

# DNA analyse af formodede odder- ekskrementer og blodprøver fra udsatte oddere i Vestsjælland

---

Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi

Dato: 27. februar 2019

Liselotte Wesley Andersen

Institut for Bioscience

Antal sider: 10

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](mailto:dce@au.dk)  
<http://dce.au.dk>

# Indhold

Introduktion	3
Metoder	5
Resultater	5
Konklusion	6
Referencer	7
Bilag 1	8
Bilag 2	9
Bilag 3	10

## Introduktion

Danmarks Naturfredningsforening (DN) gennemførte i 2006 ved hjælp af frivillige en indsamling i Åmose komplekset i Vestsjælland af formodede odder-ekskrementer. Resultatet af de efterfølgende DNA-analyser påviste oddere i otte prøver (Andersen m. fl. 2016).

Senere i 2011/2012, i forbindelse med kvalitetssikring af formodede odder-ekskrementer (NOVANA overvågning), blev der indsamlet materiale af Naturstyrelsen Ribe, Ringkøbing, Ålborg og Aarhus samt på Fyn (Tabel 1). DNA-analyserne påviste oddere i alle prøverne (Tabel 1, bilag 1, 2) undtagen to, hvor sekvensernes kvalitet var for dårlige til at de kunne benyttes (data ikke vist), og for én af prøverne (LabId 32) var det ikke muligt at bestemme haplotype grundet en dårlig kvalitet.

Ligeledes i forbindelse med NOVANA overvågningen af odder i 2017 og kvalitetssikring af de formodede indsamlede odder-ekskrementer på Fyn og i Vestsjælland påviste DNA-analyser, at odderne på Fyn havde spredt sig til en stor del af Fyn (Andersen & Søgaard 2017a) (Tabel 1), og i Vestsjælland blev der også påvist odder i hovedparten af de indsamlede prøver (Andersen & Søgaard 2017b) (Tabel 1).

DN indfangede i 2015 tre oddere i Midtjylland og udsatte disse i Vestsjælland. Fra disse individer blev der udtaget blodprøver, der her sammenlignes med resultater af de tidligere DNA - analyser nævnt ovenfor.

**Tabel 1.** Oversigt over indsamlede formodede odder-ekskrementer og resultater af den genetiske analyse (haplotyper) i forbindelse med kvalitetssikring af NOVANA-overvågningen af odder i 2011-2012 i Jylland og på Fyn; Fyn og Vestsjælland i 2017 samt for tre oddere Danmarks Naturfredning Forening indfangede i Midtjylland og udsatte i 2015 i Vestsjælland. For LabId 32 var det kun muligt at bestemme til art men ikke hvilken haplotype prøven havde grundet en dårlig kvalitet.

### Jylland

LabId	MST_station	År	Indsamlings enhed	Lokalitet	Haplotyper
1	343D	2011	NST_Ribe	Kolding Å	OD1
2	302C	2011	NST_Ribe	Søvig Bæk	OD1
3	369A	2011	NST_Ribe	Rejsby Å	OD1
4	371A	2011	NST_Ribe	Gram Å	OD1
5	340A	2011	NST_Ribe	Konge Å	OD1
6	433B	2011	NST_Ribe	Vidå/Rudbøl Sø	OD1
7	337B	2011	NST_Ribe	Sneum Å	OD1
8	404D	2011	NST_Ribe	Surbæk	OD1
9	307A	2011	NST_Ribe	Holme Å	OD1
10	271A	2011	NST_Ribe	Nyminde Strøm	OD1
11	181B	2011	NST_Aarhus	Nimtofte Å	OD1
12	230A	2011	NST_Aarhus	Gudenå	OD1
13	214B	2011	NST_Aarhus	Aarhus Å	OD2
14	144A	2011	NST_Aarhus	Hevring Å	OD2
15	211C	2011	NST_Aarhus	Silkeborg Langsø/Gudenå	OD1
16	141A	2011	NST_Aarhus	Vejlebæk	OD2
17	183B	2011	NST_Aarhus	Hoved Å v Balle	OD2
18	229A	2011	NST_Aarhus	Salten Å	OD1
19	263C	2011	NST_Aarhus	Uldum Kær	OD2
20	267B	2011	NST_Aarhus	Gylling Å	OD2
22	111A	2011	NST_Aalborg	Lundgård Bæk	OD1

