

UNIVERZA NA PRIMORSKEM  
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN  
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

ZAKLJUČNA NALOGA  
**OCENA VELIKOSTI POPULACIJE NAVADNEGA  
PUPKA (*Lissotriton vulgaris*, Amphibia: Urodela) V  
KALU NAD KASTELCEM**

TINA ROSIĆ

UNIVERZA NA PRIMORSKEM  
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN  
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Zaključna naloga

**Ocena velikosti populacije navadnega pupka (*Lissotriton vulgaris*,  
Amphibia: Urodela) v kalu nad Kastelcem**

(Population size of smooth newt (*Lissotriton vulgaris*, Amphibia: Urodela) in a pond near  
Kastelec)

Ime in priimek: Tina Rosić

Študijski program: Biodiverziteta

Mentor: doc. dr Jure Jugovic

Somentor: dr. Martina Lužnik

Koper, september 2014

## Ključna dokumentacijska informacija

Ime in PRIIMEK: Tina ROSIĆ

Naslov zaključne naloge:

Ocena velikosti populacije navadnega pupka (*Lissotriton vulgaris*, Amphibia: Urodela) v kalu nad Kastelcem

Kraj: Koper

Leto: 2014

Število listov: 44

Število slik: 10

Število tabel: 6

Število referenc: 61

Mentor: doc. dr. Jure Jugovic

Somentor: dr. Martina Lužnik

Ključne besede: navadni pupek, *Lissotriton vulgaris*, ocena velikosti populacije, fotoidentifikacija, kal nad Kastelcem

Izvleček:

Namen zaključne naloge je bila ocena velikosti populacije odraslih živali navadnega pupka *Lissotriton vulgaris* v izbranem kalu nad Kastelcem v letu 2013. Vzorčenje pupkov je potekalo spomladi v času razmnoževanja. Za oceno velikosti populacije smo uporabili metodo lova, označevanja in ponovnega ulova (angl. capture-mark-recapture ali CMR). Za prepoznavanje ponovnega ulova smo uporabili metodo fotoidentifikacije. Podatke smo analizirali v programu MARK. Populacija navadnega pupka je bila ocenjena na približno 400 živali, kar populacijo uvršča med srednje velike. Fotoidentifikacija se je pri tej vrsti izkazala za zelo primerno, saj smo na podlagi edinstvenih trebušnih vzorcev lahko prepoznali ponovni ulov. Metoda fotoidentifikacije je uporabna za takšne raziskave, saj ni invazivna in zanjo ni potrebnega večjega finančnega vložka. Populacija navadnega pupka se je v kalu nad Kastelcem v predhodnih raziskavah izkazala za stabilno, kljub temu pa jo ogroža vnos tujerodnih vrst rib, ki lahko močno vplivajo na nadaljnjo stabilnost populacije. Predvsem pomembno je tudi ohranjanje kalov kot posamičnih habitatov in kot celovito mrežo vodnih biotopov, saj nudijo ugodno življenjsko okolje za različne vrste ogroženih dvoživk in drugih organizmov.

## Key words documentation

Name and SURNAME: Tina ROSIĆ

Title of the final project paper:

Population size of smooth newt (*Lissotriton vulgaris*, Amphibia: Urodela) in a pond near Kastelec

Place: Koper

Year: 2014

Number of pages: 44

Number of figures: 10

Number of tables: 6

Number of references: 61

Mentor: Assist. Prof. Jure Jugovic, PhD

Co-Mentor: Assist. Martina Lužnik, PhD

Keywords: smooth newt, *Lissotriton vulgaris*, population size, fotoidentification, pond near Kastelec

Abstract:

The purpose of the study was to evaluate population size of adult smooth newts *Lissotriton vulgaris* in a pond near Kastelec in 2013. Sampling was conducted in the spring months during the breeding season. To evaluate the population size, we used the method of capture, mark and recapture (CMR). To identify recaptures we used the method of photo identification. The data were analyzed in program MARK. The population of smooth newt was estimated at around 400 animals, which ranks the population as medium-sized. Photo identification proved to be very appropriate for this species, because we were able to identify recaptures according to their unique ventral pattern. Photo identification is useful for such research because it is not invasive and does not require a substantial financial input. The population of smooth newt in the pond near Kastelec proved to be stable in previous studies, however threatened by introduced species of fish, which can significantly affect the stability of the population. Furthermore, conservation of ponds as isolated habitats and as a network is just as important, because they provide valuable habitat for various species of endangered amphibians.

## **Zahvala**

Iskrena hvala somentorici dr. Martini Lužnik za njeno pomoč pri izdelavi zaključne naloge. Hvala za vso znanje, ki sem ga pridobila v predavalnici in na študijskih terenih.

Iskrena hvala mentorju doc. dr. Jure Jugovicu za podane nasvete pri pripravi zaključne naloge, ter vso podano znanje tako v predavalnici kot na terenih.

Zahvaljujem se tudi članoma komisije doc. dr. Andreju Sovincu in doc. dr. Heleni Poličnik za strokovni pregled zaključne naloge in komentarje, ki so nalogo še izboljšali.

Prav tako iskrena hvala terenski ekipi, ki je z mano v vsakem vremenu vzorčila in fotografirala pupke za namen zaključne naloge. Zahvala za ponujeno pomoč gre Maji Čabraji, Kaji Vukotič, Sebastjanu Kovaču, Gaji Pavliha, Sari Zupan, Katji Kalan, dr. Martini Lužnik, Stjepanu Budimirju, Evi Praprotnik, Toniju Korenu in Petru Maričiću.

## Kazalo vsebine

1	UVOD.....	1
1.1	Morfološka definicija navadnega pupka .....	2
1.1.1	Območje razširjenosti in življenjski prostor .....	3
1.1.2	Telesne značilnosti .....	4
1.1.3	Življenje.....	5
1.1.4	Varstveni status in ogroženost navadnega pupka .....	6
1.1.5	Raziskave številčnosti populacij navadnega pupka.....	7
1.2	Kali .....	8
1.2.1	Ekologija kalov.....	9
1.2.2	Rastlinstvo in živalstvo kalov.....	10
1.3	Ocena velikosti populacije – teoretična izhodišča.....	12
1.3.1	Ocena velikosti populacije.....	12
1.3.2	Metoda lova, označevanja in ponovnega ulova.....	12
	1.3.2.1 Načini označevanja .....	13
	1.3.2.2 Fotoidentifikacija.....	14
1.4	Namen dela.....	15
2	MATERIALI IN METODE .....	16
2.1	Terensko delo .....	16
2.1.1	Vzorčenje pupkov.....	17
	2.1.1.1 Izvedba vzorčenja.....	17
	2.1.1.2 Izvedba označevanja in fotoidentifikacija.....	17
2.2	Analiza podatkov .....	18
3	REZULTATI Z DISKUSIJO.....	20
3.1	Populacija navadnega pupka v kalu nad Kastelcem.....	20
3.2	Uspešnost fotoidentifikacije .....	22
3.3	Ocena velikosti populacije navadnega pupka s programom MARK .....	26
4	ZAKLJUČEK .....	29
5	LITERATURA .....	31

## Kazalo preglednic

Preglednica 1: Protokol vzorčenja navadnega pupka v kalu nad Kastelcem, z podanimi razmiki med posameznimi vzorčenji. ....	17
Preglednica 2: Izsek preglednice zgodovine ulovov. ....	18
Preglednica 3: Povzetek ulovov navadnega pupka v kalu nad Kastelcem. ....	20
Preglednica 4: Povzetek ulovov navadnega pupka v kalu nad Kastelcem med letoma 2006-2008 (povzeto po Lužnik 2013) in primerjava z letom 2013 (to delo).....	20
Preglednica 5: Vrednosti realnih populacijskih parametrov za populacijo navadnega pupka, njihove standardne napake (SN) in 95 % interval zaupanja (IZ). * neveljavni oceni za parametra vstopa. ....	27
Preglednica 6: Ocene velikosti populacij, ki jih je podala Lužnik (2013) in v naši raziskavi leta 2013. ....	28

## **Kazalo slik**

Slika 1: Samec malega pupka <i>Lissotriton vulgaris vulgaris</i> (Foto: R. Sejkora).....	2
Slika 2: Samec robatega pupka <i>Lissotriton vulgaris meridionalis</i> (Foto: A. Chiarle).....	3
Slika 3: Območje razširjenosti navadnega pupka v Evropi (IUCN, 2009). ....	3
Slika 4: Kal nad vasjo Kastelec (Foto: M. Lužnik, 2013). ....	16
Slika 5: Število ulovljenih samcev in samic navadnega pupka tekom desetih vzorčenj leta 2013. ....	21
Slika 6: Primerjava povprečnih temperatur od februarja do maja v letih 2006, 2007, 2008 in 2013 (vir: ARSO, Arhiv meritev, 2014).....	22
Slika 7: Samec ulovljen ob treh vzorčenjih 28.3., 7.5. in 16.5. 2013.....	23
Slika 8: Samica ulovljena ob štirih vzorčenjih 4.4., 23.4., 7.5., 16.5. 2013.....	23
Slika 9: Fotografije samice z identifikacijsko številko 158, fotografirana na terenih 23.4. in 7.5. 2013. S puščico sta označeni znamenji, po katerih smo samico nedvoumno prepoznali. ....	24
Slika 10: Samica z identifikacijsko številko 158 ulovljena dne 16.5.2013 (levo) ter povečava njene trebušne strani (desno) z označenima pikama, ki potrjujeta pravilno identifikacijo samice, ki je bila ulovljena tudi na terenih dne 23.4. in 7.5. 2013 (gl. Sliko 9 za fotografiji iz predhodnih terenov). ....	24



## 1 UVOD

Upadanje populacij dvoživk je danes globalni naravovarstveni problem. Upad populacij je posledica uničevanja življenjskega prostora, kemijskega onesnaževanja, nalezljivih boleznih ter globalnih klimatskih sprememb, vnosa tujerodnih vrst in posledično do predacije (Alford in Richards 1999).

Pupki imajo značilen življenjski cikel, ki ga lahko opazimo pri večini dvoživk. Za tak cikel je značilno, da so živali enakovredno vezane tako na kopenska kot vodna bivališča. V vodna okolja se iz prezimovališč podajo v času spomladanskega razmnoževanja, po paritvenem obdobju pa se odrasle živali vračajo nazaj v kopenska, letna bivališča (Wilbur 1980). Za življenjski cikel dvoživk so zelo pomembna tudi manjša in začasna vodna telesa. Ne glede na svojo majhnost, nudijo zavetje številnim redkim in ogroženim vrstam. Ker so ti habitati danes zelo ogroženi, je pomembno, da se jih zaščitijo in ohrani (Zacharias in sod. 2007).

Na območju Slovenije živijo štiri vrste pupkov. Navadni pupek *Lissotriton vulgaris*, veliki pupek *Triturus carnifex* in planinski pupek *Mesotriton alpestris* so bili v Sloveniji že vrsto let (Vogrin 1999; Pobljšaj 2001). Spomladi leta 2009 in 2010 so v Sloveniji prvič potrdili prisotnost panonskega pupka *Triturus doborogicus* (Stanković in Delić 2012). Navadni pupek, ki je predmet te raziskave, je najpogostejša vrsta pupka pri nas. Razširjen je po vsej Sloveniji, pogosteje pa se pojavlja v nižinah (Pobljšaj 2001).

Kali so edine površinske vode na krasu. Zaradi opuščanja živinoreje in uporabe vodovoda so se začeli zaraščati in izsuševati. Skozi čas so kali postali zatočišča redkih in ogroženih rastlinskih in živalskih vrst. Zaradi manjšanja števila ustreznih kalov je začela upadati biotska pestrost, vse redkejši so postali predvsem hribski urh *Bombina variegata*, zelena rega *Hyla arborea*, pupki (*Triturus*, *Lissotriton* in *Mesotriton*), kačji pastirji (Odonata) ter številne druge vrste živali in rastlin (Kodele-Krašna 2007). Posebej pomembno je, da se ohranja kale kot mrežo vodnih ekosistemov, saj se z zmanjševanjem njihovega števila povečuje razdalja med njimi, kar vpliva na manj uspešno razmnoževanje nekaterih vrst, kakovostna izmenjava genskega materiala pa je manjša (Pobljšaj in sod. 2007; Maher 2007). Kakovostno mrežo sestavljajo različne sukcesijske stopnje kalov, od očiščenih z malo rastlinja do zaraščenih, saj se s tem poveča vrstna pestrost (Pobljšaj in sod. 2007). Hkrati z ohranjanjem kalov pa je potrebno ohranjati tudi zelene koridorje, ki omogočajo prehajanje vrst med njimi (Maher 2007).

