

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

ZAKLJUČNA NALOGA
OCENA VELIKOSTI POPULACIJE VELIKEGA PUPKA
(*Triturus carnifex*, Amphibia: Urodela) V KALU PRI
KASTELCU

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE
IN INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Zaključna naloga

**Ocena velikosti populacije velikega pupka (*Triturus carnifex*, Amphibia:
Urodela) v kalu pri Kastelecu**

(Rating the population size of of a Italian crested newt (*Triturus carnifex*, Amphibia:
Urodela) in the pond at Kastelec)

Ime in priimek: Maja Čabraja

Študijski program: Biodiverziteteta

Mentor: doc. dr. Jure Jugovic

Somentor: asist. dr. Martina Lužnik

Koper, september 2015

Ključna dokumentacijska informacija

Ime in PRIIMEK: Maja ČABRAJA

Naslov zaključne naloge:

Ocena velikosti populacije velikega pupka (*Triturus carnifex*, Amhibia: Urodela) v kalu pri Kastelcu

Kraj: Koper

Leto: 2015

Število listov: 41

Število slik: 14

Število preglednic: 6

Število referenc: 43

Mentor: doc. dr. Jure Jugovic

Somentor: asist. dr. Martina Lužnik

Ključne besede:

Veliki pupek, *Triturus carnifex*, varstveni status, Fotoidentifikacija, CMR, program MARK, ocena velikosti populacije

Izvleček:

Namen zaključne naloge je bila ocena velikosti populacije velikega pupka *Triturus carnifex* v kalu pri Kastelcu in primerjava teh rezultatov z rezultati spremljanja populacij na tem območju v preteklosti. Za oceno velikosti populacije smo uporabili metodo lova, označevanja in ponovnega ulova (CMR). Živali smo prepoznavali na podlagi fotografij trebušnih vzorcev (s fotoidentifikacijo). Fotoidentifikacija se je izkazala za primerno metodo, saj smo prepoznali vse ponovno ujete živali. V programu MARK smo izračunali velikost populacije. Velikost celotne populacije velikega pupka je bila v letu 2013 (marec–junij) ocenjena na 259 živali (95 % interval zaupanja: 217–324), ugotovili pa smo tudi, da se je populacija povečala glede na leto 2007 (marec–junij), ko je populacija štela 145 živali (89–201). Populacije pupkov na Kraškem robu ogroža vnašanje rib v kale. Rezultati zaključne naloge prispevajo del podatkov, ki bodo ključni pri razumevanju demografskih procesov ter uporabni za varstvo velikega pupka na tem območju.

Key words documentation

Name and SURNAME: Maja ČABRAJA

Title of the final project paper:

Rating the population size of of a Italian crested newt (*Triturus carnifex*, Amphibia: Urodela) in the pond at Kastelec

Place: Koper

Year: 2015

Number of pages: 41

Number of figures: 14

Number of tables: 6

Number of references: 43

Mentor: Assist. Prof. Jure Jugovic, PhD

Co-Mentor: Assist. Martina Lužnik, PhD

Keywords:

Italian crested newt, *Triturus carnifex*, conservation status, CMR, MARK programme, population size

Abstract:

The purpose of the study was to estimate the population size of Italian crested newt (*Triturus carnifex*) in a pond at Kastelec and compare the results to previous monitoring in that area. Capture-mark-recapture (CMR) method was used to estimate population size, while individual animals were identified based on ventral patterns (photo identification). Photo identification proved to be very appropriate for these species, because we were able to identify all recaptures. We calculated the population size with program MARK. The population in 2013 (march–june) was estimated at 259 individuals (95% confidence interval: 217–324), which was an increase since the research in 2007 (march–june), when the population was considered 145 individuals (89–201). We concluded that the population of newts on the karstic ponds is threatened by the introduction of fish in ponds. The results contribute to the understanding of the demographic processes of Italian crested newt and are also useful its conservation.

KAZALO VSEBINE

1	UVOD.....	1
1.1	Družina pupkov in močeradov Salamandridae	1
1.2	Veliki pupek <i>Triturus carnifex</i> (Laurenti 1768)	3
1.2.1	Življenje velikega pupka	4
1.2.2	Življenjski prostor velikega pupka	6
1.2.3	Kali	7
1.2.4	Varstvo kalov.....	9
1.3	Varstveni status in ogroženost velikega pupka	9
1.4	Ocena velikosti populacije.....	11
1.4.1	Metoda lova, označevanja in ponovnega ulova – CMR	11
1.4.2	Označevanje živali.....	12
1.4.3	Fotoidentifikacija.....	12
1.4.4	Monitoring velikega pupka v Sloveniji	13
1.5	Namen dela	15
2	METODE DELA.....	16
2.1	Terensko delo.....	16
2.1.1	Vzorčenje pupkov po metodi CMR.....	16
2.1.2	Protokol vzorčenja	17
2.2	Prepoznavanje živali	17
2.3	Analiza podatkov	18
2.3.1	Analiza podatkov s programom MARK.....	19
3	REZULTATI Z DISKUSIJO	20
3.1	Podatki o ulovih velikega pupka.....	20
3.2	Uspešnost fotoidentifikacije.....	22
3.3	Velikost populacije	24
3.3.1	Pomen velikosti populacije za oceno tveganja izumrtja.....	27
4	ZAKLJUČEK.....	29
5	LITERATURA.....	31

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Rezultati monitoringa razširjenosti velikega pupka v letih 2010 in 2011 na izbranih Natura 2000 območjih (Cipot in sod. 2011).....	14
Preglednica 2: Protokol vzorčenja velikega pupka v kalu pri Kastelcu v letu 2013 s podanimi razmiki med vzorčenji.....	17
Preglednica 3: Prikaz podatkov ulovov po metodi CMR.....	18
Preglednica 4: Povzetek ulovov velikega pupka v kalu nad Kastelcem.....	20
Preglednica 5: Povzetek ulovov velikega pupka v kalu nad Kastelcem v letu 2007 (povzeto po Lužnik 2013)	21
Preglednica 6: Vrednosti realnih populacijskih parametrov za populacijo velikega pupka, njihove standardne napake (SN) in 95 % interval zaupanja (IZ) za metodo »Closed captures«.....	26

KAZALO SLIK

Slika 1: Prikaz razširjenosti pupkov iz rodu <i>Triturus</i> (foto: Povzeto po Arntzen in sod. 2007).....	2
Slika 2: Filogenetsko drevo prikazuje evolucijske odnose med vrstami skupine <i>Triturus</i> z zunanjo vrsto <i>T. marmoratus</i> . Analiza je bila narejena na podlagi jedrnih in mitohondrijskih genov (foto: povzeto po Jehle in sod. 2011).....	3
Slika 3: Samec (desno) in samica (levo) velikega pupka <i>Triturus carnifex</i> (foto: R. Sejkora in K. Pobjljšaj).....	4
Slika 4: Razvojni krog velikega pupka <i>Triturus carnifex</i> (foto: Povzeto po: Froglife 2001)	5
Slika 5: Najdišča velikega pupka (<i>Triturus carnifex</i>) v Sloveniji (Pobjljšaj in Lešnik, 2003).....	6
Slika 6: Kal » Na Žlebu« nad vasjo Kastelec je življenjski prostor velikega in navadnega pupka (foto: T. Rosič)	8
Slika 7: Vodomec (<i>Alcedo atthis</i>) z ulovljeno ličinko velikega pupka (foto: John Webley)	9
Slika 8: Prikaz metode lova (foto: M. Lužnik).....	16
Slika 9: Primer fotografij trebušnega vzorca različnih samic velikega pupka (foto: M. Čabraja).....	18
Slika 10: Sezonska dinamika ulovljenih samcev in samic velikega pupka.....	21
Slika 11: Fotografije težko prepoznavne samice z identifikacijsko število 23, fotografirana ob treh vzorčenjih (18.4, 23.5 in 28.5). Te fotografije so primer nekvalitetnih fotografij in težje identifikacije. Na fotografiji 1 je prikazana slaba svetloba, na fotografiji 2 odboj svetlobe in na fotografiji 3 kapljice vode. S krogom so označeni vzorci, po katerih smo samico lahko prepoznali	22
Slika 12: Samec ulovljen ob dveh vzorčenjih (11.4. in 23. 4. 2013).....	23
Slika 13: Fotografije samice z identifikacijsko številko 3, ulovljena ob treh vzorčenjih (4. 4., 23. 4. in 7. 5. 2013). S puščico so označeni vzorci, po katerih smo samico nedvoumno prepoznali	23
Slika 14: Prikaz spreminjanja ulovljivosti populacije velikega pupka v celotnem časovnem obdobju lova	25

1 UVOD

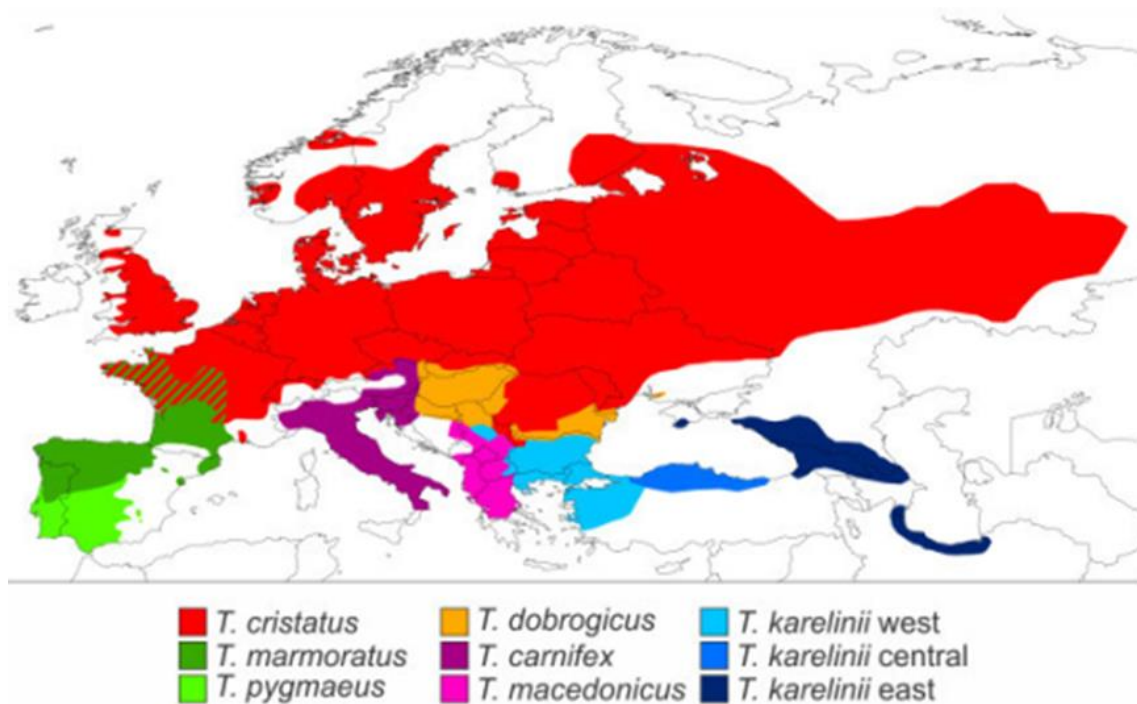
Veliki pupek *Triturus carnifex* (Laurenti 1768) je eden od predstavnikov družine močeradov in pupkov (Salamandridae). Kot preostale dvoživke tudi pupki del življenja preživijo na kopnem, del življenja pa v vodi, kjer poteka njihov razmnoževalni cikel v spomladanskem času. Življenjsko okolje pupkov so mokrišča, ki predstavljajo prehod med vodnim in kopenskim ekosistemom. Mokrišča so območja močvirij, nizkih barij, šotišč ali vode, naravnega ali antropogenega nastanka, stalna ali občasna s stoječo ali tekočo vodo (Beltram 1996). Mokrišča so pomembna tako z ekološkega kot z družbenega in gospodarskega vidika, saj prispevajo k presnovi in zadrževanju hranilnih snovi in usedlin, primarni produkciji ter zadrževanju visokih in bogatenju nizkih voda. Prav tako zaradi vloge pri kroženju voda in kemičnih snovi ter ohranjanju kakovosti vode, označujemo mokrišča v prispodobi »ledvice pokrajine« (Beltram in Skoberne 2005).

