





DATA FRÅN DNA- INVENTERING

Samuli Heikkinen – Naturresursinstitutet
Antti Härkälä – Naturresursinstitutet
Mia Valtonen – Naturresursinstitutet

Jaakko Alalantela



Innehåll

1. **Grunderna i DNA-inventering**
 2. **DNA och beståndsberäkningar** 
 3. **Insamling av DNA-prover för varg**
 4. **Analysering av DNA-prover för varg**
 5. **Användning och publicering av DNA-resultat för varg**
- 

1. GRUNDERNA I DNA-INVENTERING



Hannu Huttu

VARJE DJUR GÅR ATT IDENTIFIERA MED DESS DNA

- DNA kan isoleras bl.a. ur avföring som innehåller avlagring av celler från tarmens insida eller ur urin som tillvaratagits från snön. Djurets DNA kan också isoleras ur t.ex. salivprov eller hårsäck eller ur vävnad från döda djur.
- Mängden DNA varierar beroende på typ av prov och i urin- och spillningsprover är det ofta av dålig kvalitet. Det behövs flera analysomgångar av ett prov för att få fram ett tillförlitligt resultat.
- Fuktiga och varma förhållanden kan försämra provets kvalitet, och därför är det inte alltid möjligt att rena fram DNA ur provet. Då kan lyckas inte identifieringen.



Antti Härkälä

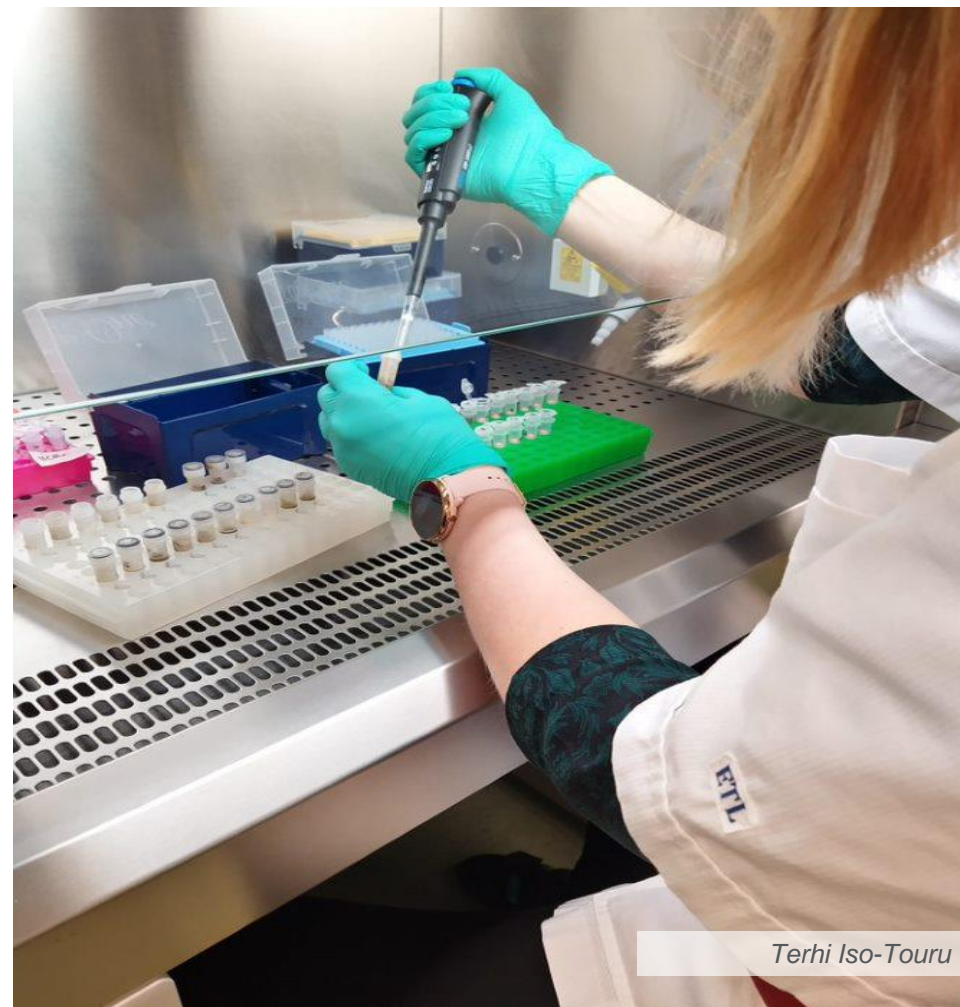
ORSAK FÖR ANVÄNDNING AV DNA

- Beräkningarna av antalet individer som permanent vistas i ett område under en viss period bygger primärt på hur varje individ slutligen förekommer i separata DNA-prover (dvs. när nya individer inte längre påträffas). För tillförlitliga beräkningar behövs tillräckligt många lyckade analyser av DNA-prover.
- Allmänt taget kan man säga att antalet individer i ett område multiplicerat med tre är ett tillräckligt exakt resultat.
- Mer om detta i avsnittet ”DNA-inventering vid beståndsberäkning av varg (4)”.



MED DNA IDENTIFIERAS BÅDE DJUR OCH ARTER

- Med DNA-analyser kan man skilja mellan såväl individer som arter. Exempelvis kan man genom analyser för varg skilja mellan följande arter och korsningar: varg – hund – varghybrid – guldschakal.
- För andra hunddjur är utslaget osäkert, t.ex. ”eventuellt räv, mårhund eller annat hunddjur”.
- Om provet är en spillning av någon annan art (t.ex. lodjur) eller mängden DNA är för liten, blir analysresultatet noll (=kan inte fastställas).
- Huruvida individer är besläktade kan analyseras fram utifrån resultaten. Genom släktskapsanalys identifieras individer som är nära besläktade med varandra (föräldrar-avkomma, syskon).