## 1.1 Morfološka definicija navadnega pupka

Navadni pupek *Lissotriton vulgaris* (Linnaeus 1758) je politipska vrsta. Po dosedanjih raziskavah, ki so temeljile na zunanjih morfoloških značilnostih, je danes priznanih ter opisanih sedem podvrst, in sicer: *L. v. ampelensis* (Fuhn 1951); *L. v. graecus* (Wolterstorff 1905); *L. v. kosswigi* (Freitag 1995); *L. v. lantzi* (Wolterstorff 1914); *L. v. meridionalis* (Boulenger 1882); *L. v. schmidlerorum* (Raxworthy 1988); in nominalna podvrsta *Lissotriton vulgaris vulgaris* (Linnaeus 1758). Podvrste med seboj ločujemo po sekundarnih spolnih znakih samcev, kot so morfologija hrbtne grebene, krp na prstih, konice repa, oblika trupa v prečnem prerezu, prisotnost hrbtno-bočnih gub in obarvanost (Raxworthy 1990).

V Sloveniji živita dve podvrsti navadnega pupka, in sicer: mali pupek *L. v. vulgaris* (Slika 1) in južni ali robati pupek *L. v. meridionalis* (Slika 2) (Stanković 2013; Pobjoljšaj 2001; Vogrin 1999).



Slika 1: Samec malega pupka *Lissotriton vulgaris vulgaris* (Foto: R. Sejkora).



Slika 2: Samec robatega pupka *Lissotriton vulgaris meridionalis* (Foto: A. Chiarle).

### 1.1.1 Območje razširjenosti in življenjski prostor

Vrsta je splošno razširjena po skoraj celotni Evropi, z izjemo Iberskega polotoka in jugozahodnega dela Francije. Razširjena je od severnega dela Evrope (Irska in Velika Britanija) ter Skandinavije, preko zahodne in srednje Evrope, na jugu do Italije in Balkanskega polotoka, severne in zahodne Turčije, ter vse do zahodne Sibirije. Obstajajo tudi izolirane populacije na Kavkazu. Najpogosteje naseljuje nižine in ga lahko najdemo od 0 m do 1000 m nadmorske višine, v Avstriji pa je prisoten tudi na višini 2150 m (Arntzen in sod. 2009; Griffiths 1996).



Slika 3: Območje razširjenosti navadnega pupka v Evropi (IUCN, 2009).

Navadni oz. mali pupek v Sloveniji naseljuje predvsem panonsko regijo na severovzhodu ter jugovzhodu, ostale predele pa poseljuje robati pupek. Natančnega poteka meje med obema podvrstama še ne poznamo, opisane pa so bile tudi živali z vmesnimi značilnostmi obeh podvrst (Poboljšaj 2001, Lužnik 2013).

Najpogosteje za svoj življenjski prostor v času razmnoževanja izbira bolj ali manj stalne, majhne do srednje velike stoječe ali počasi tekoče vode brez rib. Z ribami lahko sobiva v večjih vodnih telesih, kjer je omejen na plitvejša predele. V aktivnem delu leta, ki ga preživi na kopnem, se najraje zadržuje v senčnih in vlažnih habitatih, kot so gozdovi, travniki, parki, mejice, vrtovi ter močvirja (Griffiths 1996; Arntzen in sod. 2009).

### 1.1.2 Telesne značilnosti

Navadnega pupka uvrščamo med manjše repate dvoživke, saj v dolžino ne presega 10 cm. Kot za ostale pupke, je tudi za navadnega pupka značilen bočno sploščen rep in za razliko od močeradov pupki nimajo vidnih zaušesnih žlez. Trebuh je pri samicah po sredini obarvan nežno oranžno, pri samcih je oranžna barva izrazitejša. Pri posameznih živalih je lahko oranžna obarvanost skoraj neopazna. Ob straneh prehaja v odtenke svetlo rumene do bele barve. Za navadnega pupka so značilne številne pike, ki pokrivajo celoten trebuh, in so lahko tudi na svetlem grlu in repu, kjer pa so redkejša in manjša. Pike se med seboj ne povezujejo. Za samce so značilne večje in izrazitejše pike, pri samicah pa so lahko te skoraj nevidne. Za odrasle živali, ki se zadržujejo v vodi, je značilna gladka olivno zelenkasto rjava koža s temnejšimi pegami. Ko pupki preidejo na kopno se koža odebeli in postane žametasta. Samice so enobarvne in bolj valjaste oblike kot samci. V paritvenem obdobju samcem vzdolž trupa in repa zraste kožnat hrbtni greben, na zadnjih okončinah se razvije plavalna kožica, kloaka pa se odebeli. Na spodnjem delu repa se pojavi izrazita rdeče-modra vzdolžna proga (Vogrin 1999; Griffiths 1996; Stanković 2013).

V Sloveniji živeči podvrsti ločimo po obliki telesa in po obliki hrbtne grebena. Za robatega pupka je značilno, da ima zaradi izrazitih hrbtno-bočnih gub, bolj oglat trup, hrbtni greben pa je na sredini telesa nizek (<1,5 mm) in gladek. Konica repa je zožena, vendar brez repnega filamenta. Krpe na prstih so dobro razvite ter velike. Za razliko od robatega pupka je trup malega pupka bolj zaobljen, saj nima hrbtno-bočnih gub, greben je visok (>1,0 mm) in nazobčan ter sega vse do oči. Konica repa je nekoliko zaobljena, brez repnega filamenta. Krpe na prstih so slabše razvite (Raxworthy 1990).

### 1.1.3 Življenje

Povprečna življenjska doba navadnega pupka se giblje med šest in osem let. Samci spolno dozori pri dveh do treh letih, samice kakšno leto kasneje. V hladnejših območjih, kjer sta rast in razvoj počasnejša, lahko navadni pupek živi tudi do dvakrat dlje, spolna zrelost pa nastopi dve do tri leta kasneje (Griffiths 1996). Bell (1977) navaja, da je letno preživetje odraslih živali približno 50 %. Razmerje med spoloma v populacijah je približno enako, vendar prihaja do odstopanj zaradi večje stopnje smrtnosti samcev (Bell 1977; Griffiths 1996).

Spomladi, ko se temperature dvignejo nad 5 °C, se začno odrasle živali seliti v vodna telesa, kjer se razmnožujejo. Na migracijo pupkov v vodna telesa pomembno vplivata temperatura in količina padavin. Razmnoževanje poteka spomladi in zgodaj poleti, v Sredozemlju, kjer temperature ne padejo pod 0 °C, pa pupki začno migrirati v mrestišča že pozimi (Griffiths 1996; Bell 1977). Najprej se na mrestišča vrnejo samci in v njih ostanejo dlje kot samice.

Pupki so aktivni zgodaj zjutraj in zgodaj zvečer, ko se razmnožujejo in prehranjujejo. Dvorjenje vključuje tri glavne faze. Pri orientacijski fazi samec samici sledi, ovohavava njeno kloako in plava pred njo, vse dokler ne pritegne njene pozornosti. Če je ta faza uspešna, sledi faza statičnega razkazovanja, v katerem se samec želi pokazati kot najboljša izbira za samico. V tej fazi se samec pred samico postavi tako, da bočno razkazuje celotno telo in rep, pri tem pa z repom zamahuje proti boku. Če je samico pritegnil, se začne pomikati proti njemu, samec pa se pomika nazaj in nadaljuje z razkazovanjem. Če je dvorjenje uspešno, sledi parjenje. Samec pri tem odloži spermatofor, samica pa ga sprejme s kloako (Griffiths 1996). Samice in samci se lahko v razmnoževalnem obdobju pariyo tudi večkrat (Halliday 1998). Gabor in Halliday (1997) sta v raziskavi ugotovila, da samice pri prvem parjenju niso tako izbirčne, kot pri drugem. Pri prvem parjenju bodo izbrale tudi samce z nižjim hrbtnim grebenom, medtem ko bodo pri naslednjih parjenih raje izbirale samce z višjimi grebeni.

Samice po parjenju v nekaj tednih odložijo 200 do 300 jajčec in vsako posebej zavijejo v liste vodnih rastlin (Griffiths 1996; Halliday 1998). Število odloženih jajčec se povečuje s starostjo ter niha med 100 jajčeci pri samicah starih tri leta in 400 jajčeci, ki jih lahko odložijo 12-letne samice (Bell 1977). V jajčecih so vidni zarodki, ki so kremaste ali rumenorjave barve. Zaščiteni so z želatinasto kapsulo, ki v dolžino meri štiri milimetre. Iz jajčec se v nekaj tednih razvijejo ličinke, ki so podobne odraslim živalim, vendar dihaajo s

peresastimi škrgami. Ličinke so dolge do štiri centimetre, imajo koničast rep ter relativno kratke prste (Griffiths 1996).

Pupki se po razmnoževanju vrnejo v svoja kopenska bivališča. Za navadnega pupka je značilno, da se zadržuje v bližini mrestišč (Griffiths 1996). V različnih raziskavah je bilo dokazano, da se pupki odselijo od 50 do 500 m stran od mrestišča (Kinne 2006; Smith in Green 2005; Bell 1977). Pupki se proti prezimovališčem podajo pozno jeseni ali zgodaj pozimi. Prezimijo v razpokah ali luknjah v tleh, med koreninami dreves ali grmovnic in drugih skrivališčih, ki jih varujejo pred nizkimi temperaturami (Kinne 2006). Značilna je filopatrija, saj se pupki vračajo v mrestišča, kjer so se izvalili (Griffiths 1996).

#### **1.1.4 Varstveni status in ogroženost navadnega pupka**

Navadni pupek je v Sloveniji zavarovan z Uredbo o zavarovanih prosto živečih živalskih vrstah (2004). V Pravidniku o uvrstitvi ogroženih rastlinskih in živalskih vrst v rdeč seznam je navaden pupek opredeljen kot ranljiva vrsta (2002), medtem ko ga IUCN uvršča med manj ogrožene vrste (*least concern*), saj imajo globalno široko geografsko razširjenost, populacije so domnevno velike, prebivajo pa v različnih habitatih (Arntzen in sod. 2009). Po Bernski konvenciji je navadni pupek uvrščen v Prilogo III kot zavarovana živalska vrsta in v prilogo IV Direktive o habitatih kot vrsta, ki je pomembna za EU in potrebuje strogo varstvo (Konvencija... 1999).

Populacije navadnega pupka bi naj bile stabilne (Arntzen in sod. 2009). Grožnje navadnemu pupku so predvsem na lokalni ravni in so povezane z izsuševanjem, onesnaževanjem in eutrofikacijo mrestišč, sečnjo okoliških gozdov in vnašanjem plenilskih vrst rib (Arntzen in sod. 2009).

Na območju naše raziskave pupke ogroža vnos invazivnih vrst, predvsem rib (Lužnik 2013). Drugi dejavnik ogrožanja populacij navadnega pupka na tem območju je opuščanje skrbi za vodna telesa, ki nudijo ugoden habitat za navadnega pupka (Poboljšaj 2007). Cilj projekta *1001 kal – 1001 zgodba o življenju*, ki je potekal med leti 2005 in 2007, je bil ohraniti in izboljšati stanje mreže kalov in s tem biodiverzitete. V sklopu projekta je bil velik poudarek na sodelovanju z javnostjo in informiranje javnosti o potrebi po skrbi za kale (Kodele-Krašna 2007). Tudi v čezmejnem projektu BioDiNet si prizadevajo ohranjati kale, ki so zaradi opuščanja tradicionalne rabe vse bolj ogroženi (BioDiNet 2013).

