

DNA-baseret bestandsovervågning afslører ulve (*Canis lupus*) i Danmark

Liselotte Wesley Andersen¹, Morten Elmeros¹, Peter Sunde¹, Kent Olsen², Christina Vedel-Smith², Thomas Secher Jensen² & Aksel Bo Madsen¹.

Ulve (*Canis lupus*) har i historisk tid været udbredt over hele det europæiske kontinent. Som top-prædatorer spiller de en stor rolle for at opretholde naturlige økosystemers funktion og struktur ved at regulere antallet af plante-planteædere og mellemstore rovdyr (Chapron et al. 2014, Randi 2011, Elmhagen & Rushton 2007). De blev udryddet i stort set hele Vesteuropa i løbet af det 18. og 19. århundrede og overlevede kun i fragmenterede bestande på den iberiske halvø og Italien samt i det østlige Europa. I Danmark blev den sidste ulv skudt i 1813 (Jensen 1993, www.nst.dk). I dag har den europæiske ulv rekoloniseret store dele af Europa (Spanien, Italien, Frankrig, Polen, Tyskland, Finland, Sverige) takket være fredninger. Samtidigt har bestandene af ulvenes naturlige byttedyr, store planteædere, også været i fremgang (Chapron et al. 2014, Randi 2011). I Tyskland indvandrede ulven i 2000 fra Polen (Wagner et al. 2012) og har siden bredt sig til bl.a. Schleswig-Holstein. I

2012 blev der fundet et dødt ulvelignende dyr i Nationalpark Thy. Efterfølgende genetiske analyser - baseret på en DNA-chip (en mikropode med DNA, der genkender gener fra prøver), der ellers benyttes til at identificere mange forskellige hunderacer - viste, at det døde dyr var en ulv, da den klart lignede ulve fra Tyskland (Fig. 1, Andersen et al. 2015). Senere blev den ved hjælp af andre genetiske markører, som tyske forskere fra Senckenberg Institutet benytter i deres DNA-register over ulve i Tyskland, identificeret til oprindeligt at komme fra et tysk kobbel, Milkeler-koblet i Sachsen, da dens DNA-profil blev genfundet i registret (Andersen et al. 2015). Det viste sig efterfølgende, at Thy-ulvens DNA-profil også blev fundet i et ekskrement indsamlet i Segeberg, Tyskland i september 2012, hvilket betyder at den har vandret ca 365 km i løbet af et par måneder (i alt ca. 850 km), og at ulven selv er genindvandret i Danmark (Andersen et al. 2015).

Da ulvens genkomst til Danmark først var konstateret, kom der efterfølgende mange henvendelser om forekomst af ulv i (Jensen et al. 2015). Dette affødte et behov for at kunne få be- eller afkræftet tilsyneladende ulveobservationer, samt få et overblik over antallet af individer af disse meget mobile dyr. DNA-spor har vist sig at være et meget effektivt værktøj. Derfor er der taget initiativ til at etablere et DNA-register med DNA-profiler af ulve registreret i Danmark som led i genetisk monitoring af ulvene. Den genetiske monitoring vil på sigt kunne benyttes til bestandsovervågning, da man ud fra DNA-registret kan estimere antallet af individer såvel som disses overlevelse og bevægelser i landskabet samt habitatvalg. Sådanne fangst-genfangst analyser kan foretages i samarbejde med tyske forskere fra Senckenberg Institutet og polske forskere fra Institute of Genetics and Biotechnology for om muligt at få et overblik over ulvenes bevægelser på tværs af grænser. Det første trin er at dokumentere resultaterne af de genetiske individanalyser og give en oversigt over de individer, der har kunnet identificeres i 2013 og 2014. Som det vil fremgå af disse første, foreløbige resultater, kan man vha. DNA-identifikation ikke blot spore hvor mange individer, der måtte optræde, men også rekonstruere deres bevægelser og tilholdssteder.

DNA-based monitoring unveils wolves in Denmark

Wolves have to a large extent recolonized their historical ranges across Europe during the last decades. In November 2012, it was proven genetically that a canid-like individual found dead in Thy National Park (56° 56'N, 8° 25' E) in Jutland, Denmark was a wolf. The DNA-profile was also discovered in the German wolf-DNA database disclosing that it was born in the Milkeler Pack in eastern part of Germany and had dispersed to Denmark. This initiated the establishment of a DNA-register of wolves in Denmark to start genetic monitoring of wolves for research and management purposes. A total of 31 positive DNA-profiles have been detected so far of which 18 profiles belong to different individuals, disregarding the dead Thy-wolf. Thus, one individual was recaptured nine times (seven in 2013 and twice in 2014) in the same area in central Jutland suggesting the first territorial wolf in Denmark. Two were recaptured three times, one in the Northwestern part of Jutland and the other in the Southwestern part. They were only detected within the same year and were most likely strayers, which may have left again. One individual was found twice, also in central Jutland. Finally, 14 individuals were only detected once in different geographical areas mostly in the central part of Jutland. This many single findings indicate that more wolves most likely have reached Denmark – without showing in samples and being detected individually. The territorial individual was also found in the German DNA-register and shown to be a half-brother of the Thy-wolf. Two of the single sample wolves probably came from a pack in western Poland and the rest were proven to be closely related to wolves from Northeastern Poland – Baltic area which was also the source for wolves in Western Poland and Germany.

