

# Identifikation af DNA-sekvenser fra ulv og hund i spytpøver fra bidsår på husdyr og vildt samt i ekskrementer

---

Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi

Dato: 11. april 2014

Liselotte Wesley Andersen

Institut for Bioscience

Rekvirent:  
Naturstyrelsen  
Antal sider: 5

Faglig kommentering:  
Aksel Bo Madsen  
Tommy Asferg  
Kvalitetssikring, centret:  
Jesper R. Fredshavn



AARHUS  
UNIVERSITET

DCE - NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

Tel.: +45 8715 0000  
E-mail: [dce@au.dk](mailto:dce@au.dk)  
<http://dce.au.dk>

# Indhold

Baggrund	3
Materiale	3
Metode	3
Artsidentifikation	3
Reference	4
Bilag 1	5

## Baggrund

Efter anmodning fra Naturstyrelsen (NST) har DCE analyseret seks spytprøver udtaget fra bidmærker i pels eller sår fra to dødfundne kalve, én kat, to rådyr og en ged samt fire ekskrementer. NST ønsker at få be- eller afkræftet, om en ulv har spist af dyrene, og om ekskrementerne stammer fra ulv. Ligeledes ønskes identifikation til individ, såfremt det er muligt.

## Materiale

Spytprøverne blev indleveret i slutningen af 2013 og begyndelsen af 2014. Da de fleste af prøverne blev indleveret enkeltvis, blev det for at effektivisere tidsforbruget aftalt med NST at vente med laboratorie-analyserne, til der var flere prøver. Prøverne blev indleveret af vildtkonsulenter i NST.

## Metode

DNA- ekstraktionerne blev foretaget i et DNA-laboratorium, der kun bliver benyttet til prøver, hvor DNA-koncentrationen forventes at være lille, som f.eks. i de tilsendte spytprøver fra de dødfundne dyr. Opformeringen af både mitokondriemarkøren, der bliver benyttet til at identificere arten, og de gen-markører, der benyttes til at identificere individer (dvs. en DNA-profil), er foretaget i et andet, særskilt laboratorium for at undgå kontaminering. Mitokondrie DNA-markøren er beskrevet i et DCE-notat (Andersen & Madsen 2013). Gen-markørerne (mikrosatelitter), der benyttes til at identificere individer, er de samme, som benyttes i den tyske database på Senckenberg Institutet, Frankfurt (12 stk.), og samtidig bestemmes kønnet ved markør for Y- og X-kromosomet.

## Artsidentifikation

Mitokondrie-markøren: Til artsidentifikationen blev prøverne sendt til sekvensering og analyseret som beskrevet i ovennævnte notat. Sekvenserne blev efterfølgende analyseret efter kvalitetskontrol af sekvenseringen ved at søge efter matchende sekvenser i den internationale NCBI's Genbank database. Resultatet af denne søgning vises i Tabel 1.

**Tabel 1.** Resultater af analysen.

Prøver	Lokalitet	Fund-tidspunkt	Art	Individbestemmelse
<b>Spyt</b>				
Kat (k1)	Karup	12/10-2013	Hund	
Kalv (kk)	Astrup nord for Skjern	29/12-2013	Hund	
Ged (Vi 1)	Hald Sø	december 2013	Ulv	under analyse
Rådyr (AB2)	Ålbæk, Salling	30/12-2013	Ulv	under analyse
Kalv (U1)	Ulfborg	21/10-2013	Ulv	under analyse
Rådyr (RD1)	Børkop	M74(NST NR)	Ulv	under analyse
<b>Ekskrementer</b>				
UV16	Bredsten	25/7-2013	Hund	
UV17	Addit	10/8-2013	Ulv	under analyse
UV18	Gludsted	10/8-2013	Ulv	under analyse
UV23	Haderup	juli 2013	Ulv	under analyse

DNA-sekvenserne fra fire af de i alt seks spytpøver viste overensstemmelse med sekvensen for ulv (100 % for rådyret fra Ålbæk og kalven fra Ulfborg; 99 % for geden fra Hald og rådyret fra Børkop). De to øvrige spytpøver viste overensstemmelse med sekvensen for hund (100 % for katten fra Karup; 99 % for kalven fra Astrup).

DNA-sekvenserne fra tre af de i alt fire ekskrementer viste overensstemmelse med sekvensen for ulv (100 % for ekskrementerne fra hhv. Addit, Gludsted og Haderup). Det sidste ekskrement viste overensstemmelse med sekvensen for hund (100 % for ekskrementet fra Bredsten).

