

DNA – Analyse und Beschreibung des Zentraleuropäischen Wolfsbestandes , einschließlich der Identifikation von Wölfen und Wolfshybriden

Naturhistorisches Museum, Aarhus
Institut für Bioscience, Universität Aarhus
Sektion für Geogenetik, Biologisches Institut Universität Kopenhagen

Hintergrund

In der letzten Zeit hat man, vor allem in den Medien Zweifel geäußert inwieweit die Dänischen Wölfe genetisch reine Wölfe sind oder Hybriden zwischen Wolf und Hund. Um in dieser Frage Klarheit zu schaffen hat das Umweltministerium am 11.01.2019 eine Anfrage an das Nationale Zentrum für Umwelt – und Energie (DCE) weitergeleitet und um eine Stellungnahme zur Relevanz von DNA - Analysen in Verbindung mit der Beschreibung des Zentraleuropäischen Wolfsbestandes gebeten, einschließlich der Relevanz der Analysen in Verbindung mit der Identifikation von Wölfen und Wolfshybriden.

In der Anfrage soll das Nationale Zentrum für Umwelt – und Energie (DCE) folgende Fragen beantworten:

- Was bedeutet die Aussage: Der Zentraleuropäische Wolf gilt als gut beschrieben und als reinrassiger Wolfsbestand ohne Einmischung durch Hunde?
- Befindet sich DNA von Hunden in den Wölfen, die die EU-Habitat-Richtlinien umfasst?
- Was zeigt eine vollständige genomische Sequenzierung bzw. DNA-Analyse auf Arten- und Individualniveau von den dänischen Wölfen, welches das deutsche Senckenberg-Institut durchgeführt hat?
- In welchem Ausmaß kommen Wolfshybriden im Zentraleuropäischen Wolfsbestand vor?

Das Umweltministerium bittet darum, die Anfrage, wenn möglich, so zu beantworten, dass sie auch für einen Laien verständlich ist.

Methode

Um die meisten Fragen beantworten zu können, werden hier einige methodische Prozeduren der genetischen Arbeit skizziert um zu zeigen, wie das nationale Wolfsmonitoring des Umweltministerium funktioniert.

DNA-Analysen auf Arten- und Individuenebene

Die Diversität der Haplotypen (Varianten der Mitochondrien-DNA) des Zentraleuropäischen Flachlandbestandes des Wolfes sind sehr begrenzt, mit nur zwei Variationen. Wobei der Haplotyp HW01 der primäre und weitest verbreitete ist. Der Haplotyp HW02 ist sehr viel seltener (Czarnomska m.fl. 2013). Beide Typen wurden bei Dänischen Wölfen nachgewiesen (Sunde & Olsen 2018). In anderen Europäischen Wolfsbeständen ist die Diversität größer, und dort kennt man

mehrere andere Haplotypen als HW01 und HW02. Doch im Verhältnis zu Dänemark hat die begrenzte Anzahl von Haplotypen eine Bedeutung. Hunde haben eine Reihe von Haplotypen die nicht im Zentraleuropäischen Flachlandbestand des Wolfes vorkommen. Das Wissen über die Haplotypen der dänisch registrierten Wolfsindividuen fließt daher in die genetische Überwachung ein, da es die Artbestimmung unterstützen kann. In Fällen, in denen DNA-Analysen in Zusammenhang mit Speichelproben an Beutetieren genommen wurden, wurde „Hund“ festgestellt und gleichzeitig das Vorkommen des Haplotyps HW04, welcher nicht im Zentraleuropäischen Flachlandbestand des Wolfes auftritt. Dies hat die Artbestimmung „Hund“ unterstützt (Olsen & Sunde 2018b). Es muss aber in Betracht gezogen werden, dass z.B. ein Wolfshybrid mit einem Hund als Mutter und einem Wolf als Vater den haplotypen Charakter der Hunde aufweist. Und umgekehrt, ein Hybrid mit einem Wolf als Mutter und einem Hund als Vater, den haplotypen Charakter eines Wolfes zeigt. Daher kann Mitochondrien-DNA nicht zur Identifizierung von Hybriden angewandt werden. Dazu benötigt man Kern – DNA.

Insgesamt gibt es bei allen Säugerzellen zwei Arten von DNA: DNA aus den Mitochondrien der Zelle (mtDNA) in Tausenden von Kopien pro Zelle und die DNA aus dem Zellkern in nur einer Kopie in jeder Zelle. Die Kern-DNA wird von beiden Elternteilen vererbt und jedes Chromosom ist somit in 2 Varianten vorhanden - eine von jedem Elternteil, während mtDNA nur von der Mutter vererbt wird.