23	100B	2011	NST_Aalborg	Haslevgaard Å	OD1
24	053E	2011	NST_Aalborg	Bygholm Vejle	OD1
25	048C	2011	NST_Aalborg	Gerå	OD1
26	081B	2011	NST_Aalborg	Bjørnsholm Å	OD1
27	083D	2011	NST_Aalborg	Sønderup Å	OD1
28	056A	2011	NST_Aalborg	Vilbækminde Kanal	OD1
29	014B	2011	NST_Aalborg	Liver Å	OD1
30	010D	2011	NST_Aalborg	Uggerby Å	OD1
31	135F	2011	NST_Ringkøbing	Skalle Sø	OD1
32	131B	2011	NST_Ringkøbing	Horn Sø	Odder
34	139B	2011	NST_Ringkøbing	Tjele Å	OD1
35	209B	2011	NST_Ringkøbing	Karup Å	OD1
36	244A	2011	NST_Ringkøbing	Holtum Å	OD1
37	255B	2011	NST_Ringkøbing	Hemmet Å	OD1
38	189A	2011	NST_Ringkøbing	Storå	OD1
39	224A	2011	NST_Ringkøbing	Vorgod Å	OD1
40	105B	2011	NST_Ringkøbing	Harre Vig	OD1

Udsatte oddere DN\_barcode

DNOD1	208210000529752	2015		Sejs	OD1
DNOD2	208210000530883	2015		Brande	OD2
DNOD3	208210000531495	2015		Give	OD2

**Fyn**

Labld	MST_station			Lokalitet	Haplotype
OD363B		2012	NST_Fyn	Bellinge Bro	OD1
OD413A		2012	NST_Fyn	Thurø-dæmningen	OD1
FY1	615_56_B	2017	MST_Fyn	Stor Å v Højrup	OD1
FY2	615_56_C	2017	MST_Fyn	Stor Å v Varbjerg Strand	OD1
FY3	615_57_D	2017	MST_Fyn	Stor Å v Labølle dam	OD1
FY4	614_55_A	2017	MST_Fyn	Gamborg Vildreservat s udløb	OD2
FY5	614_55_B	2017	MST_Fyn	Viby Å, S Viby	OD1
FY6	614_56_D	2017	MST_Fyn	Stor Å v Nybro NV Graderup	Mink
FY7	613_55_B	2017	MST_Fyn	Hybæk v Dæmningsbro	OD1
FY8	613_55_C	2017	MST_Fyn	Brænde Å v Breding Bro	OD1
FY9	613_56_A	2017	MST_Fyn	Brænde Å v Kerte Bro	OD1
FY10	613_56_D	2017	MST_Fyn	Pugemølle Å vest for Ørsted	OD1
FY11	613_57_A	2017	MST_Fyn	Brænde Å vest for Skalbjer	OD2
FY12	613_58_E	2017	MST_Fyn	Odense Å under motorvej E20	OD2
FY13	613_59_B	2017	MST_Fyn	Vejrup Å v Vejrupgård	OD1
FY14	613_60_A	2017	MST_Fyn	Vindinge Å syd for Ullerslev	OD1
FY15	613_60_D	2017	MST_Fyn	Vindinge Å	OD2
FY16	612_57_C	2017	MST_Fyn	Odense Å v Nr. Broby	OD1
FY17	612_61_D	2017	MST_Fyn	Vindinge Å v dæmning	OD1
FY18	611_58_A	2017	MST_Fyn	Odense Å v Nedre Hillerslev	OD1
FY19	611_58_D	2017	MST_Fyn	Odense Å v Arreskov	OD1
FY20	610_58_B	2017	MST_Fyn	Hundstrup Å v udløb	OD1
FY21	610_59_A	2017	MST_Fyn	Hundstrup Å v Ågrønnehuse	OD1
FY22	610_59_C	2017	MST_Fyn	Syltemade Å v Åbro	OD1
FY23		2017	MST_Fyn	Sallinge Å v Fåborgvej	OD1

FY24	2017	MST_Fyn	Lindved Å, udløb Odense Å	OD2
FY25	2017	MST_Fyn	Stavis Å, udløb Odense kanal	OD2
FY26	2017	MST_Fyn	Rislebæk, 30 m opstrøms udløb i Arreskov Sø	OD1
FY27	2017	MST_Fyn	Hundstrup Å, vejbro på Strandvejen mel. Vr Åby og Fjellebro	OD1
FY28	2017	MST_Fyn	Viby Å, nedstrøms Nr Åby renseanlæg	OD1
FY29	2017	MST_Fyn	Hygind Bæk, Tyvs Banke øst for Hygind	OD1

