzorke. Determinované znaky boli následne odfotografované vo vysokom rozlíšení pomocou mikroskopu. Ako kľúčové identifikátory slúžili epidermálne bunky, prieduchy, trichómy, kryštalické inklúzie, výskyt jednotlivých pletív a ich špecifický charakter. Výsledkom je viac ako 1500 fotografií, ktoré ilustrujú hlavné diagnostické znaky potrebné na botanickú

kategorizáciu. Následne bol analyzovaný trus jelenej zveri, za účelom porovnania fragmentov z trusu s referenčnými vzorkami. Trus bol po dobu 10 dní namočený v destilovanej vode, ktorá sa každý deň vymieňala za čerstvú. Trus bol homogenizovaný pomocou mixéra a namočený po dobu 5 minút v petriho miske s chlórnanom sodným za účelom vybielenia pigmentov. V ďalšom kroku bol trus precedený cez analytické sito s veľkosťou oka 1mm. Z vyselektovaných fragmentov sa následne pipetou odobrala náhodná vzorka. Fragменты sa analyzovali pod svetelným mikroskopom. Následne sa na každom fragmente hľadali diagnostické črty za účelom zaradenia do jednej z vytvorených skupín. Potvrdilo sa že vybrané diagnostické znaky sú reálne determinovateľné vo fragmentoch zo vzoriek trusu.

#### 6. Vyhodnocovanie charakteristických znakov a ich zosumarizovanie do prehľadného kľúča.



### b.) dosiahnuté výsledky a porovnanie s cieľmi projektu

Cieľom projektu bolo vytvorenie referenčného kľúča na botanickú kategorizáciu rastlinných fragmentov v truse raticovej zveri. Vytvorený kľúč sa skladá zo štyroch častí. Prvá teoretická časť sa venuje základom anatómie rastlinných pletív, v druhej časti sú podrobnejšie vysvetlené diagnostické znaky na základe ktorých, sa zaraďuje fragment. V tretej časti sú rastliny rozdelené do kategórií s ich následnou mikroskopickou charakteristikou. Štvrtú časť tvoria fotografie a pomocné otázky, ktoré ilustrujú diagnostické znaky a jednotlivé skupiny. Prvým krokom pri tvorbe kľúča bola determinácia diagnostických znakov a následné zdokumentovanie týchto znakov na referenčných vzorkách. Výsledkom je viac ako 1500 fotografií, ktoré ilustrujú hlavné diagnostické znaky potrebné na botanickú kategorizáciu. Analýza ukázala že z malých fragmentov z trusu raticovej zveri nie je vo všetkých prípadoch možné fragment zaradiť na úrovni druhu ale len na vyššej taxonomickej úrovni. Z tohto dôvodu bolo vytvorených 7 skupín na základe podobných anatomických črt a po zohľadnení potravných preferencií raticovej zveri.

#### Hlavné diagnostické znaky rastlinných fragmentov pri zaraďovaní :

- a) hrúbka bunkových stien
- b) výskyt a forma parenchýmu, sklerenchýmu (sklereidov a sklerenchymatických vlákien), kolenchýmu
- c) tvar, orientácia, pomer veľkostí, usporiadanie epidermálnych buniek, ich uloženie k dlhšej osi orgánu
- d) typ prieduchu (na základe tvaru zatváracích buniek a hrúbky ich bunkovej steny), jeho orientácia, usporiadanie voči dlhšej osi orgánu, uloženie voči epidermálnym bunkám
- e) výskyt a typ trichómov
- f) výskyt, typ a usporiadanie kryštalických inklúzií

#### Skupiny:

1) Trávy. Do skupiny tráv sú zaradené jednoklíčnolistové rastliny trávovitého vzhľadu z radu lipnicotvarých (Poales) konkrétne čeľade lipnicovitých (Poaceae), sitinovitých (Juncaceae) a šachorovitých (Cyperaceae)

2) Byliny a listnaté stromy. V skupine sú zaradené dvojklíčnolistové rastliny (okrem rodu *Rubus* a rodu *Vaccinium*) a asimilačné orgány listnatých drevín. Hlavným dôvodom je náročnosť determinácie rozdielov medzi fragmentami bylín a listov listnatých stromov, keďže oboje zaraďujeme do rovnakej triedy dvojklíčnolistových rastlín. Bližšie zaradenie do čeľadí by bolo neefektívne z dôvodu časovej náročnosti pri zaraďovaní jednotlivých fragmentov.