Bei DNA-Analysen, die bei der Überwachung von Wölfen in Dänemark genommen wurden, wurde zuerst eine Bestimmung von Spezies und Haplotyp (Variante der Mitochondrien-DNA) vorgenommen, basierend auf mtDNA mit insgesamt vier Wiederholungen (Replikaten). Weisen mindestens zwei der vier Analysen Wolf nach, wird die Probe als vom Wolf stammend akzeptiert; mit weniger bei den anderen Analysen weist es auf andere Raubtiere oder Hund hin. Die Ursache für Nichtübereinstimmung der Replikate sind darauf zurückzuführen, dass manchmal DNA aus der Nahrung des Wolfes anstatt vom Wolf selber verwendet wurde (Olsen m.fl. 2018a, b).

Wenn Proben DNA vom Wolf enthalten, wird versucht, das Geschlecht und die individuelle Identität des Tieres aus der Zellkern-DNA zu bestimmen. Die Bestimmung des Geschlechts und des Individuums wird mit Hilfe von zwei Geschlechtsmarkern (X- und Y-Chromosom), und beziehungsweise 13 Mikrosatellitenmarker, von denen jeder genetische Variationen aufweist und die über alle Markierungen ein einzigartiges DNA-Profil (Genotyp) erstellen, die das Individuum identifizieren. Mikrosatelliten sind kurze DNA- Sequenzen im Kerngenom, bestehend aus Motiven von ca. 2-6 Basenpaaren, die sich nacheinander wiederholen. Die Länge des gesamten Mikrosatelliten variiert oft zwischen den Individuen, und es ist die Variation zwischen den Längen über mehrere unterschiedliche Mikrosatellitenmarker, die angewendet werden, um ein Wolfsindividuum zu identifizieren.

Da die gleichen genetischen Marker angewendet werden, sowohl im Senckenberg-Institut in Deutschland wie im Biosciences Institut der Aarhus Universität, kann das identifizierte Individuum im Zentraleuropäischen Wolfsregister nachverfolgt werden, wobei der Ursprung (z.B. Geburtsort und früheres Vorkommen) und die Verwandtschaft mit anderen Wölfen (z.B. Eltern und Geschwister) archiviert werden können.

In Dänemark sind aktuell 13 verschiedene Wolfsindividuen mit bekanntem Genotyp registriert, wobei 7 von Deutschland eingewandert und 6 in Dänemark geboren sind (Sunde & Olsen 2018, Olsen & Sunde 2018a, b, Olsen u.a. 2018a, b).

Das genetische Profil, basierend auf den 13 Mikrosatellitenmarkern, hat es möglich gemacht, die familiäre Zugehörigkeit im Zentraleuropäischen Flachlandbestand zu bestimmen.

Mit dem Hintergrund einer gut beschriebenen Population, wie der des Zentraleuropäischen Flachlandbestandes, betrachten wir die Analysen, die bei der nationalen Überwachung durch das

Umweltministerium verwendet wurden, in Bezug auf identifizierte Individuen und deren Verwandtschaftsverhältnisse, als angemessen. Es besteht daher keine wissenschaftliche Notwendigkeit einer Genomsequenzierung, jedes Mal, wenn eine genetische Analyse durchgeführt werden soll, bei einem vermuteten Wolfsfund in Dänemark. Darüber hinaus macht es die Sache noch komplizierter (aber nicht unmöglich) eine solche Analyse auf Basis von Kotproben durchzuführen.

Hier reichen die gebräuchlichen Standards, mit der Aufforderung zur Dokumentation in Form von Bildern, auf denen man das Aussehen des Wolfes bewerten kann aus. Kombiniert mit dem genetischen Monitoring mit DNA-Analysen, deren Zweck nicht nur die Sicherstellung der Spezies, des Geschlechts und des Haplotyps ist, sondern noch wichtiger und spezieller eine Individualbestimmung die es möglich macht, dem einzelnen Individuum zu folgen und seinen familiären Ursprung aufzudecken.

Beantwortung der konkreten Fragen des Umweltministerium

Um dem Wunsch gerecht zu werden, den Bericht für Laien angemessen und verständlich zu formulieren, hat DCE sich entschlossen auf jede Frage eine gründliche, umfassende Antwort mit Erklärungen zu geben sowie eine zusammenfassende kurze Antwort, die das Wesentliche erläutert.

Frage a

Was bedeutet, der Zentraleuropäische Wolfsbestand sei ein gut dokumentierter und reinartiger Wolfsbestand?

Im Folgenden beantworten wir die Frage: *In wie weit kann die Zentraleuropäische Wolfspopulation als gut dokumentiert betrachtet werden. Frage: Kann die Zentraleuropäische Wolfspopulation als reinartig, ohne Einmischung von Hunden betrachtet werden?* wird beantwortet unter Frage b.

Antwort

Die Zentraleuropäische Flachlandpopulation des Wolfes (zu der alle in Dänemark vorkommenden und identifizierten Wölfe zählen) ist Bestandsmäßig einer der am besten beschriebenen und am intensivsten überwachten Wolfsbestände auf der Welt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass der Bestand, seit er sich in Ostdeutschland und Polen durch Immigranten aus dem Baltisch - Ostpolnischen Bestand etabliert hat, Gegenstand systematisch genetischer Überwachung durch Behörden des jeweiligen Landes oder Bundeslandes ist.