### 1.1.5 Raziskave številčnosti populacij navadnega pupka

Minimalna viabilna populacija (angl. Minimal viable population, MVP) je ključen pojem za oceno tveganja izumrtja populacije. MVP predpostavlja, da obstaja minimalen prag števila osebkov, ki bodo zagotovili stabilnost populacije za določeno obdobje (Rai 2003). MVP za katerokoli vrsto v kateremkoli habitatu je najmanjša velikost izolirane populacije, za katero obstaja 99 % možnost preživetja za naslednjih 1000 let, ne glede na demografsko, okoljsko ali genetsko stohastičnost in ne glede na naravne katastrofe (Shaffer 1981, Kryštufek 1999). Ponekod lahko zasledimo kriterij 95 % možnosti preživetja za 100 let (Shaffer 1981, Verboom in sod. 2001). Ti kriteriji so odvisni od biologije vrste in strukturiranosti metapopulacije, definirani pa so kot minimalno število reproduktivnih parov, ki lahko vzdržujejo viabilno metapopulacijo (Verboom in sod. 2001). Jantke in sodelavci (2011) navajajo velikost MVP za dvoživke 200 reproduktivnih parov.

Številčnost populacij navadnega pupka so raziskovali v številnih državah po Evropi, npr. v Sloveniji (Lužnik 2013), v Nemčiji (Weddeling in sod. 2004), Veliki Britaniji (Deeming 2009), Romuniji (Bogdan in sod. 2012). Kal nad Kastelcem, ki ga obravnavamo v naši raziskavi, se je v prejšnjih raziskavah izkazal za zelo primerne za spremljanje populacije pupkov. Lužnik (2013) je v svoji raziskavi ovrednotila varstveni status navadnega in velikega pupka v sistemu izoliranih kraških teles. V raziskavi je vzorčila navadnega pupka v kalu nad Kastelcem med letoma 2006 in 2008 in sicer v času spomladanskega razmnoževanja. Leta 2006 je v kalu vzorčila petkrat, leta 2007 osemkrat in leta 2008 šestkrat. Puppe je lovila z vodno mrežo, vzorčenje pa je vsakič potekalo 60 minut. Za označevanje je uporabila metodo amputacije prstov. Za oceno velikosti populacije je podatke analizirala ločeno po spolih z modelom POPAN v programu MARK. Navaja, da je populacija navadnega pupka v tem kalu dokaj stabilna in šteje približno 300 samic in 300 samcev. Populacije na območju Kraškega roba dosegajo kriterij MVP in so predvidoma dovolj velike, da jih ne ogrožata genetska in demografska stohastičnost.

Weddeling in sodelavci (2004) so raziskavo številčnosti pupkov opravljali v petih mlakah v bližini kraja Bonn v Nemčiji. Za ciljni vrsti so izbrali navadnega in planinskega pupka. Za vzorčenje so uporabili različne metode. Od junija 2000 do decembra 2001 so okoli mlak postavili mreže ter talne in vodne pasti. Talne pasti so postavili na obe strani mreže v razdalji tri do osem metrov. Pasti so dnevno preverjali. Živali, ki so padle v talne pasti, so označili z amputacijo prstov in jih nato spustili na nasprotno stran mreže. Vodne pasti so postavili za obdobje dveh tednov v času razmnoževanja, od konca aprila do sredine maja in so jih preverjali dnevno. V mlaki je hkrati bilo postavljenih največ osem pasti. Oceno velikosti populacije so pridobili s pomočjo Lincoln-Petersenove metode. V štirih mlakah



so populacije navadnega pupka dosegle kriterij MVP, v enem primeru je bila ocena velikosti populacije manjša. Iz tega izhajajo, da so populacije glede na velikost stabilne.

Deeming (2009) je ocenjeval velikost populacije navadnega pupka v mlaki na območju Lincolnshire na vzhodu Velike Britanije. Vzorčenje je potekalo v času parjenja od sredine marca do sredine julija v razmikih največ 8 dni. Za lovljenje so uporabili dve metodi. Mlako so obiskali ob večerih, pri čemer so svetilkami iskali odrasle živali, ki so jih z mrežo odstranili iz vode in čez noč pustili v vedrih. Vzorčenje s to metodo je potekalo med 25 in 30 minut, vzorčile pa so v povprečju 4 osebe. V zadnjih 4 tednih raziskave so v mlako in okoli nje postavili tudi 10 pasti, izdelane iz plastenk, ki so jih pustili čez noč. Za metodo prepoznavanja živali so izbrali fotoidentifikacijo. Velikost populacije so ocenili ločeno za vsak dan z Lincoln-Petersenovo metodo. Hkrati so testirali še tri metode za izračun velikosti populacij; metodo pseudo-odstranjevanja (pseudo-removal), metodo po Schnablu in Burhman-Overtonovo metodo. Celotna velikost populacije je bila po vseh pristopih ocenjena na okoli 205 živali, kar uvršča populacijo med srednje velike. Največ pupkov je bilo prisotnih v mlaki od sredine aprila do sredine maja. Fotoidentifikacija se je v obnesla kot primerna za takšno raziskavo. S to metodo so lahko tudi opazili majhne spremembe v intenziteti pik, skozi razmnoževalno obdobje, ki so bile na grlu veliko bolj konstantne kot na trebuhu. S potekom razmnoževalnega obdobja, se je intenziteta pik na trebuhu spreminjala, ne pa tudi vzorec.

Bogdan in sod. (2012) so ocenjevali velikost populacije navadnega in velikega pupka v mlaki v severnem delu gorovja Tarcu v Romuniji. Raziskava je potekala od konca marca do sredine avgusta. Za metodo so izbrali popolno štetje, saj so v vsakem vzorčenju ujeli vse živali, ki so bile prisotne v mlaki. Ujete živali so prešteli in za vsako zabeležili spol. Na vseh sedmih vzorčenjih so skupaj našli 2874 živali, kar populacijo uvršča med večje, hkrati pa dosega kriterij MVP. Tudi v tem primeru je bilo največje število pupkov v času od sredine aprila do začetka maja. Ta populacija je po dosedanjih raziskavah najštevilčnejša populacija v Romuniji. Vse navedene raziskave, ki so bile opravljene v različni delih Evrope, potrjujejo navedbo Arntzena in sod. (2009), ki opredeljujejo populacije navadnega pupka kot velike in stabilne.

## 1.2 Kali

Po definiciji Ramsarske konvencije so začasna vodna telesa (ang. *temporary ponds*), ki imajo izjemen pomen za življenje dvoživk, majhna, plitva vodna telesa, naravnega nastanka. V povprečju so manjša od 100 kvadratnih metrov in so izolirana od stalnih vodnih pritokov (Sánchez-Carrillo 2009).



Z razliko od začasnih vodnih teles, ki jih opisuje Ramsarska konvencija so vsi kali, ki se nahajajo na Krasu antropogeno pogojeni krajinski elementi (Babij in sod. 2008). Maher (2007) jih opisuje kot manjše kotanje, ki so jih ustvarjali ljudje za potrebe oskrbovanja z vodo. Pobljšaj in sodelavci (2007) so kale opisali kot vodna telesa, katerih površina v povprečju meri manj kot 200 kvadratnih metov, globina vode pa ne presega metra in pol. Zanje poznamo tudi izraze lokva, puč ali vaška. Po Slovarju slovenskega knjižnega jezika je kal »plitvejša kotanja s stoječo vodo; mlaka« (SSKJ 2000). Kali so značilni za območja na katerih je površinskih vod malo, deževnica pa hitro odteka v podzemlje (Pobljšaj in sod. 2007). Kale so uporabljali kot zbiralnike za pitno vodo za ljudi in živino, za zbiranje vode za uporabo v kmetijstvu in proizvodnjo ledu v zimskem času (Bressi in Stoch 1999).

Lokacija kala je bila vedno dobro premišljena, saj je ta moral biti v bližini pašnikov, hkrati pa je moral imeti zadosten vir vode. Kale zato pogosto najdemo na dnu pobočij, po katerih se je stekala deževnica. Pogosto okoli kalov zasledimo zasajene vrbe beke in topole, ki so ob vročih, sončnih dneh zasenčili kale in s tem preprečevali segrevanje vode in upočasnili izhlapevanje. Za tesnjenje naravnih vrtač ali izkopanih kotanj se je uporabljala glina. Danes pa namesto gline pogosto uporabljajo različne druge vodotesne snovi. Glina tesni le, kadar se jo stalno tepta in je zato bila primerna takrat, ko so kali imeli vlogo napajališč. Opuščanje živinoreje je bistveno vplivalo na kale. Zaradi zmanjšanja števila živine, ki bi teptala glino, so se kali začeli izsuševati in zaraščati. Prav tako ljudje niso več skrbeli za čiščenje kalov, zato so se začeli polniti z usedlinami in rastlinjem. Zapuščene in zaraščene kale so začeli zasipavati, spremenili pa so jih tudi v odlagališča odpadkov (Maher 2007).

Kljub temu, da so kali večinoma antropogenega nastanka, je njihovo ohranjanje in vzdrževanje pomembno, saj s skrbjo za njih ohranjamo vrstno, ekosistemsko in krajinsko pestrost. Kali so hkrati pomemben del tako naravne kot kulturne dediščine (Babij in sod. 2008).

### **1.2.1 Ekologija kalov**

V kalih se ciklično izmenjujeta faza, ko je kal napolnjen z vodo in faza, ko se kal izsuši (Sánchez-Carrillo 2009), čeprav za naše kale ne velja vedno, da se izsušijo in so lahko napolnjeni več let. Kali predstavljajo popoln vodni ekosistem, kjer so abiotski in biotski dejavniki v ravnovesju. V kalih so vse tri temeljne skupine organizmov: producenti, potrošniki in razkrojevalci. V kalu je vzpostavljen kompleksen prehranjevalni splet, med vrstami pa so vzpostavljeni vsi temeljni medvrstni odnosi: kompeticija, predacija, parazitizem in simbioza (Pobljšaj in sod. 2007).

Glavni vir napajanja kalov predstavlja deževnica, lahko pa so povezani z izviri. V kalih so vodna nihanja redna in izrazita. Največ vode je v kalu v času padavinskega viška, v jesenskih, zimskih in pomladanskih mesecih, najmanj pa, ko se temperature povzpnejo najvišje, v drugi polovici poletja (Sánchez-Carrillo 2009; Pobljšaj in sod. 2007). Velika so tudi temperaturna nihanja. Ker kali večinoma niso globoki, so dobro presvetljeni, kar omogoča rast in razvoj številnih alg in višjih rastlin, ki s fotosintezo vnašajo raztopljen kisik v vodo. Na rast rastlin pa vplivajo tudi količine hranilnih snovi. Našteti dejavniki se ciklično spreminjajo tako dnevno kot sezonsko. V kalu so zato organizmi, ki imajo različne prilagoditvene mehanizme, kar jim omogočajo preživetje neugodnih razmer (Pobljšaj in sod. 2007). Nekatere živali, kot so pijavke in maloščetinci, so v kalih stalno prisotne. Izsušitev kala lahko preživijo zakopane v sediment. Nekatere rastline in raki neugodne razmere preživijo v mirujočih stanjih s prilagojenimi razvojnimi fazami. Praživali in alge dodatno ščiti neprepustna ovojnica, ki preprečuje izgubo vode. Ko pride do ponovne zapolnitve kala z vodo, lahko ti organizmi postanejo aktivni v zelo kratkem času. Za nekatere žuželke, še zlasti pa za dvoživke, je značilno, da kal v sušnem obdobju zapustijo (Brönmark in Hansson 2005).

V procesu naravne sukcesije se v kalih sčasoma začne nabirati organski material, kar vodi v razrast rastlin, ki še povečujejo organsko maso in eutrofikacijo. Zaradi spremenjenih razmer se spreminjajo tudi rastlinske in živalske vrste v kalu. Postopoma sukcesija privede do izsušitve kalov, zato je za njihovo ohranitev potrebno periodično čiščenje in obnavljanje s strani človeka (Pobljšaj in sod. 2007).