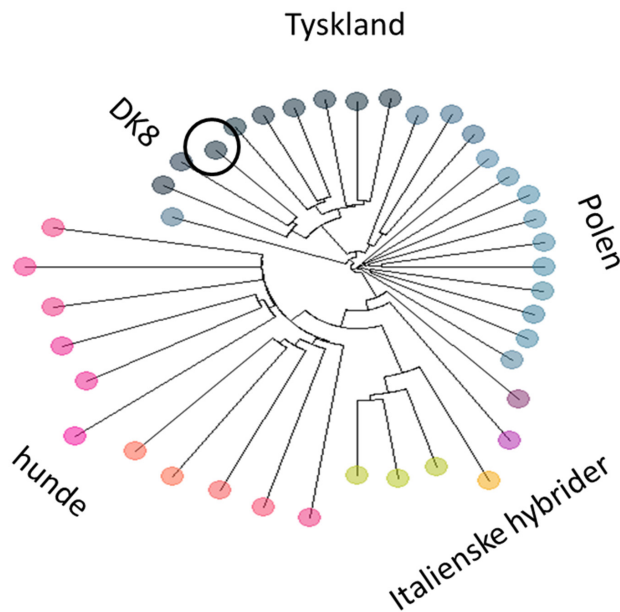
After accept of the manuscript, further DNA-analyses of wolf scats revealed the existence of female wolves in Denmark. How many is still unknown.

Key-words: *Canis lupus*, ulv, Denmark, DNA-registre, DNA-register, genetic identification, natural colonization, geographical origin

MATERIALER OG METODER

Prøver fra formodede ulve er indsamlet af frivillige og vildtkonsulenter fra Naturstyrelsen (se Jensen et al. 2015). Prøverne bestod af spytskrab taget på nedlagt vildt og husdyr samt ekskrementer. DNA fra både spytskrab og ekskrementer blev ekstraheret ved hjælp af Qiagen Investigator kit i et DNA-laboratorium, der kun bliver benyttet til prøver, hvor DNA-koncentrationen forventes at være lille, som fx i de tilsendte prøver. Dette gøres for at undgå kontaminering. Ligeledes er den efterfølgende opformering af de benyttede genemarkører foretaget i endnu et andet laboratorium for at undgå kontaminering. Det vigtigste i forbindelse med at undgå kontaminering mht de laboratorier der benyttes er, at der ikke tidligere er arbejdet med DNA fra vævsprøver fra hunde og ulve for at undgå falske positive resultater for nogen af arterne. Ligeledes blev alle prøver kørt med

¹Institut for Bioscience – Kalø, Aarhus Universitet, Grenåvej 14, DK-8410 Rønde. lwa@bios.au.dk, ²Naturhistorisk Museum, Aarhus, Wilhelm Meyers Allé 10, DK-8000 Aarhus C. tsj@nathist.dk



Figur 1. Et såkaldt "neighbourhood joining" træ baseret på de ca 22.000 genetiske markører (se Andersen et al. 2015) udviklet til at identificere hunde. Træet viser det genetiske slægtskab mellem de analyserede ulve fra Tyskland, Polen, hybrider eller krydsninger mellem ulve og hunde, samt italienske hunde. Jo tættere individerne (de farvede cirkler) grupperer med hinanden jo tættere beslægtede er de. DK8 er= individet fundet i Thy Nationalpark. De grå cirkler er ulve fra Tyskland, blågrå fra Polen, lyserøde/gule er hybrider mellem ulv og hund og lyserøde er italienske hunde (modificeret fra Andersen et al. (2015)).

Neighbourhood Joining tree based on c. 22.000 genetic markers (Andersen et al. 2015) developed for dog-breed identification. The tree shows the genetic relationship between wolves from Germany ("Tyskland"), Poland ("Polen"), hybrids between wolves and dogs ("italienske hybrider"), dogs from Italy ("hunde") and the Danish canid "DK8". The closer the individuals cluster (colored circles) the closer the relationship. DK8= individual found in Thy Nationalpark. Grey circles are German wolves, blue grey wolves from Poland, light red/yellow hybrids and light red Italian dogs (modified after Andersen et al. 2015).

både positive og negative kontroller for at undgå falske positive prøver for ulv.

Artsidentifikation

Til identifikation af art blev der benyttet en mitokondrie-DNA-markør ca 240 basepar lang (Caniglia et al. 2012), der kan adskille ulv og hund med meget stor sikkerhed. Markøren blev PCR opformeret i et særskilt laboratorium, og det efterfølgende produkt blev sendt til sekvensering. Sekvenserne blev analyseret og kvalitetskontrolleret med programmet Sequencher 5.3.2 (Sequencher®, Gene Codes Corporation), hvorefter sekvenserne blev bestemt til art ved at søge efter matchende sekvenser i den internationale NCBI's Genbank database. Når prøverne er bestemt til art, bliver de prøver, der er positive for ulv, udvalgt til den efterfølgende individidentifikation og kønsbestemmelse (jf. boks1).