Terhi Iso-Touru

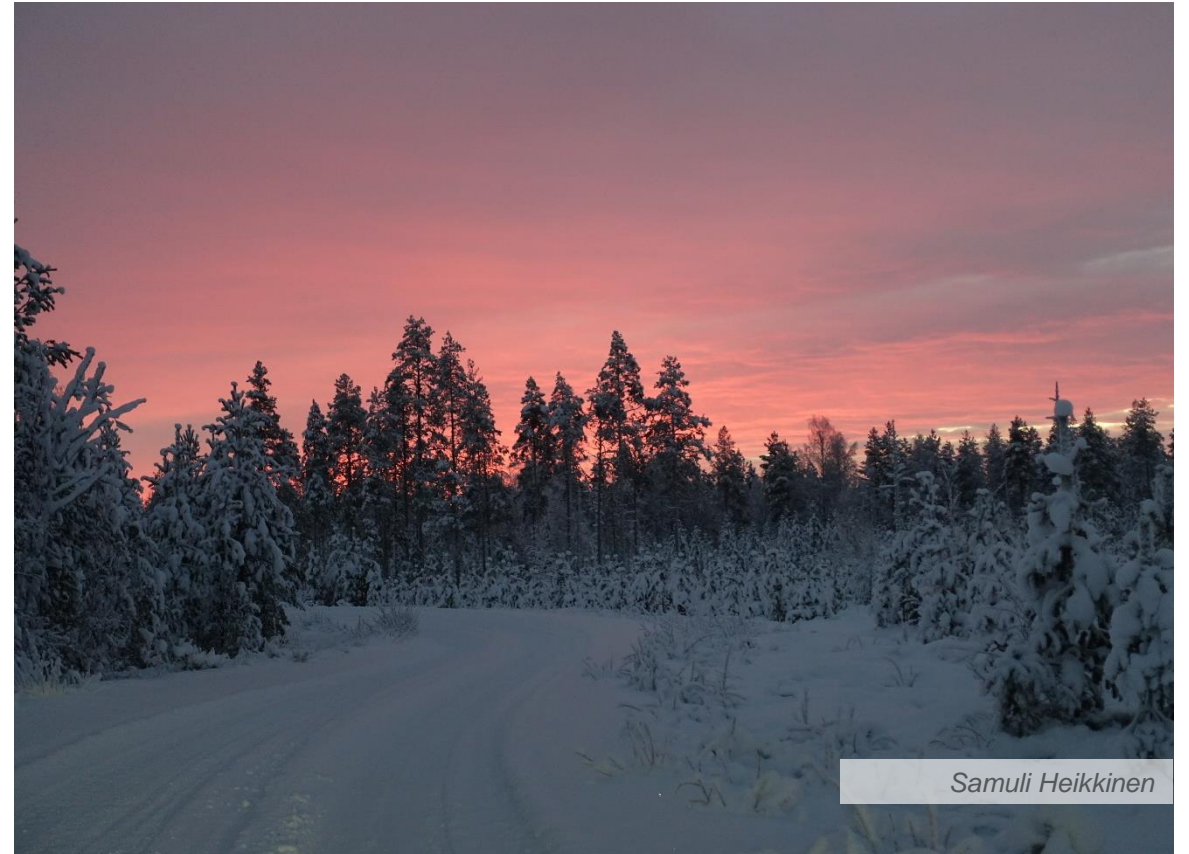
2. DNA OCH BESTÅNDSBERÄKNINGAR



Hannu Huttu

DNA OCH BESTÅNDSBERÄKNING AV VARG

- Spillningsprover av varg har samlats in sedan 2013. I början samlades prover främst i Egentliga Finland i ett projekt som startats av Åbo universitet. De togs med i de nuvarande beståndsberäkningarna 2014.
- DNA används vid beståndsberäkningarna för att fastställa revirets status (har det fötts valpar) och individantal.





DNA-INVENTERING VID BESTÅNDSBERÄKNING AV VARG (1)

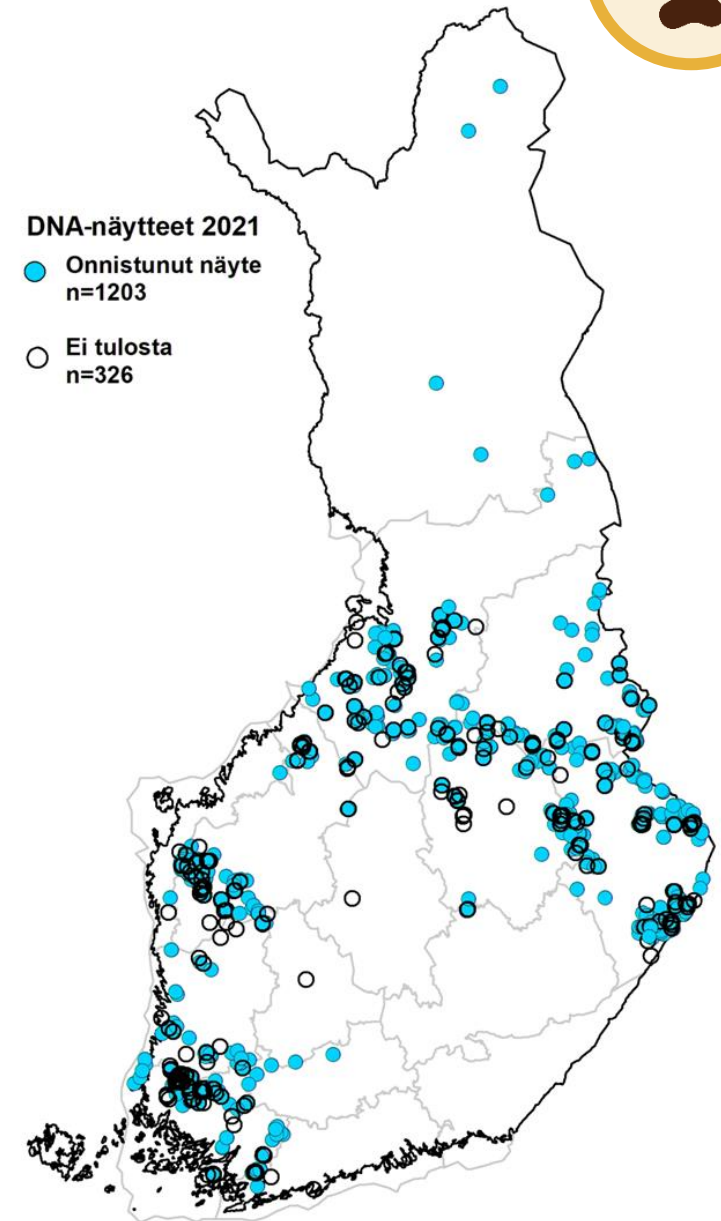
- Naturresursinstitutet hade 2017–2019 ett utvecklingsprojekt där man satsade på insamling av DNA-prover av varg och på tolkning av resultaten av analyserna av proverna. Resultaten bygger på identifiering av enskilda djur med DNA. Prover analyserades från vid jakt fällda vargar (Naturresursinstitutet), djur som dött på annat sätt (Livsmedelssäkerhetsverket), sändarförsedda vargar (Naturresursinstitutet) och spillningsprover från specifika revir (frivilliga insamlare, Naturresursinstitutet).
- Utöver Naturresursinstitutets egna medarbetare anställdes medhjälpare från Forststyrelsen för insamling av spillningsprover för projekt, främst i Norra Karelen, Norra Savolax och Kajanaland. Naturresursinstitutets medarbetare fortsatte insamlingen i östra Finland vintern 2019/2020.
- DNA-insamlingen med frivilliga krafter utfördes främst i sydvästra Finland och i Södra och Norra Österbotten (2018/2019, 2019/2020). Vintern 2020/2021 utvidgades den frivilliga sampelinsamlingen till alla kända vargrevir.



