



**PRIRUČNIK ZA PRIKUPLJANJE
GENETIČKIH UZORAKA VUKA**

Poštovani,

Veterinarski fakultet u Zagrebu i Hrvatski lovački savez dio su projektnog tima LIFE WILD WOLF koji se provodi u osam zemalja Europske unije (Češka, Grčka, Hrvatska, Italija, Njemačka, Portugal, Slovenija i Švedska).

Cilj projekta je razviti čvrstu osnovu za rješavanje izazova koje donosi pojava smjelih vukova, razvijanjem učinkovitih uputa i postupaka za upravljanje kritičnim situacijama približavanja vukova naseljima i blizini naselja.

Za uspjeh su potrebni dobri podaci, a za njih ste ključni Vi!

Koristit ćemo najsuvremenije genetičke metode za dobivanje traženih rezultata te znanstvenim i vjerodostojnim metodama odgovorili na pitanje kakvo je stanje populacije vuka u Hrvatskoj.

Vaša pomoć je bitna i neprocjenjiva, stoga Vam hvala na sudjelovanju, dio ste ovog projekta!

*Projektni tim Veterinarskog fakulteta i
Hrvatskog lovačkog saveza*



FOND ZA ZAŠTITU OKOLIŠA I
ENERGETSKU UČINKOVITOST

Projekt „LIFE WILD WOLF: Konkretno akcije za očuvanje vukova divljima u antropogenim krajolicima“ sufinanciran je iz LIFE Programa Europske unije. Sadržaj publikacije isključivo odražava stavove i mišljenja autora i projektnog tima i ne predstavlja stavove Europske unije.

SAKUPLJANJE GENETIČKIH UZORAKA VUKOVA

Neinvazivno genetičko uzorkovanje znači prikupljanje uzoraka iz materijala koji životinje ostavljaju u okolišu. Iz uzoraka izmeta možemo odrediti „genski potpis“ svake jedinke neke vrste. Svaki put kada se kasnije pronađe i prikupi izmet neke jedinke znat ćemo pripada li već poznatoj ili novoj jedinki, a moći ćemo je prepoznati i iz uzorka tkiva ako je pronađemo mrtvu. Ovo je najpouzdaniji način prepoznavanja jedinki. Pojedinačno prepoznavanje jedinke neke vrste omogućava određivanje spola, razlikovanje vrste od križanca, utvrđivanje srodstva između jedinki te brojnost i strukturu populacije istraživane vrste.

Za genetičko uzorkovanje najjednostavnije je upotrijebiti izmet čiji se djelić ili bris s površine pohrani u epruvetu za uzorak u samo nekoliko minuta. Za određivanje brojnosti uzorkovanje je potrebno provesti na cijelom području rasprostranjenosti vukova u Republici Hrvatskoj.

Uzorci trebaju biti prikupljeni u istom vremenskom razdoblju s podjednakim naporima na cijelom području rasprostranjenosti vuka. Kako bi bila obuhvaćena trenutna populacija vukova, uz isključenje uzorkovanja jedinki dviju generacija, uzorke je najbolje sakupljati od rujna do kraja travnja. Ako se želi uhvatiti nova gene-

racija ili slijediti promjene u populaciji, uzrokovanje se može provoditi u neprekidnom razdoblju od jedne do najmanje tri godine.

ZAŠTO SUDJELOVATI?

Dobiveni rezultati značajno će utjecati na upravljanje populacijom vuka u Hrvatskoj.

To je prilika da se odredi stanje populacije vuka u Hrvatskoj. Vukovi ne poznaju granice te je stoga važno imati uzorke i iz prekograničnih područja. Poželjno je provesti istodobno uzorkovanje u svim pograničnim/prekograničnim područjima kako bi cijela populacija unutar jedne zemlje bila obuhvaćena.

Sudjelovanjem u praćenju i prikupljanju genetičkih uzoraka iz izmeta vukova imate priliku neposredno sudjelovati u upravljanju populacijom vuka u Hrvatskoj.

UZIMANJE UZORKA IZMETA

Uzimanje uzorka je jednostavno i traje samo nekoliko minuta. Ovdje je ukratko nabrojano šest koraka, koji su dalje u Priručniku opisani detaljnije.

! Za uzorkovanje NE koristiti starije epruvete bez naljepnice s QR-kodom.

