

Resultater af DNA-analyser udført på indsendte sputprøver fra nedlagte husdyr fra 2. og 3. kvartal 2015

Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi

Dato: 19.oktober 2015

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

Tlf.: 8715 0000
E-mail: dce@au.dk
<http://dce.au.dk>

Indhold

Materiale	3
Metode	3
Artsidentifikation	4
Reference	5
Bilag	6

Materiale

Efter aftale omkring analyse og afrapportering mellem NST og DCE, Aarhus Universitet indgået oktober 2014 opsamler dette notat resultatet af prøver fra andet og tredje kvartal 2015. Der er kun indleveret få prøver i andet kvartal, og resultaterne af DNA-analyserne af disse prøver er derfor medtaget i det foreliggende notat.

I materialet indgår 12 spytp prøver udtaget fra bidmærker på tre får og et lam fra Lemvig området, fire lam fra Skærbæk området, et får fra Ikast-Brande området, et skotsk højlandskvæg fra Billund området, en anguskalv fra Viborg området og et får fra Holstebro området.

NST har ønsket at få be- eller afkræftet, om en ulv har spist af dyrene. Ligeledes ønskes identifikation til individ, såfremt det er muligt. Spytp prøverne blev indleveret i perioden marts-august 2015 af NST's vildtkonsulenter.

Metode

DCE har foretaget DNA- ekstraktionerne i et DNA-laboratorium, der kun bliver benyttet til prøver, hvor DNA-koncentrationen forventes at være lille, som f.eks. i de tilsendte spytp prøver 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.). Samtidig med individbestemmelsen bestemmes kønnet ved markør for Y- og X-kromosomet.

Resultat af arts-identifikation

28_07_2015

Prøve nr	Nedlagt art	Dato	Område	Enhed	Art
SP95A	Får	17_04_2015	Lemvig	Vestjylland	hund
SP95B	Får	17_04_2015	Lemvig	Vestjylland	hund
SP96b	Lam	29_03_2015	Lemvig	Vestjylland	hund
SP97A	Får+lam, hals	29_03_2015	Lemvig	Vestjylland	hund
SP98	Lam, hals	22_04_2015	Skærbæk	Vadehavet	hund
SP99	Lam, hals	21_04_2015	Skærbæk	Vadehavet	hund
SP126	Lam	02_05_2015	Skærbæk	Vadehavet	Intet resultat
SP128	Lam	02_05_2015	Skærbæk	Vadehavet	hund

08_09_2015

Prøve nr	Nedlagt art	Dato	Område	Enhed	Art
SP94	Skotsk Højlandskvæg	23_03_2015	Billund Kommune	Vestjylland	intet resultat
SP143	Får	22_06_2015	Ikast Brande Kommune	Midtjylland	ulv
SP144A	Anguskalv	02_08_2015	Viborg Kommune	Vestjylland	intet resultat
SP147	Får Storåen	04_09_2015	Holstebro Kommune	Midtjylland	hund

Artsidentifikation

Mitokondrie-markøren: Til artsidentifikationen blev prøverne sekventeret 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. Resultaterne af de analyserede prøver viste, at én af spytpøverne, SP143 taget på et får i Ikast-Brande området, indeholdt DNA fra en ulv. Der blev påvist en DNA-sekvens med 99% match med ulv. De resterende sekvenser, hvor der blev opnået resultat, viste alle hund. SP95A, SP95B, SP96b og SP97A, alle fra Lemvig området, viste 100% match med hund. Det var den samme sekvens, der blev fundet i alle prøverne. SP98, SP99 og SP128, alle fra Skærbæk området, viste 100% match med hund. Det var den samme sekvens, der blev fundet i de tre prøver. De var dog forskellige fra sekvenserne fundet i prøverne fra Lemvig området. SP147 fra Holstebro området var ligeledes en hund, men havde en anden sekvens sammenlignet med dem fundet i de to andre områder. Ud fra dette kan vi konkludere, at det er mindst tre forskellige hunde, der har afsat spyt på de nedlagte får og lam, en i Lemvig området, en i Skærbæk området og en i Holstebro området. Om det er den samme hund indenfor de to områder, hvor der forekommer ens hunde-sekvenser, kan man ikke umiddelbart konkludere, da to forskellige individer sagtens kan have samme mitokondrie sekvens. Sekvenserne er vedlagt i bilag 1.

