

Wolfs-Monitoring: Änderungen in der DNA-Analyse

Mitteilung, 18.07.2023:

Das Bundesamt für Umwelt beauftragt seit vielen Jahren die Stiftung KORA sowie das Laboratoire de Biologie de la Conservation (LBC) der Universität Lausanne mit der Durchführung des nationalen Monitorings der Grossraubtiere, um die Entwicklung der Wolfsbestände in der Schweiz zu überwachen. KORA arbeitet dabei eng mit den Kantonen zusammen. Um eine einheitliche nationale Koordination zu gewährleisten, werden seit 1998 alle gesammelten genetischen Proben von Wölfen von den Kantonen an KORA geschickt. Dort werden sie in der Datenbank registriert, priorisiert und je nachdem wird ein Teil von ihnen anonymisiert zur Analyse an das LBC weitergeleitet.

Funktionsweise der Analysen

Um Individuen genetisch zu identifizieren, analysiert das LBC die DNA, die in invasiven und nicht-invasiven Proben enthalten ist. Bei genetischen Methoden werden zwei Arten von DNA verwendet, die sich in den Mitochondrien (Organellen im Zytoplasma der Zellen, die für die Energieversorgung der Zellen zuständig sind) und im Zellkern befinden. Die Bestimmung der Art erfolgt zunächst durch die Analyse einer Sequenz, die sich in der mitochondrialen DNA befindet. Anschliessend kann durch die Analyse mehrerer genetischer Marker in der Kern-DNA (sog. Mikrosatelliten) ein individuelles genetisches Profil erstellt werden. Durch die Analyse einer Sequenz, die auf den Geschlechtschromosomen X und Y lokalisiert ist, kann ausserdem das Geschlecht eines Individuums bestimmt werden. Bei der Identifizierung von Individuen anhand von genetischen Profilen (Genotypisierung) gilt: Je mehr genetische Marker bei der Analyse verwendet werden, desto zuverlässiger ist die Bestimmung.

Herausforderungen bei nicht-invasiven DNA-Analysen

Nicht-invasive Proben wie Kot, Urin oder Speichel werden im Feld gesammelt. Sie ersparen das Einfangen oder Beobachten des Tieres und machen den Grossteil der vom KORA erhaltenen Proben aus. Sie stellen in Bezug auf die Qualität und Quantität der vorhandenen DNA eine grosse Herausforderung für die Analyse dar. Nur Speziallabors können diese Analysen durchführen.

Diese Proben liefern oft einen suboptimalen Genotyp, da die DNA in geringer Menge oder häufig schlechter Qualität vorliegt. Gründe dafür können der Abbau der DNA durch Umweltbedingungen wie Feuchtigkeit oder UV-Strahlung sowie die Kontamination mit DNA anderer Arten sein. Darüber hinaus muss bei der Analyse dieser nicht-invasiven Proben die individuelle Genotypisierung mehrmals wiederholt werden, um einen zuverlässigen Genotyp erstellen zu können. Wenn die Genotypisierung mit einer begrenzten Anzahl von genetischen Markern durchgeführt wird, ist die Wahrscheinlichkeit grösser, dass das Ergebnis falsch interpretiert wird. Denn schon ein einziger Marker, der aufgrund seiner schlechten Qualität falsch interpretiert wird, reicht aus, um einen neuen Genotyp und damit ein neues Individuum zu schaffen. Werden hingegen viele Marker in die Analyse einbezogen, wird es statistisch unwahrscheinlich, dass sich zwei Individuen nur in 1 oder 2 genetischen Markern unterscheiden. Folglich ist die Erkennung falsch interpretierter Marker einfacher.

Verbesserung der Methode

Von 1999 bis 2008 wurden 6 genetische Marker vom LBC verwendet. Im Laufe der Zeit konnten die Technologie und die Methode verbessert werden, sodass die Zahl von 2008 bis 2013 auf 8 und danach auf 11 anstieg. Das Jahr 2022 markiert einen grossen Fortschritt in der Analyseverfahren, da

das LBC einen neuen technischen Ansatz, basierend auf der DNA-Sequenzierung der nächsten Generation, entwickelt hat und 22 genetische neue Marker (plus einen Marker für das Geschlecht) verwendet, um die Genotypen der Individuen zu ermitteln.

Aufgrund dieser Veränderungen war es notwendig, die gesamte Datenbank mit individuellen DNA-Profilen (1999-2021) neu zu analysieren, um eine Brücke zwischen dem alten und dem neuen Ansatz zu schlagen. Die erneute Analyse aller in der Vergangenheit identifizierten Wölfe mit der neuen 22-Marker-Methode führte zu einigen Präzisierungen und Korrekturen. Die Erkennung von zufälligen DNA-Mischungen (z. B. zwischen zwei Wölfen oder zwischen Wolf und Fuchs oder zwischen Wolf und Hund) wurde ebenfalls verbessert.

Veränderungen

Änderung der individuellen Identifikationsnummer

Die Erhöhung auf 22 genetische Marker führte in einigen Fällen dazu, dass zwei zuvor unterschiedlich betrachtete Individuen als ein und derselbe Wolf erkannt wurden. Bei anderen machte es der neue Ansatz möglich, ihr Geschlecht genauer zu bestimmen. Infolgedessen mussten die Identifikationsnummern und das Geschlecht einiger Individuen geändert werden.

Änderungen aufgrund der verbesserten Erkennung von DNA-Mischungen

Einige suboptimale Genotypen, die vormals in einer einzelnen Probe nachgewiesen wurden, basierten tatsächlich auf einer DNA-Mischung. Beispielsweise passiert das, wenn ein Hund eine Kotprobe eines Wolfes kontaminiert. Die Individuen, die diesen einzigartigen Genotypen zugeordnet wurden, wurden daher auf Grund von fehlender eindeutiger Zuordnung aus der Datenbank der Schweizer Wölfe entfernt.

Potenzielle zukünftige Verbesserungen

Um eine zuverlässigere Bestimmung der individuellen DNA-Profile zu erreichen, verbessert und adaptiert das LBC laufend die Methoden der Labor- und statistischen Analyse, was sporadisch zu zusätzlichen Präzisierungen führen kann.