

DNA-analyser fra ulvene GW923f, GW675f og GW491m samt supplerende artsbestemmelse af GW923f

Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi
og
Naturhistorisk Museum, Aarhus

Dato: 1. februar 2019

Kent Olsen¹, Peter Sunde², Michael Møller Hansen² og Philip Francis Thomsen²

¹Naturhistorisk Museum, Aarhus

²Institut for Bioscience, Aarhus Universitet

Rekvirent:
Miljøstyrelsen
Antal sider: 17

Faglig kommentering:
Aksel Bo Madsen
Kvalitetssikring, centret:
Jesper R. Fredshavn

Indhold

Baggrund	3
De konkrete spørgsmål fra Miljøstyrelsen	3
Spørgsmål a	3
Spørgsmål b	5
Spørgsmål c	8
Spørgsmål d	10
Referencer	10
Bilag	12
Bilag 1	12
Bilag 2	15

Baggrund

I forbindelse med den verserende retssag, hvor en ulv blev nedlagt på en mark i Vestjylland, er det bl.a. blevet fremført, at Miljøstyrelsen ikke vil offentliggøre relevante DNA-analysesekvenser. Miljøstyrelsen modtager alene DNA-resultaterne og ikke analysesekvenserne for mitokondrielt DNA eller genotypedata for mikrosatellitter, hvorfor Miljøstyrelsen udelukkende har haft mulighed for at offentliggøre de overordnede konklusioner baseret på DNA-resultaterne. For at skabe klarhed i det aktuelle spørgsmål om den nedlagte ulvs oprindelse, har Miljøstyrelsen imidlertid anmodet Nationalt Center for Miljø og Energi (DCE) om at rekvirere den dokumentation (analysesekvenserne samt genotypedata) som ligger til grund for resultatet af DNA-analysen af den nedlagte ulv GW923f samt dennes forældre GW675f og GW491m. Analysesekvenser og genotypedata skal vedlægges som bilag til det faglige notat, hvori der redegøres for den øvrige kendte del af stamtræet til den nedlagte ulv GW923f.

I notatet bedes Nationalt Center for Miljø og Energi (DCE) endvidere besvare følgende spørgsmål:

- *Hvad viser de genetiske data for ulvene GW923f, GW675f og GW491m og hvordan er sammenhængen mellem disse ulve og andre ulve i den Centraleuropæiske bestand?*
- *Kort før ulven GW923f blev nedlagt blev der optaget en række film af ulven. Heriblandt en optagelse, hvor en traktorfører kører efter GW923f. Udviser GW923f i disse optagelser en adfærd, der kunne indikere, at der er tale om en ulvehybrid?*
- *Indikerer GW923f's fænotypiske karakteristika (fysisk fremtoning), at der var tale om en ulv eller en ulvehybrid?*
- *Er der ud fra en samlet vurdering af GW923f's slægtskabsbeskrivelse, adfærd og fænotypiske karakteristika indikationer på, at der skulle være tale om en ulvehybrid?*

Miljøstyrelsen har ønsket, at notatet så vidt muligt er beskrevet så det er forståeligt for lægmand.

De konkrete spørgsmål fra Miljøstyrelsen

Spørgsmål a

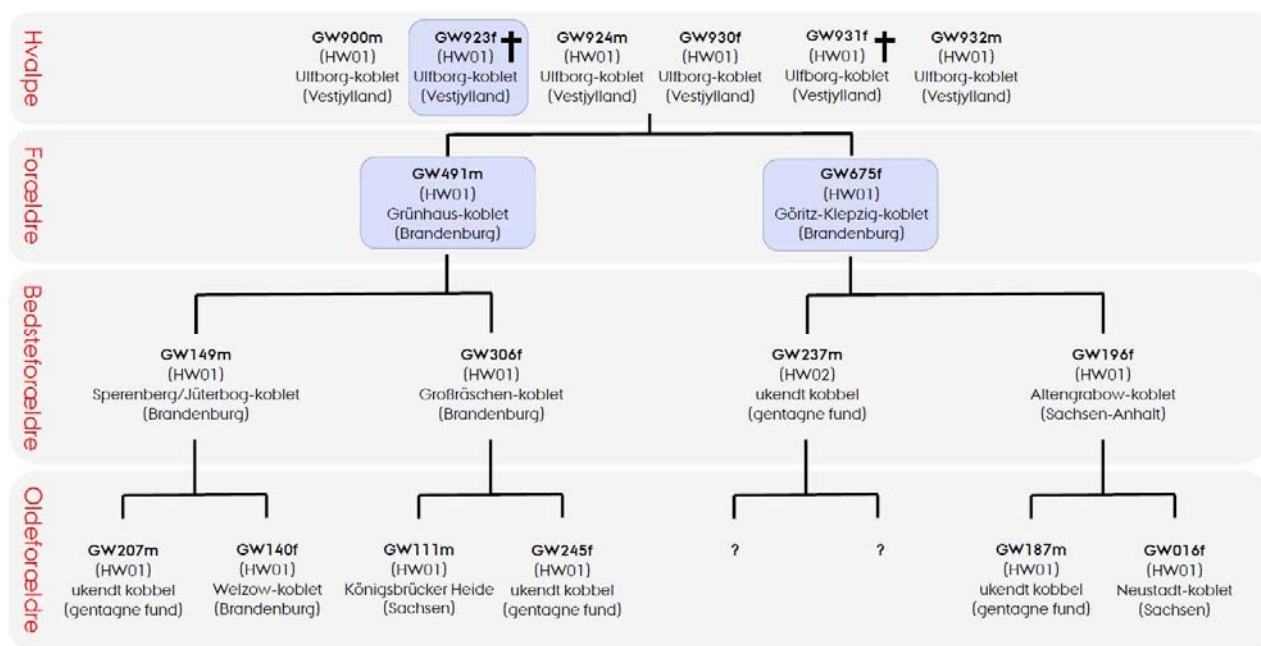
Hvad viser de genetiske data for ulvene GW923f, GW675f og GW491m og hvordan er sammenhængen mellem disse ulve og andre ulve i den Centraleuropæiske bestand?