DNA-INVENTERING VID BESTÅNDSBERÄKNING AV VARG (2)



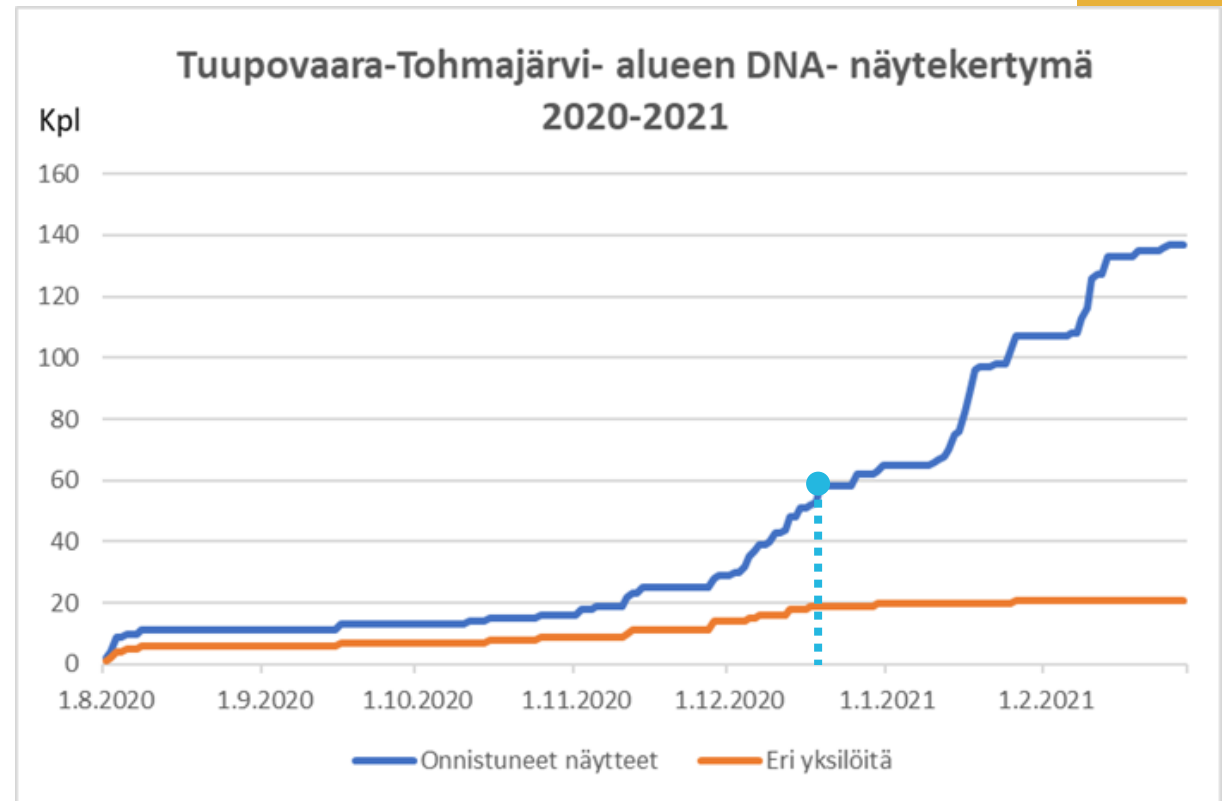
- Utifrån DNA-proverna kan man fastställa **art** (varg, varghybrid, hund, guldschakal), **kön** och **individ** (om det finns tillräckligt med DNA, kan varje prov hänföras till en specifik individ).
- Släktbanden mellan djuren på ett revir fastställs med en separat släktskapsanalys.
- Analyserna lyckas för 70–80 % av spillningsproverna som samlas in under vintern. Misslyckade analyser beror på fel artbestämning i fält (t.ex. räv eller mårddhund), för litet DNA i provet och/eller dålig kvalitet på DNA:t.
- Tillräckligt många DNA-prover ger en bättre bild av revirgränserna i ett område, revirens status (familjegrupp, par) och en uppskattning av minimiantalet djur i dem.
- Identifieringsresultaten av DNA-analyserna publiceras på <https://luonnonvaratieto.luke.fi/kartat?panel=suurpedot&lang=sv>



DNA-INVENTERING VID BESTÅNDSBERÄKNING AV VARG (3)



- Med tillräckligt många DNA-prover kan man säkerställa förökningen hos en vargflock. Dessutom kan man göra exaktare beräkningar av antalet individer.
- Det är svårt att säga hur många prover som är tillräckligt. Allmänt taget är antalet djur dividerat multiplicerat med tre ett lämpligt antal prover. Insamling av för många prover ökar kostnaderna i onödan.
- Figuren visar de tillvaratagna proverna i Tuupovaara-Tohmajärvi under vårvintern 2021. Förökningen och antalet individer på reviren i området säkerställdes med cirka 60 prover, vilket motsvarade 21 individer från tre olika familjegrupper.





Jaakko Alalantela

DNA-INVENTERING VID BESTÅNDSBERÄKNING AV VARG (4)



- DNA-prover samlas in av Naturresursinstitutet och frivilliga insamlare. Om det är möjligt deltar också Forststyrelsen och viltcentralen i arbetet.
- Insamlingen organiseras gärna via frivilliga ansvarspersoner som utses för de viktiga vargregionerna. Ansvarspersonerna delar ut anvisningar och material för insamlingen av prover. De insamlade proverna ska skickas till analys via ansvarspersonerna.
- De frivilliga insamlarna tillvaratar endast vargspillningar , inte urin.

DNA OCH BESTÅNDSBERÄKNING AV BJÖRN

- Beståndsberäkningen av björn har utgått främst från data om observationer i fält (observationer i Tassu). Sommaren 2022 startade en studie för beräkning av björnstammen, vid vilken tillvarataget DNA används för beståndsberäkning i specifika områden. Observationsdata och DNA stödjer och kompletterar varandra som metoder för beståndsberäkning.



Samuli Heikkinen

DNA OCH BESTÅNDSBERÄKNING AV LO



- Beståndsberäkning av lodjur bygger på data från observationer i fält (observationer i Tassu). För tillfället pågår en studie av hur jakt inverkar på den genetiska variationen i lodjursstammen.

DNA OCH BESTÅNDSBERÄKNING AV JÄRV

- Det finns begränsat med data att tillgå för beräkning av järvbeståndet. Dataunderlaget består främst av resultaten av vilttriangelinventeringarna vintertid samt linjetaxeringar som Forststyrelsen utför i Lappland. DNA har samlats in sedan 2016 i ett projekt vid Uleåborgs universitet.



Tapio Visuri

3. INSAMLING AV DNA-PROVER FÖR VARG



Mari Tikkinen

INSAMLING AV DNA-PROVER



- En individs DNA finns utanpå spillningen och dess mängd och kvalitet varierar mellan proven. DNA:t förstörs snabbt, speciellt vid fuktigt och varmt väderlek. Därför håller DNA som tillvaratagits vintertid bättre (DNA går att rensa fram ur 70–80 % av prover som tillvaratagits under vintern).
- De insamlade proverna fryses ner. Ju snabbare det sker, desto bättre. En frys avsedd för livsmedel bör helst inte användas på grund av möjliga hygienproblem och luktolägenheter.
- Proverna ska helst inte få tina upp och frysas ner på nytt.
- De enskilda insamlarna skickar inte in proverna för analys, utan den lokala ansvarspersonen för insamlingen sköter det koordinerat. Proverna ska lämnas till ansvarspersonen som förvarar och skickar dem vidare.

