

## Uspešnost pridobivanja neinvazivnih genetskih vzorcev risov (*Lynx lynx*) z vzmetnimi pastmi za dlake ter uporabnost metode za monitoring populacije

### *Effectiveness of collecting noninvasive genetic samples from a lynx (*Lynx lynx*) with coil spring hair traps and applicability of the method for lynx population monitoring*

Tadeja Smolej<sup>1</sup>, Tomaž Skrbinšek<sup>2</sup>, Hubert Potočnik<sup>2</sup>, Ivan Kos<sup>2</sup>, Franc Kljun<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Velesovska cesta 67, 4208 Šenčur; tadeja.smolej@gmail.com

<sup>2</sup> Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Večna pot 111, 1001 Ljubljana

#### Izveleček

Zaradi velikih domačih okolišev, izogibanja človeku, pretežno nočne aktivnosti, nizkih populacijskih gostot, kamuflaže in bivanja v okoljih z gostim vegetacijskim pokrovom sta neposredno opazovanje evrazijskega risa in pridobivanje različnih podatkov ter neinvazivnih genetskih vzorcev težavna in časovno zahtevna. Metode monitoringa s pomočjo vonjalnih postaj oziroma pasti za dlake navadno izkoriščajo učinek vedenjskega odziva mačk na mačjo meto z drgnjenjem (ang. catnip response). V ogradi Živalskega vrta Ljubljana, v kateri bivajo trije evrazijski risi, smo od maja 2017 do konca januarja 2018 testirali učinkovitost neinvazivne metode vzorčenja z novimi, izboljšanimi vonjalnimi postajami oziroma aktivnimi vzmetnimi lovilci, ki omogočajo aktivno ujetje dlak z dlačnimi mešički ter individualno ujetje dlak le enega osebk. V laboratoriju smo preverili, če vzorci vsebujejo dovolj dlak za genetske analize, nato pa smo jih analizirali in primerjali učinkovitost posameznih metod. Nova vonjalna postaja je primerna in učinkovita pri zbiranju neinvazivnih genetskih vzorcev dlak s pomočjo pasivnih lovilcev in aktivnih vzmetnih lovilcev. Metoda je v kombinaciji s fotopastmi pomembna tudi za monitoring populacije risov s pomočjo videoposnetkov.

**Ključne besede:** vrazijski ris (*Lynx lynx*), monitoring, neinvazivni genetski vzorci, vonjalne postaje, vzmetne pasti za dlake

#### Abstract

*Due to their large home ranges, avoiding humans, predominantly night activity pattern, low population densities, camouflage and living in environments with a dense vegetation cover, direct observation of the Eurasian lynx, obtaining various data and noninvasive genetic samples are difficult to perform and time-consuming. Monitoring methods using scent stations or hair traps are usually based on cats' behavioural response to catnip with rubbing or so called catnip response. We tested the effectiveness of the noninvasive sampling method in the enclosure with three Eurasian lynxes at ZOO Ljubljana, from May 2017 to the end of January 2018. New, improved scent stations or so called active coil spring hair traps were used, which enable the active capture of hair with hair roots and individual hair capture of only one specimen. In the laboratory, we checked that the samples contained enough hair for genetic analysis, and then we analysed them and compared the effectiveness of individual methods. The new scent station is*

*suitable and efficient in collecting noninvasive genetic samples using passive hair traps and active coil spring hair traps. The method is in combination with phototraps also important in terms of monitoring the population with the help of videos.*

**Keywords:** *Eurasian lynx (*Lynx lynx*), monitoring, noninvasive genetic samples, scent stations, coil spring hair traps*

## 1 Uvod

Spremljanje stanja populacij je težavno že samo po sebi, kar še zlasti velja za evrazijskega risa (*Lynx lynx*), saj je neinvazivne genetske vzorce (dlako, iztrebke, urin, slino) te zveri v okolju težko najti. Zbiranje takih vzorcev je še dodatno oteženo na območjih, kjer pozimi ni snežne podlage oziroma je le-ta kratkotrajna (Krofel, 2008). V preteklosti so raziskovalci zato razvili metode monitoringa s pomočjo vonjalnih količkov oziroma pasivnih lovilcev za dlake, ki izkoriščajo tako imenovani učinek vedenjskega odziva mačk na mačjo meto z drgnjenjem (ang. catnip response) (McDaniel in sod., 2000). Ob uvajanju genetskega prepoznavanja posameznih osebkov na osnovi zbranih dlak na pasivnih lovilcih za dlake se je pokazalo več pomanjkljivosti omenjene metode. Med njimi lahko izpostavimo težavo zanesljivega ujetja dlak z dlačnimi mešički, ki bi vsebovali zadostno količino DNA. Druga težava je možnost pridobitve vzorcev dlak več osebkov iste ali različnih vrst na istem pasivnem lovilcu in posledično onemogočena individualna identifikacija osebkov (Kendall in McKelvey, 2008).

V raziskavi smo ugotavljali učinkovitost neinvazivne metode vzorčenja z novimi, izboljšanimi vonjalnimi količki oziroma aktivnimi vzmetnimi lovilci, ki bi omogočali aktivno ujetje dlak z dlačnimi mešički ter individualno ujetje dlak le enega osebkov. Pri

tem je, vsaj pri uporabi metod označevanja in ponovnega lova za ocenjevanje številčnosti pomembno, da naprava ob ujetju dlak živali ne odvrne, da bi se ji ponovno približale (ang. trap shyness). Z odpravo omenjene pomanjkljivosti bi ta metoda postala ena izmed najuporabnejših za spremljanje populacij risa in drugih predstavnikov mačk, pri katerih lahko izzovemo vedenjske odzive drgnjenja oziroma »catnip response« (Long in sod., 2008; McDaniel in sod., 2000; Skrbinšek in sod., 2007).

## 2 Materiali in metode

### 2.1 Proučevano območje

Uspešnost pridobivanja neinvazivnih genetskih vzorcev s pomočjo vzmetnih pasti za dlake smo od maja 2017 do marca 2018 testirali v Živalskem vrtu Ljubljana v ogradi risov, ki je na severovzhodnem delu živalskega vrta, na predelu hriba Rožnik. V ogradi bivajo trije samci evrazijskega risa in pripadajo karpatski populaciji.

### 2.2 Vonjalne postaje in fotopasti

Vonjalne postaje, ki so sestavljene iz količka, atraktanta in dela, kjer se ujamejo dlake, so pomemben del monitoringa prostoživečih živali. Novo vonjalno postajo smo razvili, priredili in izboljšali tako, da poleg pasivnega načina omogoča tudi aktivno zbiranje vzorcev dlak z dlačnimi mešički.

