

Metodika zberu neinvazívnych vzoriek na analýzy DNA a potravnú ekológiu medveďa hnedého aj vlka dravého

Slavomír Findo
Štátna ochrana prírody SR

Ciele projektu súvisiace s odberom vzoriek

- Odhad početnosti – veľkosti populácie medveďa, rysa a vlka v SR
- Určenie pomeru pohlavia
- Určenie populačnej hustoty v geografických celkoch
- Určenie stupňa hybridizácie vlka
- Určenie zloženia potravy
- Vyšetrenie na parazity

Realizácia programov starostlivosti o veľké šelmy na Slovensku

Zber vzoriek je určený pre naplnenie cieľov týchto aktivít projektu

Aktivita C4: Monitoring, zisťovanie početnosti veľkých šeliem a stupňa hybridizácie vlka dravého na základe analýz DNA

Aktivita C9: Kontinuálny monitoring zdravotného stavu veľkých šeliem

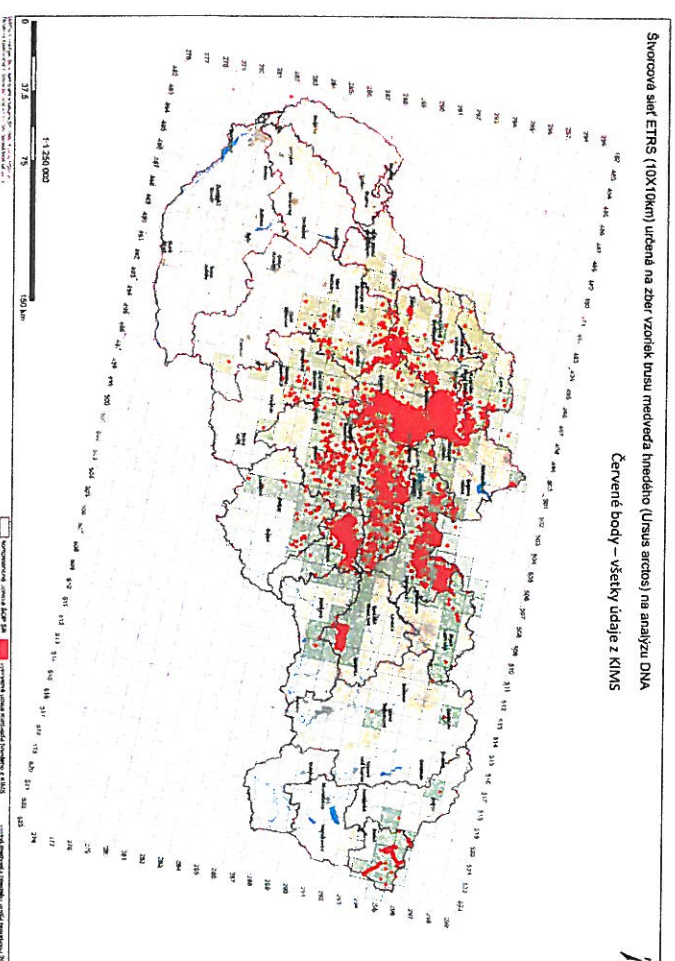
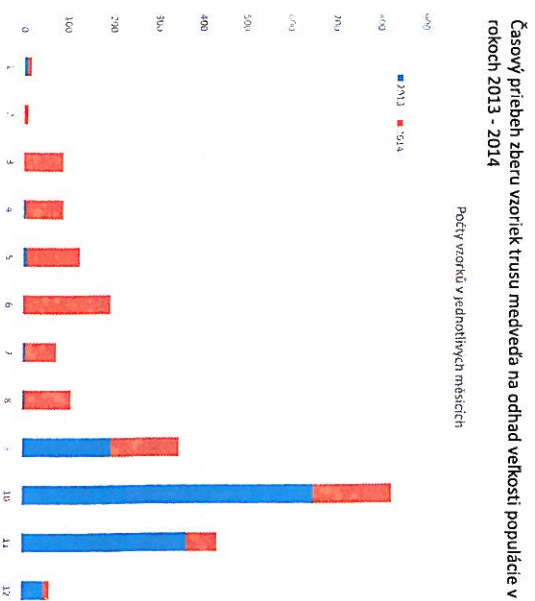
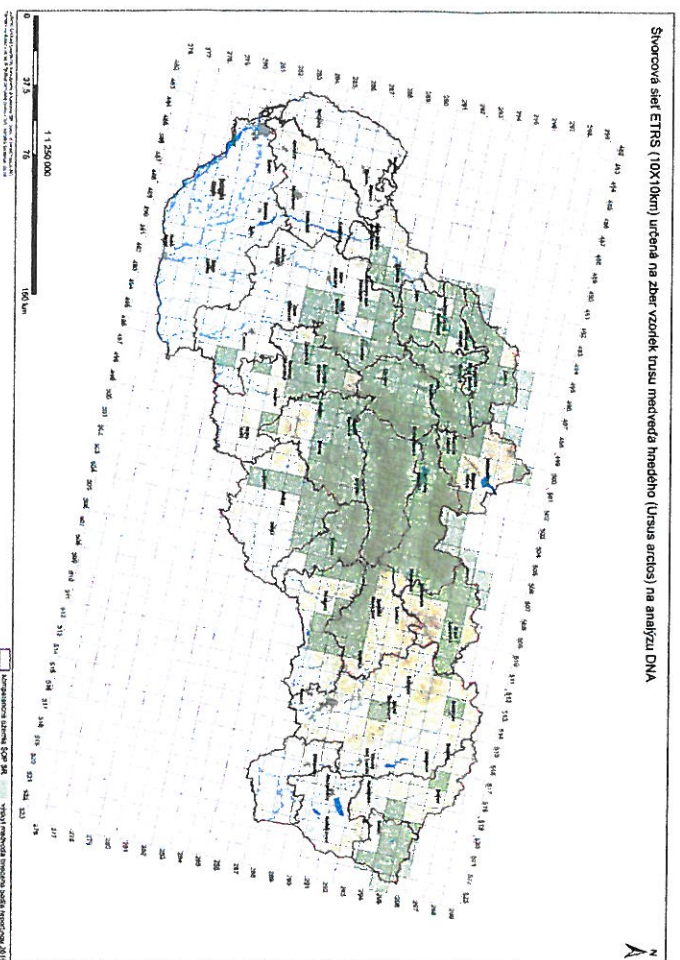
Aktivita E2: Výskum vplyvu predácie veľkých šeliem na voľne žijúce kopytníky z hľadiska ochrany prírody, manažmentu zveri a incidence parazitárnych a infekčných ochorení