VAR HITTAR MAN DNA-PROVER PÅ VARG? (1)



- Prover hittas där var vargarna rör sig. Sådana platser är bl.a. skogsvägar, stigar och andra vandringsrutter. Leta efter spillning i närheten av vargarnas tillhåll, viloplatser och spår som leder bort från dem.
- Viloplatserna finns oftast i närheten av fällda bytesdjur. Vargarna brukar ha avföring när de lämnar viloplatsen.
- Gå helst inte och leta efter vargspillning i närheten av ett färskt jaktbyte. Om man uppsöker platsen för tidigt kan vargarna överge bytet, vilket ökar jakttrycket på bytesdjuren i området.



Antti Härkälä

VAR HITTAR MAN DNA-PROVER PÅ VARG? (2)



- En valpkull kan hålla till på en synlig plats. På det övre fotot syns valparna vid åkerkanten på en upphöjning som ger god sikt över omgivningen.
- På det nedre fotot har valparna lokaliserats vid vattnet, på en plats som även den ligger något högre än omgivningen.



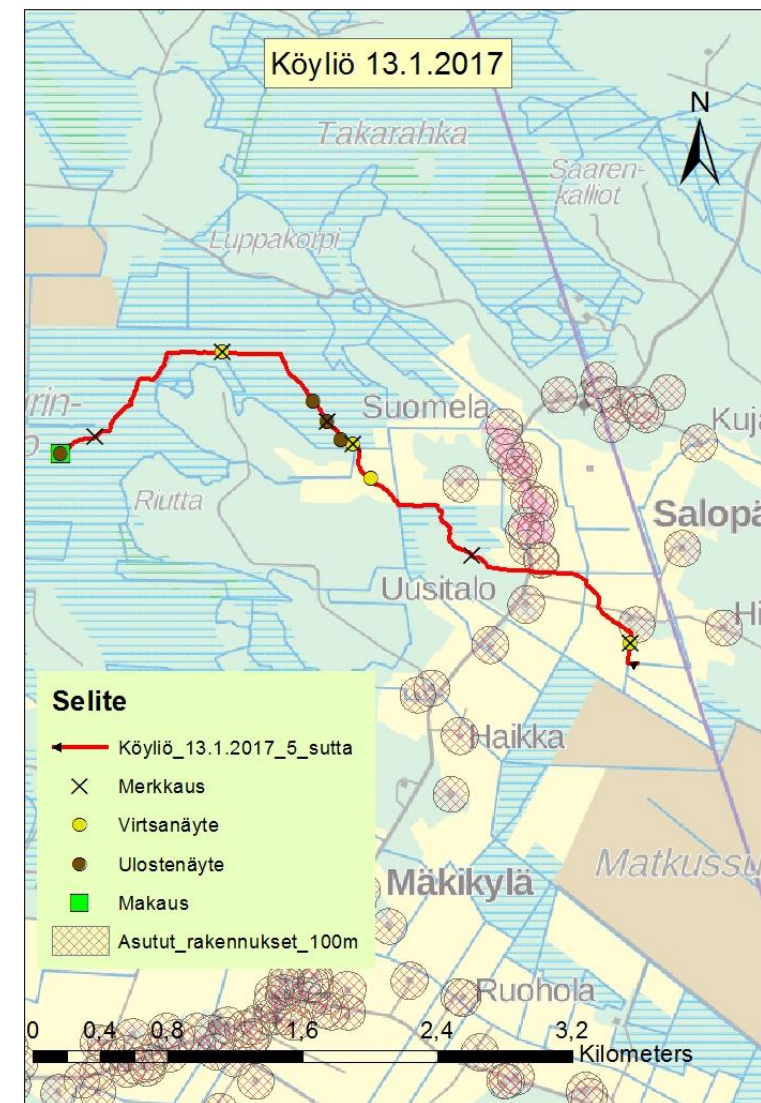
Antti Härkälä



Samuli Heikkinen

VAR HITTAR MAN DNA-PROVER PÅ VARG? (3)

Man kan också leta efter spillning som bakspårning, varvid man stör vargarna så litet som möjligt (bakspårning betyder att man följer spårlopan i motsatt riktning än vargarna gått i). På kartan visas ett exempel från Kjulo, där man bakspårade vargarna från platsen där de vilat under dagen. Spillningarna (4 st.) tillvaratogs. Samtidigt kunde man kontrollera antalet vargar (5 individer) samt spårlopanes längd (5,1 km) och avstånd från bebyggelse.



VARJE PROV I SEPARAT PÅSE

- Se alltid till renheten när du hanterar spillningsprover. Rör inte vid proverna med bar hand, utan använd alltid skyddshandskar. Om du inte har handskar, kan du trä en annan plastpåse (fryspåse) över handen. Observera att du inte får hantera två olika spillningsprover med samma handskar.
- Varje spillning ska packas in i en separat påse. Undvik att plocka upp två spillningar som rör vid varandra, om de eventuellt kommer från olika individer. Om ett prov innehåller DNA från två olika individer (korskontamination), ger analysen inget utslag.
- Varje påse med prov märks med ett nummer, med vilket man kan följa med resultaten av analyserna.
- På fotot har spillningen plockats upp med provtagningspåsen i en hand som skyddats med handske. Påsen dras sedan över spillningsprovet och spillningen hamnar i påsen utan att man rört vid den.



EXEMPEL PÅ VARGSPILLNING



Tapio Visuri



Tapio Visuri

Till vänster typisk vargspillning. Till höger en vargspillning som legat länge ute i terrängen och som det inte är värt att samla in.