Individidentifikation og kønsbestemmelse
Gen-markørerne (mikrosatellitter), der er

benyttet til at udarbejde DNA-profiler og dermed til at identificere individer, er de samme 12 markører, som benyttes i den tyske database på Senckenberg Institut, Frankfurt (Andersen et al. 2015) og samtidigt er kønnet bestemt ved mikrosatellit-markør, der ligger på henholdsvis Y- og X-kromosomet. Gen-markørerne blev PCR-opformeret ligeledes i et særskilt laboratorium og efterfølgende analyseret på en ABI 3730sekvenser (Andersen et al. 2015). DNA-profilerne fra de positive ulve-prøver blev sammenlignet indbyrdes for at finde individmatch indenfor Danmark, samt med DNA-databasen over ulve i Senckenberg. Dette kunne lade sig gøre, da den anvendte DNA-analysemetode er kalibreret mellem de to laboratorier. DNA-profilerne sammenlignes i GenAlEx 6.5 (Peakall & Smouse 2006), hvor man leder efter match, mens sandsynligheden for, at to ubeslægtede individer ved en tilfældighed vil bære den samme genotype på tværs af alle markørerne blev beregnet i GIMLET (Valière 2002).

RESULTATER OG DISKUSSION

Der foreligger indtil videre 31 positive prøver fra ulv fra 2012-2014, hvor det har været muligt at identificere individ og køn. Ud fra dette materiale, kan der konstateres 18 forskellige individer, som alle er hanner (Tabel 1, Fakta boks 1 og 2).

Genfangst, geografisk fordeling i Danmark og oprindelsesbestand

Ud over den døde ulv fra november 2012, fordelte de individ-identificerede ulve sig på 11 forskellige individer i 2013 og, foreløbigt (nogle prøver fra 2014 analyseres stadig) syv nye individer i 2014 (Tabel 1). Af de 18 "levende" individer, optræder fire med mere end en enkelt prøve (dvs. der er fundet spor af dem flere gange), mens de øvrige 14 foreløbigt kun er repræsenteret med en enkelt prøve hver. Det store antal individer, som faktisk er eller har befundet sig i Danmark, men alligevel kun optræder med en enkelt prøve, tilsiger, at der rent statistisk bør have optrådt yderligere et antal (u-opdagede) individer, som vi ikke har fundet prøver fra.



Foto: Bente og Amdi Nedergaard

BOKS 1. ARTS-IDENTIFIKATION

Analyserne til individ og køn er mere tidskrævende sammenlignet med identifikationen til art. Det skyldes flere ting. Dels artsidentificeres prøverne ved hjælp af mitokondrie-DNA, som findes i højere koncentrationer i celler end de genetiske markører, der benyttes til individ- og kønsbestemmelse, som sidder i det DNA, der findes i cellekernen og derfor kun findes i en kopi. Dels på grund af at DNA-kilderne, spyt og ekskrementer, begge er fyldt med DNA fra andre organismer. Det er meget vanskeligt i selve oprensningen af DNA'et fra disse kilder at oprense DNA udelukkende fra ulv eller hund. Det betyder, at det oprensede DNA er en suppe af DNA, der indeholder DNA fra byttedyr, som ulven eller hunden har spist, hvis det er fra ekskrementer, eller fra de byttedyr som er nedlagt, og hvorfra der er taget en spytprøve. Et byttedyr, nedlagt af ulv, kan dernæst som ådsel være gnavet i af hund – eller vice versa. Ud over det vil der altid være DNA fra bakterier og svampe mm. i større eller mindre koncentrationer, hvilket afhænger af hvornår på året prøven er taget, og hvordan den er opbevaret.

Tabel 1. DNA-profiler over de hidtil identificerede ulve i Danmark 2013-august 2014. M= de genetiske markører. S,SS = sandsynlighed for unik DNA-profil (GIMLET, Valière 2002).

DNA-profiles of the wolves identified so far in Denmark 2013-2014. M= genetic markers, S,SS= probability of a unique DNA-profile (GIMLET, Valière 2002).

