



Animal &  
Plant Health  
Agency

Asiantaeth  
Iechyd Anifeiliaid  
a Phlanhigion

# **Amcangyfrif o niferoedd a chasglu tystiolaeth am newid i boblogaeth moch daear, yn sgil ymyriadau trapio a chynnal profion ar ffermydd yng Nghymru**

Adroddiad Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a  
Phlanhigion i Llywodraeth Cymru

Prosiect TBOG0235

(Blwyddyn 1)

**CYFRINACHOL**

Mae'r Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion yn un o Asiantaethau Gweithredol Adran yr Amgylchedd, Bwyd a Materion Gwledig sy'n gweithio i ddiogelu iechyd anifeiliaid a phlanhigion er budd pobl, yr amgylchedd a'r economi.

The Animal and Plant Health Agency is an Executive Agency of the Department for Environment, Food and Rural Affairs working to safeguard animal and plant health for the benefit of people, the environment and the economy.

## **SWYDDOGOL SENSITIF**

**Adroddiad Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion: Amcangyfrif o niferoedd a chasglu tystiolaeth am newid yn y boblogaeth moch daear, yn sgil ymyriadau trapio a chynnal profion ar ffermydd yng Nghymru.**

**Adroddiad ar gyfer prosiect TBOG0235 (Blwyddyn 1)**

### **Crynodeb Gweithredol**

- Diben y gwaith hwn oedd amcangyfrif cyfran y boblogaeth darged o foch daear a drapiwyd ar bob fferm a cheisio canfod unrhyw arwyddion o aflonyddu a gwasgaru cymdeithasol sy'n deillio o'r mân ymyriadau hyn.
- Cyfyngwyd ar y dewis o ddulliau a oedd ar gael gan yr angen i gyfyngu'r holl weithgareddau maes i'r fferm darged, ac felly roedd y data a gasglwyd yn canolbwyntio ar enoteipio samplau blew o drapiau blew a moch daear a ddaliwyd.
- Llwyddwyd i echdynnu proffiliau genetig y gellid eu defnyddio o 34% o'r samplau blew a gasglwyd o bell o drapiau blew (104, 66 a 40 ar ffermydd A, B ac C).
- Llwyddwyd i echdynnu proffiliau genetig defnyddiadwy o 78% o'r samplau blew o foch daear a drapiwyd (15, 10 a 6 ar ffermydd A, B ac C).
- Mae'r canlyniadau yn awgrymu mai'r effeithlonrwydd trapio ar y tair fferm oedd 38%, 55% a 50%.
- Ar hyn o bryd, nid yw'n bosibl dod i unrhyw gasgliadau am aflonyddu a gwasgaru cymdeithasol. Fodd bynnag, dylai'r tebygolrwydd y bydd unrhyw dueddiadau arwyddocaol yn cael eu canfod gynyddu os gellir casglu digon o samplau o drapiau blew o bob fferm, ac wrth i nifer y ffermydd yn yr astudiaeth gynyddu yn y dyfodol.

## 1. Crynodeb

Yn rhan o gynllun dileu TB Llywodraeth Cymru 2017, dechreuwyd ar raglen waith ar ffermydd dethol ag achosion cyson o TB. Roedd hyn yn golygu trapio, profi a chael gwared ar foch daear a brofwyd yn gadarnhaol (*Meles meles*). Ar yr un pryd, cynhaliwyd gwaith i amcangyfrif cyfran y moch daear a drapiwyd ac y gwnaed profion arnynt ar bob fferm, ac i geisio ymchwilio i arwyddion o aflonyddu a gwasgaru cymdeithasol yn sgil ymyriadau.

Defnyddiwyd dull sefydliedig o 'baru samplau o drapiau', sy'n golygu paru moch daear unigol a ddaliwyd â sampl a oedd yn cynrychioli'r boblogaeth gefndirol ar sail eu hunaniaethau genetig. Sefydlwyd y sampl cefndir drwy enoteipio blew a ddaliwyd drwy ddefnyddio trapiau blew weiren bigog mewn brochfeydd a rhedfeydd moch daear. Sefydlwyd y boblogaeth a drapiwyd drwy enoteipio blew a dynnwyd oddi ar anifeiliaid a ddaliwyd. Mae canran y moch daear yn y samplau cefndir sydd hefyd wedi eu trapio mewn cewyll yn rhoi amcangyfrif o ganran y boblogaeth gyfan o foch daear a ddaliwyd ac y gwnaed profion arnynt.

Cynhaliwyd un ymyriad ar bob un o'r tair fferm yn 2017. Roedd pob ymyriad yn cynnwys cyfnod o 14 diwrnod o drapio blew o bell a ddilynwyd gan drapio mewn cewyll, ac yna cyfnod o 14 diwrnod arall o drapio blew o bell. Cafodd cyfanswm o 210 o samplau blew a gasglwyd o drapiau blew eu genoteipio a'u defnyddio ar gyfer paru samplau o drapiau (104, 66 a 40 o ffermydd A, B ac C yn y drefn honno). Mae hyn yn cyfateb i gyfradd genoteipio llwyddiannus o 34%. Cafodd cyfanswm o 31 o samplau blew o foch daear a drapiwyd mewn cewyll (15, 10 a 6 o samplau blew o Ffermydd A, B ac C) eu genoteipio'n llwyddiannus a'u defnyddio ar gyfer paru samplau o drapiau, sy'n cyfateb i gyfradd genoteipio llwyddiannus o 78%.

Cynhaliwyd paru samplau o drapiau yn seiliedig ar gyfatebiaeth union ar gyfer 16 allan o 18 alelau posibl. Nodwyd cyfanswm o 34, 16 ac 11 o enoteipiau unigryw ar Ffermydd A, B ac C yn y drefn honno ac roedd 13, 8 a 6 ohonynt yn cynnwys anifeiliaid a drapiwyd mewn cewyll. Mae'r amcangyfrifon hyn yn awgrymu llwyddiant trapio mewn cewyll o 38%, 55% a 50% ar y tair fferm.

Defnyddiwyd meini prawf cyfyng i ddsbarthu genoteipiau fel rhai sy'n ddefnyddiol ar gyfer dadansoddiad, gan arwain at eithrio 64% o'r samplau. Er mwyn gwella'r dadansoddiad presennol, mae angen cwblhau dau gam gweithredu. Yn gyntaf, mae angen ailasesu'r allbwn o'r genoteipiau sy'n anghyson, ac yn ail, os yw'r ailasesiadau'n parhau i fod yn anghyson, mae angen cynnal ailasesiadau PCR ychwanegol.

Mae'r dadansoddiad cychwynnol yn dangos bod nifer y genoteipiau unigryw a nodwyd ar ffermydd yn llawer mwy cyn ymyrryd nag ar ôl ymyrryd. Yn y cyfnod ar ôl ymyriad, nodwyd proffiliau unigryw newydd ar ddwy o'r tair fferm. Dim ond trwy gynnal gwaith monitro ychwanegol dros nifer o flynyddoedd ac ar sampl mwy o ran maint y ffermydd y gellir ymchwilio i ddangosyddion newidiadau mewn symudiadau neu berthnasedd moch daear.

## 2. Cyflwyniad

Yn 2017, yn sgil ymgynghoriad cyhoeddus, cyhoeddodd Llywodraeth Cymru ei Rhaglen Dileu twbercwlosis (TB) buchol yng Nghymru a'i Chynllun Cyflawni cysylltiedig ar gyfer Rhaglen Dileu TB Cymru (Llywodraeth Cymru 2017). Mae Cynllun Cyflawni Llywodraeth Cymru yn nodi: “Fel rhan o'r broses Cynllun Gweithredu barhaus, os yw Llywodraeth Cymru yn credu bod moch daear yn cyfrannu at barhad y clefyd mewn buchesi TB cronig, bydd moch daear yn cael eu dal a'u profi ar ffermydd sydd ag achosion o TB, a bydd moch daear sy'n cael eu profi'n gadarnhaol yn cael eu lladd heb greulondeb. Canolbwyntir ar achosion TB parhaus yn y lle cyntaf”. Mae'r Cynllun Cyflawni hefyd yn nodi y “bydd Llywodraeth Cymru yn parhau i asesu'r defnydd mwyaf priodol o'r brechlyn BCG ar gyfer moch daear os a phryd y bydd y brechlyn ar gael”..

Cafodd Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion y dasg gan Lywodraeth Cymru o ddatblygu rhaglen waith i weithredu'r cynigion hyn drwy drapio, cynnal profion a chael gwared ar foch daear sy'n profi'n gadarnhaol ar ffermydd sydd ag achosion cyson o TB. Yn rhan o'r gwaith, dechreuwyd ar waith ymchwil i amcangyfrif cyfran y moch daear sy'n cael eu trapio a'u profi ar bob fferm, ac i gasglu data i ymchwilio i dystiolaeth o aflonyddu a gwasgaru cymdeithasol ymysg poblogaethau moch daear cyn ac ar ôl ymyrryd.