Dvoživke so ene izmed najbolj ogroženih živalskih skupin na svetu, predvsem zaradi degradacije habitatov, onesnaževanja voda in njihove mobilnosti med kopenskim in vodnim okoljem (Pough in sod. 2001). V Sloveniji so se sistematično začeli ukvarjati z dvoživkami leta 1996 v okviru društva *Societas herpetologica slovenica* – društva za preučevanje dvoživk in plazilcev (SHS). Da določimo oceno ogroženosti populacij dvoživk, je potrebno izvajati dolgoročne monitoringe ter populacijske in ekološke raziskave posameznih populacij. Le na ta način lahko pravočasno opazimo upadanje populacij in temu primerno zastavimo varovalne in ohranitvene ukrepe (Poboljšaj in Lešnik 2003).

1.1 Družina pupkov in močeradov Salamandridae

Pupke uvrščamo med repate dvoživke (Caudata), natančneje v družino močeradov in pupkov (Salamandridae). Družina Salamandridae je razširjena v Evropi in Aziji, nekaj predstavnikov pa najdemo tudi v severni Ameriki in severni Afriki (Jehle in sod. 2011). Tipični predstavniki družine Salamandridae imajo dobro razvite okončine, ki spredaj nosijo štiri, zadaj pa pet prstov. Rep zavzema pri večini vrst vsaj polovico skupne dolžine telesa. Pri močeradih je rep v prerezu ovalen, pri pupkih pa bočno sploščen. Trup je prilagojen kopenskim in vodnim habitatom. Koža je na otip groba in se hitro izsuši. Značilnost pupkov in močeradov so tudi kožne toksične žleze, ki služijo obrambi. Večina vrst živi na kopnem, v vodo pa se vrnejo v času razmnoževanja. Večina močeradov in pupkov je jajcerodnih, pojavijo pa se tudi vrste, ki so živorodne. Pri nekaterih populacijah pupkov se pojavi neotenija. Vsi pupki imajo vodne ličinke, nekatere ameriške vrste pa imajo tudi življenjski cikel s tremi razvojnimi stopnjami: vodna ličinka, terestrična juvenilna oblika in zadnja odrasla vodna oblika (Pough in sod. 2001).

V družino pupkov in močeradov (Salamandridae) uvrščamo šest vrst velikih pupkov: *Triturus carnifex* (Laurenti 1768), *Triturus dobrogicus* (Kiritzescu 1903), *Triturus cristatus* (Laurenti 1768), *Triturus macedonicus* (Karaman 1922), *Triturus karelinii* (Strauch 1870) in *Triturus arntzeni* (Litvinchuk, Borkin, Džukić in Kalezić 1999), vse pa združujemo v skupino velikih pupkov *Triturus cristatus* (ang. *crested newts superspecies*) (Slika 2). To je skupina, kjer so si geografsko ločene vrste zelo podobne, čeprav imajo drugačno ekologijo in biologijo ter naseljujejo različne habitate (Slika 1) (Cipot in sod. 2011). V jugozahodni Evropi sta prisotni dve vrsti marmoriranih pupkov, tj. *Triturus marmoratus* (Latreille 1800) in *Triturus pygmaeus* (Wolterstorff 1905), v zahodni, osrednji in vzhodni Evropi pa skupina velikih pupkov (*T. cristatus*) (Macgregor in sod. 1990).

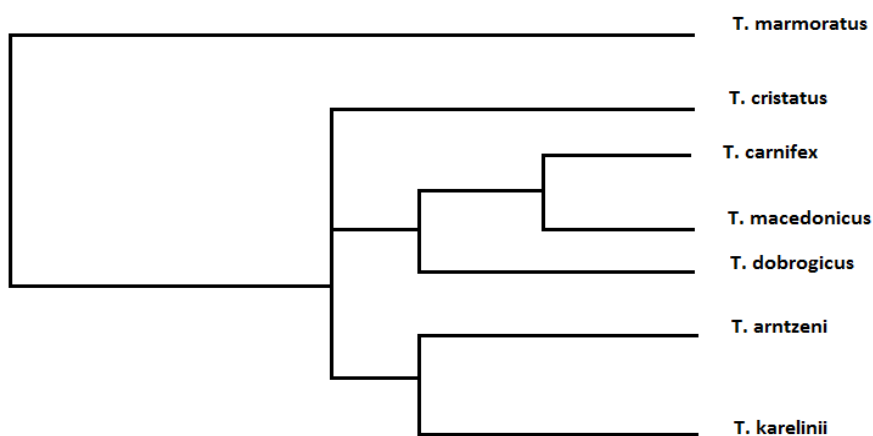


Slika 1: Prikaz razširjenosti pupkov iz rodu *Triturus* (foto: povzeto po Arntzen in sod. 2007)

Evolucijska razmerja med evropskimi pupki so bila predmet intenzivnih raziskav v zadnjih letih. Prve raziskave so temeljile na uvrščanju vrst po razporeditvi kosti v lobanji. Na podlagi lobanjskega skeleta je bilo možno razlikovati tri skupine pupkov: veliki pupki (npr. *Triturus carnifex*), mali pupki (npr. *Lissotriton vulgaris*) in vmesna skupina, kamor so uvrstili planinskega pupka (*Mesotriton alpestris*) (Bolkay 1928, cit. po Lužnik 2013). Novejše morfološke in molekulske raziskave so potrdile delitev na velike in male vrste. Obstaja način, s katerim kombiniramo morfološke, vedenjske in genetske informacije ter izdelamo evolucijsko drevo, ki temelji na vseh danih podatkih (Jehle in sod. 2011). V Sloveniji živijo štiri vrste pupkov: navadni (*Lissotriton vulgaris*), planinski (*Mesotriton alpestris*), veliki

(*Triturus carnifex*) in donavski pupek (*Triturus dobrogicus*) (Stanković in Delić 2012); slednji je bil do sedaj odkrit le v Prekmurju.

Zaradi hibridizacije med posameznimi vrstami velikih pupkov točne meje razširjenosti donavskega in velikega pupka niso povsem jasne. Veliki in donavski pupek sta bila kot vrsti predstavljeni leta 1989, pred tem pa sta bila obravnavana kot podvrsti *T. cristatus carnifex* in *T. cristatus dobrogicus*. Ker sta si ti dve vrsti zelo sorodni, prihaja do križanj v naravi, kar otežuje prepoznavnost vrste na terenu (Arntzen in sod. 2007).



Slika 2: Filogenetsko drevo prikazuje evolucijske odnose med vrstami skupine velikih pupkov *T. cristatus* z zunanjo vrsto *T. marmoratus*. Analiza je bila narejena na podlagi jedrnih in mitohondrijskih genov (foto: povzeto po Jehle in sod. 2011).

1.2 Veliki pupek *Triturus carnifex* (Laurenti 1768)

Veliki pupek *Triturus carnifex* ima krepko telo ter široko glavo. Koža je gladka, osnovna barva hrbta pa je svetlo-rjava do temno-siva. Spodnji del trebuha je živo oranžen ali rumenkast, prepređen s številnimi temnimi pikami. Grlo je temne barve z majhnimi belimi pikami, medtem ko so boki v primerjavi z drugimi vrstami tega rodu le redko posejani z belimi pikami. Samca prepoznamo po tem, da ima po sredini repa vzdolžno belo progo, povečano pa ima tudi kloako. V obdobju parjenja ima veliki pupek izrazito viden tudi nazobčan greben (Slika 3), ki je nad kloako zarezan (Veenvliet 2003). Odrasla samica zraste v dolžino do 17 cm, medtem ko so samci krajši za 1–2 cm. Največja samica je bila ujeta v Firencah, dolžino 209 mm pa je dosegla po več letih ujetništva. Dolžina prednjih okončin pri samcu predstavlja 63–73 %, pri samici pa 54–64 % dolžine trupa med prednjimi in zadnjimi okončinami (Poboljšaj in Lešnik 2003). Primerjava dolžine trupa pupkov iz

Slovenije z drugimi območji je pokazala, da se velikost živali med deli areala razlikuje. Tako so večje živali zlasti na območjih z nižjo povprečno temperaturo (Veenvliet 2003).



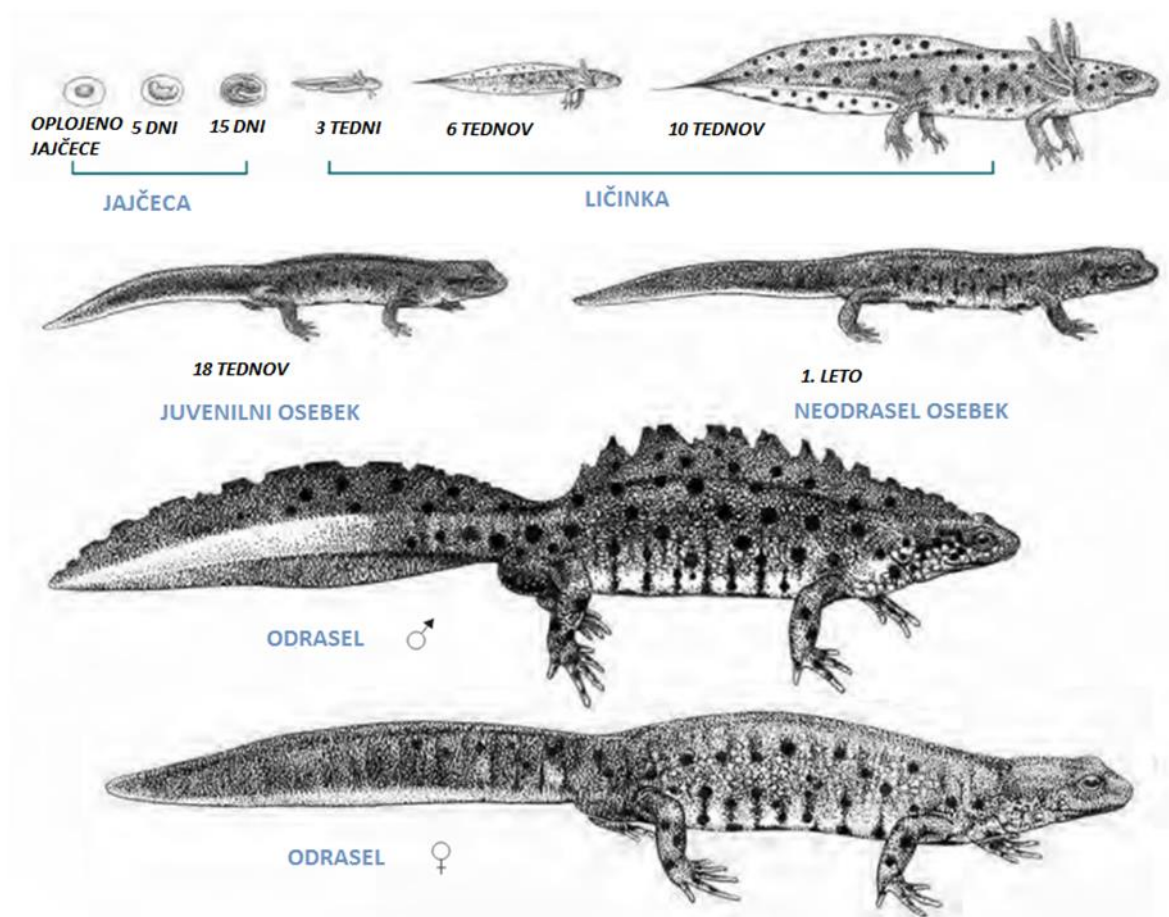
Slika 3: Samec (levo) in samica (desno) velikega pupka *Triturus carnifex* (foto: R. Sejkora in K. Pobiljšaj)

1.2.1 Življenje velikega pupka

Veliki pupek preživi na kopnem dve tretjini svojega življenja. Na mrestišča prihaja konec februarja ali v začetku marca. Tam se zadržuje približno tri mesece, dokler poteka razmnoževalno obdobje. V obvodnih habitatih se zadržuje do jeseni, nato pa se vrne nazaj v prezimovališče, ki je oddaljeno 300–600 metrov (Lešnik in Cipot 2007). Veliki pupek se najraje zadržuje na dnu vode, ki je poraščena z rastlinjem. Na površje hodi le po zrak in se nato hitro vrne nazaj v globino (Cipot in sod. 2011).