### 1.2.2 Rastlinstvo in živalstvo kalov

Rastlinstvo kalov lahko glede na pojavljanje v vodi razdelimo na več skupin: potopljene rastline, plavajoče vodne rastline in močvirske rastline. V kalih na Krasu so najbolj zastopani rastlinski predstavniki širokolistni rogoz *Typha latifolia*, mala vodna leča *Lemna minor*, trpotčasti porečnik *Alisma plantago-aquatica*, močvirska sita *Eleocharis palustris*, rod zelenih alg *Chara* spp., suličastolistni porečnik *Alisma lanceolatum* in plavajoči dristavec *Potamogeton natans* (Zelnik in sod. 2012). Poleg makrofitov so v kalu tudi mikroskopsko majhni organizmi – alge in cianobakterije, ki so prav tako primarni producenti. Mikroskopske alge predstavljajo pomemben vir prehrane za majhne živali. Vegetacija v kalih tvori številne ekološke niše, ki so pomembne za obstoj živalskih vrst, saj jim nudijo tako prehrano kot zavetje, nekatere živalske vrste pa na rastline odlagajo jajca (Pobljšaj in sod. 2007).

V kalih so lahko številne živali, od enoceličnih organizmov do vretenčarjev. Med predstavniki nevretenčarjev najdemo številne žuželke, ki so v kalu prisotne kot ličinke: enodnevnice (Ephemeroptera), kačji pastirji (Odonata), mladoletnice (Trichoptera) in dvokrilci (Diptera); ali tudi kot odrasle živali: stenice (Heteroptera) in hrošči (Coleoptera). Največjo skupino nevretenčarjev predstavljajo raki: škrgonožci (Anostraca), ščitonosci (Notostraca), školjkarji (Conchostraca), vodne bolhe (Cladocera), dvoklopniki (Ostracoda), ceponožci (Copepoda), enakonožci (Isopoda) in postranice (Amphipoda; Zacharias in sod. 2007). Poleg naštetih so v kalih prisotne tudi praživali, vrtinčarji (Turbellaria), valjasti črvi (kotačniki (Rotifera), gliste (Nematoda)), mehkužci (školjke (Gastropoda), polži (Bivalvia)), pijavke (Hirudinea), maloščetinci (Oligochaeta), pajkovci (pajki (Araneae), pršice (Acarina)) ter številne druge vrste (Williams 1997).

Najpogostejši vretenčarji v kalih so dvoživke. Zanje so kali pester habitat in pomembno mesto za razmnoževanje. Dvoživke v kalih živijo vsaj do preobrazbe iz ličink v odrasle živali, nekatere pa so tudi kot odrasle živali določeno obdobje še vezane na vodno okolje. Dvoživke imajo življenjski cikel prilagojen na sezonske spremembe v kalih (Griffiths 1997).

V slovenskem Primorju živi deset vrst dvoživk, od tega tri vrste repatih krkonov (Urodela) in sedem vrst žab (Anura). Paboljšaj (2007) je v svoji raziskavi zabeležila vrste, ki jih najpogosteje najdemo v kalih: navadnega pupka, rosnico *Rana dalmatina*, velikega pupka, navadno krastačo *Bufo bufo* in hribskega urha. Zabeležila je tudi sekuljo *Rana temporaria*, zeleno rego, navadnega močerada *Salamandra salamandra*, zeleno žabo *Pelophylax kl. esculentus* in debeloglavko *Pelophylax ridibundus*.

Med predstavniki vretenčarjev so v kalih nekatere vrste rib. Tiste vrste, ki so v kalih avtohtone, so naravno prisotne le v kalih, v katerih je povezava s tekočimi vodami. kale naravno le tam, kjer obstaja povezava s tekočimi vodami. Najpogosteje se ribe znajdejo v kalih zaradi človeškega poseganja, zato največkrat v njih najdemo zlate ribice *Carassius auratus*. Ribe negativno vplivajo na nekatere vrste, saj se hranijo z vodnimi žuželkami, paglavci in mresti dvoživk, lahko pa tudi z rastlinjem, na katerih so jajčeca dvoživk. V kalih lahko včasih opazimo tudi plazilce. Najpogostejša je belouška *Natrix natrix*, redkejša je kobranka *Natrix tessellata*. Večkrat je v kalih lahko tudi želva rdečevratka *Trachemys scripta elegans*, ki jo v kale odvrže človek. Tudi rdečevratka je tujerodna invazivna vrsta, ki je plenilec nekaterih vrst ter konkurent za hrano drugim plenilskim vrstam (Paboljšaj in sod. 2007).

## 1.3 Ocena velikosti populacije – teoretična izhodišča

### 1.3.1 Ocena velikosti populacije

Pogosto je ocena velikosti populacij ter dejavnikov, ki vplivajo na njihovo velikost, predmet različnih raziskav. Cilj takšnih raziskav ni samo ocena številčnosti, ampak tudi prepoznavna demografskih spremenljivk, ki vplivajo na številčnost, med njimi rodnost, migracije in smrtnost (Pollock in sod. 1990). Spremljanje populacij dvoživk je v današnjih časih zelo pomembno, saj so dvoživke ogrožena skupina, ki v mnogih delih sveta izumira (Halliday 2006).

Za ocenjevanje velikosti populacije se uporabljajo različne metode. Osnovna neposredna metoda je popolno štetje. Ta metoda je pogosto neizvedljiva, saj ne moremo biti prepričani, da smo zaznali in prešteli vse živali v populaciji, zato lahko pri oceni pride do velikih napak. Popolno štetje pogosto onemogoča visoka stopnja mobilnosti preučevanih vrst. Na podlagi tega pristopa so se razvile različne metode, pri katerih se preštejejo samo živali, ki so v času štetja prisotne na določenih vzorčnih mestih. Z oceno zaznavnosti lahko ocenimo približno velikost populacije, vendar je tudi ta metoda običajno težje izvedljiva, saj ne moremo biti prepričani, da smo zaznali vse prisotne živali na izbranem območju vzorčenja. Kot tretji pristop k ocenjevanju velikosti populacije se lahko v nekaterih primerih preko posrednih indikatorjev (npr. štetje iztrebkov, štetje mrestov) določi relativni indeks populacije, ki nam prikaže populacijske trende (vzponi, padci, stabilnost populacij), vendar z njim ni mogoče oceniti dejanske velikosti populacije (Greenwood in Robinson 2006).

### 1.3.2 Metoda lova, označevanja in ponovnega ulova

Metoda lova, označevanja in ponovnega ulova (angl. *capture-mark-recapture* ali CMR) temelji na ulovu osebkov, označitvi in izpustu ter vsaj enkratnem ponovnem vzorčenju (Donnelly in Guyer 1994). Ob prvem vzorčenju ulovljene osebkke označimo ( $n_1$ ) in izpustimo. Pri drugem vzorčenju preštejemo vse ulete osebkke ( $n_2$ ) in število ponovno ulovljenih osebkov ( $m_2$ ). Ocena velikosti populacije ( $N$ ) temelji na predpostavki, da je delež ponovno ulovljenih osebkov ( $m_2$ ) v istem razmerju do celotnega števila ujetih osebkov v drugem vzorčenju ( $n_2$ ), kot je delež prvotno označenih osebkov ( $n_1$ ) v istem razmerju do celotne populacije ( $N$ ) (Pollock in sod. 1990; Greenwood in Robinson 2006):

$$\frac{m_2}{n_2} = \frac{n_1}{N}$$

iz te formule lahko izpeljemo oceno številčnosti populacije

$$\hat{N} = \frac{n_1 n_2}{m_2}$$

To razmerje imenujemo Lincoln-Petersenov indeks, ki temelji na treh predpostavkah: a) populacija je zaprta ter v njej ni prirastka ali izgub ter migracij; b) vsi osebki imajo enako možnost ponovnega ulova v naslednjem vzorčenju; c) označbe se ne izgubijo oz. jih ne spregledamo (Pollock in sod. 1990).

### 1.3.2.1 Načini označevanja

Za potrebe raziskovanja po metodi ulova, označevanja in ponovnega ulova je potrebno osebkke označiti. Označimo lahko:

- a) vse živali enako,
- b) skupinsko, pri čemer označimo iz posameznega ulova vse živali enako, ali
- c) individualno, kjer ima vsaka žival edinstveno označbo.

Z individualnim označevanjem lahko pridobimo največ informacij o posameznih živalih in njihovem ponovnem ulovu (Kinkead in sod. 2006; Bailey in sod. 2004).

Pri označevanju in prepoznavanju posameznih živali pri dvoživkah lahko uporabimo več metod. Izbira označevanja je odvisna od preučevane vrste in števila označenih živali, vpliva označbe na živali, trajanja raziskave ter finančnih zmožnosti (Halliday 2006). Idealen način označevanja pri živalih naj ne bi izzval bolečine in/ali stresa, označevanje pa mora biti dovolj preprosto, da ga lahko izvedemo tudi na terenu. Predvsem je pomembno, da so oznake dovolj dolgotrajne in razpoznavne, kar omogoča prepoznavo označenih živali med trajanjem raziskave. Nikakor pa označevanje ne sme biti vzrok smrti živali, ne sme imeti negativnega vpliva na razmnoževanje ter na vedenje. Označevanje ne sme spodbuditi povečanja predacije na označene živali (Ferner 2010, Beausoleil in sod. 2004). Do nedavnega je bila najbolj uporabljena metoda označevanja dvoživk amputacija prstov. Pri amputaciji prstov se lahko tkivo uporabi tudi za nadaljnje genetske raziskave in za ugotavljanje starosti s pomočjo skeletokronologije. Druge metode, ki se uporabljajo za označevanje, so prepoznavanje naravno prisotnih kožnih vzorcev, obarvanje kože z fluorescentnimi barvili, vstavljanje obarvanih implantatov, nameščanje elastičnih obročkov in kožnih transplantacij ter pasivnih integriranih transponderjev (Halliday 2006). Ferner (2010) navaja, da je kombinacija dveh metod boljša izbira, saj lahko druga metoda dodatno potrdi morebiten ponovni ulov ali pa služi kot podpora v primerih, ko je prva oznaka

izginila. Kot takšno kombinacijo je navedel kombinacijo amputacije prstov in fotoidentifikacije.

### 1.3.2.2 Fotoidentifikacija

Vedno bolj se za prepoznavanje posameznih živali ob ponovnem ulovu uporablja prepoznavanje kožnih vzorcev, ki je manj invazivna metoda (Halliday 2006). Kožni vzorci in obarvanost nekaterih vrst dvoživk se pri posameznih živalih razlikujejo in so enakovredni prstnim odtisom pri človeku (Donnelly in sod. 1994). Posamezne živali lažje prepoznamo, če pri primerjavi upoštevamo trebušne vzorce in vzorce na grlu (Deeming 2009). Čeprav so trebušni vzorci dober prepoznavni znak posamezne živali, pa je pri raziskavah, ki potekajo več let, potrebno paziti, saj se lahko vzorci s starostjo nekoliko spremenijo. Ta težava se lahko pojavi predvsem pri juvenilnih živalih, pri odraslih živalih so pa te spremembe zanemarljive (Baker in Gent 1998).

Metoda fotoidentifikacije se je izkazala za uspešno v številnih populacijskih raziskavah. Metoda je široko uporabna, saj so z njo preučevali populacije kitov, polarnih medvedov, tigrov, slonov, kuščarjev in drugih (Hoque in sod. 2011). Pri dvoživkah je metoda fotoidentifikacije primerna le za vrste, ki imajo visoko stopnjo raznolikosti hrbtnih (navadni močerad, sekulja, navadna česnovka *Pelobates fuscus*, sirijska česnovka *P. syriacus*, zelena krastača *Bufo viridis*) ali trebušnih kožnih vzorcev (navadni pupek, panonski pupek, veliki pupek, urhi *Bombina* sp.; Plăiașu in sod. 2005).