1. Određivanje je li pronađeni izmet od vuka ili neke druge životinje (pas, ris)
 - ... uzimaju se samo svježiji uzorci – stari do 5 dana
2. Procjena starosti uzorka
 - ... s površine izmeta
3. Uzimanje uzorka
 - ... s površine izmeta
4. Zapisivanje podataka
 - ... presudno je jer je bez podataka uzorak neupotrebljiv
5. Označavanje ili sklanjanje u stranu ostatka uzorkovanog izmeta
 - ... da isti izmet ne uzorkuje i netko drugi!
6. Slanje prikupljenih uzoraka
 - ... poštom u priloženoj omotnici, što prije!

1. PREPOZNAVANJE IZMETA

IZMET VUKA

Razlikovanje nije uvijek jednostavno. Izmet vuka može biti pun dlake, većinom od jelena, srna ili divljih svinja. Izmet vuka je oblika kobasice i ima prepoznatljiv, jak miris. Ako niste sigurni, svedjedno uzmite uzorak uz napomenu da niste sigurni je li riječ o izmetu vuka! Izmet psa (najčešća zabuna) u pravilu ne sadrži dlake. Ponekad je moguće prepoznati i hranu za pse kao sadržaj izmeta.



Slika 1. Izmet vuka

IZMET RISA

Za prepoznavanje risjeg izmeta u prirodi promatra se veličina, oblik, sadržaj i mjesto gdje se izmet nalazi. Promjer je 2 – 2,5 cm (rijetko veći). Oblik je uglavnom povezan u jednu „kobasicu“ ili u više dijelova s tupim krajevima. Risji izmet često sadrži dlaku pojedenog plijena, ali u manjoj količini od vučjeg izmeta. Može još sadržavati komadiće kosti ili vlati trave. Ne sadrži hranu ljudskog porijekla. Ris zakapa izmet slično domaćoj mački, ali to nije pravilo, osobito kod starijih jedinki. Ako je izmet pronađen na izrazito vidljivom mjestu (sredina puta, križanje cesta), to nas upućuje da NE potječe od risa, nego od neke druge vrste (vuk, lisica). Ris često ostavlja izmet uz veće kamenje, cjepanice ili debla.



Slika 2. Izmet risa

IZMET PSA

Veličina, boja, sastav i oblik ovisi o prehrani životinje. Izmet velikog psa veličinom je sličan izmetu odraslog vuka, ali je ujednačenije teksture i oblika, dok vučji izmet sadrži vidljive dlake ili fragmente kostiju. Miris izmeta pasa hranjenih uobičajenom psećom hranom uvijekbana osoba može razlikovati od mirisa izmeta vuka s jako velikom točnošću.



Slika 3. Izmet psa

2. PROCJENA STAROSTI IZMETA

Procjena starosti izmeta važna je jer utječe na kvalitetu DNK i uspješnost analize. Prikupljaju se uzorci svježih izmeta, tj. onih koji odaju miris. Sakupljanje suhih i ispranih izmeta nije potrebno.

Procjena starosti izmeta nikad nije posve točna, izgled izmeta ovisi o vremenskim uvjetima i sadržaju. Procjena starosti je od velike pomoći pri analizi.

Nekoliko savjeta za određivanje starosti izmeta:

Svjež izmet na prvi pogled izgleda svjež. Ima intenzivan i neugodan miris zbog prehrane mesom. Površina je vlažna i često manje ili više sluzava. U unutrašnjosti može sadržavati komadiće kostiju i dlake.

Srednje star izmet još izgleda svjež. Miris je manje intenzivan, ali je i dalje svojstven mirisu vučjeg izmeta. Mogu biti prisutni kukci iz okoline (kotrljan, balegar) čiji je način života vezan uz izmet. Nakon nekoliko dana mogu se naći i ličinke kukaca (obično izgledaju poput bijelih „crva“). Izmet nakon tri do četiri dana više nije sluzav. Ako je vrijeme suho i vruće, a izmet izložen suncu, moguće je da je već nakon jednog dana suh, no još će imati nešto mirisa. **Suh izmet nipošto ne treba mirisati jer se udisanjem prašine izmeta čovjek može zaraziti malom pasjom trakavicom.**

Star izmet nema miris i nije nimalo sluzav. Ponešto kukaca i ličinki može biti prisutno, no često iza njih ostaju rupe i „tuneli“. Obično je takav izmet suh, ali može ga i namočiti kiša. Vrlo stari izmeti imaju miris po zemlji.