Stratégia vzorkovania – zbierania vzoriek

Priestorová: ETRS, európska mapovacia sieť 10x10 km,

189 štvorcov pre medveďa
232 štvorcov pre vlka
146 štvorcov medveď + vlk

Časová: uzatvorená populácia, 1.9.2019- 30.4.2020,
1.9.2020-30.4.2021



Rozpoznanie trusu medveďa

- Pozor na zámennu s diviakom?

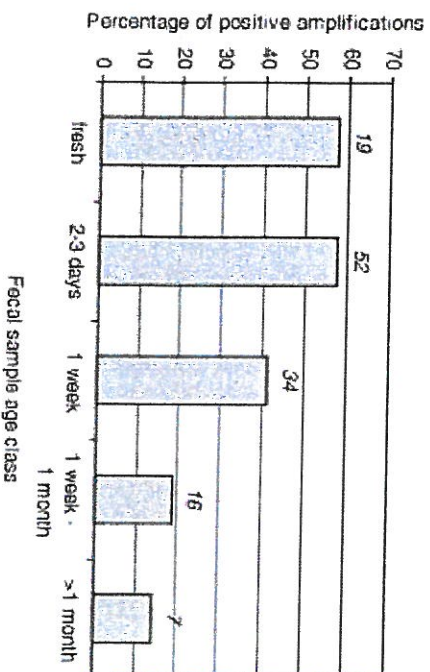


Trus medveďa pri konzumácii rastlinnej potravy – semen a mästej potravy (tmavý)

Trus diviaka (typické je segmentovanie trusu)



Úspešnosť izolácie DNA v závislosti na čerstvosti trusu
Čísla nad stĺpčekmi znamenajú úspešnosť izolácie DNA v %



Určenie čerstvosti vzorky trusu (Bellemain et al. 2007)

1. Čerstvý – menej ako 24 h
2. 2-3 dni starý (58% úspešnosť amplifikácie)
3. 7 dní starý (41% úspešnosť amplifikácie)
4. 7-30 dní
5. Starší ako jeden mesiac