Prednost fotoidentifikacije pred ostalimi metodami je, da je ta metoda neinvazivna, nima pretiranega vpliva na zdravje, obnašanje in preživetje živali, prisotno pa je le malo stresa, ki se pojavi le pri rokovanju. Fotografiranje lahko izvedemo kar na terenu in zanj ne potrebujemo veliko časa. Najpomembneje je, da imamo za vsako fotografirano žival zabeleženo zgodovino ulovov v času trajanja raziskave, kar omogoča, da podatke uporabimo tudi v kompleksnejših populacijskih modelih. Metoda ima tudi nekaj slabosti. Mednje sodi dolgotrajno analiziranje in prepoznavanje živali, zato je primerna za manjše populacije in krajše študije. Težava nastane tudi, ko za analize nimamo dovolj kvalitetnih fotografij (Beausoleil in sod. 2004, Plăiașu in sod. 2005). Za odpravljanje težav s kvaliteto fotografij je potrebno uporabiti načine, ki bodo omogočili enako kakovostne vseh fotografij, kot je uporaba stojala s katerimi preprečimo zamegljenost slik ter uporaba pripomočkov, ki fiksirajo žival in preprečijo premikanje. Predvsem premikanje lahko vpliva na prepoznavnost kožnih vzorcev, saj so lahko z drugega zornega kota videti drugačni.

## 1.4 Namen dela

Namen zaključne naloge je bil oceniti velikost populacije odraslih živali navadnega pupka v izbranem kalu na Kraškem robu v letu 2013. Pri tem smo uporabili metodo lova, označevanja in ponovnega ulova (angl. capture-mark-recapture ali CMR) s fotoidentifikacijo. Med leti 2006 in 2008 je bil na Kraškem robu že vzpostavljen monitoring populacije navadnega pupka (Lužnik 2013). Pridobljeni rezultati o statusu populacij navadnega pupka so bili izhodišče za pričujočo raziskavo. Testirati smo želeli tudi, ali je fotoidentifikacija pri tej vrsti primerna metoda, ki bi lahko nadomestila invazivne oblike označevanja pupkov na terenu, kot je na primer amputacija prstov.

Postavili smo naslednji hipotezi:

- velikost populacije v izbranem kalu nad Kastelcem je stabilna;
- fotoidentifikacija je dovolj zanesljiva metoda za natančno oceno velikosti populacije pri navadnem pupku.

Zaključna naloga je potekala v sklopu mednarodnega projekta BioDiNet (BioDiNet 2013).

## 2 MATERIALI IN METODE

### 2.1 Terensko delo

Za raziskavo smo izbrali kal nad vasjo Kastelec, v katerem je v preteklosti že bila izvedena intenzivna raziskava populacij pupkov (Lužnik 2013). Kal leži na nadmorski višini 370 metrov. Njegova površina meri približno 38 kvadratnih metrov, ocenjena globina v najglobljem delu je v povprečju 120 centimetrov. Populacije v kalu so predvidoma dovolj velike, v njem pa, vsaj na začetku sezone, nismo zaznali rib. Zaradi primerne velikosti in globine kala smo lahko z izbrano metodo lovljenja z vodno mrežo vzorčili po vsej površini. Primeren je za spremljanje sezonske dinamike v času razmnoževanja, saj je dovolj vodnat, da vodo zadrži vsaj do poletja (Lužnik 2013).



Slika 4: Kal nad vasjo Kastelec (Foto: M. Lužnik, 2013).

Za oceno velikosti populacije odraslih živali navadnega pupka v izbranem kalu smo uporabili metodo CMR. Kal smo obiskali desetkrat. Ob vsakem vzorčenju smo ujetim živalim določili spol, jih prešteli, fotografirali in izpustili. Od četrtega vzorčenja dalje smo pupke označili tudi z amputacijo konice repa, da smo ob naslednjem ulovu lahko že na terenu ugotovili morebiten ponovni ulov.



## 2.1.1 Vzorčenje pupkov

Ocenjevanje velikosti populacije je potekalo od konca marca do začetka junija. Razmiki med vzorčenji so bili različni, vendar med njimi ni minilo več kot štirinajst dni (Preglednica 1).

Preglednica 1: Protokol vzorčenja navadnega pupka v kalu nad Kastelcem, z podanimi razmiki med posameznimi vzorčenji.

Datum vzorčenja	28.3.	4.4.	11.4	18.4.	23.4.	7.5.	15.5.	21.5.	28.5.	7.6.
Razmiki	7 dni	7 dni	7 dni	5 dni	14 dni	8 dni	6 dni	7 dni	10 dni	

### 2.1.1.1 Izvedba vzorčenja

Pupke smo lovili z vodno mrežo s premerom odprtine 30 cm in velikostjo okenc 1 x 1 mm (Lužnik 2013). Vzorčenje je potekalo v dveh delih. Najprej smo vzorčili 60 minut, nato je sledila ura odmora in nato še 30 minut vzorčenja. V kalu sta vedno vzorčili dve osebi, ki sta vzorčili po vsem kalu, od plitvih bregov do globljih predelov in med vodnim rastlinjem. Ujete pupke smo ločili v vedrih po vrstah, saj sta v kalu navadni in veliki pupek.

### 2.1.1.2 Izvedba označevanja in fotoidentifikacija

Ujetega pupka smo namestili na petrijevko, s prsti pa smo ga učvrstili tako, da smo ga rahlo pritisnili k petrijevki. Tako fiksiranega pupka smo fotografirali s trebušne strani (Canon EOS 1100D, Panasonic Lumix DMC-LX3). Po pregledu fotografij smo ločili samice in samce ter vsaki živali določili identifikacijsko številko. Fotografije smo shranili ločeno po datumih vzorčenj. Na koncu smo s pregledovanjem fotografij in prepoznavanjem vzorcev na trebuhu in grlu določili ponovno ulovljene živali. Fotoidentifikacija je potekala vizualno s simultano uporabo dveh računalniških ekranov.

Pupke smo od četrtega vzorčenja dalje označili tudi z amputacijo konice repa, kar nam je pomagalo, da smo lahko takoj prepoznali ponovno ulovljene živali. To metodo smo uporabljali samo kot podporo primarni metodi, saj bi lahko do izgube konice repa prišlo tudi v kalu.

## 2.2 Analiza podatkov

Po dokončani fotoidentifikaciji smo v programu Excel (2013) oblikovali preglednico (Preglednica 2), v katero smo vnesli zgodovino ulovov (angl. *capture* ali *encounter history*), za vsako posamezno žival z njeno identifikacijsko številko. Ponovni ulov živali smo označili z (1); oznaka (0) je pomenila, da žival ni bila ponovno ujeta. Spol smo označili v stolpcu na koncu preglednice. Podatke zgodovine ulovov smo nato uporabili kot vhodni podatek v programu MARK 5.1 (White in Burnham 1999). Na podlagi zgodovine ulovov smo pripravili preglednico, v kateri smo podali število ulovljenih samic in samcev na določen dan ter skupno število ulovljenih živali na določen dan (Preglednica 3 v poglavju Rezultati z diskusijo).

Preglednica 2: Izsek preglednice zgodovine ulovov.

Vzorčenje	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
<b>Datum</b>	28.3.	4.4.	11.4.	18.4.	23.4.	7.5.	16.5.	21.5.	28.5.	7.6.	Spol	Spol
	2013	2013	2013	2013	2013	2013	2013	2013	2013	2013	M=1	F=1
<b>Ident. št. živali</b>												
1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
3	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
4	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1
5	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
6	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
7	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0
8	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
9	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0
10	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0

Za oceno velikosti populacije smo uporabili program MARK (White in Burnham 1999). Ta nam poda oceno številnih parametrov za ponovno ulovljene živali. Podatke o ponovnih ulovih lahko pridobimo od mrtvih živali, ponovno ulovljenih ali zgolj opaženih živali, z radiometrijskim sledenjem ali s kombinacijo teh metod. Za analizo naših podatkov smo uporabili prirejeno metodo za odprte populacije. Program MARK z numeričnimi tehnikami največjega verjetja (*maximum likelihood*) izračuna ocene parametrov (npr. navidezno preživetje, ulovljivost, parameter vstopa, upadanje/naraščanje populacije ali velikost populacije), ki so v različnih modulih programa različni. Program tudi oceni število parametrov, ki jih lahko za posamezen model določi. Število parametrov program uporabi za izračun vrednosti navideznega verjetja AIC (angl. *quasi-likelihood AIC value*) za vsak

posamezen model, kar nam omogoči izbiro najprimernejšega modela (Lužnik 2013; White in Burnham 1999).

Pred analizo je bilo treba opraviti test skladnosti modelov s podatki (angl. *Goodness of fit test*). Rezultati testa povedo ali so podatki skladni s pričakovanimi predpostavkami izbranega modela. Za testiranje skladnosti sta najpomembnejši predpostavki enakomernega preživetja in enakomerne ulovljivosti. Pri oceni velikosti populacije je pomembno, da imajo vse živali (označene in neoznačene) enako ulovljivost (Cooch in White 2014; Lužnik 2013). V modulu Cormack-Jolly-Seber smo z metodo »median *c-hat*« ocenili primernost splošnega modela in skladnost s podatki. Ta modul označujeta parametra  $\varphi$  (tudi phi; preživetje) in  $p$  (ulovljivost), vendar v njem ne moremo na preprost način izračunati velikosti populacije. Začetni splošni model je predvideval časovno variabilnost obeh parametrov.

Oceno velikosti populacije smo opravili v modulu POPAN, ki je prirejen po Jolly-Seberjevem modelu za odprte populacije (Schwarz in Arnason, 1996). Ta modul ocenjuje, (poleg parametrov preživetja in ulovljivosti), tudi »parameter vstopa«  $b$  (angl. *parameter of entrance*; tudi navidezna rojstva v populacijo) in velikost populacije ( $N$ ).

Vhodni podatki so bili pripravljani ločeno po spolu, zato smo tudi modeliranje opravili ločeno. Začetni model, ki je predvideval diferencialno preživetje glede na spol in čas, enako variabilen parameter vstopa ter časovno konstantno ulovljivost ( $\varphi_{(g^*t)}p_{(g)}b_{(g^*t)}$ ). Temu smo postopoma dodajali bolj restriktivne modele, ki predpostavljajo časovno konstantnost ali enakost po skupinah. Program je glede na kriterij AIC izbral najprimernejši model, na podlagi katerega smo ocenili iskane parametre: preživetje, ulovljivost, parameter vstopa in velikost populacije.

### 3 REZULTATI Z DISKUSIJO

#### 3.1 Populacija navadnega pupka v kalu nad Kastelcem

V desetih vzorčenjih smo ulovili in fotografirali 236 pupkov, od tega 103 samce in 133 samic. Povzetek ulovov je zbran v Preglednici 3.

Preglednica 3: Povzetek ulovov navadnega pupka v kalu nad Kastelcem.

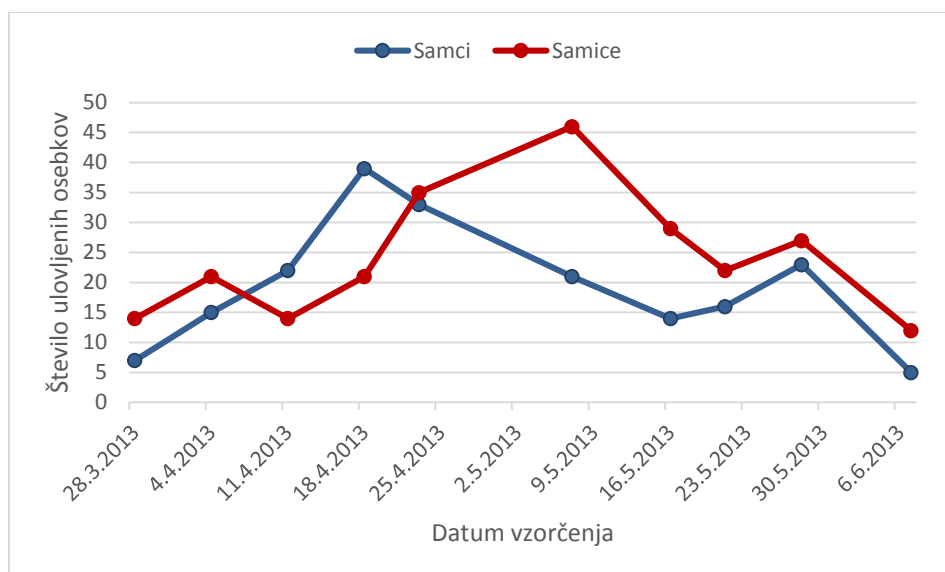
Datum vzorčenja	28.3.	4.4.	11.4.	18.4.	23.4.	7.5.	16.5.	21.5.	28.5.	7.6.
Samci – že označeni	0	0	4	11	16	13	13	12	18	5
Samci – neoznačeni	7	15	18	28	17	8	1	4	5	0
Skupaj samci na ta datum	7	15	22	39	33	21	14	16	23	5
Skupaj vseh označenih samcev	7	22	40	68	85	93	94	98	103	103
Delež ponovnih ulovov samcev	0	0	0,18	0,28	0,48	0,62	0,93	0,75	0,78	1
Samice – že označene	0	3	4	8	10	23	18	13	20	9
Samice – neoznačene	14	18	10	13	25	23	11	9	7	3
Skupaj samic na ta datum	14	21	14	21	35	46	29	22	27	12
Skupaj vseh označenih samic	14	32	42	55	80	103	114	123	130	133
Delež ponovnih ulovov samic	0	0,14	0,29	0,38	0,29	0,5	0,62	0,59	0,74	0,75
Skupaj vseh označenih živali	21	54	82	123	165	196	208	221	233	236

V Preglednici 4 je zbran povzetek ulovov predhodne raziskave navadnega pupka za posamezno leto in ločeno po spolih, ki jih je podala Lužnik (2013). V letu 2006 je ulovila 240, leta 2007 297, leta 2008 pa 235 pupkov.