V obdobju parjenja so samci zelo teritorialni in se postavljajo pred drugimi samci in pred samico. Zgodaj zvečer ali zgodaj zjutraj se prehranjujejo in razmnožujejo. Takrat samci zapustijo svoje skrivališče med vodnim rastlinjem v globljih predelih vodnega telesa ter odplavajo v odprte predele, da najdejo primerna mesta za dvorjenje. Vsak samec si izbori svoje mesto, ki je od drugih oddaljeno približno 0,25–0,5 m. Ta mesta niso stalna, ampak jih samci premikajo glede na lokacijo samic. Dvorjenje vključuje tri faze. V prvi fazi želi samec pritegniti pozornost samice s kemičnimi, mehanskimi in vidnimi sporočili tako, da ji sledi, ovohava njeno kloako ali pa plava pred njo. Če je prva faza uspešna, sledi druga, pri kateri se samec postavlja pred samico tako, da razkazuje celotno telo in rep ter z repom zamahuje proti bokoma. Če samica pokaže interes, se začne premikati proti samcu, ta pa se ji odmika in nadaljuje z razkazovanjem. Če je dvorjenje uspešno, sledi parjenje. Faza prenosa spermatofora (skupka semenčic v želatinasti kapsuli) se prične, ko se samec začne rahlo odmikati od samice, ta pa mu sledi v razdalji 4–12 cm. Za uspešen zaključek mora samica s kloako pobrati spermatorfor (Jehle in sod. 2011).

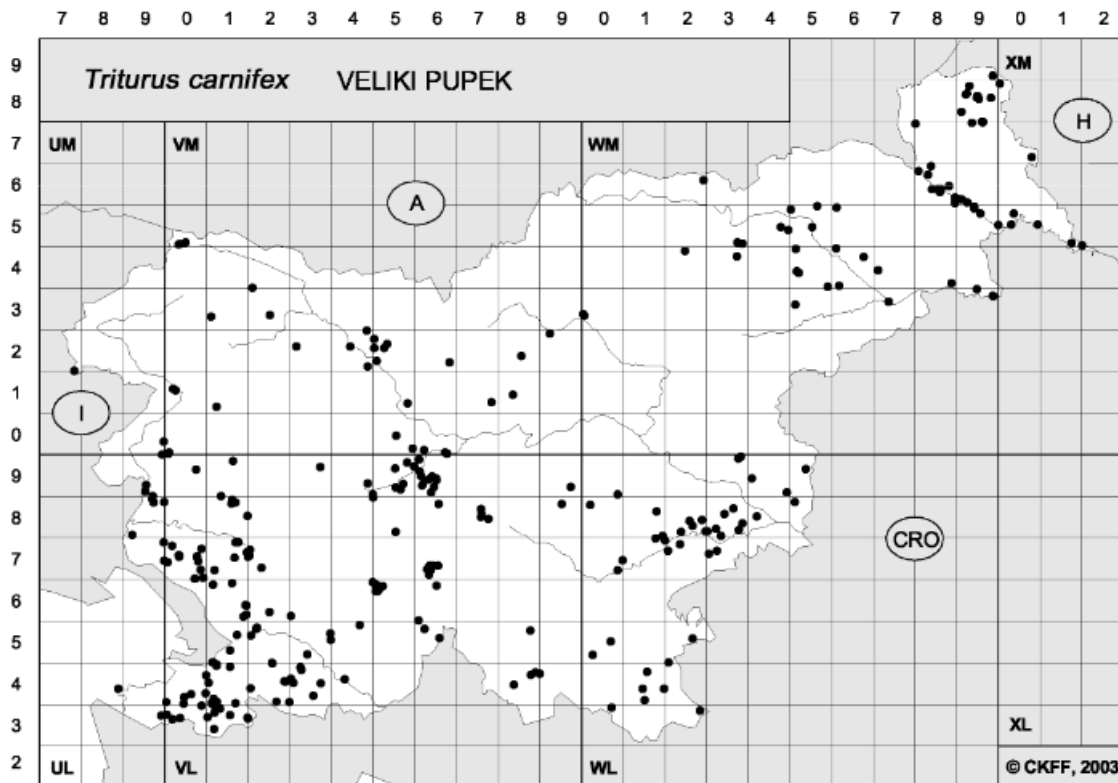
Približno dva do tri tedne po parjenju začne samica odlagati jajčeca in sicer tako, da jih pritrdi na liste vodnih rastlin. Obdobje odlaganja jajc traja od enega do treh mesecev. V eni sezoni samica odloži od 200 do 400 jajčec ovalne oblike. Zarodek velikega pupka je velik približno 1,8 do 2 mm, je bele do svetlo rumene barve in obdan z želatinastim zunanjim ovojem premera 4,5–6 mm. Po nekaj tednih, večinoma v mesecu maju, se iz jajčec razvijejo ličinke, velike od 10,5 do 11,5 mm, lahko pa so tudi malo večje, če se je jajce razvijalo pri nižji temperaturi (Jehle in sod. 2011). Ličinke velikega pupka so podobne odraslim živalim, vendar dihajo s peresastimi škrkami, na zadnjih okončinah pa imajo izrazito podaljšane prste. Hrbtni del grebena je posut s črnimi pikami. Rep se na koncu stanjša v tanko nitasto konico (Veenvliet 2003).



Slika 4: Razvojni krog velikega pupka *Triturus carnifex* (foto: Povzeto po: Froglife 2001)

1.2.2 Življenjski prostor velikega pupka

V Sloveniji je veliki pupek splošno razširjena vrsta, ki živi od nižin in montanskega pasu vse do gozdne meje. Na sliki (Slika 5) so prikazana najdišča velikega pupka v Sloveniji. Vrsto najpogosteje najdemo na nadmorski višini 100–900 metrov, sega pa tudi do 1800 metrov (Poboljšaj in Lešnik 2003).



Slika 5: Najdišča velikega pupka (*Triturus carnifex*) v Sloveniji (Poboljšaj in Lešnik, 2003).

Veliki pupek je vrsta, ki naseljuje območja z zadostno količino primernih voda ter na ustrezen kopenski habitat, ki zajema travišča, grmišča in mejice s skrivališči (kamni, odpadli les in gosta vegetacija). Tipični habitat velikega pupka je široko, večje in globlje vodno okolje z bujno vodno vegetacijo. Najdemo ga tudi v antropogenih habitatih, kot so kamniti vodnjaki, korita za vodo, mlake, kamnolomi, požarne mlake, kali in mlake za napajanje živine. V osrednji, zahodni in južni Italiji so na primer najbolj pogosti vodni habitati velikega pupka vodna telesa umetnega nastanka. Najprimernejši kopenski habitati so mešani gozdovi, oddaljeni približno med 100 in 200 metrov od vodnega okolja, kjer se razmnožujejo. Selitve iz kopenskega v vodni habitat potekajo spomladi, ko temperatura zraka ponoči ostaja nad 4–5 °C (Jehle in sod. 2011).

Na življenje v vodnem okolju pomembno vpliva količina sence, ki ga pokriva. Če ta presega 20 % pokritosti, se zmanjša število ličink v vodnem telesu, tudi kalu. Popolnoma pa izginejo

če je senca na več kot 40 % površine. Bolj sončna telesa so praviloma tudi bogatejša z vegetacijo, kar je primernejše za bivanje velikega pupka. Najprimernejši vodni habitati so tisti, pri katerih je količina vegetacije na obrežju 25–50 %, v vodi pa 50–75 %. pH vode, v kateri biva pupek, mora biti nevtralen do rahlo bazičen (7,4–8,5) (Jehle in sod. 2011).

1.2.3 Kali

Kali (ang. *Temporary ponds*) (Slika 6) so začasna plitva vodna telesa, ki ostanejo napolnjena z vodo dovolj dolgo, da se v njih omogoči razvoj vodne in obrežne vegetacije ter živalskih skupin (Zacharias in sod. 2007). Sredozemski kali (*Mediterranean Temporary ponds* ali MTP) so prioritetni habitati v omrežju Natura 2000 Evropske unije (Direktiva Sveta 92/43/EC) v sredozemskih državah, in sicer v sredozemskem biogeografskem območju. MTP so predvsem vodna telesa naravnega nastanka, medtem ko so kali v Sloveniji večinoma antropogeni in se ne uvrščajo med MTP.

Kale v Sloveniji, ki so naravnega nastanka, so ljudje lahko obložili z glino, s tem pa so dosegli neprepustnost podlage. S preusmerjanjem deževnice, se v kalih voda dalj časa zadrži. V kalih so izrazita vodna nihanja. Največ vode v njih je v času padavinskega viška v spomladanskih, jesenskih in zimskih mesecih, najmanj pa v poletnih mesecih, ko so temperature najvišje.

Če se s kali ne upravlja, so prepuščeni naravnim procesom zaraščanja. Količina odmrlih rastlinskih delov in blata na dnu narašča, tako da se prostornina kala zmanjšuje. Rastline na robu postajajo višje in se širijo v notranjost kala, tako da ga prerastejo. Zapolnjena kotanja z usedlinami se počasi izsuši, na zaraščeno površino pa se naselijo nove rastlinske vrste (Poboljšaj in sod. 2007). Kali pogosto ležijo na vznožju klancev ob cestah ter ob kolovozih, kjer se zbira deževnica. Kali ob prometnih cestah so zelo problematični, saj se v vodo s ceste stekajo olja, soli in druge snovi, nevarne za rastlinstvo in živalstvo. Za dvoživke, ki prečkajo ceste iz prezimovališča na poti v poletna bivališča, je nevaren tudi promet. Prav zaradi teh dejavnikov je vzdrževanje kalov nujno potrebno. Slednje je odvisno predvsem od količine nanošenega blata. Nekateri kali potrebujejo čiščenje vsako leto, drugi na nekaj let. Čiščenje blata je bilo tudi v preteklosti pomembno opravilo, saj je postrgano blato služilo kot gnojilo. Vzdrževanje obrežja kala ni bilo potrebno, saj je živina teptala močvirsko rastlinje in ga skupaj z ilovico steptala v neprepustno plast (Poboljšaj in sod. 2007).



Slika 6: Kal » Na Žlebu« nad vasjo Kastelec je življenjski prostor velikega in navadnega pupka (foto: T. Rosič)

Kali so izjemen habitat za dvoživke, saj so bogati s fitoplanktonom in zooplanktonom, s katerim se prehranjujejo ličinke dvoživk. Kali zaradi svoje bogate vodne vegetacije zagotavljajo prednost živalim, ki pritrđijo jajčeca na vodno rastlinje (Zacharias in sod. 2007). Dvoživke, ki se pojavljajo v kalih v Sloveniji, so: navadni pupek, veliki pupek, planinski pupek, rosnica *Rana dalmatina*, sekulja *Rana temporaria*, navadna krastača *Bufo bufo*, hribski urh *Bambina variegata*, zelena rega *Hyla arborea*, navadni močerad *Salamandra salamandra*, debeloglavka *Pelophylax ridibundus* in zelena žaba *Pelophylax* kl. *esculentus* (Poboljšaj 2007, Lužnik 2013).