Za aktivno zbiranje vzorcev smo uporabili dve različici aktivnih vzmetnih lovilcev (dvojni aktivni vzmetni lovilec od maja do septembra 2017 in enojni aktivni vzmetni lovilec januarja 2018), ki lahko ob proženju ujameta, izpulita in zadržita dlake. Aktivni vzmetni lovilci so bili postavljeni levo in desno od pasivnih lovilcev. Glavna slabost dvojnega vzmetnega lovilca (Slika 1) je bila, da sta se v večini primerov zaradi prenosa treslajev po železnem ogrodju

Izvirni znanstveni članek

ob sproženju ene izmed vzmeti sprožili obe naenkrat. Posledično smo razvili drugo različico oziroma enojni aktivni vzmetni lovilec (Slika 2), na katerem se je ob proženju sprožila le ena od vzmeti. Prednost druge različice je bila, da smo višino posameznega enojnega vzmetnega lovilca lahko prilagodili glede na naklon terena in ju namestili na različni višini, kar pri dvojnem vzmetnem lovilcu ni bilo mogoče. Prav tako smo prilagodili prožilec, ki je omogočal, da je vzmet lažje zdrsnila iz aktivne lege kot pri prvi različici oziroma pri dvojnem vzmetnem lovilcu. Izvedbeni različici se glede

delovanja mehanizma in z vidika pridobivanja neinvazivnih vzorcev dlak bistveno ne razlikujeta. Mehanizem, ki smo ga razvili, je bil izdelan tako, da je menjava pasivnih lovilcev in vzmeti v primeru, da so na njih vidni ujeti vzorci dlak, enostavna in omogoča kasnejše natančno pobiranje dlak v laboratoriju.

Pasivni lovilec je deska z vijaki in preprogo, na katero so se lahko ujele dlake iz več različnih serij drgnjenj risov. Testirali smo tri različice pasivnih lovilcev za dlake (Slika 3). Od maja do septembra 2017 smo testirali prvo in drugo



Slika 1: Prva različica vonjalne postaje z aktiviranim dvojnimi aktivnim vzmetnim lovilcem, pasivnim lovilcem, atraktantom, oznako lokacije v ogradi in višinsko skalo (Smolej, 2018).

*Figure 1: The first version of the scent station with activated double active coil spring hair trap, passive hair trap, attractant, a mark of the location in the enclosure and a height scale (Smolej, 2018).*



Slika 2: Druga različica vonjalne postaje z aktiviranim enojnim aktivnim vzmetnim lovilcem, pasivnim lovilcem, atraktantom, oznako lokacije v ogradi in višinsko skalo (Smolej, 2018).

*Figure 2: The second version of the scent station with activated single active coil spring hair trap, passive hair trap, attractant, a mark of the location in the enclosure and a height scale (Smolej, 2018).*





Slika 3: Prva, druga in tretja različica pasivnega lovilca za dlake (od leve proti desni) (Smolej, 2018).

*Figure 3: The first, second and the third version of the passive hair trap (from left to right) (Smolej, 2018).*

različico pasivnega lovilca za dlake, ki sta se razlikovali po višini flora preproge. Preproga je predstavljala mehko podlago, ob katero so se risi drgnili in je hkrati zadržala odpadle ali izpujene dlake. Ker smo ugotovili, da dlake najbolje zadrži prva različica pasivnega lovilca, ki ima višjo višino flora, smo tako preprogo uporabili pri tretji različici. Pri načrtovanju tretjega pasivnega lovilca, ki smo ga v ogradi risov testirali januarja 2018, je bil glavni namen zmanjšanje stroškov same proizvodnje, saj tako postane metoda tudi finančno ugodnejša, zlasti ob intenzivnem monitoringu na velikih območjih. Namesto vijakov smo uporabili žeblice za pnevmatski spenjalnik, ki so cenejši in jih je mogoče hitreje pričvrstiti na desko. Izvedbene različice se bistveno ne razlikujejo glede mehanizma pridobivanja neinvazivnih vzorcev dlak.

Za učinkovito pridobivanje neinvazivnih vzorcev dlak je treba žival privabiti do lokacije, kjer je postavljena vonjalna postaja, in s pomočjo določene vrste atraktanta sprožiti odziv drgnjenja. Atraktant, ki je vseboval mešanico vazelina, bobrovega olja (*Castor canadensis*) in 100 % olja mačje mete (*Nepeta cataria*) smo pripravili v skladu z navodili, ki jih predlagajo McDaniel in sod. (2000). Da bi preprečili lizanje in zaužitje

same mešanice, smo jo nanесли v zamašek in ga zavili z gazo. Tako pripravljen zamašek smo namestili v vnaprej pripravljeno odprtino na pasivnem lovilecu in jo na enem mestu pritrdili z vijakom.

Napravo smo z vijaki pritrdili na lesene količke, ki so bili visoki od 1 m do 1,2 m, široki in dolgi približno 7 cm. Na lesenem količku smo označili 10 cm razdalje, da smo lahko kasneje iz videoposnetkov ocenili višino, pri kateri se je ris drgnil, in glede na to prilagajali višino namestitve pasivnega in aktivnega vzmetnega lovilca dlak. Po optimizaciji metode smo aktivne vzmetne lovilce in pasivne lovilce nameščali v območju od 40 do 65 cm višine, merjeno od tal. Za uspešno pridobivanje dlak aktivnih vzmetnih lovilcev je bilo pomembno, da je naprava nekoliko odmaknjena od količka, saj je tako lažje prišlo do sproženja mehanizma. Količek, kovinsko ogrodje in desko na posamezni lokaciji smo označili z ujemajočimi številčnimi oznakami (od 1 do 6), kar je omogočalo lažje določanje posamezne lokacije pri shranjevanju vzorcev dlak in video analizi.

Na vsaki lokaciji v ogradi smo poleg vonjalne postaje postavili tudi fotopast, ki je omogočala spremljanje dogajanja in pridobivanje podatkov za nadaljnje analize. Fotopasti smo postavljali na razdalji 3 do 5 m od vonjalnega količka na ustrezno višino. V dnevnem času so snemale v vidnem spektru, ponoči pa v infrardečem.

### **2.3 Razporeditev in lokacije postavitev vonjalnih postaj**

4. 5. 2017 smo v ogrado risov prvič postavili šest vonjalnih količkov na različne lokacije v ogradi risov v Živalskem vrtu Ljubljana. Pozorni smo bili, da je bila razdalja med vonjalnimi količki najmanj 20 do 30 m. Na količek smo pričvrstili aktivne vzmetne lovilce za dlake z dvema vzmetema, ki so neaktivirane ostale do 16. 5. 2017. Količki so bili postavljeni zato, da bi se jih živali navadile, povohale in markirale.

*Izvirni znanstveni članek*

Preglednica 1: Poletno vzorčenje

Table 1: Summer sampling

Serijska	Datum	Različica vzmetnega lovilca	Različica pasivnega lovilca
1	16.–22. 5. 2017	1	1
2	29. 5. –5. 6. 2017	1	2
3	19.–26. 6. 2017	1	1
4	3.–10. 7. 2017	1	2
5	17.–24. 7. 2017	1	1
6	31.–7. 8. 2017	1	2
7	14.–21. 8. 2017	1	1
8	28. 8.–4. 9. 2017	1	2

Preglednica 2: Zimsko vzorčenje

Table 2: Winter sampling

Serijska	Datum	Različica vzmetnega lovilca	Različica pasivnega lovilca
9	8.–15. 1. 2018	2	3
10	22.–29. 1. 2018	2	3

Vzorčenje smo izvajali v poletnem obdobju od 16. 5. 2017 do 4. 9. 2017 in v zimskem obdobju od 8. 1. 2018 do 29. 1. 2018 (Preglednica 1, Preglednica 2). Posamezne serije vzorčenja so trajale en teden. V ogrado smo vsak teden namestili aktivne vzmetne lovilce in aktivirali vzmeti, pasivne lovilce z obnovljenim atraktantom in vključili fotopasti. Po enem tednu smo iz ograde odstranili aktivne vzmetne lovilce in pasivne lovilce tako, da so v ogradi ostali samo prazni količki in fotopasti. Sledil je premor, dolg en ali dva tedna brez lovilcev za dlake in brez atraktanta, da ne bi prišlo do čutne deprivacije na dražljaj in posledično do zmanjšane odziva na mešanico atraktanta.

