

Inventering för adaptiv älgförvaltning i älgförvaltningsområden (ÄFO) – Genetisk övervakning av älg

Manual nr 8



Inne- hålls- förteckning

Sammanfattning	▪ 2
Inledning	▪ 2
Begrepp och definitioner	▪ 5
Historik	▪ 6
Beskrivning av metoden	▪ 6
- Förekomst av DNA	
- Insamling av prov	
- Provinsamling	
- Provregistrering	
- Rapportering (av prov)	
- Tolkning av data	
- Metodens begränsning i fält	
Exempel	▪ 8
- Frågeställning: Hur många tjurar på Öland är reproduktivt aktiva?	
Sammanfattning	▪ 10
Förslag på fördjupnings-/ kompletterande läsning	▪ 12
Författare	▪ 13

Inventering för adaptiv älgförvaltning i älgförvaltningsområden (ÄFO)

– Genetisk övervakning av älg

Manual nr 8 • Version 1.1

Dnr SLU ua.Fe.2011-5.9-270

Produktion SLU, 2011, uppdaterad 2019

Projektleddare produktion statskonsulent Göran Sjöberg, fakultetskansli skog

Grafisk form Viktor Wrangé, AD & Mikaela Tobar

Omslag Henrik Ekman, Naturfotograferna

Upplaga PDF för egen utskrift

Sammanfattning

- Att studera vilda populationer där skygga individer rör sig över stora områden är svårt. Uppskattningar av grundläggande fakta, såsom antal, könsfördelning eller reproduktionsmönster, är därför ofta osäkra.
- Nya genetiska metoder kan förbättra noggrannheten i dessa uppskattningar eftersom genetiska prover är relativt enkla att samla in och ofta innehåller en mängd information om enskilda individers härkomst, beteenden och fortplantningsframgång.
- Genetiska prover kan samlas in direkt från individen eller från spår som lämnas av individen i naturen (t. ex. bettytor, hårtussar, avföring). Det senare alternativet är ofta snabbt och enkelt.
- Ur dessa prover utvinns DNA (arvs massa) som kan användas för individigenkänning. Sedan kan fångst-återfångstalgoritmer eller släktskapsanalyser användas för att svara på hur många djur som finns i populationen, hur de använder landskapet och andra beteenden.

Inledning

Denna text ämnar ge en översikt av hur genetik kan användas för att övervaka vilda populationer. Här beskrivs kortfattat genetikens historia och grunder, samt förutsättningar och metoder för genetiska analyser, provinsamling, laboratorieanalyser och beräkningar. Denna text är endast tänkt att ge en översiktlig bild av hur genetik kan användas för att svara på frågor



FOTO ALEXANDRA HAYDEN

av intresse inom förvaltningen. Beroende på frågeställning och övriga förutsättningar krävs vanligen särskilda hänsyn, insamlingsstrategier och skräddarsydda analyser. Principerna för genetisk övervakning skiljer sig dock inte från annan typ av inventering. Prover bör samlas in så att de utgör ett representativt urval av den population som önskas studeras och analyserna ska innehålla uppskattning av tillförlitligheten och kvalitetskontroller.

Genetiska analyser är i grunden baserade på mätningar av genetisk variation hos individer. En individs genetiska material återfinns i cellkärnan, samt i cellens mitokondrier (där cellens energi produceras). Genetiska analyser baserar sig på mätningar av utvalda delar av den genetiska variationen. Vilka delar som undersöks beror helt på frågeställningen.

Ibland vill man undersöka faktiska förändringar i förekomsten eller uttrycket av någon viktig gen (del av arvs massan som uttrycks). I andra fall används den genetiska informationen som en markör i syfte att identifiera individer eller mäta icke-genetiska processer. Även om nya tekniker ständigt ökar upplösningen och mängden genetisk data som kan analyseras är vi i grunden intresserade av att få ett mått på den genetiska variation hos individer. Genetiska data innehåller också flera lager av information vilket gör den särskilt värdefull (art, population, individ, och härkomst).