Id	Områder	År	Køn	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	S	SS
UV001	Midtjylland	2013	han	CF	DF	DE	BE	BB	DE	AA	BG	CC	BD	BG	BB	2,0E-12	4,8E-05
UV001	Midtjylland	2013	han	CF	DF	DE	BE	BB	DE	AA	BG	CG	BD	BG	BB		
UV001	Midtjylland	2013	han	CF	-	DE	BE	BB	DE	AA	BG	CC	BD	-	BB		
UV001	Midtjylland	2013	han	CF	DF	DE	-	BB	-	AA	BG	CC	BD	BG	BB		
UV001	Midtjylland	2013	han	CF	DF	DE	BE	BB	DE	AA	BG	CC	BD	BG	BB		
UV001	Midtjylland	2013	han	CF	DF	DE	BE	BB	DE	AA	BG	CC	BD	BG	BB		
UV001	Midtjylland	2013	han	CF	DF	DE	BE	BB	DE	AA	BG	CC	BD	BG	BB		
UV001	Midtjylland	2014	han	CF	DF	DE	BE	BB	DE	AA	BG	CC	BD	BG	BB		
UV001	Midtjylland	2014	han	CF	DF	DE	BE	BB	DE	AA	BG	CC	BD	BG	BB		
UV002	Midtjylland	2013	han	EF	DD	AF	CD	AA	DF	AA	BG	BC	BE	BG	BB	1,1E-10	1,3E-04
UV003	Midtjylland	2013	han	CE	-	DF	CD	AB	-	AB	BG	CH	BC	GG	BB	4,4E-09	5,0E-04
UV004	Midtjylland	2013	han	DF	BC	-	EE	AC	EF	AB	AA	CG	BD	BF	CC	6,8E-14	3,5E-05
UV004	Midtjylland	2013	han	DF	BC	FF	-	AC	-	AB	AA	CG	BD	-	CC		
UV005	Vestjylland	2013	han	DF	BC	FG	DE	BC	EF	AA	CG	CF	BC	BC	CE	4,9E-14	2,2E-05
UV005	Vestjylland	2013	han	DF	BC	-	DE	BC	EF	AA	CG	CF	BC	BC	CE		
UV005	Vestjylland	2013	han	DF	BC	-	DE	BC	EF	AA	CG	CF	BC	BC	CC		
UV006	Nordvestjylland	2013	han	DD	CD	FG	DD	AB	FG	AA	DG	GG	BE	GG	BB	1,1E-11	8,4E-05
UV007	Nordvestjylland	2013	han	FF	EF	EF	AC	AA	GG	AB	CG	BC	CD	FG	BF	7,3E-17	1,2E-05
UV008	Sydvestjylland	2013	han	DE	AC	DF	CE	AB	DF	AA	BC	CG	BD	EF	CD	2,5E-12	3,3E-05
UV009	Sydjylland	2013	han	DE	AC	DF	CD	AC	DE	AA	BG	CC	BD	DG	CD	4,5E-12	5,4E-05
UV010	Vestjylland	2013	han	EF	AC	FF	CD	AA	EE	AB	BB	CG	BD	GG	BD	4,2E-11	8,6E-05
UV011	Midtjylland	2013	han	DF	AC	FF	CD	AB	DF	-	BB	CG	BD	EF	BE	5,5E-11	1,1E-04
UV012	Djursland	2013	han	CE	DD	FF	DE	AB	BB	AA	BD	BG	BE	BB	BB	5,4E-13	5,6E-05
UV013	Djursland	2014	han	AF	AD	-	DD	AA	DE	AC	BF	BG	BE	DE	BF	1,1E-11	1,1E-04
UV014	Midtjylland	2014	han	CC	BC	FG	DE	AB	DD	AC	FF	CG	BE	CD	AB	1,7E-13	3,5E-05
UV015	Midtjylland	2014	han	AB	-	-	DD	AB	AB	AA	BG	DH	BD	BC	BB	3,8E-11	3,9E-04
UV016	Sydjylland	2014	han	FF	DD	-	DE	AC	DG	CD	AE	AA	AD	CC	-	7,3E-15	3,8E-05
UV017	Østjylland*	2014		under analyse													
UV018	Sydvestjylland	2014	han	DD	BC	-	DD	AC	CF	CD	GG	AG	BD	AB	BD	4,2E-13	6,9E-05
UV018	Sydvestjylland	2014	han	DD	BC	FF	DD	AC	CF	-	GG	-	BD	AB	BD		
UV018	Sydvestjylland	2014	han	DD	BB	-	DD	AC	CF	-	-	-	BD	AB	BD		

* viser individet med en anden mitokondrie-DNA haplotype.

* individual with another mtDNA haplotype compared to the rest but the DNA-profile is still being analysed.

Krondyr taget af ulv i St. Hjøllund plantage. Foto: Thomas Secher Jensen



Ved en sammenligning af DNA-profilerne med det tyske DNA-register, kunne den familiemæssige oprindelse bestemmes for tre af de 11 individer fra 2013. Det ene individ (UV001) kom fra samme kobbel som Thy-ulven, idet de havde samme mor, men forskellig far. Dvs. de var halvbrødre. De to andre individer viste sig at stamme fra et polsk kobbel, Lubsko-koblet, hvor deres DNA-profiler viste, at de højst sandsynlig var søskende til ulve fra dette kobbel. Individ UV001 blev påvist ni gange i det midtjyske, syv gange i 2013 og indtil videre to gange i 2014 (Fig. 2). I 2013 blev den fundet fire gange i området omkring Bryrup og Vrås og tre gange i området omkring Haderup og Feldborg og i 2014 blev den påvist to gange i området omkring Harrild Hede (Fig. 2).