Živali v kalu imajo veliko naravnih plenilcev. Mrest, paglavci in ličinke so hrana za vodne hrošče, npr. za obrobljenega kozaka *Dytiscus marginalis* in ribe, včasih tudi za odrasle dvoživke. Ribe praviloma vnaša v kale človek. Zlata ribica *Carassius auratus* predstavlja nevarnost za nekatere vrste, saj je plenilka, ki se hrani z vodnimi žuželkami, paglavci in mresti dvoživk, pa tudi z rastlinjem, na katerega so pritrjena jajčeca dvoživk. Dvoživke so izjemno pomemben člen v prehranjevalni verigi. So pomemben vir hrane za belouške, štoklje, čaplje in druge ptice (Slika 7) in mnoge sesalce. Dvoživke se hranijo tudi s komarji (Culicidae) in njihovimi ličinkami (Poboljšaj in sod. 2007).



Slika 7: Vodomec (*Alcedo atthis*) z ulovljeno ličinko velikega pupka (foto: John Webley)

1.2.4 Varstvo kalov

Kali predstavljajo življenjski prostor številnim rastlinam ter vzdržujejo osnovno prehranjevalno verigo številnih živalskih vrst, vezanih na vodno okolje. Na podlagi Zakona o ohranjanju narave (2004) in Pravilnika o določitvi in varstvu naravnih vrednot (2004) so prav zaradi biotske pestrosti vsi kali ekosistemske naravne vrednote lokalnega pomena. K varovanju kalov pripomorejo prepovedi za gradbene posege, onesnaževanje, naselitve tujerodnih vrst in lovljenje dvoživk, ki so zapisane v Pravilniku o določitvi in varstvu naravnih vrednot (2004). Bistven člen za varovanje kalov v Zakonu o ohranjanju narave (2004) prepoveduje oženje, namerno uničenje ali poškodovanje habitatov rastlinskih ali živalskih vrst. Za izvajanje posegov v naravo na naravnih vrednotah je potrebno pridobiti naravovarstveno soglasje in sicer skladno s predpisi s področja graditve objektov in ohranjanja narave (Pravilnik o določitvi in varstvu naravnih vrednot, 2004).

1.3 Varstveni status in ogroženost velikega pupka

Dvoživke so na Zemlji prisotne več kot 100 milijonov let. Naseljujejo skoraj vsa območja Zemlje, razen Antarktike in severne Arktike, hkrati pa so zelo podvržene masovnemu izumiranju. Približno 37 % jih je na rdečem seznamu IUCN (Mednarodna zveza za ohranjanje narave in naravnih virov) opredeljenih kot potencialno ogrožene (ang. *threatened*), ranljive (ang. *vulnerable*) ali prizadete (ang. *endangered*) vrste. Ta delež je nižji od realnega stanja, saj ohranitveni status približno 25 % vrst še ni znan (Alford 2011).

Populacije dvoživk hitro reagirajo na različne spremembe v okolju, zato so pomembni indikatorji njegovega stanja. Habitatni predstavljajo zdravo in uravnoteženo okolje, če je tam prisotno veliko število različnih vrst dvoživk. Če pa dvoživke nenadoma izginejo ali se

njihovo število drastično zmanjša, je to znak, da se življenjske razmere slabšajo (Cipot in sod. 2011).

Z upadanjem populacij dvoživk se srečujemo tudi v Sloveniji. Prav vse dvoživke pri nas, tudi veliki pupek, so uvrščene na rdeči seznam dvoživk (Pravilnik o uvrstitvi ogroženih rastlinskih in živalskih vrst v rdeči seznam, Ur. I. RS 82/2002) in so zavarovane z Uredbo o zavarovanih prosto živečih živalskih vrstah (Ur. I. RS 46/2004; 109/2004). V Rdečem seznamu je veliki pupek v Sloveniji med ranljivimi vrstami. V mednarodnih dokumentih je veliki pupek uvrščen v Prilogo II Bernske konvencije (Konvencija ... 1999), ki navaja strogo zavarovane vrste in prilogo II Direktive o habitatih (Direktiva Sveta 92/43/EGS). Na podlagi Direktive o habitatih smo v državah EU ustanovili »Posebna ohranitvena območja«, ki sestavljajo del območja Nature 2000. IUCN uvršča velikega pupka med manj ogrožene vrste (ang. *least concern*) zaradi široke geografske razširjenosti, tolerance na širok razpon habitatov in domnevno velikih populacij. Domnevajo, da se populacije velikega pupka ne zmanjšujejo v takšni meri, da bi izpolnile pogoje za uvrstitev v kategorijo bolj ogroženih vrst. Kljub temu so nekatere lokalne populacije ogrožene in prihaja do njihovega izumiranja (Romano in sod. 2009).

Glavni vzroki ogroženosti velikega pupka v Sloveniji so naslednji (Cipot in sod. 2011):

1. Izguba primernih vodnih in kopenskih habitatov, ki se med seboj prepletajo zaradi razvoja infrastrukture, urbanizacije, razvoja cest, železnic in povečanje prometa.
2. Moderniziranje kmetijstva, predvsem uvajanje novih tehnologij in povečan vnos pesticidov in gnojil v tla ter podtalnico.
3. Regulacija vodotokov, čiščenje in izsekavanje vegetacije na bregovih vodotokov, zasipavanje in izsuševanje mokrišč.
4. Ne-vzdrževanje, zaraščanje in uničevanje mlak ter kalov predvsem na kraških območjih.
5. Namerno ali nenamerno naseljevanje tujerodnih in invazivnih živalskih in rastlinskih vrst.

Pomemben dejavnik ogrožanja dvoživk je promet in sicer predvsem na selitvenih poteh med letnimi in zimskimi bivališči. Prostovoljci jim v selitvenem času pomagajo in jih prenašajo čez ceste, a to ni dolgotrajna rešitev. Marsikje so že zgradili stalne podzemne prehode. Poleg prehodov pa je nujna tudi postavitve stalnih ograd, ki dvoživke usmerjajo k podhodu (Poboljšaj 2007).

Tudi lokalne vremenske razmere imajo pomemben vpliv na populacijsko dinamiko dvoživk, vključno s pupki (McCarty 2001; Thomas in sod. 2004). Nihanja v količinah padavin v krajšem obdobju lahko povzročijo pomembna nihanja gladine vode v teh nestalnih vodnih telesih, kar ima za posledico naključno preživetje vodnih organizmov. Po drugi strani pa

lahko globalno segrevanje povzroči izsušitev vodnega telesa v celoti, kar na dolgi rok povzroči tudi izumrtje organizmov. Medsebojno sta povezana tudi vpliva količine lokalnih padavin in kroženja vode na Zemlji, zato se vodostaji sosednjih vodnih teles lahko hitro spreminjajo. Znižanje nivoja podtalnice na širšem (regionalnem) območju ima vpliv na nivo vode v vseh vodnih telesih (McMenamin in sod. 2008).

1.4 Ocena velikosti populacije

Pri izbiri metode za ocenjevanje velikosti populacije je treba upoštevati dejavnike, ki vplivajo na izbrano živalsko vrsto. Dejavniki, ki so ključni pri izbiri metode, so biologija vrste, življenjski prostor, številčnost vrste ter čas pojavljanja. V naši raziskavi je bil glavni cilj določitev ocene številčnosti populacije, ki se razmnožuje v izbranem vodnem telesu v eni sezoni. Za pupke je značilno podaljšano razmnoževanje, ki lahko traja od nekaj tednov do nekaj mesecev, tako da ne moremo natančno določiti termina, v katerem bi bila prisotna celotna odrasla populacija na območju razmnoževanja (Griffiths 1996).

1.4.1 Metoda lova, označevanja in ponovnega ulova – CMR

Metoda lova, označevanja in ponovnega ulova (ang. *capture, mark, recapture* ali *CMR*) temelji na sledenju označenih osebkov ob minimalno dveh ulovih v isti populaciji. Ob prvem ulovu preštujemo in označimo vse osebkke (n_1), nato jih izpustimo ter počakamo približno 30 minut, da se enakomerno razporedijo po kalu. Ob drugem ulovu ponovno preštujemo vse osebkke (n_2), preštujemo pa tudi tiste osebkke, ki so že označeni (m_2). Ocena številčnosti (N) temelji na predpostavki, da je delež označenih osebkov v drugem vzorcu (m_2) v istem razmerju do deleža osebkov pri drugem ulovu (n_2) kot delež prvotno označenih osebkov (n_1) do celotne populacije (N) (Greenwood in Robinson 2006):

$$m_2/n_2 = n_1/N$$

Iz tega lahko izpeljemo številčnost populacije

$$N = n_1 * n_2 / m_2$$

To razmerje imenujemo Lincoln-Petersenov indeks, ki temelji na predpostavkah, da (Pollock in sod. 1990):

- je populacija geografsko in demografsko zaprta,
- imajo vsi osebki v populaciji enako možnost, da jih ujamemo,
- imajo vsi osebki enako možnost preživetja,
- so vsi vzorci naključni in reprezentativni za celotno populacijo,
- se označbe med ulovi ne izgubljajo oz. jih ne spregledamo.

Trajanje vzorčenja, njegova intenziteta in čas med zaporednimi obdobji vzorčenja se lahko bistveno razlikujejo glede na preučevane cilje. Cilji in načrti vzorčenja so bistvene komponente, ki določajo, katera metoda CMR je najbolj primerna za določeno raziskavo. Mnoge raziskave populacij dvoživk vključujejo ulov živali v obdobju razmnoževanja tudi preko več let, kjer lahko vzorčenje traja od 2 do 12 tednov (Schmidt in Anholt 1999).

1.4.2 Označevanje živali

Dvoživke lahko označujemo na več načinov, vsaka metoda pa je odvisna od proučevane vrste, vpliva označbe na živali, trajanja raziskave ter števila označenih živali. V raziskavah se uporabljajo različne metode označevanj, kot so amputacije prstov, elastični obročki, transplantanti kože, fluorescentne oznake, elastomerni vsadki, tetovaže, pasivno integrirani transponderji in fotoidentifikacija na podlagi kožnih vzorcev (Halliday 2006). Nobena od teh metod ni popolna, nekatere pa imajo lahko škodljive posledice za živali. Nikakor pa označevanje ne sme povzročiti smrti ter imeti negativnega vpliva na razmnoževanje in vedenje (Beausoleil in sod. 2004). Med naštetimi metodami se najbolj uporabljala metoda amputacije prstov (ang. *toe-clippnig*) saj ni bila draga, prav tako pa so lahko uporabili pridobljeno tkivo za genetske raziskave.

Idealen način označevanja živali je izveden na terenu tako, da je žival spuščena nazaj na mesto, kjer je bila ujeta. Če je potrebno žival prestaviti v laboratorij za raziskave, jo moramo potem tudi čim prej vrniti na mesto ulova (Donnelly 1994).

1.4.3 Fotoidentifikacija

Uporaba fotografij za identifikacijo živali se uporablja pri vodnih in kopenskih sesalcih, plazilcih ter dvoživkah. Pri dvoživkah je metoda fotoidentifikacije primerna le za vrste, ki imajo visoko stopnjo raznolikosti hrbtnih (navadni močerad, sekulja, zelena krastača *Bufo viridis*) ali trebušnih (veliki pupek, navadni pupek, hribski in nižinski urh, *Bombina variegata*, *B. bombina*) kožnih vzorcev (Plăiașu in sod. 2005).

Fotoidentifikacija je ena izmed najzanesljivejših metod za prepoznavanje edinstvenih kožnih vzorcev pri posamezniku določenih vrst dvoživk (Speed in sod. 2007). Metoda je uspešna tudi zato, ker je manj invazivna in ker je identifikacija posameznika trajna. Pri tem je treba upoštevati, da se trebušni vzorci s starostjo nekoliko spremenijo. Najbolj je treba paziti pri juvenilnih živalih, medtem ko so spremembe pri odraslih živalih zanemarljive (Del Lama in sod. 2011). Metoda fotoidentifikacije je primerna metoda za prepoznavanje individualnih živali tudi pri velikem pupku, saj ne povzroča prevelikega stresa ujetim živalim, ker so po fotografiranju takoj izpuščene, prav tako pa je to etično sprejemljiva metoda. Metoda ima nizke materialne stroške, prav tako analiza podatkov štetja ne zahteva velikega statističnega usposabljanja (Lettink 2012).