Die genetische Überwachung basiert hauptsächlich auf Analysen von 13 verschiedenen genetischen Markern (sogenannte autosomale Mikrosatelliten), sowie Geschlechts Marker (X- u. Y-Chromosom), die es teilweise möglich machen, ausgehend von der einzigartigen genetischen Kombination, Einzelindividuen zu identifizieren, teilweise das Familienverhältnis zwischen den Individuen (z.B. Stammbäume) sowie innerhalb der Population. Das genetische Wolfs-Monitoring basiert auf ähnlichen wissenschaftlichen Theorien und Methoden wie bei der Rechtsgenetik zur Identifikation der menschlichen Identität und Verwandtschaft ausgehend von DNA-Profilen.

Da die Bestandsüberwachung des Wolfes den jeweiligen nationalen oder regionalen Behörden unterliegen (in Deutschland hat jedes Bundesland seine eigene Wolfsüberwachung), variiert die Wolfsregistrierung von Land zu Land, von Bundesland zu Bundesland, was die Gründlichkeit und Methodik betrifft. In den deutschen Bundesländern (auch in Dänemark) hat man die Ambition, jedes Elternpaar genetisch zu identifizieren, was bedeutet, dass deren Nachkommen später zu ihren Eltern zurückverfolgt werden können, auch wenn die DNA-Profile der Nachkommen im Geburtsrevier nicht registriert wurden. In Polen werden nicht die gleichen Anstrengungen unternommen um alle DNA-Profile der Wolfspaare abzubilden. Das bedeutet, dass Individuen, die in Polen geboren sind, nicht immer zurückverfolgt werden können zu ihrem Elternpaar oder ihrem

Geburtsort. Es ist aber durchaus möglich, aus deren genetischem Profil zu bestimmen, aus welcher Population sie stammen.

Um den Überblick über die gesammelte DNA aus dem Zentraleuropäische Verbreitungsgebiet nicht zu verlieren, haben die Verantwortlichen der Wolfsüberwachung der betroffenen Länder eine Kooperation gebildet (CEwolf 2019). Grundpfeiler dieser Zusammenarbeit ist die genetische Referenzdatenbank über Wolfsindividuen aus dem Zentraleuropäischen Verbreitungsgebiet. Die Referenzdatenbank hat auch den Ausgangspunkt gebildet für die Analysen zur Verwandtschaft zwischen dem Zentraleuropäischen Flachlandbestand und dem übrigen europäischen Wolfsbestand. Darüber hinaus, dass man in der Datenbank den Ursprung einzelner Individuen aufspüren können möchte (Etablierung von Stammbäumen), gibt die Datenbank die Möglichkeit, Individuen fremden Ursprungs zu erkennen (z.B. eingewanderte Wölfe aus fremden Beständen, oder Individuen mit erkennbarer genetischer Einmischung vom Hund), da solche Individuen genetische Marker tragen, die vorher vom Bestand nicht bekannt waren.

Auf Basis des oben genannten Datenmaterials ist die genetische Variation des Zentraleuropäischen Flachlandbestandes in wissenschaftlichen Publikationen beschrieben und analysiert, woraus hervorgeht, dass er als genetisch distinkter Wolfsbestand gezählt werden kann, wie auch alle anderen in Europa beschriebenen Wolfsbestände (Hulvam.fl. 2018). Von den genetischen Analysen ausgehend ist es möglich zu bestimmen, dass die Wölfe, des zu Grunde liegenden Bestandes in Westpolen und Ostdeutschland Ende 1990, ihre genetische Herkunft im baltischen Wolfsbestand haben (Chapron m.fl. 2014) und dass die kleine Anzahl von Wölfen, die ursprünglich in der Grenzregion zwischen Deutschland und Polen „kolonisierte“ aus dem nordöstlichen Polen stammt (Czarnomska m.fl. 2013).

Das Ausbreitungsgebiet des Zentraleuropäischen Wolfsbestandes erstreckt sich hauptsächlich über den westlichen Teil Polens und Deutschlands (Reinhardt m.fl. 2015) mit einzelnen neueren Verjüngungen in Tschechien (Hulva m.fl. 2018) und Dänemark (Sunde & Olsen 2018). Wandernde Tiere aus dem Bestand konnten außerdem in Holland und Belgien nachgewiesen werden (Lielieveld m.fl. 2016). Der Bestand nimmt zu (Kaczensky m.fl. 2013), doch da er von einer relativ geringen Anzahl Wölfe, die aus dem Baltischen Bestand stammen, hervorgeht, ist die genetische Diversität begrenzt (Hulva m.fl. 2018). Man spricht hier von einer geringen Haplotypen-Diversität (Varianten der mitochondrialen DNA, mtDNA) im Bestand. Die Analysen zeigen auch, dass es nur einen begrenzten genetischen Austausch zwischen dem Zentraleuropäischen Flachlandbestand und dem baltischen Bestand gibt sowie einen genetischen Unterschied zwischen den beiden Beständen obwohl der Zentraleuropäische Flachlandbestand aus zwei Individuen des baltischen Bestandes hervorgeht und daher ursprünglich eng miteinander verwandt waren (Czarnomska m.fl. 2013).