På baggrund af de mange fund af UV001 i 2013 og 2014 og tilmed i samme område, er det den første ulv, som er hjemmehørende, fastboende i Danmark og med meget stor sandsynlighed også territoriehævdende.

To andre ulve, UV005 og UV018, blev hver påvist tre gange. UV005 er påvist i to forskellige områder, Ulfborg/Vemb og Ålbæk ved Salling i 2013 (Fig. 2). UV018 er påvist i spytpåvis taget på samme sted i april, maj og august i 2014 i det sydvestlige Jylland i området omkring Skærbæk (Fig. 2). Denne ulv er ikke påvist i ekskrementprøver, og der er ikke indleveret spytpåvis fra området siden efteråret 2014, så denne ulv har formodentlig været en strejfer på gennemgang. UV004 er påvist to gange i området omkring Fjeder-

holt og Gludsted (Fig. 2). De 14 enkeltfund fordeler sig jævnt ud over Jylland, med et tyngdepunkt af observationer i det centrale Jylland (Fig. 3).

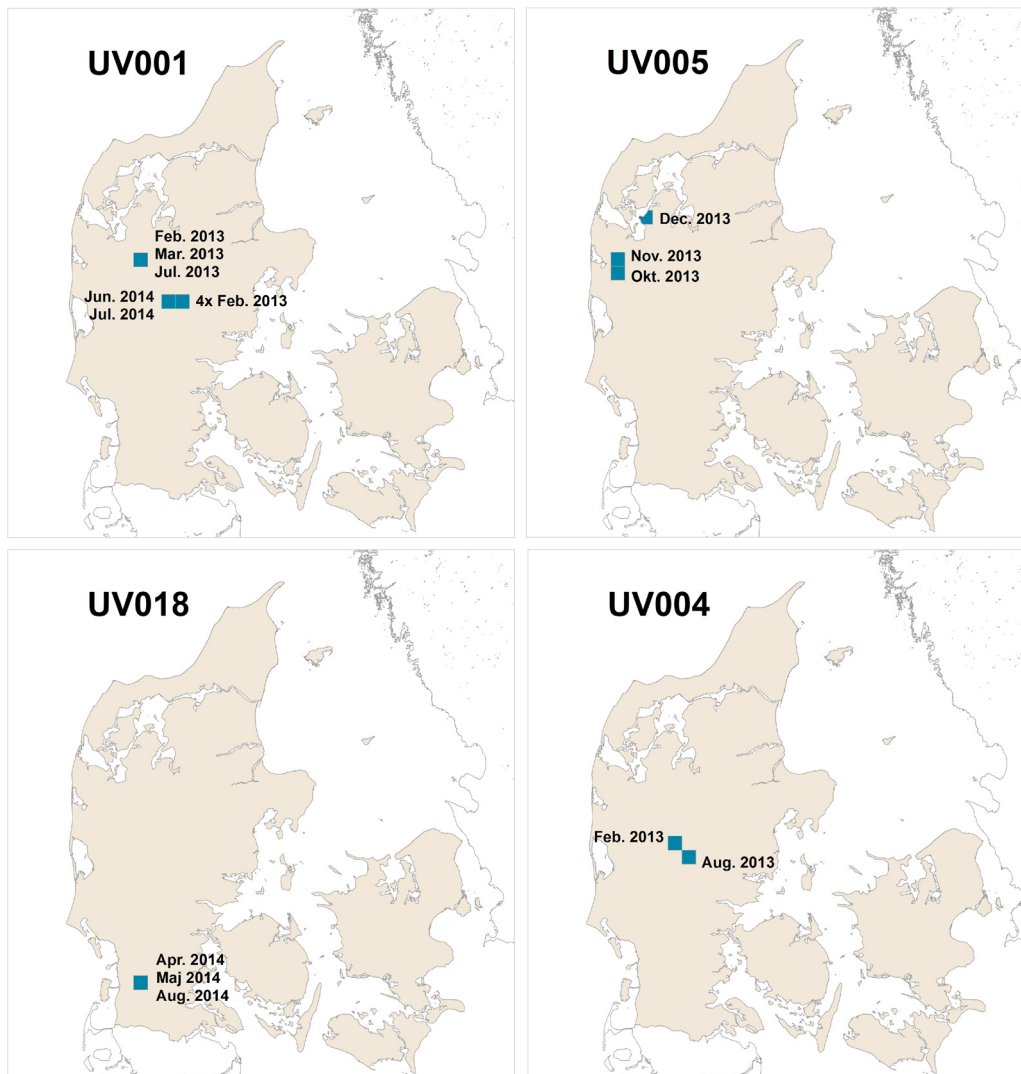
Der blev ikke fundet andre identiske DNA-profiler i det tyske DNA-register, hvilket måske ikke er så overraskende, da dette ulve-register ikke er komplet. Ved hjælp af referencemateriale fra andre europæiske ulve fra det nordøstlige Polen og Baltikum, blev der foretaget en populationsgenetisk analyse i 2014 af de resterende otte individer påvist i 2013, for om muligt, at identificere, hvilken bestand de oprindeligt kom fra. Analysen blev udført i samarbejde med Senckenberg Institutet. Resultatet viste, at ulvene i Danmark var tættest beslægtet med ulve fra det nordøstlige Polen-Baltikum,