Metoda fotoidentifikacije ima vseeno nekaj slabosti. Potrebno je zagotoviti približno enake pogoje pri vsakem fotografiranju (jakost svetlobe, fiksacija živali), da zmanjšamo napake pri prepoznavanju (Beausoleil in sod. 2004). Metoda je zaradi dolgotrajnega analiziranja in prepoznavanja živali primernejša za manj obsežne študije ter manjše populacije. Ena od pomanjkljivosti metode so tudi morebitne fotografije slabše kakovosti (Plăiașu in sod. 2005).

1.4.4 Monitoring velikega pupka v Sloveniji

Podatkov o monitoringu velikega pupka v Sloveniji je malo. Lužnik (2013) je v letih 2006–2008 vzorčila pupke v izbranih kalih na Kraškem robu (del območja Natura 2000 Kras). Eden izmed kalov je bil tudi kal »Na Žlebu« pri Kastelcu, kjer je leta 2007 izvajala monitoring vso pomlad. Po Petersonovi metodi je ocenila velikost populacij velikega pupka še v štirih kalih na Kraškem robu: Črnotiče JV (2007 in 2008), Movraž (2007), Socerb S in Rakitovec JZ (2008). Ujela je zelo malo živali (največ 41 v kalu na Socerbu), ponovno ulovljenih je bilo največ 5. V raziskavi je med drugim želela postaviti izhodišče za dolgoročni monitoring populacij velikega pupka ter oceniti njegovo populacijsko strukturo in velikost populacij na območju Kraškega roba.

Leta 2010 in 2011 se je monitoring sistematično izvajal na 37 območjih Natura 2000 po celi Sloveniji (Cipot in sod. 2011). Nobeno izmed navedenih Natura 2000 območij (Preglednica 1) ni bilo pregledano v celoti. Nekatera območja so bila že znana in vnaprej pregledana mrestišča, druga so bila izbrana kot potencialna mrestišča ali potencialna mrestišča na ožjem območju, kjer je bil veliki pupek že najden (Cipot in sod. 2011). Monitoring razširjenosti velikega pupka je temeljil na podatkih o prisotnosti/odsotnosti vrste na posameznem območju. Za hitro ugotavljanje vrste so v letu 2010 uporabili vizualni pregled in naključno vzorčenje z vodno mrežo. V letu 2011 so vzorčenje nadgradili in standardizirali. Večino lokacij so pregledali samo enkrat in uporabili kombinacijo več metod hkrati (Cipot in sod. 2011). Na 28 območjih (76 %) je bila najdba velikega pupka znana že od prej, medtem ko

so z monitoringom v letih 2010 in 2011 odkrili še dve novi območji. Na koncu monitoringa je bila potrjena prisotnost velikega pupka na 30 območjih (81 %) Nature 2000.

Preglednica 1: Rezultati monitoringa razširjenosti velikega pupka v letih 2010 in 2011 na izbranih Natura 2000 območjih (Cipot in sod. 2011).

IME OBMOČJA	TCAR PREJ	MON 2010-2011
Banjšice – travišča	DA	Potrjen
Bloščica	DA	Ni bil najden
Bohor	NE	Ni bil najden
Češeniške gmajne in Rovščica s pritoki	NE	Ni bil najden
Dobrava – Jovsi	DA	Potrjen
Dolina Branice	DA	Potrjen
Dolina Vipave**	DA	Potrjen
Drava	DA	Ni bil najden
Goričko	DA	Potrjen
Gozd Kranj – Škofja Loka	DA	Ni bil najden
Gozd Olševek- Adergas	NE	NOVA NAJDBA
Javorniki - Snežnik	DA	Potrjen
Julijske Alpe	DA	Ni bil najden
Kočevsko	DA	Potrjen
Kolpa	DA	Potrjen
Krakovki gozd	DA	Potrjen
Kras	DA	Potrjen
Krimsko hribovje – Menišlja	DA	Potrjen
Lahinja	NE	Ni bil najden
Ljubljansko barje	DA	Potrjen
Menina	DA	Potrjen
Mura	DA	Potrjen
Notranjski trikotnik	DA	Potrjen
Obrež	NE	Ni bil najden
Pesniška dolina*	NE	NOVA NAJDBA
Podvinci	DA	Potrjen
Pohorje	DA	Potrjen
Pregara – travišča	DA	Potrjen
Radensko polje – Viršnica	DA	Potrjen
Rašica	NE	Ni bil najden
Slovenska Istra	DA	Potrjen
Šmarna gora	DA	Ni bil najden
Trnovski gozd – Nanos	DA	Potrjen
Velovlek	NE	Ni bil najden
Zelenci	DA	Ni bil najden
Zgornja Mura	DA	Potrjen
Žejna dolina	NE	Ni bil najden

TCAR PREJ – vrsta, znana na območju pred monitoringom, **MON 2010–2011** - status vrste na območju v času monitoringa. * vrsta najdena tik ob meji SCI (posebna ohranitvena območja) , ** naključna najdba v letu 2011 v okviru monitoringa rakov

1.5 Namen dela

Namen zaključne naloge je bila ocena letne velikosti populacije velikega pupka v izoliranem kraškem vodnem telesu in jo primerjati z rezultati predhodnega monitoringa na omenjenem območju (Lužnik 2013). Prispevati smo želeli k oceni populacijskega trenda evropsko pomembne vrste na varovanem območju Natura 2000 in preizkusiti ne-invazivno metodo prepoznavanja živali s fotoidentifikacijo.

Rezultati našega dela so prispevali k razumevanju demografskih procesov velikega pupka na območju Natura 2000 in imajo varstvene implikacije. Dvoživke, med njimi tudi veliki pupek, so v Sloveniji ena izmed bolj ogroženih živalskih skupin, zato je še posebej pomembno dolgoročno spremljanje njihovih populacij (Lužnik 2013).

Delo je potekalo v okviru projekta BioDiNet – Mreža za varovanje biotske raznovrstnosti in kulturne krajine.

2 METODE DELA

2.1 Terensko delo

Raziskava je potekala v kalu »Na žlebu«, severovzhodno od vasi Kastelec na Kraškem robu, v katerem je v preteklosti že potekala raziskava stanja populacij pupkov. Kal je primeren za spremljanje dinamike populacije v času razmnoževanja: večino let je v njem vse do poletja dovolj vode (Lužnik 2013). Terensko delo smo izvedli leta 2013 v spomladanskem času, ko se pupki razmnožujejo. Velikost populacije velikega pupka smo določili z vzorčenjem po metodi CMR.

2.1.1 Vzorčenje pupkov po metodi CMR

Vzorčenje se je začelo z lovljenjem živali (prvih 60 minut). Le-te smo evidentirali (fotografirali) in jih spustili nazaj v kal. Sledil je enourni premor. V tem času so se pupki ponovno razporedili po kalu, nato pa smo zopet lovili 30 minut. Pupke smo lovili z dvema vodnima mrežama (premer odprtine 30 cm, velikost okenc 1 x 1 mm), kar je eden od standardnih načinov za lov pupkov v vodi (Halliday 2006). Prav tako smo si razporedili lokacijo lova. Ena oseba je lovila v globlji vodi, v približno 1,3 m globine, medtem ko je druga oseba lovila ob obrežju (Slika 8). Ujete pupke smo do označevanja hranili v ločenih vedrih z vodo, saj smo v mrežo lahko ujeli tako velikega kot navadnega pupka. Ostale dvoživke smo pregledali, zabeležili vrsto in jih takoj izpustili.



Slika 8: Prikaz metode lova (foto: M. Lužnik)

2.1.2 Protokol vzorčenja

Terensko delo, pri katerem smo ocenjevali velikost populacije, je potekalo približno tri mesece oziroma od konca marca do začetka junija. Časovni razmiki med vzorčenji so bili različni. Najmanjši razmik je bil 5 dni, največji pa 14 dni (Preglednica 2).

Preglednica 2: Protokol vzorčenja velikega pupka v kalu pri Kastelcu v letu 2013 s podanimi razmiki med vzorčenji

Št. vzorčenja	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Datum vzorčenja	28. 3.	4. 4.	11. 4.	18. 4.	23. 4.	7. 5.	16. 5.	21. 5.	28. 5.	7. 6.
Razmiki	7 dni	7 dni	7 dni	5 dni	14 dni	9 dni	5 dni	7 dni	10 dni	

2.2 Prepoznavanje živali

Ujete živali smo prepoznavali na podlagi trebušnih vzorcev z metodo fotoidentifikacije. Prav tako smo na terenu zabeležili tudi spol ujete živali. Metoda ni imela negativnega učinka za ujete živali (Beausoleil in sod. 2004). Fotografiranje je potekalo tako, da smo žival položili na petrijevko in jo pridržali z roko, tako da smo ji onemogočili premikanje (Slika 9). S tem smo dosegli, da smo lahko fotografirali trebušno stran z vzorci v mirujočem položaju. Fotografirane živali smo izpustili. Uporabili smo fotoaparata Canon EOS 1100D in Panasonic Lumix DMC-LX3.

Fotografije smo ločeno po datumih shranili in jih označili z identifikacijsko številko za posamezno žival. Tako smo dobili ustrezen pregled nad ulovi. Pri določanju istovetnosti živali smo (zaradi boljšega pregleda nad veliko količino slik) uporabljali dva računalniška ekrana. Na ta način smo lahko natančno ločili živali med seboj. Najprej smo pupke ločili po spolu. To smo lahko naredili le na podlagi fotografij, kjer je vidna povečana kloaka pri samcih. Na nekaterih fotografijah kloaka ni vidna, ker je tehnika fotografiranja ne prepozna; takrat smo si pomagali s podatki s terena, kjer smo beležili spol. Če bi želeli določiti vsem živalim spol, samo na podlagi fotografij, bi potrebovali kvalitetnejše fotoaparate. Nato smo pupke med seboj ločevali po vzorcih na trebušni strani. Veliki pupek ima po trebuhu velike lise, zato razlikovanje živali med seboj ni bilo težavno, vendar so slike morale biti ustrezno ostre in kvalitetne, da smo lahko natančno primerjali lise in pike.

2.3.1 Analiza podatkov s programom MARK

Podatke, ki smo jih pridobili z metodo CMR in uredili v preglednici z zgodovino ulovov, smo analizirali s programom MARK (White in Burnham 1999). To je programsko orodje, ki izračuna ocene parametrov označenih živali. Posebnost programa je ta, da lahko oceni parametre živali, ki smo jih pridobili na različne načine. Uporabimo lahko podatke mrtvih živali (npr. lovske trofeje, ulovljene ribe), opažanja obročkanih živali, ulovljenih in označenih živali, podatke, pridobljene z radiotelemetrijskim sledenjem, z DNA vzorci ali s kombinacijo vseh naštetih. Program MARK izračuna ocene parametrov, kot so ulovljivost in ponovna ulovljivost, navidezno preživetje, parameter vstopa, upadanje/naraščanje populacije in velikost populacije. V različnih modulih programa lahko uporabimo in modeliramo različne kombinacije parametrov. Modeliramo lahko samo eno skupino živali ali ločeno mlade in stare živali, ločeno samce in samice ali katerekoli smiselne skupine (npr. zaradi domnevno različne stopnje preživetja ali ulovljivosti) (Lužnik 2013; White in Burnham 1999).