Preglednica 4: Povzetek ulovov navadnega pupka v kalu nad Kastelcem med letoma 2006-2008 (povzeto po Lužnik 2013) in primerjava z letom 2013 (to delo).

	2006	2007	2008	2013
<b>Samci</b>	108	116	90	103
<b>Samice</b>	132	181	145	133
<b>Skupaj</b>	240	297	235	236

Ker je vzorčenje potekalo od konca marca do začetka junija smo lahko na podlagi desetih vzorčenj spremljali sezonsko spreminjanje ulovljenih živali (Slika 4).



Slika 5: Število ulovljenih samcev in samic navadnega pupka tekom desetih vzorčenj leta 2013.

Bell (1977) navaja, da začnejo odrasle živali v Veliki Britaniji migrirati v mrestišča v drugi polovici marca, zapuščati pa jih začnejo zgodaj julija. Naši podatki tega ne potrjujejo, saj je pri nas opazen upad števila živali že na začetku junija, k čemur najverjetneje prispevajo drugačne klimatske razmere. Predvidevamo, da so pupki začeli v kal migrirati v marcu, saj je ob prvem vzorčenju konec marca bilo v njem le nekaj živali. Samci so bili najštevilčnejši v drugi polovici aprila, samice pa v času zadnjega vzorčenja v aprilu in prvega vzorčenja v maju. V začetku junija so pupki večinoma že zapustili kal, kar dokazuje tudi zadnje vzorčenje, ko je bilo zabeleženih samo še 17 živali. Naši podatki se skladajo z raziskavo, ki jo je opravila Lužnik (2013) pri vzorčenjih leta 2006 in 2008, ko je bilo največ pupkov prisotnih v kalu v drugi polovici aprila. V letu 2007 je zaznala drugačno sezonsko dinamiko, saj je bilo največ pupkov v kalu sredi marca, na naslednjih vzorčenjih pa je število začelo upadati. Rezultat je podkrepila s podatkom, da je bila temperatura februarja 2007 višja kot v enakem obdobju drugih dveh raziskav. Prav tako so bile v enakem obdobju znatno obilnejše padavine, zato so pupki že prej kot v ostalih sezonah (februarja) migrirali na mrestišča. Naše ugotovitve so najbolj podobne ugotovitvam iz leta 2006, kjer je bil začetek migriranja v mrestišča zaradi nižjih povprečnih temperatur februarja (Slika 5) nekoliko kasnejši, kar se sklada s podatkom, da pupki začno z migracijami v vodna telesa, ko se temperature povzpnejo nad 5 °C.



Slika 6: Primerjava povprečnih temperatur od februarja do maja v letih 2006, 2007, 2008 in 2013 (vir: ARSO, Arhiv meritev, 2014).

Razmerje med spoloma ulovljenih živali se nekoliko nagiba na stran samic (1 : 1,29). Do podobnih rezultatov je na istem območju prišla tudi Lužnik (2013), kjer je bilo povprečno razmerje med spoloma ponovno v prid samicam (1 : 1,46). Enako razmerje med spoloma pa so ugotovili v drugih raziskavah (Bell 1977, Hagström 1979).

### 3.2 Uspešnost fotoidentifikacije

Metoda fotoidentifikacije s primerjavo trebušnih vzorcev se je izkazala za uporabno pri določanju ponovnega ulova. Kljub temu, da nismo uporabili nobenega izmed programskih orodij, ki so na voljo (npr. Wild-ID (Bendik in sod. 2013), I<sup>3</sup>S (Sacchi in sod. 2010) idr.), smo lahko s prostim očesom določili identičnost živali. Tudi Deeming (2009) navaja metodo fotoidentifikacije kot zelo uspešno pri prepoznavanju pupkov.

Kljub večkratnemu primerjanju vseh fotografij je lahko med določanjem prišlo do napake. Nekatere fotografije niso bile dovolj ostre, pojavil se je odboj svetlobe na petrijevki, ponekod so bile vidne vodne kapljice ali pa umazanija. Tudi zaradi načina ravnanja z živalmi je lahko prišlo do razlik na fotografijah, saj je možno opaziti, da je pri različnih pritiskih ob petrijevko viden različen delež trebušne strani, torej so na nekaterih živalih vidne ponekod tudi bočne pike, na drugih pa samo trebušne. Kljub temu predvidevamo, da smo uspešno določili vse ponovne ulove, saj je večina pupkov imela značilne razporeditve vzorcev ter izstopajoče pike, na podlagi katerih je bila identifikacija nedvoumna. Primerjava živali je bila izvedena večkrat v obdobju raziskave. S tem smo se izognili

morebitnim napakam. Pupke smo identificirali po vsakem opravljenem terenu in po končanih vseh terenih.

Pri večini pupkov je bila identifikacija ponovno ulovljenih živali nedvoumna. Predvsem pri samcih (Slika 6) je takšen način določanja zanesljiv, saj so pike pri njih izrazitejše, manj številne in večje kot pri samicah.



Slika 7: Samec ulovljen ob treh vzorčenjih 28.3., 7.5. in 16.5. 2013.



Slika 8: Samica ulovljena ob štirih vzorčenjih 4.4., 23.4., 7.5., 16.5. 2013.

Nekoliko več težav je bilo pri določanju samic, saj pri nekaterih trebušnih pik ni ali pa so zelo nejasne. Večji del samic je imel dovolj prepoznavne kožne vzorce (Slika 7). Primera samice, pri kateri je bila identifikacija težja, prikazujeta Sliki 9 in 10. Kljub temu pa je na povečavah slik opazimo točno določeno znamenje, ki je bilo prepoznano pri vseh treh ponovnih ulovih te samice.





Slika 9: Fotografije samice z identifikacijsko številko 158, fotografirana na terenih 23.4. in 7.5. 2013. S puščico sta označeni znamenji, po katerih smo samico nedvoumno prepoznali.



Slika 10: Samica z identifikacijsko številko 158 ulovljena dne 16.5.2013 (levo) ter povečava njene trebušne strani (desno) z označenima pikama, ki potrjujeta pravilno identifikacijo samice, ki je bila ulovljena tudi na terenih dne 23.4. in 7.5. 2013 (gl. Sliko 9 za fotografiji iz predhodnih terenov).

Največjo težavo pri identifikaciji sta bili slabša osvetljenost nekaterih fotografij ter različni položaji pupkov, ki so se med fotografiranjem lahko premaknili, kar je navidezno spremenilo trebušne vzorce. Da bi to preprečili, bi morali na vsakem terenu poskrbeti za enake svetlobne razmere, pupke pa bi morali med fotografiranjem fiksirati tako, da se ne bi premikali, lega pupkov pa bi bila na vseh fotografijah iz vseh terenov enaka. To bi lahko zagotovili z uporabo fotografskega stativa in namestitvijo pupkov v za to prirejeno komoro – npr. prosojni cevki.

Fotoidentifikacija je primerna metoda za prepoznavanje posameznih pupkov proučevane vrste. Prednosti določanja ponovnega ulova s to metodo je, da z živalmi rokujemo samo v



času fotografiranja, ki poteka dokaj hitro. Žival smo takoj po fotografiranju izpustili, kar je pripomoglo k zmanjšanju stresa in verjamemo, da ni vplivalo pretirano negativno na zdravje. Kljub temu, da je metoda uporabna za raziskave ocene velikosti populacij, pa ima tudi nekaj pomanjkljivosti. Določanje ponovnega ulova je dolgotrajno, zato je ta metoda primerna predvsem za manjše populacije. Zagotoviti je potrebno vsaj približno enake pogoje pri vsakem fotografiranju, kar lahko zmanjša napake pri prepoznavanju živali.

Pri številnih raziskavah so za potrebe fotoidentifikacije uporabili specifične računalniške programe. Sacchi in sodelavci (2010) so raziskovali primernost programa I<sup>3</sup>S (Individual Identification System) za prepoznavanje ponovnega ulova, z metodo fotoidentifikacije pri plazilcih. Za ciljni vrsti so izbrali pozidno kuščarico *Podarcis muralis* in zahodnoevropskega zelenca *Lacerta bilineata*. V bazi s 1043 fotografijami, ki so bile posnete med leti 2007 in 2008, je program uspešno prepoznal 98 % ponovnih ulovov znotraj istega leta in 99 % ponovnih ulovov med obema letoma. Z raziskavo so potrdili primernost programa za prepoznavanje ponovnega ulova. Velika prednost tega programa je hitra analiza slik, saj je program za primerjavo določene slike z bazo porabil v povprečju 44 sekund. Kljub temu, da je za potrditev ujemanja potrebna tudi vizualna primerjava, je delo s programom veliko hitrejše.

Sreekar in sodelavci (2013) so uporabili drugo različico programa, I<sup>3</sup>S Manta. Preučevali so velikost populacije vrste kuščarja *Draco dussumieri*. Ujeli in fotografirali so 59 živali. Pri samicah je program določil ponovni ulov 100 % uspešno, medtem ko je bil pri določitvi samcev manj uspešen (88 %), saj je prišlo do lažnega neujemanja treh živali, pri katerih so kasneje določili ponovni ulov z vizualno primerjavo. Predvidevajo, da je do napake prišlo zaradi nestandardiziranega načina fotografiranja. Program se je izkazal za uporabnega, kljub temu je potrebno morebitna neujemanja še preveriti s prostim očesom. Po podatkih ustvarjalcev programa I<sup>3</sup>S je program I<sup>3</sup>S Manta (sedaj I<sup>3</sup>S Spot) primeren za uporabo pri vrstah z stabilnimi vzorci, ki se ne spreminjajo skozi čas. Med takšne vrste so uvrstili tudi pupke, kjer so zbrali bazo 2627 fotografij 1075 živali, pri čemer je bil ponoven ulov pri uporabi 2 referenčnih fotografij, uspešno določen v 96,5 % (I<sup>3</sup>S 2014).

Bendik in sodelavci (2013) so v raziskavi ogrožene vrste brezpljučarja *Eurycea tonkawae* (Plethodontidae) za analizo uporabili program Wild-ID. Za potrebe raziskave so zbrali fotografije 1215 živali, pri katerih so za primerjavo uporabili vzorce na glavi. Za fotografiranje so uporabili dva različno kvalitetna fotoaparata, pri čemer so leta 2007 uporabili slabši kompaktni digitalni fotoaparatus, med leti 2008 in 2010 pa DSLR fotoaparatus. Fotografije so razdelili v dve skupini, glede na to kateri fotoaparatus je bil uporabljen: na nizko kvalitetne in visoko kvalitetne. Program se je pri kvalitetnejših fotografijah izkazal

za veliko uporabnejšega, saj je podal le 0,76 % lažnih neujemanj, pri manj kvalitetnih fotografijah pa se je izkazal za manj uspešnega, saj je podal 15,9 % lažnih neujemanj. Bendik in sodelavci (2013) so mnenja, da bi za potrebe analize s programom Wild-ID pri skupinah z zahtevnejšimi vzorci, bilo potrebno program prilagoditi, medtem, ko je za živali s preprostejšimi vzorci primeren že v sedanji obliki.