Svar

Ulfborgparret, bestående af hanulven GW491m og hunulven GW675f, fik i 2017 minimum otte hvalpe (Sunde & Olsen 2018). En af de otte hvalpe var GW923f, der blev skudt og dræbt 16. april 2018 i Ulfborg-territoriet i Vestjylland (Olsen m.fl. 2018a). Identiteten for alle tre individer er kendt ud fra i alt otte DNA-spor fundet i det vestjyske ulveterritorium i perioden 2016-2018 (Bilag 1). GW923f blev første gang registreret genetisk på baggrund af en afføringsprøve 6. november 2017. Siden er en frisk vævsprøve taget i april 2018 fra det døde dyr (Olsen m.fl. 2018a). Forældrene er registreret igennem i alt seks DNA-prøver, idet faderens (GW491m) DNA-profil kendes fra to spytp prøver fra nedlagte husdyr, samt to afføringsprøver, mens moderens (GW675f) DNA-profil kendes fra to afføringsprøver (Bilag 1).

Analysesekvenserne på basis af DNA fra cellens mitokondrier (mtDNA) har i alle otte prøver givet et match med haplotype (varianter af mitokondrie-DNA) HW01, der er den fremtrædende og vidt udbredte haplotype i den Centraleuropæiske lavlandsbestand af ulve (Czarnomska m.fl. 2013, Olsen m.fl. 2019). Da mtDNA alene nedarves fra moderen, tyder analysesekvenserne på, at mødrene til de tre analyserede ulveindivider har været ulve, selv om man på basis af disse data i sig selv ikke kan udelukke en mor af hybridherkomst, med en hund som far og ulv som mor, som giver sit mitokondrielle DNA af ulve-oprindelse videre til sine afkom. Kombineret med data fra kerne-DNA (mikrosatellitter, se nedenfor), er der dog ikke noget, som tyder på et sådant scenarie.

Ud over analyserne til art ud fra mtDNA er de tre dyrs køn og identitet (individbestemmelse) blevet fastslået ud fra DNA fra cellekerner (Olsen m.fl. 2019). Bestemmelse af køn foretages ved hjælp af to kønsmarkører på hhv. X og Y kromosomerne, og bestemmelsen til individ foretages ved hjælp af 13 mikrosatellitmarkører, som hver især udviser genetisk variation og som på tværs af alle markører udgør en unik DNA-profil (genotype) (Olsen m.fl. 2019). Hvor mtDNA kun nedarves fra moderen, så nedarves kerne-DNA fra begge forældre. Ud fra analysen af mikrosatellitter kan man derfor foretage en bestemmelse af den familiære baggrund for et individ såfremt dets forældre har været analyseret forudgående med samme metode. Da både GW491m og GW675f er kendt ud fra deres genotyper, kunne det ved mikrosatellit-analysen bekræftes, at GW923f var afkom af disse forældre, som udgør Ulfborg-parret (Fig. 1, Bilag 2).



Figur 1. Stamtræ over de hvalpe, der blev født i Ulfborg-territoret i 2017, og hvor der foreligger en kendt genotype (seks ud af minimum otte hvalpe). Stamtræet viser hvalpenes forældre, bedsteforældre og oldeforældre. Under den unikke kode, hvormed individerne er registreret i det centraleuropæiske ulveregister, angives i parentes individets haplotype og hvor det pågældende individ har sin oprindelse med navn på ulvekobbel og geografisk område. Bemærk, at det sidste bogstav i den unikke individkode angiver ulvens køn: han (m) og hun (f). Alle individer i stamtræet er blevet identificeret ud fra mtDNA haplotype og mikrosatellitter. Ulfborgparret og den dræbte ulv er markeret med blå ramme (gengivet efter Olsen m.fl. (2018b)).

Da det er de samme 13 genetiske markører (og to kønsmarkører), som anvendes til analyser foretaget på Senckenberg Research Institutet i Tyskland og Institut for Bioscience på Aarhus Universitet, kan de enkelte ulveindivider,

identificeret ud fra mikrosatellitmarkører, spores i det centraleuropæiske ulveregister. Derved kan oprindelse (fx fødested og tidligere forekomster) og slægtskab med andre ulve, fx forældre eller søskende, kortlægges for ulve med kendt identitet (Olsen m.fl. 2019). På den baggrund har det været muligt at sammenstille et stamtræ, der viser den familiære sammenhæng mellem Ulfborg-parret, det dræbte dyr og de øvrige hvalpe med kendt identitet i kullet fra 2017 samt andre ulve i yderligere to generationer tilbage i den Centraleuropæiske lavlandsbestand (Fig. 1).

Spørgsmål b

Kort før ulven GW923f blev nedlagt blev der optaget en række film af ulven. Heriblandt en optagelse, hvor en traktorfører kører efter GW923f. Udviser GW923f i disse optagelser en adfærd, der kunne indikere, at der er tale om en ulvehybrid?