Vonjalne postaje in kamere smo postavili na lokacije v ogradi vzdolž risovih stečin. Izmed devetih izbranih lokacij jih je bilo šest ob stečinah, tri so bile v sredini ograde, kjer ni bilo

poti. Pri izbiri lokacije smo pazili, da vonjalna postaja ni bila postavljena v bližini ležišča, saj bi se posledično risi prehitro navadili na dražljaj atraktanta. Če se risi v določenem delu ograde niso pogosto gibali, je bilo v neposredni bližini ležišče ali pa so bili vključeni drugi dejavniki, ki bi negativno vplivali na zbiranje neinvazivnih genetskih vzorcev, smo vonjalno postajo premaknili na drugo lokacijo. V ogradi je bilo v vsaki seriji vzorčenj vedno postavljenih šest vonjalnih postaj in fotopasti.

#### **2.4 Shranjevanje in analiza vzorcev dlak**

Po končanem tednu vzorčenj smo sprožene vzmeti in pasivne lovilce shranili v plastično vrečko z zadrigo. V laboratoriju smo iz vzmeti in pasivnih lovilcev pobrali vzorce dlak, jih shranili v ustrezno označene papirnate pisemske ovojnice in jih zaprli v plastične vrečke z

Preglednica 3: Učinkovitost proženja in delovanja aktivnih vzmetnih lovilcev

Table 3: Effectiveness of the activation and performance of active coil spring hair traps

Serijska	Število sproženih vzmetnih lovilcev	Število vzmetnih lovilcev, po katerih so se risi drgnili	Uspešnost proženja (%)
3	1	4	25
4	3	3	100
5	2	4	50
7	1	2	50
<hr/>			
9	1	2	50
10	1	1	100
<b>SKUPAJ</b>	<b>9</b>	<b>16</b>	<b>56,25</b>

zadrge ter priložili sredstvo za absorpcijo vlage (silika gel). Do analize smo jih tako zapakirane hranili v temnem prostoru na sobni temperaturi. V laboratoriju smo s pomočjo stereo lupe na beli podlagi prešteli dlake v posameznih vzorcih in pri tem določili ter prešteli dlake z dlačnimi mešički in brez njih. Vsi koraki v procesu dela so potekali aseptično, vzorce pa smo ustrezno označene primerno shranili za nadaljnje genetske analize.

### 3 Rezultati

#### 3.1 Učinkovitost proženja aktivnih vzmetnih lovilcev

V desetih serijah vzorčenj smo dokumentirali devet dogodkov proženj aktivnih vzmetnih lovilcev (Slika 4). Pri analizi učinkovitosti delovanja aktivnih vzmetnih lovilcev smo v dveh serijah vzorčenj zaznali 100 % delež proženj, pri treh 50 % in pri eni 25 % (Preglednica 3). Uspešnost proženja je v celotnem obdobju vzorčenj znašala 56,25 %.

#### 3.2 Analiza številčnosti dlak – aktivni lovilci

V poletni sezoni vzorčenj so risi v osmih serijah

vzorčenj sprožili sedem aktivnih vzmetnih lovilcev. Rezultate prikazuje Preglednica 4, Slika 5 in Slika 7. Največ ujetih dlak z dlačnimi mešički je bilo 306 dlak, kar je 54,2 % vzorca (Slika 5). V tem primeru se je ris s telesom dovolj približal vzmeti in jo sprožil z licem in vratom. Drugi največji vzorec je vseboval 197 dlak z dlačnimi mešički (55,8 %). V tem primeru se je ris podrgnil z bokom, s telesom se je dovolj približal vzmeti in jo uspešno sprožil. Tretji najboljše vzorec je vseboval 38 dlak z dlačnimi mešički (57,6 %), fotopast pa dogodka proženja ni posnela. Pri vzorcu, kjer smo pridobili sedem dlak z dlačnimi mešički (63,6 %) se je ris vzmeti približal s sprednjim delom gobca, kjer so krajše dlake, ki so se težje ujele med reže in posledično smo pridobili manjši vzorec. Tisti, ki smo ga pridobili pri prvem zabeleženem proženju vzmeti, je vseboval eno dlako z dlačnim mešičkom. V tem primeru je bil aktivni vzmetni lovilce postavljen nekoliko prenizko. Ris se je z vratom podrgnil ob varovalo, ob rahlem dotiku se je vzmet sprožila, s telesom pa je bil ob proženju vzmeti preveč oddaljen, da bi se lahko v reže ujel večji vzorec dlak. Pri vzorcu, pri katerem smo pridobili eno dlako z dlačnim mešičkom (33,3 %), se je ris podrgnil z zgornjim delom lica, kjer so krajše dlake, kar je vplivalo na



Izvirni znanstveni članek



Slika 4: Drgnjenje risa Luksa na drugi vonjalni postaji, 10. 7. 2017. Iz dela slike označenega z 1 in 2 je razvidno, da se je ris po vonjalni postaji drgnil z licem in vratom. Ob proženju aktivnega vzmetnega lovilca na delu slike, označenem s 3, se je odmaknil. Po proženju aktivnega vzmetnega lovilca se je po nekaj sekundah vrnil in ovažal vonjalno postajo (del slike, označen s 4).

*Figure 4: Rubbing of the lynx Luks at the second scent station, 10 July 2017. The part of the figure marked with 1 and 2 shows that the lynx rubbed on the scent station with his cheek and neck. In the part of the figure marked with 3, he moved away when the active coil spring hair trap was activated. A few seconds after activation of the active coil spring hair trap he returned and sniffed the scent station (part of the figure marked with 4).*

velikost vzorca. Proženja vzmeti, pri katerem smo pridobili pet dlak z dlačnimi mešički (62,5 %), fotopast ni posnela.

V zimski sezoni vzorčenj so risi v dveh serijah vzorčenj sprožili dva aktivna vzmetna lovilca. Rezultate prikazujejo Preglednica 4, Slika 6 in Slika 7. Pri prvem proženju druge različice aktivnega vzmetnega lovilca je vzmet izpulila 381

dlak, od katerih je le 12 vsebovalo dlačne mešičke (3,1 %; Slika 6). Ris se je ob vzmet podrgnil z vratom, se ji dovolj približal in pridobili smo velik vzorec dlak. V drugem primeru se je ris vzmeti dotaknil in jo sprožil z bokom. Pridobili smo dve dlaki z dlačnim mešičkom (10 %), vzorec je skupaj obsegal 20 dlak.

Izvirni znanstveni članek



Slika 5: Sprožena vzmet na dvojnem aktivnem vzmetnem lovilcu oziroma prvi različici. Sprožena je bila desna vzmet, ki je skupno zadržala 565 dlak, od katerih je bilo v vzorcu 306 dlak z dlačnimi mešički (54,2 %).

Figure 5: Activated coil spring on a double active coil spring hair trap or the first version. The right spring was activated and obtained in total of 565 hair, among them 306 hair with hair roots (54.2%).



Slika 6: Sprožena vzmet na enojnem aktivnem vzmetnem lovilcu oziroma drugi različici. Sprožena je bila leva vzmet, ki je skupno zadržala 381 dlak, od katerih je bilo v vzorcu 12 dlak z dlačnimi mešički (3,1 %).