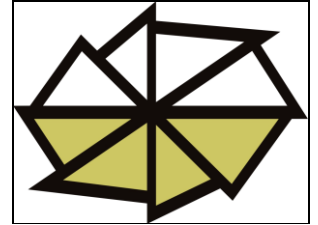
3) Ihličnaté dreviny. Skupina zahŕňa asimilačné orgány ihličnatých drevín (kôra a drevo tvoria samostatnú skupinu).

4) Kôra drevín. Skupina zahŕňa kôru (vetvičiek, vetiev, konárov, kmeňa) a drevo ihličnatých, listnatých drevín a krov, z dôvodu podobnej anatomickej stavby.

5) Rod *Rubus* a rod *Vaccinium*. Do tejto skupiny sme zaradili rod *Rubus*, druhy: *Rubus idaeus*, *Rubus caesius*, *Rubus fruticosus*, *Rubus hirtus* a rod: *Vaccinium*, druhy: *Vaccinium myrtillus*, *Vaccinium uliginosum*, *Vaccinium vitis-idaea*.

6) Paprade a machy. Skupina zahŕňa triedu: *Polypodiopsida* a ddelenie: *Bryophyta*.

7) Plody. Do tejto skupiny sú zaradené semená, plody a plodnice húb, ktoré tvoria najmä jesennom období významnú zložku potravy raticovej zveri (Dzzielowski 1967, Krojerova 2004, Krojerova- Prokešova et al. 2010).



### c.) uplatnenie výsledkov a ich prínos v riešenej problematike

Štúdium potravnjej ekológie je jednou zo základných oblastí výskumu biológie a ekológie raticovej zveri, predovšetkým vo vzťahu k prostrediu, v ktorom zver žije. Zloženie prirodzenej potravy objasňuje vzťah medzi ponukou a výberom potravy a priamo súvisí s konkrétnym druhom a výškou škôd, ktoré zver pôsobí. Riešenie problematiky negatívneho vplyvu kopytníkov na prostredie je teda podmienené čo najpresnejším poznaním ich potravnjej ekológie v danom prostredí (Dzięciołowski et al. 1975). Existuje niekoľko metód na identifikáciu potravných zložiek. Neinvazívna a v súčasnosti najviac používaná metóda je mikrohistologická analýza trusu. Princípom analýzy je identifikácia fragmentov potravy nájdených vo vzorkách trusu pomocou porovnávacieho materiálu a to preparátov rastlinných druhov získaných zo skúmanej oblasti (Žilinec 1993). Doteraz však bolo vytvorených len zopár referenčných kľúčov na identifikáciu rastlinných fragmentov (Hansen 1971, Howard & Merlin 1979, Carrière 2002), ktoré však v podmienkach Karpát nie sú použiteľné. Vzhľadom na značnú premenlivosť potravnjej ponuky je pre mikrohistologickú analýzu nutné vytvorenie určovacieho kľúča na báze lokálnej potravnjej ponuky. Cieľom nášho projektu bolo vytvorenie základov kľúča ako nástroja pre ďalší výskum potravnjej ekológie raticovej zveri v Západných Karpatoch. Referenčný kľúč na botanickú kategorizáciu rastlinných fragmentov v truse raticovej zveri (konkrétne jelenej a srnčej) pomocou mikroskopických znakov je prakticky aplikovateľný pri potravných analýzach pomocou mikrohistologických analýz. Kľúč bude ďalej využívaný ako podklad pre výskum potravnjej ekológie raticovej zveri na KOLP, ktorý bude prebiehať v rokoch 2016-2017. Kľúč je možné uplatniť pri výskume potravných preferencií aj pri iných druhoch herbivorov. Kľúč je napísaný tak aby aj študent pri písaní bakalárskej alebo diplomovej práce mohol prakticky využiť jeho obsah pri mikrohistologických analýzach.