### Vestsjælland

Labld	MST_station		Lokalitet	Haplotype	
Sj1	616_65_B	2017	MST_Sjælland	Åmose Å v Bromølle	OD3
Sj2	616_65_B	2017	MST_Sjælland	Åmose Å v Bromølle	OD3
Sj3	615_64_C	2017	MST_Sjælland	Bøstrup Å	OD3
Sj4	617_64_C	2017	MST_Sjælland	Bregninge Å v. Vejlebro	OD2
Sj5	617_64_C	2017	MST_Sjælland	Bregninge Å v. Vejlebro	OD2
Sj6	617_64_B	2017	MST_Sjælland	Bregninge Å v Bregninge	OD2
Sj7	617_64_B	2017	MST_Sjælland	Bregninge Å v Bregninge	Skovmår/zobel
Sj8	615_64_A	2017	MST_Sjælland	Hallenslev Bæk v Hallenslev	OD3
Sj9	616_66_C	2017	MST_Sjælland	Åmose Å v Undløse Å	Mink
Sj10	616_64_E	2017	MST_Sjælland	øvre Halleby Å v Øre Sø	OD3
Sj11	615_63_B	2017	MST_Sjælland	Nedre Halleby Å v Ornum Strand	OD3
Sj12	616_65_A	2017	MST_Sjælland	Åmose Å v Skellingsted	OD3

## Metoder

I forbindelse med kvalitetssikring af NOVANA overvågningen af odder i 2011 blev der indsendt 40 prøver og i 2012 to prøver fra Fyn. Disse blev analyseret som beskrevet i Andersen m. fl. (2016) og efterfølgende ligeledes sekventeret hos MACROGEN, Holland. De fremkomne 42 sekvenser blev analyseret ved at søge efter den samme sekvens i Genbank, der er en international database, som indeholder sekvenser fra både dyre- og plantearter. Et match blev accepteret, når den pågældende sekvens havde > 98% overensstemmelse med den mest sandsynlige art, der blev fundet i databasen.

DNA fra de tre blodprøver blev ekstraheret med EZNA® Tissue DNA Kit (OmegaBio Tek). Den genetiske markør (Cytochrom B) på mitochondriell DNA, der benyttes til at artsbestemme ilder, mink, odder, ræv, skovmår m.fl. og som samtidig har en baseparlængde på ca. 180bp (Hansen & Jacobsen, 1999) blev opformeret ved en PCR-kørsel. Det resulterende produkt blev sekventeret hos MACROGEN, Holland. Analyse metoderne for NOVANA overvågningen i 2017 er angivet i Andersen & Søgaard (2017a, b).

## Resultater

Udover at DNA-analyserne påviste, at der var tale om oddere, var kvaliteten på de fleste sekvenser så god, at det var muligt at sammenligne de observerede sekvenser fra de forskellige år for at undersøge, hvor mange forskellige sekvenser (haplotyper), der var observeret i de forskellige landsdele, samt hvorvidt der var overlap blandt disse.

På Fyn blev der i 2012 og 2017 (Tabel 1) (Andersen & Søgaard 2017a) observeret to forskellige haplotyper (OD1 og OD2, Tabel 2, bilag 1, 2), hvor OD 1 var den hyppigste. Da mitokondriegenomet, og dermed haplotypen, nedarves maternelt fra mor til afkom, er det ikke muligt at afgøre om to prøver med samme haplotype er samme individ. Derfor er det ikke muligt at beregne frekvenserne af haplotyperne. Med det forbehold er det dog tydeligt, at OD1 forekommer oftere end haplotype OD2 blandt de fynske prøver.

**Tabel 2.** Variable baser (A, C, T, G) i de observerede sekvenser, hvor kombinationen af baserne definerer de tre haplotyper OD1, OD2 og OD3. Dette er opnået ved at sammenligne sekvenserne fra bilag 1, 2 og 3.

Haplotype/baseparnr	56	78
OD1	A	T
OD2	A	C
OD3	G	C

Det samme er gældende, når man ser på resultaterne af de jyske prøver, hvor OD1 er observeret som eneste haplotype i vest-sydvest Jylland, Vestjylland og Nordjylland, mens både OD1 og OD2 er observeret i Midtjylland (Tabel 1). At der var 100% overensstemmelse mellem de opnåede sekvenser fra 2011 og haplotyperne OD1 og OD2 (bilag 1, 2) understøtter resultatet af artsbestemmelsen til odder.