Figure 6: Activated coil spring on a single active coil spring hair trap or the second version. The left spring was activated and obtained a total of 381 hair, among them 12 hair with hair roots (3,1 %).

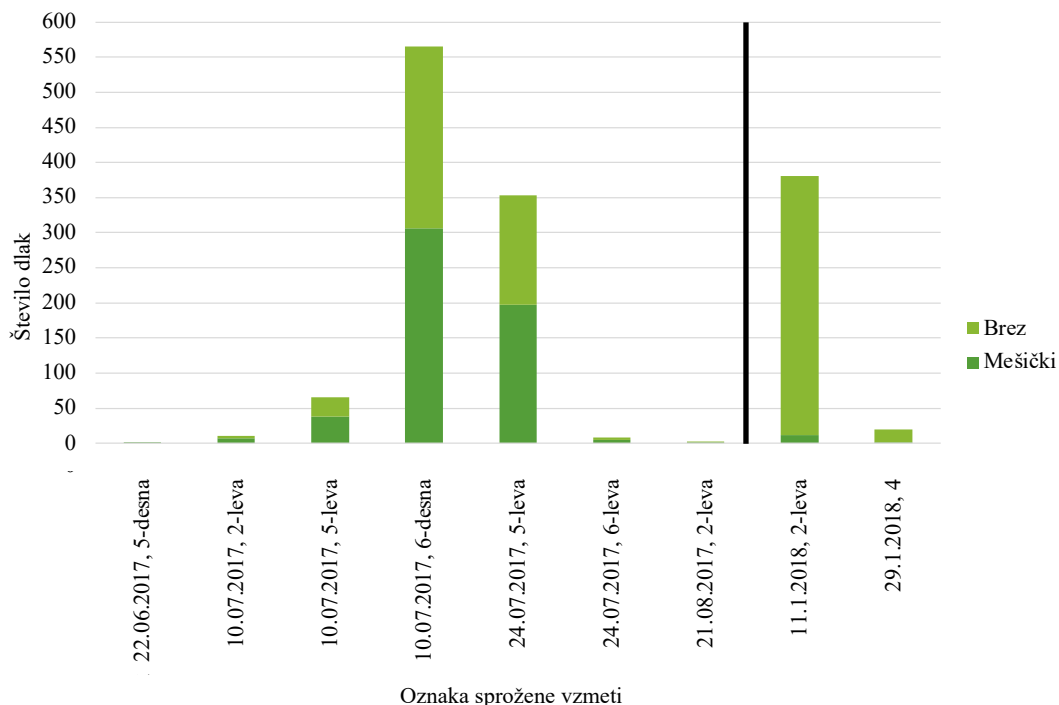
Preglednica 4: Število in deleži dlak, pridobljeni z aktivnimi vzmetnimi lovilci

Table 4: Number and the percentage of hair obtained by active coil spring hair traps

Serijska	Lokacija	Leva ali desna vzmet	Del telesa	Mešički	Delež dlak z mešički (%)	Brez	Delež dlak brez mešičkov (%)	Skupaj
3	5	desna	vrat	1	100,0	0	0,0	1
4	2	leva	gobec	7	63,6	4	36,4	11
4	5	leva	ni znano	38	57,6	28	42,4	66
4	6	desna	lice in vrat	306	54,2	259	45,8	565
5	5	leva	bok	197	55,8	156	44,2	353
5	6	leva	ni znano	5	62,5	3	37,5	8
7	2	leva	zgornji del lica	1	33,3	2	66,7	3
-----								
9	2	leva	vrat	12	3,1	369	96,9	381
10	4	/	bok	2	10,0	18	90,0	20



Izvirni znanstveni članek



Slika 7: Število dlak z mešički in brez mešičkov na sproženih vzmeteh v poletnem in zimskem obdobju vzorčenj.

Figure 7: Number of hair with and without hair roots on activated coil springs during the summer and winter sampling periods.

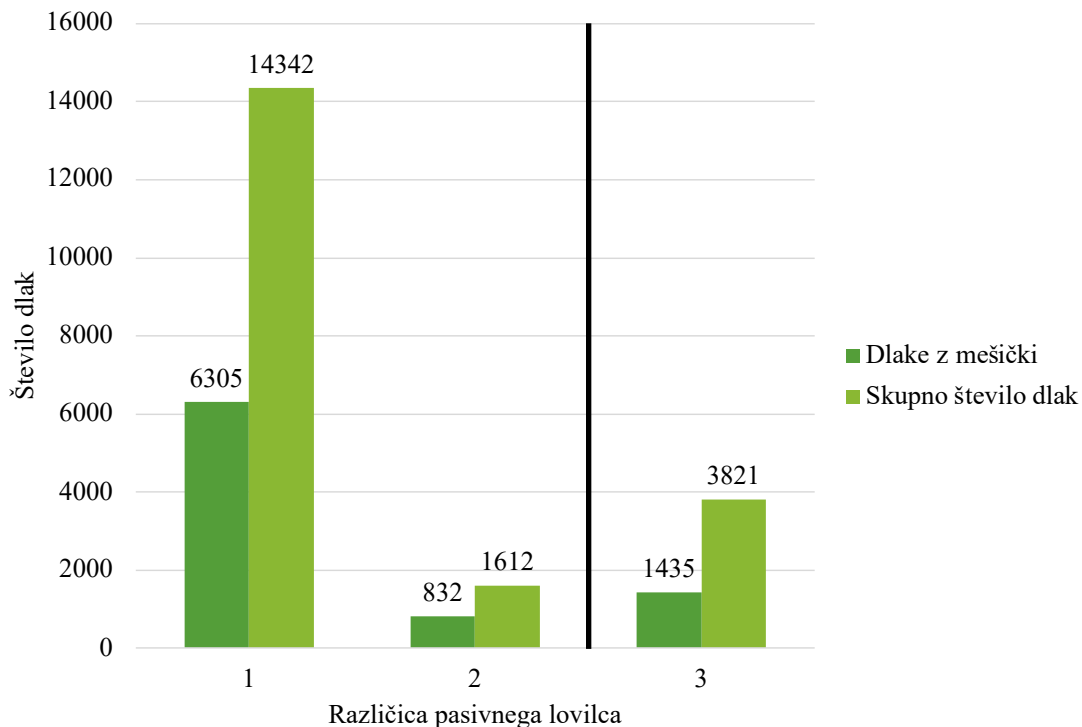
### 3.3 Analiza številčnosti dlak – pasivni lovilci

Primerjali smo učinkovitost treh različic pasivnega lovilca dlak. Za vsako različico smo izbrali deset pasivnih lovilcev, kjer smo zaznali največje število drgnjen risov ob vonjalni postaji oziroma, kjer je bil vzorec dlak največji in prešteli število dlak. Na vsakem smo prešteli do 400 dlak. Če je bil vzorec večji, smo ocenili delež prešetega vzorca in število ekstrapolirali na celoten vzorec. Največje število zbranih dlak smo dokumentirali pri prvi različici lovilca. Skupno število na desetih izbranih pasivnih lovilcih je znašalo 14342 dlak (od tega 6305 z dlačnimi mešički; 43,96%). Na drugi različici pasivnega lovilca je bilo skupno 1612 dlak (od tega 832 z dlačnimi mešički; 51,61%), kar je bilo najmanj od vseh treh testiranih različic. Pri vzorčenju s pomočjo tretje različice pasivnih

lovilcev smo zbrali 3821 dlak (od tega 1435 z dlačnimi mešički; 37,56%) (Slika 8).

