

Individ identifikation af ulve fra spytprøver fra bidsår på husdyr og vildt samt fra ekskrementer

Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi

Dato: 12 juni 2014

Liselotte Wesley Andersen

Institut for Bioscience - Kalø

Rekvirent:
Naturstyrelsen
Antal sider: 5

Faglig kommentering:
Aksel Bo Madsen
Peter Sunde

Kvalitetssikring, centret:
Susanne Boutrup



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
Individ-identifikation	3
Konklusion	4
Bilag 1. DNA-profilerne over de 12 markører	5

Baggrund

Efter anmodning fra Naturstyrelsen (NST) har DCE foretaget yderligere analyserer på spytprøver samt ekskrementprøver, som er indleveret af NST gennem 2013, og som er fundet positive for ulv.

Materiale

Spyt- og ekskrementprøverne blev indleveret i 2013 af vildtkonsulenter i NST.

Metode

DNA- ekstraktionerne blev foretaget hos DCE 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 gen-markørerne (mikrosatelitter), der benyttes til at identificere individer (dvs. en DNA-profil) samt køn, er foretaget i et andet, særskilt laboratorium for at undgå kontaminering. Gen-markørerne, der benyttes til at identificere individer, er de samme, som benyttes i den tyske database på Senckenberg Institutet, Frankfurt (12 stk.). Samtidig med identificering af individ bestemmes kønnet ved markør for Y- og X-kromosomet.

Individ-identifikation

Mikrosatellit-markører til DNA-profil: Der blev benyttet 12 mikrosatellit-markører til DNA-profilen. Der blev gennemført 4 PCR-reaktioner for hvert individ. På trods af antallet af PCR reaktioner, der blev kørt for hvert individ var det ikke alle mikrosatellit-markørerne, der gav resultat. Det betyder, at DNA-profilerne for de forskellige individer, er baseret på forskelligt antal markører, hvilket medfører en usikkerhed for de pågældende bestemmelser. Denne usikkerhed bidrager til et mere konservativt estimat for antallet af individer i analysen. Identifikationen udføres ved at sammenligne DNA-profilerne på tværs af de analyserede prøver (Bilag 1). For at der er et match, skal profilen være ens over alle markørerne på nær én.

Til identifikationen af prøverne 1009-13 og Vi1 blev der benyttet henholdsvis 9 og 11 markører i DNA-profilen (Tabel 1). Der blev ikke fundet et perfekt match med nogle af de andre individer. Prøverne AB2 og U1 viste identisk DNA-profil over de 10 markører som U1 prøven var baseret på, hvorfor disse blev betragtet som værende det samme individ. DNA-profilen for RD1 prøven baseret på 11 markører blev ikke fundet blandt de andre prøver. DNA-profilen for UV18 er kun baseret på 8 markører. Denne DNA profil blev imidlertid genfundet hos en ekskrement prøve fra 2013 (UV8), der var gen-analyseret, da den ikke havde givet en brugbar DNA-profil tidligere. UV23, der havde en DNA-profil baseret på 12 markører, var identisk med DNA-profilen for halv-broderen til Thy-ulven, der blev identificeret maj 2013. For de andre fem individer blev der ikke fundet et direkte match i den tyske database. En foreløbig analyse udført i samarbejde med Senckenberg Institutet, Frankfurt viste, at individerne formentlig kommer fra det nordøstlige Polen eller Baltikum, men analysearbejdet pågår stadig.

Table 1. Resultater af individbestemmelsen ud fra DNA-analyse af spyt- og ekskrementprøver

Prøver	Lokalitet	Fund-tidspunkt	Art	Individ	Antal markører benyttet til ID
Spyt					
Får (1009-13)	Øbjerg/Toftlund	10/9/2013	Ulv	Nyt individ, han	9
Ged (Vi-1)	Hald Sø	Dec-13	Ulv	Nyt individ, han	11
Rådyr (AB2)	Ålbæk, Salling	30/12/2013	Ulv	Nyt individ, AB2=U1, han	11
Kalv (U1)	Ulfborg	21/10/2013	Ulv		10
Rådyr (RD1)	Børkop	M74	Ulv	Nyt individ, han	11
Ekskrementer					
UV8	Fjederholdt	25/2/2013	Ulv	Nyt individ, UV8=UV18, han	11
UV18	Gludsted	10/8/2013	Ulv		8
UV23	Haderup	Juli 2013	Ulv	Identisk til Thy-ulvens halvbroder, han	12

Konklusion

Der er i alt identificeret 6 forskellige individer af ulve på baggrund af det materiale, som NST i løbet af 2013 har indleveret til DCE. Kønsbestemmelsen viste, at alle individerne er han-ulve.

Bilag 1. DNA-profilerne over de 12 markører

Genetiske markører

Individer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12												
AB1(ulv)	140	148	221	225	264	268	244	248	117	125	219	223	157	157	141	149	136	154	148	172	216	236	0	0
U1(ulv)	140	148	221	225	0	0	244	248	117	125	219	223	157	157	141	149	136	154	148	172	216	236	0	0
uv23(ulv)	136	148	229	237	256	260	232	244	117	129	215	219	157	157	129	149	136	136	144	152	224	244	111	111
uv18(ulv)	140	148	221	225	264	264	0	0	0	0	0	0	157	161	125	125	136	160	144	152	0	0	113	113
uv8 (ulv)	140	148	221	225	0	0	248	248	125	125	219	223	157	161	125	125	136	160	144	152	224	240	113	113
RD1 (ulv)	140	144	217	225	264	264	244	244	125	125	215	219	157	157	0	0	136	136	144	172	244	244	115	115
Vi(ulv)	144	148	217	225	264	264	244	248	125	125	215	219	0	0	129	129	136	160	144	152	236	240	111	117
1009-13	140	144	217	225	256	264	236	236	117	117	219	227	0	0	0	0	136	160	144	152	232	232	0	0