Svar

Selv om det er videnskabeligt veldokumenteret fra en række undersøgelser af dyr i fangenskab, at ulve generelt er meget mere sky og forsigtige af natur end hunde (Bekoff m.fl. 1975, Marshall-Pescini m.fl. 2017), har det ikke været muligt at opspore information om, at vilde ulvehybrider skulle have distinkt anderledes adfærd end "rigtige" ulve i mødet med mennesker i naturen. Besvarelsen af spørgsmålet vil derfor tage udgangspunkt i om der er indikationer på at GW923f på filmmaterialet havde en adfærd, som kunne betegnes som afvigende i forhold til hvad man skulle forvente fra en vild ulv.

Vurdering af generel adfærd og skyhed på basis af foreliggende filmmateriale:

Filmmaterialet består dels af videooptagelser taget over adskillige timer (fra kl. 07:17 til kl 14:09, hvor skuddene falder: kamera 1), dels af en 38-sekunder lang optagelse med mobiltelefon optaget fra førersædet af en traktor (kamera 2).

To uddrag af optagelserne fra kamera 1 er offentligt tilgængelige på følgende links: <https://youtu.be/uM2jqw-mj1M> (viser traktor som kører efter GW923f, filmet på afstand) og <https://youtu.be/FNK14p0rZoM> (skudafgivelse, hvor GW923f nedlægges). Optagelsen fra kamera 2 er ligeledes offentlig tilgængelig: <https://ekstrabladet.dk/112/se-video-her-er-ulven-der-blev-skudt-i-vestjylland/712767> (traktorfører kører efter GW923f, filmet fra førersædet af traktoren).

DCE har haft adgang til det samlede filmmateriale fra kamera 1. Dette viser først tre-fire dyr som DCE vurderer har et udseende og adfærd, som stemmer overens med hvad man kan forvente for en søskendegruppe af udvoksede ulvehvalpe (Fig. 2). Alle optagelser er taget på de samme marker, som grænser op til et sammenhængende skovområde, som månederne forinden havde udgjort kerneområdet for ulvefamilien at dømmes ud fra tætheden af validerede ulveobservationer, som er registreret i den nationale ulveovervågning. Marken hvor observationerne blev gjort, er et af de åbne stykker kulturland inden for ulvereviret (ekskl. heder), der ligger fjernest fra bygninger. Med andre ord, så opholdt dyrene sig og blev observeret så fjernt fra bygninger som det stort set er muligt på et åbent kulturreal inden for det ca. 100 km² store revir.



Figur 2. Billeder fra videooptagelse taget på 150 meters afstand af to ud af de tre-fire etårige hvalpe, der kunne ses i social interaktion i timerne inden GW923f blev skudt og dræbt 16. april 2018 (Fotograf: Pipaluk Zobbe Lauritz/DR).

Da de tre videoklip, som er offentligt tilgængelige, må betragtes som fyldestgørende dokumentation for besvarelse af spørgsmålet, vil vurderingen af GW923f's adfærd alene tage udgangspunkt i hvad der fremgår af disse:

På den første optagelser fra kamera 1 (<https://youtu.be/uM2jqw-mj1M>; 2:14 minutter), ses GW923f bevæge sig omkring og væk fra traktoren, som gentagne gange køres mod og efter dyret. På intet tidspunkt forsøger dyret at følge efter traktoren. Afstanden mellem traktor og dyret vurderes at være 15-40 m det meste af tiden. Når traktoren er tættest på dyret, reagerer det ved at sænke hoved og hale og lægge ørerne ned.

Den anden optagelse fra kamera 1 (<https://youtu.be/FNK14p0rZoM>, 28 sekunder) viser forløbet umiddelbart før og under nedskydningen (se også Fig. 3). Ved optagelsens begyndelse, kan man se, at GW923f står stille og observerer noget uden for kameraets synsvinkel, som straks efter viser sig at være den bil, som skytten befinder sig i. Dyret bevæger sig derefter i hurtigt trav forbi den ankomende bil. Da GW923f er tættest på bilen i sekunderne før skuddet løsnes, er den tydeligt opmærksom på bilen/personen, som sidder med nedrullet vindue. Dette ses ved at hovedet gentagende gange rettes mod bilen mens dyret travet hastigt forbi. Dyret bevæger sig i lige linje og har i skudøjeblikket retning forbi bilen. Hoved og hale er ikke sænket, og ørerne er oprette. Afstanden til bilen, da skuddet blev løsnet, vurderes ud fra optagelsen til mellem 100 og 150 m. Reaktionsafstanden (afstand mellem GW923f og bil, da dyret sætter sig bevægelse) vurderes til mindst 100 m.

På optagelsen fra kamera 2 (traktor) (<https://ekstrabladet.dk/112/se-video-her-er-ulven-der-blev-skudt-i-vestjylland/7127767>: denne filmbid overlapper muligvis tidsmæssigt med den første optagelse fra kamera 1) ses ulven stå foran traktoren med venstre side til traktoren, som kører direkte imod den. På ca. 20 m afstand, vender dyret sig om og passerer/undviger traktoren i luntende trav mod højre på 15-20 meters afstand. Hoved, hale og ører holdes i sænkeposi-

tur. Elleve sekunder inde i optagelsen, drejer traktoren med retning mod dyret som i resten af optagelsen løber 25-40 m foran traktoren i let galop. Mens dyret løber, orienterer det sig flere gange baglæns mod traktoren for hver gang at øge farten en smule. Dyret løber i første omgang mod det nærmeste læhegn, men ændrer få meter inden hegnet kurs mod venstre og galopperer derefter ud på marken igen med øget hastighed.