Ystyriwyd nifer o fethodolegau gwahanol at y diben hwn. Ymchwiliwyd i newidiadau yn nhrefniadaeth ofodol moch daear gan ddefnyddio dulliau olrhain drwy radio (e.e. Tuytens et al. 2000) a marcio abwyd (e.e. Cheeseman et al., 1993). Er hynny, nid yw'r dulliau hyn yn ymarferol yn yr astudiaeth hon oherwydd na chaniatawyd mynediad i'r tir o amgylch ffermydd yr astudiaeth (sy'n angenrheidiol i olrhain symudiadau anifeiliaid neu i fapio abwyd a ddychwelwyd). O ystyried y cyfyngiad hwn, roedd yr unig fethodoleg y gellid ei chynnal o fewn ffiniau fferm yn golygu casglu samplau o flew moch daear yn uniongyrchol oddi ar anifeiliaid a drapiwyd, neu o bell gan ddefnyddio dyfeisiadau trapio blew a osodwyd o amgylch brochfeydd ac ar hyd rhedfeydd. Cafodd y blew ei enoteipio, a defnyddiwyd y data i wahaniaethu rhwng anifeiliaid unigol, gan ddilyn Frantz *et al.* (2004). Defnyddiwyd yr un fethodoleg yn flaenorol i gynhyrchu amcangyfrifon o ganran y moch daear a gafodd eu difa wrth ddifa moch daear o dan arweiniad y diwydiant yn 2013 yn Lloegr (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Labordai Milfeddygol 2014) ac i amcangyfrif canran y moch daear a frechwyd yng Nghymru yn 2015 (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion 2017). Yn yr astudiaeth bresennol, ein nod yw ymchwilio i'r ddau gwestiwn canlynol:

- Pa gyfran o foch daear sy'n defnyddio'r fferm sy'n cael eu trapio a'u profi'n llwyddiannus? Bydd unrhyw ymyriad sy'n seiliedig ar drapio â chyfran effeithlonrwydd trapio sy'n llai na 100%, gan adael cyfran o anifeiliaid heb eu trapio. Gellir genoteipio blew o drapiau blew o bell ac o foch daear a drapiwyd i amcangyfrif cyfran y moch daear sy'n defnyddio tir y fferm sydd wedi eu dal a'u profi yn ystod y gwaith trapio dilyniannol.
- A fydd yr ymyriadau'n achosi aflonyddu a gwasgaru? Ceir dystiolaeth gymhellol y gall y broses o ddifa anifeiliaid achosi aflonyddu a gwasgaru cymdeithasol ymysg poblogaethau moch daear (gweler Carter *et al.* 2007). Ond prin yw'r wybodaeth sydd gennym ynghylch graddau unrhyw ymateb o'r fath pan ddilëir lefelau isel iawn o foch daear, neu sut y mae'r ffenomen yn edrych ar raddfa

leol. Trwy enoteipio samplau blew o anifeiliaid sydd wedi eu trapio neu o anifeiliaid y trapiwyd eu blew, gallwn geisio mesur newidiadau sy'n ymwneud ag aflonyddu a gwasgaru neu berthnasedd (gweler Pope *et al.* 2007). Ni roddwyd cynnig ar ddefnyddio'r dull hwn o geisio nodi aflonyddu a gwasgaru cymdeithasol ar lefel fferm o'r blaen ac mae hynny'n ddibynnol ar sicrhau bod digon o samplau ar gael (niferoedd y samplau blew) o ffermydd unigol, er y disgwylir i'r tebygolrwydd o ganfod ymatebion cyson (os ydynt yn bodoli) gynyddu wrth i nifer y ffermydd sy'n gysylltiedig â hyn gynyddu. Mae'r mân waith ymyrryd (nifer y ffermydd a/neu nifer y moch daear) yn parhau i fod yn her sylweddol o ran ateb y cwetiwn a yw'n debygol bod aflonyddu a gwasgaru'n ganlyniad cyson i'r ymyriadau lleol.

### **3. Dull**

#### **3.1 Dull cyffredinol**

Mae paru samplau o drapiau yn golygu paru moch daear unigol a drapiwyd â sampl gynrychioliadol o'r niferoedd cefndirol ar sail eu hunaniaethau genetig. Sefydlir y sampl cefndir drwy enoteipio blew a ddaliwyd drwy ddefnyddio trapiau blew weiren bigog mewn brochfeydd a rhedfeydd. Sefydlir y nifer a drapiwyd drwy enoteipio blew a dynnwyd oddi ar bob anifail a ddaliwyd. Mae canran y moch daear yn y samplau cefndir sydd hefyd wedi eu trapio mewn cewyll yn rhoi amcangyfrif o ganran niferoedd cyfan y moch daear a ddaliwyd ac a brofwyd.

Mae newidiadau yn y genoteipiau unigryw (h.y. moch daear unigryw) sy'n defnyddio'r fferm, a newidiadau i radd perthynas genetig moch daear unigol ar fferm benodol yn ddangosyddion posibl o aflonyddu a gwasgaru cymdeithasol ymhlith moch daear yn sgil ymyriadau.

#### **3.2 Casglu blew**

Nodwyd tair fferm ar gyfer ymyriadau cychwynnol gan Lywodraeth Cymru mewn cysylltiad â staff maes milfeddygol Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion. Cynhaliwyd un ymyriad ar bob fferm rhwng mis Awst a mis Tachwedd 2017. Cymerodd oddeutu 8 i 9 wythnos i gwblhau pob ymyriad, o'r arolwg cychwynnol o weithgarwch y moch daear hyd at ddiwedd y gwaith monitro yn sgil yr ymyriad. Adroddir ar fanylion canlyniadau a methodoleg yr ymyriad mewn manau eraill (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion 2018).

Yn gryno, roedd pob ymyriad yn cynnwys:

- Arolwg o weithgarwch moch daear.
- Trapio blew cyn eu trin er mwyn cael amcangyfrif o niferoedd.
- Trapio moch daear mewn cewyll a samplu.
- Trapio blew ar ôl triniaeth er mwyn monitro unrhyw dystiolaeth o aflonyddu a gwasgaru cymdeithasol.

Arolygwyd gweithgarwch moch daear ar bob fferm gan staff maes profiadol. Yn sgil arolygon ar weithgarwch moch daear, gosodwyd trapiau blew am 14 diwrnod cyn defnyddio trapiau cawell. Defnyddiwyd trapiau blew ar redfeydd moch daear, yn y brochfeydd ac mewn manau eraill ar y fferm. Mae trapiau blew yn cynnwys llinynnau o weiren bigog wedi eu hongian ar draws mynedfeydd brochfeydd a/neu redfeydd moch daear gerllaw, gan ddefnyddio nodweddion naturiol os oedd modd neu bolion pren os oes angen. Labelwyd pob trap blew â dynodwr unigryw, gan ei archwilio ar ddiwedd pob cyfnod o 14 diwrnod. Cafodd yr holl flew a ganfuwyd ar bob trap blew ar bob ymweliad ei gasglu mewn bag â chod bar arno ynghyd â bag bach o sychwr. Os trapiwyd blew ar wifrau pigog lluosog o'r un trap, yna defnyddiwyd bagiau bach ar wahân ar gyfer pob weiren bigog. Amgaewyd y bagiau hyn i gyd mewn bag mwy ag un cod bar arno. Felly, roedd cynnwys pob bag mwy â chod bar arno

yn cynrychioli cyfuniad o samplau ar ddiwrnod trapio blew penodol. Ar ôl casglu samplau, cafodd trapiau blew eu diheintio drwy ddod i gysylltiad byr â fflam noeth.

Yn sgil trapio blew, lleolwyd trapiau cawell mewn manau lle'r oedd y gweithgarwch mwyaf o foch daear. Roddwyd abwyd (cnau daear) ymlaen llaw yn y trapiau cawell am 8 i 10 diwrnod ar bob fferm cyn eu gosod i drapio am 2 i 4 diwrnod. Cymerwyd oddeutu 10 blewyn o grwper pob mochyn daear a drapiwyd. Casglwyd y blew mewn bag â chod bar arno ynghyd â bag bach o sychwr.

Ar ôl y trapio mewn cewyll, cafodd y trapiau blew eu hailosod yn yr un lleoliadau ag o'r blaen, a chasglwyd blew bob dydd am 14 diwrnod arall, cyn eu hanfon i'r labordy i gael dadansoddiad genoteip.

### 3.3. Genoteipio

Cafodd DNA ei dynnu o'r blew gan ddefnyddio daliant o resin chelex (Frantz *et al.* 2004) gan ddefnyddio'r pecyn Qiagen DNeasy® Blood and Tissue. Ar gyfer samplau blew a dynnwyd yn uniongyrchol oddi ar fochyn daear, dewiswyd deg blewyn o bob bag o samplau â chod bar arno. Ar gyfer samplau a gasglwyd o drap blew, dewiswyd un blewyn i'w ddadansoddi o bob bag sampl â chod bar arno. Dewiswyd un sampl oherwydd ei bod yn debygol y gallai'r blew ar drap blew gynnwys blew oddi ar fwy nag un anifail unigol, a phe bai'r holl anifeiliaid unigol hyn yn rhan o'r blew a ddewiswyd i'w dadansoddi, yna gallai hyn arwain at broffil genetig cymysg. Roedd y broses o ddewis blew yn seiliedig ar faint y ffoligl, sef ffynhonnell y DNA. Ar gyfer samplau o drapiau blew, casglwyd blew oddi ar wahanol wifrau pigog yn yr un trap i mewn i fagiau sampl bach â chod bar arnynt. Felly, dadansoddwyd blew o'r un trap ar yr un diwrnod os oeddent eu casglu oddi ar wahanol wifrau pigog ar y trap.

Cafwyd proffiliau genetig drwy helaethu deg microloeren (*Mel-103, Mel-104, Mel-105, Mel-107, Mel-110, Mel-113, Mel-114, Mel-115, Mel-116, Mel-117*; (Carpenter *et al.* 2003). Canfuwyd tameidiau o ficroloerennau ar Ddadansoddwr Genetig 3730xl Biosystemau Cymhwysol a chawsant eu dadansoddi a'u trefnu gan ddefnyddio Meddalwedd GeneMapper® (Fersiwn 5).

### 3.4 Rheoli ansawdd data

Mae genoteipio microloeren yn dueddol i fod yn wallus (e.e. Hoffman ac Amos 2005), yn enwedig pan fo proffiliau yn cael eu chwyddo a'u sgorio o samplau DNA o ansawdd gwael. Mae gwaith blaenorol, er enghraifft, yn amcangyfrif cyfradd wallus o 31% ar gyfer samplau blew (Gagneux *et al.* (1997). Gweler Jones a Conyers (2019) am esboniad pellach. Mewn ymgais i leihau cyfradd y gwallau yn yr astudiaeth bresennol cymerwyd y camau canlynol.