Program MARK uporabljamo za modeliranje zaprtih ali odprtih populacij. Zaprta populacija pomeni, da v populaciji med vzorčenjem ni priliva (imigracij, rojstev) ali odliva (emigracij, smrti), odprta populacija pa pomeni, da sta v populaciji med vzorčenjem prisotna odliv in priliv. Za zaprte populacije program poda oceno velikosti populacije (N). Verjetnost ulova (p) in ponovnega ulova (c) modelira kot funkcijo časa, skupno ali ločeno za posamezno skupino. Ocene parametrov program izračuna z numeričnimi tehnikami največje verjetnosti (ang. *maximum likelihood*), poleg tega pa prikaže morebitne nedoločljive parametre. Glede na želeni rezultat protokol vzorčenja ter pridobljene podatke izberemo najprimernejši modul (Lužnik 2013).

Vhodni podatek za program MARK je zgodovina ulovov za posamezni organizem. V obravnavanem primeru smo sicer imeli ločene podatke za samce in samice, vendar smo jih v programu modelirali kot eno skupino v skladu s primerom, ki ga je za velikega pupka postavila Lužnik (2013).

Najprej smo naredili analizo v programu MARK z modulom »Cormack-Jolly-Seber« (CJS). S tem modulom lahko glede na oceno parametra preživetja preverimo, ali je populacija odprta ali zaprta. Populacijo smo nadalje modelirali v modulu »Closed captures«, kjer smo testirali različne modele zaprtih populacij. Znotraj programa MARK smo zagnali tudi model »CAPTURE«, ki ravno tako modelira zaprte populacije in išče najprimernejši model za oceno velikosti populacije.

3 REZULTATI Z DISKUSIJO

3.1 Podatki o ulovih velikega pupka

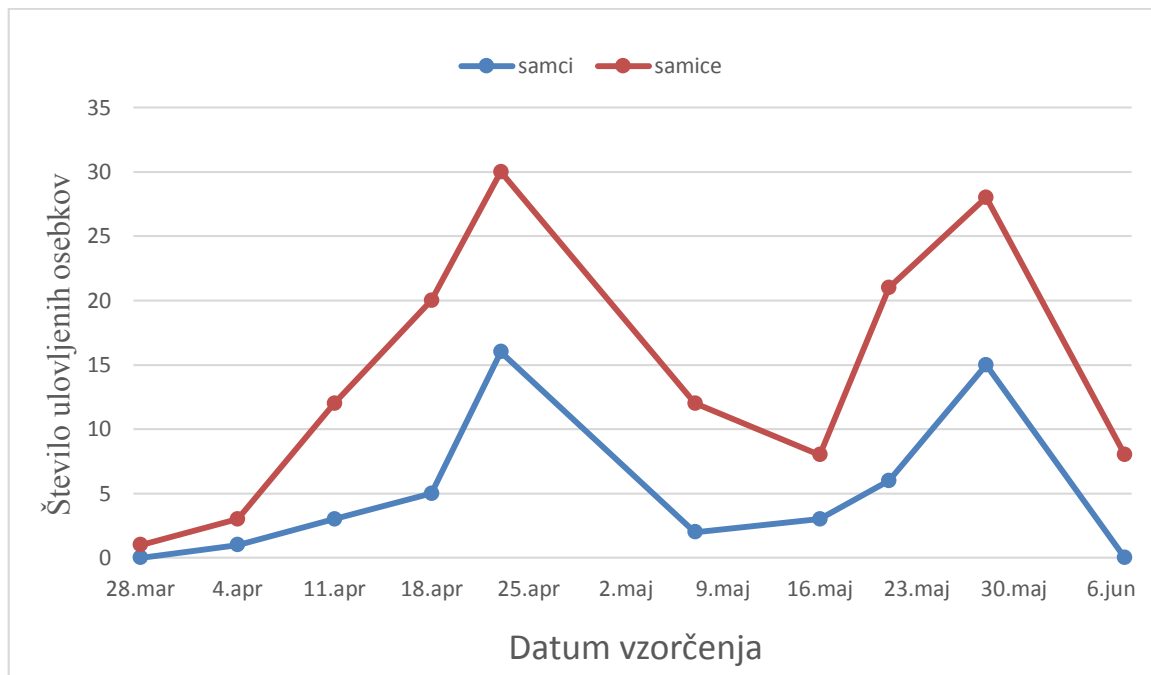
Podatki o ulovu velikega pupka so zbrani v preglednici (Preglednica 4). V obdobju vzorčenja smo ulovili 141 živali, od tega 96 samic in 45 samcev.

Preglednica 4: Povzetek ulovov velikega pupka v kalu nad Kastelcem.

Datum vzorčenja		28.	4.	11.	18.	23.	7.	16.	21.	28.	7.
		3.	4.	4.	4.	4.	5.	5.	5.	5.	6.
SAMICE	Že označene	0	0	0	5	7	4	3	7	18	3
	Neoznačene	0	3	12	15	23	8	5	14	10	5
	Ob vzorčenju	1	3	12	20	30	12	8	21	28	8
	Vse označene	1	4	16	31	54	62	67	81	91	96
SAMCI	Že označeni	0	0	0	0	1	2	0	1	2	0
	Neoznačeni	0	1	3	5	15	0	3	5	13	0
	Ob vzorčenju	0	1	3	5	16	2	3	6	15	0
	Vsi označeni	0	1	4	9	24	24	27	32	45	45
SKUPAJ	Označeni	0	0	0	5	8	6	3	8	20	3
	Neoznačeni	1	4	15	20	38	8	8	19	23	5
	Ob vzorčenju	1	4	15	25	46	14	11	27	43	8
	Skupaj vseh označenih	1	5	20	40	78	86	94	113	136	141

Dinamiko ulovljenih živali (Preglednica 4: predzadnja vrstica » Ob vzorčenju« pri vsakem spolu oz. skupno) smo spremljali na podlagi desetih vzorčenj, ki so potekala od konca marca do začetka junija.

Iz podatkov je razvidno, da je bilo število ulovljenih živali v začetku majhno. Število ulovljenih živali se je stopnjevalo do konca aprila, ko je bilo zabeleženih največ samic (30) in samcev (16), potem je upadlo. Število ujetih živali je ponovno naraslo konec maja, ko smo ujeli 28 samic in 15 samcev. Ob zadnjem vzorčenju v začetku junija smo ujeli le še 8 živali (vse so bile samice). Število ulovov po posameznih vzorčnih priložnostih je prikazano na sliki (Slika 10). Razvidno je, da je nihanje števila ulovljenih živali med spoloma zelo podobno, čeprav je bilo pri vseh ulovih zabeleženo večje število samic. Skupaj smo ujeli 96 samic oziroma 68,1 % ujetih živali, in 45 samcev (31,9 % ujetih živali).



Slika 10: Sezonska dinamika ulovljenih samcev in samic velikega pupka.

Lužnik (2013) je v letih 2006, 2007 in 2008 vzorčila pupke v izbranih kalih na Kraškem robu. V letu 2007 je zbrala dovolj podatkov za oceno velikosti populacije velikega pupka v kalu na Žlebu. V tem letu je izvedla osem vzorčenj in skupno ujela 72 pupkov, od tega 33 samcev in 39 samic. Podatki so prikazani v spodnji preglednici (Preglednica 5) (Lužnik 2013).

Preglednica 5: Povzetek ulovov velikega pupka v kalu nad Kastelcem v letu 2007 (povzeto po Lužnik 2013)

Datum vzorčenja	15.3	17.3	11.4	12.4	17.5	21.5	16.6	19.6
Skupaj vseh označenih samic	1	2	3	12	24	62	37	39
Skupaj vseh označenih samcev	0	0	1	3	20	24	31	33
Skupaj ob vzorčenju	1	1	2	11	33	14	5	6
Skupaj vseh označenih	1	2	4	15	44	86	68	72

V letu 2007 je bilo skupno število ulovljenih živali manjše (72) kot v naši raziskavi (141). Prav tako se razlikuje dinamika ulovov po vzorčenjih. Največ ulovljenih živali je bilo sredi maja (33), pred in po tem pa je bilo število manjše. Razmerje med spoloma je bilo skoraj enako, saj so samice so predstavljale 54 % vseh ujetih živali, samci pa 46 %. Razlike v rezultatih so drugačne že zaradi same metode dela. Lužnik (2013) ni imela enakih časovnih intervalov med vzorčenji (najdaljša časovna razlika med vzorčenji 35 dni) za razliko od naših intervalov (najdaljša časovna razlika med vzorčenji 14 dni). Prav tako je zaradi majhnega števila ulovljenih živali, združila po dve vzorčenji skupaj.

3.2 Uspešnost fotoidentifikacije

Metoda fotoidentifikacije se je izkazala kot primerna za določevanje ponovnega ulova živali. S pomočjo fotografij smo določili istovetnost živali. Pri prepoznavanju živali nismo imeli večjih težav, saj je bila baza fotografij relativno majhna tako, da nismo potrebovali programa za identifikacijo. Če bi želeli natančno določiti uspešnost fotoidentifikacije (v %), bi morali uporabiti dvojno markiranje. To pomeni, da bi poleg fotografiranja, potrebovali še neodvisno metodo, ki pa bi bila invazivna. Tega nismo naredili, saj smo želeli dokazati, da sama fotoidentifikacija ne vpliva negativno na ujete živali. Uspešnost fotoidentifikacije je bila potrjena tudi v raziskavi, ki je potekala na navadnem pupku v kalu »Na žlebu« (Rosić 2014).

Za natančno določevanje živali so nujne kakovostne fotografije, saj je kljub večkratnemu natančnemu primerjanju slik med identifikacijo prišlo do težav pri prepoznavanju. Na nekaterih fotografijah se vidijo kapljice vode, umazanija ter odboj svetlobe na petrijevki. V prihodnje bi nekatere težave lahko odpravili tako, da bi žival slikali na suhi petrijevki in se tako izognili kapljicam vodam. Ta rešitev ni zanesljiva v celoti, saj je ujeta žival mokra in se voda prenese na petrijevko, nikakor pa ne smemo žival obrisati, saj lahko s tem poškodujemo njeno povrhnjico. Največjo težavo pri identifikaciji so predstavljali različni položaji pupkov. S tem se je navidezno spremenil trebušni vzorec, poleg tega so ponekod na fotografijah vidne tudi bočne in ne samo trebušne lise. Če bi želeli fotografirati pupka vedno v enakem položaju, bi v poštev prišla anestezija. Ta postopek se uporabi tudi takrat, ko je pupke potrebno meriti. Vendar je ta metoda preveč tvegana, samo početje pa je invazivno. Primer slabih fotografij in težkega določevanja je predstavljen na sliki (Slika 11).



Slika 11: Fotografije težko prepoznavne samice z identifikacijsko število 23, slikana ob treh vzorčenjih (18. 4., 23. 5. in 28. 5.). Te fotografije so primer nekvalitetnih fotografij in težje identifikacije. Na fotografiji na levi strani je prikazana slaba svetloba, na sredinski fotografiji odboj svetlobe, na fotografiji na desni strani pa so kapljice vode. S krogom so označeni vzorci, po katerih smo lahko prepoznali samico.

Identifikacija samic (Slika 11) je bila težja kot identifikacija samcev (Slika 12), saj se pri samicah velikokrat pojavijo kompleksnejši in težje določljivi vzorci. Pojavijo pa se tudi izjeme, ko ima samica hitro opazen kožni vzorec, ki se že na prvi pogled jasno loči od drugih. Na sliki (Slika 13) lahko vidimo primer lahko prepoznavne samice z označenimi vzorci po katerih smo jo lahko prepoznali.



Slika 12: Samec, ulovljen ob dveh vzorčenjih (11. 4 in 23. 4. 2013).



Slika 13: Fotografije samice z identifikacijsko številko 3, ulovljena ob treh vzorčenjih (4. 4., 23. 4. in 7. 5. 2013). S puščico so označeni vzorci, po katerih smo samico nedvoumno prepoznali.