Tausta
Susien ulostekeräys 2017-2018
2017_LS1_2518

Näytenumero Kordin. _____ - _____
Keräys pvm _____
Kerääjä _____
Puhelin nro _____

Keräyspvm (ppkkvvvv) _____
Kunta: _____
Kylä: _____
Paikka: _____

Koordinaatit N/lat. _____ E / lon. _____ ETRS-TM35FIN

Muuta (etäisyys saaliiseen, oleskelupaikka, läpikulkupaikka, epäselvä laji, tms.):

Näytteen tuoreus (arvio): _____ päivää vanha ei tietoa

Kerääjän nimi: _____

Puhelinnumero: _____

Näytteen tuontipvm (ppkkvvvv): _____

(Huom! Nimettömiä tai puutteellisin tiedoin varustettuja näytteitä ei oteta vastaan eikä lähetetä DNA-analyysiin!!!)

leikkaa viivaa pitkin

Seuranta
Susien ulostekeräys 2017-2018
2017_LS1_2518

Näytenumero Kordin. _____ - _____
Keräys pvm _____
Kerääjä _____
Puhelin nro _____

Keräysvastaavan nimi: _____
Näytteen tuontipvm: _____
Kerääjän nimi: _____
Sähköposti: _____

FYLLA I PROVTAGNINGSBANKETTEN



- Om varje prov fylls i en blankett med grundläggande uppgifter om provet. De viktigaste uppgifterna är **datum, plats** både med koordinater (ETRS-TM35FIN) och i ord och **insamlare**. Den nedre delen av blanketten ges till insamlaren. Uppgifterna hittas senare i naturresursdatatjänsten med provets nummer.
- Provpåsar som saknar namn eller har bristfällig märkning tas inte emot!
- Insamlarens namn läggs inte ut i karttjänsten och lämnas inte heller ut på andra sätt.
- Naturresursinstitutet arbetar med att ta fram ett elektroniskt formulär för proverna
- Obs!
 - Insamling av prover bygger på frivillighet. Den medför inga skyldigheter eller fastställda mål.
 - Deltagande i frivillig insamling ger inga särskilda friheter gällande var man får röra sig (terrängtrafiklagen)

CHECKLISTA FÖR INSAMLING AV PROVER

- Insamlingen riktas in på par- och flockrevir
- Målsättningen för antalet prover är tre gånger det uppskattade antalet vargar på reviret
- I en idealisk situation tillvaratas prover från olika delar av reviret och vid revirgränsen
- Många detaljer besvaras först av resultaten av DNA-analyserna
- Kontaktinformationen för de regionala ansvarspersonerna finns i tjänsten för naturresursdata (<https://luonnonvaratieto.luke.fi/?lang=sv>)
- Ansvarspersonen ger dig provinsamlingsmaterialet
- Var noga med hygien!
- De viktigaste uppgifterna som ska anges på provet är insamlare, koordinater och datum.
- Frys ner proverna, inte i en livsmedelsfrys. Eller förvara dem ute (vid minusgrader)
- Kom snabbt överens om leverans av proverna till ansvarspersonen

4. ANALYS AV DNA-PROVER FÖR VARG

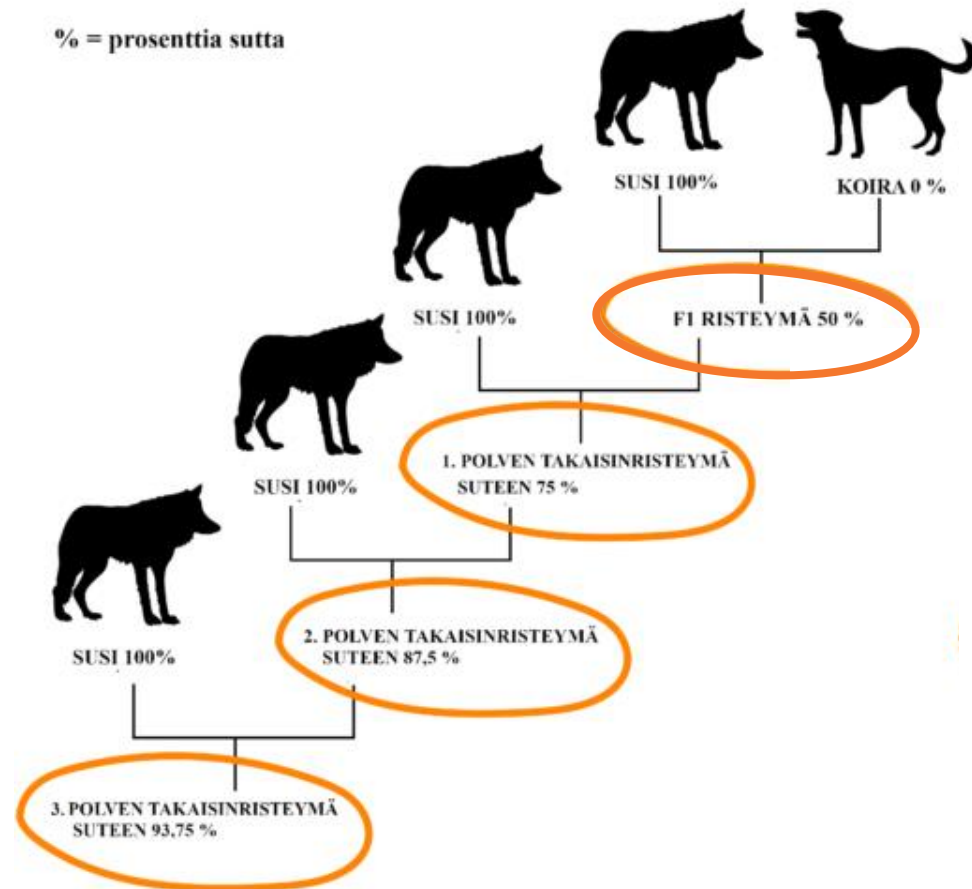


Jaakko Alalantela

ANALYS AV DNA-PROVER FÖR VARG

- DNA-proverna av vargar analyseras på Naturresursinstitutet med en metod för finländska vargar, som bygger på markörgenen 96 SNP
- Utifrån DNA-proverna identifieras
 - Art, dvs. varg, hund, varghybrid eller guldschakal; för andra arter blir resultatet ”kunde inte fastställas”
 - Individ
 - Kön
- För beståndsberäkningen analyseras proverna som tillvaratagits i fält samt vävnadsprover från alla döda individer
- Separata släktskapsanalyser används för att fastställa släktbanden mellan individerna på ett revir

IDENTIFIERING AV VARGHYBRIDER MED DNA-PROVER



- År 2021 tog Naturresursinstitutet i bruk en ny och exaktare metod för identifiering av varghybrider
- Metoden identifierar återkorsningar till vargen upp till tredje led. Den tidigare metoden kunde endast identifiera återkorsningar i första led.
- Alla nya individer (förstagångsidentifiering med DNA-prover) analyseras med den nya metoden
- Under insamlingssäsongerna 2021/2022 och 2022/2023 kunde man genom DNA-analyser av spillningsprover insamlade i Ylämaa i Villmanstrand identifiera åtta olika hybridvargar (två individer 2021/2022 och sex individer 2022/2023). Ylämaaflocken håller till mest på ryskt territorium och kommer nu och då över till finskt territorium. Dessutom identifierades en hybridvarg som härstammade från Ylämaa i ett prov som tillvaratogs i Närpes i januari 2023.

ANALYS AV OPLANERADE DNA-PROVER

- Normalt samlas DNA-proverna in och analyseras enligt en plan, på ett specifikt område och under en bestämd årstid. Dessutom informeras det aktivt innan insamlingen inleds.
- Den som rör sig i naturen kan råka hitta vargspillning även på andra platser och vid andra tider, och då infinner sig lätt tanken att den kanske borde analyseras för att hjälpa forskningen, beståndsberäkningen eller kanske lösa ett lokalt problem med vargar. Du kan plocka upp spillningen, men innan du skickar den ska du göra följande:
 - Kontakta Naturresursinstitutet eller viltcentralen och fråga om det behövs ett spillningsprov. Det kostar att analysera prover, och det går nödvändigtvis inte att analysera alla prover.
 - Om provet tas emot för analys, ska du följa anvisningarna (rör inte vid spillningen med bara händer, förvara spillningen t.ex. i en fryspåse). Frys ner provet.
 - Be om instruktioner för att skicka in provet.