### a) publikované výstupy

Výstup z projektu IPA č.17/2015

Poster: Určovanie rastlinných fragmentov v truse raticovej zveri: Veselovská A., Smolko P., Kropil R., konferencia FJT 100 (12. konferencia Výskum a ochrana cicavcov na Slovensku), Zvolen 11.-12.12. 2015

**Anotácia:** Mikrohologická analýza trusu je dlhodobo používaná a overená metóda analýzy selekcie potravy u herbivorov. Využíva mikroskopické znaky rastlinných fragmentov na ich následnú botanickú kategorizáciu, ktorej výsledkom je determinácia potravných preferencií druhu. Vzhľadom na značnú premenlivosť potravnéj ponuky je pre mikrohologickú analýzu nutné vytvorenie určovacieho kľúča na báze lokálnej potravnéj ponuky. Cieľom nášho projektu bolo vytvorenie takéhoto kľúča ako nástroja pre ďalší výskum potravnéj ekológie raticovej zveri v Západných Karpatoch

### b) iné výstupy

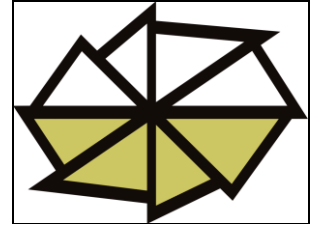
Po získanie donorácie finančných prostriedkov plánujeme v budúcnosti vydať kľúč vo forme brožúry.

*Publikačnú činnosť vykázat' v súlade s Organizačnou smernicou č. 7/2013 o bibliografickej registrácii a kategorizácii publikačnej činnosti, umeleckej činnosti a ohlasov na TU vo Zvolene.*

*Separáty publikačných výstupov tvoria prílohu záverečnej správy. V publikácii musí byť uvedené pod'akovanie IPA.*



*Ak nestačí predloha, použite kópiu tejto strany.*



### Použitá literatúra:

- Carrière, S., 2002: Photographic key for the microhistological identification of some arctic vascular plants, ARCTIC, vol. 55, no.3, s. 247- 268
- Dzięciołowski R., Kossak S., Borowski S. & Morow K. 1975: Diets of big herbivorous mammals. Polish Ecol. Studies, 1(2): 33 – 50.
- Hansen, R.M.,1971: Estimating plant composition in wild sheep diets. First Trans. North Amer.Wild Sheep Conf.,s. 180-185
- Prokešová J. 2004: Red deer in the floodplain forest: the browse specialist? Folia Zool. 53: 293–302.
- Krojerová-Prokešová, J., Barančeková, M., Šustr, P., Heurich, M., 2010: Feeding patterns of red deer *Cervus elaphus* along altitudinal gradient in the Bohemian Forest: effect of habitat and season. Wildlife Biology, 16, s. 173 – 184.
- Žilinec, M, 1993: Prehľad metód rozboru potravy prežúvavej zveri in Folia Venatoria, 23, s. 209- 2018

*Ak nestačí predloha, použite kópiu tejto strany.*



### Čerpanie bežných výdavkov spojených s riešením výskumného projektu:

Cestovné náhrady	52,20€
Konferencie, sympóziá, semináre	23,40€
Sieťové odvetvia - Komunikácie	0
Literatúra	19,80€
Vzorkový materiál	0
Drobný hmotný majetok	301,16€
Materiál, pracovné nástroje	319,96€
Rutinná a štandardná údržba	0
Mzdové náklady (max. 15 %)	0
Dohody o vykonaní práce (max. 10 %)	100€
Spolu	816,52€

### Rozpis čerpania pridelených finančných prostriedkov na riešenie projektu:

Cestovné náhrady predstavovali náklady na pokrytie stravného a cestovného na 6 ciest pre jednu osobu do terénu za účelom zberu referenčného materiálu.

Konferencia: Vstupný poplatok na konferenciu FJT 100 (11.-12.12. 2015, Zvolen), kde bol prezentovaný poster bolo 15€ a stravné tvorilo 8,40€ na dva dni.

Literatúra: Objednanie 6 kníh cez medziknižničné výpožičky. Poplatok za 1 knihu je 3,30 €.