Vurdering af adfærd i forhold til traktor: Dyret viser på intet tidspunkt interesse for køretøjet som det dog reagerer undvigende på, da det nærmer sig. Dyret orienterer sig på intet tidspunkt opad i retning mod kameraet, hvilket viser at dyret retter sin opmærksomhed på selve køretøjet og ikke mod manden øverst i køretøjet. Adfærden vidner om et dyr, som reagerer på en forstyrrelseskilde, som det på den ene side ikke er synderligt skræmt af, men som det tydeligvis heller ikke ved hvad er. Der er intet i optagelserne, som indikerer, at dyret har en erkendelse af, at der er et menneske inde i traktoren. Der er heller ikke noget i optagelserne, som indikerer, at GW923f på noget tidspunkt viser interesse for traktoren, endsige følger efter den.

Vurdering af adfærd i forhold til bil: Dyrets reaktionsmønster over for den (uden for billedet) ankommende bil, som derefter stopper, svarer i store træk til reaktionsmønstret over for traktoren: Dyret er tydeligt opmærksomt på den ankommende bil og reagerer straks efter ved at sætte sig i bevægelse bort fra bilen på mindst 100 m afstand. At dømme ud fra dyrets positur, føler det sig ikke presset på samme måde som da det forfølges af traktoren, hvilket kan forklares ved den større afstand.

Samlet vurdering af 923f's adfærd i forhold til hvad man skal forvente af en vild ulv: På alle optagelser forsøger dyret at undgå køretøjerne, når de overskrider dens toleranceafstand, hvilket for traktoren synes at være ca. 30 m og for bilen ca. 100 m. Den tilsyneladende større toleranceafstand for bilen end for traktoren ligger fint i tråd med, at bilen har nedrullet vindue med et delvist synligt menneske. Da det er alment kendt, at vilde dyr ikke erkender menneskers tilstedeværelse så længe de befinder sig inde i køretøjer, kan den ovenfor beskrevne adfærd ikke tages som udtryk for afvigende adfærd i forhold til hvad man skal forvente for vilde dyr med normal skyhed, herunder ulve. Når man dertil lægger, at der er tale om et ungt individ (som i udgangspunktet vil være mere uforsigtigt og uerfaren end ældre ulve), må det konkluderes, at intet i det observerede adfærdsmønster kan betragtes som unormalt eller afvigende i forhold til hvad man må betegne som normal adfærd for en ung, vild ulv.

Ovenstående vurdering støttes af en af verdens mest anerkendte ulveforskere, David L. Mech (University of Minnesota, USA). Dette fremgår af følgende e-mail-udveksling mellem ham og Danmarks Radio, 28.-29. april 2018 (uddrag af e-mail-korrespondance gengivet med tilladelse fra Lars Henrik Ostfeld. DCE er besiddelse af den samlede korrespondance. De to videoklip, som der refereres til, er de to YouTube-klip fra kamera 1):

Spørgsmål 1: "I'm interested in knowing if the wolf is a threat or not. If the wolf shows aggressive behavior or normal behavior. And a description of why you see it. People will see a wolf close to a tractor and some will say it is a threat and it's not a wolf it's a hybrid"

Svar 1: "I see nothing about this wolf's behavior that indicates aggressiveness or threat. It shows some curiosity and some fear from the farm equipment. It would be impossible to determine from these videos whether the wolf is purebred or a hybrid. However, I saw no reason to identify it as anything but a wolf."

*You may quote me on this.
Dave Mech*

Spørgsmål 2: *“Why is the wolf that close to the tractor? Why doesn't it run away? What signs tell you the wolf is not a problem wolf?”*

Svar 2: *“Yes; saw both videos. The wolf is close to the tractor probably because it doesn't know what a tractor is. Thus, it is curious about it. How would a wolf know what a tractor is? The wolf has no way of knowing there is a human inside. I don't know whether the wolf generally is a problem. However, it is not a problem in the videos. There is nothing in the videos that shows the wolf is a problem.”*

Spørgsmål c

Indikerer GW923f's fænotypiske karakteristika (fysisk fremtoning), at der var tale om en ulv eller en ulvehybrid?

Svar

Alle GW923f's fænotypiske karakteristika er fuldt foreneligt med en ulv tilhørende den Centraleuropæiske lavlandsbestand. I det omfattende dokumentationsmateriale, bestående af billeder og videooptagelser, der blev taget af GW923f i timerne forud for skudepisoden, ses ikke en eneste udseendemæssig karakter, der skulle kunne indikere, at der kunne være tale om en hybrid mellem ulv og hund. Til gengæld ses et dyr, der udviser et helt igennem typiske udseende for en etårig ulv (Fig. 3).



Figur 3. Billeder taget af GW923f i sekunderne inden den blev skudt og dræbt 16. april 2018. Dyrrets udseende er helt igennem artstypisk for en ulv tilhørende den Centraleuropæiske lavlandsbestand (Olsen m.fl. 2019). Pelsens farve og mønstre er sammen med proportioner helt foreneligt med en ung ulvs udseende (Fotograf: Lars Lorentsen).