Klimatické podmienky

- Vyšší úspech amplifikácie zo vzoriek trusu, ktoré boli v suchom a teplom prostredí
- Suché a chladné miesto najvyhovujúcejšie
- Chladné a vlhké málo úspešné
- Premočené vzorky dažďom nevhodné

**Budeme zbierať čerstvé vzorky trusu
medveďa, nie staršie ako 3-5 dní**

Odobratie vzorky trusu na potravnú analýzu

Súčasne pri odbere vzorky na DNA, z toho istého trusu odobrať na 5-6 miestach, vždy v množstve asi 1 polievkovej lyžice vzorky trusu. Vzorky odoberať nielen z povrchu, ale aj hlbších častí. Urobí sa teda 5-6 odberov.

Vzorky sa uložia do igelitového sáčku s rozmermi 17 x 23 cm a označia lokality štítkom.

Odobratie vzorky trusu na DNA

- 50 ml skúmavka
- 30 ml čistý etanol
- Cca 10 ml vzorky
- Zabrániť kontaminácii vzorky
- Na skúmavku nalepiť lokálny štítok
- Pri odbere použiť krátko drevko potom ho zahodiť, iné pomôcky musia byť vždy čisté pri novom odbere
- Nástroje na odber treba vždy vymeniť

Odobraté vzorky z trusu medveďa na DNA (skúmavka) a potravu (igelitový sáčok) je potrebné **spolu** vložiť do jedného ďalšieho igelitového sáčku a na tento sáčok je potrebné nalepiť lokálny štítok.

Údaje na lokálnom štítku sa musia zhodovať s tými, ktoré sú zaznačené na lokálnych štítkoch na skúmavke aj igelitovom sáčku, v ktorom je vzorka na potravnú analýzu.

Potom je potrebné odobraté vzorky vložiť do mrazničky.

Po skončení odberov vzoriek na DNA a potravnú analýzu je potrebné trus odstrániť napr. rozmetaním alebo odhnrnutím na okraj chodníka/cesty.

Ide o to, aby sa zabránilo opakovanému odobratiu vzoriek z toho istého trusu.

V prípade nálezu viacej trusov na jednom mieste neodoberajte vzorky zo všetkých trusov. Odoberte vzorky z tých trusov, ktoré sa líšia farbou alebo rôznym obsahom konzumovanej potravy.

Nie je potrebné odoberať veľký chumáč srsti. Stačí ak je vo vzorke 20-30 chlпов.

Ak je srst príliš dlhá, odporúča sa nožnicami odstrihnúť srst asi 3 cm nad chlповou cibulkou.

Ide o to, aby odobratá vzorka srsti nebola zbytočne objemná a zmestila sa do malého sáčku s rozmermi napr. 10x10 cm.

Odobratie vzorky na analýzu DNA zo srsti

- Preliezanie plotov (odstrániť zvyšné chlпы)
- Úhyny (kolízie s dopravou, legálny lov, pytlactvo, iné)
- Medvedie stromy (odstrániť zvyšné chlпы)
- Drevené elektrické stĺpy (odstrániť zvyšné chlпы)

Odber v gumených rukaviciach, pinzetou, drevkom do **papierového** sáčku. Skladovanie sáčku pri izbovej teplote na vzduchu nie v mrazničke alebo chladničke. Sáčok označiť lokálnym štítkom.

Vzorka srsti musí obsahovať tzv. *chlповú cibulkú* (*bulbus pilii*)

Odber vzorky tkaniva na analýzu DNA

- Úhyny prirodzené alebo spôsobené človekom,

Vzorka svaloviny asi 1x1 cm uložená do skúmavky s etanolom, označená lokálnym štítkom a uložená do mrazničky.

Postup uskladnenia kadáveru alebo vývrhu vlka, medveďa a rysa pre následné veterinárne vyšetrenie

V dôsledku akejkoľvek príčiny úhynu - usmrtenia je potrebné zachovať a uskladniť buď vývrh alebo aj celý kadáver po dohode so zástupcom poľovnicekeho subjektu, kde došlo k uhynutiu zvierata. Hlásenku je potrebné poslať na riaditeľstvo ŠOP SR (slavomir.findo@sopsr.sk a marian.hletko@sopsr.sk)

Celé telo alebo vývrh je potrebné uložiť do igelitového vreca, označiť ho lokalityným štítkom a uskladniť v mrazničke na príslušnej správe chráneného územia.