Stari izmeti se ne prikupljaju!

3. UZIMANJE UZORKA

- Upotrijebite štapić i epruvetu od 2 ml koja se nalazi u kompletu za uzimanje uzorka.
- Uzmite uzorak s površine izmeta, ako je moguće s dijela koji nije u kontaktu s tlom. Taj dio izmeta prvi se suši, čime se čuva DNK. Ako vidite kraj izmeta (stožasti „čuperak“ ili „rep“ koji strši s jednog kraja), trebali biste pokušati uzeti uzorak s tog dijela izmeta.
- Ako je uzorak bio izložen jakoj kiši, pokušajte uzeti uzorak s najmanje izloženog dijela.
- Ako na uzorku ima sluzi, pokušajte je uzeti jer sadrži više ciljnog DNK.

- Upotrijebite štapić trljajući površinu izmeta, pa-
zeći da materijal izmeta prianja na vatu štapića:
vata treba biti uprljana! Ako je izmet suh ili smr-
znut, namočite vatu štapića u tekućinu u epruveti
prije nego što počnete trljati. Učinite to tri puta.



Slika 4. Pribor za uzimanje uzorka izmeta za genetičku analizu: Epruveta sa 2ml konzervansa, štapić za uzimanje brisa, plastična vrećica sa naljepnicom za podatke o uzorku



Slika 5. Štapić za bris dobro utrljati u zašiljeni kraj izmeta tako da se vrh štapića vidljivo „uprlja“.



Slika 6. Vrh štapića s brisom umetnuti u epruvetu.

- Stavite štapić u epruvetu koja sadrži pufer za konzerviranje i odvojite ga od drške jednostavnim pritiskom na bočnu stranu epruvete. Čvrsto zatvorite.



Slika 7. Plastični štapić prelomiti preko ruba epruvete tako da samo dio sa brisom ostane u epruveti.

Slika 8. Epruvetu dobro zatvoriti i umetnuti u plastičnu vrećicu, a na naljepnicu napisati podatke o uzorku.

4. ZAPISIVANJE PODATAKA

Podatke zabilježite na naljepnicu vrećice za epruvete. Nakon uzimanja uzorka, epruvetu vratite u vrećicu. Ako koristite mobilnu aplikaciju **SMART**, dovoljno je kamerom mobilnog uređaja očitati **QR-kod** na epruveti, a sve ostale podatke upisati u polja mobilne aplikacije SMART.

Potrebni podaci:

- **Oznaka uzorka** na nalijepljenom obrascu „Inicijali nalaznika, godina, mjesec, dan, sat, minuta (sve bez razmaka, npr. NV202309101345).
- **Datum** nalaska uzorka
- **Ime i prezime** tragača uzorka te kontakt-podaci (email ili mobitel) za dostavu povratnih informacija tragaču
- **Naziv područja** (lovišta ili zaštićenog područja gdje je pronađen uzorak)
- **Lokacija** nalaska uzorka s koordinatama; pametni telefon može očitati koordinate ili klasični GPS-uređaj; SMART-aplikacija za pametne telefone automatski sprema koordinate
- **Procjena starosti** uzorka – zaokružiti procijenjenu starost uzorka
- **Napomena** – zapisati sve što se čini korisnim ili ako Vas nešto u vezi s uzorkom posebno zanima
- **Tip uzorka** – zanimaju nas i ostali uzorci vuka (tkivo, dlaka); ako pronađete takav uzorak, skupite ga i označite u odgovarajućem polju.

5. OZNAČAVANJE ILI UKLANJANJE UZORKOVANOG IZMETA

Uklanjanje ili označavanje ostatka uzrokovanog izmeta - ako je izmet na cesti, lako ga s pomoću grančice ili kamena uklonimo.

6. SLANJE UZORAKA

Nakon uzimanja, uzorak čuvajte na hladnom i tamnom mjestu. Ne ostavljajte ga u automobilu na suncu! Uzorak čim prije pošaljite poštom kako bi što prije stigao u laboratorij! Ako odjednom prikupite više uzoraka, možete ih poslati zajedno, ali ne stavljajte više od dva uzorka u jednu omotnicu. Uzorci se šalju običnom poštom, a poštarina je već plaćena tako da ne morate lijepiti poštanske marke.