Kropsbygning og proportioner

Fra optagelser og fotos (Fig. 3) kan man se, at GW923f har kraftigt hoved uden stejl pande, som ellers kendetegner flere hunderacer. Den har lang snude og trekantede, let afrundede ører, der er kortere end hos de fleste ulvelignende hunderacer. Den har en relativt smal brystkasse som normalt hos ulve og arts-karakteristiske lange ben, hvor forben er tætsiddende (Fig. 3).

Bevægelsesmønster

På videooptagelserne ses GW923f benytte samtlige gangarter: skridt, trav og galop, som er typiske for ulve. Som fælles for ulve i bevægelse, holdes halen konsekvent lodret nedad langs med bagbenene i de tre gangarter. I modsætning til mange hunde, der i mange sammenhænge holder halen over ryg niveau, holder ulve kun halen over ryg niveau under social adfærd og i forbindelse med jagt på bytte i bevægelse (hvor halen holdes vandret ud fra kroppen) (FWC 2016).

I alle gangarter holder GW923f ligeledes ryggen lige og vandret, mens hovedet overvejende bæres i eller under ryg niveau. En sådan kropsholdning er også helt igennem typisk hos ulve, hvorimod ryggen hos mange hunde ofte er skrå samtidig med de ofte bærer hovedet over ryg niveau. På flere optagelser ses GW923f i gangarten rask trav over lange stræk. Det er en meget typisk bevægelses måde hos ulve, da den grundlæggende er energibesparende ved at bagpote konsekvent anbringes i aftrykket fra forpote. Hunde kan også benytte trav, men i så fald gerne kun over kortere stræk og uden ulvens stringens.

Figur 4. Billede taget af GW923f umiddelbart efter den blev skudt og dræbt 16. april 2018. Dyrrets udseende er helt igennem typisk for en ulv tilhørende den Centraleuropæiske lavlandsbestand (Olsen m.fl. 2019). Pelsens farve og mønstre helt foreneligt med en ung ulvs udseende. Bemærk sorte kløer, hvor ulvelignende racer af hunde gerne har lyse kløer (Fotograf: Kenni Aggerholm).



Udseende

Ligesom unge ulve er GW923f lysere og mindre kontrastrig i ryggens farvelægning end voksne ulve og den mangler den gråsorte sadel eller stribe mellem skuldrene som næste alle voksne ulve i den Centraleuropæiske lavlandsbestand har i vinterdragten. Det er derfor ud fra billederne tydeligt at se, at der er tale om en ung ulv. I tillæg til den relativt kontrastløse vinterdragt ses en typisk halskrave bestående af længere gråbrun pels, mens bugen og brystet er lysere end oversiden. Grundfarven hos GW923f er helt igennem normal i forhold til ulve i den Centraleuropæiske lavlandsbestand, der domineres af gulbrune nuancer (sandfarvet, beige og rustgult) på kropssider og ben (Fig. 3). Halen har sort spids som normalt hos ulve, hvor de fleste ulvelignende hunderacer gerne har lys spids (Fig. 3).

I hovedet er pande og næseryg tydeligt mørkere end resten af ansigtet, der har en lys maske med hvidt parti omkring munden og på kinderne. Ørerne er behåret indeni, ulig mange hunde (Fig. 4). De kraftige poter har sorte kløer (Fig. 4), hvilket igen er typisk hos ulve, hvor flere af de ulvelignende hundracer har lyse kløer.

Øvrige kendetegn

Under obduktionen foretaget af DTU Veterinærinstituttet kunne der ikke findes nogen chip eller tatovering (DTU 2018). Ud fra fotos ses ingen synlige mærker efter halsbånd.

På baggrund af tandundersøgelse skønnes alderen på GW923f at være ca. 1 år (DTU 2018), hvilket er i overensstemmelse med genetiske analyser, fotos og videoptagelser, som dokumenterer, at det døde dyr er født omkring 1. maj 2017 (Olsen m.fl. 2018a).

I forbindelse med obduktionen blev der konstateret en del ældre sår og ar i huden, inklusiv enkelte friske åbne sår (DTU 2018). På videoptagelser taget samme dag ses ulvehvalpene indtil flere gange bide hinanden i sociale interaktioner (Fig. 2), hvilket kan forklare de åbne sår.

Samlet vurdering: Ud fra fotos og videoptagelser såvel som obduktionsdata, stemmer alle GW923f's fænotypiske træk fuldstændigt overens med det man skal forvente sig af en 1-årig ulv fra den Centraleuropæiske ulvebestand.

Der er med andre ord intet i GW923f's udseende eller fremtoning, som tilsiger at dyret skulle være en hybrid. Denne konklusion støttes også af David L. Mech's svar under spørgsmål b ("*It would be impossible to determine from these videos whether the wolf is purebred or a hybrid. However, I saw no reason to identify it as anything but a wolf*").

Spørgsmål d

Er der ud fra en samlet vurdering af GW923f's slægtskabsbeskrivelse, adfærd og fænotypiske karakteristika indikationer på, at der skulle være tale om en ulvehybrid?

Svar

Ud fra en samlet vurdering af den viden, der foreligger om den Centraleuropæiske lavlandsbestand (Olsen m.fl. 2019) og resultaterne af de forskellige genetiske analyser og obduktionen samt vurderingerne af adfærd, bevægelsesmønster, udseende, kropsbygning og proportioner, er der ikke noget, der skulle foranledige en mistanke om, at der kunne være tale om en hybrid mellem ulv og hund.