BOKS 2. Individ-identifikation (tabel 1)

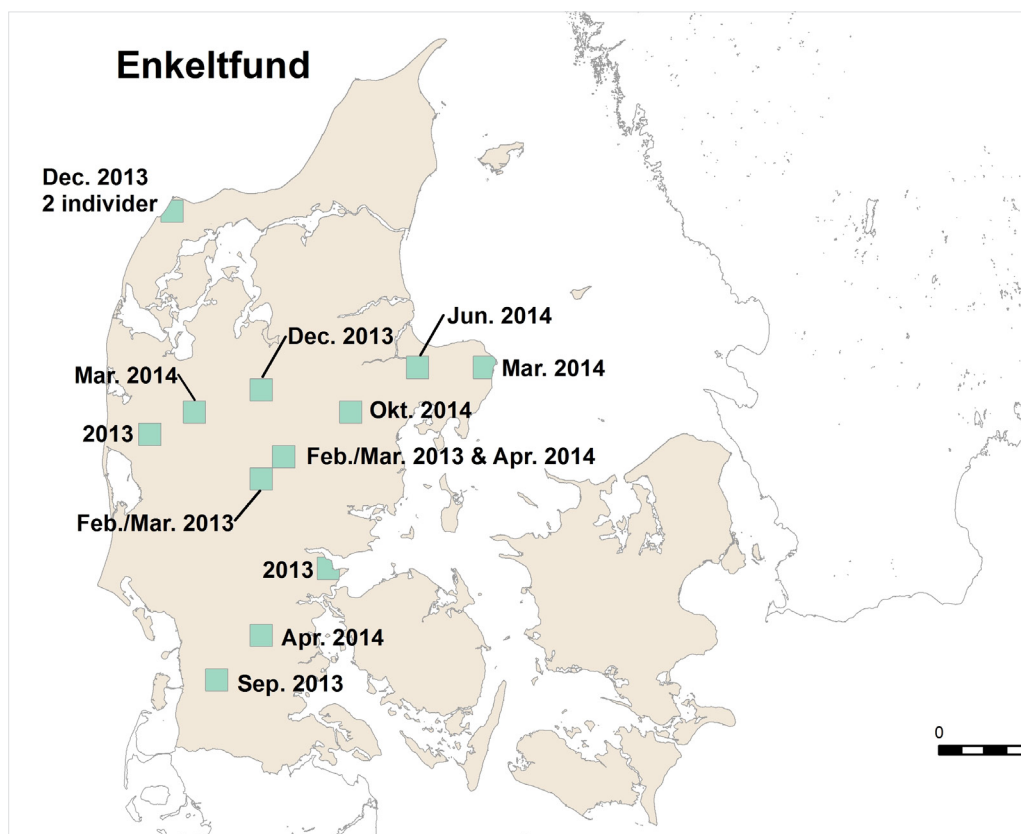
Det bemærkes, at det ene individ, UV017, stadig er under analyse for individ- og kønsbestemmelse, men stadig betegnes som et individ. Det skyldes, at dens mitokondrie-DNA-haplotype ikke er fundet blandt resten af de analyserede individer, og derfor er det muligt at konkludere, at det er et selvstændigt individ. De genetiske markører, som benyttes til at danne DNA-profilen for et individ, er angivet med forskellige farver og er kaldt M. Bogstaverne i hver af de genetiske markører angiver, om de forskellige individer har samme genotype. F.eks. har individ UV008 og UV009 den samme genotype (DE) i M1. Går man videre til M4 og M5 for samme to individer, har UV008, CE og AB for henholdsvis M4 og M5, mens UV009 har CD og AC. Det betyder, at det ikke er samme individ, men at de deler to gener (alleler) i de to markører (gen C i M4 og gen A i M5). DNA-profilen er bogstavskombinationen på tværs af de 12 genmarkører for det enkelte individ.

For at en ny-analyseret DNA-profil bliver bestemt til at være en profil, der allerede eksisterer i registret, skal den have samme bogstavskombination over alle markørerne (M) på nær en enkelt markør. Den konservative tilgang skyldes, at der på grund af det fragmenterede DNA kan være gener (bogstaver), der ikke bliver opformet - det falder ud (allel dropout). Det er sket i f.eks. den sidste prøve af UV018 i M2, hvor der mangler et C. Ligeledes er det ikke alle markørerne, der har givet en bogstavskombination, hvilket er angivet med "-" i tabellen. Når den overvejende del af markørerne har fungeret og er identiske med en anden DNA-profil, betragtes de som samme individ (UV018). I tabellen er DNA-profilerne for det samme individ angivet ved samme farveangivelse på tværs af de 12 markører. Individ UV001's DNA-profil er påvist ni gange indenfor den tidligere angivne tidsramme, UV004's DNA-profil er påvist to gange, UV005 er påvist tre gange og UV018 er påvist tre gange.

