

Hans K. Stenøien, Xin Sun, Michel D. Martin, Camilla H. Scharff-Olsen, Germán Hernández Alonso, Nuno Filipe Gomes Martins, Liam Lanigan, Marta Maria Ciucani, Mikkel-Holger S. Sinding, Shyam Gopalakrishnan og M. Thomas P. Gilbert

## Genetisk opphav til den norske-svenske ulvestammen (*Canis lupus lupus*)

NTNU Vitenskapsmuseet  
naturhistorisk rapport 2021-11





NTNU Vitenskapsmuseet naturhistorisk rapport 2021-11

Hans K. Stenøien, Xin Sun, Michel D. Martin,  
Camilla H. Scharff-Olsen, Germán Hernández Alonso,  
Nuno Filipe Gomes Martins, Liam Lanigan,  
Marta Maria Ciucani, Mikkel-Holger S. Sinding,  
Shyam Gopalakrishnan og M. Thomas P. Gilbert

**Genetisk opphav til den norske-svenske  
ulvestammen (*Canis lupus lupus*)**

## NTNU Vitenskapsmuseet naturhistorisk rapport

Dette er en elektronisk serie fra 2013 som erstatter tidligere Rapport botanisk serie og Rapport zoologisk serie. Serien er ikke periodisk, og antall nummer varierer per år. Rapportserien benyttes ved endelig rapportering fra prosjekter eller utredninger, der det også forutsettes en mer grundig faglig bearbeidelse.

**Tidligere utgivelser:** <http://www.ntnu.no/web/museum/publikasjoner>

### Referanse

Stenøien, H.K., Sun, X., Martin, M.D., Scharff-Olsen, C.H., Alonso, G.H., Martins, N.F.G., Lanigan, L., Ciucani, M.M., Sinding, M.-H.S., Gopalakrishnan, S., Gilbert, M.T.P. 2021. Genetisk opphav til den norsk-svenske ulvestammen (*Canis lupus lupus*) – NTNU Vitenskapsmuseet naturhistorisk rapport 2021-11: 1-53.

Trondheim, november 2021

### Utgiver

NTNU Vitenskapsmuseet  
Institutt for naturhistorie  
7491 Trondheim  
Telefon: 73 59 22 80  
e-post: [post@vm.ntnu.no](mailto:post@vm.ntnu.no)

### Ansvarlig signatur

Ingrid Ertshus Mathisen (instituttleder)

### Publiseringstype

Digitalt dokument (pdf)

### Forsidefoto

Foto: Per Harald Olsen

[www.ntnu.no/museum](http://www.ntnu.no/museum)

ISBN 978-82-8322-299-9  
ISSN 1894-0056

# Sammendrag

Stenøien, H.K., Sun, X., Martin, M.D., Scharff-Olsen, C.H., Alonso, G.H., Martins, N.F.G., Lanigan, L., Ciucani, M.M., Sinding, M.-H.S., Gopalakrishnan, S., Gilbert, M.T.P. 2021. Genetisk opphav til den norsk-svenske ulvestammen (*Canis lupus lupus*) – NTNU Vitenskapsmuseet naturhistorisk rapport 2021-11: 1-53.

Den genetiske opprinnelsen til den norsk-svenske ulvebestanden har vært debattert helt siden den tilsynelatende ble reetablert på 1980-tallet. Det er stilt spørsmål om bestanden kan være nedstammet fra andre ulver enn de som hører hjemme i dagens Fennoskandia, og i hvilken grad den bærer på arvemateriale fra hund som følge av hybridisering. Slike spørsmål har tidligere vært undersøkt ved hjelp av genetiske markører med lav oppløsning, som mitokondrier og mikrosatellitter, samt analyser av et begrenset antall hele genomer. Sistnevnte har vært basert på prøver samlet over en for begrenset romlig og temporal utstrekning til å kunne konkludere sikkert om genetisk opphav til norsk-svensk ulv. Dette har igjen gitt rom for tvil med tanke på bruken av disse dataene i forvaltningssammenheng.

NTNU Vitenskapsmuseet fikk i oppdrag å lede et samarbeid som skulle undersøke opprinnelsen til de norsk-svenske ulvene på nytt, samt å undersøke graden av hybridisering mellom hund og ulv. Dette arbeidet skulle utføres ved å skaffe til veie et nytt datasett bestående av helgenomsekvenser fra hele ulvens utbredelsesområde og bestående av både moderne og historiske ulveprøver. I alt 34 forskere og institusjoner har hjulpet med innsamling av materiale, og takket være dette samarbeidet kan vi presentere resultater basert på et datasett som representerer den globale genetiske sammensetningen til ulv og hund.

Vi konkluderer for det første med at den moderne norsk-svenske ulvestammen er genetisk mest lik finsk ulv, nærmere bestemt en delpopulasjon som i dag hovedsakelig finnes i det sørvestlige Finland. Vi finner det ikke sannsynlig at den opprinnelige norsk-svenske ulvebestanden, som ble utryddet en gang før 1970, bidro genetisk inn i den nåværende bestanden. Imidlertid finner vi at visse ulver som fortsatt holdes i dyrehager i Finland og Sverige genetisk sett er nærmere den historiske populasjonen, og slik sett muligvis representerer siste gjenlevende rest av denne nå utryddede bestanden. I tråd med tidligere studier finner vi at dagens norsk-svenske ulver har blant de laveste nivåene av innblanding fra hund sammenlignet med andre ulver i verden som vi har studert. Vi viser også at den norsk-svenske bestanden er svært innavlet sammenlignet med ulver fra andre deler av verden, og selv om den danner en egen genetisk klynge, genetisk adskilt fra andre ulvebestander, så finner vi ingen indikasjoner på spesielle eller unike genetiske tilpasninger i norsk-svensk ulv.

Dette prosjektet er gjennomført uavhengig og upartisk, uten påvirkning eller press fra noen andre instanser. Det er resultatet av et teamarbeid utført av medarbeidere ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet og København universitet. Vi ønsker å takke alle som har bidratt med prøver som har gjort dette studiet mulig, så vel som medlemmer av den vitenskapelige rådgivningsgruppen.

Nøkkelord: next-generation sequencing, museum, vitenskapelig samling, whole genome sequencing, ancient DNA, aDNA, high-throughput, bioinformatikk, innavl, seleksjon, fitness, hybridisering, hund

Hans K. Stenøien, Xin Sun, Michel D. Martin og M. Thomas P. Gilbert, NTNU Vitenskapsmuseet, Institutt for naturhistorie, NO-7491 Trondheim

Mikkel-Holger S. Sinding, Københavns Universitet, Biologisk Institut, DK-1350 København, Danmark

Camilla H. Scharff-Olsen, Germán Hernández Alonso, Nuno Filipe Gomes Martins, Liam Lanigan, Marta Maria Ciucani, Shyam Gopalakrishnan, M. Thomas P. Gilbert, Københavns Universitet, The Globe Institute, Center for Evolutionary Hologenomics, DK-1350 København, Danmark

# Summary

Stenøien, H.K., Sun, X., Martin, M.D., Scharff-Olsen, C.H., Alonso, G.H., Martins, N.F.G., Lanigan, L., Ciucani, M.M., Sinding, M.-H.S., Gopalakrishnan, S., Gilbert, M.T.P. 2021. Genetisk opphav til den norsk-svenske ulvestammen (*Canis lupus lupus*) – NTNU Vitenskapsmuseet naturhistorisk rapport 2021-11: 1-53.

The genetic ancestry of the Norwegian-Swedish wolf population has been controversial ever since its re-establishment in the late 20th century. Questions have been raised about whether the population contains ancestry from wolves other than those native to Fennoscandia, and whether it contains introgression from dogs. Previous efforts have been put into investigating these problems using limited genetic markers, such as mitochondria and microsatellites, as well as analyses using a limited number of whole genomes. However, the latter contain insufficient spatial and temporal sampling of wolves related to this population to provide conclusive insights into the population's genetic origin, thus potentially limiting the use of such data for future conservation planning.

The NTNU University Museum was assigned to lead a collaboration aimed at re-investigating the origins of the Norwegian-Swedish wolves, as well as investigating the degree of hybridization between dogs and wolves, using a newly generated whole-genome sequencing dataset. Thanks to collaboration from 34 researchers across Europe who assisted in providing modern and historic wolf samples, we are now able to report on the results generated from a dataset that represents the global genetic background of wolves and dogs.

The following conclusions relating to the ancestry of the Norwegian-Swedish wolves are supported by our dataset and analysis. Firstly, the living population of Norway and Sweden is genetically most closely related to contemporary Finnish wolves, more specifically a subpopulation that is at the present time mainly found in the South-Western parts of Finland. Thus, we do not find it likely that the prior Norwegian-Swedish wolf population, which was effectively extirpated in the region by the 1970s, contributed genetically to the current population. However, we do find that certain captive wolves still held in zoos in Finland and Sweden are genetically more closely related to the now extirpated historical population, thus possibly representing their last remnants. With regards to admixture with dogs, consistent with the finding of other analyses, today's Norwegian-Swedish wolves carry some of the lowest levels of dog ancestry in comparison to other wolves found globally. Our analyses also allow us to identify that the population is highly inbred compared to wolves from other parts of the world, and although their genomes form a distinct cluster from other populations, we found no signal of genetic adaptation specific to the Norwegian-Swedish wolves.

This project was conducted independently and impartially without being subject to any bias or pressure from other agencies. This study has been a team effort by our group members from both the Norwegian University of Science and Technology and the University of Copenhagen. For their many useful contributions, we would like to thank those who provided the samples enabling this study, as well as the members of our scientific advisory panel.

Key words: next-generation sequencing, museum collection, whole genome sequencing, ancient DNA, aDNA, high-throughput, bioinformatics, inbreeding, selection, fitness, hybridization, dog

Hans K. Stenøien, Xin Sun, Michel D. Martin og M. Thomas P. Gilbert, NTNU University Museum, Department of Natural History, NO-7491 Trondheim

Mikkel-Holger S. Sinding, The University of Copenhagen, Department of Biology, DK-1350 København, Denmark

Camilla H. Scharff-Olsen, Germán Hernández Alonso, Nuno Filipe Gomes Martins, Liam Lanigan, Marta Maria Ciucani, Shyam Gopalakrishnan, M. Thomas P. Gilbert, The University of Copenhagen, The Globe Institute, Center for Evolutionary Hologenomics, DK-1350 Copenhagen, Denmark

# Innhold

Sammendrag .....	3
Summary .....	4
Forord .....	6
1 Innledning .....	8
1.1 Den norsk-svenske ulvestammen.....	8
1.2 Genetiske studier av ulvebestander .....	8
1.3 Mål .....	10
2 Materiale og metoder.....	11
2.1 Prøveinnhenting .....	11
2.2 Genomsekvensering og dataprosessering .....	11
2.3 Analyser av populasjonsstruktur.....	12
2.4 Populasjonsfitness-analyser .....	12
2.5 Sammenligninger av genetisk affinitet ved hjelp av <i>f3</i> -utgruppe observator.....	12
2.6 Modellering av <i>mixed ancestry</i> for moderne norsk-svenske ulver .....	13
2.7 Seleksjon-scans for signaler på lokal tilpasning .....	14
3 Resultater .....	15
3.1 Genomsekvensering av eurasiske ulver .....	15
3.2 Genetisk struktur hos eurasiske og nordamerikanske ulver.....	19
3.3 Populasjonsfitness hos ulv.....	24
3.4 Turnover av fennoskandiske ulver.....	28
3.5 Modellering av blandet avstamning ( <i>mixed ancestry</i> ) hos moderne norsk-svensk ulv.....	32
3.6 Test for signaler på lokal tilpasning i fennoskandiske ulver .....	42
4 Diskusjon .....	44
4.1 Finske ulver er genetisk mest lik dagens norsk-svenske ulvestamme.....	44
4.2 Ingen genetisk innblanding fra hund eller andre ulvebestander enn den finske .....	44
4.3 Utryddelse og reetablering av fennoskandiske ulver.....	45
4.4 Høy grad av innavl i norsk-svensk ulvebestand .....	45
5 Konklusjon .....	46
6 Ordliste .....	47
7 Litteraturliste .....	49

## Forord

Stortinget ba i 2016 om en ny uavhengig utredning av den genetiske opprinnelsen til ulvestammen i Norge. Med bakgrunn i dette ba Klima- og miljødepartementet (KLD) Miljødirektoratet om å undersøke den skandinaviske (det vil si norske og svenske) ulvebestandens opprinnelse, både genetisk og geografisk, samt å undersøke spørsmål knyttet til hybridisering mellom ulver og hunder.

Første del av oppdraget ble levert høsten 2017 i form av en vitenskapelig evaluering av eksisterende forskning (F. W. Allendorf, A. H. Freedman, R. K. Wayne 2017 «Panel review of genetic studies on the Scandinavian grey wolf»). I denne rapporten konkluderes det med at *«the existing Norwegian/Scandinavian population derives from immigration from Finland and Western Siberia. In addition, the existing population does not show evidence of hybridization with dogs.»*

Etter en åpen anbudsprosess ble andre del av oppdraget; å gjennomføre en empirisk genetisk utredning av ulvebestanden, gitt til NTNU Vitenskapsmuseet i samarbeid med Universitetet i København. Det ble lagt opp til et prosjekt som skulle vare i tre år. Denne rapporten er resultatet av denne undersøkelsen. Den bygger på en omfattende analyse av et datasett bestående av helgenomsekvenser fra ulv og hund, innsamlet fra store deler av ulvens globale utbredelsesområde, hentet inn fra nålevende bestander, historiske bestander basert på materiale fra universitetsmuseale samlinger, samt inkludering av allerede publiserte data fra tidligere studier.

Prosjektet har fått innspill fra en vitenskapelig rådgivningsgruppe i ulike deler av arbeidet. Denne gruppen har fulgt arbeidet vi har gjort underveis, de har vært informert om resultatene som har fremkommet, og har hatt anledning til å komme med spørsmål, råd og kommentarer til analysene vi har utført. Vi vil med dette rette en stor takk til arbeidet som har vært utført av denne gruppen, bestående av Jouni Aspi (Oulu University, Finland), Love Dalén (Naturhistoriska Riksmuseet, Sverige), Øystein Flagstad (Norsk institutt for naturforskning, Norge), Kjetill S. Jakobsen (Universitetet i Oslo, Norge), Frode Lingaas (Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Norge), Alfred L. Roca (University of Illinois, USA), Urmas Saarma (Tartu University, Estland), Øyvind Øverli (Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Norge) og Mikael Åkesson (Sveriges Lantbruksuniversitet, Sverige).

Prosjektet har også fått hjelp med innsamling av materiale fra en lang rekke internasjonale forskere og institusjoner. Vi vil med dette rette en stor takk til Jouni Aspi (Oulu University, Finland), M. Çisel Kemahlı Aytekin (Koç University, Tyrkia), Laima Baltruonaite (Nature Research Centre, Vilnius, Litauen), Gennady Baryshnikov (Zoological Museum, St Petersburg, Russland), Boldgiv Bazartseren (Mongolian Academy of Sciences, Mongolia), Jong Bhak (Ulsan National Institute of Science and Technology, Sør-Korea), Barbora Bolfikova (Charles University, Praha, Tsjekkia), Dominika Bujnáková (Oulu University, Finland), Love Dalén (Naturhistoriska Riksmuseet, Sverige), Angelica Åsberg Djurp (Lycksele Djurpark, Sverige), Maria Erlandsson (Skansen Zoo, Sverige), Øystein Flagstad (Norsk institutt for naturforskning, Norge), Laurent Frantz (Queen Mary University, London, UK), Luca Fumagalli (University of Lausanne, Sveits), Raquel Godinho (CIBIO, University of Porto, Portugal), Frode Holmstrøm (Norsk institutt for naturforskning, Norge), Pavel Hulva (Charles University, Praha, Tsjekkia), Kjetill S. Jakobsen (Universitetet i Oslo, Norge), Lina Jelk (Järvzoo, Sverige), Ilpo Kojola (Natural Resources Institute, Finland), Pavel Kosintsev (Yekaterinburg Museum, Russland), Jens Larsson (Järvzoo, Sverige), Linn Larsson (Skansen Zoo, Sverige), Frode Lingaas (Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Norge), Shai Meiri (Steinhardt Museum of Natural History, Tel Aviv, Israel), Robert Myslajek (University of Warsaw, Polen), Magdalena Niedzialkowska (Polish Academy of Sciences, Polen), Carsten Nowak (Senckenberg Research Institute, Tyskland), Sabina Nowak (University of Warsaw, Polen), Ladislav Paule (Technical University in Zvolen, Slovakia), Urmas Saarma (Tartu University, Finland), Morten Skage (Universitetet i Oslo, Norge), Steve Smith (University of Veterinary Medicine, Wien, Østerrike), David Stanton (Naturhistoriska Riksmuseet Stockholm, Sverige), Konstantin Tirronen (Karelian Research Centre, Russland), Cristiano Vernesi (Fondazione Edmund Mach, Italia), Nobuyuki Yamaguchi (University Malaysia Terengganu, Malaysia), Øyvind Øverli (NMBU, Norge) og Mikael Åkesson (Sveriges Lantbruksuniversitet, Sverige).



Ingrid Salvesen har kommentert språk i manuset, og Randi Krogh har formatert teksten i henhold til mal for NTNU Vitenskapsmuseet naturhistorisk rapport.