En individs genetiska uppsättning är ett resultat av två individers parning, vilket gör att vi kan använda den för att bygga upp populationens släktskapsförhållanden och mäta demografiska processer. Den

genetiska strukturen i en population (och hos individer) är också resultatet av mer övergripande processer såsom spridningsmönster och ekologiska förhållanden, som därför kan uppskattas med hjälp av genetiska data.

Slutligen påverkas också delar av individens och populationens genetiska variation av pågående selektions- och evolutionsprocesser. Den genetiska sammansättningen i en naturlig population påverkas således av en rad, ofta samverkande, processer där mänsklig påverkan kan vara en viktig del. Mätningar av denna genetiska variation och vår kunskap om hur gener nedärvs och vad som påverkar deras utbredning i naturliga populationer ger oss därför ett mycket användbart verktyg för att ta fram information av nytta för förvaltningen.

Begrepp och definitioner

DNA (deoxyribonukleinsyra) Den molekyl som håller majoriteten av en individs DNA.

Gen en bit DNA som uttrycks, vanligen ett protein.

Genotyp är en individs genetiska egenskaper i form av DNA.

Genotypa är att bestämma en individs genetiska egenskaper.

PCR DNA-syntetisering. Ett sätt att amplifiera (mångfaldiga) utvalda delar av en individs DNA för att få ut det i ett format och i tillräcklig koncentration för att kunna analysera.

Historik

Trots att funktionen och strukturen hos DNA till stora delar var känd redan på 1950-talet, dröjde det till 1980-talets mitt innan PCR uppfanns vilket revolutionerade möjligheterna till genetiska analyser. Ungefär 10 år senare började de första artiklarna med genetiska analyser av vilda populationer dyka upp. Tidiga exempel använde enkla mätningar av populationsgenetiska struktur och variation. Men eftersom genetisk struktur och variation påverkas av många olika faktorer var dessa resultat ofta av begränsat värde för förvaltningen. Inte heller mer avancerade populationsgenetiska modeller för beräkning av spridning och populationsstorlek är särskilt användbara eftersom de bygger på antagandet om jämvikt över lång tid, vilket gör att de fungerar dåligt för frågeställningar över de kortare tidsramar som förvaltningen vanligen är intresserade av (Palsboll et al. 2013). Först när genetiska metoder användes för att identifiera individer (t.ex. genom icke-invasiv insamling av avföring), ofta i kombination med fångst-återfångstberäkningar blev nyttan för förvaltningen mer påtaglig. Nya bättre genetiska metoder och minskade kostnader driver nu en utveckling mot individbaserade metoder för beräkning av demografiska parametrar på individ och populationsnivå som är lämpliga för processer som sker över korta tidsrymder (t. ex. effekter av jaktuttag eller spridningsmönster).