V različnih drugih raziskavah so za potrebe fotoidentifikacije ustvarili posebne algoritme, s katerimi so ugotavljali ponovni ulov. Gamble in sodelavci (2008) so ustvarili algoritem, ki je omogočal prepoznavanje hrbtnih vzorcev marmornatega močerada *Ambystoma opacum*. Na terenu so zbrali 1008 fotografij živali. Algoritem je uspešno uvrstil ujemajočo fotografijo med prvih 10 zadetkov v 95 % primerov, medtem ko je v 70 % primerov vrnil ujemajočo fotografijo kot prvi (najboljši) zadetek. Uporaba vseh teh programov za raziskave navadnega pupka še ni bila objavljena v literaturi, vendar lahko domnevamo, da je z manjšimi prilagoditvami ta mogoča.

V naši raziskavi programov za določanje ponovnega ulova nismo uporabili. Ker smo ustvarili slikovno bazo, bi lahko v kakšni nadaljnji raziskavi preizkusili primernost programov za določanje ponovnega ulova pri navadnem pupku. S tem bi lahko pridobili na času, saj bi bila analiza fotografij krajša kot s prostim očesom, kljub temu, da je za dokončno potrditev ponovnega ulova potrebna še potrditev s prostim očesom. Še posebej primerna bi bila uporaba programa, če bi nadaljevali z vzorčenjem in bi s tem večali bazo fotografij, saj bi tako lažje primerjali večjo število fotografij, kar bi bilo s prostim očesom vedno težje izvedljivo.

### 3.3 Ocena velikosti populacije navadnega pupka s programom MARK

V modulu Cormack-Jolly-Seber smo z metodo »median *c-hat*« pridobili oceno za skladnost modela, ki je bila  $\hat{c} = 1,5$ . To potrjuje, da je splošen model dovolj dobro prilagojen podatkom (Lužnik 2013). V modulu POPAN smo izbrali najboljši model in pridobili oceno velikosti populacije. Pri tem modulu je nujno, da je ulovljivost  $p$  konstantna in ne spremenljiva po času. Temu kriteriju smo zadostili že na terenu, tako da med izvajanjem raziskave nismo spreminjali velikosti raziskovanega območja. Poleg tega smo pri vzorčenju uporabili vedno enak trud (angl. *constant sampling effort*), kar smo predvideli že na začetku raziskave z vedno enakim številom vzorčevalcev in konstantno časovno omejitvijo vzorčenja. Splošen model smo tako zapisali kot  $\varphi_{(g^*t)}p_{(g)}b_{(g^*t)}$ . Model, ki se je izkazal za najbolj primerne, je predpostavljal, da je preživetje konstantno, vendar različno med spoloma ( $\varphi_{(g)}$ ), ulovljivost je konstantna in enaka med spoloma ( $p_{(.)}$ ), parameter vstopa pa je časovno variabilen, vendar enak za oba spola ( $b_{(t)}: \varphi_{(g)}p_{(.)}b_{(t)}$ ). Tudi

Lužnik (2013) je v svoji raziskavi za oceno velikosti populacije navadnega pupka v letu 2006, izpostavila ta model kot ustreznega.

V Preglednici 5 so zbrane ocenjene vrednosti izbranih parametrov, ki smo jih pridobili z izbranim modelom. Velikost populacije je navedena ločeno po spolu. Populacija samcev je bila ocenjena na 175 živali, zaradi majhne standardne napake pa je bil 95 % interval zaupanja ozek (136 – 213). Populacija samic je bila ocenjena na 226 živali, standardna napaka je bila dokaj majhna, zato je tudi pri samicah 95 % interval zaupanja ozek (179 – 273). Stopnja preživetja je bila skoraj enaka za oba spola (0,63). Stopnja ulovljivosti je podana za oba spola skupaj in je razmeroma visoka (0,60). Parameter vstopa je skupen obema spoloma. Prvi ( $b_1$ ) in zadnji ( $b_9$ ) podatek parametra vstopa (označena sta z \*) sta neveljavna, saj je bila standardna napaka nič, zato ju nismo navedli. Parameter vstopa je bil najvišji med tretjim in četrtem vzorčenjem (med 11.4. in 18.4.), ter med četrtem in petim vzorčenjem (med 18.4. in 23.4.).

Preglednica 5: Vrednosti realnih populacijskih parametrov za populacijo navadnega pupka, njihove standardne napake (SN) in 95 % interval zaupanja (IZ). \* neveljavni oceni za parametra vstopa.

Parameter	SAMCI			SAMICE		
	Vrednost	SN	IZ	Vrednost	SN	IZ
Velikost populacije N	<b>175</b>	20	136 – 213	<b>226</b>	24	179 – 273
Preživetje $\varphi$	<b>0,6280</b>	0,0349	0,5573 – 0,6935	<b>0,6298</b>	0,0350	0,5590 – 0,6954
Ulovljivost p	<b>0,5987</b>	0,0464	0,5055 – 0,6853	<b>0,5987</b>	0,0464	0,5055 – 0,6853
Vstop $b_1$ *	-	-	-	-	-	-
Vstop $b_2$	<b>0,4820</b>	0,1371	0,2408 – 0,7319	<b>0,4820</b>	0,1371	0,2408 – 0,7319
Vstop $b_3$	<b>0,6218</b>	0,1759	0,2751 – 0,8768	<b>0,6218</b>	0,1759	0,2751 – 0,8768
Vstop $b_4$	<b>0,5799</b>	0,1809	0,2435 – 0,8555	<b>0,5799</b>	0,1809	0,2435 – 0,8555
Vstop $b_5$	<b>0,3737</b>	0,1511	0,1440 – 0,6790	<b>0,3737</b>	0,1511	0,1440 – 0,6790
Vstop $b_6$	<b>0,0763</b>	0,0896	0,0068 – 0,4997	<b>0,0763</b>	0,0896	0,0068 – 0,4997
Vstop $b_7$	<b>0,1826</b>	0,0889	0,0650 – 0,4180	<b>0,1826</b>	0,0889	0,0650 – 0,4180
Vstop $b_8$	<b>0,1631</b>	0,0856	0,0539 – 0,3998	<b>0,1631</b>	0,0856	0,0539 – 0,3998
Vstop $b_9$ *	-	-	-	-	-	-

Lužnik (2013) je rezultate prav tako pridobila v programu MARK z modulom POPAN in tako dobila ocene velikosti populacij za posamezno obdobje (sezono) vzorčenja. Ocene velikosti populacij so podane v Preglednici 6.

Preglednica 6: Ocene velikosti populacij, ki jih je podala Lužnik (2013) in v naši raziskavi leta 2013.

Parameter	SAMCI			SAMICE			SKUPAJ
	Vrednost	SN	IZ	Vrednost	SN	IZ	N
Velikost populacije N 2006	<b>272</b>	67	141 – 404	<b>331</b>	81	171 – 490	<b>603</b>
Velikost populacije N 2007	<b>268</b>	32	205 – 331	<b>304</b>	26	253 – 354	<b>572</b>
Velikost populacije N 2008	<b>449</b>	207	43 – 855	<b>269</b>	38	194 – 343	<b>718</b>
Velikost populacije N 2013	<b>175</b>	20	136 – 213	<b>226</b>	24	179 – 273	<b>401</b>

Ocena velikosti naše populacije se približno sklada z ocenami velikosti populacij iz predhodne raziskave, čeprav je bila pri nas nekoliko manjša. Populacija navadnega pupka v kalu nad Kastelcem se uvršča med srednje velike populacije (Lužnik 2013), kar smo potrdili tudi s pričujočo raziskavo. Pri raziskavi v letu 2008 je bila ocena številčnosti manj zanesljiva, saj je majhna ulovljivost samcev v tem letu doprinesla k veliki standardni napaki in intervalu zaupanja. Lužnik (2013) navaja, da razloga za manjšo ulovljivost samcev ne pozna, vendar je v tem letu zaznala večje število zlatih ribic. Te je opazila sicer že leta 2007, vendar je njihovo število leta 2008 opazno naraslo. Leta 2012 je bil kal že spomladi suh, zato predvidevamo, da so tedaj prisotne ribe poginile (Lužnik, osebni stik 2014). Leta 2013 smo zasledili prisotnost ribjih mladice, kar je verjetno posledica ponovnega človeškega posredovanja z vnosom rib. Kljub temu ne moremo izključiti možnosti, da so v blatu presušenega kala ribja jajčeca preživela. Pojavljanje rib lahko predstavlja negotovo prihodnost za populacije navadnega pupka v tem kalu in na širšem območju, saj te vplivajo na ekosistem predvsem s spremembo prehranjevalnega spleta.

## 4 ZAKLJUČEK

Namen zaključne naloge je bil oceniti velikost populacije navadnega pupka *Lissotriton vulgaris* v izbranem kalu na Kraškem robu in testiranje primernosti fotoidentifikacije na podlagi trebušnih vzorcev. Navadni pupek je v Sloveniji najpogostejša vrsta pupkov. V Sloveniji sta prisotni dve podvrsti navadnega pupka, in sicer: navadni ali mali pupek *L. v. vulgaris* in južni ali robati pupek *L. v. meridionalis* (Poboljšaj 2001), vendar se na raziskovanem območju pojavlja le slednja.

Populacijo pupkov smo vzorčili v času razmnoževanja, od konca marca do začetka junija, po metodi lova, označevanja in ponovnega ulova. Fotoidentifikacija je služila kot orodje pri prepoznavi posameznih živali. Metoda fotoidentifikacije se je pokazala kot dobra, saj je ena izmed manj invazivnih metod označevanja oz. prepoznavanja, ki je v raziskavah velikosti populacije nujno, zanj pa ni potreben noben večji finančni vložek. Navadni pupek se je izkazal za zelo primerno vrsto, pri kateri lahko uporabimo metodo fotoidentifikacije, saj ima vsaka žival edinstven trebušni vzorec, ki ga loči od ostalih osebkov.

Podatke o ulovih živali smo analizirali z modelom POPAN v programu MARK. Velikost populacije v kalu nad Kastelcem je bila v letu 2013 ocenjena na 175 samcev (136-213) in 226 samic (179-273) in je primerljiva z ocenami velikosti populacij v tem kalu med letoma 2006 in 2008 (Lužnik, 2013). Populacija navadnega pupka v tem kalu je dokaj stabilna in je štela okoli 200 samcev in 200 samic. V prejšnji raziskavi je populacija štela okoli 300 samcev in 300 samic. Ti podatki populacijo uvrščajo med srednje velike populacije. Razmerje med spoloma je bilo v obeh raziskavah podobno, saj je bilo tako v naši raziskavi (1 : 1,29) kot raziskavi Lužnikove (2013) (1 : 1,46) v prid samicam, k čemur verjetno pripomore večja smrtnost samcev.

Kal nad Kastelcem se je že v predhodnih raziskavah izkazal kot dober habitat za izvajanje takšnih raziskav, saj je v njem že več let večje število pupkov. V kalih pa se občasno pojavljajo ribe, ki smo jih opazili tudi proti koncu naše raziskave. Zaskrbljujoče dejstvo je, da so zadnja leta v kalu prisotne tujerodne vrste rib, ki lahko spremenijo življenjske razmere v kalu.

Čeprav je bilo na to tematiko opravljenih več raziskav, je nujno ocenjevanje velikosti populacij izvajati tudi v prihodnosti, saj lahko le tako pravočasno opazimo zmanjšanje,

porast ali stagnacijo populacij in poskusimo poiskati način za preprečevanje upadanja populacije v prihodnosti.

Kljub temu, da so po ocenah več raziskav populacije navadnega pupka na tem območju stabilne, pa je treba spodbujati aktivnosti ohranjanja tako vodnih kot kopenskih habitatov, ki so izjemnega pomena za njihovo življenje. Populacije ogroža predvsem degradacija habitatov in opuščanje skrbi za kale. Pomemben dejavnik ogroženosti predstavlja tudi vnos invazivnih vrst, predvsem rib, ki lahko uničijo celotne populacije. Pomembno je, da se njihove vodne habitate, ki so ključni za razvojni krog navadnega pupka, ohranja kot celovito mrežo in omogoči disperzijo med njimi. Tudi na tem področju je bilo izpeljanih že več projektov, vendar je z njimi potrebno tudi nadaljevati, saj je ozaveščanje javnosti ključno za ohranjanje habitatov.