Trondheim/København, november 2021

Hans K. Stenøien, Xin Sun, Michel D. Martin, Camilla H. Scharff-Olsen, Germán Hernández Alonso, Nuno Filipe Gomes Martins, Liam Lanigan, Marta Maria Ciucani, Mikkel-Holger S. Sinding, Shyam Gopalakrishnan, M. Thomas P. Gilbert

Forfatterbidrag. CHS-O, M-HSS, MMC, MDM, MTPG og HKS arrangerte innsamling av prøver og foretok prøvetagning. CHS-O, LL og NFGM gjennomførte laboratoriearbeid med innspill fra MTPG, MMC, M-HSS og MM. GHS og SG gjennomførte de første behandlingene av data. XS gjennomførte populasjonsgenetiske analyser med innspill fra SG, MDM, MHSS, HKS og MTPG. XS skrev rapporten med innspill fra alle forfatterne. Arbeidet ble ledet av HKS sammen med MM og MTPG.

# 1 Innledning

## 1.1 Den norsk-svenske ulvestammen

Vanlig ulv (*Canis lupus lupus*), også kalt gråulv, er en tilpasningsdyktig art som lever i mange ulike miljøer og som er utbredt over store geografiske områder. Den finnes i Europa, Asia og Nord-Amerika, fra ørkener i Midtøsten til tundra i Arktis. Forholdet mellom mennesker og ulv har vært og er konfliktfylt, med utstrakt jaktvirksomhet og tidvis lav samfunnsmessig aksept for ulv, ikke minst som følge av tap av husdyr. Som en konsekvens av dette har de fleste regionale ulvbestander i Europa gjennomgått en demografisk tilbakegang, spesielt de siste hundre år. På Balkan og i østlige deler av Europa har de regionale ulvestammene overlevd, mens for eksempel i sentrale deler av Europa, samt i Norge og Sverige, har bestandene vært nær ved eller helt utryddet (Hindrikson et al. 2017). Økt engasjement rundt naturvern har ført til større fokus på å stanse nedgangen i ulvbestandene i Nord-Amerika og Europa (Mech 1995). Innsats på dette området har dreid seg om økt juridisk beskyttelse, gjeninnføring av ulv og tilrettelegging for naturlig rekolonisering (Ripple et al. 2014).

Den norsk-svenske (omtalt som den «skandinaviske» i tidligere publikasjoner; Flagstad et al. 2003; Seddon et al. 2005, 2006; Hagenblad et al. 2009) ulvbestanden var tidligere vidt utbredt, men har gjennomgått en massiv nedgang, også som følge av offentlig støttet jakt, og mot slutten av 1960-tallet ble arten ansett som «funksjonelt utryddet» i Norge og Sverige (Wabakken et al. 2001). Ulven ble fredet i Sverige i 1966 og i Norge i 1973. I 1983 ble to ulver observert som tilsynelatende ga opphav til en reetablering av den norsk-svenske ulvestammen (Wabakken et al. 2001). Ulvbestanden har vokst i størrelse, og i 2020-21 anses den å være på rundt 480 individer i Norge og Sverige (95% CI = 379-624, Svensson et al. 2021). Siden de to grunnleggerne, og også senere antatte immigranter, var over 1000 km unna den nærmeste finske ulvbestanden, så er det blitt stilt spørsmål ved hvor disse grunnleggerne egentlig kom fra (Linnell et al. 2005) og om de kan ha blitt utsatt ved menneskelig hjelp (Larsson 1988; Ellegren et al. 1996).

## 1.2 Genetiske studier av ulvbestander

Mange studier er gjennomført for å få kunnskap om genetisk mangfold og overlevelse hos ulv i ulike deler av verden. Tradisjonelle genetiske markører er blitt benyttet, både autosomale mikrosatellitter (Flagstad et al. 2003; Jędrzejewski et al. 2005; Fabbri et al. 2007; Hindrikson et al. 2013; Fabbri et al. 2014), mitokondrielt DNA (Vilà et al. 2003a; Hailer and Leonard 2008) og Y-kromosommikrosatellitter (Sundqvist et al. 2001; Caniglia et al. 2014; Fabbri et al. 2014; Sastre et al. 2011; Grewal et al. 2004). Genetiske verktøy er også tatt i bruk for å overvåke den norsk-svenske ulvestammen de siste tiårene (Ellegren et al. 1996, 1999; Flagstad et al. 2003; Vilà et al. 2003a, 2003b; Seddon et al. 2005; Hagenblad et al. 2009). Slike studier har blant annet fokusert på identifisering av potensielle immigranter fra andre regioner, inkludert Finland og Russland (Flagstad et al. 2003; Vilà et al. 2003b; Seddon et al. 2006), overlevelsessevne og fitness målt som gendiversitet (heterozygoti) og innavlsdepresjon (Liberg et al. 2005), samt genetisk redning (*genetic rescue*) som følge av tilsynelatende innvandring fra naboregioner og inn i Norge og Sverige (Vilà et al. 2003b; Åkesson et al. 2016). Basert på denne type metodikk har man også observasjoner av lokal hybridisering med hunder i Norge og Sverige (Vilà et al. 2003a; Smeds et al. 2021).

Et potensielt problem med tradisjonelle genetiske markører er mangel på oppløsning og begrenset mengde informasjon om faktisk genetisk mangfold. Utviklingen av såkalt *next-generation sequencing*-teknologi (NGS) har gjort det mulig å hente ut komplett genetisk informasjon av hele genomer for mange arter. Genom-studier er gjennomført de senere årene for å forstå ulvenes globale og regionale evolusjonære historie (Pilot et al. 2014; Fan et al. 2016), genflyt og introgresjon mellom ulike arter i ulveslekten (vonHoldt et al. 2016; Sinding et al. 2018; Gopalakrishnan et al. 2018), evolusjonære tilpasninger til lokale miljøer (Zhang et al. 2014; Schweizer et al. 2016), samt å få innsikt i når og hvordan hund ble domestisert fra ulv (Freedman et al. 2014;

Wang et al. 2015; Frantz et al. 2016; Bergström et al. 2020). Norsk-svensk ulv er også studert på genomnivå de senere årene, både med hensyn til innavl (Kardos et al. 2018), grad av hybridisering med hund (Smeds et al. 2021) og sannsynlig genetisk opphav (Smeds et al. 2021). Disse studiene er imidlertid basert på en relativt begrenset utvalgsstørrelse og mangler representasjon fra andre deler av ulvens totale utbredelsesområde. Dette, sammen med mangel på historisk prøvemateriale, kan gjøre det utfordrende å dra endelige slutninger om de nevnte spørsmålene.

Det har i de senere årene foregått en betydelig metodisk utvikling knyttet til å ekstrahere og analysere DNA fra svært gammelt materiale ved hjelp av *ancient DNA* (aDNA)-analyse. Bruk av materiale fra vitenskapelige samlinger ved norske og utenlandske universitetsmuseer gjør det mulig å analysere genetisk sammensetning for individer som tidligere levde i et område. Vi har med andre ord mulighet til ikke bare å analysere et stort antall individer over et stort geografisk område, men også se på genetisk utvikling for individer i et område over lang tid. Dette er relevant i studier av norsk-svensk ulv, siden det er rimelig å anta at den kan ha blitt utryddet og senere reetablert (Wabakken et al. 2001).

Datsett som inkluderer DNA hentet fra mange individer, over store geografiske områder og over lengre tidsperioder, gjør det mulig å få svar på spørsmål som det hittil har vært mer krevende å studere. Dette gjelder blant annet spørsmålet om grad av genetisk innblanding (*admixture*) i norsk-svensk ulv fra hund og/eller andre ulvebestander i verden. Hybridisering mellom ulike arter av ulv har vært utbredt opp gjennom historien (Gopalakrishnan et al. 2018). Nordamerikanske studier har for eksempel vist at nært beslektede arter av gråulv, som rødulv (*Canis rufus*) og østlig ulv (*C. lyacon*), har innblandet genetisk materiale fra vanlig ulv (*C. lupus*) og coyote (*C. latans*) (vonHoldt et al. 2016; Sinding et al. 2018). Hybridisering mellom ulv og hund (*C. familiaris*) er heller ikke uvanlig, og kan også bli opprettholdt i en bestand, slik som svart pelsfarge hos nordamerikansk ulv, som er et resultat av introgresjon fra hund (Anderson et al. 2009; Schweizer et al. 2016).

Det er av interesse å fastslå genetisk bakgrunn innen arter og grad av hybridisering mellom arter. Bestander med hybrid bakgrunn (der genetisk bakgrunn stammer fra flere kilder enn den opprinnelige populasjonen) står i fare for å miste opprinnelig genetisk mangfold og å få reduserte muligheter for tilpasning til endrede miljøforhold. Slike bestander kan anses som er trussel mot etablert mangfold og som sådan ikke bevaringsverdige (Allendorf et al. 2001; Jackiw et al. 2015). En tidligere studie basert på genommarkører har vist lav grad av introgresjon fra hund i norsk-svensk ulv (Smeds et al. 2021), men dette er ikke satt i sammenheng med hva som er vanlig i ulvebestander fra andre deler av verden. Genetiske metoder kan brukes for å teste om den norsk-svenske bestanden deler aner med hunder, ulver i fangenskap eller andre avsidesliggende ulvebestander. Et verdensomspennende datsett som inneholder ulver og hunder, og et lokalt tidsdatsett som strekker seg over de siste noen hundre år, er velegnet for å utforske og svare på disse spørsmålene.

Innavl er som regel forårsaket av redusert genetisk variasjon i små bestander, eller en følge av at en bestand er etablert av et lite antall grunnleggere. Innavlsdepresjon forårsaket av høy innavl vil kunne øke risikoen for utryddelse av bestander (Charlesworth and Willis 2009). Tidligere studier har funnet høye innavlsnivåer for flere små ulvebestander, inkludert ulv i Mexico (Fredrickson et al. 2007), på Isle Royale i USA (Robinson et al. 2019), Sierra Morena på den iberiske halvøy (Gómez-Sánchez et al. 2018) og i Norge og Sverige (Åkesson et al. 2016; Kardos et al. 2018). Innavl fører til økt frekvens av homozygoti over genomet, og en økt frekvens av recessive genvarianter (alleler) kan medføre fenotypiske misdannelser (Hedrick og Garcia-Dorado 2016). Studier har rapportert om små kullstørrelser (Liberg et al. 2005) og en høy andel medfødte misdannelser (Räikkönen et al. 2006) hos norsk-svensk ulv. En tidligere studie har også beskrevet genomiske innavls mønstre hos disse bestandene, der mange individer har nesten komplett homozygoti langs hele kromosomer (Kardos et al. 2018). Ved å se på større datsett og inkludere historiske prøver fra tiden før antatt utryddelse, kan man også få en bedre forståelse av innavl i norsk-svensk ulvebestand.

### 1.3 Mål

Vi har gjennomført en studie av opphavet til den norske og svenske ulvestammen ved hjelp av et genomisk datasettet bestående av DNA fra 1309 *Canis*-individer, fra ulike kilder og fra store deler av artens utbredelsesområde. Disse prøvene inkluderer 99 historiske ulveprøver og 95 hundep prøver fra ulike raser. Dette er det mest komplette datasettet av helgenomsekvenser som noen gang er sammenstilt for ulv. Vi har sett på det genetiske opphavet til norsk-svenske ulver på følgende måter: For det første har vi studert fin-skala genetisk struktur til ulven som art. For det andre har vi analysert genetisk fitness til norsk-svenske ulver sett i forhold til andre ulvebestander i verden. Ved å bruke et temporalt datasett fra de siste 200 årene har vi for det tredje sammenlignet den genetiske sammensetningen av ulv i Norge, Sverige og Finland før og etter den antatte utryddelsen av ulv i Fennoskandia. Vi har også undersøkt hvorvidt de norsk-svenske ulvene har innblandet genetisk materiale fra flere kilder, inkludert hunder, ulike ulvebestander, og ulv holdt i svenske og finske dyreparker. Vi har til sist testet om norsk-svenske ulvegenomer fremviser tegn på lokal genetisk tilpasning til skandinaviske miljø.

## 2 Materiale og metoder

### 2.1 Prøveinnhenting

Materialet består av prøver av ulik alder og som har vært oppbevart på forskjellige måter, av ulik kvalitet og grad av nedbryting av DNA. Vi bruker begrepene 'aDNA-kvalitet' (sample-ID som begynner på «AWolf») og 'god kvalitet' for å angi kvalitet på prøvene, dette for å være i stand til å identifisere om prøvekvalitet innfører en skjevhet (*bias*) i resultatene. Prøver som er innsamlet før og etter 1970 omtales som henholdsvis historiske og moderne prøver.

Basert på samarbeid med 34 forskere og institusjoner i Europa og Asia har vi samlet inn i alt 1814 moderne og historiske prøver som potensielt kunne benyttes i denne studien. Vi har også samlet inn materiale fra 56 hunder, som i størst mulig grad skal representere vanlige hunderaser som finnes i Norge. I tillegg har vi lagt til 273 allerede publiserte ulve- og hundegenomer for å kunne gi ytterligere informasjon om global genetisk bakgrunn hos ulv og hund. Vi har også samlet inn 38 ulveprøver fra ulv holdt i svenske og finske dyrehager (Tabell 1).

Ikke alle innsamlede prøver er blitt inkludert i det endelige datasettet, og det av følgende årsaker: (i) noen prøver var av såpass dårlig kvalitet at vi ikke fikk isolert tilstrekkelige mengder DNA for videre analyser, (ii) noen prøver ble identifisert som gal art (det vil si, at de hverken var ulver eller hunder), (iii) noen prøver ble fjernet fordi de var nære slektninger av allerede sekvenserte individer, enten før datagenerering basert på metadata, eller etter sekvensering basert på slektskapsanalyse.

### 2.2 Genomsekvensering og dataprosessering

Metoder for DNA-ekstraksjon og bygging av biblioteker er valgt basert på prøvekvalitet. For prøver av god kvalitet ble DNA ekstrahert med KingFisher™ Duo Prime Purification System. Biblioteker ble deretter utarbeidet enten ved Universitetet i København eller ved BGI Copenhagen på en MGISP library preparation platform. Vi involverte BGI på grunn av begrenset mulighet for prosessering av prøver ved Universitetet i København som følge av COVID-pandemien. For prøver med aDNA-kvalitet ekstraherte vi DNA som beskrevet i tidligere studier (Mak et al. 2017; Meyer & Kircher 2010; Dabney et al. 2013; Ramos-Madriral et al. 2021; Sinding et al. 2020) og bygde biblioteker ved hjelp av BEST (Carøe et al. 2018) eller SCR metodikk (Kapp et al. 2021). Alle biblioteker er sekvensert av BGI Copenhagen på DNBSEQ-G400 plattformen.

Behandling og prosessering av sekvensdata ble utført med *Paleomix v1.2.13.2* (Schubert et al. 2014) pipeline med påfølgende kartlegging opp mot hund (*canFam 3.1*, Hoepfner et al. 2014) og ulv (Gopalakrishnan et al. 2017) referansegenomer. Genotype-bestemmelse (*genotype-calling*) ble utført med *GATK v4.1.8.1* (DePristo et al. 2011) benyttende såkalt 'joint variant call' pipeline. Bare bialleliske loci ble beholdt og tatt med i videre analyse. Såkalt 'hard filtrering' ble utført på *BaseQRankSum*, *MQRankSum* og *ReadPosRankSum* med terskelverdier på -1,96 og 1,96. Det endelige datasettet består av 73 180 928 SNPs.

*GLIMPSE v1.1.1* (Rubinacci et al. 2021) ble brukt for å imputere og fase ulve- og hundep prøver med lav sekvenseringsdybde. Bare prøver med manglende genotypeverdier lavere enn 2 % ble tatt inn i referansepanelet, som består av 245 prøver. Vi har filtrert imputerte genotyper ved hjelp av *INFO-score* med en terskelverdi på 0,8 (Marchini and Howie 2010) som kvalitetskontroll på imputasjonen.

Totalt 1309 prøver er inkludert i datasettet, deriblant 1029 prøver som vi har sekvensert i denne studien og 273 prøver sekvensert i tidligere studier. 29 prøver ble fjernet på grunn av lav sekvenseringsdybde (<0,1x). Slektskap ble beregnet ved hjelp av *PLINK v2.0* (Chang et al. 2015), og 'KING-robust kinship estimator' ble benyttet, med maksimal tillatt slektskapskoeffisient satt til 0,177 (geometrisk gjennomsnitt av første og andre grad slektskap, som anbefalt av KING utviklere) for å fjerne identiske prøver og førstegradsslektskap (foreldre-barn, helsøsken). Totalt 888 prøver er identifisert som ubeslektede.

## 2.3 Analyser av populasjonsstruktur

### PCA

Prinsipalkomponentanalyse (PCA) ble utført ved hjelp av *smartpca* i *EIGENSOFT v7.2.1* (Price et al. 2006; Patterson et al. 2006). For å redusere skjevheter (*bias*) som følge av inkludering av nært beslektede individer, så fjernet vi identiske prøver og prøver med førstegradsslektskap. Det imputerte datasettet ble benyttet. Transisjonsseter og seter med manglende data (*missingness*) > 0,2 og MAF < 0,05 ble filtrert ut. Det endelige datasettet består av 2 759 228 SNPs. Totalt 735 ubeslektede ulveprøver ble brukt til egenverdigeberegning (*eigenvalue*), og resten av prøvene ble projisert (Ray et al. 2012) ved hjelp av *Isqproject* algoritmen, som er implementert i *smartpca*.