- Cafodd proffiliau DNA eu haildrodd sawl gwaith. Mae gwaith blaenorol (e.e. Taberlet a Luikart, 1999) yn argymhell ailadrodd pob sampl saith gwaith, ac mae ymchwilwyr eraill (e.e. Huck *et al.*, 2008) yn ailadrodd y broses o enoteipio nes y ceir yr un alel o leiaf ddwywaith ar gyfer unigolyn heterosygaid, neu saith gwaith ar gyfer unigolyn homosygaid. Defnyddiwyd dull mwy pragmatig mewn astudiaeth debyg (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Labordai Milfeddygol 2014), lle cafodd pob sampl ei enoteipio o leiaf ddwywaith a hyd at chwe gwaith, a hwn yw'r dull a fabwysiadwyd ar gyfer yr astudiaeth bresennol.

- Cafodd galwadau alel a oedd wedi eu hawtomeiddio, a wnaed yn GeneMapper®, eu gwirio gan ddau weithredwr. Roedd hyn yn cynnwys archwiliad gweledol sampl o electrofferogramau, sef cynrychioliad graffigol o'r DNA sydd wedi ei chwyddo a'i ddefnyddio i ganfod y genoteip. Roedd galwadau alel yn dilyn rheolau'r Trefniadau Gweithredu Safonol (Asiantaeth Ymchwil Bwyd a'r Amgylchedd 2019). Pennwyd y dynodiad alel terfynol drwy gonsensws rhwng y gweithredwyr.
- Cafodd microloeren *Mel-116* ei hepgor o'r dadansoddiadau gan fod gwaith blaenorol yn dangos y gall neilltuo sgôr iddi fod yn annibynadwy (Huck *et al.* 2008 ac yn; Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Labordai Milfeddygol 2014), ac yn sgil asesiad is-set o'n data ni, argymhellodd Jones a Conyers (2019) y dylid ei heithrio o'n dadansoddiad.
- Cymharwyd pob un o'r proffiliau genoteip, a barnwyd y gellid defnyddio'r genoteip pe bai'r meini prawf canlynol yn cael eu bodloni:
  - Bod y broses genoteipio wedi ei hailadrodd nes i'r un alelau gael eu gweld o leiaf ddwywaith ar gyfer unigolyn heterosygaid, neu mewn tri ailasesiad PCR ar gyfer unigolyn homosygaid (Jones a Conyers 2019).
  - Bod proffil genoteip wedi ei gyflawni (h.y. cafodd 9 marciwr eu genoteipio'n llwyddiannus). Mewn dadansoddiad tebyg o flew moch daear, gwrthodwyd proffiliau pan nad oedd sgôr alel gan un marciwr neu fwy. Mae dau neu fwy o farcwyr sydd ar goll yn debygol o leihau gwerthoedd Pident (y tebygolrwydd y bydd dau fochyn daear yn union yr un fath ym mhob locus sydd wedi ei enoteipio) a Psib (y tebygolrwydd y bydd dau frawd neu chwaer yn union yr un fath ym mhob locws sydd wedi ei enoteipio) islaw'r trothwy derbyniol, gan godi'r tebygolrwydd o nodi dau sampl yn anghywir fel rhai sy'n dod o'r un unigolyn.
- Yn olaf, fel yr argymhellwyd gan Jones a Conyers (2019), profwyd data ar gyfer alelau nwl gan ddefnyddio rhaglen CERVUS (Marshall *et al.* 1998). Alel nwl yw unrhyw alel na all gael ei ganfod gan y prawf a ddefnyddir i enoteipio unigolion mewn locws penodol (Atodiad 1) a dylid ei eithrio o rai mathau o ddadansoddiadau genetig. Defnyddiwyd CERVUS hefyd i fesur pa mor heterosygaid oedd data genoteipio pob fferm gan y gellir ei ddefnyddio i fesur amrywiaeth locws: mae locus â lefelau heterosygaid isel yn rhoi llai o wybodaeth ar gyfer nodi proffiliau unigryw.

### 3.5 Paru samplau o drapiau

Cafodd proffiliau genetig moch daear a drapiwyd eu paru â'r boblogaeth moch daear y trapiwyd eu blew er mwyn amcangyfrif canran y moch daear a gafodd eu dal. Gwnaed y gwaith paru gan ddefnyddio pecyn ystadegol Allelematch (Galpern *et al.* 2012), a weithredwyd yn R3.3.2 (R development Core Team 2018). Parwyd samplau ar gyfer naw locws; gollyngwyd *Mel-116* o'r dadansoddiad. Neilltuwyd proffiliau a oedd yn wahanol i'w gilydd gan ddau gellwyriad (h.y. 16 o'r 18 alel posibl yn cyfateb) i'r un unigolyn (Atodiad 2).

Cyfrifwyd cyfraddau gwallau o'r data i gyfrif am gyfraddau cadarnhaol anghywir (paru samplau o wahanol anifeiliaid) a chyfraddau negyddol anghywir (dau sampl genetig yn methu â chyfateb er eu bod yn dod o'r un unigolyn).

Defnyddiwyd cyfraddau gwallau i addasu'r nifer crai o enoteipiau a barwyd er mwyn cynhyrchu amcangyfrifon terfynol o ganran y moch daear a drapiwyd ac a brofwyd (Atodiad 3). Gan fod ein cyfraddau gwallau a gyfrifwyd yn seiliedig ar sampl bach o ran maint, penderfynwyd defnyddio cyfraddau gwallau a gyhoeddwyd mewn sampl o faint mwy i

amcangyfrif cyfnodau hyder. Cafwyd y cyfraddau gwallau gan Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion (2017). Dangosodd yr astudiaeth hon fod genoteipio yn aflwyddiannus ar gyfer 51 allan o 1118 o samplau blew moch daear a drapiwyd mewn cewyll, gan ddarparu cyfradd negyddol anghywir o 4.6%. Dangosodd yr astudiaeth hefyd mai 47/1025 oedd cyfran y moch daear a drapiwyd mewn cawell a oedd yn cyfateb i fochyn daear arall a drapiwyd mewn cawell, gan roi cyfradd gadarnhaol ffug o 4.6%.

Hefyd, er mwyn ystyried y ffaith y gallai symudiadau naturiol moch daear fod wedi golygu nad oedd moch daear y trapiwyd eu blew ar gael yn ystod y cyfnod trapio mewn cewyll, amcangyfrifwyd cyfradd symud ar gyfer y boblogaeth moch daear (Rogers *et al.* 1998). Defnyddiwyd amcangyfrif o gyfradd symud rhwng 0-10% gan fod hyn yn cyfateb i gyfran yr anifeiliaid y canfuwyd eu bod wedi symud rhwng grwpiau cymdeithasol o foch daear yn ystod digwyddiadau trapio dros bellteroedd a oedd yn llai na 2 cilometr (Rogers *et al.* 1998). Gan fod holl enoteipiau'r moch daear a gipiwyd yn ein hastudiaeth yn dod o drapiau a oedd o fewn 2 cilometr i ffin fferm, roedd y potensial ar gyfer symud i mewn ac allan o'r boblogaeth yn ystyriaeth ar gyfer pob anifail. Defnyddiwyd cyfradd symud hefyd i addasu'r nifer crai o enoteipiau a barwyd er mwyn cynhyrchu amcangyfrifon terfynol o ganran y moch daear a drapiwyd ac a brofwyd (Atodiad 3).

## 4. Canlyniadau

### 4.1 Crynodeb o'r samplau a gasglwyd ac a gafodd eu genoteipio

Gosodwyd cyfanswm o 100, 86 a 40 o drapiau blew ar ffermydd A, B ac C yn y drefn honno. Dangosir nifer y samplau a gasglwyd ar bob fferm yn ystod y cyfnodau cyn ac ar ôl trapio yn Nhabl 1. Dychwelwyd genoteipiau cyflawn y gellid eu defnyddio ar gyfer 34% (210/624) o'r samplau a ddeilliodd o'r trapiau blew, ac ar gyfer 78% (31/40) o'r samplau a ddeilliodd o anifeiliaid a drapiwyd mewn cewyll. Mae'r gyfradd genoteipio hon yn debyg i astudiaeth flaenorol lle cofnodwyd cyfraddau llwyddiant o 39.3% ar gyfer genoteipio samplau blew a drapiwyd (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion 2017), er ei bod yn is na'r 70.6% a gyflawnwyd mewn astudiaeth arall (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Labordai Milfeddygol 2014).

**Tabl 1 Crynodeb o samplau blew a gasglwyd ac a gafodd eu genoteipio o'r tair fferm yn 2017**

	Fferm A		Fferm B		Fferm C		Cyfanswm
Nifer y trapiau blew	100		86		40		
	Cyn	Ar ôl	Cyn	Ar ôl	Cyn	Ar ôl	
Nifer y samplau blew a gafodd eu genoteipio	221	77	111	49	139	27	624
Nifer y proffiliau y gellid eu defnyddio	82	22	45	21	35	5	210
Nifer y moch daear a drapiwyd mewn cewyll + nifer y moch daear	16+1		11+1		10+1		37+3



a ail-drafiwyd				
Nifer y samplau blew o foch daear a drafiwyd sydd wedi eu genoteipio	17	12	11	40
Nifer y proffiliau y gellid eu defnyddio	15	10	6	31

#### 4.2 Presenoldeb alelau nwl ac amrywiaeth alelig

Mae'r dadansoddiad yn awgrymu alelau nwl yn y genoteipiau o fferm A yn *Mel-103*, ac yng ngenoteipiau fferm C yn *Mel-115* (Atodiad 1). Mae'n well eithrio loci ag amleddau alel nwl uchel (0.05 neu fwy) rhag rhai mathau o ddadansoddiadau genetig. Er hynny, pan nad yw'r data ond yn cael ei ddefnyddio i neilltuo blew i fochyn daear unigol, gellir dadlau nad yw alelau yn broblem (Jones a Conyers 2019). Dyma'r rheswm pam na chafodd yr alelau hyn eu heithrio. Hefyd, roedd lefel heterosygaid isel mewn rhai loci yn y data genoteip, sy'n dangos bod rhai loci yn rhoi llai o wybodaeth wrth geisio adnabod proffiliau unigryw.