Alle forhåndenværende data peger entydigt på, at det nedlagte dyr var en helt igennem typisk ulv fra den Centraleuropæiske lavlandsbestand, som i situationen udviste en helt forventelig adfærd for en ung, vild ulv med normal skyhedsgrad.

Referencer

Bekoff, M., Hill, H. L. & Mitton, J. B. (1975). Behavioral Taxonomy in Canids by Discriminant Function Analyses. – Science 190: 1223-1225.

Czarnomska, S. D., Jędrzejewska, B., Borowik, T., Niedziałkowska, M., Stroken, A. V., Nowak, S., Mysłajek, R. W., Okarma, H., Konopiński, M., Pilot, M., Śmietana, W., Caniglia, R., Fabbri, E., Randi, E., Pertoldi, C., Jędrzejewski, W. (2013). Concordant mitochondrial and microsatellite DNA structuring between Polish lowland and Carpathian Mountain wolves. – *Conservation Genetics* 14:573–588.

DTU (2018). Obduktionsrapport. DTU-VET j. nr. 2018-5795. 3 s. 30. april 2018 – Sektionsrapport fra DTU Veterinærinstituttet - Center for Diagnostik DTU.

FWC (2016) Wolf, Wolfdog, or Dog? Florida Fish & Wildlife Conservation Commission (FWC) Phenotyping Pamphlet. – National Lupine Association www.floridalupine.org

Marshall-Pescini, S., Cafazzo, S., Viranyi, Z. & Range, F. (2017). Integrating social ecology in explanations of wolf-dog behavioral differences. – *Current Opinion in Behavioral Sciences* 16: 80-86.

Olsen, K., Sunde, P., Hansen, M. M. & Thomsen, P. F. (2018a). Statusrapport fra den nationale overvågning af ulv (*Canis lupus*) i Danmark - 2. kvartal 2018. 19 s. 2. november 2018. – Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi & Naturhistorisk Museum Aarhus. http://dce.au.dk/fileadmin/dce.au.dk/Udgivelser/Notater_2018/Statusnotat_ulv_2kvar_2018.pdf

Olsen, K., Sunde, P., Hansen, M. M. & Thomsen, P. F. (2018b). Statusrapport fra den nationale overvågning af ulv (*Canis lupus*) i Danmark - 3. kvartal 2018. 16 s. 30. november 2018. – Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi & Naturhistorisk Museum Aarhus. http://dce.au.dk/fileadmin/dce.au.dk/Udgivelser/Notater_2018/Statusnotat_ulv_3kvar_2018.pdf

Olsen, K., Sunde, P., Hansen, M. M., Thomsen, P. F. & Hansen, A. J. (2019). DNA-analyser og beskrivelse af den Centraleuropæiske ulvebestand, herunder identifikation af ulve og ulvehybrider. 15 s. 24. januar 2019. – Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi & Naturhistorisk Museum Aarhus. http://dce.au.dk/fileadmin/dce.au.dk/Udgivelser/Notater_2019/DNA_analyser_Centraleuropæisk_ulvebestand.pdf

Sunde, P. & Olsen, K. (2018). Ulve (*Canis lupus*) i Danmark 2012-2017. Oversigt og analyse af tilgængelig bestandsinformation. – Videnskabelig rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi, Aarhus Universitet, nr. 258. 52 s. <http://dce2.au.dk/pub/SR258.pdf>

Bilag

Bilag 1

Mitokondriesequens for GW923f (to prøver), GW491m (fire prøver) og GW675f (to prøver). Der er tale om konsensussekvenser (forward/reverse og replikater) for hver sekvens. For W170100 and W170102 er der tre konsensussekvenser for hver af prøverne, da der blev foretaget flere DNA-oprensninger. Analyserne er udført af Senckenberg Research Institutet i Tyskland hhv. Institut for Bioscience, Aarhus Universitet.

Dato	Individ	Prøve ID	Lab ID	Lab	Mitokondriesequens
20161126	GW675f	UV542	W170100	Senckenberg	<p>>W170100_-_realigned_consensus_sequence consensus of 4 sequences ATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGG- TAAACCCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACATATTAECTCAATCTCATAATTCAGTATCTAT CAACAGTAATCAAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTA</p> <p>>W170100a_-_realigned_consensus_sequence consensus of 4 sequences ATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGG- TAAACCCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACATATTAECTCAATCTCATAATTCAGTATCTAT CAACAGTAATCAAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTA</p> <p>>W170100b_-_realigned_consensus_sequence consensus of 4 sequences ATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGG- TAAACCCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACATATTAECTCAATCTCATAATTCAGTATCTAT CAACAGTAATCAAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTA</p>
20170106	GW675f	UV545	W170102	Senckenberg	<p>>W170102_-_realigned_consensus_sequence consensus of 4 sequences ATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGG- TAAACCCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACATATTAECTCAATCTCATAATTCAGTATCTAT CAACAGTAATCAAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTA</p> <p>>W170102a_-_realigned_consensus_sequence consensus of 4 sequences ATATATTGAATCACCCCTACTGGGGTATGTCAGTATCTCCAGG- TAAACCCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACATATTAECTCAATCTCATAATTCAGTATCTAT CAACAGTAATCAAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTA</p>

>W170102b_-_realigned_consensus_sequence consensus of 4 sequences
 ATATATTGAATCACCCCTACTGTGGTATGTCAGTATCTCCAGG-
 TAAACCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACATATTAECTCAATCTCATAATTCAGTATCTAT
 CAACAGTAATCAAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTA

20170522	GW491m	50A/2017	W171423	Senckenberg	>W171423_-_realigned_consensus_sequence consensus of 3 sequences ATATATGGAATCACCCCTACTGTGCTATTAGTATCTCCAGGTA- NAACCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACATATTAECTCAATCTCATAATTCAGTATCTAT CAACAGTAATCAAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTA
20170522	GW491m	50B/2017	W171424	Senckenberg	>W171424_-_realigned_consensus_sequence consensus of 4 sequences GAATCACCCCTACTGTGMTATGTCAGTATCTCCAGGTAACCTTCTCCCTCCCCTAT- GTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACATATTAECTCAATCTCATAATTCAGTATCTATCAACAGTAATCAAATGCATAT CACTTAGTCCAATAAGGGCTTA
20171106	GW923f	UV565	WDK0017	Aarhus Universitet	>WDK0017_consensus_sequence consensus of 6 sequences ATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGG- TAAACCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACATATTAECTCAATCTCATAATTCAGTATCTAT CAACAGTAATCAAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTA
20171128	GW491m	UV579	WDK0019	Aarhus Universitet	>WDK0019_consensus_sequence consensus of 8 sequences ATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGG- TAAACCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACATATTAECTCAATCTCATAATTCAGTATCTAT CAACAGTAATCAAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTA
20180325	GW491m	UV592	WDK0029	Aarhus Universitet	>WDK0029_consensus_sequence consensus of 8 sequences ATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGG- TAAACCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACATATTAECTCAATCTCATAATTCAGTATCTAT CAACAGTAATCAAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTA

20180416

GW923f

NHMA_2018-04-16

W180860

Senckenberg

>W180860_consensus_sequence consensus of 4 sequences (forward/reverse and replicates)

ATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGG-

TAAACCCCTTCTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTGCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACATATTA

CAACAGTAATCAAATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTA

Bilag 2

Konsensus for mikrosatellitter for GW923f (to prøver), GW491m (fire prøver) og GW675f (to prøver). Bestemmelse af køn og individ foretages ved hjælp af henholdsvis to kønsmarkører (X- og Y-kromosom) og 13 mikrosatellitmarkører, som hver især udviser genetisk variation og som på tværs af alle markører udgør en unik DNA-profil (genotype) (Olsen m.fl. 2019). For W170100 og W170102 er der op til 16 replikater, da der blev foretaget flere DNA-oprensninger. Analyserne er udført af Senckenberg Research Institutet i Tyskland hhv. Institut for Bioscience, Aarhus Universitet. NA benyttes i de tilfælde, hvor scoringen af genotypen for den pågældende allel ikke har været muligt, da den ikke ligger over tærskelværdien for signalstyrke.

Individ	Dato	Prøve ID	Lab ID	Prøve	FH2001a	FH2001b	FH2010a	FH2010b	FH2017a	FH2017b	FH2087La	FH2087Lb	FH2088a	FH2088b	FH2096a	FH2096b	FH2137a	FH2137b	FH2140a	FH2140b	vWFa	vWfb	FH2054a	FH2054b	FH2161a	FH2161b	CPH5a	CPH5b	PEZ17a	PEZ17b	Sex_X	Sex_X	Sex_Y	Sex_Y
GW923f	20171106	UV565	WDK0017	consensus	136	136	229	229	NA	NA	236	240	117	121	96	96	157	157	129	149	130	130	144	152	224	244	111	115	201	205	244	244	-	-
				replicate	136	136	229	229	NA	NA	236	240	117	121	96	96	157	157	129	149	130	130	144	152	224	244	111	115	201	205	244	244	-	-
				replicate	136	136	229	229	NA	NA	236	240	117	121	96	96	157	157	129	149	130	130	144	152	224	244	111	115	201	205	NA	NA	-	-
				replicate	136	136	229	229	NA	NA	236	240	117	121	96	96	157	157	129	149	130	130	144	152	224	244	111	115	201	205	NA	NA	-	-
				replicate	136	136	229	229	NA	NA	236	240	117	121	96	96	157	157	129	149	130	130	144	152	224	244	111	115	201	205	244	244	-	-
GW923f	20180416	NHMA_2018-04-16	W180860	consensus	136	136	229	229	256	260	236	240	117	121	96	96	157	157	129	149	130	130	144	152	224	244	111	115	201	205	244	244	-	-
				replicate	136	136	229	229	256	260	236	240	117	121	96	96	157	157	129	149	130	130	144	152	224	244	111	115	201	205	244	244	-	-
				replicate	136	136	229	229	256	260	236	240	117	121	96	96	157	157	129	149	130	130	144	152	224	244	111	115	201	205	244	244	-	-
				replicate	136	136	229	229	256	260	236	240	117	121	96	96	157	157	129	149	130	130	144	152	224	244	111	115	201	205	244	244	-	-
				replicate	136	136	229	229	256	260	236	240	117	121	96	96	157	157	129	149	130	130	144	152	224	244	111	115	201	205	244	244	-	-
GW491m	20170522	50A/2017	W171423	consensus	136	144	229	233	256	256	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113
				replicate	136	144	229	233	NA	NA	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113
				replicate	136	144	229	233	NA	NA	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113
				replicate	136	144	229	233	256	256	236	236	113	117	96	96	157	167	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113
				replicate	136	144	229	233	256	256	236	236	113	117	96	96	157	167	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113