### Admixture

Populasjonscluster-analyse ble utført med *ADMIXTURE* (Alexander et al. 2009), og samme prosedyrer for datafiltrering ble benyttet som i PCA-analysen. Vi utledet først klynger (*clustres*) ved hjelp av 888 ubeslektede ulve- og hundep prøver. Deretter brukte vi dette som *prior input* for å utlede struktur for resten av prøvene (Alexander et al. 2009). Analysen ble utført for 2 opp til 15 clustre ( $K = 2-15$ ). Vi benyttet *CLUMPAK Distruct* (Kopelman et al. 2015) for sammenstilling av  $K$  for visualisering. Vi valgte å presentere resultatene for  $K = 12$  siden 12 clustre gir tilstrekkelig oppløsning for å svare på spørsmålene vi stiller.

## 2.4 Populasjonsfitness-analyser

### Estimering av heterozygoti

Heterozygoti brukes ofte som et estimat på effektiv populasjonsstørrelse (Watterson 1975). Vi beregnet individuell heterozygoti basert på det imputerte datasettet (Fig. 7). Alle de 73 180 928 imputerte setene ble brukt i analysen, bortsett fra de som ble filtrert ut i henhold til *INFO score* (Marchini & Howie 2010). Genomisk SNP heterozygoti ble beregnet for hvert individ som totalt antall heterozygote seter delt på totalt antall imputerte seter etter filtrering.

### Runs of homozygosity (ROH)

Studier av ROH gir informasjon om bestanders innavlsnivå (Ceballos et al. 2018). Vi identifiserte ROH for hvert ulveindivid og beregnet genomisk innavlskoeffisient ( $F_{ROH}$ ) ved hjelp av *PLINK v1.90* (Ceballos et al. 2018; Ceballos et al. 2021; Chang et al. 2015). Som i PCA-analysen ble imputert datasett filtrert basert på MAF < 0,05 og *missingness* < 0,2. ROH ble identifisert ved hjelp av *PLINK* i 500kbp sliding windows, som krever minst 30 SNPer og en SNP-tetthet på 1 per 30kbp, og der 1 heterozygot og 5 manglende SNPer tillates i hvert vindu (`--homozyg-snp 30 --homozyg-kb 500 --homozyg-density 30 --homozyg-gap 1000 --homozyg-window-snp 30 --homozyg-window-het 1 --homozyg-window missing 5 --homozyg-window-threshold 0.05`). Antall ROHer (NROH) lengre enn 1,5Mbp, og med total lengde på ROHs (SROH) lengre enn 1,5Mbp, ble beregnet. Den genomiske innavlskoeffisienten ble deretter beregnet ut fra SROH delt på den totale lengden på ulveautosomene (2,2Gbp).

## 2.5 Sammenligninger av genetisk affinitet ved hjelp av *f3*-utgruppe observator

Vi benyttet *f3*-utgruppe observator (Patterson et al. 2012) for å estimere parvise slektskapsforhold mellom bestander. *f3* observator kan brukes for å beregne delt slektskap (*shared ancestry*) mellom par av bestander relativt til en utgruppe, der henholdsvis utgruppe og én av bestandene i inngruppe er fikserte. Flere ulike scenarier ble testet på denne måten.

### **Sammenligning mellom historisk norsk-svensk bestand og dagens ulvestamme**

$f_3$ (historisk norsk-svensk ulv, ulv X; Pleistocen ulv) og  $f_3$ (moderne norsk-svensk ulv, ulv X; Pleistocen ulv) ble beregnet for å utforske slektskap til historiske og moderne norsk-svenske ulver. Pleisocene ulveindivid brukt i  $f_3$ -analysen er 'Ulakhan Sular', som er en om lag 16.8k år gammel prøve samlet i østlige Sibir (Ramos-Madrigal et al. 2021). Vi brukte ett individ til å representere hver av disse bestandene (historisk og moderne) og testet på denne måten alle mulige kombinasjoner av  $f_3$ -trios. Den historiske norsk-svenske ulven var representert ved AW097\_AWolf\_Norway\_1863 siden dette er en prøve med DNA av relativt høy alder og kvalitet. Den nålevende norsk-svenske ulven ble tilfeldig valgt fra datasettet og fiksert ved individet MW160\_Wolf\_Norway\_2018. «Ulv X» er dermed suksessivt hver og en av de andre eurasiske ulvene i datasettet vårt. Vi forventer at den testede «ulv X» har høyere  $f_3$ -verdi jo mer slektskap det er mellom dette individet og henholdsvis historiske og moderne norske ulver.

### **Sammenligning mellom ulv i dyrehager og vill ulv i Fennoskandia**

Vi brukte  $f_3$ -observator også for å teste opphavet til ulv i svenske og finske dyreparker.  $f_3$ (ulv fra zoo, ulv X; Pleistocene ulv) ble brukt til å utforske opprinnelsen til ulv i fangenskap. Vi testet hver og en av ulvene fra dyrehager i datasettet for å finne det mest sannsynlige opphavet fra dyr i vill tilstand, dette ved å sammenligne delt slektskap mellom dyr i fangenskap (ulver fra zoo) og alle andre eurasiske ulver (ulv X) i datasettet. Vi forventer at «ulv X»-individer har en høyere  $f_3$ -verdi jo mer slektskap det er mellom disse og ulv fra studerte dyrehager.

## **2.6 Modellering av *mixed ancestry* for moderne norsk-svenske ulver**

### **Innblanding (admixture) fra hunder**

Vi benyttet D-observator (Patterson et al. 2013) og  $qpAdm$  (Harney et al. 2021) for å teste om det har foregått genflyt mellom hunder og norsk-svenske ulver.

D-observator tester slektskap mellom fire bestander i formen  $D(P_1, P_2, P_3, \text{utgruppe})$ . Hvis  $D > 0$  så indikerer dette at enten  $P_1$  og  $P_3$ , eller  $P_2$  og utgruppen, deler flere alleler enn forventet under nullhypotesen om ingen innblanding (*no admixture*). Dette indikerer mulig genflyt mellom en av disse parene av bestander. Hvis  $D < 0$  så har vi tilsvarende en situasjon med flere alleler enn forventet under nullhypotesen delt mellom enten  $P_1$  og utgruppen, eller  $P_2$  og  $P_3$ . Vi testet mulige mønstre for genflyt mellom norsk-svenske ulver og hunder i form av  $D(\text{norsk-svensk ulv, ulv X, hund X, rev})$ . MW160\_Wolf\_Norway\_2018 ble tilfeldig valgt som den norsk-svenske ulven ( $P_1$ ) i hver analyse. Ulv X ( $P_2$ ) ble endret i hver analyse og angir dermed alle ulveindivider, bortsett fra norsk-svensk ulv benyttet som  $P_1$ . Hund X ( $P_3$ ) ble endret i hver analyse for slik å representere ulike hunderaser/-bestander. Andesrev (*Lycalopex culpaeus*) utgjør utgruppen i alle analysene (Auton et al. 2013).

$qpAdm$  (Patterson et al. 2012; Haak et al. 2015; Harney et al. 2021) ble benyttet for å teste sannsynligheten (*likelihood*) for ulike admixture-modeller, der hver populasjon/individ (*target*) ble modellert som en lineær kombinasjon av gitte populasjoner (*sources*) for å forklare observerte data.  $qpAdm$  ble kalkulert basert på  $f_4$ -observator, som er lik D-observator, men som tar i bruk allelfrekvenser i populasjonen i stedet for genotyper. Vi tok i bruk  $qpAdm$  for å utforske mulig innblanding fra hund samt ulike regionale og internasjonale ulvebestander inn i den norsk-svenske ulven. To populasjonslister benyttes i  $qpAdm$ , som vanligvis benevnes som såkalte 'venstre' og 'høyre' populasjonslister (Harney et al. 2021). Den venstre populasjonslisten inkluderer målpopulasjon (*target*) som den første populasjonen, så vel som andre mulige kildepopulasjoner (*sources*), begynnende med andre populasjon i venstre populasjonsliste. Den høyre populasjonslisten representerer referansepopulasjoner, som har ulike slektskapsrelasjoner med de 'venstre' populasjonene. På denne måten er man i stand til å skille mellom ulike genetiske bakgrunner i de venstre populasjonene.

Moderne norsk-svenske ulver, norske hunder og forskjellige finske ulvebestander ble brukt som venstre populasjonsliste (den første som *target*, de andre som *source*). I den høyre populasjonslisten (referansepopulasjoner, for å ta høyde for ulike genetiske bakgrunner i de venstre populasjonene) brukte vi andre ulver, Pleistocen-ulver, nordamerikanske ulver (Canada), kinesiske ulver, israelske ulver og en bestand av lettiske ulver. Ulvebestander ble identifisert basert på cluster-resultater fra *ADMIXTURE*, forutsatt  $K = 12$ . *qpAdm* tilpasser (*fit*) hver *source*-populasjon som en single eller mikset opphav til de norsk-svenske ulvene (*target*). En kjiqvadrat-test blir utført for å identifisere modellen som stemmer best overens med datasettet. Vi forventer at modellen over opphavet til norsk-svensk ulv som har *best-fit* er den bestående av hund og én finsk populasjon (se resultatdel), hvis introgresjon fra hunder har skjedd. To delpopulasjoner av norsk-svensk ulv med ulik genetisk struktur (*Wolf\_Norway\_3* and *Wolf\_Norway\_4*) ble analysert separat.

### **Innblanding (admixture) fra historiske bestander**

Vi brukte *qpAdm* for å teste om moderne norsk-svenske ulver stammer fra bestanden som eksisterte i Norge før 1970. En lignende strategi ble benyttet som i testen beskrevet over for å se på mulig innblanding fra hund, men i stedet for hunder ble norske ulver fra før 1970 inkludert i venstre populasjonsliste som én av mulige *sources*. Hvis en del av den historiske bestanden har overlevd og bidratt genetisk inn i dagens bestand, så forventer vi at *best-fit* modell av nålevende norsk-svensk ulv skal være representert med en kombinasjon av den norske ulvebestand før 1970 og en finsk bestand (se resultatdel).

### **Innblanding (admixture) fra flere ulvebestander**

*qpAdm* ble også benyttet for å teste hypotesen om at ulver utenfor geografisk nærliggende områder til Norge og Sverige (det vil si utenfor Fennoskandia) er blitt aktivt introdusert til norsk-svensk bestand. I denne analysen inkluderer venstre populasjonsliste norsk-svenske ulver (*target*), og finske ulver, norske ulver før 1970 og tre europeiske ulvebestander (*sources*) er tatt med i hver test. I den høyre populasjonen (referansepopulasjoner) ble Pleistocene-ulver, kinesiske ulver, israelske ulver og tre nordamerikanske ulvebestander inkludert. Hvis en ikke-fennoskandisk populasjon ble introdusert til Norge, forventer vi at norske ulvers opphav skal være representert ved en modell inkluderende den finske bestanden og en annen europeisk ulvebestand (se resultatdel).

## **2.7 Seleksjon-scans for signaler på lokal tilpasning**

Vi benyttet *population branch statistic* (PBS) (Yi et al. 2010) for å teste for eventuelle signaler på lokal tilpasning over genomene i den norsk-svenske ulvebestanden. PBS sammenligner parvise  $F_{ST}$ -verdier mellom tre bestander (P1, P2 og P3) og kan påvise seleksjonssignaler (skalert for grenlengde) i gitt bestand (P1). Parvise  $F_{ST}$  ble først beregnet ( $F_{ST,P1P2}$ ,  $F_{ST,P1P3}$  og  $F_{ST,P2P3}$ ) og deretter log-transformert ved  $T = -\log(1 - F_{ST})$ . PBS ble beregnet ut fra  $PBS = (T_{P1P2} + T_{P1P3} - T_{P2P3}) / 2$ . *VCFtools* (Danecek et al. 2016) ble brukt til å beregne parvise  $F_{ST}$  i et 100-kbp vindu med 20kbp slide. Ekstreme utliggere (*outliers*) ble bestemt ut fra en terskelverdi på 99,95te persentil av empirisk fordeling.

Vi benyttet tre sett av bestander i PBS-skanningen for å detektere seleksjonssignaler i norsk-svenske ulver (P1). I det første settet inkluderte vi finsk ulv (alle sekvenserte finske ulver i data-settet, P2) og asiatiske ulver (Kina lavland, P3). I det andre settet inkluderte vi ulver fra sørlige Europa (Italia og Spania, P2) og asiatiske ulver (Kina lavland, P3) som de to andre populasjonene. Et tredje sett ble analysert benyttende den mest sannsynlige opphavspopulasjonen til de norsk-svenske ulvene (delpopulasjon 2 i Finland identifisert av *qpAdm*, se resultatdel) som P2 populasjon.



## 3 Resultater

### 3.1 Genomsekvensering av eurasiske ulver

Vi genererte helgenomsekvenser fra i alt 97 norsk-svenske ulver og 56 lokale hunderaser (deriblant alaska husky, bichon havanais, dalmatiner, engelsk setter, golden retriever, gordon setter, greyhound, haldenstøver, irsk setter, norsk buhund, norsk elghund, dunker, norsk lundehund, puddel, schapendous, shetland sheepdog, sibirsk husky og whippet). For å finne mulig opphav til norsk-svenske ulver samlet og sekvenserte vi 876 ulver fra Eurasia. Datasettet er supplert med 273 ulver og hunderaser fra tidligere publiserte studier, inkludert ulver og hunder fra Nord-Amerika, for å vurdere særegenhet og grad av hybridisering med hund hos norsk-svenske ulver (Lindblad-Toh et al. 2005; Auton et al. 2013; Wang et al. 2013, 2015; Freedman et al. 2014; Zhang et al. 2014; Fan et al. 2016; Frantz et al. 2016; vonHoldt et al. 2016; Wiedmer et al. 2016; Botigué et al. 2017; Gómez-Sánchez et al. 2018; Gopalakrishnan et al. 2018; Kardos et al. 2018; Liu et al. 2018; Armstrong et al. 2019; Chavez et al. 2019; Phung et al. 2019; Plassais et al. 2019; Robinson et al. 2019; Sinding et al. 2020; Perri et al. 2021; Ramos-Madrugal et al. 2021; Smeds et al. 2021). I alt 24 historiske prøver fra tiden før 1970 ble inkludert for å sammenligne genetisk opphav og fastslå eventuelle endringer i genetisk sammensetning over tid. Det endelige datasettet består av 1309 prøver som spenner over så godt som hele det globale utbredelsesområdet til ulv (Fig. 1; Tabell 1; Suppl. Tabell 1). Alle data ble kartlagt opp mot referanseggenomet til hund (canFam3.1, Hoepfner et al. 2014) og manglende data ble imputert basert på et referansepanel bestående av 245 høy-kvalitetsprøver.

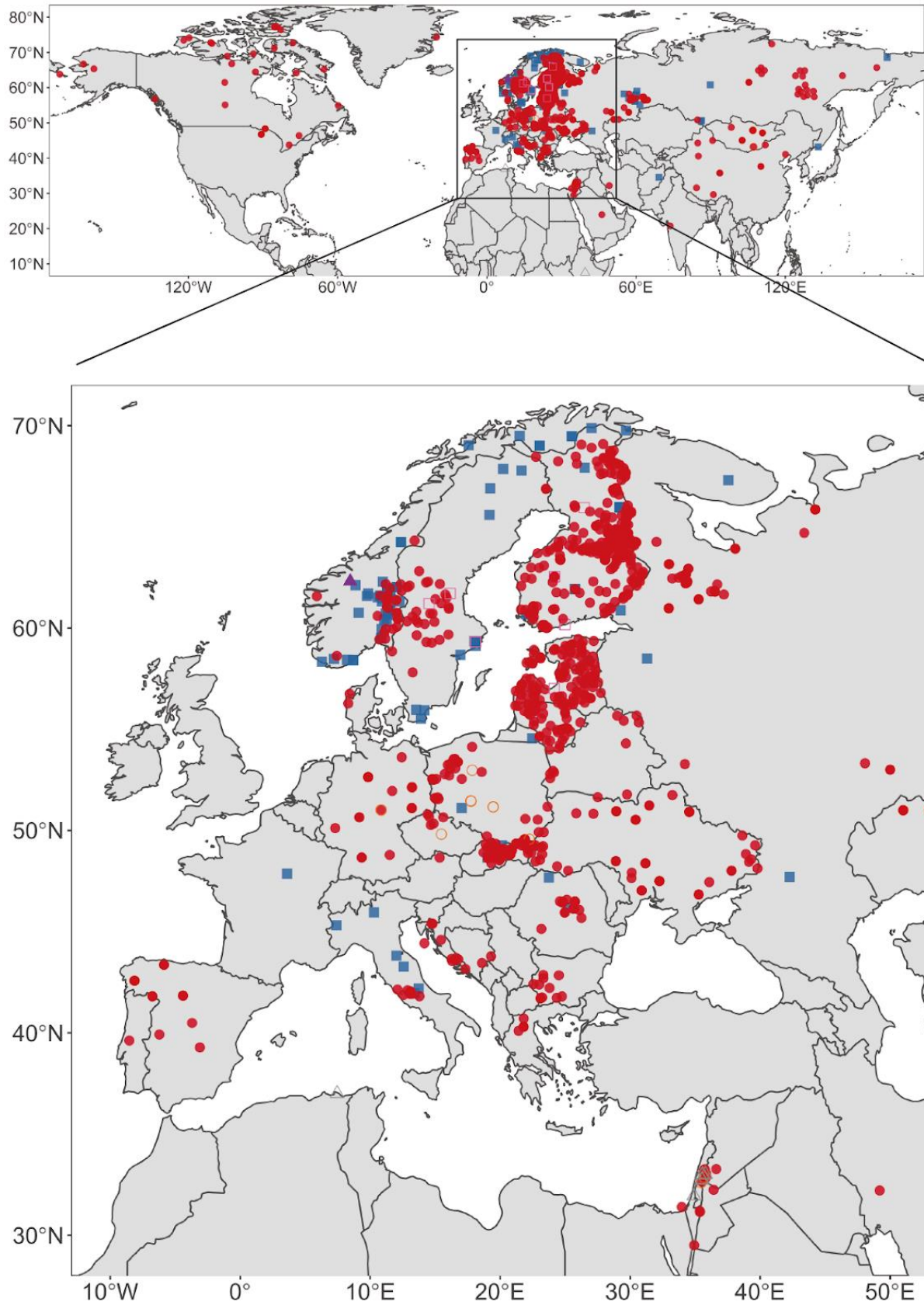
**Tabell 1.** Oversikt over prøver som er inkludert i vårt datasett.