S statistično analizo smo s pomočjo testa Mann-Whitney U ( $p < 0,05$ ) primerjali učinkovitost posamezne različice pasivnih lovilcev (Preglednica 5). S tveganjem, manjšim od 0,05 ( $Z = -2,498$ ;  $p = 0,012$ ) lahko trdimo, da je pri lovljenju dlak z dlačnimi mešički učinkovitejša prva kot druga različica pasivnega lovilca. S tveganjem, manjšim od 0,05 ( $Z = -2,498$ ;  $p = 0,012$ ) lahko trdimo, da je pri lovljenju dlak z dlačnimi mešički učinkovitejša prva kot tretja različica pasivnega lovilca. Med učinkovitostjo pridobivanja dlak z dlačnimi mešički med drugim in tretjim pasivnim lovilcem nismo zaznali statistično pomembnih razlik ( $Z = -2,117$ ;  $p = 0,034$ ).

Izvirni znanstveni članek



Slika 8: Skupno število dlak in dlak z mešički na desetih pasivnih lovilcih posamezne različice.

Figure 8: The total number of hair on the ten passive hair traps of each version.

Preglednica 5: Deskriptivna in inferenčna statistika primerjave posameznih različic pasivnih lovilcev glede na učinkovitost pridobivanja dlak z dlačnimi mešički

Table 5: Descriptive and inferential statistics comparing different versions of passive hair traps in term of the efficiency of collecting hair with hair roots

	1 in 2 pasivni lovilec	2 in 3 pasivni lovilec	1 in 3 pasivni lovilec
M	630,50	83,20	630,50
SE	405,85	46,55	405,85
MEDIAN	269,00	9,00	269,00
SD	1283,41	147,20	1283,41
MIN	21,00	2,00	21,00
MAX	4248,00	437,00	4248,00
N	10,00	10,00	10,00
-----			
M	83,20	143,50	143,50
SE	46,55	86,95	86,95

*Izvirni znanstveni članek*

MEDIAN	9,00	5,50	5,50
SD	147,20	274,96	274,96
MIN	2,00	0,00	0,00
MAX	437,00	858,00	858,00
N	10,00	10,00	10,00
-----			
Z	-2,498	-0,759	-2,117
p	0,012	0,448	0,034

## 4 Razprava

V raziskavi, ki je potekala v ogradi risov v Živalskem vrtu Ljubljana, smo v poletnem obdobju, ki je potekalo od maja 2017 do septembra 2018, in zimskem obdobju, v januarju 2018, testirali vonjalne postaje, ki temeljijo na pridobivanju neinvazivnih vzorcev dlak s pomočjo pasivnih in aktivnih vzmetnih lovilcev. Vonjalna postaja je primerna in učinkovita pri zbiranju vzorcev dlak s pomočjo pasivnih lovilcev ter aktivnih vzmetnih lovilcev in je v kombinaciji s fotopastmi pomembna z vidika pridobivanja neinvazivnih genetskih vzorcev kot tudi monitoringa s pomočjo videoposnetkov.

V ogradi Živalskega vrta Ljubljana so risi uspešno sprožili devet aktivnih vzmetnih lovilcev, od tega sedem v poletnem in dva v zimskem obdobju vzorčenj. Vonjalno postajo, na kateri so bili pritrjeni aktivni vzmetni lovilci in pasivni lovilci z atraktantom, je bilo treba v času testiranja na terenu optimizirati. Ugotovili smo, da druga različica oziroma enojni aktivni vzmetni lovilec deluje po pričakovanjih, saj je ob proženju ene izmed vzmeti na vonjalni postaji druga ostala aktivirana. Ko se je ris drgnil po aktivnih vzmetnih lovilcih, je bila učinkovitost proženja 56,25 % (od 16 aktivnih vzmetnih lovilcev, po katerih so se risi drgnili, smo zabeležili devet proženj).

Ugotovili smo, da so aktivni vzmetni lovilci učinkovita metoda za zbiranje neinvazivnih vzorcev dlak, saj jih ujamejo, izpulijo in zadržijo. Aktivni vzmetni lovilec izpulil dlake

enega osebka vključno z dlačnimi mešički, kar je izrednega pomena za genetske analize v varstveni biologiji. Ko je vzmet sprožena, je druge živalske vrste ali posamezni osebki iste vrste ne morejo ponovno aktivirati. Na tak način smo preprečili pridobivanje mešanih neinvazivnih vzorcev dlak. Po sproženju vzmeti ostanejo dlake ujete in dobro fiksirane v vzmeti, kar preprečuje, da bi jih odpihnil veter ali spral dež. V poletnem času vzorčenj so risi aktivirali sedem aktivnih vzmetnih lovilcev, v zimskem pa dva. Število pridobljenih dlak je bilo v največji meri odvisno od tega, s katerim delom telesa je ris aktiviral vzmetni lovilec in koliko se je s telesom približal vzmeti. Obe različici aktivnih vzmetnih lovilcev sta učinkoviti za pridobivanje vzorcev dlak z dlačnimi mešički. Raziskati bi bilo treba vpliv sezone na zbiranje dlak s pomočjo aktivnih vzmetnih lovilcev. Iz naših rezultatov sklepamo, da je zbiranje dlak z dlačnimi mešički za zbiranje neinvazivnih vzorcev za genetske raziskave primernejše v pomladno-poletnem obdobju, ko so risi v fazi menjave dlake in jim odpadata nadlanka ter podlanka. Ugotovili smo, da v tem obdobju vzmeti lažje izpulijo in zadržijo dlake z dlačnimi mešički, ki so v fazi odpadanja in niso več tako zelo vrasle v kožo. Prvo različico smo testirali v poletnem obdobju vzorčenj, ko je še vedno prisotna menjava dlake, saj smo v vzorcih zaznali nadlanko in tudi podlanko. Drugo različico smo testirali v januarju, ko imajo risi že razvit gost kožuh, izpadanje nadlanke in podlanke je veliko manj intenzivno in je posledično dlake težje izpuliti. Po pridobitvi vzorca smo dlake pregledali v laboratoriju



s pomočjo stereo lupe in ugotovili, da jih vzmet ni odstrigla, temveč so bile odtrgane na delu, kjer se dlaka stanjša, tik pred dlačnim mešičkom. Posamezni indici kažejo, da je metoda za pridobivanje neinvazivnih vzorcev dlak uspešnejša in primernejša za uporabo v spomladanskem in poletnem obdobju. V zimskem obdobju je zaradi snežne odeje lahko oteženo postavljanje vonjalnih postaj, otežena je dostopnost lokacij, količek prekrije sneg, prožilec aktivnega vzmetnega lovilca ali vzmet lahko zamrzneta, kar lahko zelo vpliva na sam monitoring (Kendall in McKelvey, 2008). Z zimskim sledenjem lahko neinvazivne genetske vzorce pridobimo tudi na drugačne načine, kot so urin na snegu, lažje najdemo iztrebke ali pridobimo dlake iz dnevnih ležišč. Metodo z vonjalnimi postajami so razvili predvsem zaradi pridobivanja neinvazivnih genetskih vzorcev na območjih, kjer je snežna podlaga kratkotrajna oziroma ni snega (McKelvey in sod., 2006; Squires in sod., 2004). Pri populacijah, kot je na primer dinarska populacija risov, kjer je populacijska gostota nizka, v naravnem okolju pričakujemo relativno nizko število pridobljenih vzorcev z aktivnimi vzmetnimi lovilci, a je v takem primeru vsak neinvazivno pridobljen vzorec izrednega pomena za genetske analize.