Fotoidentifikacija je pomembna metoda za zbiranje podatkov ulova in ponovnega ulova. Kljub nekaterim težavam ugotavljamo, da je fotoidentifikacija nadvse primerna metoda za prepoznavanje posameznih živali pri velikem pupku. Metoda je primerna zato, ker je neinvazivna in ker z živaljo rokujemo samo v času fotografiranja. Metoda fotoidentifikacije omogoča tudi več načinov določitve živali. V našem raziskovalnem delu smo živali razlikovali na podlagi primerjave fotografij s prostim očesom. Če bi imeli večje število fotografij, bi bila metoda primernejša in hitrejša s pomočjo optičnih sredstev, kar pa ni bilo potrebno v naši raziskavi.

S to tehniko so že preizkusili identifikacijo različnih vzorcev naravnih oznak tudi pri drugih dvoživkah in pri gepardih, zebrah, žirafah, slonih, levih, šimpanzih, divjih psih ter delfinih in kitih (Kelly 2001). Metoda fotoidentifikacije je nadvse uporabna pri živalih, ki jih je težko ujeti, zato se pogosto uporablja pri proučevanju morskih sesalcev ter pri živalih, ki jim je težko slediti. Ena izmed takih živali je tigar, saj žival, ki je aktivna ponoči. Fotografski postopki so pogosto avtomatizirani s postavitvijo kamer (Yoshizaki 2009).

Pri številnih raziskavah so nujni specifični računalniški programi. Kelly (2001) je uporabila 3-dimenzionalni (3D) računalniški program za pomoč pri fotoidentifikaciji geparda (*Acinonyx jubatus*). V bazi s skoraj 10.000 fotografijami, ki so nastale med leti 1969 in 1991, je bila natančnost primerjav fotografij 100 %. Program je za primerjavo dveh slik porabil približno dve do štiri sekunde. Sistem računalniškega 3D ujemanja je učinkovito orodje za usklajevanje velikega števila fotografij za posamezno identifikacijo. Program je natančen, hiter in primeren za neizkušene označevalce. Ta ne-invazivna metoda je primerna tudi za identifikacijo drugih vrst s spremenljivim vzorcem na telesu ali obrazu.

Kenyon in sod. (2009) so primerjali natančnost fotoidentifikacije na odraslih drevesnih žabah (*Litoria genimaculata*). Ujeli so 59 živali, od tega jih je bilo 13 prepoznanih kot ponovni ulov z metodo fotoidentifikacije. Kenyon in sod. (2009) so nato primerjali učinkovitost identifikacije na podlagi fotografij in amputacije prstov. Amputacija prstov je imela 92,3 % uspešnost, fotoidentifikacija je bila uspešna le v 61,5 %. Ugotovili so, da je bila fotoidentifikacija počasnejša in manj zanesljiva metoda in da je primerna samo v kratkoročnih študijah, katere cilj je zmanjšanje možnosti dvojnega vzorčenja.

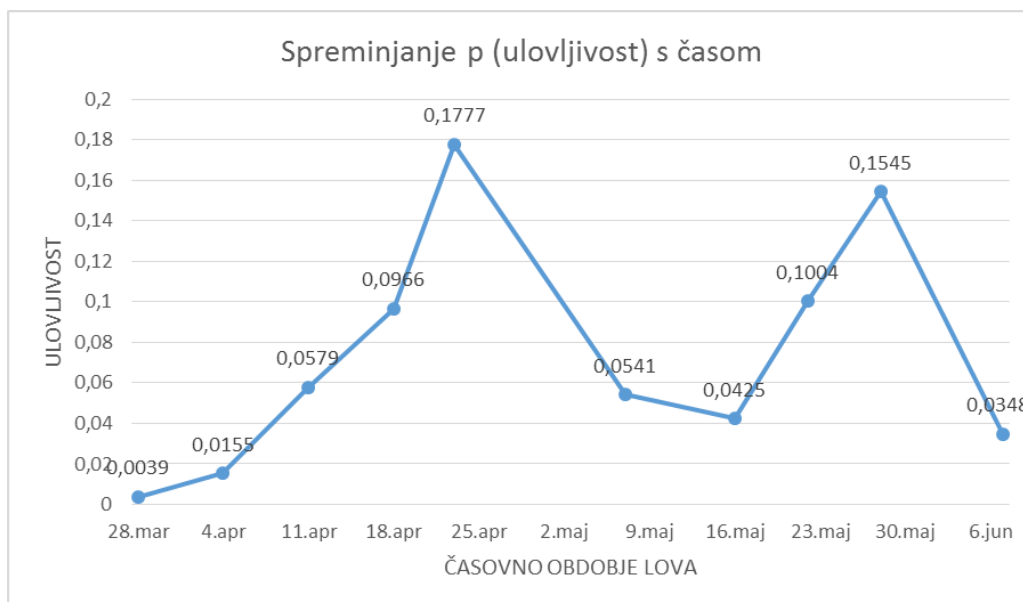
Sacchi in sod. (2010) so za prepoznavanje ponovnega ulova pri pozidni kuščarici *Podarcis muralis* uporabili program I³S (Individual Identification System). V bazi z več kot 1043 fotografijami *P. muralis*, ki so nastale med letoma 2007 in 2008, je program pravilno zaznal 98 % ponovni ulov znotraj istega leta ter 99 % ponovni ulov med obema letoma. Metoda I³S je primerna zaradi visokega odstotka pravilno prepoznanih ponovnih ulovov ter zaradi hitre obdelave slik. Program za primerjavo določene slike namreč v povprečju porabi 44 sekund.

3.3 Velikost populacije

Modul CJS, s katerim smo preverili, ali je populacija odprta ali zaprta, je pokazal, da je navidezno preživetje blizu ena oz. 100 % (0,9813 s 95 % intervalom zaupanja 0,9496 – 0,99326). To pomeni, da živali med vzorčenji večinoma ne zapuščajo populacije, kar nakazuje možnost modeliranja s predpostavko zaprte populacije.

Na podlagi te ugotovitve smo v programu MARK uporabili modul »Closed captures« za zaprte populacije in testirali različne modele. Za najzanesljivejši model zaprtih populacij se je izkazal model Mt. Ta model predvideva dve vrsti parametrov: časovno spremenljivi parameter p (ulovljivost ali ang. *recapture*) ter parameter N (velikost populacije), ki je konstanten. Izračun smo opravili za oba spola in ocenili velikost populacije na 259 živali (s standardno napako 27 in 95 % intervalom zaupanja 217–325).

Parametri ulovljivosti so se v času trajanja raziskave spreminjali. Nizka stopnja ulovljivosti se je spreminjala od 0,39 % do 17,77 %. Spreminjanje ulovljivosti smo prikazali tudi na sliki (Slika 14). Razvidno je, da je bila ulovljivost v začetku vzorčenja najmanjša in se je stopnjevala do petega vzorčenja. V naslednjih dveh vzorčenjih se je zmanjšala in ponovno narasla do predzadnjega. Pri zadnjem vzorčenju se je ponovno zmanjšala. Glede na nizko absolutno oceno ulovljivosti (manj kot 20 %) so taka nihanja pričakovana, saj je majhna razlika v številu ulovljenih pupkov pri določenem vzorčenju doprinesla k dokaj veliki razliki v ulovljivosti. Nihanja v ulovljivosti so nastopila zaradi same aktivnosti pupkov. Če so pupki plavali v vodnem stolpcu so bili najlažje ujeti, obratno pa se je zgodilo s tistimi, ki so se skrivali na dnu vodnega okolja ali celo med vegetacijo.



Slika 14: Prikaz spreminjanja ulovljivosti populacije velikega pupka v celotnem časovnem obdobju lova

Po drugi metodi izračuna velikosti populacije v modulu »CAPTURE« smo ravno tako izbirali med različnimi modeli, ki opisujejo naše podatke. Kljub drugačnemu pristopu so rezultati (vrednosti parametrov) zelo podobni rezultatom v modelu »Closed captures« (Preglednica 6). Velikost populacije smo ocenili na 259 živali (s standardno napako 26,81 in 95 % intervalom zaupanja 217–324).

Preglednica 6: Vrednosti realnih populacijskih parametrov za populacijo velikega pupka, njihove standardne napake (SN) in 95 % interval zaupanja (IZ) za metodo »Closed captures«.

Parameter	Vrednost (Capture)	Vrednost (CJS)	SN	IZ
Velikost populacije N	259	259	27	217–325
Ulovljivost p1	0,00	0,0039	0,0039	0,5281 - 0,0272
Ulovljivost p2	0,02	0,0155	0,0078	0,0057 - 0,0413
Ulovljivost p3	0,06	0,0579	0,0157	0,0338 - 0,0977
Ulovljivost p4	0,10	0,0966	0,0209	0,0626 - 0,1462
Ulovljivost p5	0,18	0,1777	0,0302	0,1260 - 0, 2446
Ulovljivost p6	0,05	0,0541	0,0152	0,0310 - 0,0927
Ulovljivost p7	0,04	0,0425	0,0133	0,0228 - 0,0777
Ulovljivost p8	0,10	0,1004	0,0214	0,0655 - 0,1509
Ulovljivost p9	0,15	0,1545	0,0277	0,1077 - 0,2168
Ulovljivost p10	0,03	0,0348	0,0112	0,0176 - 0,0675

Tudi Lužnik (2013) je leta 2007 modelirala velikost populacije v kalu »Na žlebu« s programom MARK. Zaradi majhnega ulova marca, aprila in junija je združila po dve vzorčnji in tako omogočila statistično bolj robustno analizo. Tako kot v naši analizi je združila podatke za samce in samice. Parametre je modelirala z modificiranim modulom za odprte populacije »POPAN«. Velikost populacije je ocenila na 145 živali s 95 % intervalom zaupanja (89–201). Stopnja ulovljivosti je bila 26 %, razmerje med ulovljenimi samci in samicami pa približno enako (33 : 39). Preživetje med vzorčnji je bilo visoko, razen pri zadnjem intervalu med vzorčnji.

Ocenjeni velikosti populacije iz leta 2007 in 2013 sta kljub uporabi drugačnih metod za prepoznavanje živali in drugačnega algoritma za izračun številčnosti podobni, čeprav je ocenjena velikost naše populacije večja. V letu 2013 se opazi razlika v številčnosti samcev in samic. V tem letu so se samice pojavljale v enkrat večjem številu, v letu 2007 pa je bilo razmerje med samci in samicami približno 1 : 1. Vzrok za manjše število samcev nam ni poznan.

S primerjavo rezultatov naše raziskave in predhodne raziskave (Lužnik 2013) smo pridobili podatke o številčnosti populacije te evropsko pomembne vrste. Če bi želeli pridobiti realno oceno trenda gibanja populacije v izbranem kalu, bi jo morali spremljati še več let. Poleg

tega ne smemo zanemariti populacij pupkov v okoliških kalih, ki jih v naši raziskavi nismo upoštevali; možno je, da so se pupki selili v okoliške kale iz obravnavanega kala.

Poleg kala »Na žlebu« je Lužnik (2013) na Kraškem robu v letih 2007 in 2008 ocenjevala velikost populacije velikega pupka še v štirih kalih (Črnotiče, Movraž, Socerb in Rakitovec) in ocenila velikost populacije v vseh kalih skupaj na okoli 440 živali. Veliki pupek je bil na tem območju najden še v desetih kalih, vendar je bila le v osrednjem kalu v Rakitovcu populacija velika. Po dosedanjih podatkih veliki pupek na Kraškem robu ne dosega kriterija minimalne viabilne populacije (ang. *minimal viable population*, MVP) (Lužnik 2013). Viabilna populacija je tista, za katero je možnost izumrtja kljub naravnim katastrofam ter demografski, okoljski in genetski stohastičnosti zelo majhna (Shaffer, 1981).

3.3.1 Pomen velikosti populacije za oceno tveganja izumrtja

Velikost populacije je spremenljivka, ki prispeva k tveganju izumrtja (Shaffer 1981). Najbolj ogrožene so tiste populacije, ki so izolirane in majhne. Na izumrtje vpliva način življenja, generacijski čas ali pa okoljski dejavniki. Glavni razlogi za izumiranje so:

- demografska nihanja zaradi naključne variabilnosti v rodnosti, smrtnosti ter v spolni sestavi,
- okoljske spremembe, ki vključujejo spremembe habitatov in prehrabnih virov, plenjenje, kompeticijo in katastrofe.