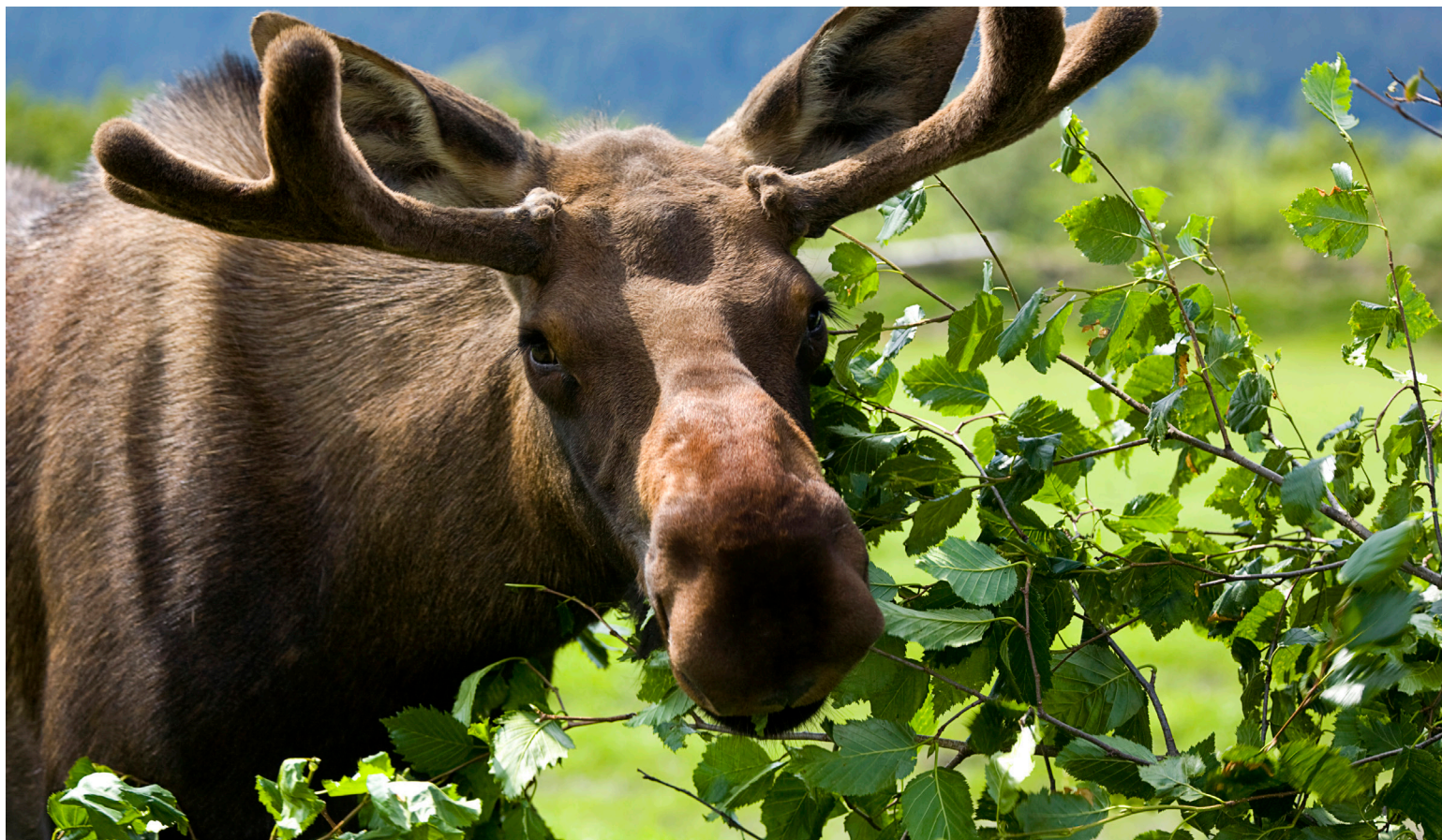


FOTO ISTOCKPHOTO

Beskrivning av metoden

Förekomst av DNA

DNA återfinns i samtliga vävnadstyper som hud, hår, eller muskulatur och kroppsutsöndringar som urin, avföring eller saliv. Även gammalt material innehåller ofta användbart DNA. Insamlat material bör konserveras med hjälp av kemikalier eller låga temperaturer (lägre än -20 grader).

Insamling av prov

Kontaminering av prover måste förhindras genom korrekt provtagningsmetodik och sterilisering av utrustning mellan prover. Vid provinsamling krävs engångsartiklar eller utrustning som kan steriliseras exempelvis genom avbränning, samt behållare för prov som till exempel kuvert eller provrör av plast.

Provinsamling

Genetiska prov kan insamlas under alla förhållanden, under alla tider på året. Fältpersonal bör utbildas i sterilteknik för att undvika kontaminering av prover.

Provregistrering

Prov märks med unikt nummer. Eftersom många konserveringsvätskor (t. ex. etanol) löser upp märkpenor bör provnummer

också ristas in i provröret. I en databas registreras provtyp/djurart, provtagningslokal, samt datum. Beroende på provtyp och syfte kan även demografisk och annan information registreras, som habitat och miljöbetingelser.

Rapportering (av prov)

Rapporteringsprotokoll beror i hög grad på typ av prov och frågeställning. I de fall prover är instabila eller analys och återkoppling skall ske snabbt måste en effektiv distributionskedja (i vissa fall med frysta prover) etableras. I andra fall kan prover mellanlagras vid insamlingsenhet för att med regelbundna intervall skickas till laboratorium.