Vzork lokalityného štítka – aktuálne údaje zafajknúť a vypísať ceruzkou

Druh: Ursus/Canis

DNA/Potrava

Č. ETRS: *šesť miestny kód z mapy*

GPS (WGS84): x =

y =

Dátum:

Meno:

Zamestnanec:

ŠOP SR/Externista

Postup uskladnenia kadáveru alebo vývrhu vlka, medveďa a rysa pre následné veterinárne vyšetrenie

Prepravu kadáveru alebo vývrhu z medveďa a vlka na veterinárne vyšetrenie zabezpečí S. Findo alebo M. Hletko po dohovore so zamestnancami príslušnej správy chráneného územia.

Veterinárne vyšetrenie kadáveru alebo vývrhu z rysa zabezpečí Národná Zoo Bojnice. Zamestnanci tejto inštitúcie si zabezpečia prepravu samostatne (Zodpovedný Ing. Branislav Tám). V krátkom čase obdržia všetky správy ŠOP SR usmernenie k postupu pri náleze úhynu rysa.

Vysvetlenie k zaznamenávaniu súradníc

Ak sa pohybujete v rámci Slovenska a jeho okolia stačí si osvojiť odčítavanie súradníc tak, že os y (šírka / LAT) sa pohybuje v rozmedzí **48 - 50 stupňov**, a os x (dĺžka / LON) sa pohybuje v rozmedzí **17 - 23 stupňov**.

Číselná hodnota súradníc WGS84 môže byť zapísaná v rôznom formáte.

Ako desiatinné číslo v dekadickom zápise, vyskytuje sa hlavne v počítačových programoch:

xx.xxxxx

yy.yyyyyy

V tomto tvare budeme zapisovať súradnice na lokálne štítky

V šesťdesiatkovom tvare, najčastejšie používané a najľahšie sa s ním pracuje v mape:

xx° xx' xx.x"

yy° yy' yy.y"

Kombinovaný, kombinácia stupňov a minút ako desiatinného čísla:

xx° xx.xx'

yy° yy.yy'

Termíny odovzdávania vzoriek na RŠOP SR Banská Bystrica

30.09.2019

31.10.2019

30.11.2019

31.12.2019 (vzhľadom na sviatky, termín sa upresní na začiatok januára 2020)

Odovzdávanie vzoriek v roku 2020 bude upresnené začiatkom roka.

Poradové čísla doručeným vzorkám sa budú prideliť centrálné na RŠOP SR v Banskej Bystrici.