V poletnem obdobju vzorčenj smo testirali dve različici pasivnega lovilca dlak, ki sta se razlikovali v višini flora preproge. Ugotovili smo, da višina flora pomembno vpliva na zadrževanje dlak. Prva različica, ki je imela višji flor preproge, je v primeru, da so se risi drgnili, učinkoviteje zadržala odpadle oziroma izpuljene dlake. V primeru druge različice je bila višina flora preproge nižja in posledično je dlake, ujete na pasivnem lovilcu, lažje spral dež oziroma odpihnil veter. Ugotovili smo, da je pri prvi različici pasivnega lovilca najmanjše odstopanje med posameznimi vzorci glede številčnosti dlak z dlačnimi mešički. Največ vzorcev je vsebovalo od 47,0 % do 57,6 % dlak z dlačnimi mešički. Vsi analizirani vzorci so vsebovali več kot deset dlak z dlačnimi mešički. V raziskavi smo ugotovili, da

so vzorci z desetimi dlakami z dlačnimi mešički v primerjavi z vzorci z eno ali petimi dlakami z dlačnimi mešički omogočali najoptimalnejšo izolacijo DNA in genotipizacijo. V primeru pasivnega lovilca z nižjim florom preproge smo zaznali veliko variabilnost med posameznimi vzorci in ugotovili, da je največ vzorcev vsebovalo od 31,4 % do 53,1 % dlak z dlačnimi mešički. V polovici analiziranih vzorcev je bilo več kot deset dlak z dlačnimi mešički. Statistično smo potrdili, da je pri lovljenju dlak z dlačnimi mešički učinkovitejša prva kot druga različica pasivnega lovilca. Ker smo ugotovili, da dlake najboljše izpulji in zadrži prva različica pasivnega lovilca, ki ima višji flor, smo tako preprogo uporabili v zimskem obdobju testiranja pri načrtovanju tretje različice. V zimskem obdobju so pasivni lovilci v večjem deležu vsebovali dlake brez dlačnih mešičkov. Največ vzorcev je bilo v območju od 33,3 % do 48,4 % dlak z dlačnimi mešički. 40 % analiziranih vzorcev je vsebovalo nad deset dlak z dlačnimi mešički, ki omogočajo najoptimalnejšo izolacijo DNA in genotipizacijo. Statistično smo potrdili, da je pri lovljenju dlak z dlačnimi mešički učinkovitejša prva kot tretja različica pasivnega lovilca. Med učinkovitostjo pridobivanja dlak z dlačnimi mešički med drugim in tretjim pasivnim lovilcem nismo zaznali statistično pomembnih razlik. Tudi v tem primeru bi bilo treba raziskati vpliv sezone na zbiranje dlak s pomočjo pasivnih lovilcev. Rezultati raziskave kažejo, da je zbiranje dlak z dlačnimi mešički za namene zbiranja neinvazivnih vzorcev za genetske raziskave učinkovito v vseh letnih časih, a smo vzorce z več dlakami pridobili v poletni sezoni vzorčenj, ko so risi v fazi menjave dlake in se dlake lažje izpulijo.

Risi v živalskem vrtu so vonjalne postaje, ki so bile nov objekt v njihovi ogradi, v prvi polovici poletnega in zimskega obdobja vzorčenj intenzivneje markirali z urinom in se drgnili po njih. Zato lahko sklepamo, da bi bila lahko podobna vedenja ob stiku z vonjalno postajo prisotna tudi pri risih v naravnem okolju (natančnejši rezultati so predstavljeni v Smolej,

### Izvirni znanstveni članek

2018). Ker v naravnem okolju ne pričakujemo tako pogostega stika risov z vonjalnimi postajami in izpostavljenosti atraktantu, je malo verjetno, da bi prihajalo do čutne deprivacije. Predvidevamo, da je pozimi lahko eden od razlogov za manjšo odzivnost risov manjša hlapljivost mačje mete zaradi nizkih temperatur. Odziv mačk na mačjo meto je odvisen od mnogih dejavnikov, kot so okolje, v katerem je žival, stres ali agresija, starost in kastracija oziroma sterilizacija (Espin-Iturbe in sod., 2017, Hatch, 1972; Tucker in Tucker, 1988).

Risi so se kljub proženju aktivnih vzmetnih lovilcev vračali k vonjalnim postajam in se ob njih ponovno drgnili. Ugotovitev je izredno pomembna, saj večkratno vračanje kaže, da se risi v živalskem vrtu vonjalnim postajam kljub proženju aktivnega vzmetnega lovilca niso začeli izogibati in torej ne kaže, da bi lovilci povzročali učinek »trap shyness«. V ujetništvu so testiranja vonjalnih postaj izredno uspešna (Heurich in sod. 2012), vendar predstavljajo velik izziv v naravnem okolju (Portella in sod., 2013; Comer in sod., 2011; Anile in sod., 2012). Pri uporabi metode v naravnem okolju je potrebna previdnost, da se živali zaradi negativne izkušnje ne začnejo izogibati vonjalnim postajam. To je predvsem pomembno pri vrstah ali populacijah oziroma študijah, pri katerih želimo zagotoviti večkratno vračanje na vonjalno postajo zaradi pridobitve ponovnega neinvazivnega genetskega vzorca, na primer za uporabo metode lova, označevanja in ponovnega ulova (Kendall in McKelvey, 2008).

## 5 Zaključki

Izdelana vonjalna postaja je primerna za zbiranje vzorcev dlak s pomočjo pasivnih lovilcev in aktivnih vzmetnih lovilcev ter je v kombinaciji s fotopastmi pomembna z vidika pridobivanja neinvazivnih genetskih vzorcev kot tudi monitoringa s pomočjo videoposnetkov.

Ob ugodnem proženju aktivni vzmetni lovilci učinkovito ujamejo, izpulijo in zadržijo ujete

dlake risa v pasti. Aktivni vzmetni lovilci izpulijo dlake le enega osebkov vključno z dlačnimi mešički, s čimer se prepreči mešanje vzorcev več osebkov, zaradi česar so vzorci neuporabni. Po sproženju vzmeti ostanejo dlake ujete in dobro fiksirane v vzmeti, kar preprečuje, da bi jih odpihnil veter ali spral dež. Ko se je žival drgnila ob aktivnih vzmetnih lovilcih, je bila učinkovitost proženja 56,25 % (od 16 aktivnih vzmetnih lovilcev po katerih so se risi drgnili, smo zabeležili devet proženj). Od devetih pridobljenih vzorcev so trije vsebovali od 1 do 5, dva vzorca od 5 do 10, dva od 10 do 40 in dva vzorca od 190 do 310 dlak z dlačnimi mešički.

Prva različica pasivnega lovilca, ki je imela višji flor preproge, je v primeru, da so se risi drgnili, učinkoviteje izpulila, zadržala ujete dlake. Pri drugi različici je bila višina flora preproge nižja in posledično je dlake, ujete na pasivnem lovilcu, lažje spral dež oziroma odpihnil veter. Pri prvi različici je 100 % analiziranih vzorcev, pri drugi 50 % in pri tretji 40 % vsebovalo več kot deset dlak z dlačnimi mešički, ki omogočajo najoptimalnejšo izolacijo DNA in genotipizacijo.