Drobný hmotný majetok: Nákup mikroskopu Bresser LCD 50-2000x, potrebného na mikroskopovanie (180€). Nákup externého disku 1TB potrebného na uloženie fotografickej dokumentácie (91,16€). Nákup 2 x USB kľúč 32GB potrebných na prechovávanie fotografických dát (1 USB po 10,26€, celkovo 20,52€). Nákup micro SD karta 32GB potrebnej do mikroskopu (9,50€).

Materiál a pracovné nástroje:

Nákup v hotovosti v hodnote 34,90€. Nákup držiaka na skalpel a jedného balenia krycích sklíčok potrebných na mikroskopickú preparáciu (11,09€). Vytlačenie posteru (23,81€).

Nákup v sklade v hodnote 81,20€. Nakupovali sa obálky na zber referenčného materiálu, kancelárske potreby (perá, ceruzky, obaly na materiál, euroobaly, štítky lepiace a štítky záložné na označovanie materiálu spinkovač, zvyrazňovače, papier do tlačiarne potrebný na kopírovanie požičaných kníh), jar a handry potrebných na čistenie laboratórnej techniky, SAVO (chlórnan sodný) potrebné na čistenie vzoriek, ochranné rúška na tvár, rukavice.

Nákup laboratórnych potrieb v hodnote 159,26€. Konkrétne dvoch balení podložných sklíčok v hodnote 6,36€, 10 balení krycích sklíčok v hodnote 26,90 a analytického síta v hodnote 126€.

Nákup chemikálii v hodnote 44,60€.

chemikália	JM	PJ	JC €	VC €	účel použitia
chloralhydrát	g	500	13,8	36	potrebný na prípravu Hertwigovho roztoku
glycerol	1	1	6	6	potrebný na prípravu Hertwigovho roztoku
kyselina chlorovodíková	1	1	2,6	2,6	potrebný na prípravu Hertwigovho roztoku
spolu				<b>44,6</b>	

\* JM – jednotkové množstvo

PJ – počet potrebných jednotiek

JC – jednotková cena

VC – výsledná cena



Hlavným dôvodom prefinancovania projektu bolo menšie množstvo financií ako sme žiadali. V žiadosti o pridelenie financií sme žiadali o 971 €, ale pridelených nám bolo len 906 €. Druhým dôvodom bolo nedostupnosť knihy: Metcalfe CR, Chalk L, 1950: Anatomy of the Dicotyledons. Oxford: Clarendon Press, na financovanie ktorej sme žiadali 300 €. Na základe týchto faktov sme podali žiadosť o prefinancovanie, konkrétne presunutie finančných prostriedkov, ktoré nám boli schválené na literatúru do fondu na nákup materiálu a pracovných nástrojov. Žiadosti bolo vyhovené. V pôvodnom rozpočte sme taktiež nežiadali o prostriedky na financovanie dohôd o vykonaní práce. Počas realizácie projektu sme však zistili že vedúca projektu nemôže zbierať referenčný materiál v teréne bez dohody o vykonaní práce (je študentkou doktorandského štúdia a bez Dovy nemá legislatívne krytie v prípade úrazu) a preto sme museli uvoľniť financie na pokrytie tejto zmluvy. Konkrétne sa jedná o 100€, čo predstavovalo minimálnu mzdu pre násobení počtom hodín potrebných na zber referenčného materiálu v teréne.

*Ak nestačí predloha, použite kópiu tejto strany.*



**IPA**  
**TUZVO**

**Interná projektová agentúra TUZVO**

Technická univerzita vo Zvolene  
Referát vedeckovýskumnej činnosti  
T.G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, Slovensko  
tel:045/5206 416, <http://www.tuzvo.sk>



<p>Názov a adresa pracoviska:</p> <p><b>Technická Univerzita vo Zvolene</b> <b>Lesnícka fakulta</b> <b>Katedra ochrany lesa a poľovníctva</b> <b>T. G. Masaryka 20, 960 53, Zvolen</b></p>	<p>Vyjadrenie fakulty, resp. org. súčasti TUZVO (prodekan pre VVČ, resp. ním poverený zástupca, riaditeľ org. súčasti)</p> <p>.....</p> <p>Dátum a podpis:</p>
--	--