Geographic origin		Species by provider			Sample quality			Data source		Imputation status		
General	Detail	Dog	Wolf	Other canids	Anicent DNA	Good	Polished	This study	Others	Imputed	Reference	Not imputed
Norway-Sweden-Finland	Norway	56	88	0	61	83	3	141	0	108	36	0
	Sweden	0	53	0	12	41	32	12	0	21	29	3
	Finland	0	319	0	12	307	95	224	0	224	95	0
Rest of Europe	Austria	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
	Belarus	0	10	0	0	10	0	10	0	10	0	0
	Bosnia-and-Herzegovina	0	2	0	0	2	0	2	0	2	0	0
	Bulgaria	0	12	0	0	12	0	12	0	12	0	0
	Croatia	0	11	0	0	11	1	10	0	11	0	0
	Czech-Republic	0	5	1	0	6	0	6	0	6	0	0
	Denmark	0	2	1	0	3	0	2	1	3	0	0
	Estonia	0	51	0	1	50	0	51	0	51	0	0

France	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	
Germany	1	28	3	2	30	1	31	0	31	0	1	
Greece	0	7	0	0	7	0	7	0	7	0	0	
Ireland	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	
Italy	1	19	0	6	14	1	19	0	19	1	0	
Latvia	0	59	0	0	59	0	59	0	59	0	0	
Lithuania	0	49	0	0	49	0	49	0	49	0	0	
Poland	0	39	6	0	45	0	45	0	45	0	0	
Portugal	0	3	0	0	3	1	2	0	0	3	0	
Romania	0	15	0	1	14	0	15	0	15	0	0	
Russia	0	124	0	22	102	17	107	0	110	14	0	
Slovakia	0	58	0	3	55	0	58	0	58	0	0	
Spain	0	12	0	0	12	2	10	0	0	12	0	
Ukraine	0	46	1	0	47	0	47	0	47	0	0	
<hr/>												
Euraisa	Afghanistan	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0
	China	5	13	0	0	18	18	0	0	13	1	4
	India	1	1	0	0	2	2	0	0	0	1	1
	Indonesia	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
	Iran	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0
	Israel	0	10	21	0	31	2	29	0	12	0	19
	Kazakhstan	0	7	0	0	7	0	7	0	7	0	0
	Korea	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2
	Lebanon	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
	Mongolia	0	14	14	0	28	0	28	0	28	0	0
	Qatar	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
	Saudi	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0

	Syria	0	1	1	0	2	2	0	0	1	0	1
Oceania	Australia	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
	Papua-New-Guinea	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
America	Greenland	2	5	0	1	6	3	0	4	0	5	2
	North-America	0	41	4	0	45	45	0	0	10	32	3
	South-America	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1
Africa	Africa	2	0	7	0	9	9	0	0	0	3	6
Others	Breed-Dog	9	0	0	0	9	9	0	0	0	5	4
	Pleistocene wolf	1	3	1	5	0	5	0	0	0	0	5
	Zoo	0	38	1	31	8	1	38	0	38	0	1
	Not-clear	1	5	4	4	6	5	5	0	5	5	0

«Other canids» inkluderer kjente ulv-hund hybrider, Pleistocene ulver, historiske hunder og andre arter i familien (coyote, sjakaler og rev). «Other data» betyr upubliserte datasett fra vår forskergruppe. «Samples with not-clear geographic origin» betyr prøver som ikke er kategorisert i de ulike gruppene som er listet opp.



**Figur 1.** Fordeling av prøver i datasettet vårt. Røde sirkler indikerer prøver av god kvalitet, blå kvadrater indikerer prøver med aDNA-kvalitet.

## 3.2 Genetisk struktur hos eurasiske og nordamerikanske ulver

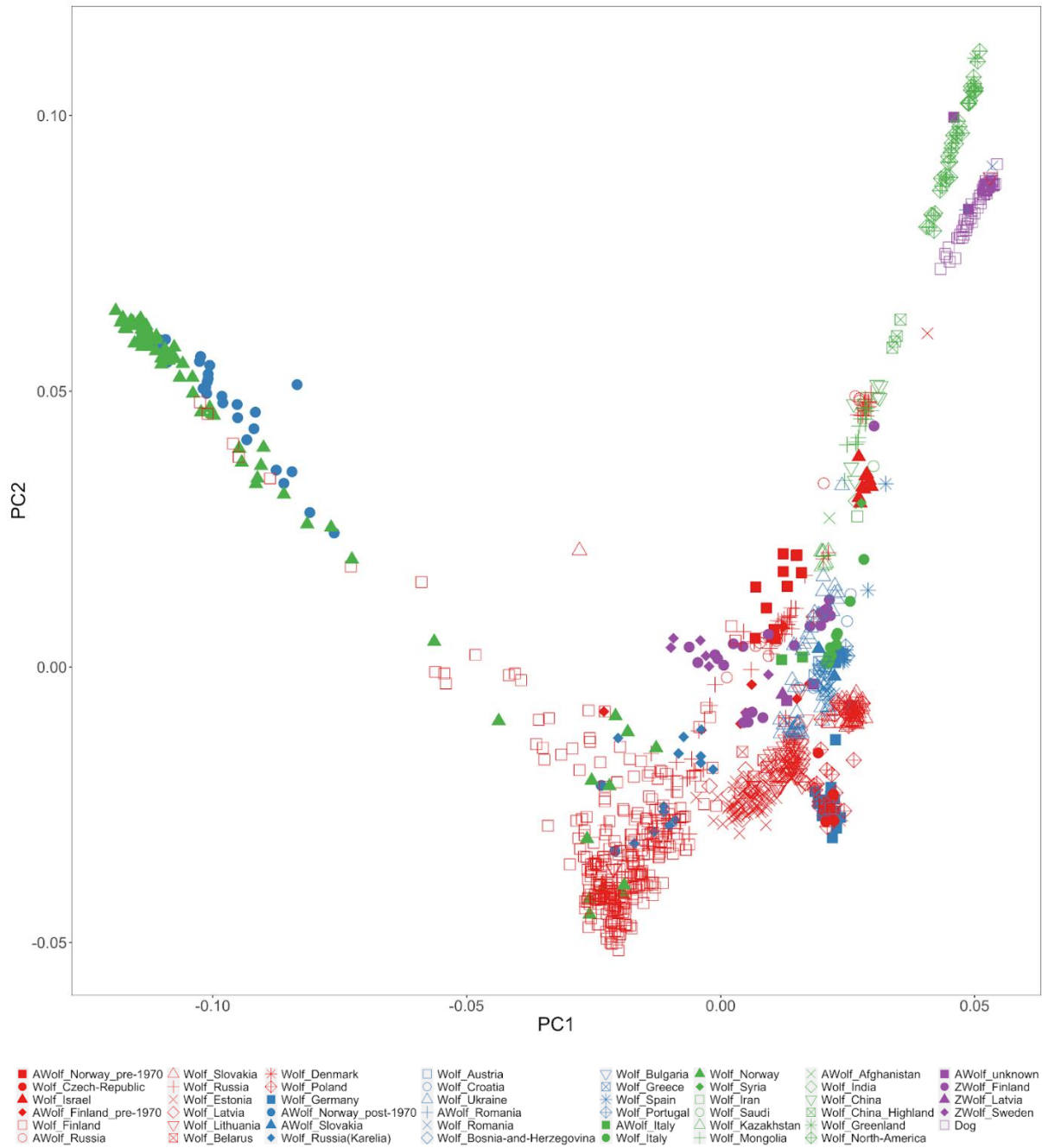
Vi utførte PCA og *ADMIXTURE* analyser for å få en oversikt over datamaterialet og for å fastslå genetisk struktur hos ulv og hund. Vi fjernet identiske og nært beslektede (førstegrads) slektninger for å redusere analyse og clustering av beslektede individer, og satt dermed igjen med data fra 888 ubeslektede individer.

Det er en utpreget populasjonsstruktur hos ulv fra ulike deler av verden (Fig. 2, 4 og 5). Nordamerikanske og eurasiske ulver fremviser klar strukturering, og de har forskjellig genetisk sammensetning (Fig. 2 og 4). I PCA-plottet er nordamerikanske ulver samlet i øvre høyre hjørne på første og andre prinsipialkomponent (*PC*), distinkt fra andre populasjoner. Også i *ADMIXTURE*-analyser danner nordamerikanske ulver tydelige klynger. I likhet med det som er beskrevet i tidligere studier (vonHoldt et al. 2016; Sinding et al. 2018) så finner også vi at nordamerikanske ulver viser genetisk likhet med asiatiske ulver (Fig. 2 og 4), med den asiatiske ulve-klyngen plassert ved siden av nordamerikanske ulver i PCA-plottet. Noen av de nordamerikanske ulvene representerer en blanding fra begge regionene. Merk at man ser noen utliggere gruppert nær nordamerikanske ulver i PCA-plottet. Dette er ulveprøver med hundeopphav.

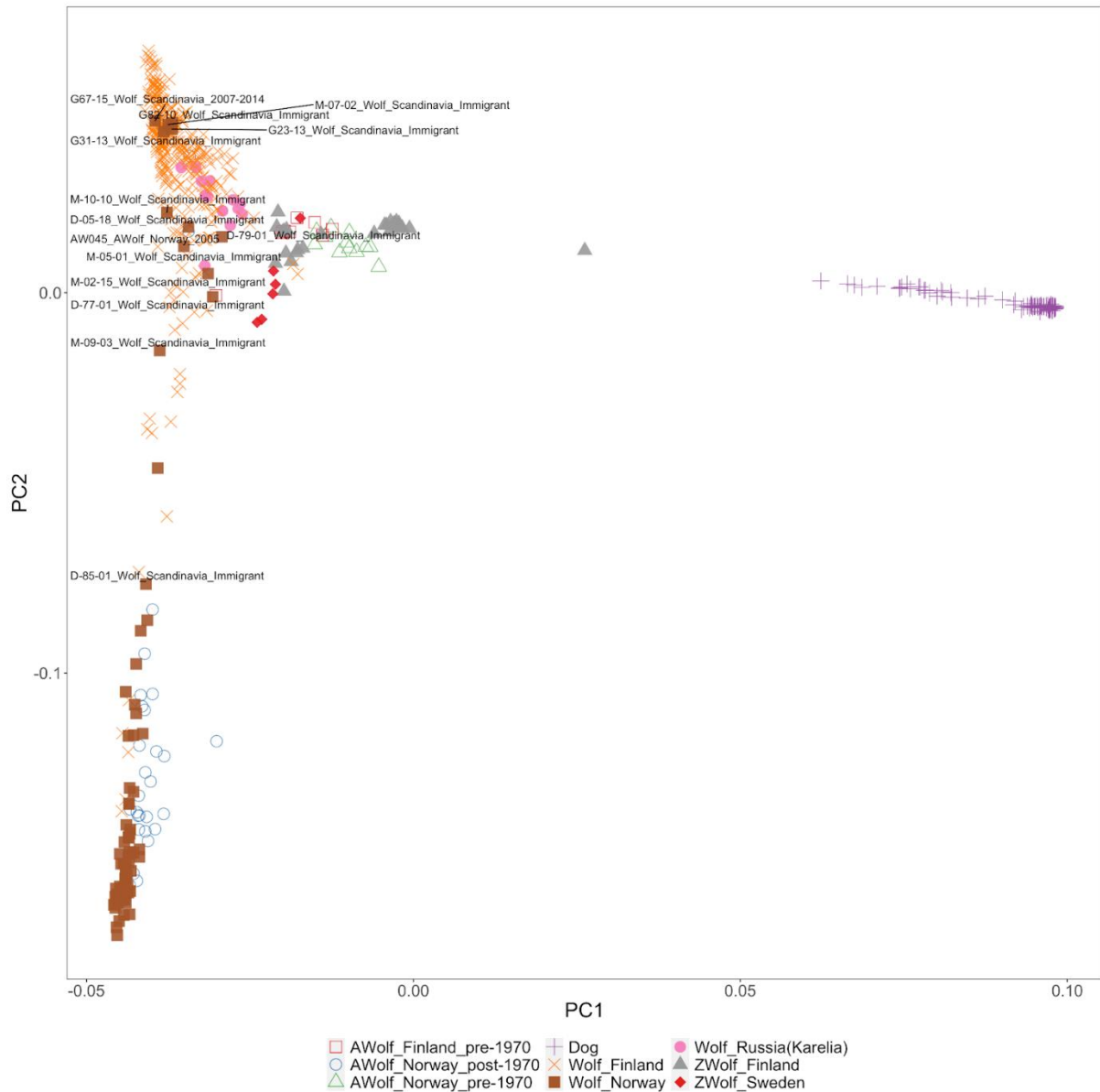
Innen eurasiske ulver er det også genetisk struktur relatert til geografi (Fig. 4). Når man tar utgangspunkt i  $K = 12$  (12 klynger), så er eurasiske ulver klart avgrensede fra hverandre. Mønstrene som vi observerer er i samsvar med det som er beskrevet i tidligere studier, basert på begrensede sett med markører (Hindrikson et al. 2017). Vi ser imidlertid individer med blandet (intermediær) genetisk sammensetning i populasjoner som ligger nær hverandre, for eksempel Finland og Russland. Det samme mønstret ser vi i PCA-plottet med overlapp av prøver fra populasjoner med geografisk nærhet.

Det er også en klar genetisk struktur i moderne norsk-svenske ulver sammenlignet med nabo-populasjoner i Finland, Russland og Baltikum (Fig. 2-6). Den nålevende norsk-svenske bestanden klynger (clustrer) langs en akse som strekker seg fra de finske ulvene i PCA-plottet. Vi finner at mulige innvandrere, altså individer som tidligere er beskrevet som immigranter fra finsk bestand inn i Norge og Sverige (Kardos et al. 2018), klynger sammen med andre finske ulver (Fig. 3 og 11). Ett individ i Litauen klynger med finske ulver (Fig. 2 og 4) og ikke andre litauiske ulver. Dette individet er i tillegg representert ved to prøver (MW023\_Wolf\_Lithuania\_2009 og MW365\_Wolf\_Lithuania\_Modern), i slektskapsanalyse identifisert som tilhørende ett individ, alternativt at det er snakk om to eneggede (monozygote) tvillinger.

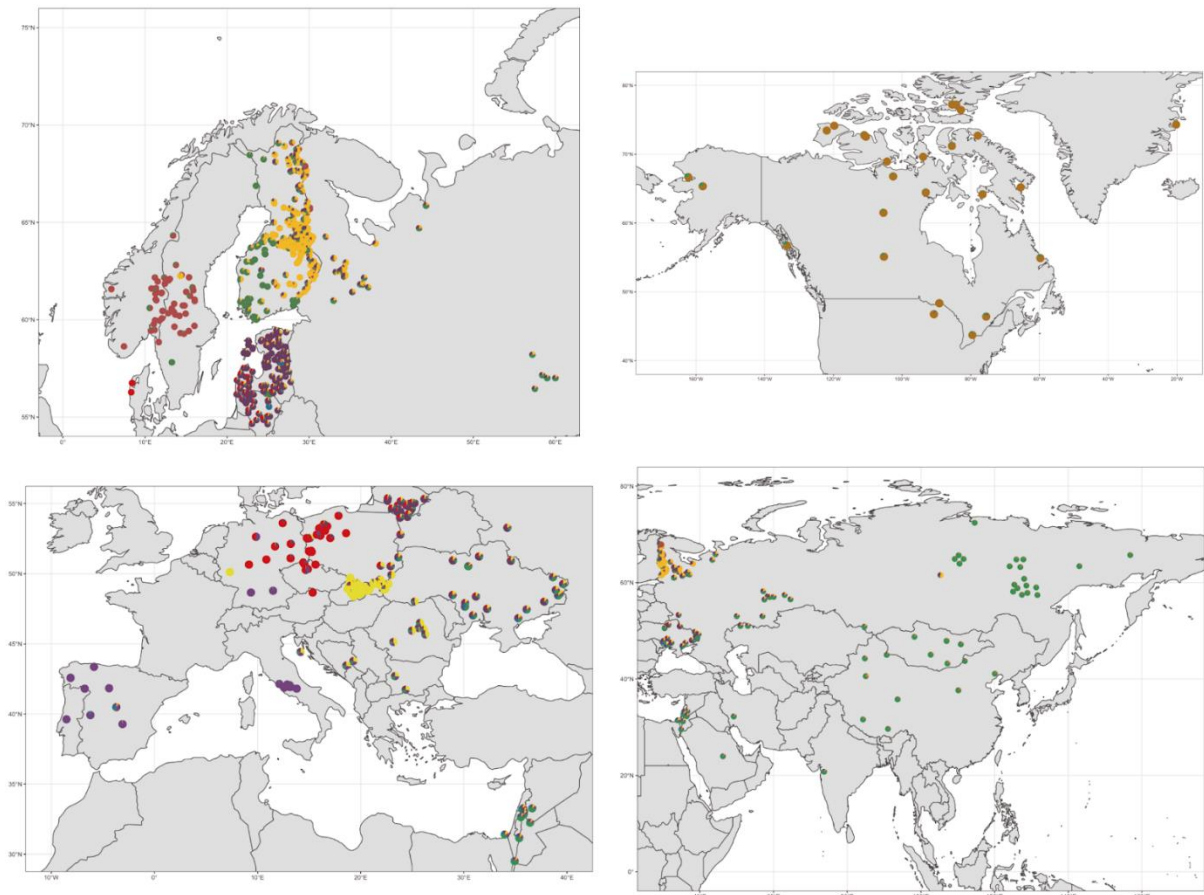
Vi ser en klar genetisk differensiering mellom moderne norsk-svenske ulver og ulver fra samme område fra tiden før 1970 (Fig. 3). Noen ulver fra dyrehager har imidlertid en genetisk likhet med ulvebestanden som eksisterte i Norge og Sverige før 1970 (Fig 3, 5 og 6).