Na videoposnetkih smo ugotovili, da se je na posameznih pasivnih lovilcih drgnilo več risov, kar je lahko potencialen vir mešanih vzorcev, ki lahko otežijo in onemogočajo genetske analize. Zaradi nizkih populacijskih gostot dinarske populacije risov predvidevamo, da bo med predstavniki iste vrste malo mešanih vzorcev.

Risi so se kljub proženju aktivnih vzmetnih lovilcev vračali k vonjalnim postajam in se ponovno drgnili obnje.

Pri populacijah, kot je na primer dinarska populacija risov, kjer je populacijska gostota nizka, v naravnem okolju pričakujemo relativno nizko število pridobljenih vzorcev z aktivnimi vzmetnimi lovilci, a je v takem primeru vsak neinvazivno pridobljen vzorec izredno pomemben za genetske analize. Vonjalne postaje z aktivnimi vzmetnimi lovilci bi bile lahko

uporabna in pomembna metoda monitoringa tudi pri raziskavah drugih predstavnikov družine mačk (*Felidae*), ki se pojavljajo v večjih populacijskih gostotah, socialnih skupinah ali pa je na enem območju prisotnih več vrst iz te družine, kjer je potencialno večja možnost kontaminacije in pridobivanja mešanih vzorcev dlak na klasičnih vonjalnih postajah s pasivnimi lovilci dlak.

## 6 Povzetek

Spremljanje stanja populacij je težavno, še zlasti za evrazijskega risa, katerega neinvazivne genetske vzorce (dlako, iztrebke, urin, slino) je težko najti v okolju. Zbiranje takih vzorcev je še dodatno oteženo na območjih, kjer pozimi ni snežne podlage oziroma je kratkotrajna. Doslej so vonjalne postaje, ki jih poznamo za zbiranje neinvazivnih genetskih vzorcev, pri družini mačk (*Felidae*) temeljile na odzivu odgovora na mačjo meto oziroma njene derivate – nepetalaktone, ki so izzvali drgnjenje ob pasivne lovilce. V raziskavi, ki je potekala v ogradi risov v Živalskem vrtu Ljubljana, smo v poletnem obdobju, od maja 2017 do septembra 2018, in zimskem obdobju, v januarju 2018, testirali nove, izboljšane vonjalne postaje, ki temeljijo na pridobivanju neinvazivnih vzorcev dlak s pomočjo pasivnih in aktivnih vzmetnih lovilcev. Ugotovili smo, da sta oba tipa lovilcev dlak primerna in učinkovita ter v kombinaciji s fotopastmi pomembna z vidika pridobivanja neinvazivnih genetskih vzorcev kot tudi monitoringa s pomočjo videoposnetkov. Ob ugodnem proženju aktivni vzmetni lovilci učinkovito ujamejo, izpulijo in zadržijo ujete dlake risa v pasti. Aktivni vzmetni lovilec izpulil dlake enega osebkov vključno z dlačnimi mešički, s čimer se prepreči mešanje vzorcev več osebkov. Po sproženju vzmeti ostanejo dlake ujete in dobro fiksirane v vzmeti, kar preprečuje, da bi jih odpihnil veter ali spral dež. Mehanizem, ki smo ga razvili, je izdelan tako, da je menjava pasivnih lovilcev in vzmeti

v primeru, da so na njih vidni ujete vzorci dlak, preprosta in omogoča kasnejše natančno pobiranje dlak v laboratoriju.

V ogradi Živalskega vrta Ljubljana so risi uspešno sprožili devet aktivnih vzmetnih lovilcev, od tega sedem v poletnem obdobju vzorčenj in dva v zimskem. Vonjalno postajo, na kateri so bili pritrjeni aktivni vzmetni lovilci in pasivni lovilci z atraktantom, je bilo treba v času testiranja na terenu optimizirati. Ko se je žival drgnila po aktivnih vzmetnih lovilcih, je bila učinkovitost proženja 56,25 % (od 16 aktivnih vzmetnih lovilcev, po katerih so se risi drgnili, smo zabeležili devet proženj). Od devetih pridobljenih vzorcev so trije vsebovali od 1 do 5, dva vzorca od 5 do 10, dva od 10 do 40 ter dva vzorca od 190 do 310 dlak z dlačnimi mešički. Rezultati raziskave kažejo, da je zbiranje dlak z dlačnimi mešički za namene zbiranja neinvazivnih vzorcev za genetske raziskave primernejše v pomladno-poletnem obdobju, ko so risi v fazi menjave dlake in jim odpadata nadlanka ter podlanka. Ugotovili smo, da v tem obdobju vzmeti lažje izpulijo in zadržijo dlake z dlačnimi mešički, ki so v fazi odpadanja in niso več tako močno vrasle v kožo.

Risi so se kljub proženju aktivnih vzmetnih lovilcev vračali k vonjalnim postajam in se ponovno drgnili obnje. Ugotovitev je izredno pomembna, saj večkratno vračanje kaže, da se risi v živalskem vrtu kljub proženju aktivnega vzmetnega lovilca niso začeli izogibati vonjalnim postajam in torej ne kaže, da bi lovilci povzročali učinek »trap shyness«. Testiranja vonjalnih postaj v ujetništvu so izredno uspešna, vendar predstavljajo velik izziv v naravnem okolju. Pri uporabi metode v naravnem okolju je potrebna previdnost, da se živali zaradi negativne izkušnje ne začnejo izogibati vonjalnim postajam. To je predvsem pomembno pri vrstah ali populacijah oziroma študijah, pri katerih želimo zagotoviti večkratno vračanje na vonjalno postajo zaradi pridobitve ponovnega neinvazivnega genetskega vzorca, na primer za uporabo metode lova, označevanja in ponovnega ulova.



### Izvirni znanstveni članek

Pri populacijah, kot je na dinarska populacija risov, kjer je populacijska gostota nizka, v naravnem okolju pričakujemo relativno nizko število pridobljenih vzorcev z aktivnimi vzmetnimi lovilci, a je v takem primeru vsak neinvazivno pridobljen vzorec izrednega pomena za genetske analize.

Testirali smo tri različice pasivnih lovilcev dlak, in sicer dve v poletnem in eno v zimskem obdobju vzorčenj. Prva različica pasivnega lovilca, ki je imela višji flor preproge je, v primeru, da so se risi drgnili, učinkoviteje izpulila in zadržala ujete dlake. Pri drugi različici je bila višina flora preproge nižja in posledično je dlake, ujete na pasivnem lovilcu lažje spral dež oziroma odpihnil veter. Pri tretji različici pasivnega lovilca bi bilo treba za ugotavljanje optimalnega delovanja testirati tudi vpliv sezone na pridobivanje vzorcev dlak. Pri prvi različici je 100 % analiziranih vzorcev, pri drugi 50 % in pri tretji 40 % vsebovalo več kot deset dlak z dlačnimi mešički, za katere smo ugotovili, da omogočajo najoptimalnejšo izolacijo DNA in genotipizacijo. Videoposnetki so pokazali, da se je na posameznih pasivnih lovilcih drgnilo več risov, kar je lahko potencialen vir mešanih vzorcev, ki lahko otežijo in onemogočajo genetske analize. Zaradi nizkih populacijskih gostot dinarske populacije risov predvidevamo, da bo med predstavniki iste vrste malo mešanih vzorcev.