#### 4.3 Paru samplau o drapiau

Cyflawnwyd paru samplau o drapiau ar naw locws yn seiliedig ar gyfatebiaeth union ar gyfer o leiaf 16 o'r 18 alel posibl. Nododd y dadansoddiad 60 o broffiliau unigryw o 241 o samplau blew. Roedd 34, 15 ac 11 o enoteipiau unigryw ar ffermydd A, B ac C yn y drefn honno.

Yn fferm A, roedd 13 o'r 34 genoteip unigryw yn cynnwys moch daear a drafiwyd mewn cawell, sy'n awgrymu bod oddeutu 38% o'r moch daear a oedd yn defnyddio'r fferm wedi eu trapio. Yn fferm B, roedd 8 o'r 16 genoteip unigryw (50%) yn cynnwys mochyn daear a drafiwyd mewn cawell, ac yn fferm C, roedd 6 o'r 11 genoteip unigryw (55%) yn cynnwys moch daear a ddaliwyd. Mae'r canlyniadau hyn yn darparu amcangyfrifon na chawsant eu cywiro o ganran y moch daear yn y boblogaeth moch daear a gafodd eu trapio mewn cewyll. Mae'r gwerthoedd hyn yn cyfateb i amcangyfrifon dwysedd moch daear o oddeutu 8, 10 a 13 mochyn daear fesul cilometr<sup>2</sup> ar ffermydd A, B ac C yn y drefn honno.

Amcangyfrifwyd y gyfradd negyddol anghywir trwy gyfrifo nifer yr achosion lle'r oedd genoteipiau unigryw lluosog yn cyfateb i'r un genoteip a drafiwyd mewn cawell (h.y. un sampl a drafiwyd mewn cawell a oedd yn ymddangos mewn mwy nag un genoteip unigryw). Yn ein dadansoddiad ni, roedd y gyfradd negyddol anghywir hon yn sero. Ceir cyfradd negyddol anghywir hefyd os nad yw'r broses genoteipio yn cynhyrchu genoteipiau llawn. O'r 40 sampl gwreiddiol a drafiwyd mewn cewyll, roedd genoteipio yn llwyddiannus ar gyfer 31 sampl, sy'n rhoi cyfradd negyddol anghywir o 22.5%. Amcangyfrifwyd y gyfradd gadarnhaol anghywir trwy asesu canran y genoteipiau o foch daear a drafiwyd mewn cawell a oedd yn cyfateb i enoteip mochyn daear arall. Dim ond dau bâr a gafwyd o enoteipiau a drafiwyd mewn cewyll sydd, o'r 31 genoteip sy'n cyfateb i 16 alel, yn rhoi cyfradd gadarnhaol anghywir o 6.5%.

Cywirwyd yr amcangyfrif o gyfran y moch daear a gafodd eu trapio ac a brofwyd ar bob fferm ar gyfer cyfraddau genoteipio anghywir cadarnhaol a negyddol a gyhoeddwyd yn flaenorol, ac ar gyfer symudiadau moch daear. Roedd yr amcangyfrifon a gywirwyd o ganran y moch daear a drafiwyd ac a brofwyd ar ffermydd A, B ac C yn 32-45% (cyfnod hyder 95%, cymedr 39%), 40-67% (cyfnod hyder 95%, cymedr 54%), 45-67% (cyfnod hyder 95%, cymedr 55%) yn eu trefn.

#### 4.4 Aflonyddu a Gwasgaru

Dangosir y genoteipiau unigryw a oedd yn digwydd yn ystod gwahanol gyfnodau ymyrryd yn nhabl 2.

**Tabl 2. Nifer y proffiliau genoteip unigryw a nodwyd cyn ac ar ôl ymyrryd ar dair fferm yng Nghymru yn 2017.**

Fferm	Nifer y proffiliau unigryw a gofnodwyd:		
	Cyn ymyrryd a drapiwyd yn unig	Cyn ac ar ôl ymyrryd	Ar ôl ymyrryd yn unig
A	21	11	2
B	7	5	3
C	7	4	0

## 5. Trafodaeth

### 5.1. Effeithlonrwydd trapio

Nod yr astudiaeth bresennol oedd amcangyfrif cyfran y moch daear a drapiwyd ac a brofwyd ar y tair fferm y cynhaliwyd ymyriad arnynt yng Nghymru yn 2017. Hefyd casglwyd data gennym y gellid ei ddefnyddio i chwilio am dystiolaeth o aflonyddu a gwasgaru cymdeithasol ymhlith moch daear o ganlyniad i waith ymyrryd.

Mae nodi 34, 15 ac 11 o enoteipiau unigryw ar ffermydd A, B ac C, yn darparu amcangyfrifon effeithlonrwydd trapio priodol o 32-45%, 40-67% a 45-67% (cyfnodau hyder 95%). Mae'r gwerthoedd hyn yn cyfateb i ganlyniadau dwy astudiaeth flaenorol a ddefnyddiodd yr un dull i amcangyfrif effeithlonrwydd trapio fel rhan o'r defnydd o frechlynnau (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion 2017) ac i amcangyfrif effeithlonrwydd y rhaglen ddifa (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Labordai Milfeddygol 2014). Roedd y ddau ddarn o waith yn digwydd mewn ardal eang iawn ac yn defnyddio

sampl fwy o flew. Amcangyfrifodd Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion (2017) fod 44-65% (cyfnod hyder 95%) o'r boblogaeth moch daear breswyl yn yr Ardal Triniaeth Ddwys wedi ei thrapio a'i brechu yn 2015. Amcangyfrifodd Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Labordai Milfeddygol (2014) effeithlonrwydd trapio o 16.7-39% yn Swydd Gaerloyw, ac effeithlonrwydd trapio o rhwng 20.9 a 46.8% yng Ngwlad yr Haf.

Mae'r amcangyfrifon o ddwysedd moch daear (sef 8, 10 a 13 o foch daear fesul cilometr<sup>2</sup> ar ffermydd A, B ac C), yn uwch na'r rhai a ragwelir yn ôl y math o ddsbarth tir (Judge *et al.* 2017), sy'n cyrraedd uchafbwynt ar 4.6-7.4 o foch daear fesul cilometr<sup>2</sup> (cyfnod hyder 95%) ar gyfer y math o ddsbarth tir mwyaf ffafriol. Er bod ein hamcangyfrif ni yn seiliedig ar raddfa fach iawn (gan mai dim ond o fewn ffiniau ffermydd y caniateid trapio), mae nifer gwirioneddol y moch daear a drapiwyd yn 2017 (16, 11 a 10 ar ffermydd A, B ac C) yn cadarnhau bod y dwyseddau priodol yn 4, 7 a 13 o foch daear fesul cilometr<sup>2</sup> o leiaf o fewn ffiniau'r fferm.

## **5.2 Rhagdybiaethau wrth baru samplau o drapiau**

Mae'r holl ddulliau a ddefnyddir i amcangyfrif maint y boblogaeth moch daear a newidiadau yn y poblogaethau yn dibynnu ar ragdybiaethau i ryw raddau. Mae'n rhaid deall y rhain yn iawn os yw'r canlyniadau am gael eu dehongli'n gywir (Atodiad 4). Yn benodol, mae genoteipio samplau blew o drapiau blew yn gallu bod yn wallus, ac o ganlyniad sefydlwyd meini prawf cyfyng gennym i ddsbarthu genoteipiau fel rhai y gellir eu defnyddio. Defnyddiwyd paramedr Cambaru o ddau hefyd er mwyn osgoi cam-gymharu rhwng samplau cyn belled ag y bo modd. Gellid ystyried genoteipiau a gafodd eu heithrio o'r dadansoddiadau fel rhai y gellir eu defnyddio pe byddai rhagor o ailasesiadau yn cael eu genoteipio a/neu eu sgorio'n gyson. Felly, drwy gynnal gwaith genoteipio ychwanegol, gall fod modd gwella cywirdeb yr amcangyfrifon presennol o faint y boblogaeth moch daear a'r gyfran a drapiwyd.

## **5.3 Aflonyddu a Gwasgaru cymdeithasol**

Nid yw un flwyddyn o ddata yn ddigon i asesu tystiolaeth o newidiadau mewn genoteipiau unigryw, na pherthnasedd genetig moch daear unigol ar fferm. Mae hwn yn ddarn o waith newydd na cheisiwyd ei wneud ar y raddfa hon o'r blaen. Cynhaliwyd yr unig waith arall tebyg, a oedd â'r nod o asesu tystiolaeth o aflonyddu a gwasgaru, yn ystod yr Hap-dreial Difa Moch Daear. Yn y gwaith hwnnw, cafodd blew eu samplu a'u genoteipio o anifeiliaid a drapiwyd mewn cewyll er mwyn asesu a ddylanwadodd yr ymyriad ar symudiadau anifeiliaid (Pope *et al.* 2007). Dangosodd dadansoddiad o lofnod genetig moch daear fod rhagor o aflonyddu a gwasgaru yn sgil difa. Er hynny, defnyddiodd y gwaith hwn samplau o flew o ansawdd uwch (a gymerwyd yn uniongyrchol o anifeiliaid a ddaliwyd) ac fe'i cynhaliwyd ar sampl llawer mwy, a thros ardal sylweddol fwy nag ymyriadau presennol Llywodraeth Cymru. Casglwyd proffiliau genetig o 3450 o foch daear llawndwf mewn wyth ardal Hap-dreial Difa Moch Daear, a chymharwyd proffiliau moch daear o'r rhaglen ddifa gyntaf (poblogaeth moch daear nad oedd llawer o aflonyddu arni) â'r rhai a gymerwyd yn ystod ail raglen ddifa 5-22 mis yn ddiweddarach. Efallai na ddaw'n amlwg a all y dull hwn nodi presenoldeb neu absenoldeb aflonyddu a gwasgaru yn gyson yng nghyd-destun yr astudiaeth bresennol, oni chaiff gwaith trapio blew cyn ac ar ôl yr ymyriad ei gynnal ar sawl fferm dros gyfnod o amser. Er hynny, mae hyn yn ddibynnol iawn ar y broses o gasglu sampl o flew o faint digonol yn ystod pob cam.