Seit der ersten gemeldeten Reproduktion in Deutschland/Lausitz, in der Nähe von Polen 2000 (Reinhardt m.fl. 2015), ist der Bestand nach der letzten Inventarisierung auf 780-1030 gestiegen (Linnell & Cretois 2018). Da die genetische Überwachung bereits früh bei der Etablierung des Bestandes initiiert wurde, ist es möglich geworden, einen Stammbaum zu erstellen, der zurückführt auf die Wölfe, die ursprünglich den Bestand gegründet haben. Neue Einzelindividuen kamen nach und nach mit dem Anwachsen des Bestandes hinzu und die beidseitige Verwandtschaft konnte genetisch festgehalten werden. Die kontinuierliche Arbeit, und die internationale Zusammenarbeit machen es möglich, einzelne Wölfe in Dänemark mit den Profilen in der Referenzdatenbank abzugleichen.

Zusammengefasste Antwort:

Wie oben beschrieben, kann man den Zentraleuropäischen Flachlandbestand des Wolfes als gut beschrieben, bezeichnen, was den Ursprung (Baltikum), die Etablierungsgeschichte, die Ausbreitung, die Entwicklung und was die Verwandtschaftsverhältnisse der meisten Individuen

betrifft. Im Allgemeinen muss der Bestand als gut überwacht (monitoring) bezeichnet werden. Auch wenn das genetische Monitoring darauf ausgelegt ist die Wechselbeziehungen der Bestände zu überwachen, anstatt eventuelle Hybriden und zurückgebliebene Individuen zu verfolgen, werden Hybriden der ersten Generation wahrscheinlich an Hand von abweichenden DNA-Profilen identifiziert.

Frage b

Befindet sich DNA von Hunden in den Wölfen, die von der EU Habitat-Direktive umfasst werden?

Antwort

Domestizierung ist der Prozess, durch den sich ein wildes Tier durch selektive Zucht über Tausende von Jahren an das Leben mit Menschen anpasst. Hunde haben sich durch einen langen Prozess der Domestizierung aus Wölfen entwickelt. In den letzten Jahren wurden neue Ergebnisse veröffentlicht, die auf der Analyse ganzer Genome beruhen und ein neues Licht auf die Evolutionsgeschichte von Hunden und Wölfen werfen. Insbesondere eine Studie von Fan et al. (2016), aus der hervorgeht, dass auch nach der Domestizierung von Wölfen, sie also zu Hunden wurden, ein langer Austausch von Genen erfolgte, sowohl von Haushunden zu Wölfen als auch von Wölfen zu Haushunden.

Dies bedeutet, dass Haushunde und Wölfe eine gemeinsame Evolutionsgeschichte haben, von der ursprünglichen Domestizierung des Hundes vor 15-35.000 Jahren und noch länger zurückliegend als bisher angenommen (es ist zu beachten, dass der Zeitpunkt der Domestizierung selbst umstritten und aufgrund des Austauschs von genetischen Variationen zwischen Hund und Wolf schwierig einzuschätzen ist).

Aus biologischer Sicht werden Hunde (*Canis lupus familiaris*) und Wölfe (*Canis lupus lupus*) als Unterarten der gleichen Art betrachtet, die entstanden und aufrechterhalten werden auf Grund unterschiedlichen Selektionsdruckes (Wildtierform – Zahmtierform). Trotz der Tatsache, dass die beiden Ökotypen im Laufe der Geschichte anscheinend ständig genetisches Material ausgetauscht haben durch Paarung und Rückkreuzungen (Fan m.fl. 2016, Pilot m.fl. 2018).

Daher gibt es genetische Variationen von Haushunden in einem großen Teil der untersuchten Wolfspopulation weltweit, einschließlich der Bestände, die unter die EU-Habitat-Richtlinie fallen. Dieser Austausch von Genen zwischen Hunden und Wölfen aus prähistorischer Zeit und sogar bis heute hat dazu geführt, dass die meisten eurasischen Wölfe ein gewisses Maß an Vermischung mit Hunden zeigen; bei Wölfen aus Europa und dem Nahen Osten stammen 7 - 25% des Genoms zu einem bestimmten Zeitpunkt vom Hund.