Det kan således med sikkerhed konkluderes for spytpøverne, at det har været en ulv som har fourageret på ged, kalv og to rådyr. For ekskrementerne kan det konkluderes, at der har været ulv ved Addit, Gludsted og Haderup.

Sekvenserne fra analyserne er vedlagt dette notat som bilag 1.

Som angivet i tabellen er analyserne til identifikation til individ og køn af ulv stadig under udarbejdelse.

### **Reference**

Andersen, LW & Madsen, AB 2013. DNA analyse af spyt-skrab fra tre nedlagte får. - Notat fra DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi af 20/3-2013. 2 sider.

## Bilag 1

### DNA-sekvensen fra spytpøve taget på kat (hund):

TTCCCTGACACCCCTACATTCATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTC  
CAGGTAAACCCCTTCTCCCCCTCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCAT  
ATAAGCATGTACATAAATATTATATCCTTACATAGGACATATTAACCTCAATCTCATAATTC  
ACTGATCTTTCAACAGTAATCGAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCA  
TG

### DNA-sekvensen fra spytpøve taget på kalv (hund):

TTCCCTGATCCCCCTACATTCATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTC  
CAGGTAAACCCCTTCTCCCCCTCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCAT  
ATAAGCATGTACATAAATATTATATCCTTACATAGGACATATTAACCTCAATCTCATAATTC  
ACTGATCTATCAACAGTAATCGAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCA  
TGCCCT

### DNA-sekvensen fra spytpøve taget på ged ved Hald Sø (ulv):

TTCCCTGACACCCCTACATTCATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTC  
CAGGTAAACCCCTTCTCCCCCTCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCAT  
ATAAGCATGTACATAAATATTACATTCCTTACATAGGACATATTAACCTCAATCTCATAATTC  
ACTGATCTATCAACAGTAATCRAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCA  
TGCCCTCGAGAAAC

### DNA-sekvensen fra spytpøve taget på rådyr, Ålbæk (ulv):

GTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAAATATTACATTCT  
TACATAGGACATATTAACCTCAATCTCATAATTCACTGATCTATCAACAGTAATCAAATGC  
ATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAAC

### DNA-sekvensen fra spytpøve taget på kalv, Ulfborg (ulv):

CCCCTACATTCATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGGTAAACC  
CTTCTTCCCCTCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGT  
ACATAAATATTACATTCTTACATAGGACATATTAACCTCAATCTCATAATTCACTGATCTAT  
CAACAGTAATCAAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGA  
AAC

### DNA-sekvensen fra spytpøve taget på rådyr, Børkop (ulv):

ATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGGTAAACCCCTTCTTCCCCTCCCCTATGTA  
CGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAAATATTACATTCTTAC  
ATAGGACATATTAACCTCAATCTCATAAATTCACTGATCTATCAACAGTAATCGAATGCATA  
TCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAAC

### DNA-sekvensen fra ekskrementprøven UV16 (hund):

CCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGGTAAACCCCTTCTTCCCCTCCCCTATGTACGTC  
GTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAAATATTATATCCTTACATAG  
GACATATTAACCTCAATCTCATAAATTCACTGATCTATCAACAGTAATCGAATGCATATCAC  
TTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAAC

### DNA-sekvensen fra ekskrementprøven UV17 (ulv):

CCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGGTAAACCCCTTCTTCCCCTCCCCTATGTACGTCG  
TGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAAATATTACATTCTTACATAGG  
ACATATTAACCTCAATCTCATAAATTCACTGATCTATCAACAGTAATCAAATGCATATCACT  
TAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAAC

### DNA-sekvensen fra ekskrementprøven UV18 (ulv):

CCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGGTAAACCCCTTCTTCCCCTCCCCTATGTACGTCG  
TGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAAATATTACATTCTTACATAGG  
ACATATTAACCTCAATCTCATAAATTCACTGATCTATCAACAGTAATCAAATGCATATCACT  
TAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAAC

### DNA-sekvensen fra ekskrementprøven UV23 (ulv):

TTCCCTGACACCCCTACATTCATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTC  
CAGGTAAACCCCTTCTTCCCCTCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCAT  
ATAAGCATGTACATAAATATTACATTCCTTACATAGGACATATTAACCTCAATCTCATAATTC  
ACTGATCTATCAACAGTAATCAAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCA  
T