## 6. Atodiad 1 - Amrywiaeth alelig a phresenoldeb alelau nwl

### 6.1 Cyfrifo amrywiaeth alelig ac alelau nwl

Profwyd yr amrywiaeth alelig ac amledd alelau nwl gan ddefnyddio'r rhaglen CERVUS (Marshall *et al.* 1998), (Tabl A1).

**Tabl A1 amrywiaeth alelig ac amledd alelau nwl mewn genoteipiau moch daear ar dair fferm yng Nghymru yn 2017.**

Alel	K	H obs	H exp	HW	F(Nwl)
<b>Fferm A; n = 119 proffiliau genoteip</b>					
<i>Mel-103</i>	5	0.412	0.579	*	0.1770
<i>Mel-104</i>	4	0.807	0.511	***	-0.2393
<i>Mel-105</i>	6	0.739	0.770	**	0.0222
<i>Mel-107</i>	4	0.630	0.609	NS	-0.0280
<i>Mel-110</i>	5	0.975	0.764	***	-0.1307
<i>Mel-113</i>	4	0.681	0.607	NS	-0.0439
<i>Mel-114</i>	4	0.252	0.230	ND	-0.0597
<i>Mel-115</i>	5	0.597	0.543	NS	-0.0324
<i>Mel-117</i>	3	0.655	0.562	*	-0.0986
<b>Fferm B; n = 74 proffiliau genoteip</b>					
<i>Mel-103</i>	3	0.811	0.548	***	-0.2191
<i>Mel-104</i>	5	0.851	0.686	***	-0.1363

<i>Mel-105</i>	3	0.730	0.639	NS	-0.0929
<i>Mel-107</i>	3	0.135	0.129	ND	-0.0256
<i>Mel-110</i>	3	0.973	0.620	***	-0.2583
<i>Mel-113</i>	4	0.811	0.684	**	-0.0936
<i>Mel-114</i>	3	0.189	0.176	ND	-0.0416
<i>Mel-115</i>	4	0.662	0.524	NS	-0.1299
<i>Mel-117</i>	6	0.486	0.431	ND	-0.0823
<b>Fferm C; n = 46 proffiliau genoteip</b>					
<i>Mel-103</i>	4	0.674	0.687	NS	-0.0091
<i>Mel-104</i>	5	1.000	0.750	ND	-0.1534
<i>Mel-105</i>	3	0.739	0.612	NS	-0.0886
<i>Mel-107</i>	3	0.130	0.124	ND	-0.0246
<i>Mel-110</i>	5	0.957	0.752	**	-0.1381
<i>Mel-113</i>	5	0.717	0.672	NS	-0.0753
<i>Mel-114</i>	2	0.022	0.022	ND	-0.0011
<i>Mel-115</i>	5	0.370	0.574	NS	0.2204
<i>Mel-117</i>	4	0.848	0.749	ND	-0.0738

K: Nifer y galwadau alel unigryw

H obs: Y cymedr heterosygaidd a welwyd (h.y. cyfran yr alelau sy'n heterosygaidd)

H exp: Y cymedr heterosygaidd disgwylidig

HW: Cydbwysedd Hardy Weinberg. Mae \*\*\*/\*\*/\* yn nodi gwriad sylweddol oddi wrth gydbwysedd HW. Mae ND yn nodi 'heb ei wneud'. Mae NS yn nodi 'ddim yn sylweddol'.

F(nwl): Amllder alel nwl.

## 6.2 Esboniad o fesuriadau amrywiaeth ac alelau nwl

### Heterosygotrwydd disgwylidig a welwyd a

Mae heterosygotrwydd yn fesur o amrywiaeth ar gyfer locws: mae loci â heterosygotrwydd isel yn cynnwys llai o wybodaeth ar gyfer nodi proffiliau unigryw. Ar y cyfan, nid yw loci â heterosygotrwydd sy'n 0.5 neu lai yn ddefnyddiol iawn ar gyfer dadansoddi teulu ar raddfa fawr. Roedd data genoteip pob un o'r tair fferm yn dangos lefel heterosygaidd isel mewn rhai alelau, sy'n dangos eu bod yn rhoi llai o wybodaeth wrth nodi proffiliau unigryw.

### Hardy Weinberg (HW)

Mae cydbwysedd HW yn disgrifio amledd disgwylidig genoteipiau mewn poblogaeth sy'n parhau ar hap. Yn CERVUS, caiff gwriadau o gydbwysedd HW eu hasesu gan ddefnyddio prawf chi sgwâr ( $\chi^2$ ), sy'n cymharu amledd y genoteip a welwyd ag amledd disgwylidig y genoteip, a gyfrifir gydag amleddau alel gan gymryd cydbwysedd HW. Gall gwriadau bach oddi wrth HW ddigwydd mewn locws neu ddau oherwydd dewis naturiol. Nid yw gwriadau bach fel hyn yn debygol o ogwyddo at debygolrwydd ar draws pob locws, a gellir defnyddio'r loci ar gyfer dadansoddiad teulu fel arfer.

Yn fwy cyffredin mae gwriad yn arwydd o broblemau o ran genoteipio'r locws hwnnw e.e. neilltuo alelau nwl, methiant i ganfod alelau yn gyson, tueddiad i deipio genoteipiau penodol, locws sy'n gysylltiedig â rhyw, sydd wedi ei etifeddu yn sytoplasmaidd neu'n dangos etifeddiaeth drechol. Yn ddefnyddiol dylid eithrio'r locws o'r dadansoddiad. Mae gwriadau mewn llawer neu bob un loci yn arwydd o isadeiledd poblogaeth. Efallai fod y boblogaeth wedi'i rhannu'n gyfres o grwpiau teuluol sydd â chysylltiad agos neu sydd wedi mewnfrio.

Yn yr achos hwn, gellir parhau i ddefnyddio'r data ar gyfer dadansoddi teulu, ond mae angen bod yn ofalus wrth ddehongli hyder yr aseiniadau teulu. Os na chafodd HW ei wneud (ND = heb ei wneud), mae'n golygu nad oedd digon o foch daear i ganiatáu i'r prawf fynd rhagddo.

Mae data o Ffermydd A, B ac C, yn dangos bod rhywfaint o wyriad o gydbwysedd HW mewn rhai loci, er na ellir barnu achos gwyriad o'r fath yma. Gan fod y mesuriad hwn yn bwysig ar gyfer dadansoddi teulu, yn hytrach nag aseinio moch daear unigol, nid eithriwyd unrhyw ddata.

### **Alelau Nwl**

Alel nwl yw unrhyw alel nad oes modd ei ganfod gan y prawf a ddefnyddir i enoteipio unigolion mewn locws penodol. Mae alelau nwl yn un o'r achosion cyffredin o wyriadau ymddangosiadol oddi wrth gydbwysedd HW (Pemberton et al 1995), yn enwedig pan mai dim ond un locws yn unig sy'n dangos gwyriad. Gyda microloerennau, mae alel nwl yn digwydd amlaf oherwydd cellwyriadau mewn un neu'r ddau safle rhwymol, sy'n ddigonol i atal yr alel microloeren rhag chwyddo yn effeithiol.

Cyn belled â bod o leiaf 10 alel wedi eu pennu, gall CERVUS amcangyfrif amledd ymneilltuo unrhyw alel nwl ym mhob locws. Os nad oes alel nwl, bydd yr amllder amcangyfrifedig yn agos i sero, a gallai fod ychydig yn negyddol (mae gwerthoedd negyddol yn awgrymu bod gormodedd o enoteipiau heterosygot wedi eu gweld). Mae locws ag amcangyfrif cadarnhaol mawr o ran amledd alel nwl yn dangos gormodedd o homosygotau, ond nid yw o angenrheidrwydd yn awgrymu bod alel nwl yn bresennol.

Os nad oes perthnasoedd rhieni-disgynyddion sy'n hysbys, mae'n anodd nodi alel nwl gyda sicrwydd ac mae'n bwysig ystyried esboniadau posibl eraill. Er y cynghorir eithrio loci ag amleddau uchel o alelau nwl (0.05 neu fwy) o ddadansoddiadau teuluoedd, ni ddylai'r rhai ag amleddau alel is achosi unrhyw broblemau.

Mae'r dadansoddiad yn awgrymu bod alelau nwl yn y genoteipiau o fferm A yn *Mel-103*, ac yng ngenoteipiau fferm C a *Mel-115* (amledd alel nwl  $>0.05$ ). Er hynny, gan fod perthnasoedd rhieni-disgynyddion yn absennol o'r data hwn, nid yw'n bosibl pennu alelau nwl yn hyderus. Ni chafodd data eu heithrio, gan y gellir dadlau nad yw alelau nwl yn broblem wrth adnabod moch daear unigol oddi wrth eu blew (Jones a Conyers 2019).