Odber vzoriek trusu vlka na potravnú analýzu



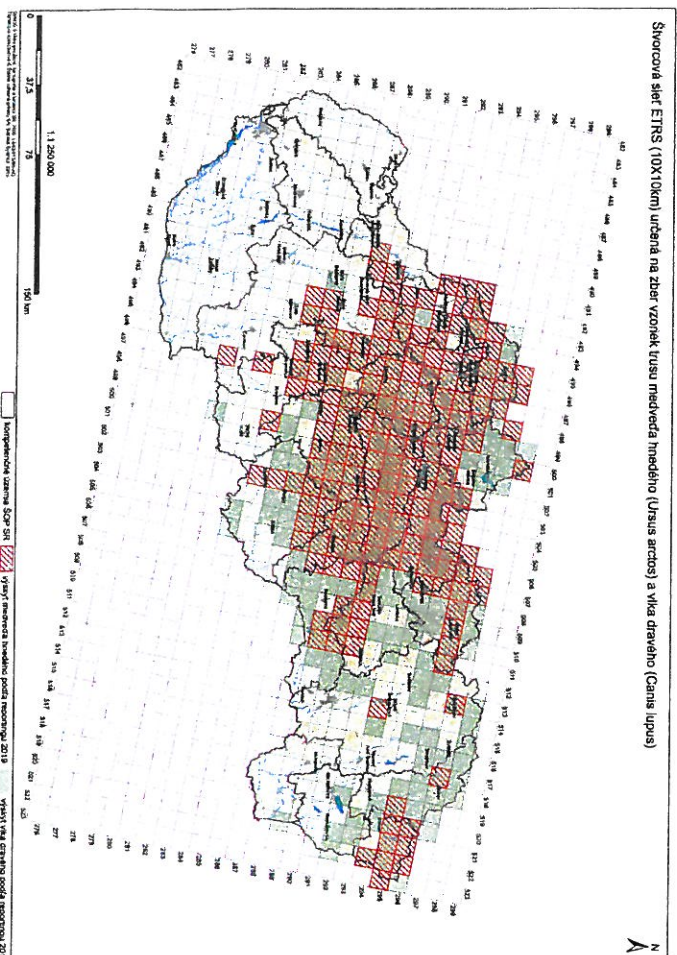
Identifikácia trusu

- Hrúbka 3 cm a viac
- Typický zápach nezameniteľný s iným pachom pretrvávajúce celé mesiace
- Obsahuje zväčša srst'

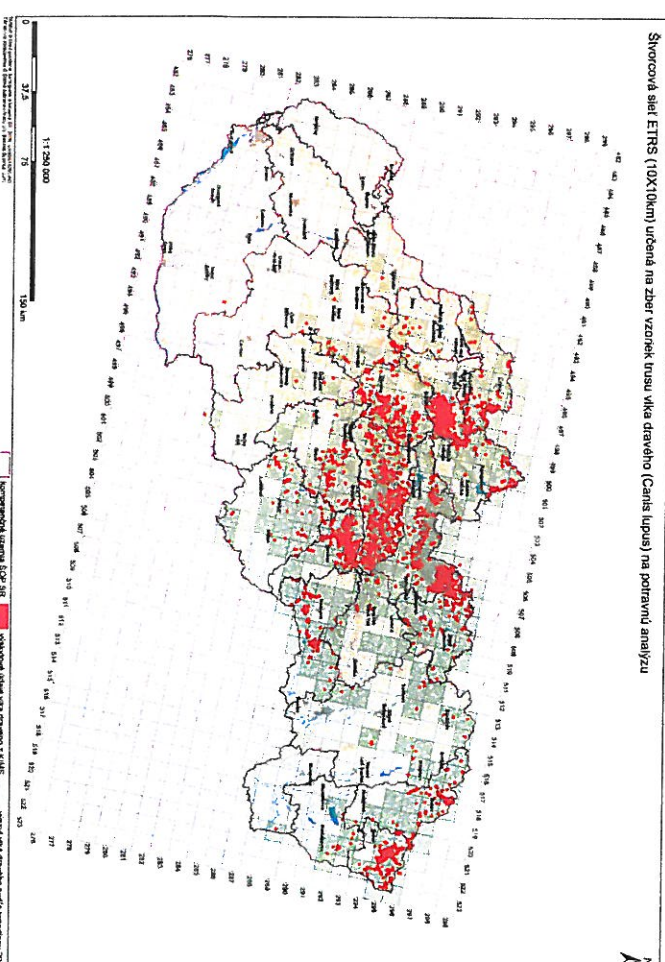
Trus vlka



Možnosť zámenny s trusom psa a lišky. Od psa rozlíšiť podľa pachu a makroskopického posúdenia zloženia potraviny!!! Liška má tenký trus a špicaté zakončenie!!!



Štvorcová sieť ETRS (10X10km) určená na zber vzorek trusu vlka dravého (Canis lupus) na potravinú analýzu



Odber vzorky na analýzu potravy vlka

- Čerstvosť vzorky max. do 14 dní
- Pri odbere vzorky dodržiavať hygienu a použitie rukavice
- Odbrať cca tretinu až polovicu z trusu, zvyšok ponechať na mieste
- Vzorku uložiť do igelitového sáčku
- Sáček označiť lokálnym štítkom a uložiť do mrazničky
- Vzorky sa budú doručovať na RŠOP SR v tých istých termínoch na konci mesiaca ako vzorky z medvedá hnedého

Odber vzoriek z trus medveďa a vlka a KIMS

Z doručených vzoriek označených lokalitynými štítkami sa na RŠOP SR v Banskej Bystrici vypíšu údaje do databázy a budú zaznamenané v KIMS.

Preto z Vašej strany nie je potrebné údaje zaznamenávať do KIMS.

Kontakty na RŠOP SR Banská Bystrica

slavomir.findo@sopsr.sk

+421 911 792 433

marian.hietko@sopsr.sk

+421 903 298 117