5. ANVÄNDNING OCH PUBLICERING AV DNA-RESULTAT FÖR VARG



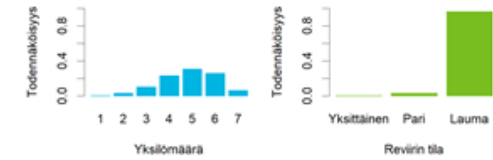
Jaakko Alalantela

ANVÄNDNING OCH PUBLICERING AV DNA-RESULTAT (1)

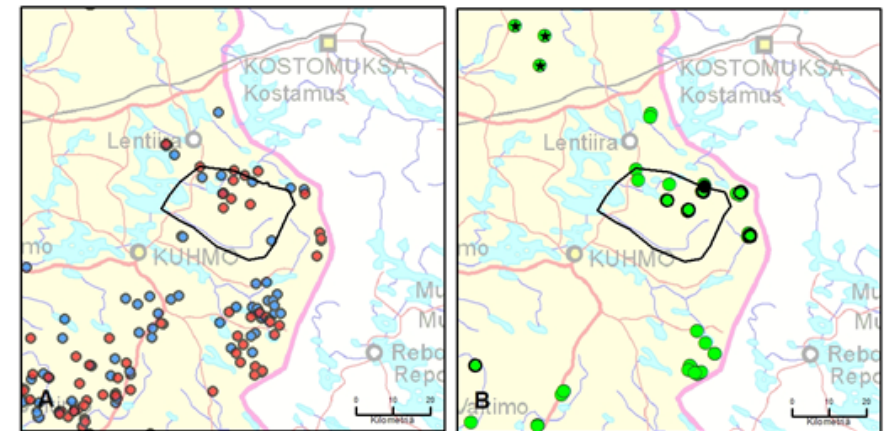
- DNA-resultaten används för beståndsberäkningen av varg, som redovisar en sammanställning av data om varje känt revir.
- På revirsidan visas utöver DNA-informationen även observationerna i Tassu från uppföljningstiden, eventuell GPS-spårning, fastställd dödlighet i området, Naturresursinstitutets eventuella fältinventering och föregående års revirstatus. Dessutom har det skapats två kartor över observationerna i Tassu och positionsdata om DNA-proverna.
- Upptill på sidan anges modelleringsresultatet för revirstatus och antalet individer på reviret.

47. Juntin reviiri (Kainuu)

Status:
Perhelauma
(95% TN)



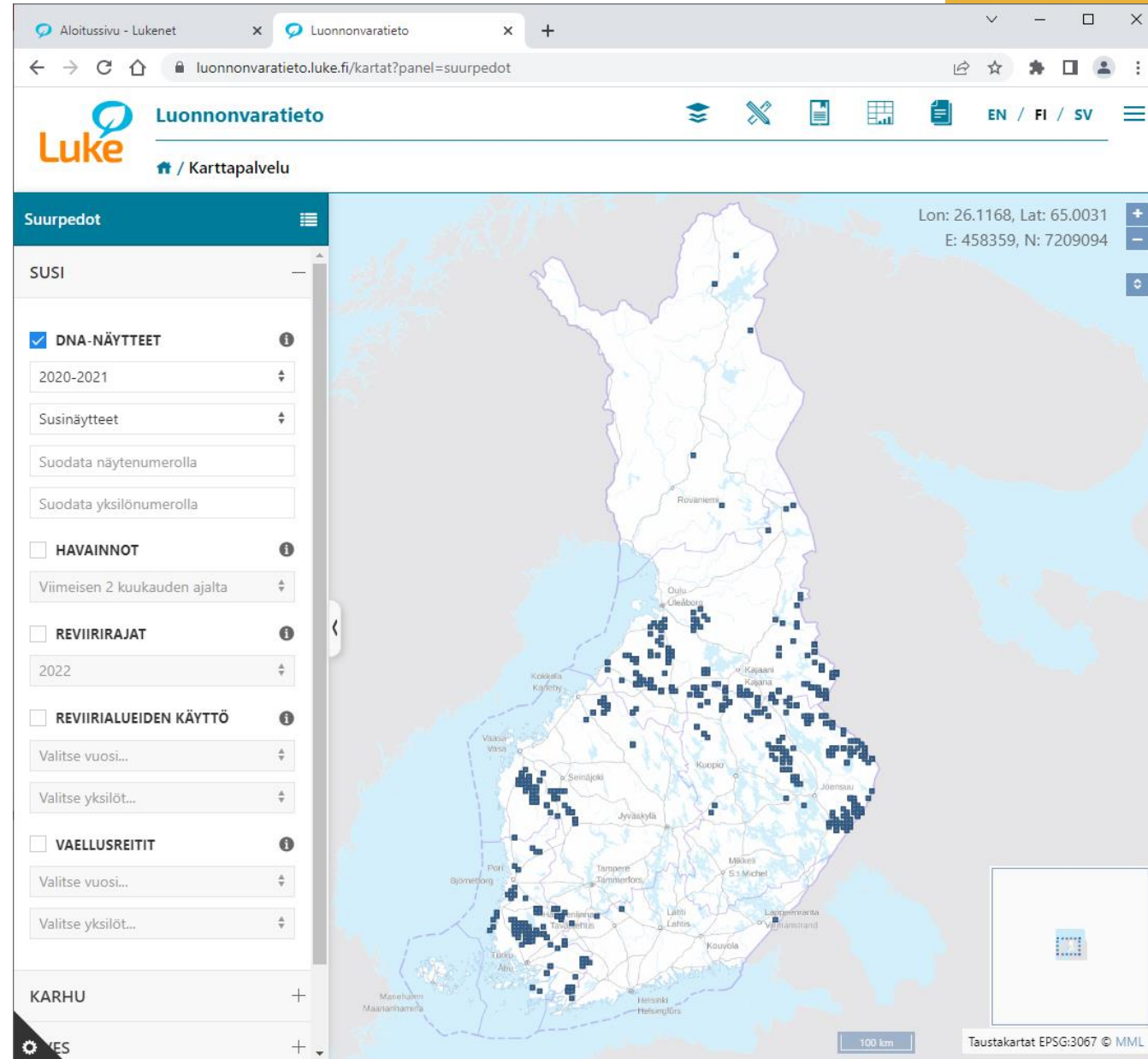
Tassu-havainnot	Havainnot kahdesta sudesta:	Laumahavainnot:
4.10.2019–31.12.2019	5 kpl	5 kpl, 5-7 yks.
1.1.2020–22.2.2020	-	3 kpl, 3-4 yks,
Havainnot ja naarassuden kiimatiputtelusta	Ei	
Alueen koko	800 km ²	
DNA näytteet	Kerätyt näytteet: 39 kpl Onnistuneet määrittelyt: 31 kpl (syksy/kevät: 5/26), kahdeksan eri susiyksilöä ja yksi koira	
GPS-aineisto	1 kpl, merkitty 27.2.2019, viimeinen havainto 23.10.2019	
Tunnettu kuolleisuus	-	
Maastoseuranta	Toteutuneita etsintä- ja/tai jäljitysreittejä: Kyllä	
Reviiristatus maaliskuussa 2019	Lauma, 5 yksilöä	



A) Kirjatut susihavainnot; B) Alueelta kerätyt DNA-näytteet ja tunnettu kuolleisuus. Mustalla viivalla hahmotelma tarkastellusta reviirialueesta perustuu GPS paikannuksiin.