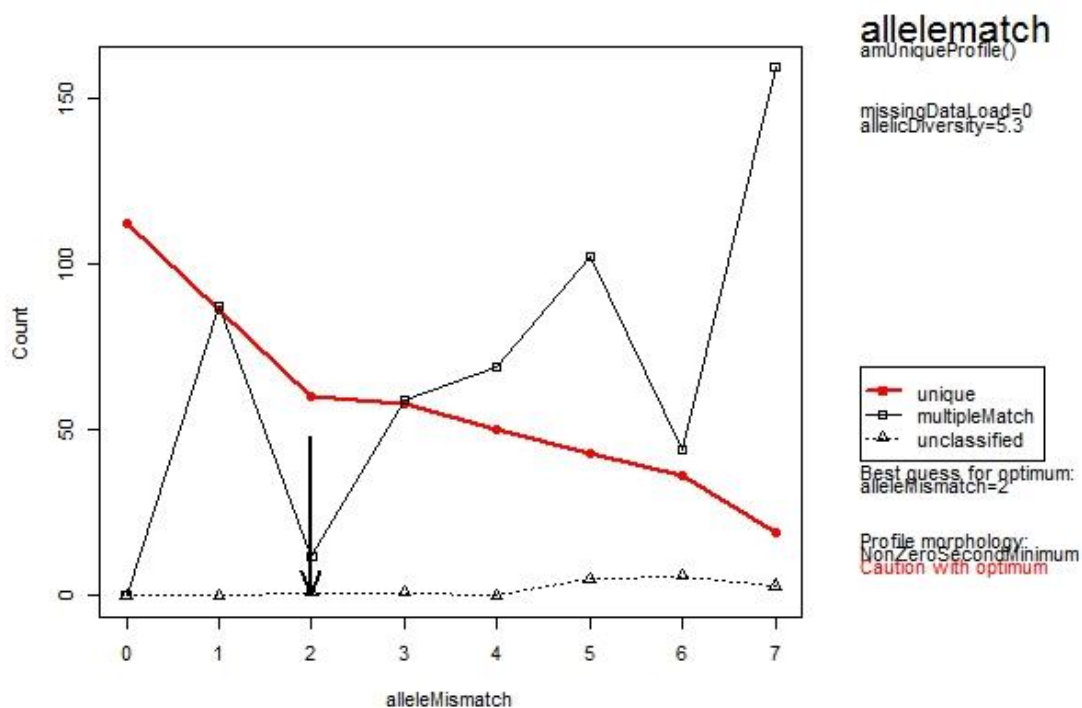
## 7. Atodiad 2 – Y Paramedr Cambaru Alelau

Gellir defnyddio rhaglen Allelematch i amcangyfrif y nifer mwyaf priodol o alelau sy'n ofynnol ar gyfer paru samplau fel yr un genoteip unigryw. Cyfeirir at y gwerth hwn fel y paramedr 'Cambaru Alelau' (Ffigur A1).

Mae'r paramedr Cambaru alelau yn dylanwadu ar nifer y proffiliau unigryw a nifer y paru lluosog a geir mewn set ddata. Pan fo nifer y proffiliau â pharau lluosog yn nesáu at sero, mae hyn yn dangos bod genoteipiau unigryw yn cael eu didoli i grwpiau yn ddiamwys heb lawer o orgyffwrdd. Mae paramedr Cambaru alelau sydd wedi ei osod yn rhy isel yn chwyddo nifer y genoteipiau unigryw gan fod proffiliau â chamgymeriadau genoteipio yn cael eu datgan fel rhai unigryw. O ganlyniad, bydd cyfran fwy o broffiliau yn cyfateb i enoteipiau unigryw lluosog. Mae gosod y paramedr yn rhy uchel yn cael effaith i'r gwrthwyneb, gan arwain at ormod o broffiliau a nodir fel yr un genoteip unigryw pan fyddant yn wahanol mewn gwirionedd; mae nifer uwch o broffiliau sy'n cyfateb i enoteipiau unigryw hefyd yn arwydd o'r genoteipiau unigryw hyn wedi eu nodi yn anghywir. Felly mae Allelematch yn datgan gwerth y paramedr sy'n didoli proffiliau â'r amwysedd lleiaf posibl fel y gorau ar gyfer y set ddata.

Ar gyfer ein set ddata ni, y paramedr Cambaru alelau gorau yw dau. Mae hyn yn golygu y bydd dau broffil yn cael eu datgan yr un fath os ydynt yn cyfateb i 16 allan o'r 18 alel posibl.

**Ffigur A1 Paramedr Cambaru Alelau ar gyfer genoteipio data o bob fferm ar y cyd**



## 8. Atodiad 3 – Manylion paru samplau o drapiau

### 8.1 Egwyddor paru samplau o drapiau

Roedd y fethodoleg ar gyfer paru samplau o drapiau yn dilyn yr un dull â'r ddau ddarn o waith blaenorol (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion 2017, Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Labordai Milfeddygol 2014). Cesglir samplau o flew drwy drapio blew, caiff y blew eu genoteipio, gan ddarparu cronfa ddata o broffiliau unigol unigryw, sy'n cynrychioli'r 'boblogaeth darged' h.y. y moch daear sy'n defnyddio'r fferm honno. Yna, caiff y boblogaeth darged ei chymharu â phroffiliau DNA anifeiliaid sydd wedi eu trapio er mwyn nodi pa rai o'r boblogaeth darged gafodd eu trapio. Felly gellir cyfrifo canran y moch daear a gafodd eu trapio ac a brofwyd o'r boblogaeth moch daear.

### 8.2 Adnabod moch daear unigryw a pharau genetig.

Ac eithrio gefeilliaid unfath, mae gan bob unigolyn god genetig unigryw. Nod technegau proffilio genetig yw nodweddu digon o'r cod hwn fel y gellir adnabod anifeiliaid unigol yn gywir. Cafodd samplau o flew eu trefnu yn ôl 10 marciwr genetig, gan eithrio un o'r rhain (*Mel-116*) o'r dadansoddiad oherwydd presenoldeb uchel o alelau nwl. Mae pob marciwr yn cynhyrchu dau alel (9 marciwr \*2). Dim ond samplau o flew â phroffiliau genetig cyflawn (lle bod y DNA wedi ei chwyddo ym mhob un o'r naw marciwr) a gynhwyswyd yn y dadansoddiad.

Cafodd parau genetig eu nodi rhwng samplau o flew gan ddefnyddio pecyn ystadegol Allelematch (Galpern *et al.* 2012) o raglen R. Mae Allelematch yn dechrau gan gymharu parau rhwng samplau, yna mae'n amcangyfrif sgôr tebygrwydd rhwng pob pâr o broffiliau, ac yna mae'n clystyru er mwyn dod o hyd i grwpiau o broffiliau tebyg sy'n debygol o fod yn perthyn i un mochyn daear unigol. Mae Allelematch yn arbennig o addas ar gyfer astudiaethau fel hyn lle ceir samplau genetig drwy samplu o bell (trapiau blew) sy'n arwain at ansawdd sampl amrywiol a'r posibilrwydd o wallau wrth enoteipio (Galpern *et al.* 2012). Gall gwallau wrth enoteipio ('atal' neu ollyngiad alelig) olygu bod proffiliau genetig ychydig yn wahanol er eu bod yn dod o'r un mochyn daear. Yn yr astudiaeth hon, nodwyd bod samplau yn dod o'r un mochyn daear os oedd o leiaf 16 allan o 18 o alelau yn cyfateb. Gwnaed y penderfyniad i baru moch daear ar 16 alel er mwyn lleihau'r tebygolrwydd y byddai gwallau wrth enoteipio yn arwain at fethiant i baru, neu'n creu genoteipiau anghywir newydd. Caiff samplau sy'n cyfateb i un neu nifer fach o alelau eu defnyddio'n gyffredin mewn astudiaethau geneteg bywyd gwyllt tebyg (Hettinga *et al.* 2012).

Mae Allelematch yn cyfrifo Psib (y tebygolrwydd y bydd pâr a welwyd yn digwydd rhwng brodyr neu chwiorydd yn seiliedig ar amleddau alelau a welwyd) ar gyfer pob pâr genetig a genoteip unigryw. Gellir defnyddio gwerth Psib trothwy hefyd i gael gwared â pharau a allai fod wedi digwydd ar hap (Galpern *et al.* 2012) gan ddefnyddio torbwynt o  $<0.05$  yn gyffredin (Hettinga *et al.* 2012). Roedd gan bob genoteip a barwyd yn yr astudiaeth bresennol werthoedd Psib o  $<0.05$  (cymedr=0.001, lleiafswm=0.0003, uchafswm=0.0024).

### 8.3 Negyddol anghywir (methu â pharu)

Gall canlyniadau negyddol anghywir ddigwydd os bydd dau sampl genetig yn methu â chyfateb er eu bod yn dod o'r un mochyn daear. Er enghraifft, pe bai blewyn mochyn daear yn cael ei drapio a'i broffilio, ond yna bod y mochyn daear hwnnw wedyn yn cael ei drapio mewn cawell, ni fyddai ei broffil genetig yn creu pâr â'i broffil o'r trap blew. Gall methiant i baru arwain at oramcangyfrif maint y boblogaeth moch daear, ac felly tanamcangyfrif o gyfran y moch daear sy'n cael eu trapio. Gallai methiant i baru ddigwydd yn sgil gwallau wrth enoteipio ar fwy nag un alel, er bod gwaith blaenorol wedi awgrymu y gall cyfraddau



negyddol anghywir fod yn isel, gan na chanfuwyd unrhyw wallau wrth enoteipio mewn dadansoddiad o 749 o samplau o flew moch daear (Frantz et al 2004).

Mae dull ar gyfer amcangyfrif cyfraddau negyddol anghywir yn golygu cymharu'r gyfradd gyfateb rhwng y genoteipiau blew gwahanol sydd wedi eu trapio ar gyfer un mochyn daear ond nid â'i gilydd (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Labordai Milfeddygol 2014). Mewn achosion o'r fath, gellir tybio bod y ddau enoteip blew yn dod o'r un mochyn daear ond eu bod nhw wedi methu â chyfateb. Felly, gellir amcangyfrif effaith 'methiant i baru' ar ganran y moch daear a drapiwyd o gyfran finomaidd nifer y genoteipiau trapiau blew unigryw sy'n cyfateb i enoteipiau trapiau cawell (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Labordai Milfeddygol 2014). Er enghraifft, pe bai 10 anifail unigol yn cael eu trapio mewn cewyll yn cyfateb i 12 genoteip trap blew unigryw, yna byddai hyn yn arwain at gyfradd negyddol anghywir o 1-10/12 (9%). Yn ein data ni, nid oedd unrhyw achosion o enoteipiau unigryw lluosog yn cyfateb i'r un genoteip a drapiwyd mewn cawell.

Ceir achosion negyddol anghywir hefyd os na chafwyd proffiliau genetig cyflawn y gellid eu defnyddio ar gyfer pob mochyn daear a drapiwyd mewn cawell. Pe bai hyn yn digwydd, ni fyddai'n bosibl paru moch daear a drapiwyd mewn cewyll â moch daear y trapiwyd eu blew, gan arwain at gyfradd negyddol anghywir effeithiol. Yn y dadansoddiad hwn, barnwyd na ellid defnyddio proffiliau naw o'r genoteipiau o flew moch daear a drapiwyd mewn cewyll, ac felly y gyfradd negyddol anghywir yma oedd 9/40 (22.5%). Gan ddefnyddio maint sampl mwy, cofnododd astudiaeth flaenorol gyfradd negyddol ffug o  $51/1118 = 4.6\%$  (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion 2017). Gan fod y gwerth hwn wedi ei seilio ar sampl o faint mawr, fe'i defnyddiwyd gennym fel amcangyfrif o'r gyfradd negyddol anghywir yn ein dadansoddiad.