PRISTUP REZULTATIMA

Svi uzorci bit će objedinjeni i analizirani, a podaci i rezultati analiza bit će dostupni svim tragačima i ostalim zainteresiranima nakon obrade i analize uzoraka na mrežnim stranicama projekta LIFE WILD WOLF i partnera (HLS, VEF). Ime i prezime tragača te kontakt-podaci (email ili mobitel) koji su zabilježeni na naljepnicu

vrećice za epruvete ili u mobilnoj aplikaciji SMART korisit će se za dostavu povratnih informacija tragaču.

Koordinatori prikupljanja uzoraka u okviru ovog projekta surađuju s koordinatorima Nacionalnog programa praćenja populacije vuka.

KONTAKTI

Koordinatori za projekt LIFE WILD WOLF, tim Tragača i Interventni tim za vuka i risa u RH

E-mail za upite o sakupljanju uzoraka i dostavi podataka, regionalnim koordinatorima i dostavi drugih podataka o velikim zvijerima - monitoring@hls.com.hr.

U slučaju poteškoća ili pitanja slobodno nas kontaktirajte elektroničkom poštom ili nazovite:

Hrvatski lovački savez – Neška Vukšić Končevski
monitoring@hls.com.hr; +385994386223

Veterinarski fakultet – Slaven Reljić
sreljic@vef.unizg.hr; +385915846114

Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja,
Zavod za zaštitu okoliša i prirode – Jasna Jeremić
jasna.jeremic@mingor.hr; +385 01 5502 921; +385916106448

Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja,
Uprava za zaštitu prirode – Lucija Urli
lucija.urli@mingor.hr; +385 01 4866 132

PODSJETNIK

Pronalazak stradalih jedinki vuka i risa, neuobičajene i hitne situacije potrebno je prijaviti izravno na kontakte članova Interventnog tima za vuka i risa u RH navedene na stranici Ministarstva gospodarstva i održivog razvoja.

UPOZORENJE!

Tekućina za pohranu uzoraka izmeta koja se nalazi u epruvetama nije otrovna, ali je štetna po zdravlje ako se proguta te je nadražujuća. Čuvajte ih dalje od dohvata djece!

Pri uzimanju uzorka izmeta obavezno koristite jednokratne rukavice. Izbjegavajte dodirivanje izmeta i mirisanje suhog izmeta. Suh izmet nipošto ne mirisati jer se udisanjem prašine izmeta čovjek može zaraziti malom pasjom trakavicom.

Priručnik je izrađen tijekom projekta „Razvoj sustava praćenja stanja vrsta i stanišnih tipova od interesa za EU“ (KK.06.5.1.03.0001) u okviru komponente „Izrada i razvoj programa praćenja za velike zvijeri s jačanjem kapaciteta dionika sustava praćenja i izvješćivanja“. Ova je verzija priručnika nadopunjena i prilagođena za potrebe provedbe projekta „LIFE WILD WOLF: Konkretno akcije za očuvanje vukova divljima u antropogenim krajolicima“.

IMPRESSUM

Naslov: Priručnik za prikupljanje genetičkih uzoraka vuka

Autori priručnika: Tomaž Skrbinšek, Slaven Reljić, Josip Kusak, Dário Hipólito, Neška Vukšić Končevski i Andrea Solić

Lektorica: Iva Borković

Dizajn znaka „Tragača“: Božica Križan

Fotografije: Josip Kusak, Slaven Reljić, Iva Štefan i Dário Hipólito

Nakladnik: Hrvatski lovački savez

Grafička obrada i prijelom: Dragutin Očić

Tisak: Tiskara Zelina, Sveti Ivan Zelina

Mjesto izdavanja: Zagreb

Naklada: 2000 primjeraka

Godina: 2023.

ISBN

Priručnik je besplatan



KONTROLNI POPIS ZA SAKUPLJANJE UZORAKA

1. Izmet se **čini dovoljno svježim**.
2. Jasno je da nitko nije već uzeo uzorak.
3. Uzorak veličine jezgre lješnjaka **uzet je s površine izmeta**, s dijela koji nije bio u doticaju s tlom.
4. Izmet je **uklonjen ili označen** kamenom, grančicom ili štapićima.
5. Na naljepnici vrećice s uzorkom **zabilježeni su svi potrebni podaci ili su podaci upisani u mobilnu aplikaciju**.
6. Uzorak zajedno s vrećicom je stavljen u omotnicu i **ubačen u poštanski sandučić (poštarina je plaćena unaprijed)**.