**Figur 2.** PCA av ulveprøver basert på data fra helgenomsekvensering. Ikonform og fargekombinasjoner angir ulike ulvebestander ut fra prøvelokalitet og prøvekvalitet ('AWolf' refererer til prøver med aDNA kvalitet). Det fremgår av visualiseringen at plassering av prøver er konsistent med hensyn til geografisk opphav og dermed at kvalitet på prøver ikke er en kilde til skjevhet i resultatene våre.

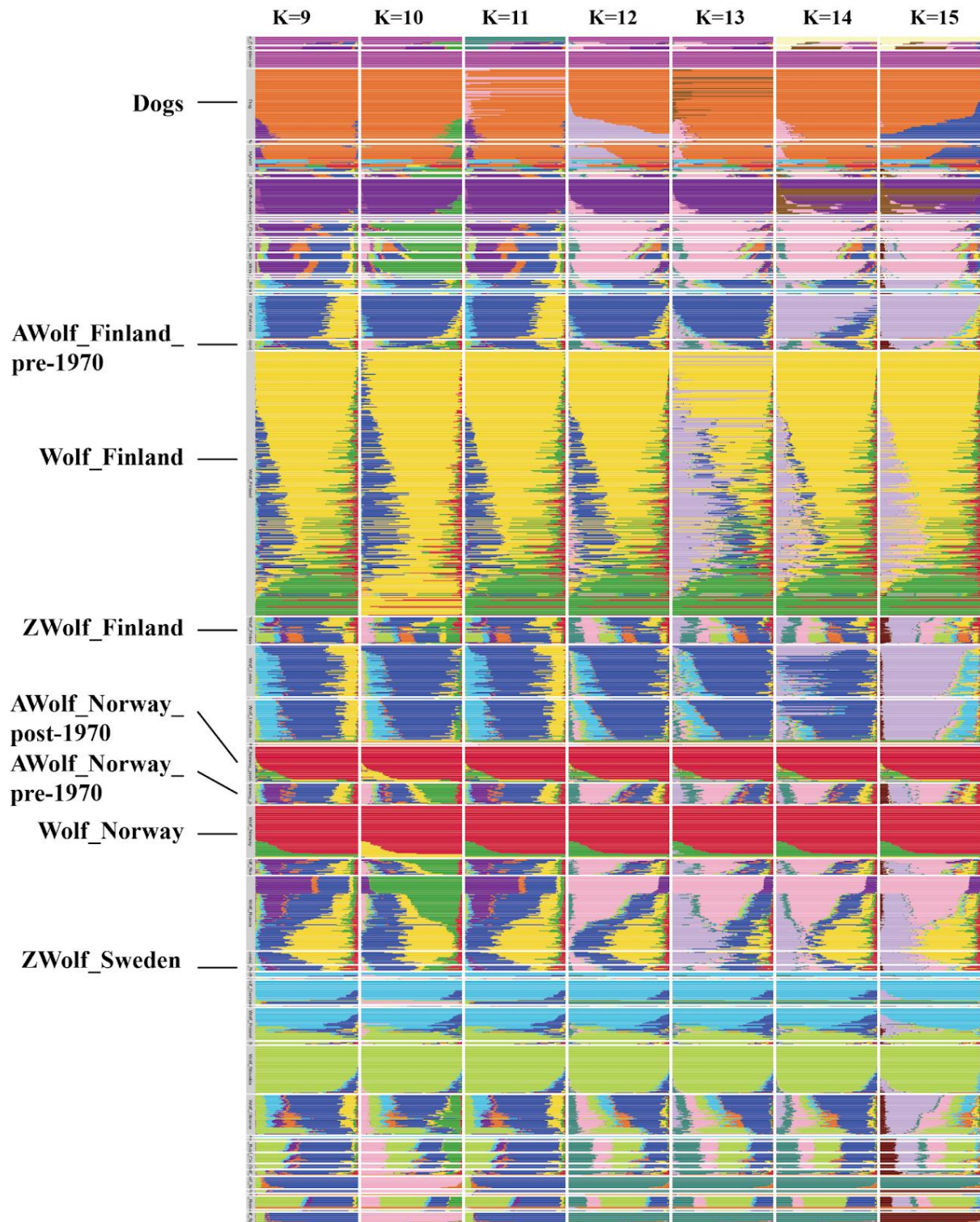


**Figur 3.** PCA basert på data fra helgenomsekvensering bestående av moderne og historiske bestander av norsk-svensk, finske, og karelsk-russiske ulver, samt hunder. Ikonformer og fargekombinasjoner angir ulike ulvebestander ut fra alder og prøve kvalitet. Dyr som lever i svenske og finske dyrehager angis med prefiks ZWolf og prøver med aDNA kvalitet angis med prefiks AWolf. Plassering av prøver er konsistent med hensyn til alder på prøve og geografisk opphav, noe som indikerer at prøve kvalitet ikke er en kilde til skjevhet i resultatene våre. Beskrevne immigranter til norsk-svensk bestand er merket med prøve-ID.

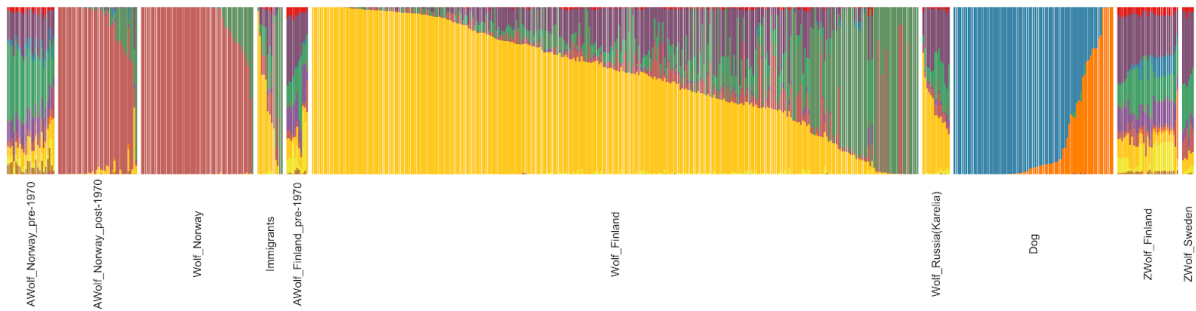


**Figur 4.** ADMIXTURE-klynger av ulveprøver med kjent geografisk opphav når  $K = 12$ . Hver sirkel refererer til en prøve og ulik fargekombinasjon refererer til ulikt genetisk opphav basert på ADMIXTURE-estimer. Bare moderne ulver av god DNA-kvalitet er vist. (Merk det ene individet plottet midt i Russland som viser lik genetisk sammensetning som finske ulver: dette skyldes mangel på informasjon om hvor i Russland prøven kommer fra, noe som gjør at punktet, i mangel av informasjon, plasseres i geografisk sentrum av landet, se Suppl. Tabell 1).





**Figur 5.** ADMIXTURE-kllynger av 1280 ulveprøver med antagelse at antall opprinnelige (ancestrale) populasjoner ( $K$ ) varierer mellom 9 til 15. AWolf-prefiks refererer til aDNA-kvalitet på prøvene, ZWolf-prefiks referer til dyrehage-individer fra Finland eller Sverige. Genetisk bakgrunn er konsistent med hensyn til alder på prøve, og prøve kvalitet er dermed ikke er en kilde til skjevhet i resultatene våre.



**Figur 6.** ADMIXTURE-resultater for norsk-svenske, finske, karelsk-russiske ulver, og hunder, med utgangspunkt i 12 opprinnelige (ancestrale) populasjoner ( $K = 12$ ), som i Fig. 5. ZWolf-prefiks refererer til ulver som lever i dyrehager i Finland og Sverige, og AWolf-prefiks refererer til prøver med aDNA-kvalitet. Beskrevne immigranter til norsk-svensk bestand er gruppert som «Immigrants». Genetisk bakgrunn er konsistent med hensyn til alder på prøve for norsk-svensk ulv, og prøvekvalitet er dermed ikke en kilde til skjevhet i resultatene våre.

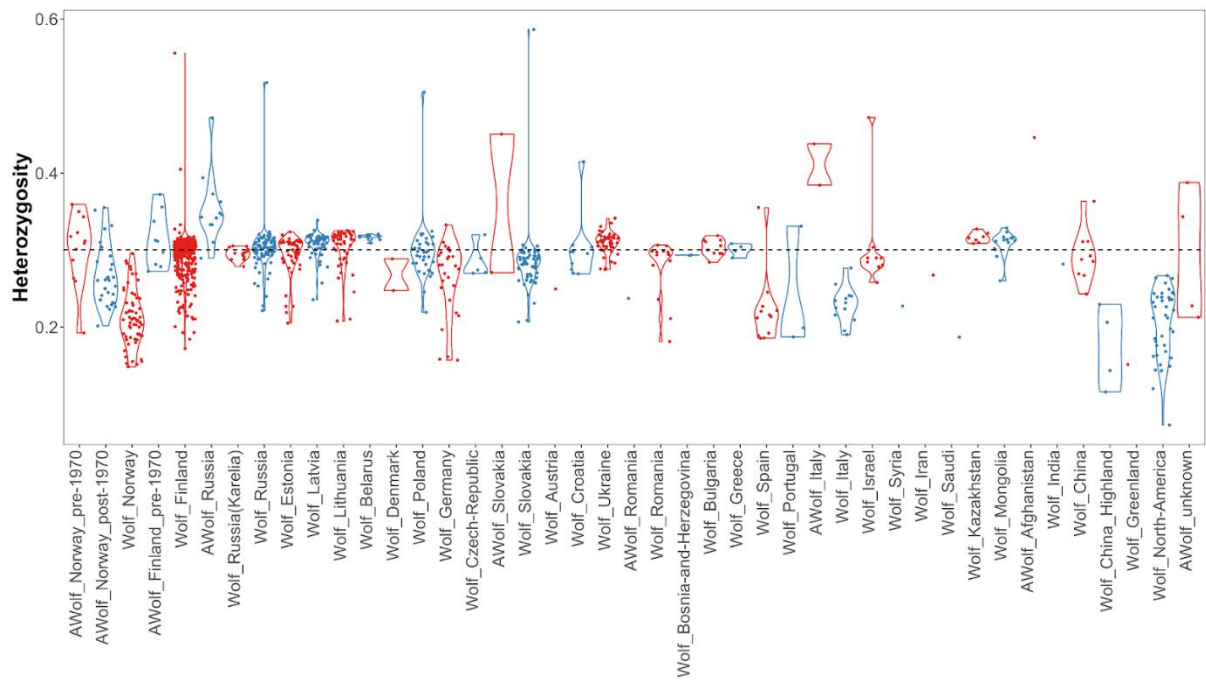
### 3.3 Populasjonsfitness hos ulv

Vi har benyttet det globale datasettet for å sammenligne genetisk fitness mellom ulike ulvebestander. Mål på heterozygoti og ROH brukes for å evaluere effektive populasjonsstørrelser og grad av innavl.

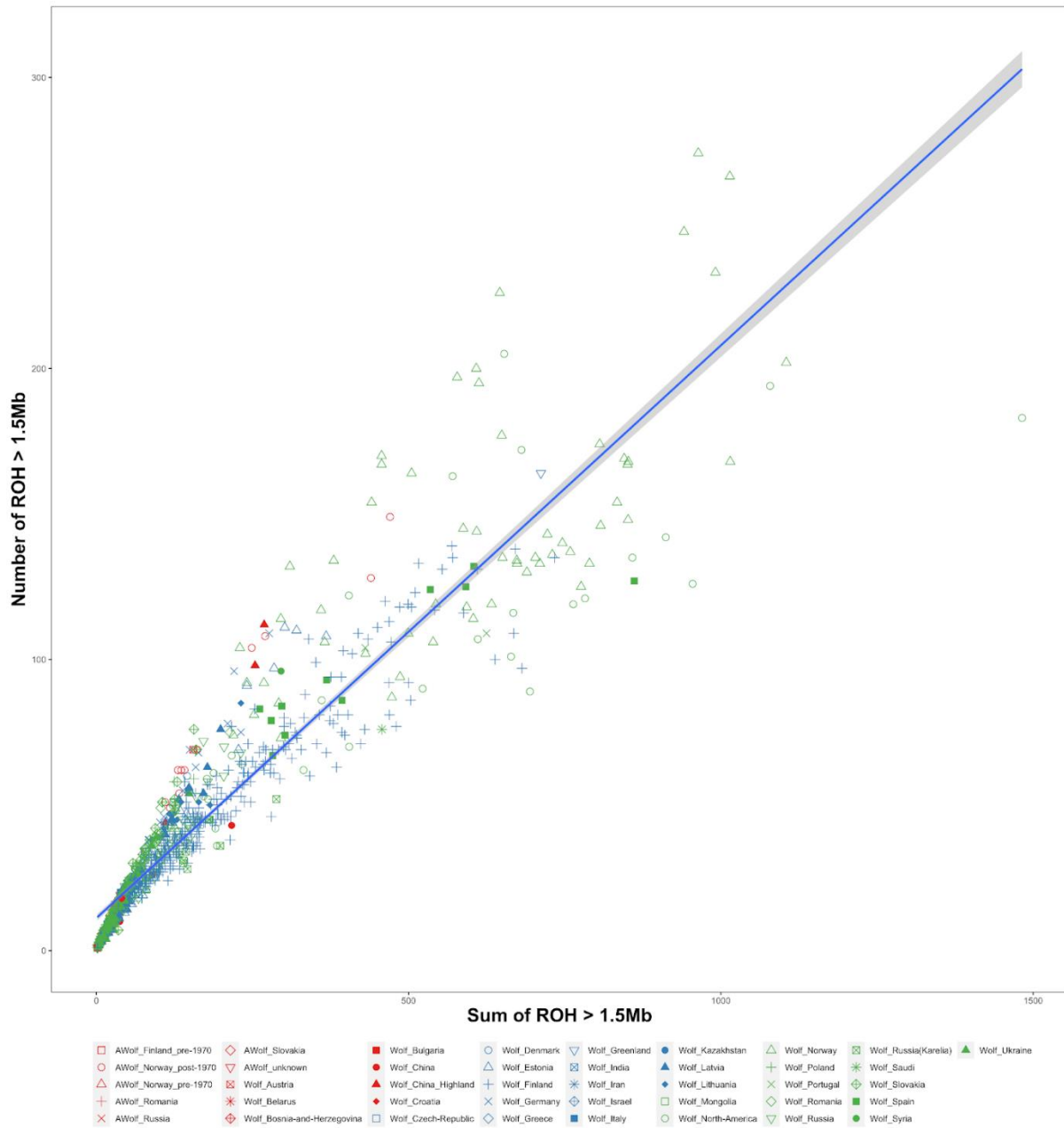
Heterozygotimål på individnivå er beregnet ved hjelp av det imputerte SNP datasettet (Fig. 7). Heterozygoti er ganske likt mellom nålevende bestander av ulv i verden, og de fleste ulver har en heterozygoti høyere enn 0,3. Den norsk-svenske bestanden (gjennomsnittlig heterozygoti 0,23), samt de iberiske (gjennomsnittlig heterozygoti 0,22), italienske (gjennomsnittlig heterozygoti 0,23), meksikanske (gjennomsnittlig heterozygoti 0,07), og Isle Royale (gjennomsnittlig heterozygoti 0,17) bestandene fremviser lav grad av heterozygoti, noe som også er vist i tidligere studier (Gómez-Sánchez et al. 2018; Sinding et al. 2018; Robinson et al. 2019). I den norsk-svenske bestanden er heterozygoti i pre-1970 populasjon (0,30) høyere enn i moderne bestanden (0,23).