Obwohl sich Hunde seit der ursprünglichen Domestizierung von Hunden in verschiedenen Teilen Eurasiens mit Wölfen vermischt haben, haben die Wolfspopulationen dennoch ein ausgeprägtes genetisches Profil, das sie deutlich von Hunden unterscheidet. Biologisch ist dies wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die natürliche Selektion der meisten Eigenschaften von Hunden in der Natur das Ergebnis des Domestizierungsprozesses ist (Pilot et al. 2018). Man kann sagen, dass ein Wolfsmischling, der sich in der Natur wie ein Hund verhält, schlechter durchkommt als ein Wolfsmischling, der sich wie ein echter Wolf verhält. Es ist daher zu erwarten, dass die Allele (Genvarianten), die für Hundeeigenschaften (z. B. Verhalten) stehen, nach einigen Generationen verschwinden. Es gibt jedoch auch Beispiele für eingekreuzte Allele von Hunden, die sich in Wolfspopulationen als vorteilhaft erwiesen haben: Wölfe mit schwarzer Fellfarbe sind bei nordamerikanischen Wölfen weit verbreitet. Diese Farbvariante kann einem Allel des Hundes in einem Gen zugeschrieben werden, das die Fellfarbe beeinflusst. Es wird angenommen, dass das Allel in prähistorischer Zeit in die Wolfspopulation eingekreuzt wurde und sich dann durch natürliche Auslese in der Population ausgebreitet hat (Anderson m.fl. 2009). In ähnlicher Weise treten manchmal auch dunkle Formen in der italienischen Wolfspopulation auf, von denen

angenommen wird, dass sie weit in der Geschichte zurückliegen (Pilot ua 2018). Genvarianten, die keine Unterschiede im Phänotyp verursachen, können jedoch im Bestand verbleiben als ein messbarer Ausdruck für Kreuzungen, die viele Generationen zurückliegen. In der Praxis bedeutet dies, dass man unterscheiden muss zwischen einem andauernden evolutionären Prozess einer genetischen Variation zwischen Hund und Wolf, und einer Hybridisierung die erst vor kurzem stattgefunden hat, wie z.B. ein Hybrid aus erster Generation (F1) zwischen Hund und Wolf. Hier haben die Nachkommen eine Reihe von Eigenschaften von Hund und Wolf, die von der natürlichen Auslese nicht beeinträchtigt wurden.

Eine Kreuzung zwischen verwandten Arten mit anschließender Rückkreuzung zu einer Elternart (Introgressive Hybridisierung) ist für Wölfe nicht einzigartig. Viele Tierarten können hybridisieren, und aktuelle Schätzungen zeigen, dass in mindestens 6% der europäischen Säugetierarten einige Hybridisierungen auftreten (Mallet 2005). Doch wie bei Wölfen, nimmt man an, dass die Häufigkeit der Hybridisierung sehr gering und der Effekt auf das Bestandsniveau begrenzt ist. Beispiele sind z.B. die europäische Wildkatze (Kreuzung mit Hauskatze) (Steyer m.fl. 2018), Wildren (Kreuzung mit Hausren) (Roed m.fl. 2014) und Wildschwein (Kreuzung mit Hausschwein) (Iacolina m.fl. 2018).

Beispiele für die Hybridisierung zwischen Wildarten in freier Wildbahn sind zum Beispiel Wolf, Rot-Wolf und Coyote in Nordamerika (Hinton et al. 2018, Monson et al. 2014) oder der europäische Bison, der das Ergebnis einer Hybridisierung zwischen dem Steppenbison und dem Uroxen [diesen Uroxen gibt es nicht, aber das ist eine längere Geschichte] aus prähistorischer Zeit ist (Soubrier m.fl. 2016). Schließlich wurde für unsere eigene Art Mensch festgestellt, dass es zwischen dem bereits ausgestorbenen Neandertaler und dem modernen Mensch mehrmals zur Hybridisierung kam, wobei mindestens 20% des Genoms des Neandertalers im modernen Menschen zu finden sind (Vernot & Akey 2014). So stammen ca. 2-3% des Genoms bei Einzelindividuen des Menschen mit nicht-afrikanischer ethnischer Zugehörigkeit (d.h. Europäer, Asiaten usw.) vom Neandertaler.

Kann die Zentraleuropäische Wolfspopulation als reinartig betrachtet werden, ohne Einmischung von Hunden?

Es gibt keinen objektiv definierten Standard dafür wie genetisch „rein“ eine Population sein muss, um als „rein“ betrachtet zu werden, da alle Wolfspopulationen in Eurasien anscheinend ein Kontinuum an Genotypen von Individuen ohne Spuren von Hunde DNA haben, bis hin zu Individuen mit 25% Hunde-DANN, ohne das man diese Individuen morphologisch voneinander unterscheiden kann (Pilot m.fl. 2018). Rein praktisch kann man zwischen einem historisch-evolutionärem Prozess mit dem Austausch von Variationen zwischen Hund und Wolf und konkreten Fällen, bei denen sich ein jetzt lebender Hund mit einem Wolf paart, unterscheiden. Im vorgenannten Fall geht es dezidiert um eine Vermischung von Eigenschaften zwischen wilden und domestizierten Tieren, wobei bei dem langanhaltenden Prozess der Evolution eine natürliche Selektion stattgefunden hat.