#### **8.4 Y gyfradd gadarnhaol anghywir**

Ceir elfennau cadarnhaol anghywir pan fo dau sampl yn cyfateb i'w gilydd yn anghywir. Gall hyn ddigwydd oherwydd gwallau genoteipio, neu os yw moch daear â chysylltiad pell rhyngddynt yn unfath yn enetig ar  $\geq 16$  alel. Byddai achosion cadarnhaol anghywir yn chwyddo nifer y parau rhwng genoteipiau blew a drapiwyd a genoteipiau moch daear a drapiwyd mewn cewyll, gan arwain at oramcangyfrifon o ganran y moch daear a drapiwyd. Felly, cafodd yr amcangyfrif o ganran yr anifeiliaid a drapiwyd ei gywiro ar gyfer y gyfradd cam-baru amcangyfrifedig.

Amcangyfrifwyd y gyfradd gadarnhaol anghywir trwy archwilio canran y moch daear a drapiwyd mewn cewyll a oedd yn cyfateb i enoteip mochyn daear arall. Yn yr astudiaeth hon, roedd gan ddau bâr o anifeiliaid genoteipiau cyfatebol, allan o 31 o foch daear. Er hynny, roedd gwaith a oedd yn cynnwys sampl llawer mwy o flew, yn dangos cyfradd gadarnhaol anghywir o  $47/1025=4.6\%$ . Defnyddiwyd yr amcangyfrif hwn gennym yn ein dadansoddiad.

#### **8.5 Y gyfradd symud**

Tybiaeth wrth baru samplau o drapiau yw bod moch daear y trapiwyd eu blew ar gael i'w trapio mewn cawell. Er hynny, ni chynhaliwyd y broses o drapio blew a'r broses o drapio mewn cewyll ar yr un pryd. O ganlyniad, mae'n bosibl nad yw moch daear y trapiwyd eu blew ar gael i'w trapio, naill ai oherwydd eu bod wedi symud o'r ardal cyn iddynt gael eu trapio mewn cawell, neu oherwydd eu bod wedi symud i'r ardal yn sgil y broses trapio mewn cewyll. Nid oes modd pennu'r union gyfraddau symud ar gyfer pob fferm yn ystod y prosiect hwn. Mae monitro poblogaethau moch daear hirdymor yn awgrymu bod symudiadau rhwng grwpiau cymdeithasol o foch daear mewn oddeutu 10% o ddigwyddiadau trapio (Rogers *et al.* 1998), gyda moch daear unigol yn symud 0.4-1 cilometr ar gyfartaledd gyda'r rhan fwyaf o symudiadau yn llai na 2 cilometr. Amcangyfrifwyd y gyfradd symud yn yr astudiaeth

bresennol yn 0-10% ar gyfer pob fferm. Y rheswm am hyn yw bod pob trap o fewn 2 cilometr o ffin fferm ac felly roedd symud i mewn ac allan o'r boblogaeth moch daear yn bosibilrwydd i bob un o'r anifeiliaid hyn.

### 8.6 Amcangyfrif canran y moch daear a drapiwyd

Amcangyfrifwyd mai canran y moch daear a drapiwyd oedd canran y genoteipiau o flew a drapiwyd sy'n cyfateb â genoteipiau moch daear a drapiwyd mewn cewyll, gyda chywiriad ar gyfer y gyfradd baru gadarnhaol, y gyfradd baru negyddol anghywir a'r gyfradd symud Gweithredwyd hyn wedyn gan ddefnyddio ail amcangyfrif Monte Carlo (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion 2017). Yn gryno, mae'n cynnwys y camau canlynol:

1) Amcangyfrif dosbarthiad ar gyfer:

- a) tebygolrwydd negyddol anghywir oherwydd methiant i baru ( $FN_1$ ),
- b) tebygolrwydd negyddol anghywir oherwydd methiannau i enoteipio ( $FN_2$ ),
- c) cyfradd gadarnhaol anghywir o barau ymhlith anifeiliaid a drapiwyd (FP),
- d) y tebygolrwydd o symud (FE).

2) Dewis meintiollau annibynnol ar hap o bob dosbarthiad.

3) Cyfrifo canran y moch daear a brofwyd fel nifer yr anifeiliaid a gipiwyd ( $x$ )/ nifer y moch daear y trapiwyd eu blew ( $n$ ), gan ddefnyddio fformiwla h.y.  $(x/n)*100$ .

4) Addasu cyfran y moch daear a brofwyd,  $x$ , o'i chymharu â'r gyfradd gadarnhaol anghywir eFP (tyniad binomaidd ar hap â thebygolrwydd, gyda maint  $x$ ).

5) Addasu nifer y moch daear y trapiwyd eu blew,  $n$ , o'i gymharu â'r cyfraddau negyddol anghywir effeithiol  $eFN_1$  (tyniad binomaidd ar hap â thebygolrwydd  $FN_1$ , maint  $n$ ),  $eFN_2$  (tyniad binomaidd ar hap o'i gymharu â thebygolrwydd  $FN_2$ , maint  $n$ ) a hefyd o'i gymharu â symudiad effeithiol y boblogaeth eFE (tyniad binomaidd ar hap o'i gymharu â thebygolrwydd FE a maint  $n$ ).

5) Cyfrifo'r ganran addasedig a drapiwyd  $x-eFP/(n-eFE-eFN_1eFN_2)$ .

6) Ailadrodd y camau uchod 1000 gwaith.

7) Ar bob ailadroddiad, chwarterl ar hap o'r gyfran finomaidd yw'r amcangyfrif o lefel y boblogaeth  $(x-eFP)/(n-eFE-eFN_1-eFN_2)$ . Mae'r cyfnodau hyder 95% yng nghanraddau 2.5 a 97.5 y dosbarthiad hwn.

## 9. Atodiad 4 – Rhagdybiaethau o ran casglu a dadansoddi data

Roedd methodoleg a'r broses o ddadansoddi data yn dibynnu ar ragdybiaethau y mae'n rhaid eu deall yn gywir (Atodiad 4). Gwnaed y rhagdybiaethau canlynol:

- Defnyddiwyd paramedr Cambaru o ddau ar gyfer paru samplau. Mae genoteipio microloeren yn dueddol o fod yn wallus, yn enwedig wrth enoteipio samplau o flew anifeiliaid. Ni ellir osgoi'r gwallau hyn gydag arferion labordy da, ond gellir cyfrif amdanynt yn ystod y broses ddadansoddi, i ryw raddau. Y gwall genoteipio mwyaf tebygol yw cambaru samplau sy'n dod o'r un mochyn daear. Byddai nifer fawr o barau lluosog o'r fath yn dangos peth amwysedd o ran adnabod genoteipiau unigryw. Er mwyn osgoi parau lluosog, defnyddiwyd paramedr cambaru o ddau gennym, h.y. roeddem yn caniatáu parau rhwng genoteipiau a oedd yn wahanol ar ddau alel. O ganlyniad, roedd 12 o samplau blew a oedd yn barau lluosog a ddefnyddiwyd i gyfrifo cyfradd y parau negyddol anghywir. Defnyddiwyd paramedr cambaru mwy caeth o 1 ar gyfer gwaith tebyg (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion 2017), ond byddai hyn wedi arwain at lawer mwy o gam-baru gan oramcangyfrif nifer y proffiliau genoteip unigryw yn ein data.

Mae'r lefel isel o heterosygotrwydd a ddigwyddodd mewn rhai loci hefyd yn debygol o ddylanwadu ar y gallu i adnabod genoteipiau unigryw. Ni wyddys beth yw'r rheswm dros y lefel heterosygotrwydd isel mewn rhai loci. Un posibilrwydd yw ei fod yn ganlyniad i faint cyfyngedig yr ardal y casglwyd blew ynnddi (h.y. lefel y fferm), ac efallai fod hyn yn dangos bod rhai o'r anifeiliaid yn perthyn i'w gilydd. Gallai hefyd ddeillio o anawsterau wrth enoteipio rhai alelau, sy'n golygu eu bod nhw'n cael eu heithrio yn gyson o ddadansoddiadau oherwydd ein meini prawf caeth ar gyfer proffiliau y gellir eu defnyddio. Gall yr heterosygotrwydd yn y set ddata hon o enoteipiau gynyddu os caiff samplau a eithrir eu hailbrofi nes y ceir proffiliau y gellir eu defnyddio.