Vi kalkulerte individuell ROH og genomisk innavlskoeffisient ( $F_{ROH}$ ) for å kunne estimere og sammenligne innavlsnivå for hver bestand (Fig. 8-10). Lange ROH skyldes nylig innavl innen en bestand (Ceballos et al. 2021; Ceballos et al. 2018) og vi fokuserte på ROH lengre enn 1,5Mbp i disse analysene. Vi finner at de fleste ulvene i datasettet er karakterisert av liten grad av lange ROHs (Fig. 8), mens ulver fra Norge og Sverige er karakterisert av relativt høy grad av lange ROHs. Innavlskoeffisienten ( $F_{ROH}$ ) for norsk-svensk bestand varierer fra 0,04 til 0,50 (gjennomsnitt 0,27), mens immigranter har lavere verdier av  $F_{ROH}$ , i gjennomsnitt 0,07) (Fig. 10). Dette er nivåer som man har observert i bestander der det er kjent at innavlsnivåene er høye (Robinson et al. 2019; Gómez-Sánchez et al. 2018), slike som Isle Royale populasjonen (gjennomsnitt 0,32, range 0,18-0,43) og den meksikanske populasjonen (gjennomsnitt 0,67). Ulv fra Italia (gjennomsnitt 0,01) er ikke så preget av innavl som ulv fra den iberiske halvøy (gjennomsnitt 0,18). I Finland er gjennomsnittlig innavlsnivå lavere enn 0,1 (gjennomsnitt 0,089), men om lag 30% av de finske ulvene i datasettet vårt har  $F_{ROH}$  høyere enn 0,1. Sammenlignet med dagens norsk-svenske ulvestamme så har den historiske pre-1970 bestanden lav grad av innavl (gjennomsnitt 0,003). Pre-1970 bestand har også høyere heterozygoti, noe som er konsistent med disse resultatene.

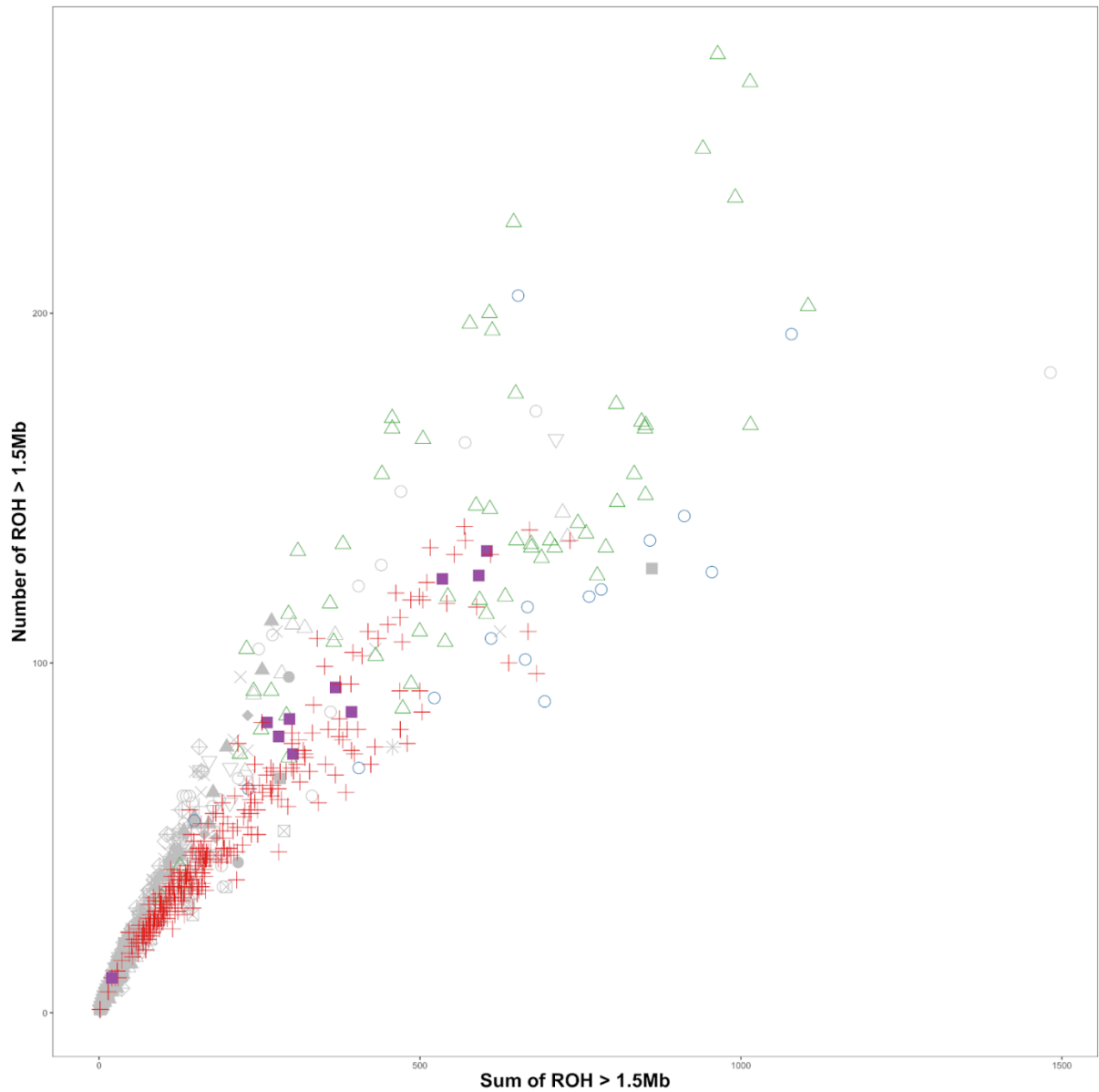
I det store og hele fremviser eurasiske ulver omtrent samme grad av populasjonsfitness, bortsett fra de norsk-svenske ulvene. Sistnevnte ulver har lavere grad av heterozygoti og høyere grad av innavl, likt mønstret vi ser i ulvebestander vi vet har gjennomgått nylige flaskehalser og isolasjon, slike som Isle Royale og bestanden i Mexico (Gómez-Sánchez et al. 2018; Robinson et al. 2019). Våre resultater er konsistente med resultater fra tidligere studier av innavl (Flagstad et al. 2003; Vilà et al. 2003b; Liberg et al. 2005; Åkesson et al. 2016; Kardos et al. 2018).



**Figur 7.** Grad av heterozygoti hos ulv. Punkter refererer til individuelle heterozygotiverdier basert på SNPs med MAF > 0,05 i referansepanel for imputasjon. Fiolinplots refererer til fordeling av individuell heterozygoti i ulike populasjoner. Stiplet linje angir heterozygoti på 0,3. AWolf-prefiks indikerer aDNA-kvalitet på prøver. Heterozygoti-estimerer er konsistente med hensyn til alder på prøver i norsk-svenske ulver, noe som viser at prøve kvaliteten ikke introduserer skjevhet i resultatene våre.

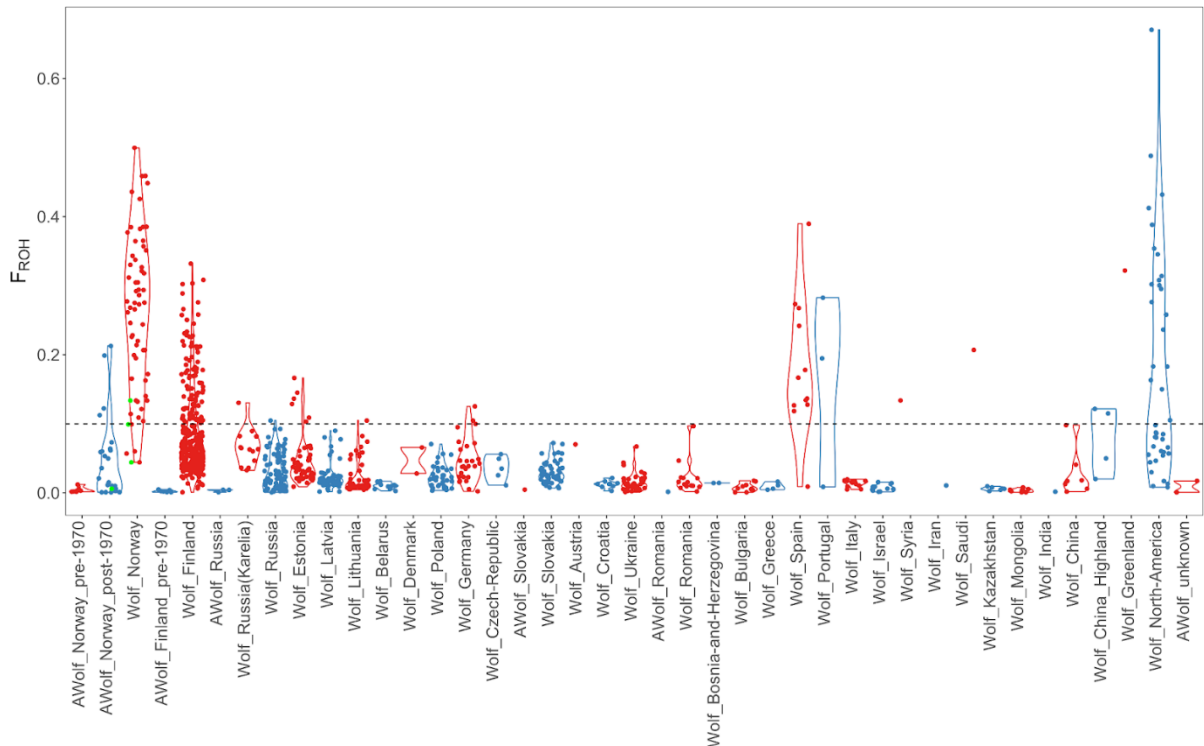


**Figur 8.** Antall lange ROHs (NROH) og total lengde av lange ROH (SROH) for hver ulv. Ikonformer og fargekombinasjoner angir ulike populasjoner og kvalitet på prøver. Den blå linjen angir lineær regresjon av punktene. Dataene viser at norsk-svensk ulv er blant de mest innavlede i verden. AWolf-prefiks indikerer aDNA-kvalitet på prøver. Disse prøvene har relativt lav sekvenseringsdybde, og ROH-estimer basert på disse prøvene kan være påvirket av denne lave sekvenseringsdybden.



**Figur 9.** Antall lange ROH (NROH) and total lengde på lange ROH (SROH) for hver ulv i ulike populasjoner. Rødt kryss = finske ulver, lilla kvadrat = spanske ulver, grønne triangler = post-1970 norsk-svenske ulver av god kvalitet, blå sirkel = nordamerikanske ulver, som inkluderer en delpopulasjon av kanadisk ulv samt innavlede ulver fra Isle Royale.





**Figur 10.** Innavltskoeffisienter ( $F_{ROH}$ ) i ulike ulvebestander. Punkter refererer til individuelle  $F_{ROH}$ -verdier. Fiolinplots viser fordelingen av  $F_{ROH}$  i ulike bestander. Stiplet linje angir  $F_{ROH}$  på 0,1. Grønne punkter i Wolf\_Norway angir tidligere beskrevne immigranter til norsk-svensk bestand. AWolf-prefiks indikerer aDNA-kvalitet på prøver. Disse prøvene har relativt lav sekvenseringsdybde, og ROH estimater for disse kan være påvirket av denne lave sekvenseringsdybden.

### 3.4 Turnover av fennoskandiske ulver

Basert på overvåkningsdata har man gått ut fra at den norsk-svenske ulvestammen ble utryddet en gang rundt 1960 for senere å bli gjenetablert en gang etter 1980 (Wabakken et al. 2001; Hindrikson et al. 2017). Vi kan benytte dataene våre for å studere i hvilken grad det har foregått genetiske endringer i den norsk-svenske bestanden fra perioden før og etter 1970, det vil si før og etter den antatte utryddelsen.

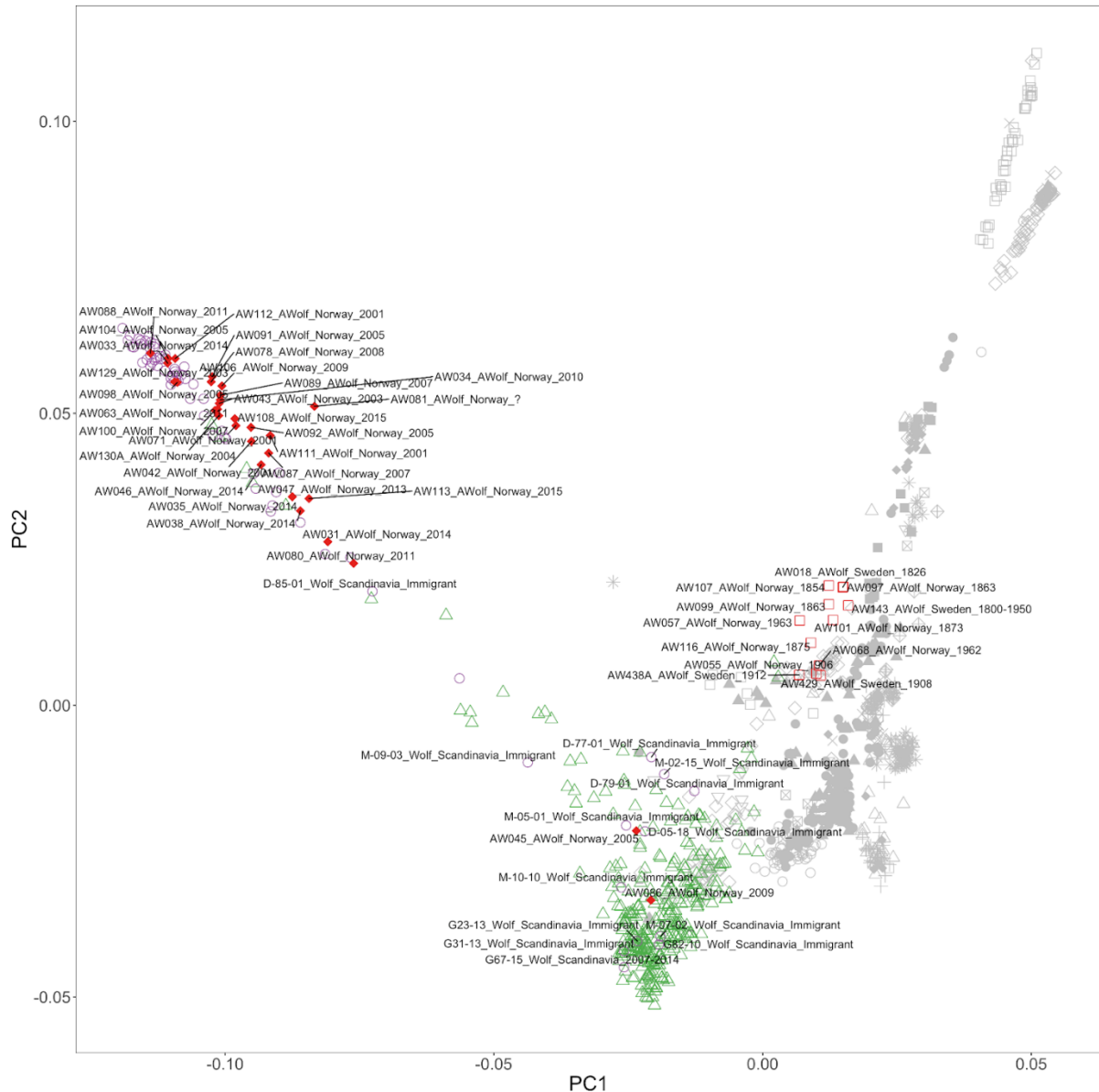
For å studere dette har vi først sett på populasjonsstruktur hos kun de finske og norsk-svenske bestandene før og etter 1970 (Fig. 3, 6, 11 og 12). Vi ser klart separerte klynger av pre- og post-1970 populasjoner i PCA plottet, noe som er i samsvar med *ADMIXTURE*-resultatene (Fig. 6). Sammenlignet med post-1970 populasjoner, så er pre-1970 populasjoner både i Norge, Sverige og Finland nærmere beslektet andre europeiske ulvebestander i PC 1 og 2 (Fig. 11 og 12).

Vi har deretter sammenlignet parvise slektskap mellom ulver for å finne de mest beslektede individene i pre-1970 og post-1970 gruppene, dette ved hjelp av  $f_3$ -observatorer (Fig. 13). Når vi sammenligner med pre-1970 ulv (AW097 fra 1863), så er de nærmest beslektede individene å finne i pre-1970 populasjonen, og pre-1970 finske ulver er også nærmere beslektet dette individet enn med nålevende norsk-svenske ulver. Når vi sammenligner med et nålevende individ (MW160 fra 2018), så finner vi de mest beslektede individene i post-1970 populasjonene. Vi ser også at den nålevende finske populasjonen, så vel som beslektede ulver fra for eksempel Karelen, deler mer slektskap med denne enn de gjør med pre-1970 populasjonen.