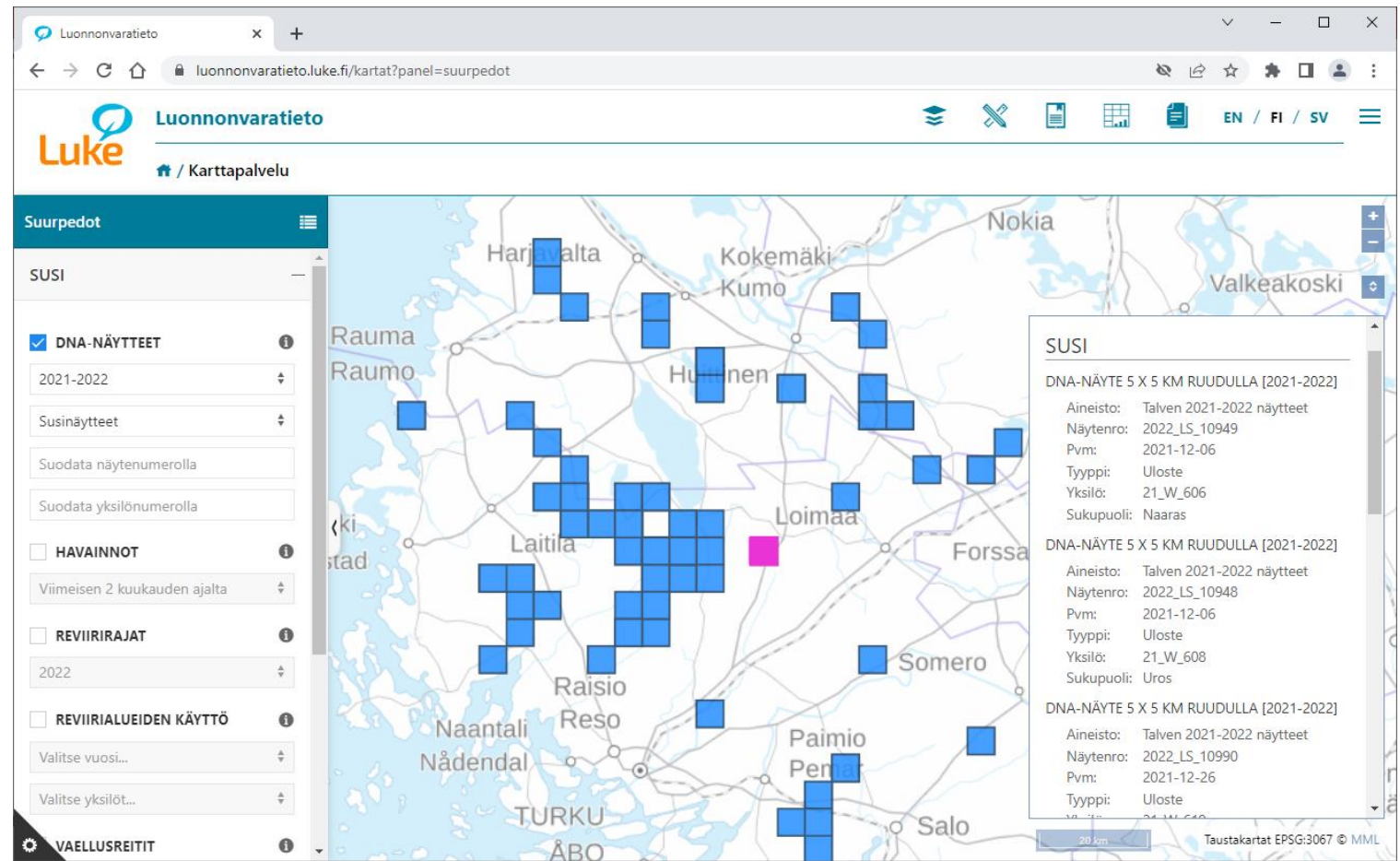
ANVÄNDNING OCH PUBLICERING AV DNA-RESULTAT (2)

- Det går att söka på DNA-resultat och titta på dem via naturresursdatatjänsten (Luonnonvaratieto.luke.fi/?lang=sv).
 - På kartorna i tjänsten visas observationsdata som pixlar på 5 x 5 km.
 - Den exakta positionen och insamlarens information publiceras inte.
- Tjänsten innehåller också annan information om de stora rovdjuren, såsom registrerade observationer i Tassu från de senaste två månaderna (pixelstorlek 10 x 10 km), kartor över revirnyttjandet och vandringsrutter.