## 5 LITERATURA

Alford R.A., Richards S.J. 1999. Global amphibian declines: a problem in applied ecology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 30: 135-165.

Arntzen J. W., Kuzmin S., Beebee T., Papenfuss T., Sparreboom M., Ugurtas I.H., Anderson S., Anthony B., Andreone F., Tarkhnishvili D., Ishchenko V., Ananjeva N., Orlov N., Tuniyev B. 2009. *Lissotriton vulgaris*. V: IUCN 2014. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.1. [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org) (18.6.2014)

ARSO, Arhiv meritev (2014)

<http://www.meteo.si/met/sl/archive/> (18.7.2014)

Babij V., Čelik T., Zelnik I., Vreš B., Pirnat A., Seliškar A. 2008. Kali in lokve. V: Luthar O., Dobrovoljc H., Pavšek M., Mulec J., Fridl J.: Kras: trajnostni razvoj kraške pokrajine. Založba ZRC, 112-114.

Bailey L.L., Simons T.R., Kendall K.H. 2004. Comparing population size estimators for plethodontid salamanders. *Journal of Herpetology*, 38: 370-380.

Baker J., Gent T. 1998. Marking and recognition of animals. V: Gent A.H., Gibson S.D. (ur.): Heretofauna workers' manual. Peterborough, Joint Nature Conservation Committee: 45-54.

Beausoleil N.J., Mellor D.J., Stafford K.J. 2004. Methods for marking New Zealand wildlife: amphibians, reptiles and marine mammals. Wellington, Department of Conservation. 147 pp.

Bendik N.F., Morrison T.A., Gluesenkamp A.G., Sanders M.S., O'Donnell L.J. 2013. Computer-Assisted Photo Identification Outperforms Visible Implant Elastomers in an Endangered Salamander, *Eurycea tonkawae*. *PLoS ONE*, 8: e59424.

Bell G. 1977. The life of the smooth newt (*Triturus vulgaris*) after metamorphosis. *Ecological Monographs*, 47: 279-299.

BioDiNet – Mreža za varovanje biotske pestrosti in kulturne krajine.

<http://www.biodinet.eu/sl> (30.8.2014)

Bogdan H.V., Badar L., Goilean C., Boros A., Popovici A.M. 2012. Population dynamics of *Triturus cristatus* and *Lissotriton vulgaris* (Amphibia) in an aquatic habitat from Banat region, Romania. *Herpetologica Romanica*, 6: 41-50.

Bressi N., Stoch. F. 1999. Karstic ponds and pools: history, biodiversity and conservation. V: Boothby J. (ur.): Ponds and pond landscapes of Europe, proceedings of the International Conference of the Pond Life Project, Maastricht: 39-50.

Brönmark C. Hansson L.A. 2005. The Biology of Lakes and Ponds. 2nd ed. New York, Oxford University Press.

Cooch E., White G. 2014. Program MARK; A Gentle Introduction. 13th Edition.

Chambers P.A., Lacoul P., Murphy K. J., Thomaz S. M. 2008. Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. *Hydrobiologia* 595: 9-26.

Deeming D.C. 2009. Estimations of the population size of Smooth Newts (*Lissotriton vulgaris*) breeding in a pond in Lincolnshire, England. *Salamandra*, 45: 119-124.

Donnelly M.A., Guyer C. 1994. Mark/recapture. V: Measuring and Monitoring Biological Diversity: Standard Methods for Amphibians. Heyer W.R., Donnelly M.A., McDiarmid R.W., Hayek L.C., Foster J. (ur.). Washington D.C., Smithsonian Institution Press: 183-205.

Donnelly M.A., Guyer C., Juterbock J.E., Alford R.A. 1994. Techniques for marking amphibians. V: Measuring and Monitoring Biological Diversity: Standard Methods for Amphibians. Heyer W.R., Donnelly M.A., McDiarmid R.W., Hayek L.C., Foster J. (ur.). Washington D.C., Smithsonian Institution Press: 277-284.

Ferner J.W. 2010. Measuring and marking post-metamorphic amphibians. V: Dodd C.K., Jr. (ur.): Amphibian Ecology and Conservation: A handbook of Techniques. Oxford University Press, New York: 123-141.



Gabor C.R., Halliday T.R. 1997. Sequential mate choice by multiply mating smooth newts: females become more choosy. *Behavioral Ecology*, 8: 162-166.

Gamble L., Ravela S., McGarigal K. 2008. Multi-scale features for identifying individuals in large biological databases: an application of pattern recognition technology to the marbled salamander *Ambystoma opacum*. *Journal of Applied Ecology*, 45: 170-180.

Greenwood J.J.D., Robinson R.A. 2006. General census methods. V: Sutherland W.J. (ur.): *Ecological census techniques: a handbook*. Cambridge University Press: 87-185.

Griffiths R.A. 1996. *Newts and Salamanders of Europe*. London, T., A.D. Poyser

Griffiths R.A. 1997. Temporary ponds as amphibian habitats. *Aquatic conservation: Marine and freshwater ecosystems*, 7: 119-126.

Hagström, T. 1979. Population ecology of *Triturus cristatus* and *T. vulgaris* (Urodela) in SW Sweden. *Ecography*, 2: 108-114.

Halliday T. 1998. Sperm Competition in Amphibians. V: Birkhead T.R., Møller A.P. (ur.): *Sper Competition and Sexual Selection*. Academic Press: 465-502.

Halliday T. 2006. Amphibians. V: Sutherland W.J. (ur.): *Ecological census techniques: a handbook*. Cambridge University Press: 278-296.

Hoque S., Azhar M.A.H.B., Deravi F. 2011. ZOOMETRICS – Biometric Identification of Wildlife Using Natural Body Marks. *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*, 3: 45-54.

Interactive Individual Identification System - I<sup>3</sup>S (2014)

<http://www.reijns.com/> (11.8.2014)

Jantke K., Schlepner C., Schneider U.A. 2011. Gap analysis of European wetland species: priority regions for expanding the Natura 2000 network. *Biodiversity and conservation*, 20: 581-605.

Kinkead K.E., Lanham J.D., Montanucci R.R. 2006. Comparison of anesthesia and marking techniques on stress and behavioral responses in two desmognathus salamanders. *Journal of Herpetology*, 40: 323-328.

Kinne O. 2006. Successful re-introduction of the newts *Triturus cristatus* and *T. vulgaris*. *Endangered Species Research*, 1: 25-40.

Konvencija o ohranjanju prostoživečega evropskega rastlinstva in živalstva ter njihovih naravnih življenjskih prostorov. 1999. Ur. l. RS 55/99, MP št. 17/99.

Kodele-Krašna I. 2007. 1001 kal – 1001 zgodba o življenju: projekt ohranjanja kalov. V: Maher I. (ur.): Okrogla voda: priročnik o kalih. Ljubljana, Zavod RS za varstvo narave: 6-7.

Kryštufek B. 1999. Osnove varstvene biologije. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije.

Lužnik M. 2013. Ohranitveni status velikega (*Triturus carnifex*) in navadnega pupka (*Lissotriton vulgaris*) v sistemu izoliranih kraških vodnih teles. Doktorska disertacija, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta.

Maher I. 2007. Kali na Primorskem: kaj, kakšni in zakaj so?. V: Maher I. (ur.): Okrogla voda: priročnik o kalih. Ljubljana, Zavod RS za varstvo narave: 10-43.

Plăiașu, R., Hartel, T., Băncilă, R. I., Cogălniceanu, D. 2005. The use of digital images for individual identification of amphibians. *Studii și Cercetări*, 10: 137-140.

Poboljšaj K. 2001. Analiza stanja biotske raznovrstnosti dvoživk (Amphibia). V: Ekspertne študije za pregled stanja biotske raznovrstnosti in krajinske pestrosti v Sloveniji. Ljubljana, MOP, ARSO.

Poboljšaj K. 2007. Amphibians (Amphibia) of the Slovenian Coastland. *Varstvo narave*, 20: 107-119.

Poboljšaj K., Šalamun A., Trčak B., Cipot M. 2007. Življenje v kalu (ekologija in biologija kalov). V: Maher I. (ur.): Okrogla voda: priročnik o kalih. Ljubljana, Zavod RS za varstvo narave: 46-100.

Pollock K.H., Nichols J.D., Brownie C., Hines J.E. 1990. Statistical inference for capture-recapture experiments. *Wildlife Monographs*, 107: 1-97.

Pravilnik o uvrstitvi živalskih in rastlinskih vrst na Rdeči seznam. 2002. Ur. l. RS, 82/02.

Rai U. K. 2003. Minimum Sizes for Viable Population and Conservation Biology. *Our Nature*. 1: 3-9.

Raxworthy C.J. 1990. A review of the smooth newt (*Triturus vulgaris*) subspecies, including an identification key. *Herpetological Journal*, 1: 481-492.

Sacchi R., Scali S., Pellitteri-Rosa D., Pupin F., Gentili A., Tettamanti S., Caviglioli L., Racina L., Maiocchi V., Galeotti P., Fasola M. 2010. Photographic identification in reptiles: a matter of scales. *Amphibia-Reptilia*, 31: 489-502.

Sánchez-Carrillo S. 2009. Hydrology and biogeochemistry of Mediterranean temporary ponds. V: Fraga i Arguimbau (ur.): *International Conference on Mediterranean Temporary Ponds : Proceedings & Abstracts*. Menorca, Consell Insular de Menorca: 73-82.

Shaffer M.L. 1981. Minimum population sizes for species conservation. *Bioscience*, 31: 131-134.

Slovar slovenskega knjižnega jezika [Elektronski vir]

Vir: <http://bos.zrc-sazu.si/sskj.html> (20.8.2014)

Smith M.A., Green D.M. 2005. Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: Are all amphibian populations metapopulations? *Ecography*, 28: 110-128.

Sreekar R., Purushotham C.B., saini K., shyam N.R., Pelletier S., Chaplod S. 2013. Photographic Capture-Recapture Sampling for Assessing Populations of the Indian Gliding Lizard *Draco dussumieri*. *PLoS ONE*, 8: e55935.

Stanković D., Delić T. 2012. Morphological evidence for the presence of the Danube Crested Newt, *Triturus dobrogicus* (Kiritzescu, 1903), in Slovenia. *Natura Sloveniae*, 14: 23-29.

Stanković D. 2013. Določevalni ključ: PUPKI SLOVENIJE. Trdoživ: Bilten slovenskih terenskih biologov in ljubiteljev narave, 2: 27-29.

Uredba o zavarovanih prosto živečih živalskih vrstah. 2004. Ur. l. RS, 46/04.

Verboom J., Foppen R., Chardon P., Opdam P., Luttikhuisen P. 2001. Introducing the key patch approach for habitat networks with persistent populations: an example for marshland birds. *Biological Conservation*, 100: 89-101.

Vogrin N. 1999. Razred: Dvoživke, Amphibia. V: Ključ za določanje vretenčarjev Slovenije. Kryštufek B., Janžekovič F. (ur.). Ljubljana, DZS: 261-283.

Weddeling K., Hachtel M., Sander U., Tarkhnishvili D. 2004. Bias in estimation of newt population size: a field study at five ponds using drift fences, pitfalls and funnel traps. *Herpetological Journal*, 14: 17-23.

Wilbur H.M. 1980. Complex Life Cycles. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11: 66-93.

White G.C., Burnham K.P. 1999. Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird study* 46: 120-138.

Williams D.D. 1997. Temporary ponds and their invertebrata communities, *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater ecosystems*, 8: 105-117.

Zacharias I., Dimitriou E., Dekker A., Dorsman E. 2007. Overview of temporary ponds in the Mediterranean region: Threats, management and conservation issues. *Journal of Environmental Biology*, 28: 1-9.

Zelnik I., Potisek M., Gaberščik A. 2012. Environmental Conditions and Macrophytes of Karst Ponds. *Polish Journal of Environmental Studies*, 21: 1911-1920.