Hvor sikkert er det, at det er de samme DNA-profiler, der er påvist for de fire individer? Dette er forsøgt angivet i tabel 1 under S og SS. Disse er sandsynligheden for at finde den pågældende DNA-profil tilfældigt. S er sandsynligheden, hvor vi antager individerne ikke er søskende, mens SS er sandsynligheden for at finde DNA-profilen, hvis der tages højde for, at de kan være søskende. Det fremgår tydeligt, at det har stor indflydelse på sandsynligheden for at finde den samme DNA-profil, hvis der kan forekomme søskende i bestanden. Sandsynligheden, for at de fundne DNA-profiler er fra forskellige individer, er væsentlig lavere, hvis de er ubeslægtede individer i forhold til hvis de er søskende, men på trods af denne forskel er der stadig en meget lille sandsynlighed for at finde et andet individ med den samme DNA-profil. Med andre ord, når der er to DNA-profiler, hvad er sandsynligheden for at de rent faktisk er to forskellige individer, selv om de har samme DNA-profil? Den er 0,000502 for DNA-profil UV003 svarende til 0,5 %. Det betyder, at der er 0,5 % chance for at finde et andet individ med den samme DNA-profil uden, at det er samme individ, når man tager højde for, at der er søskende blandt individerne. At påvise at der er søskende blandt individerne, kan DNA-profilerne også benyttes til. Da det ikke er muligt at adskille forældre-afkom relationer fra søskende-relationer, og der ikke er fundet hun-ulve blandt de hidtidig analyserede individer, så vil et slægtskab, hvor to individer deler mindst et af hvert af bogstaverne i de enkelte markører over alle markørerne, betragtes som en søskende-relation. Ud fra denne antagelse så kan individ UV002 og UV003, UV009 og UV010 samt UV011 og UV013 være søskendepar. UV002 og UV003 er de to ulve, der kommer fra Lubsko koblet, hvilket antyder, at disse kan have vandret sammen fra det vestlige Polen til Danmark. På baggrund af disse individanalyser konkluderer vi, at der har været mindst 19 forskellige ulve i Danmark i perioden fra 2012 til efterår 2014, når den døde Thy-ulv bliver inkluderet. Samtidigt viser kønsbestemmelserne, at det udelukkende har været hanner på dette tidspunkt.



Figur 2. Den geografiske og tidsmæssige fordeling af de fire individer der er blevet påvist ni, tre, tre og to gange. Forekomsterne er angivet i 10 x 10 km² felter. *Map of the geographical and temporal distribution of four individuals that were detected nine, three, three and two times among the analysed samples. Grid size 10 x 10 km².*



Figur 3. Den geografiske og tidsmæssige fordeling af de individer der er blevet påvist én gang i 2013 og 2014. Forekomsterne er angivet i 10 x 10 km² felter. *Map of the geographical and temporal distribution of individuals that were only detected once in 2013 and in 2014. Grid size 10 x 10 km².*

hvor bestanden anslås at tælle 1000-1400 dyr (Large Carnivore Initiative for Europe 2007, Chapron et al. 2014). Denne bestands størrelse og ulves generelt høje mobilitet taget i betragtning, er det derfor plausibelt, at det er fra dette område, at hovedparten af strejfulvene i Danmark oprindeligt kommer fra, og det er også fra dette område, at der indvandrer ulve til det vestlige Polen og Tyskland (Czarnomska et al. 2013).

Konklusion og perspektiver

I betragtning af at det nærmeste tyske ulvepar holder til blot 200 km fra den danske grænse, vil det kun være et spørgsmål om tid, før den første hun bliver dokumenteret i Danmark og det første danske ynglepar vil være en realitet. Behovet for at kunne monitorere de danske og nordtyske ulve formodes at stige, i takt med at bestanden vokser. Genetisk bestandsmonitoring har ind til nu kunnet give befolkning og myndigheder den basale bestandsinformation om de hidtidige danske ulveforekomster. Uden denne viden ville den forvaltningsmæssige diskussion været baseret på i høj grad udokumenterede informationer. I betragtning af at de politiske diskussioner om ulveforvaltning er meget følsomme og følelsesladede, er klare og utvetydige svar vedrørende faktuelle forhold alfa og omega. Hvor mange ulve der er, hvem de er, deres køn, hvor de kommer fra, og hvorledes de bevæger sig rundt i vores landskaber, er alt sammen grundlæggende spørgsmål, man må have rede på, før man kan diskutere, hvorledes man skal forvalte. DNA-baseret overvågning har vist sig at kunne give den bestandsoversigt, der kan give de faktuelle svar.