Die europäischen Wölfe scheinen einen genetischen Grad der Vermischung mit Hunden zu haben, der durchweg auf einer Linie mit den Wolfspopulationen in Asien und im Nahen Osten ist (Pilot m.fl.2018). Im Verhältnis zu anderen europäischen Wolfspopulationen ist die Zentraleuropäische Wolfspopulation noch nicht spezifisch auf den Grad der Vermischung mit Hunden untersucht worden. Es ist daher zur Zeit nicht möglich, sich dazu zu äußern, inwieweit der Grad der Vermischung mit Hunden sich bei der Zentraleuropäische Wolfspopulation von anderen europäischen Wolfspopulationen unterscheidet.

Aus ökologischer Sicht deutet jedoch nichts darauf hin, dass die Häufigkeit der Hybridisierung und die anschließende Rückkreuzung zwischen Wolf und Hund (Introgressive Hybridisierung) in der Gegenwart oder innerhalb der letzten Generationen häufiger bei der Zentraleuropäischen Flachlandpopulation des Wolfes vorkommen als z.B. in Südeuropa, ganz im Gegenteil. Dies ist auf

die Tatsache zurückzuführen, dass der Anteil frei lebender Hunde im übrigen niedriger ist und dass die Behörden in den Ländern, in denen die Zentraleuropäische Wolfspopulation zu Hause ist, die Population genau überwachen und zielgerichtet versuchen angetroffene Hybriden zu eliminieren.

Zusammenfassende Antwort: In einem großen Teil der weltweit untersuchten Wolfsbestände, einschließlich aller Bestände, die unter die EU-Habitat-Richtlinie fallen, befindet sich DNA des Hundes. Dies liegt an der Tatsache, dass Wölfe und Hunde (die biologisch als dieselbe Art betrachtet wird) wahrscheinlich zu keinem Zeitpunkt in den 15000 – 35000 Jahren zu 100% reproduktiv voneinander getrennt waren. Da zwei unterschiedliche voneinander getrennte Unterarten oder Ökotypen derselben Art existiert haben. Aus demselben Grund ist es nicht möglich, eine "reine" Wolfspopulationen zu definieren oder zu identifizieren. Allele (Genvariationen) mit Hunde-Ursprung, die in Wolfspopulationen gefunden werden, sind daher das Resultat einer Paarung zwischen Wolf und Hund auf einer Zeitskala die sich über mehrere tausend Jahre erstreckt. Wie beschrieben, werden genetische Variationen, welche permanent vom Hund auf den Wolf übertragen werden und Codes für spezifische Merkmale des Hundes von der Natur ausselektiert.

Europäische Wölfe scheinen einen genetischen Grad der Vermischung mit Hunden zu haben, die mit den Wolfspopulationen in Asien und im Nahen Osten übereinstimmen. Die Zentraleuropäische Flachlandpopulation wurde auf den Vermischungsgrad mit Hunden noch nicht speziell mit anderen europäischen Wolfspopulationen untersucht. (??) Ausgehend von den aktuellen Bestands- und Landschaftsverhältnissen im Ausbreitungsgebiet der Zentraleuropäischen Wolfspopulation, wird die aktuelle Häufigkeit von Genaustausch vom Hund zum Wolf nicht höher sein als z.B. in Südeuropa, wo freilaufende Hunde zahlreicher sind als z.B. in Deutschland und Dänemark.

In der Praxis ist es also zweckmäßig zu unterscheiden zwischen einem evolutionären Prozess über einen langen Zeitraum, und einer Hybridisierung die innerhalb weniger Generationen stattgefunden hat. Im letzteren Fall reden wir dezidiert von einer Vermischung von Eigenschaften zwischen wilden und domestizierten Tieren, während im langdauernden evolutionärem Prozess eine natürliche Selektion stattgefunden hat.

Frage c

Was zeigt eine vollständige genomische Sequenzierung bzw. DANN-Analyse auf Arten- und Einzelebene der dänischen Wölfe, welche das Deutsche Senckenberg Institut durchgeführt hat?

Antwort

Einleitend sollte darauf hingewiesen werden, dass die Wahl nicht sein kann, eine geringe Anzahl von genetischen Markern zu verwenden, wie momentan bei der Überwachung der Wölfe durch das Umweltministerium und der Sequenzierung des gesamten Genoms, was hunderttausende oder sogar noch mehr genetische Marker identifizieren kann. Es gibt zwischen diesen beiden Extremen also eine Vielzahl von Methoden, bei denen im gesamten Genom einige tausend oder viele tausend genetische Marker analysiert werden, beispielsweise mit sogenannten "SNP-Chips" (SNP steht für single nucleotide polymorphism, das bedeutet: z.B. A in einer DNA Sequenz bei einem Individuum mutiert zu C bei einem anderen Individuum). Je nachdem, welche Fragen man beantworten möchte, können SNP-Chips und andere Methoden sehr nützlich und kostengünstiger sein als eine vollständige Sequenzierung. Mit einer Genomsequenzierung (oder mit Methoden, die wie oben erwähnt einen großen Teil des Genoms analysieren) kann man viel mehr Details erhalten als mit den DNA-Analysen auf Arten- und Einzelebene, die im nationalen Wolfsmonitoring verwendet werden. Daher gibt es große Unterschiede in der durchschnittlichen Sequenzierung und den derzeit verwendeten analytischen Methoden. Abhängig von der zu beantwortenden Frage, wird jedoch die bestgeeignete Methode ausgewählt. Basierend auf der gründlichen genetischen Überwachung der Zentraleuropäischen Wolfspopulation, die unter anderem die Erstellung von Stammbäumen und die Erstellung einer Datenbank über Einzelindividuen ermöglicht hat, sind die DNA-Analysen, die