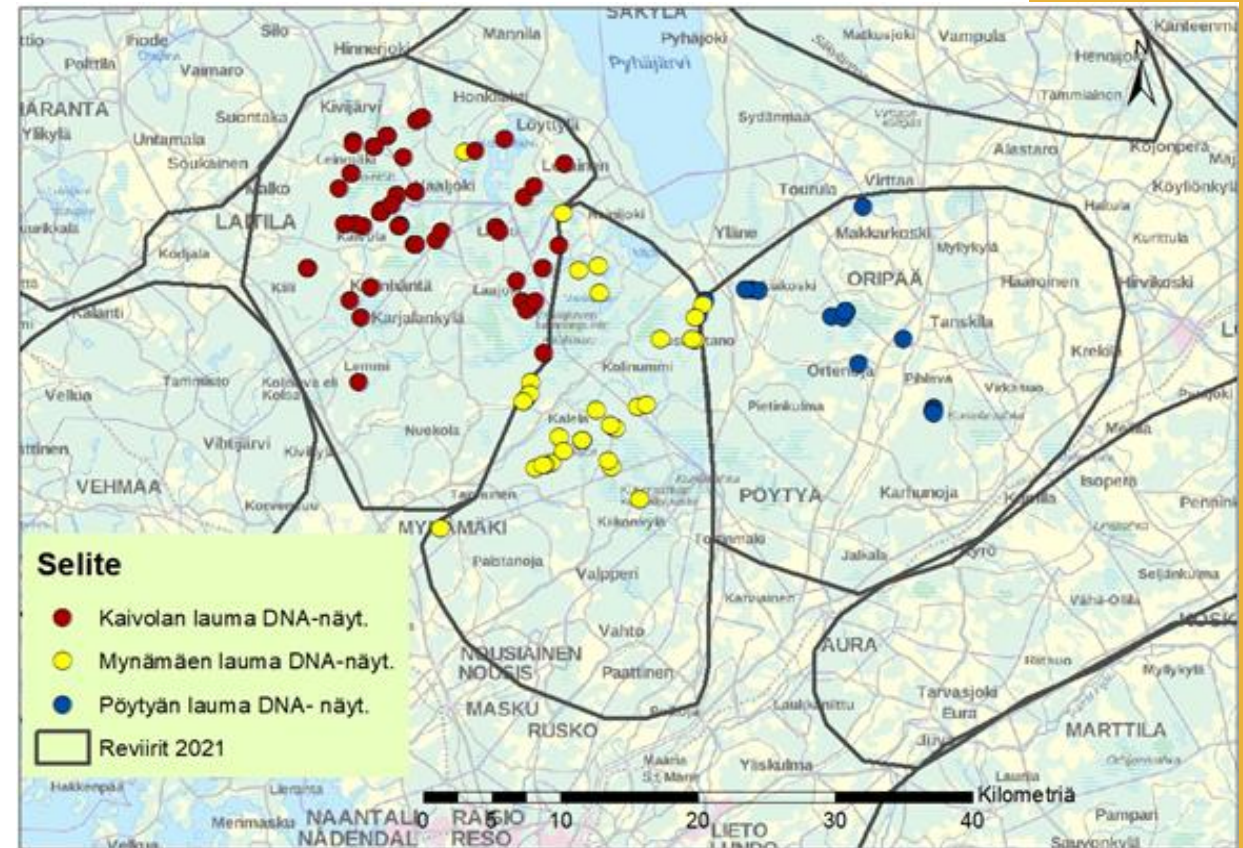
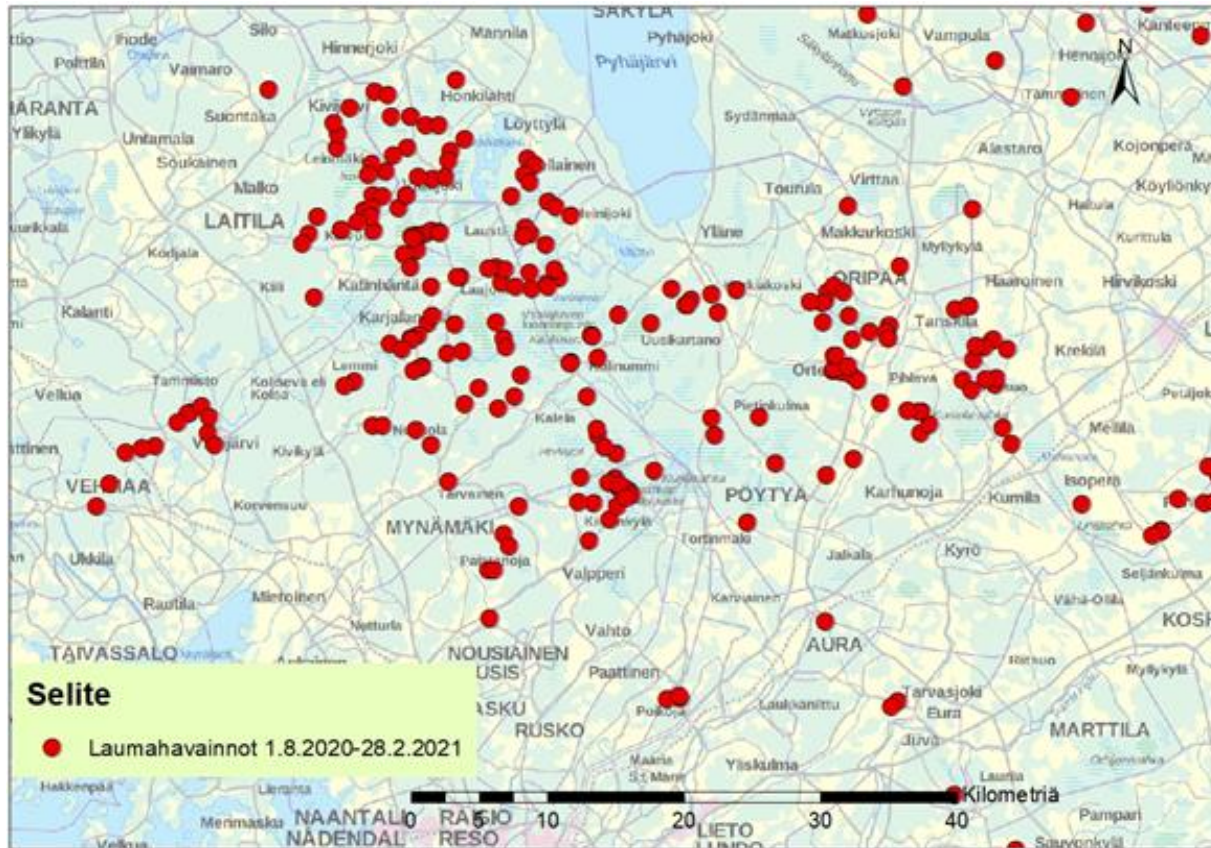


ANVÄNDNING OCH PUBLICERING AV DNA-RESULTAT (3)

- Information från DNA-analyserna visas i naturresursdatatjänsten som pixlar på 5 x 5 km. Man kan ta fram informationen antingen via positionen på kartan (klicka på önskad pixel) eller genom att söka på provets unika nummer.
- Det är också möjligt att bläddra i observationer från tidigare år genom att välja önskat år (menyn till vänster).



ANVÄNDNING OCH PUBLICERING AV DNA-RESULTAT (4)



Kartan till vänster visar de observationer av vargflockar under höst och vinter 2020/2021 som registrerats i Tassu. Det är svårt att skilja mellan närliggande revir genom att endast förlita sig på observationer.

Kartan till höger visar DNA-proverna av vargar från samma område. De vargar som enligt släktskapsanalysen hör till samma familjegrupp har märkts med samma färgsymbol. Med denna tilläggsinformation har det varit möjligt att skilja mellan reviren.



Materialet har utarbetats av projektet VargLIFE (LIFE BOREALWOLF, LIFE18 NAT/FI/000394). Projektet har fått finansiering från EU-programmet LIFE. Dessutom finansieras programmet av Jord- och skogsbruksministeriet, Miljöministeriet och genomförarorganisationerna. Centralförbundet för lant- och skogsbruksproducenter MTK rf finansierar åtgärder för att skydda tamdjuren och förebygga vargangrepp. Projektet svarar för det innehåll som det producerar. Europeiska kommissionen eller CINEA ansvarar inte för materialet eller för användning av data i materialet.

Ville Heikkinen

