

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

Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi

Dato: 1. oktober 2014

Liselotte Wesley Andersen

Institut for Bioscience

Rekvirent:
Naturstyrelsen
Antal sider: 5

Faglig kommentering:
Aksel Bo Madsen

Kvalitetssikring, centret:
Jesper R. Fredshavn



AARHUS
UNIVERSITET

DCE - NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

Tel.: +45 8715 0000
E-mail: 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 2 spytpøver udtaget fra bidmærker i pels eller sår fra 2 lam samt en ekskrementprøve. NST ønsker at få be- eller afkræftet, om en ulv har spist af dyrene samt om ekskrementet er fra ulv. Ligeledes ønskes identifikation til individ, såfremt det er muligt.

Materiale

Prøverne blev indleveret medio 2014. Da de fleste af prøverne blev indleveret enkeltvis, blev det for at effektivisere tidsforbruget aftalt med NST at vente med laboratorieanalyserne, til der var flere prøver. Prøverne blev indleveret af NST's vildtkonsulenter.

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 spytpøver 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.

Prøve nr.	Nedlagt art	Fund-dato	Lokalitet	Enhed	Art	Individbestemmelse
SP37	Lam 1 (fra får)	07_08_14	Skærbæk	Vadehavet	HUND	
SP38	Lam 2 (fra får)	07_08_14	Skærbæk	Vadehavet	ULV	under analyse
UV64	Ekskrement	19_07_14	Skærbæk	Vadehavet	HUND	

Artsidentifikation

Mitokondrie-markøren: Til artsidentifikationen blev prøverne sendt til sekvensering og analyseret som beskrevet i ovennævnte notat. Efter kvalitetskontrol af sekvenserne blev de bestemt til art ved at søge efter matchende sekvenser i den internationale NCBI's Genbank. Af de 3 analyserede prøver viste analysen af DNA-sekvenserne, at der i 2 tilfælde var overensstemmelse med sekvensen for hund: SP37, nedlagt lam fra Skærbæk (100 % match) samt UV64, indsamlet ekskrement fra Skærbæk (100 % match). Den sidste spytpøve SP38 fra lam ved Skærbæk viste overensstemmelse med sekvensen for ulv (99% match).

Det kan således med sikkerhed konkluderes, at det har været en ulv som har fourageret på et lam ved Skærbæk, hvor spytpøve er indsamlet den 7. august 2014.

Sekvenserne fra analyserne er vedlagt dette notat som bilag 1.

Som angivet i tabellen er analyserne til identifikation af ulvens individ og køn 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

SP 37 (100% match for hund)

CACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGGTAAACCCTTCTCCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCC
CCATGCATATAAGCATGTACATAATATTATATCCTTACATAGGACATATTAACTCAATCTCATAATTCAGTATCTATCA
ACAGTAATCGAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAACA

SP38 (99% match for ulv)

ATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGGTAAACCCTTCTCCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTG
CCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTATATTCTTACATAGGACATATTAACTCAATCTCATAATTCAGTATCTATC
AACAGTAATCAAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAACA

UV64 (100% for hund)

TTCCCTGACACCCCTACATTCATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATTTCCAGGTAAACCCTTCTCCCCTC
CCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTATATCCTTACATAGGACATAC
TAACTCAATCTCATAATTCAGTATCTGTCAACAGTAACCGAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCA
TGCCTCGAGAAAC