derzeit in der Wolfsüberwachung in Dänemark verwendet ausreichend, um das Art- und Einzelniveau sowie den Haplotyp und das Geschlecht zu bestimmen. Darüber hinaus wurden Methoden und genetische Marker ausgewählt, um stark abgebaute DNA in kleinen Mengen aus Kot, Speichel oder anderen ähnlichen Proben von Wölfen zu analysieren. Es war daher nicht beabsichtigt, die genetischen Marker zur Identifizierung von Hybriden zu verwenden. Und weder der Typ der Marker (Mikrosatelliten) noch die relativ geringe Anzahl der verwendeten Marker ist für die Analyse der introgressiven Hybridisierung optimal. Sollte ein Individuum in Zukunft identifiziert werden ohne Verbindung zu anderen Familien im Zentraleuropäischen Wolfsregister, könnte man argumentieren, dass es in einem solchen Fall angebracht sein könnte, eine Genomsequenzierung (oder weniger umfangreiche Analysen auf der Genomebene, wie oben beschrieben) durchzuführen, um mit Hinblick darauf mit Sicherheit die genetische Zugehörigkeit zu klären. Sei es ein Wolfs- Hund- Hybrid oder ein Wolf, der entweder aus einem anderen Bestand selbst eingewandert ist oder der Nachkomme eines Wolfes aus einem anderen Bestand ist, welcher Nachkommen mit einem Zentraleuropäischen Wolf hat.

Eine Reihe von Wölfen der Zentraleuropäische Wolfspopulation wurde auf der Grundlage einer großen Anzahl genetischer Marker (SNP-Chips) analysiert, jedoch nicht auf spezifische Genom-Sequenzen. Im dänischen Beispiel mit Thy-Wolf GW051m wurde beispielsweise ein SNP-Chip (Andersen et al. 2015) verwendet. Das Resultat der umfangreichen Analysen von 22163 Markern (SNPs) zeigten, dass es keine Anzeichen dafür gab, dass es in jüngerer Zeit Hunde weder unter den Vorfahren des Thy Wolfes gab, noch unter den 9 Wölfen aus Deutschland oder den 13 Wölfen aus Polen, die alle in die Studie mit einfließen (Abb. 1, Andersen et al. 2015). Darüber hinaus zeigte die Analyse, dass GW051m (Stern) die Gruppe mit Wölfen aus Deutschland (Kreis 1) und getrennt in bezug auf die Wölfe aus dem nordöstlichen Polen (Kreis 2), während bekannte Wolfshybriden (Kreis 3 u. Diamant) gruppiert wurden zwischen Wölfen und domestizierten Hunden (Kreis 4). Eine der Deutschen Proben wurden zusammen gruppiert mit den Wölfen aus Nordost Polen, was in dem konkreten Fall auf eine kürzliche Einwanderung nach Ostdeutschland schließen lässt. (Abb.1)

Die hohe Auflösung in der GW051m-Studie ist auf die große Anzahl genetischer Marker zurückzuführen, die eine hohe statistische Sicherheit bieten. Geht man noch einen Schritt weiter, und sequenziert das ganze Genom, kann man aus einer Reihe von Faktoren Nutzen ziehen. Insbesondere ist die "Kopplung" zwischen den genetischen Markern auf den Chromosomen informativ. Es würde zu weit führen, dies im Detail zu beschreiben, aber dies ist zum Beispiel der Grund, der es möglich gemacht hat, die fortschrittlichen genetischen Analysen in Fan u.A. (2016) durchzuführen.

Zusammenfassende Antwort: Die Wahl der Methode – ist wie immer – von der Fragestellung abhängig. Die aktuellen Analysen auf der Basis von Mikrosatelliten und mtDNA sind ausreichend für das Monitoring, das man initiieren möchte. Dies bedeutet im Umkehrschluss aber nicht, dass es keinen Spielraum oder Notwendigkeit für Entwicklung neuer Methoden mit höherer Effizienz und Detaillierungsgrad gibt, als die derzeitigen Methoden.