Za oceno tveganja izumrtja populacije je ključen pojem minimalne viabilne populacije (ang. *Minimal viable population*, MVP). Shaffer (1981) je definiral MVP kot 99 % možnost preživetja populacije za 1000 let. Zdaj se uporablja kriterij 95 % verjetnost preživetja za 100 let (Jehle in sod. 2005).

Informacije o MVP niso spodbudne za dolgoročno preživetje velikega pupka. Veliki pupek je uvrščen na prilogo II Direktive o habitatih (Direktiva Sveta 92/43/EGS). Kot država članica EU je Slovenija dolžna na območjih Natura 2000 vzdrževati ugodno stanje populacij velikega pupka: posegi in dejavnosti na območjih habitatnih tipov se izvajajo in načrtujejo tako, da je njihov neugoden vpliv čim manjši (Lužnik, 2013).

Populacija velikega pupka v kalu pri Kastelcu najverjetneje ni izolirana reproduktivna enota, ampak prihaja do migracij osebkov iz bližnjih kalov. Neposrednih dokazov o migracijah pupkov med kali ni, vendar genetske analize na podlagi mtDNA (mitohondrijska DNA) kažejo, da populacije med seboj niso izolirane (Lužnik 2013). Oddaljenost med vodnimi in kopenskimi habitatmi je ključna pri migraciji pupkov. Manjša kot je razdalja in manj kot je ovir, večja je verjetnost, da so populacije povezane med seboj (Jehle in sod. 2005). Za stabilnost celotne populacije velikega pupka bi morala v skladu s teorijo MVP obstajati vsaj

ena velika izvorna populacija in več manjših. Populacija v kalu »Na Žlebu« bi lahko bila izvorna populacija, vendar bi za to potrebovali več podatkov, zbranih iz dolgoročnega monitoringa. Predvsem je zaskrbljujoče, da je tudi ta populacija ogrožena zaradi vnosa rib v kale. To bi lahko pomenilo, da populacija verjetno ni stabilna (Lužnik, 2013).

4 ZAKLJUČEK

Namen zaključne naloge je bil oceniti velikost populacije velikega pupka (*Triturus carnifex*) v kalu »Na Žlebu« pri Kastelcu na Kraškem robu, jo primerjati s preteklimi raziskavami ter preizkusiti metodo fotoidentifikacije – prepoznavanje živali na podlagi vzorcev na trebušni strani. Populacijo pupkov smo vzorčili v spomladanskem času, v času razmnoževanja po metodi CMR.

Fotoidentifikacija se je izkazala za dobro metodo pri prepoznavanju velikih pupkov, saj smo uspešno določili ponovno ulovljene živali. Metodo odlikuje preprosta uporaba: za izvedbo manjše raziskave, kot je bila naša, potrebujemo le fotoaparata, fotografije pa lahko primerjamo kar s prostim očesom na računalniškem ekranu. Poleg tega je ena izmed manj invazivnih metod prepoznavanja živali, saj jih pri fotografiranju ne poškodujemo in jih lahko takoj izpustimo.

V izbranem kalu pri Kastelcu je bila predhodno že izvedena raziskava številčnosti velikega pupka. V letu 2007 je Lužnikova ujela 72 velikih pupkov, od tega 33 samcev in 39 samic (Lužnik 2013). Velikost populacije je bila ocenjena na 145 živali s 95 % intervalom zaupanja 89 – 201. V drugih kalih na Kraškem robu so bile populacije manjše. Glede na te podatke je avtorica sklepala, da veliki pupek na območju Kraškega roba ne dosega kriterija minimalne viabilne populacije, zato je priporočila spremljanje populacij tudi v nadaljnjih letih. Leta 2012 raziskava ni bila mogoča, ker je bil kal izsušen (Lužnik, osebni stik 2014).

V naši raziskavi, ki smo jo opravili leta 2013, smo ugotovili, da se je velikost populacije nekoliko povečala glede na rezultate iz prejšnjih let. Z uporabo modula za zaprte populacije v programu MARK smo populacijo ocenili na 259 živali (s 95 % intervalom zaupanja 217 – 324). Trenutno povečanje številčnosti, ki smo ga zaznali, bi lahko pripisali naravnim nihanjem populacij dvoživk.

Situacija se lahko obrne zaradi vpliva človeka. V kalu, v katerem smo opravljali raziskavo, je že več let prisotna populacija zlatih ribic (*Carrasius auratus*), ki je resna grožnja velikemu pupku. Zlata ribica se namreč hrani z jajčeci velikega pupka in to lahko povzroči upad ali izgubo populacije. To lahko preprečimo z izlovom zlatih ribic (naša aktivnost) ali pa se kal izsuši v sušnem obdobju (vpliv narave). Kljub ribam smo v kalu odkrili tudi ličinke velikega pupka, zato sklepamo, da se pupki v tem kalu vsaj za zdaj uspešno razmnožujejo.

Glede na dosedanje raziskave, ki so potekale v času sedmih let, je številčnost velikega pupka na obravnavanem območju stabilna. Kljub temu je njegovo dolgoročno preživetje vprašljivo in sicer zaradi majhne populacije in posledično nedoseganja kriterija minimalne viabilne

populacije. Domnevamo da, vrsto ogroža vnos tujerodnih vrst ter drugi dejavniki, kot je degradacija (zasipavanje in uničevanje) kalov in drugih okoliških habitatov. Redno spremljanje velikosti populacije bi v prihodnje morali dopolniti z ozaveščanjem javnosti o pomenu ohranjanja narave in kulturne dediščine ter o pomenu varovanja dvoživk.

5 LITERATURA

- Alford R. A., 2011, Ecology: Bleak future for amphibians. *Nature* 480: 461–462.
- Arntzen J. W., Espregueira T.G., Wielstra B. 2007. The phylogeny of crested newts (*Triturus cristatus superspecies*): nuclear and mitochondrial genetic characters suggest a hard polytomy, in line with the paleogeography of the centre of origin. *Contributions to Zoology* 76: 261–278.
- 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.
- Beltram G., 1996, The Conservation and Management of Wetlands in Slovenia, Ph.D. Thesis in Human Ecology, Vrije Universiteit, Brussel, 328 s.
- Beltram G., Skoberne P. 2005. Izzivi za ohranjanje mokrišč, Ministrstvo za okolje in prostor, Ljubljana
- Cipot M., Govedič M., Lešnik A., Pobjljšaj K., Skabeme B., Sopotnik M., Stanković D. 2011. Vzpostavitev monitoringa velikega pupka (*Triturus carnifex*). Naročnik: Ministrstvo za okolje in prostor, Ljubljana. Center za kartografijo favne in flore, Miklavž na Dravskem polju. 56 str., pril.
- Del Lama F., Rocha D.M., Andrade A.M., Nascimento B.L. 2011. The use of photography to identify individuals tree frogs by their natural marks. *South American Journal of herpetology*, 6(3), 2011, 198–204.
- Direktiva Sveta 92/43/EGS o ohranjanju naravnih habitatov ter prostoživečih živalskih in rastlinskih vrst (OJ L 206, 22. 7. 1992).
- Donnelly M. A., Guyer, C.J., 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.
- 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.
- Halliday T. R. 2006. Amphibians. V: Sutherland W.J. (ur.). Ecological census techniques: a handbook. Cambridge University Press: 278–296.
- Jehle R., Wilson G. A., Arntzen J.W., Burke T. 2005. Contemporary gene flow and the spatiotemporal genetic structure of subdivided newt populations (*Triturus cristatus*, *T. marmoratus*). *Journal of Evolutionary Biology*, 18: 619–628.

Jehle R., Thiesmeier B., Foster J. 2011. The crested newt - A dwindling pond-dweller. Bielefeld, Laurenti.

Kelly M. J. 2001. Computer-aided photograph matching in studies using individual identification: an example from Serengeti cheetahs. *J. Mammol.* 82: 440–449.

Kenyon N., Philloti A.D., Alford R.A. 2009. Evaluation of the photographic identification method (PIM) as a tool to identify adult *Litoria genimaculata* (Anura: Hylidae). *Herpetological Conversation and Biology* 4: 403–410.

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

Lešnik A., Cipot M. 2007. Dvoživke Krajinskega parka Goričko: razširjenost, ekologija, varstvo. Miklavž na Dravskem polju: Center za kartografijo favne in flore. - (Življenje okoli nas).

Lettink M. 2012. Herpetofauna: phptp-identification. Inventora and monitoring toolbox: herpetofauna. DOCDM-1023668.

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

Macgregor H. C., Session S.K., Arntzen J.W. 1990. An integrative analysis of phylogenetic relationships among newts of the genus *Triturus* (family *Salamandridae*), using comparative biochemistry, cytogenetics and reproductive interactions. *J. Evol. Biol.* 3: 329–373.

McMenamin S.K., Hadley E.A., Wright C.K. 2008. Climate change and wetland desiccation cause amphibian decline in Yellowstone National Park. *Proceedings of the National Academy of Sciences United States of America* 105, 16988–16993.

McCarty J. P. 2001. Ecological consequences of recent climate change. *Conservation Biology* 15, 320–331.

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.

Pough F. H., Andrews R.M., Cadle J.E., Crump M.L., Savitzky A.H., Wells K.D. 2001. *Herpetology*, second edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey 07458.

Poboljšaj K., Lešnik A. 2003. Strokovna izhodišča za vzpostavljanje omrežja Natura 2000: Dvoživke (Amphibia) (končno poročilo. Naročnik: MOPE, ARSO, Ljubljana. Center za kartografijo favne in flore, Miklavž na Dravskem polju. 144 str., digitalne priloge.

Poboljšaj K. 2007. Dvoživke (Amphibia) Slovenskega primorja. *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.

Romano A., Arntzen J.W., Denoël M., Jehle R., Andreone F., Anthony B., Schmidt B., Babik W., Schabetsberger R., Vogrin M., Puky M., Lymberakis P., Isailovic J.C., Ajtic R., Corti C. 2009. *Triturus carnifex*. IUCN Red List of Threatened Species. Verzija 2014.2. www.iucnredlist.org (datum dostopa 28. 7. 2014).

Rosić T. 2014. Ocena velikosti populacije navadnega pupka (*Lissotriton vulgaris*, Amphibia: Urodela) v kalu nad Kastelcem. Zaključna naloga, Univerza na Primorskem.

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

Schmidt B. R., Anholt B. R. 1999. Analysis of survival probabilities of female common toads *Bufo bufo*. *Amphibia-Reptilia*, 20: 97–108.

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

Speed C. W., Meekan M.G., Brandshaw C.J.A. 2007. Spot the match – wildlife photo-identification using information theory. *Frontiers in zoology*, 4:111.

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.

The IUCN Red List of Threatened Species. <http://www.iucnredlist.org/initiatives/amphibians> (datum dostopa 15. 7. 2014).

Thomas C. D., Cameron A., Green R.E., Bakkenes M., Beaumont L. J., Collingham Y. C., Erasmus B. F. N., de Siquiera M.F., Grainger A., Hannah L., Hughes L., Huntley B., van Jaarsveld A. S., Midgley G.F., Miles L., Ortega-Huerta M. A., Peterson A. T., Phillips O. L., Williams S. E. 2004. Extinction risk from climate change. *Nature* 427, 145–148.

Veenvliet, P., Veenvliet J.K. 2003. Dvoživke Slovenije: priročnik za določanje. Grahovo: Zavod Symbiosis.

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.

Yoshizaki J., Pollock K.H., Brownie C., Webster R. A. 2009. Modeling misidentification errors in capture-recapture studies using photographic identification of evolving marks. *Ecology*, 90: 3–9.

White G. C., Burnham K.P. 1999. Program MARK: Survival estimation from populations of marked animals. *Bird Study*, 46: 120–139.

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.