GW491m	20170522	50B/2017	W171424	consensus	136	144	229	233	256	256	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113		
				replicate	136	144	229	233	256	256	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113		
				replicate	136	144	229	233	NA	NA	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113		
				replicate	136	144	229	233	256	256	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113		
				replicate	136	144	229	233	NA	NA	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113		
GW491m	20171128	UV579	WDK0019	consensus	136	144	229	233	NA	NA	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113		
				replicate	136	NA	229	233	NA	NA	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113		
				replicate	136	NA	229	233	NA	NA	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113		
				replicate	136	144	229	233	NA	NA	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113		
				replicate	136	144	229	233	NA	NA	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113		
GW491m	20180325	UV592	WDK0029	consensus	136	144	229	233	NA	NA	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113		
				replicate	136	NA	229	233	NA	NA	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	NA	NA		
				replicate	136	144	229	233	NA	NA	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113		
				replicate	136	NA	229	233	NA	NA	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	113	113		
				replicate	136	144	229	233	NA	NA	236	236	113	117	96	96	157	157	149	149	130	130	140	152	224	244	111	115	197	205	NA	NA	NA	NA		
GW675f	20161126	UV542	W170100	consensus	136	136	229	237	NA	NA	236	236	117	121	96	96	157	157	129	129	130	160	144	144	224	232	111	115	197	201	NA	NA	-	-		
				replicate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	117	121	96	96	NA	NA	129	129	NA	NA	144	144	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-		
				replicate	136	136	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	96	96	NA	NA	129	129	NA	NA	144	144	NA	NA	111	111	NA	NA	NA	NA	-	-	
				replicate	136	136	229	229	NA	NA	NA	NA	121	121	96	96	157	157	129	129	NA	NA	144	144	NA	NA	115	115	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
				replicate	136	136	NA	NA	NA	NA	NA	NA	117	117	NA	NA	157	157	129	129	NA	NA	144	144	232	232	115	115	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
				replicate	136	136	NA	NA	NA	NA	NA	NA	117	121	96	96	NA	NA	129	129	NA	NA	144	144	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
				replicate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	121	121	96	96	157	157	129	129	NA	NA	144	144	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	

<i>replicate</i>	136	136	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	129	129	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
<i>replicate</i>	136	136	NA	NA	NA	NA	NA	NA	117	121	96	96	157	157	129	129	130	160	144	144	224	224	111	115	197	201	NA	NA	-	-
<i>replicate</i>	136	136	229	229	NA	NA	NA	NA	117	117	96	96	157	157	129	129	130	160	144	144	232	232	111	115	197	201	NA	NA	-	-
<i>replicate</i>	136	136	229	237	NA	NA	NA	NA	117	121	96	96	157	157	129	129	130	130	144	144	232	232	111	115	NA	NA	NA	NA	-	-
<i>replicate</i>	136	136	NA	NA	NA	NA	NA	NA	117	121	96	96	157	157	129	129	130	130	144	144	232	232	111	111	NA	NA	NA	NA	-	-
<i>replicate</i>	136	136	229	229	NA	NA	NA	NA	117	121	96	96	157	157	129	129	160	160	144	144	NA	NA	111	115	NA	NA	NA	NA	-	-
<i>replicate</i>	136	136	229	229	NA	NA	NA	NA	117	121	96	96	157	157	129	129	130	160	144	144	NA	NA	111	111	NA	NA	NA	NA	-	-
<i>replicate</i>	136	136	237	237	NA	NA	NA	NA	117	121	96	96	157	157	NA	NA	130	130	144	144	NA	NA	115	115	NA	NA	NA	NA	-	-
<i>replicate</i>	136	136	NA	NA	NA	NA	NA	NA	117	121	96	96	157	157	129	129	130	130	144	144	NA	NA	111	111	NA	NA	NA	NA	-	-

GW675f 20170106 UV545 W170102	consensus	136	136	229	237	NA	NA	236	240	117	121	96	96	157	157	129	129	130	160	144	144	224	232	111	115	197	201	NA	NA	-	-	
	<i>replicate</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
	<i>replicate</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
	<i>replicate</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
	<i>replicate</i>	136	136	229	237	NA	NA	NA	NA	117	121	96	96	157	157	129	129	130	160	144	144	224	232	111	115	197	201	NA	NA	-	-	
	<i>replicate</i>	136	136	229	237	NA	NA	236	240	117	121	96	96	157	157	129	129	130	160	144	144	224	232	111	115	197	201	NA	NA	-	-	
	<i>replicate</i>	136	136	NA	NA	NA	NA	NA	NA	117	121	96	96	157	157	129	129	130	160	144	144	224	232	111	115	197	201	NA	NA	-	-	
	<i>replicate</i>	136	136	229	237	NA	NA	236	240	117	121	96	96	157	157	129	129	130	160	144	144	224	232	111	115	197	201	NA	NA	-	-	
	<i>replicate</i>	136	136	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	96	96	NA	NA	NA	NA	130	160	144	144	NA	NA	111	115	NA	NA	NA	NA	-	-	
	<i>replicate</i>	136	136	NA	NA	NA	NA	NA	NA	117	121	96	96	NA	NA	NA	NA	130	160	144	144	NA	NA	111	115	NA	NA	NA	NA	-	-	
	<i>replicate</i>	136	136	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	96	96	NA	NA	NA	NA	130	160	144	144	NA	NA	111	115	NA	NA	NA	NA	-	-	
	<i>replicate</i>	136	136	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	96	96	NA	NA	NA	NA	130	160	144	144	NA	NA	111	115	NA	NA	NA	NA	-	-	