Med den igangværende bestandsudvikling i Tyskland og Polen må antallet af ulve i Danmark forventes at stige fremadrettet. I notat af Madsen et al. (2013) blev der foretaget et skøn over, hvor meget egnet habitat der er for ulve i Jylland. Forfatterne forudså, at der var plads til ca 10 familiegrupper, hvis man udelukkende inkluderede ulvenes biologi i skønnet. Hvor mange der faktisk er plads til, afhænger af sameksistensen mellem ulve og mennesker. Ulvene i Danmark betragtes som en del af den centraleuropæiske ulvebestand, fordi der er en naturlig udveksling af

individer på tværs af grænsen til Tyskland og videre. Det har den genetiske identifikation af ulve i Danmark præsenteret i herværende studie bevist. Ulvene er strejfer fra dels Tyskland og det nordøstlige Polen. Danmark vil ikke kunne oppebære sin egen ulve-bestand uden bidrag sydfra. Derved bliver ulvene i Danmark en naturlig del af den central-europæiske bestand og bør derfor forvaltes i et tæt samarbejde med bl.a. Tyskland og Polen.

Afsluttende note

Efter manuskriptets redaktionelle behandling, har analyser i april 2015 afsløret spor fra fire forskellige hunulve i ni forskellige prøver fra henholdsvis, Nord-, Midt-, Sydjylland (jf. også Jensen et al. 2015).

TAK

En stor tak til alle involverede parter især til Dr. Carsten Nowak og Dr. Verena Harms, Senckenberg Institutet, Frankfurt, Tyskland, for adgang til den tyske database over DNA-profiler fra ulve i Tyskland og ikke mindst for samarbejdet omkring laboratorie- og dataanalyserne. Ligeledes takkes alle de frivillige, der har været øjne, ører og hænder, og som har indleveret prøver til projektet. Vildtkonsulenterne i de vestlige Jylland har ligeledes været en stor hjælp både med information og indsamling af prøver. Den foreløbige database med DNA-profil på ulve i Danmark er udarbejdet med økonomisk støtte fra 15. Juni Fonden, uden hvilken denne undersøgelse ikke havde været mulig.

Opbygningen af DNA-registret sker i samarbejde med CEWOLF konsortiet (Consortium for the conservation genetic study of the Central European wolf) bestående af Conservation Genetics Group, Senckenberg Research Institute, Tyskland (Senckenberg Institutet), LUPUS Wildlife Consultancy, Tyskland, Association for Nature Wolf, Polen, Institute of Genetics and Biotechnology, University of Warsaw, Polen og Animal Ecology team, Alterra-Wageningen UR, Holland.

CITTERET LITTERATUR

Andersen LW, Harms V, Caniglia R, Czarnomska SD, Fabbri E, Jędrzejewska B, Kluth G, Madsen AB, Nowak C, Pertoldi C, Randi E, Reinhardt I, Vik Stronen A 2015: Long-distance

dispersal of a wolf, *Canis lupus*, in Northwestern Europe. – Mamm. Res. 60: 163-168.

Caniglia R, Fabri E, Cubaynes S, Gimenez O, Lebreton JD, Randi E 2012: An improved procedure to estimate wolf abundance using non-invasive genetic sampling and capture-recapture mixture models. – Cons. Genetics 13: 53–64.

Chapron G, Kaczensky P, Linnell JDC, von Arx M, Huber D. et al. 2014: Recovery of large carnivores in Europe's modern human-dominated landscapes. – Science 346: 1517-1519.

Czarnomska SD, Jędrzejewska B, Borowik T, Niedziałkowska M, Stronen AV et al. 2013: Concordant mitochondrial and microsatellite DNA structuring between Polish lowland and Carpathian Mountain wolves. – Cons. Genetics 14: 573-588.

Elmhagen B, Rushton SP 2007: Trophic control of mesopredators in terrestrial ecosystems: top-down or bottom-up? – Ecol. Lett. 10: 197-206.

Jensen TS, Olsen K, Elmeros M, Sunde P, Vedel-Smith C, Madsen AB, Andersen LW 2015: Genindvandring af ulven (*Canis lupus*) i Danmark. – Flora & Fauna 121 (1+2): 48-54.

Large Carnivore Initiative for Europe 2007 *Canis lupus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 17 March 2015

Madsen AB, Andersen LW, Sunde P 2013: Ulve i Danmark - hvad kan vi forvente. - Notat fra DCE. Nationalt Center for Miljø og Energi af 14. februar 2013. 20 sider.

Peakall R, Smouse PE 2006: GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. – Mol. Ecol. Notes 6: 288-295.

Randi E 2011: Genetics and conservation of wolves *Canis lupus* in Europe. – Mamm. Rev. 41: 99-111.

Valière N 2002: GIMLET: A computer program for analysing genetic individual identification data. – Mol. Ecol. Notes 2: 377-379.

Wagner C, Holzapfel M, Kluth G, Reinhard I, Ansoerge H 2012: Wolf (*Canis lupus*) feeding habits during the first eight years of its occurrence in Germany. – Mamm. Biol. 77: 196–203.