Ist es beabsichtigt, das eventuelle Vorkommen von Hybriden nachzuweisen (??), ist es zweckmäßig Methoden zu benutzen, die auf viel mehr Markern basieren. Dies kann sicher durch die Analyse des ganzen Genoms erreicht werden und im Ganzen gesehen, würde dies eine enorme Menge an Informationen generieren. Es gibt jedoch auch Methoden, deren Analysen auf SNP Chips basieren, was billiger ist, bezüglich der Analyse weniger kompliziert und auch geeignet zur Identifizierung von Hybriden ist, wie die vorstehende Studie des Thy Wolfes GW051m veranschaulicht.

Am frfolgversprechendsten wäre es, eine Methode zu entwickeln, die sowohl bei der Analyse von DNA aus Fäkalien usw. effektiv ist, und gleichzeitig die Anzahl von Markern erhöht, so dass man mit der gleichen Methode die Anforderungen des Überwachungs-Monitorings erfüllt sowie eventuelle Hybriden identifizieren kann. Vielleicht kann man auch gleichzeitig weitere Informationen aus Fäkalienproben generieren, wie z.B. Futtertiere, Parasiten u.v.m.

Frage d

Inwieweit kommen Wolfshybriden in der Zentraleuropäischen Wolfspopulation vor?

Antwort

Es sind fünf Fälle, im Ausbreitungsgebiet der Zentraleuropäischen Flachlandpopulation, von Würfen bekannt, die aus einer Kreuzung zwischen Hund und Wolf (F1 Hybrid-Wurf) bekannt. Zwei in Deutschland und drei in Polen. In allen fünf Fällen handelt es sich um eine einzige Wölfin, die sich mit einem Hunde Rüden gepaart hat. Aufgezogen hat die Wölfin die Würfe alleine. Die fünf Fälle:

2003 in Sachsen/Deutschland: (Nowak et al. 2018, Reinhardt & Kluth 2007):
Sechs Welpen, davon wurden im folgenden Winter eingefangen. Die letzten zwei verschwanden im Februar 2004.

2014 in Westpommern, in Polen (Robert Mysłajek, persönliche Mailkorrespondenz):
Alle Welpen wurden gefangen und getötet.

2017 Thüringen, Deutschland (Nowak m.fl. 2018).
Sechs Welpen, davon wurden im nächsten Winter vier gesichtet. Von diesen wurden drei gefangen. Der letzte Nachkomme ist noch immer mit seiner Mutter zusammen.

2018 i Kujavien-Pommern in Polen (Robert Mysłajek, persönliche Mail-Korrespondenz)
Einige, aber nicht alle Welpen wurden eingefangen und getötet.

2018 i Łódźsk i Polen (Robert Mysłajek, persönliche Mail-Korrespondenz):
Alle Welpen wurden eingefangen und getötet.

In den beiden deutschen Fällen, die 2003 in Neustadt im Osten Sachsens und 2017 auf dem Militärübungsplatz Ohrdruf im südlichen Thüringen stattgefunden haben, wurde schnell der Verdacht geäußert, dass es sich um Wolfshybriden handelt. Die betreffenden Welpen wiesen Charakteristika auf, die nicht vereinbar waren mit dem normalen Aussehen eines Wolfes zugehörig der Zentraleuropäische Wolfspopulation. Verglichen mit anderen Populationen auf der Welt sind die Variationen im Aussehen eines Wolfes der Zentraleuropäischen Flachlandpopulation verhältnismäßig begrenzt, was die Grundfarben des Felles betrifft sowie die generelle Musterung und die Körperproportionen, weshalb Abweichungen wahrscheinlich augenscheinlich sind. Dies machte sich in den beiden deutschen Fällen bemerkbar, in denen der Verdacht später durch genetische Analysen bestätigt werden konnte. Auf der Grundlage der Standards für das Wolfs-Monitoring der Zentraleuropäischen Flachlandpopulation, mit der Forderung zur Bilddokumentation und der genetischen Überwachung, kann man davon ausgehen, dass eventuelle Wolfshybriden verhältnismäßig schnell entdeckt werden.

DCE ist nicht bekannt, ob in der Zentraleuropäischen Wolfsdatenbank zusätzlich zu den oben genannten Fällen F1-Hybriden gemeldet wurden.

Zusammenfassende Antwort: Es sind fünf Fälle von Hybridwürfen zwischen Wolf und Hund (alle mit einem Wolf als Mutter) aus der Zentraleuropäische Flachlandpopulation bekannt. Die überwiegende Mehrheit der ersten Generation Hybriden (F1 Hybriden) wurden eingefangen bevor sie selbständig wurden. Es sind bis jetzt vom Verbreitungsgebiet der Zentraleuropäischen Flachlandpopulation keine F1 Hybriden bekannt, die als selbstständig oder reproduzierend zu bezeichnen wären. Mit dem aktuellen Bestandsüberwachungsaufwand in Dänemark und

Deutschland muss als wahrscheinlich angesehen werden, dass zukünftige Wolfshybriden relativ schnell entdeckt werden und wenn nicht, spätestens dann, wenn sie ein Paar bilden.