- Defnyddiwyd amodau caeth wrth farnu bod modd defnyddio proffil genoteip. Yn benodol, eithriwyd unrhyw samplau yr oedd data ar goll ynnddynt neu samplau lle nad oedd tri ailasesiad yn cyfateb yn gyson. Arweiniodd hyn at eithrio cyfran fawr o samplau. Gallai'r samplau a eithriwyd fodloni'r meini prawf pan fo staff labordai wedi cymryd y camau canlynol:
  - Asesu electrofferogramau samplau na ellir eu defnyddio, er mwyn gwirio galwadau alel ddwywaith ar bob locws, a chadarnhau darlleniadau pan mae'n bosibl cwblhau dau ailasesiad yn unig ar gyfer sampl. (Ceir tri ailasesiad ar gyfer rhai samplau na ellid eu cwblhau pan nad oedd digon o DNA).
  - Nodi samplau y ceir ailasesiadau anghyson ar eu cyfer sy'n gofyn am ragor o waith genoteipio. Samplau sy'n homosygaidd yw'r anoddaf eu sgorio, a nhw yw'r mwyaf tebygol o fod angen llawer o ailasesiadau (mwy na 3) er mwyn gallu sgorio'n fanwl gywir.
- Rhagdybiwyd bod moch daear y trapiwyd eu blew yn cynrychioli'r boblogaeth darged. Mewn ymgais i fodloni'r rhagdybiaeth hon, dosbarthwyd trapiau blew ledled ardal y fferm, ac roedd y nifer a ddefnyddiwyd mor uchel ag oedd yn ymarferol bosibl. Mewn gwaith blaenorol, cynhaliwyd y broses o drapio blew am 28 diwrnod (gan gasglu samplau blew unwaith bob 2 ddiwrnod). Gwnaed hyn oherwydd ei bod yn debygol y byddai'r rhan fwyaf o foch daear, os nad pob un, wedi bod yn weithgar yn y prif frochfa yn ystod cyfnod o 28 diwrnod (Scheppers *et al.* 2007) ac felly ar gael i'w trapio. Roedd yr astudiaeth hon, fodd bynnag, yn agored i gyfyngiadau ymarferol gan

nad oedd gennym fynediad i dir y tu hwnt i ffiniau'r fferm. O ganlyniad, er ein bod ni'n trapio blew mewn brochfeydd lle bynnag yr oeddent yn bresennol o fewn ffiniau'r fferm, roedd yn rhaid inni ddefnyddio cyfran uchel o'r trapiau o bell. Serch hynny, bydd amrywio hyd a dwyster y gweithgarwch yn y prif frochfa yn dylanwadu ar y tebygolrwydd y bydd blew anifail yn cael eu trapio ac felly, gallai ein canlyniad fod yn gogwyddo tuag at anifeiliaid sy'n fwy actif. Mae'n bosibl hefyd bod ein sampl yn gogwyddo tuag at foch daear llawndwf, gan fod modd i genawon fynd o dan drapiau blew heb gysylltu â'r wifren bigog. Mae hon yn broblem gyffredinol, ond yn yr achos hwn, ers cynnal y gwaith sampl o fis Awst ymlaen, ceisiwyd osgoi'r amser pan fo cenawon bach iawn yn bresennol.

- Rhagdybiwyd y byddai cyfnod o 14 diwrnod ar gyfer casglu blew yn caniatáu digon o amser i gasglu nifer digonol o samplau i gynrychioli'r boblogaeth moch daear. Roedd yn angenrheidiol trapio blew yn ystod yr amserlen fyrrach hon, yn hytrach na'r 28 o ddiwrnodau a ddefnyddiwyd mewn astudiaethau tebyg (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Labordai Milfeddygol 2014, Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion 2017), er mwyn lleihau costau ac oherwydd nad oedd adnoddau ar gael i drapio blew am ragor o amser. Er hynny, casglwyd samplau blew bob dydd, yn hytrach na phob yn ail ddiwrnod. Cyn i'r gwaith ddechrau, aethom ati i asesu effaith lleihau'r cyfnod casglu blew, a daethom i'r casgliad y dylai casgliadau am gyfnod o 14 diwrnod fod yn ddigonol i gael maint sampl rhesymol. Yn benodol, mae dadansoddiad o ddata sy'n ymwneud â blew a drapiwyd gan Judge *et al.* (2017), lle cafodd blew eu casglu bob 2 ddiwrnod am 28 diwrnod yn nodi pe byddai'r cyfnod casglu samplau blew wedi ei leihau i gasglu bob 2 ddiwrnod am 14 diwrnod, yna byddem yn dod ar draws o leiaf 75% o gyfanswm y moch daear a samplwyd yn 50% o'r holl frochfeydd (Smith përs. comm. 2017).
- Mae'r amcangyfrif o'r gyfradd symud o 0-10% o'r anifeiliaid yn deillio o gyfraddau a gyhoeddwyd ar gyfer symudiadau moch daear (Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion 2017). Mae ymgorffori'r gyfradd symud yn ychwanegu ansicrwydd i'r amcangyfrif. Pe byddai'r cyfraddau symud yn uwch na 10%, yna byddai hyn yn golygu bod y ganran amcangyfrifedig o foch daear a drapiwyd yn is.

## 10. Cyfeiriadau

Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Labordai Milfeddygol (AHVLA). 2014. Adroddiad Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Labordai Milfeddygol (2014): Monitoring the efficacy of badger population reduction by controlled shooting during the first six weeks of the pilots. Adroddiad i DEFRA.

Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion (APHA). 2018. Mae APHA yn adrodd ar y gwaith o gyflwyno cewyll moch daear a gweithrediadau profi ar ffermydd yng Nghymru lle cafwyd achosion cronig o TB yn 2017 (TBOG0235) (Blwyddyn 1).

APHA. 2017. Estimating the population size and the percentage of vaccinated badgers in the Intensive Action Area. Adroddiad Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion i Lywodraeth Cymru.

Carpenter, P. J., D. A. Dawson, C. Greig, A. Parham, C. L. Cheeseman a T. Burke. 2003. Isolation of 39 polymorphic microsatellite loci and the development of a fluorescently labelled marker set for the Eurasian badger (*Meles meles*). *Molecular Ecology Notes* 3: 610-615.

Carter, S. P., R. J. Delahay, G. C. Smith, D. W. Macdonald, P. Riordan, T. R. Etherington, E. R. Pimley, N. J. Walker a C. L. Cheeseman. 2007. Culling-induced social perturbation in Eurasian badgers *Meles meles* and the management of TB in cattle: an analysis of a critical problem in applied ecology. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 274: 1471-2954.

Cheeseman, C. L., Mallinson, P. J., Ryan, J. ac Wilesmith, J. W. 1993. Recolonisation by badgers in Gloucestershire. Yn Hayden, T. J. (gol.). *The Badger*, 78-93. Royal Irish Academy, Dilyn.

Asiantaeth Ymchwil Bwyd a'r Amgylchedd (FERA). 2019. Analysis of sample profiles generated by PCR amplification with DT1, and DT2 following electrophoresis on the 3130x1s Genetic analyser. Standard Operating Procedure, cyfeirnod PLH/556 diwygiwyd fersiwn 6 ar gyfer defnydd gan yr Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion.

Frantz, A. C., M. Schaul, L. C. Pope, F. Fack, L. Schley, C. P. Muller, a T. J. Roper. 2004. Estimating population size by genotyping remotely plucked hair: the Eurasian badger. *Journal of Applied Ecology* 41: 985-995.

Gagneux, P., C. Boesch a D. S. Woodruff. 1997. Microsatellite scoring errors associated with noninvasive genotyping based on nuclear DNA amplified from shed hair. *Molecular Ecology* 6: 861-868.

Galpern, P., M. Manseau, P. Hettinga, K. Smith a P Wilson. 2012. AlleleMatch: an R package for identifying unique multilocus genotypes where genotyping error and missing data may be present. *Molecular Ecology Resources* 12: 771-778.

Hettinga, P. N., A. N. Amason, M. Manseau, D. Cross, K. Whaley a P. J. Wilson. 2012. Estimating size and trend of the North Interlake woodland Caribou population using Faecal DNA and capture-recapture models. *The Journal of Wildlife Management* 76: 1153-1164.

- Hoffman, J. I. ac W. Amos. 2005. Microsatellite genotyping errors: detection approaches, common sources and consequences for paternal exclusion. *Molecular Ecology* 14: 599-612.
- Huck, M., A. C. Frantz, D. A. Dawson, T. Burke a T. J. Roper. 2008. Low genetic variability, female biased dispersal and high movement rates in an urban population of Eurasian badgers *Meles meles*. *Journal of Animal Ecology* 77: 905-915.
- Jones, E. P. a Conyers, C. 2019. Troubleshooting of badger hair microsatellite data and analysis for APHA project TBOG0235. Adroddiad i'r Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion.
- Judge, J., G. J. Wilson, R. Macarthur, R. A. McDonald, a R. J. Delahay. 2017. Abundance of badgers (*Meles meles*) in England and Wales. *Scientific Reports* 7.
- Marshall, T. C., J. Slate, L. E. B. Kruuk a J. M. Pemberton. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* 7:639-655.
- Pemberton, J. M., J. Slate, D. R. Bancroft a J. A. Barrett. 1995. Nonamplifying alleles at microsatellite loci: a caution for parentage and population studies. *Molecular Ecology* 4: 249-252.
- Pope, L. C., R. K. Butlin, G. J. Wilson, R. Woodroffe, K. Erven, C. M. Conyers, T. Franklin, R. J. Delahay, C. L. Cheeseman a T. Burke. 2007. Genetic evidence that culling increased badger movement: implications for the spread of bovine tuberculosis. *Molecular Ecology* 16: 4919-4929.
- Rogers, L. C., R. J. Delahay, C. L. Cheeseman, S. Langton, G. C. Smith a R. S. Clifton-Hadley. 1998. Movement of badgers (*Meles meles*) in a high density population: individual population and disease effects. *Proceedings of the Royal Society of London B*: 265: 1269-1276.
- Scheppers, T. L. J., A. C. Frantz, M. Schaul, E. Engel, P. Breyne, L. Schley, a T. J. Roper. 2007. Estimating social group size of Eurasian badgers *Meles meles* by genotyping remotely plucked single hairs. *Wildlife Biology* 13: 195-207.
- Taberlet, P., L. P. Waits a G. Luikart. 1999. Non-invasive genetic sampling: look before you leap. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 323-327.
- Tuytens, F. A. M., R. J. Delahay, D. W. Macdonald, C. L. Cheeseman, B. Long a C. A. Donnelly. 2000. Spatial perturbation caused by a badger (*Meles meles*) culling operations: implications for the function of territoriality and the control of bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*). *Journal of Animal Ecology* 69: 815-828.
- Llywodraeth Cymru. 2017. Cynllun cyflawni rhaglen dileu TB Cymru. <http://gov.wales/topics/environmentcountryside/ahw/disease/bovinetuberculosis/bovinetberadication/?lang=cy>

Wilson, G. J., R. J. Delahay, A. N. S. de Leeuw, P. D. Spyvee a D. Handoll 2003. Quantification of badger (*Meles meles*) sett activity as a method of predicting badger numbers. *Journal of Zoology* 259: 49-56.

CONFIDENTIAL DRAFT