I Vestsjælland er haplotypen OD2 observeret i få prøver (Tabel 1), hvilket også blev observeret i nogle af prøverne, der blev indsamlet i 2006 (Andersen m. fl. 2016). Den tredje haplotype, OD3 (Tabel 1,2, bilag 3), blev kun observeret i Vestsjælland og her blev den observeret i hovedparten af de indsamlede prøver (Andersen & Søgaard 2017b), mens OD1 ikke blev påvist i nogen af prøverne. Hvorvidt OD3 også forekom blandt prøverne indsamlet i 2006 er ikke muligt at vurdere på baggrund af kvaliteten af de eksisterende data. Resultatet af den genetiske analyse af blodprøverne fra de udsatte oddere påvist OD1 i den ene odder fra Sejs, mens OD2 blev påvist i de to andre oddere fra henholdsvis Give og Brande (Tabel 1).

## Konklusion

Sammenlignes forekomsten af de forskellige haplotyper mellem landsdelene kan det konkluderes, at haplotype OD3 ikke forekommer blandt prøverne fra Jylland og Fyn indsamlet i 2011, 2012, 2016 og 2017. Da odderne på Fyn har spredt sig fra Jylland i løbet af 2007-2017 eller længere, er det meget lidt sandsynligt at OD3 skulle forekomme blandt endnu ikke påviste oddere på Fyn. Ligeledes har analyserne af jyske oddere indsamlet fra et forholdsvist stort geografisk område ikke påvist OD3 haplotypen. Det betyder, at der er en lille sandsynlighed for, at OD3 skulle forekomme blandt de nulevende jyske oddere, og såfremt den gør, er den sjælden. Resultatet kan antyde, at OD3 kunne være en reminiscens af den tidligere større sjællandske odderpopulation og dermed være en "sjællandsk" haplotype. Det kan dog ikke afvises, at OD3 forekommer i andre geografiske områder end de indsamlede, og samtidig kan det heller ikke afvises at den er forekommet historisk i Jylland, da dette ikke er undersøgt. Den genetiske analyse af de tre udsatte jyske oddere understøtter, at observationen af OD3 ikke er et resultat af de tre udsatte odder, hvorfor det kan konkluderes, at der forekommer og har forekommet andre oddere i Vestsjælland end disse tre. Det var muligt at bestemme enkelte af sekvenserne

fra vestsjællandske oddere indsamlet i 2006 til haplotype OD2, hvilket betyder at denne haplotype allerede var i populationen ved udsætningen, mens andre af de positive odder prøver fra 2006 ikke er af tilstrækkelig god kvalitet til at fastsætte haplotypen. Det kan naturligvis ikke udelukkes, at de vestsjællandske prøver med OD2 haplotypen, er afsat af de to udsatte oddere med OD2, da der ikke er foretaget en individanalyse.

For at teste hypotesen, at OD3 haplotypen er en reminiscens af den sjællandske odderpopulation er det nødvendigt at foretage genetiske analyser af flere odderprøver fra den recente jyske population/populationer fra andre geografiske områder samt inkludere historiske museumseksemplarer fra både den jyske og sjællandske population og prøver fra den sydsvenske odderpopulation.

## Referencer

Andersen, LW & Søgaard, B., Madsen AB. (2016). DNA analyser af odderekskrementer fra Sjælland. Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø- og Energi. 13 sider.

Andersen, LW & Søgaard, B. (2017a). DNA analyse af mulige odder-ekskrementer indsamlet på Fyn. Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø- og Energi. 7 sider.

Andersen, LW & Søgaard, B. (2017b). DNA analyse af mulige odder-ekskrementer indsamlet på Sjælland. Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø- og Energi. 8 sider.

Hansen, M.M. & L. Jacobsen (1999). Identification of Mustelid species: otter (*Lutra lutra*), American Mink (*Mustela vison*) and polecat (*Mustela putorius*) by analysis of DNA from faecal samples. - J. Zool. L. 247, 177-181.