Tolkning av data

Analys av genetiska data kräver ofta särskild programvara. Vissa frågeställningar besvaras genom enkla beräkningar. Många analyser och tolkning av resultat kräver dock viss vana av att arbeta med genetiska mjukvaror och statistik.

Metodens begränsning i fält

Provinsamling sker lämpligast i därför avsedda behållare (men är inte nödvändigt). Kan vara svårt att artbestämma provmaterial i fält, vilket leder till onödiga analyskostnader. Analyserna kräver tillgång till laboratorium och särskild utrustning.

Exempel

Frågeställning: Hur många tjurar på Öland är reproduktivt aktiva?

Eftersom en tjur kan betäcka flera kor så kan antalet tjurar i en population i teorin vara lägre än antalet kor utan att populationens reproduktionstakt påverkas negativt. Men sannolikt får antalet tjurar inte bli för lågt. Antalet reproduktivt framgångsrika tjurar i en population är en förvaltningsfråga som inte kan besvaras utan genetiska analyser. För att svara på frågeställningen finns ett par alternativ: 1) frågan kan angripas utanför jaktsäsongen genom insamling av spillning, eller 2) under jaktsäsongen finns möjligheten att ta in vävnadsprover från samtliga älgar som skjuts.

Alternativ 1 (Genetisk analys av spillning)

Om vi väljer att samla in spillning bör vi sträva efter ett insamlingsprotokoll som gör att vi får med så många individer som möjligt. I områden med fler älgar bör insamlingen således vara mer intensiv. Antalet prover skall vara flera gånger större än det förväntade eller kända antalet individer (en del individer kommer således att förekomma med fler än ett prov). Proverna analyseras sedan och genotyp (individens genetiska profil) och kön bestäms. Genom släktskapsanalyser kan ett släkträd över populationen skapas. I detta släkträd kommer en del tjurar att kunna identifieras som fäder till kalvar. En del tjurar kommer där-



FOTO GÖRAN SPONG, SLU

emot att sakna avkomma och en del kalvar kommer inte att ha någon fader. Det senare fallet är givetvis omöjligt och beror på att vi misslyckats med att samla in prov från vissa tjurar. Det föregående fallet kan bero på att tjuren helt enkelt inte lyckats para sig framgångsrikt, men kan också bero på att vi helt enkelt missat att få med någon av tjurens kalvar. Vi ställs därför inför problemet att uppskatta hur många individer vi missat innan vi kan bedöma hur komplett släkträd är. Eftersom vi samlat in mängder av prover så förekommer en del individer i flera prover. Vi kan därför göra en fångst-återfångstanalys av dessa prover för att uppskatta hur stor populationen egentligen är och hur många individer vi därför missat. Denna information kan sedan användas för att stödja släktskapsanalyserna.

Alternativ 2 (Genetisk analys av fällda älgar)

Insamling av vävnad från skjutna älgar har fördelen att vi kan uppskatta ålder (något som är svårt att göra genom spillningsanalys). Eftersom släktskapet mellan förälder och avkomma är symmetriskt går det bara att bestämma vilket av proven som är förälder och vilket som är avkomman om vi lyckats ta prov på båda föräldrarna eller om vi vet vilken individ som är äldst. Nackdelen är att en mindre del av populationen kan genotypas och att det blir svårt att uppskatta hur stor del av populationen som skjutits. Uppskattningen av andelen tjurar som avlat kalvar blir beroende på hur stor del av kalvarna som skjutits. Enkelt uttryckt: om endast hälft-

ten av kalvarna skjutits måste vi korrigera genom att dubbla uppskattningen av antalet tjurar som fortplantat sig. Till skillnad från det föregående alternativet, räcker det inte att använda endast vävnadsprover från skjutna älgar för att svara på vår fråga, utan kompletterande information över andelen skjutna kalvar krävs innan vi kan dra några egentliga slutsatser.

Sammanfattning

Effektiv förvaltning kräver goda kunskaper om den population om skall förvaltas. Att mäta populationsstorlek, reproduktion eller hur en population reagerar på ekologiska förändringar eller jakt är

dock allt annat än enkelt. Flera olika typer av inventeringsmetoder används för närvarande inom älgförvaltningen (spillningsanalys, avskjutningsstatistik). Genetiska metoder har använts i begränsad omfattning. Analyser av DNA kan vara ett mycket effektivt sätt att övervaka populationer och studera processer som annars vore mycket svåra att undersöka. Genetiska data skulle därför utgöra ett mycket viktigt komplement till övriga inventeringsdata. I takt med att genetiska analyser blivit allt enklare att utföra, och kostnaden minskat, har användandet av genetiska metoder inom förvaltning av vilda populationer ökat. Fortfarande krävs dock särskild utrustning, vilket gör att

genetisk övervakning kräver samarbete med ett forsknings- eller uppdragslaboratorium. Trots denna begränsning har DNA flera egenskaper som gör genetiska analyser till ett attraktivt verktyg inom förvaltningen.

En individs DNA (arvsanlag) är resultatet av fortplantning mellan en hane och en hona. Eftersom vi vet hur arvsanlag nedärvs genom generationer kan vi använda denna kunskap för att mäta processer på individ och populationsnivå (t. ex. fortplantningsframgång, spridningsmönster, populationsdynamik, osv.). Arvsanlaget är också unikt (undantaget enäggstvillingar) och beständigt (ofta även efter döden) vilket gör det till ett

utmärkt, och permanent, märke för individigenkänning. Slutligen kan vi utvinna DNA ur en mängd olika källor (t. ex. hår, avföring, vävnad, horn), vilket gör att vi kan samla in material utan att ens behöva hitta djuret.



Kvalitetssäkring av analyser

Eftersom alla mätningar innehåller en viss osäkerhet, är denna alltid viktig att undersöka. Även genetiska data innehåller fel, särskilt om den utvunnits ur material som innehåller små mängder DNA eller föroreningar som stör amplifieringen (t. ex. avföring). Om dessa fel underskattas kan det leda till felaktiga slutsatser (Creel et al. 2003). Genom att köra prov upprepade gånger kan förekomsten av fel bestämmas. Sannolikhetsberäkningar användas sedan för att ta reda på den förväntade fördelningen av fel för att säkerställa att dessa inte leder till genotyper som misstas för att vara unika individer.



Figur 1. Helledragen linje visar fördelningen av antalet felaktiga markörer per individ. Streckad linje anger antalet förväntade skillnader mellan individer.

Ur figuren ovan kan utläsas att antalet fel per individ inte beräknas överskrida sex, och att minst sju skillnader per individ förväntas (även mellan nära släktingar). Detta gör att genotyper från samma individ enkelt identifieras med hög säkerhet även om dom inte överensstämmer perfekt.

Förslag på fördjupnings-/kompletterande läsning

Andersson, A-C, Andersson, S. & Lönn, M. 2007. Genetisk variation hos vilda växter och djur i Sverige: En kunskapsöversikt om svenska arter och populationer, teori och undersökningsmetoder. Naturvårdsverket. ISBN 91-620-5712-X.pdf, ISSN 0282-7298

Danell, K. & Bergström, R. (red). 2010. Vilt, människa, samhälle. Liber. ISBN 978-91-47-09418-9

Creel, S., G. Spong, J. L. Sands, J. Rotella, J. Zeigle, L. Joe, K. M. Murphy and D. Smith (2003). "Population size estimation in Yellowstone wolves with error-prone noninvasive microsatellite genotypes." *Molecular Ecology* 12(7): 2003-2009.

Palsboll, P. J., M. Z. Peery, M. T. Olsen, S. R. Beissinger and M. Berube (2013). "Inferring recent historic abundance from current genetic diversity." *Molecular Ecology* 22(1): 22-40.

Författare

Göran Spong, universitetslektor,
institutionen för vilt, fisk och miljö, SLU, Umeå.
goran.spong@slu.se

■

Ida-Maria Blåhed, fil. dr,
institutionen för vilt, fisk och miljö, SLU, Umeå.
ida-maria.blahed@slu.se

■

Helena Königsson, forskningsingenjör,
institutioner för vilt, fisk och miljö, SLU, Umeå.
helena.konigsson@slu.se