

Berigtigelse vedrørende tre ulve-artikler i Flora og Fauna 121 (1+2)

Thomas Secher Jensen, Aksel Bo Madsen & Liselotte Wesley Andersen

Kontaktperson: Peter Sunde, Institut for Bioscience - Kalø, Aarhus Universitet, Grenåvej 14, DK-8410 Rønde, psu@bios.au.dk

I Flora og Fauna 121 (1+2), s. 48-65 (2015) var trykt tre forskningsartikler om ulv i Danmark 2012-2014 (Jensen m.fl.: Genindvandring af ulven i Danmark, s. 48-54; Madsen m.fl.: De første analyser af ulvens (*Canis lupus*) føde i Danmark, s. 55-58; Andersen m.fl.: DNA-baseret bestands- overvågning afslører ulve (*Canis lupus*) i Danmark, s. 60-65).

Efter artiklerne udkom, har en del af de DNA-resultater, hvorpå en stor del af artiklernes konklusioner var baseret, siden vist sig at være behæftet med metodiske usikkerheder, der ikke tidligere er blevet adresseret i lignende analyser se fx (Hsieh et al. 2003; Guerrini & Barbanera 2009; Guerrini et al. 2015). Som følge deraf er det nødvendigt at foretage korrektioner og præciseringer af artiklernes resultater og konklusioner:

Artsbestemmelser af prøver på basis af mitokondrie-DNA har vist sig at være forbundet med en vis usikkerhed. Til artsbestemmelsen af ulv i Danmark har der været anvendt to opformeringsmetoder af mitokondrie-DNA (PCR): dels den konventionel PCR (herefter kaldet PCR1) og en semi-nestet PCR (kaldet PCR2), der er væsentlig mere følsom. En efterfølgende analyse af data har vist, at der er risiko for såkaldt falsk positive artsbestemmelser ved begge metoder, selvom DNA-arbejdet er udført efter generelt accepterede laboratorieprotokoller, hvor det forsøges at kontrollere for kontaminering ved inkludering af negative kontroller. Risikoen for at en prøve kommer ud som ulv, selv om den ikke er det (falsk positiv) afhænger af PCR metode, hvilket laboratorium der er arbejdet i og flere andre faktorer, men det er ikke muligt at estimere den præcist for hver enkelt prøve. Sandsynlighederne for forekomst af falsk positive prøver må dog formodes at være højest, hvor den følsomme PCR2-metode har været anvendt, og lavere for prøver fra 2013, hvor den mindre følsomme PCR1-metode blev anvendt. Sidstnævnte metode anvendes rutinemæssigt af bla det tyske Senckenberg Institut.

Med hensyn til *Individbestemmelserne*, der er foretaget på grundlag af mikrosatellitter fra celle-kerne-DNA, har vi derfor efter-

følgende valgt at revidere analyserne ved at følge de protokoller, der anbefales af Senckenberg Institutet.

For de enkelte artikler betyder det følgende med hensyn til de bragte resultater og konklusioner:

Jensen TS, Olsen K, Sunde P, Vedel-Smith C, Madsen AB & Andersen LW (2015) Genindvandring af ulven i Danmark, Flora & Fauna, 121, 48-54. Der tages generelt forbehold for alle konklusioner baseret på resultater af DNA-analyser fra ekskrementer og spyt. Hvad angår Figur 1, som viser forekomster af ulv verificeret vha. positive DNA-prøver og vildtkameraobservationer, skal der tages forbehold for risikoen for falsk positive resultater, der ikke repræsenterer en reel ulveforekomst. Dette betyder, at man ikke kan gå ud fra, at specifikke lokaliteter har haft forekomst af ulv med mindre forekomsten også er dokumenteret på anden måde, fx med vildtkamera.

*Madsen AB, Elmeros M, Andersen LW, Nørgaard LS, Mikkelsen DMG, Sunde P, Olsen K, Vedel-Smith C & Jensen TS (2015) De første analyser af ulvens (*Canis lupus*) føde i Danmark. Flora & Fauna, 121, 55-58.* De 42 ekskrementer, som indgik i analysen, var artsbestemt til ulv dels vha. PCR1 (23 prøver) og dels PCR2 (19 prøver). Der er derfor en risiko for at nogle af prøverne ikke stammer fra ulv, men fra en anden art (fx ræv). Resultatet af analysen viste, at ekskrementerne indeholder rester efter hjortevildt i omtrent samme omfang som det også kendes fra Polen, men med et noget højere indslag af mindre pattedyr (36 % af alle ekskrementer vs. 12 % i Polen). I lyset af, at nogle af prøverne nu skønnes at stamme fra andre rovdyrarter end ulv, er det nærliggende at antage, at den tilsyneladende højere andel af mindre pattedyr og fugle (9,5 % vs. 1,1 % i Polen) ikke er korrekt, og at der derfor ikke længere er et sikkert grundlag for at konkludere, at mindre pattedyr og fugle udgør en større del af diæten i Danmark end i Polen.

*Andersen LW, Elmeros M, Sunde P, Olsen K, Vedel-Smith C, Jensen TS & Madsen AB (2015) DNA-baseret bestandsovervågning afslører ulve (*Canis lupus*) i Danmark. Flora & Fauna, 121, 60-65.* Det er besluttet, at det

kun er individer med perfekt DNA-profil, og som kan matches mod den tyske Senckenberg database, der kan betegnes som sikre. Det er altså individer, hvor der er en genotype for hver af de 12 markører angivet i tabel 1. Efter gentolkning af data, hvor der benyttes den stringente tolknings metode beskrevet af Harms et al. 2015, kan der ikke opnås en intakt DNA-profil for alle prøverne på grund af dårlig kvalitet. På baggrund af disse kriterier er det kun individ 001, som har en intakt DNA profil, der er genfundet i den tyske database.

For god ordens skyld kan nævnes, at der på basis af DNA-analyser foretaget på Senckenberg-institutet i Tyskland, ved udgangen af 2015 i alt var konstateret yderligere to forskellige ulve i Danmark (prøver fra 2015). Dermed er der vished om, at der har været fire forskellige ulve (alle hanner) i Danmark i nyere tid: Thy-ulven (2012), individ UV001 (2013-14), samt to individer i 2015. Det er naturligvis muligt, at der har været flere ulve i Danmark en dette antal.

De generelle metoder beskrevet i boksene mm i artiklen er fuldt ud valide.

REFERENCER

- Guerrini M, Barbanera F. 2009. Noninvasive Genotyping of the Red-Legged Partridge (*Alectoris rufa*, Phasianidae): Semi-Nested PCR of Mitochondrial DNA from Feces. *Biochem Genet*, 47:873-883
- Guerrini M, Forcina G, Panayides P, Lorenzini R, Garel M, Anayiotos P, Kasinis N, Barbanera F. 2015 Molecular DNA identity of the mouflon of Cyprus (*Ovis orientalis ophion*, Bovidae): Near Eastern origin and divergence from Western Mediterranean conspecific populations, *Systematics and Biodiversity*, 13:5, 472-483.
- Harms V, Nowak C, Carl S, Muñoz-Fuentes C. 2015. Experimental evaluation of genetic predator identification from saliva traces on wildlife kills. *Journal of Mammalogy*, 96(1):138-143.
- Hsieh H-M, Huang L-H, Tsai L-C, Kuo Y-C, Meng H-H, Linacre A, Lee JC-I. 2003. Species identification of rhinoceros horns using the cytochrome b gene. *Forensic Science International* 136: 1-11