## 7 Summary

*Monitoring the status of populations is difficult, especially for Eurasian lynx, whose non-invasive genetic samples (hair, faeces, urine, saliva) are hard to find in the environment. The collection of such samples is even more difficult in areas where snow cover is absent or present for short period of time. In the Felidae family, the scent stations known for the collection of non-invasive genetic samples have been based on the response to catnip or its derivatives, nepetalactones, which provoke rubbing against passive hair traps. In a study conducted in the lynx enclosure at the ZOO*

*Ljubljana, we tested new, improved scent stations based on the collecting of non-invasive hair samples using a passive and active coil spring hair traps during the summer period from May 2017 to September 2018 and the winter period in January 2018. We found out that both types of hair traps are suitable and efficient and are in combination with photo traps important in terms of obtaining non-invasive genetic samples as well as video monitoring. After optimal triggering, active coil spring hair traps are effective in capturing, extracting and retaining captured lynx hair in the trap. The active coil spring hair trap retains the hair with hair roots of one individual and prevents the mixing of samples from several individuals. The hair remains trapped and well fixed after the coil spring is triggered and that prevents the sample from being blown away by the wind or washed away by rain. The mechanism that we have developed is designed in such a way that changing the passive hair traps and coil springs in case of trapped hair samples is easy and afterwards allows precise hair collection in the laboratory.*

*Lynxes successfully triggered nine active coil spring hair traps in the ZOO Ljubljana enclosure, seven in the summer and two in the winter sampling period. The scent station on which the active coil spring hair traps and passive hair traps were attached had to be optimised during the testing on the field. In the cases when lynxes were rubbing against active coil spring hair traps, the triggering efficiency was 56,25 % (out of 16 events when lynxes were rubbing against active coil spring hair traps, nine events of triggering were recorded). Of the nine obtained samples, three contained between 1-5, two between 5-10, two between 10-40, and two between 190-310 hair with hair roots. The present study shows that the collection of hair with hair roots for non-invasive samples for genetic studies is more appropriate during the spring-summer period when lynxes are shedding guard hair and underfur. We have found that during this period, the coil springs can easily extract and retain hair with hair roots that are in*

the shedding phase and are no longer as strongly ingrown in the skin.

Despite the triggering of active coil spring hair traps, lynxes returned to the scent stations and rubbed against them repetitively. This finding is of utmost importance, as the repeated returns to the scent stations indicate that the lynxes at the ZOO did not start to avoid the scent stations despite the triggering of the active coil spring hair traps and therefore does not indicate that the traps are causing a trap shyness effect. Testing of scent stations in captivity has been extremely successful but poses a major challenge in the natural environment. When applying the method in the wild, care is needed to ensure that animals do not start to avoid the scent stations because of a negative experience. This is particularly important in species or populations or studies where we want to ensure multiple returns to the scent station to obtain repetitive non-invasive genetic samples, such as for the use of the capture, mark, recapture method.

In populations such as the Dinaric lynx population where population densities are low, we expect a relatively low number of samples collected with active coil spring hair traps, but in such cases, any obtained non-invasive samples are of great importance for genetic analyses.

We tested three versions of passive hair traps, two in the summer and one in the winter sampling period. The first version of the passive hair trap, which had higher fibres on the carpet, was more effective at retaining trapped hair when lynx rubbed against it. In the case of the second version, the height of the carpet fibres was lower and, as a consequence, the hair caught on the passive hair trap was more easily washed away by rain or blown away by the wind. In the case of the third version of the passive hair trap, the effect of the season on the retaining of hair samples would also need to be tested to determine optimal performance. At the testing of the first version 100%, the second version

50% and the third version 40% of the analysed samples contained more than ten hair with hair roots, for which we found out that allow the most optimal DNA isolation and genotypization. The videos showed that several lynxes rubbed on individual passive hair traps, which could be a potential source of mixed genetic samples that can impair and disrupt genetic analyses. Due to the low population densities of the Dinaric lynx population, we predict that the number of mixed samples within the same species will be low.

## 8 Viri

Anile S., Arrabito C., Mazzamuto M. V., Scornavacca D., Ragni B. 2012. A non-invasive monitoring on European wildcat (*Felis silvestris silvestris* Schreber, 1777) in Sicily using hair trapping and camera trapping: does it work? *Hystrix, The Italian Journal of Mammalogy*, 23: 45–50.

Comer C. E., Symmank M. E., Kroll J. C. 2011. Bobcats Exhibit Low Detection Rates at Hair Collection Stations in East Texas. *Wildlife Biology in Practice*, 7, 1: 116–122.

Espín-Iturbe L. T., Yañez B. A., García A. C., Canseco-Sedano R., Vázquez-Hernández M., Coria-Avila G. A. 2017. Active and passive responses to catnip (*Nepeta cataria*) are affected by age, sex and early gonadectomy in male and female cats. *Behavioural Processes*, 142: 110–115.

Hatch R. C. 1972. Effect of drugs on catnip (*Nepeta cataria*)-induced pleasure behavior in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 33: 143–145.

Heurich M., Müller J., Burg M. 2012. Comparison of the effectivity of different snare types for collecting and retaining hair from Eurasian Lynx (*Lynx lynx*). *European Journal of Wildlife Research*, 58, 3: 579–587.

Kendall K. C., McKelvey K. S. 2008. Hair collection. V: Noninvasive Survey Methods for Carnivores. Long R. A. MacKay P., Ray J., Zielinski W. (ur.). Washington, Island Press: 385 str.

Krofel M. 2008. DinaRis: možnosti monitoringa s pomočjo vonjalnih količkov: strokovno poročilo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 18 str. <http://commons.risi.si/commons/images/4/42/Kolicki2008.pdf> (18. jan. 2018)

*Izvirni znanstveni članek*

Long R. A., MacKay P., Ray J., Zielinski W. 2008. Noninvasive Survey Methods for Carnivores. Washington, Island Press: 385 str.

McDaniel G. W., McKelvey K. S., Squires J. R., Ruggiero L. F. 2000. Efficacy of lures and hair snares to detect lynx. *Wildlife Society Bulletin*, 28, 1: 119–123.

McKelvey K. S., von Kienast J., Aubry K. B., Koehler G. M., Maletzke B. T., Squires J. R., Lindquist E. L., Loch S., Schwartz M. K. 2006. DNA-analysis of hair and scat collected along snow tracks to document the presence of Canada lynx. *Wildlife Society Bulletin*, 34, 2: 451–455.

Portella T. P., Bilski D. R., Passos F. C. Pie M. R. 2013. Assessing the efficacy of hair snares as a method for noninvasive sampling of Neotropical felids. *Zoologia (Curitiba)*, 30, 1: 49–54.

Skrbinšek T., Potočnik H., Kos I., Trontelj P. 2007. Projekt »Varstvena genetika medveda, risa in jelenjadi v Sloveniji«, Varstvena genetika medveda. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 52 str.

Smolej T. 2018. Uspešnost pridobivanja neinvazivnih genetskih vzorcev risov (*Lynx lynx*) z vzmetnimi pastmi za dlake ter uporabnost metode za monitoring populacije risa. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 110 str. <https://repozitorij.uni-lj.si/Dokument.php?id=113941&lang=eng> (3. jan. 2020)

Squires J. R., McKelvey K. S., Ruggiero L. F. 2004. A Snow-tracking Protocol Used to Delineate Local Lynx, *Lynx canadensis*, Distributions. *The Canadian Field-Naturalist*, 118: 583.

Tucker A. O., Tucker S. S. 1988. Catnip and the catnip response. *Economic Botany*, 42: 214–221.