## Bilag 1

Haplotype OD1 (se tabel 1)

CTCATCAGTCGCACACATCTGCCGAGACGTCAACTACGGCTGGATTATCCGATATATACACG-  
CAAACGGAGCCTCCATATTCTTCATCTGCCTGTTCTACATGTAGGACGCGGCCTGTACTACGGATCTT  
ATATATTCCCCGAAACATGAA

Lutra lutra mitochondrial Cytb gene for Cytochrome b protein, haplotype H7

Sequence ID: [LT593916.1](#) Length: 1140 Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 189 to 340 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
	270 bits(146)	7e-69	150/152(99%)	0/152(0%)	Plus/Plus
Query	1	CTCATCAGTCGCACACATCTGCCGAGACGTCAACTACGGCTGGATTATCCGATATATACA	60		
Sbjct	189	CTCATCAGTCGCACACATCTGCCGAGACGTCAACTACGGCTGGATTATCCGATACATACA	248		
Query	61	CGCAAACGGAGCCTCCATATTCTTCATCTGCCTGTTCTACATGTAGGACGCGGCCTGTA	120		
Sbjct	249	CGCAAACGGAGCCTCCATATTCTTCATCTGCCTGTTCTACATGTAGGACGCGGCCTGTA	308		
Query	121	CTACGGATCTTATATATTCCCCGAAACATGAA	152		
Sbjct	309	CTACGGATCTTATATATTCCCTGAAACATGAA	340		



## Bilag 2

Haplotype OD2 (se tabel 1)

ACATCAGACACAACCACAGCCTTCTCATCAGTCGCACACATCTGCCGAGACGTCAAC-  
TACGGCTGGATTATCCGATACATACACGCAAACGGAGCCTCCATATTCTTCATCTGCCTGTTCCCTACATG  
TAGGACGCGGCCTGTACTACGGATCTTATATATTCCCCGAAACATGAA

Lutra lutra mitochondrial Cytb gene for Cytochrome b protein, haplotype H7

Sequence ID: [LT593916.1](#) Length: 1140 Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 166 to 340 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
	318 bits(172)	3e-83	174/175(99%)	0/175(0%)	Plus/Plus
Query	1	ACATCAGACACAACCACAGCCTTCTCATCAGTCGCACACATCTGCCGAGACGTCAACTAC	60		
Sbjct	166	ACATCAGACACAACCACAGCCTTCTCATCAGTCGCACACATCTGCCGAGACGTCAACTAC	225		
Query	61	GGCTGGATTATCCGATACATACACGCAAACGGAGCCTCCATATTCTTCATCTGCCTGTTT	120		
Sbjct	226	GGCTGGATTATCCGATACATACACGCAAACGGAGCCTCCATATTCTTCATCTGCCTGTTT	285		
Query	121	CTACATGTAGGACGCGGCCTGTACTACGGATCTTATATATTCCCCGAAACATGAA	175		
Sbjct	286	CTACATGTAGGACGCGGCCTGTACTACGGATCTTATATATTCCCTGAAACATGAA	340		

### Bilag 3

Haplotype OD3

ACATCAGACACAACCACAGCCTTCTCATCAGTCGCACACATCTGCCGAGACGTCAGC-  
TACGGCTGGATTATCCGATACATACACGCAAACGGAGCCTCCATATTCTTCATCTGCCTGTTCTACATGT  
AGGACGCGGCCTGTACTACGGATCTTATATATTCCCCGAAACATGAA

Lutra lutra mitochondrial Cytb gene for Cytochrome b protein, haplotype H7

Sequence ID: [LT593916.1](#) Length: 1140 Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 166 to 340 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
313 bits(169)	1e-81	173/175(99%)	0/175(0%)	Plus/Plus
Query 1	ACATCAGACACAACCACAGCCTTCTCATCAGTCGCACACATCTGCCGAGACGTCAGCTAC	60		
Sbjct 166	ACATCAGACACAACCACAGCCTTCTCATCAGTCGCACACATCTGCCGAGACGTCAACTAC	225		
Query 61	GGCTGGATTATCCGATACATACACGCAAACGGAGCCTCCATATTCTTCATCTGCCTGTTT	120		
Sbjct 226	GGCTGGATTATCCGATACATACACGCAAACGGAGCCTCCATATTCTTCATCTGCCTGTTT	285		
Query 121	CTACATGTAGGACGCGGCCTGTACTACGGATCTTATATATTCCCCGAAACATGAA	175		
Sbjct 286	CTACATGTAGGACGCGGCCTGTACTACGGATCTTATATATTCCCTGAAACATGAA	340		