For tre af spytpøverne, SP94, SP126 og SP144A, to fra kvæg, en fra Billund og en fra Viborg området, og en fra lam fra Skærbæk området, var det ikke muligt at opnå resultat, da der, i overensstemmelse med den foreliggende aftale mellem NST og DCE Bioscience-Kalø omkring DNA-analyser af spytpøver på nedlagte husdyr, ikke blev opformeret en DNA-sekvens efter fire gentagelser af analyserne.

Det kan således med sikkerhed konkluderes, at det har været en ulv, som har fourageret på et får fra Ikast-Brande området.

Den positive prøve for ulv går videre til identifikation af individ og køn.

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

SP95A (100 % match med hund):

TCACCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGGTAAACCCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCA
TATAAGCATGTACATAATATTATATTCTTACATAGGACATATCAACTCAATCTCATAATTCATTGATCTGTCAGCAGTAATCAAATGC
ATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAAC

SP95B (100% match med hund):

TCACCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGGTAAACCCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCA
TATAAGCATGTACATAATATTATATTCTTACATAGGACATATCAACTCAATCTCATAATTCATTGATCTGTCAGCAGTAATCAAATGC
ATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAAC

SP96 (100% match med hund):

TCACCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGGTAAACCCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCA
TATAAGCATGTACATAATATTATATTCTTACATAGGACATATCAACTCAATCTCATAATTCATTGATCTGTCAGCAGTAATCAAATGC
ATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAAC

SP97A (100% match med hund):

TCACCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGGTAAACCCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCA
TATAAGCATGTACATAATATTATATTCTTACATAGGACATATCAACTCAATCTCATAATTCATTGATCTGTCAGCAGTAATCAAATGC
ATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAAC

SP98 (100% match med hund):

TGTTTCTCGAGGCATGGTGATTAAGCCCTTATTGGACTAAGTGATATGCATTCGGTTACTGTTGACAGATCAGTGAATTATGAGATT
GAGTTAGTATGCCTATGTAAGGATATAATATTATGTACATGCTTATATGCATGGGGCAAACCATTAATGCACGACGTACATAGGG
GAGGGAAGAAGGGTTTACCTGGAAATACTGACATAGCACAGTAGGGGTGA

SP99(100% match med hund):

TGTTTCTCGAGGCATGGTGATTAAGCCCTTATTGGACTAAGTGATATGCATTCGGTTACTGTTGACAGATCAGTGAATTATGAGATT
GAGTTAGTATGCCTATGTAAGGATATAATATTATGTACATGCTTATATGCATGGGGCAAACCATTAATGCACGACGTACATAGGG
GAGGGAAGAAGGGTTTACCTGGAAATACTGACATAGCACAGTAGGGGTGA

SP128 (100% match med hund):

TGTTTCTCGAGGCATGGTGATTAAGCCCTTATTGGACTAAGTGATATGCATTCGGTTACTGTTGACAGATCAGTGAATTATGAGATT
GAGTTAGTATGCCTATGTAAGGATATAATATTATGTACATGCTTATATGCATGGGGCAAACCATTAATGCACGACGTACATAGGG
GAGGGAAGAAGGGTTTACCTGGAAATACTGACATAGCACAGTAGGGGTGA

SP143 (99% match med ulv):

TCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGGTAAACCCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCAT
CATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACATATTAAGTCAATCTCATARTTCACTGATT
ATCAACAGTAATCGAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAACA

SP147 (100% match med hund):

TCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGGTAAACCCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCA
TATAAGCATGTACATAATATTATATCCTTACATAGGACATATTAAGTCAATCTCATAGTTCACTGATCTATCAACAGTAATCGAATGC
ATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAACA