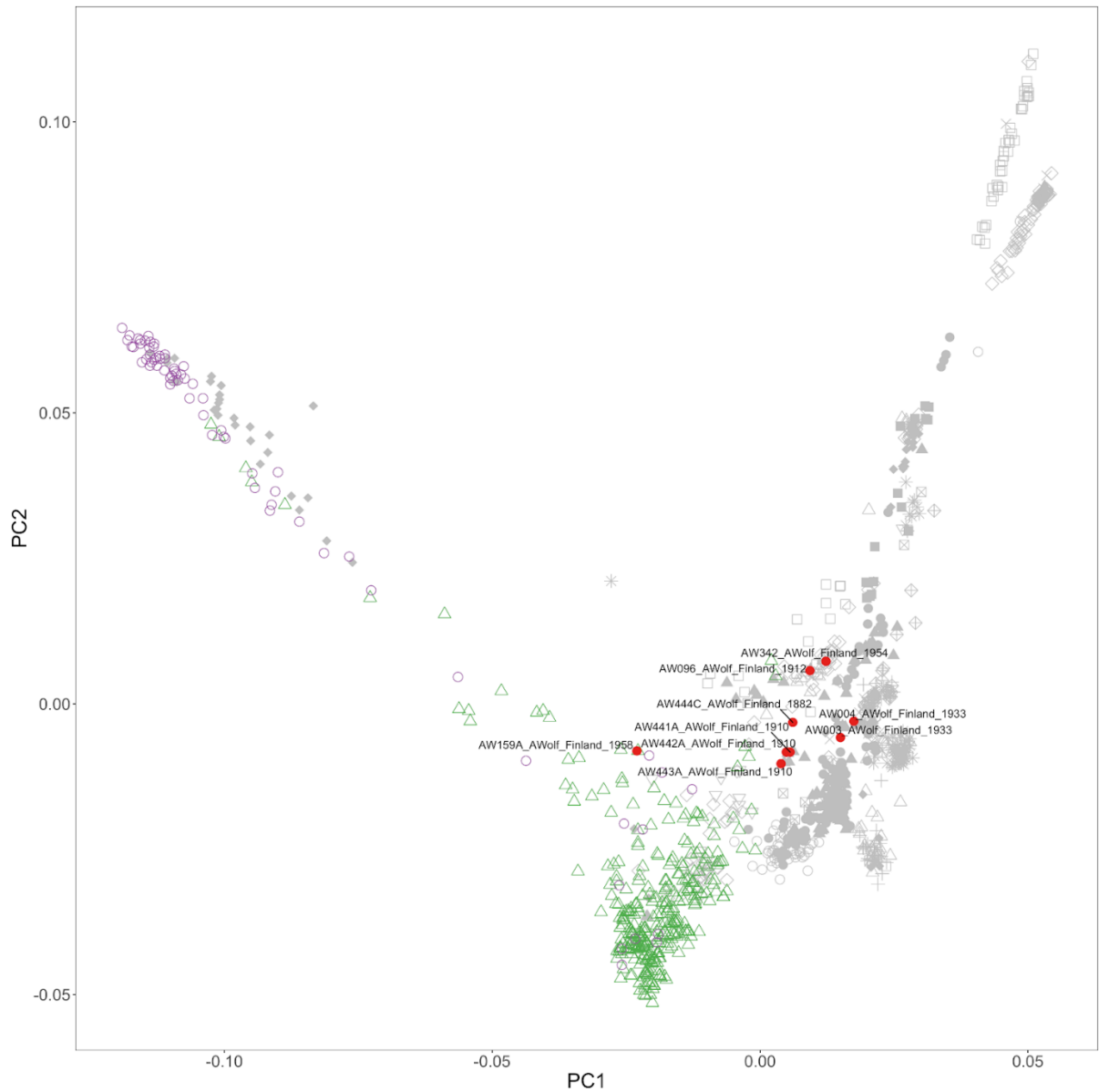
Vi har også studert demografisk historie ved å se på endring i individuell heterozygoti over tid i norsk-svensk og finsk populasjon de siste 200 år (Fig. 14). Heterozygoti endrer seg ikke i vesentlig grad for pre- sammenlignet med post-1970 populasjoner i Norge-Sverige. Vi ser imidlertid en reduksjon i heterozygoti over tid i pre-1970 bestanden, noe som kan være relatert til jakt og utryddeshistorikk. En liten nedgang i heterozygoti kan også ses i post-1970 populasjon fra samme

område, noe som kan henge sammen med innavlssituasjonen i bestanden. Vi vil imidlertid understreke at denne lille nedgangen også kan skyldes overtilpassing (*overfitting*) av data. Prøvestørrelser varierer gjennom tidsperioden vi ser på, og nedgangen kan skyldes utilstrekkelig prøvetagning eller skjevhet i prøvetagning.

Oppsummert finner vi en markant endring (*turnover*) i genetisk sammensetning av norsk-svensk bestand fra tiden før og etter 1970, noe som kan forklares med at bestanden ble utryddet for så å bli reetablert. Observert reduksjon i grad av heterozygoti gir ytterligere støtte fra genetiske data til et slikt scenario.

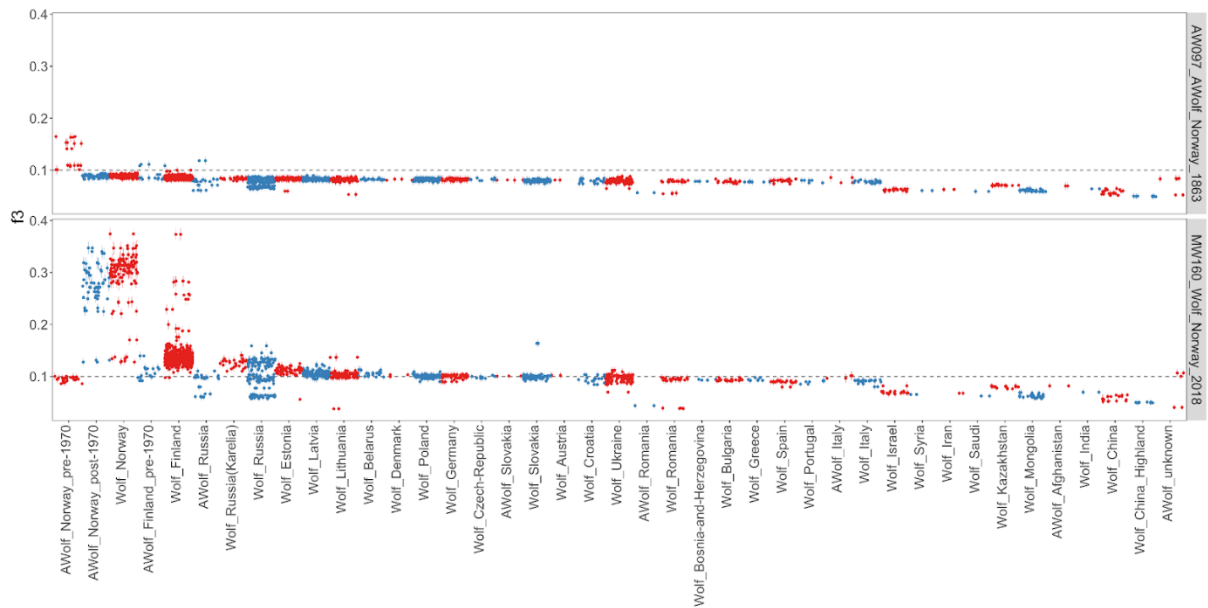


**Figur 11.** PCA med ulike populasjoner markert. Lilla og røde ikoner angir norsk-svenske ulver. Grønne ikoner angir finske ulver. aDNA kvalitet er angitt for norsk-svenske prøver (AWolf-prefiks). Navn på ulver inneholder årstall for prøvetagning som hjelp i fortolkning av plott. Beskrevne immigranter til norsk-svensk bestand i datasettet er G82-10\_Wolf\_Scandinavia\_Immigrant, G23-13\_Wolf\_Scandinavia\_Immigrant, G31-13\_Wolf\_Scandinavia\_Immigrant, M-02-15\_Wolf\_Scandinavia\_Immigrant, D-05-18\_Wolf\_Scandinavia\_Immigrant, M-05-01\_Wolf\_Scandinavia\_Immigrant, M-07-02\_Wolf\_Scandinavia\_Immigrant, M-10-10\_Wolf\_Scandinavia\_Immigrant (founder), D-77-01\_Wolf\_Scandinavia\_Immigrant, M-09-03\_Wolf\_Scandinavia\_Immigrant (founder), D-79-01\_Wolf\_Scandinavia\_Immigrant, D-85-01\_Wolf\_Scandinavia\_Immigrant (founder) og AW045\_AWolf\_Norway\_2005. Plassering av prøver er konsistent med hensyn til alder på prøver, noe som viser at prøve kvaliteten ikke introduserer skjevhet i resultatene våre.

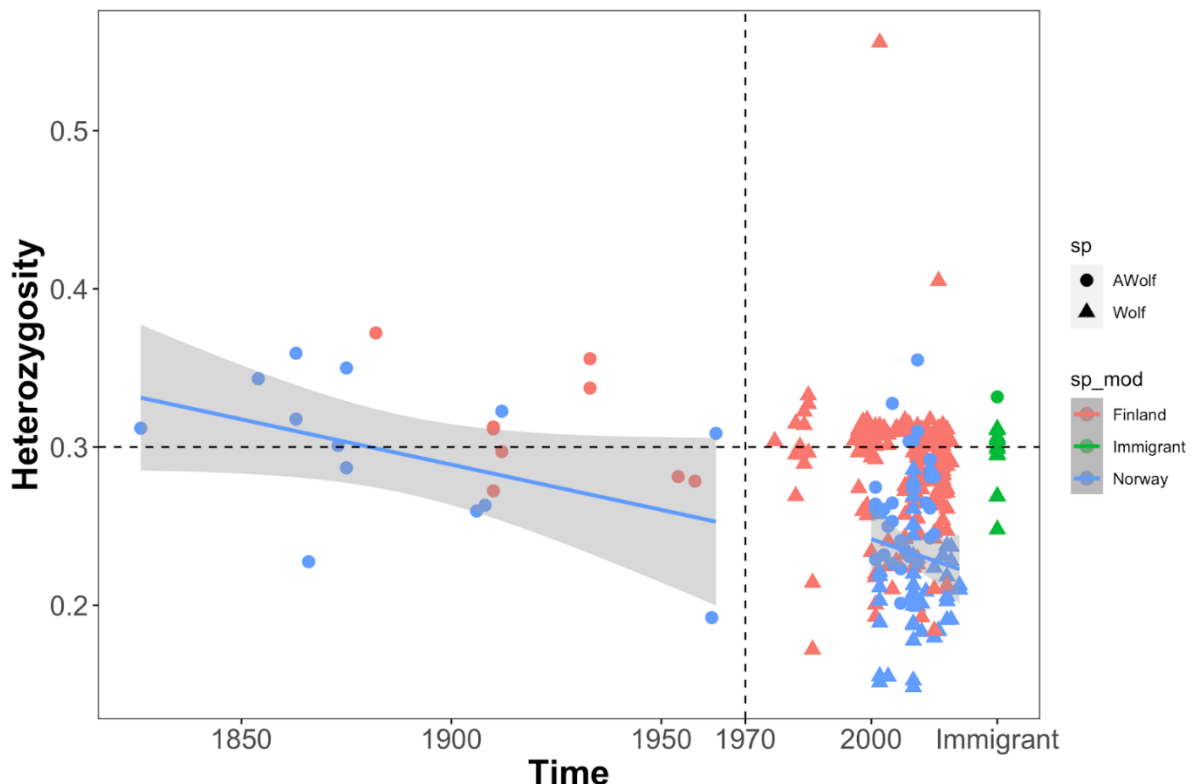


**Figur 12.** PCA der ulike populasjoner er markert. Lilla ikoner er norsk-svenske ulver av god DNA kvalitet. Grønne ikoner er finske ulver. Røde ikoner er pre-1970 finske ulver med aDNA-kvalitet (AWolf-prefiks) finske prøver er merket med prøveinformasjon, og navn på ulver inneholder årstall for prøvetagning. Plassering av prøver er konsistent med hensyn til alder på prøver for norsk-svenske ulver, noe som viser at prøve kvalitet ikke introduserer skjevhet i resultatene våre.





**Figur 13.** Utgruppe  $f_3$ -analyse der norsk-svenske ulver fra før 1970 (øverst, prøve fra 1863) og etter 1970 (nederst, prøve fra 2018) sammenlignes med ulver fra andre populasjoner. Hvert punkt med usikkerhetsstolper (*error-bars*) representerer en sammenligning i form av  $f_3$ (norsk-svensk ulv, ulv X, Pleistocene ulv). Ulv X refererer til ulike ulveindivider. Høyere  $f_3$ -verdi indikerer mer delt slektskap mellom pre-/post-1970 norsk-svensk ulv og andre ulver som de sammenlignes med. Vi ser klare forskjeller mellom pre- og post-1970 norsk-svenske ulver. AWolf-prefiks indikerer aDNA-kvalitet på prøver.  $f_3$ -verdier er konsistente med hensyn til alder for norsk-svenske ulver, noe som viser at prøve kvalitet ikke introduserer skjevhet i resultatene våre.



**Figur 14.** Endring i individuell SNP heterozygoti gjennom tid hos ulver i Fennoskandia. Ikonfarge refererer til ulvebestander der blå er Norge-Sverige, rød er Finland, og grønn er beskrevne immigranter til norsk-svensk bestand. Form på ikon refererer til prøvetype der sirkel er aDNA-kvalitet (AWolf-prefiks) og triangel er god DNA-kvalitet. De grå regionene angir 95% konfidensintervall for lineær regresjon. Heterozygoti-estimerer er konsistente med hensyn til alder på prøver for norsk-svenske ulver, noe som viser at prøve kvalitet ikke ser ut til å introdusere skjevhet i resultatene våre.

### 3.5 Modelling av blandet avstamning (mixed ancestry) hos moderne norsk-svensk ulv

Siden reintroduksjonen av norsk-svensk ulv på 1980-taller er det blitt stilt spørsmål om opprinnelsen til de første individene, ut fra at de ble observert over 1000 km unna nærmeste finske bestand (Larsson 1988; Ellegren et al. 1996; Linnell et al. 2005). Man kan også stille spørsmål ved om den reetablerte bestanden har blandet opphav som følge av innblanding (introgresjon) fra hund eller andre ulvebestander i verden enn den finske. Vi har testet ulike scenarier for *mixed ancestry* av norsk-svensk ulv med datasettet vårt.

Først testet vi muligheten for introgresjon fra hund inn i moderne ulvebestand. Vi benyttet D-observator for å se hvor mye genetisk innblanding fra hund man finner i genomene til norsk-svensk bestand sammenlignet med andre ulvebestander i verden (Fig. 15). For å gjøre sammenligningene enklere, inkluderte vi også en kjent ulv-hund hybrid som kontroll og som frembragte en ekstrem utligger Z-score < -40. Vi fant at alle andre ulver inkludert i datasettet har like mye eller mer slektskap med hund enn de norsk-svenske ulvene, med unntak av ulver fra det kinesiske høylandet. Denne kinesiske bestanden er kjent for å avstamme fra en ukjent Pleistocene *Canis* sp. (Wang et al. 2020), noe som kan forklare de høye D-verdiene for denne bestanden. For å ta hensyn til muligheten for introgresjon fra en bestemt hunderase så benyttet vi mange raser i analysen, men fikk samme resultater uansett hvilke raser vi testet.

Vi benyttet også *qpAdm* for å eksplisitt modellere opphav til norsk-svensk ulv og teste om ulike modeller for innblanding kan forklare genetiske mønstre som vi observerer. Som *source*-populasjoner inkluderte vi vanlige norske hunderaser og ulike delpopulasjoner av finske ulver, definert ut fra cluster-analysen (Fig. 5). Som *target*-populasjon delte vi den norsk-svenske bestanden i to delpopulasjoner (Wolf\_Norway\_3 og Wolf\_Norway\_4) basert på resultater fra cluster-analysen, der vi kan se to genetiske hovedkomponenter. Den beste modellen for å forklare opphav til begge disse delpopulasjonene er ett enkelt opphav fra den finske delpopulasjonen representert ved Wolf\_Finland\_2 (Tabell 2). Modellen med blandet opphav fra finske ulver og hund støttes ikke, og disse resultatene utelukker utbredt innslag av hund i norske og svenske ulver.

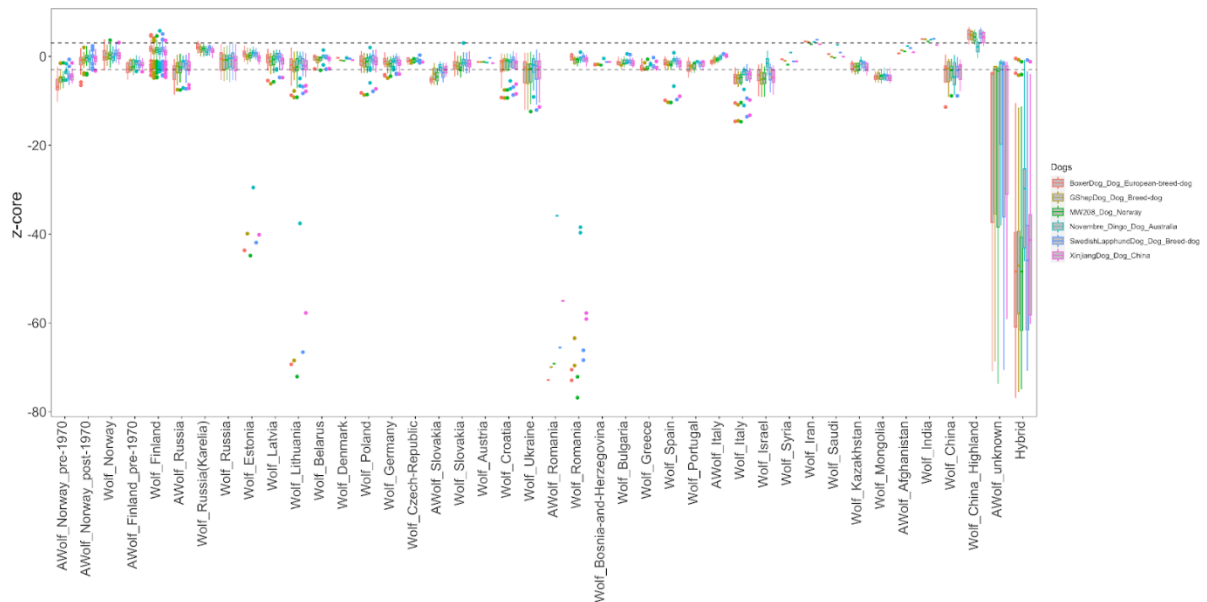
Dernest testet vi hypotesen om at nålevende norsk-svenske ulver har slektskap tilbake til norsk-svensk ulvebestand fra tiden før 1970. Vi benyttet samme *qpAdm*-metode som for testen for innblanding av hunde-DNA. Pre-1970 populasjon ble inkludert som *source* for moderne norsk-svenske bestand. Vi finner at den samme modellen har best støtte, det vil si et scenario der opphavet er en finsk populasjon, og dermed intet slektskap tilbake til pre-1970 populasjon (Tabell 3). Vi må imidlertid påpeke at for modellen med *mixed ancestry*, delvis slektskap med pre-1970 ulv og delvis slektskap med finsk ulv, så er *p*-verdien på 0,06, som er nær marginal verdi for signifikant mer foretrukket modell. Vi konkluderer med at det er usannsynlig at pre-1970 ulveindivider overlevde og overførte genetisk materiale til dagens norsk-svenske ulvestamme, men vi vil ikke fullstendig utelukke denne muligheten.

Vi testet også hypotesen om at moderne norsk-svensk bestand har slektskap til andre regionale ulvebestander. Vi la til mulige ulvebestander som *source* (hver gang mindre enn fem populasjoner) inn i venstre populasjonsliste, inkludert bestander fra bare Finland, eller finske i kombinasjon med bestander fra Russland, Baltikum, sentral- og/eller sør-Europa. Resultatet forblir uendret, og opphav kun fra finsk bestand forblir den mest sannsynlige modellen (Tabell 4 og 5).

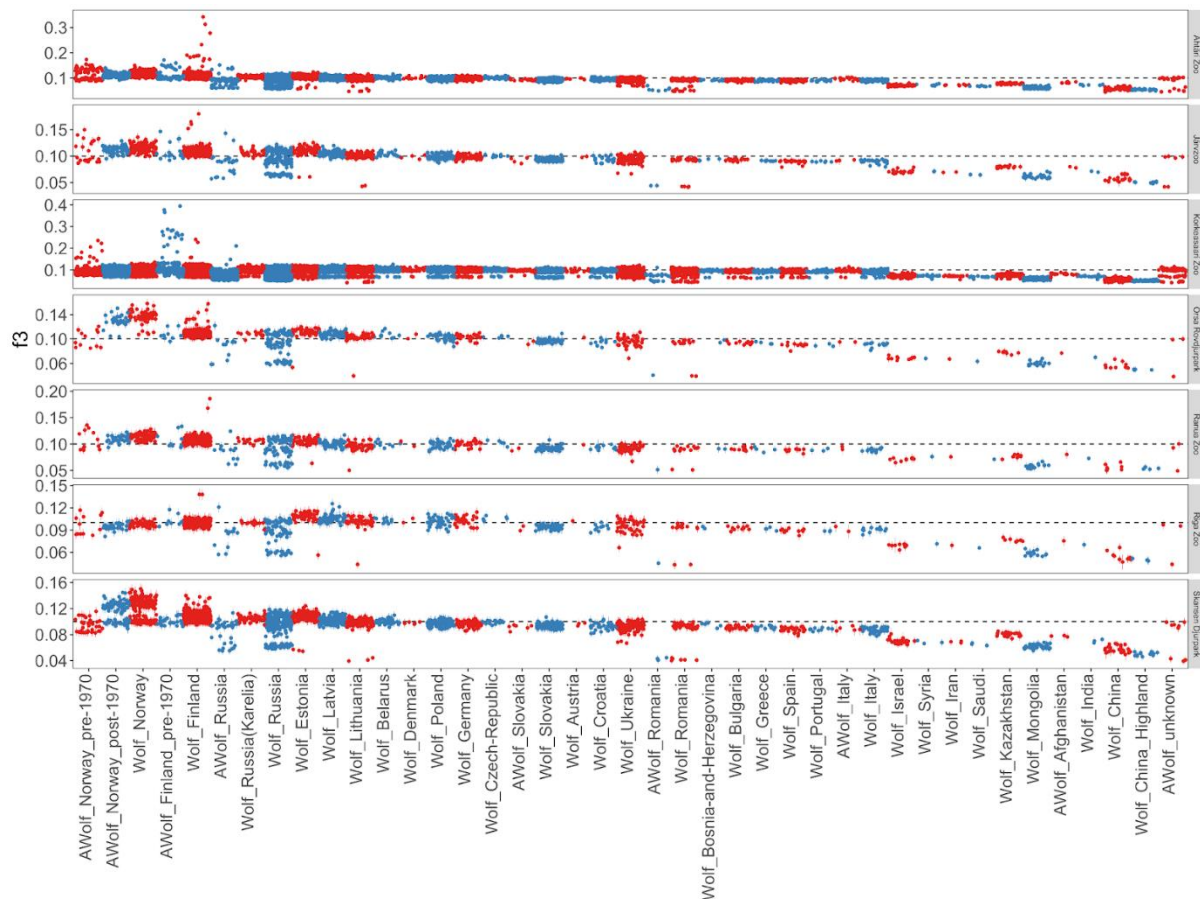
Til slutt testet vi muligheten for at moderne norsk-svensk bestand har slektskap med ulv i finske og svenske dyrehager. Vi undersøkte mønstre for felles opphav mellom dyr i fangenskap og ville ulver for å finne det mest sannsynlige opphavet til ulv i dyrehager ved hjelp av *f3*-observator (Fig. 16). Vi finner at de nærmeste slektningene til dyr i fangenskap er henholdsvis pre-1970 ulver i Fennoskandia (ulver i Korkeasaari Zoo), nålevende finske ulver (ulver i Ähtäri Zoo, Järvzoo, Orsa Rovdjurpark, Ranua Zoo), og estiske ulver (ett individ fra Skansen Djurpark). De fleste ulvene som holdes i Skansen Djurpark viser like mye genetisk slektskap mellom moderne norsk-svenske og finske ulver, men PCA og ADMIXTURE resultater (Fig. 3 og 6) viser at disse ulvene er klart adskilte fra moderne norsk-svenske ulver. Vi kan derfor utelukke at dyr fra dyrehager som vi har innhentet

materiale fra har bidratt genetisk til den nålevende norsk-svenske stammen. Ifølge Ellegren et al. (1996) stammer ulver i svenske dyrehager opprinnelig fra et søskenpar fanget i nordlige Sverige på 1950-tallet, og fra nordlige Finland på 1960-tallet, så vel andre områder, deriblant Estland (Ellegren et al. 1996).

Vi konkluderer basert på disse analysene at moderne norsk-svensk ulvebestand ser ut til å stamme fra én *source* populasjon, og at denne i dag synes å ha sin hovedutbredelse i sørvestlige deler av Finland. Dette er i overensstemmelse med overvåkningsresultater på ulv siden 1980-tallet (Wabakken et al. 2001).



**Figur 15.** D-observator brukt som test på genflyt fra hunder til norsk-svenske ulver, D(norsk-svensk ulv, ulv X, hund X, rev). Ulv X refererer til ulike ulveindivider. Hund X refererer til ulike hunderaser, deriblant bokser, schæfer, dingo, svensk lapphund og gordon setter. De to stiplede linjene angir D-observator Z-score grenseverdier (*thresholds*) på -3 og 3. Kjent hybrid mellom hund og ulv er inkludert som sammenligning. De fleste populasjoner har en Z-score mellom -3 og 3, som indikerer lik mengde hundeslektskap som norsk-svensk ulv. En Z-score under -3 indikerer større grad av hund i genomet til individet som blir undersøkt, mens en Z-score over 3 angir det motsatte. AWolf-prefiks indikerer aDNA-kvalitet på prøver. D-observator er konsistent med hensyn til alder på prøver for norsk-svenske ulver, noe som viser at prøve kvalitet ikke introduserer skjevhet i resultatene våre.



**Figur 16.**  $f_3$ -analyse for å sammenligne ulver fra hver svenske og finske dyrehage med ville ulver. Hvert punkt med usikkerhetsstolpe (*error bar*) representerer én sammenligning i formen  $f_3(\text{zoo ulv, ulv X, Pleistocene ulv})$ . Ulv X refererer til ulike ulveindivider. Høyere  $f_3$ -verdi indikerer mer slektskap mellom ulv i zoo og ulv som sammenlignes. Generelt viser ulver fra dyrehager i Finland og Sverige større slektskap med andre ulvebestander enn den moderne norsk-svenske, bortsett fra ulver i Skansen Djurpark, som viser likt slektskap med norsk-svensk og finsk ulv.  $f_3$ -verdier er konsistente med hensyn til alder på prøver for norsk-svenske ulver, noe som viser at prøve kvalitet ikke introduserer skjevhet i resultatene våre.

**Tabell 2.**  $qAdm$ -modeller over blandet avstamning (*mixed ancestry*) hos norsk-svenske ulver (Wolf\_Norway\_3 and Wolf\_Norway\_4) fra hunder (Dog\_1) og finske ulver (Wolf\_Finland1-4). Hver linje representerer et modellert opphav av norsk-svensk ulv (*target*) fra en av to opphavspopulasjoner (*source*). Kji-kvadratverdi angir differansen mellom forventet og observert  $f_4$ -observator gitt modell. Jo lavere kji-kvadratverdi, desto bedre er modell i samsvar med data for modeller som testes.  $p$ -verdi oppgis for sammenligning av modeller med genetisk opphav fra henholdsvis én versus to populasjoner. En  $p$ -verdi lavere enn 0,05 angir at to-populasjonsmodellen stemmer bedre overens med dataene enn en modell med opphav fra bare én populasjon. Den mest sannsynlige modellen er merket med grønt. Sammenligning er bare foretatt der *best-fit* to-populasjonsmodell har lavere kji-kvadratverdi enn enkeltpopulasjonsmodell. «Unfeasible» betyr at modellen er overtilpasset (inneholder for mange parametre til å kunne testes).

Source population 1	Source population 2	df	chisq	Pop1 proportion	Pop2 proportion	Overfitting $p$ value
Target population: Wolf_Norway_4						
Dog_1	Wolf_Finland_4	4	12.987	0.069	0.931	0.619
Dog_1	Wolf_Finland_1	4	19.597	0.02	0.98	
Dog_1	Wolf_Finland_2	4	13.931	0.05	0.95	

Dog_1	Wolf_Finland_3	4	16.395	0.084	0.916
Wolf_Finland_4	Wolf_Finland_1	4	12.778	-0.352	1.352 unfeasible
Wolf_Finland_4	Wolf_Finland_2	4	4.085	-1.806	2.806 unfeasible
Wolf_Finland_4	Wolf_Finland_3	4	19.634	5.882	-4.882 unfeasible
Wolf_Finland_1	Wolf_Finland_2	4	8.582	2.924	-1.924 unfeasible
Wolf_Finland_1	Wolf_Finland_3	4	9.52	1.329	-0.329 unfeasible
Wolf_Finland_2	Wolf_Finland_3	4	5.554	2.196	-1.196 unfeasible
Dog_1		5	2723.101	1	0
Wolf_Finland_4		5	36.515	1	0
Wolf_Finland_1		5	22.817	1	0
Wolf_Finland_2		5	13.234	1	0
Wolf_Finland_3		5	40.94	1	0

Target population: Wolf\_Norway\_3

Dog_1	Wolf_Finland_4	4	13.391	0.066	0.934	0.135
Dog_1	Wolf_Finland_1	4	27.278	0.021	0.979	
Dog_1	Wolf_Finland_2	4	14.326	0.043	0.957	
Dog_1	Wolf_Finland_3	4	14.39	0.078	0.922	
Wolf_Finland_4	Wolf_Finland_1	4	14.551	-0.496	1.496 unfeasible	
Wolf_Finland_4	Wolf_Finland_2	4	4.775	-1.744	2.744 unfeasible	
Wolf_Finland_4	Wolf_Finland_3	4	20.44	5.856	-4.856 unfeasible	
Wolf_Finland_1	Wolf_Finland_2	4	11.339	9.893	-8.893 unfeasible	
Wolf_Finland_1	Wolf_Finland_3	4	13.101	1.425	-0.425 unfeasible	
Wolf_Finland_2	Wolf_Finland_3	4	5.973	2.149	-1.149 unfeasible	
Dog_1		5	2852.866	1	0	
Wolf_Finland_4		5	40.668	1	0	
Wolf_Finland_1		5	26.611	1	0	
Wolf_Finland_2		5	15.626	1	0	
Wolf_Finland_3		5	44.241	1	0	

---

**Tabell 3.** *qAdm*-modeller over blandet avstamming (*mixed ancestry*) hos norsk-svenske ulver (Wolf\_Norway\_3 and Wolf\_Norway\_4) fra pre-1970 norsk-svenske ulver (AWolf\_Norway\_1) og finske ulver (Wolf\_Finland1-4). Hver linje representerer et modellert opphav av norsk-svensk ulv (*target*) fra en av to opphavspopulasjoner (*source*). Kji-kvadratverdi angir differansen mellom forventet og observert *f4*-observator gitt modell. En lav verdi angir at modellen er mer i henhold til (*fits*) dataene observert. *p*-verdi oppgis for sammenligning av modeller med opphav fra én versus to populasjoner. En *p*-verdi lavere enn 0,05 angir at to-populasjonsmodellen stemmer bedre overens med dataene enn en en-populasjonsmodell. Den mest sannsynlige modellen er merket med grønt. Sammenligning er foretatt der *best-fit* to-populasjonsmodell har lavere kji-kvadratverdi enn enkeltpopulasjonsmodell. «Unfeasible» betyr at modellen er overtilpasset. AWolf-prefiks refererer til aDNA-kvalitet på prøver, *qpAdm* resultater er ikke påvirket av prøve kvalitet (Harney et al. 2021)

Source population 1	Source population 2	df	chisq	Pop1 proportion	Pop2 proportion	Overfitting <i>p</i> value
Target population: Wolf_Norway_3						
AWolf_Norway_1	Wolf_Finland_4	4	16.833	0.175	0.825	
AWolf_Norway_1	Wolf_Finland_1	4	20.094	0.036	0.964	
AWolf_Norway_1	Wolf_Finland_2	4	9.352	0.103	0.897	0.0823
AWolf_Norway_1	Wolf_Finland_3	4	13.943	0.206	0.794	
Wolf_Finland_4	Wolf_Finland_1	4	10.889	-0.568	1.568	unfeasible
Wolf_Finland_4	Wolf_Finland_2	4	2.112	-1.688	2.688	unfeasible
Wolf_Finland_4	Wolf_Finland_3	4	5.831	5.304	-4.304	unfeasible
Wolf_Finland_1	Wolf_Finland_2	4	5.185	2.625	-1.625	unfeasible
Wolf_Finland_1	Wolf_Finland_3	4	9.234	1.436	-0.436	unfeasible
Wolf_Finland_2	Wolf_Finland_3	4	1.83	2.076	-1.076	unfeasible
AWolf_Norway_1		5	383.54	1	0	
Wolf_Finland_4		5	36.518	1	0	
Wolf_Finland_1		5	21.902	1	0	
Wolf_Finland_2		5	12.371	1	0	
Wolf_Finland_3		5	39.134	1	0	
Target population: Wolf_Norway_4						
AWolf_Norway_1	Wolf_Finland_4	4	14.393	0.182	0.818	
AWolf_Norway_1	Wolf_Finland_1	4	14.167	0.042	0.958	
AWolf_Norway_1	Wolf_Finland_2	4	7.131	0.114	0.886	0.0616
AWolf_Norway_1	Wolf_Finland_3	4	16.712	0.209	0.791	
Wolf_Finland_4	Wolf_Finland_1	4	8.833	-0.421	1.421	unfeasible

Wolf_Finland_4	Wolf_Finland_2	4	1.807	-1.744	2.744	unfeasible
Wolf_Finland_4	Wolf_Finland_3	4	6.248	5.275	-4.275	unfeasible
Wolf_Finland_1	Wolf_Finland_2	4	4.449	2.336	-1.336	unfeasible
Wolf_Finland_1	Wolf_Finland_3	4	7.156	1.347	-0.347	unfeasible
Wolf_Finland_2	Wolf_Finland_3	4	1.746	2.119	-1.119	unfeasible
AWolf_Norway_1		5	372.681	1	0	
Wolf_Finland_4		5	32.997	1	0	
Wolf_Finland_1		5	16.81	1	0	
Wolf_Finland_2		5	10.625	1	0	
Wolf_Finland_3		5	36.466	1	0	

**Tabell 4.** *qAdm*-modeller over blandet avstamming (*mixed ancestry*) hos norsk-svenske ulver (Wolf\_Norway\_3) fra multiple ulvepopulasjoner, inkludert pre-1970 norsk-svensk ulv (AWolf\_Norway\_1), den finske ulven med *best fit* (Wolf\_Finland\_2) og andre europeiske ulver (Wolf\_Italy, Wolf\_Latvia\_2, Wolf\_Germany\_4, Wolf\_Slovakia\_3, Wolf\_Poland\_4, Wolf\_Russia(Karelia), Wolf\_Russia\_1, Wolf\_Ukraine\_3, Wolf\_Estonia\_3, Wolf\_Lithuania\_3 og Wolf\_Lithuania\_2 (de to identiske samplene som klynget med finske ulver i PCA-resultatet)). Hver linje representerer et modellert opphav av norsk-svensk ulv (*target*) fra en av to opphavspopulasjoner (*source*). Kji-kvadrat verdi angir differansen mellom forventet og observert *f4*-observator gitt modell. En lav verdi angir at modellen er i henhold til (*fits*) dataene observert. *p*-verdi oppgis for sammenligning av modeller med opphav fra en versus to populasjoner. En *p*-verdi lavere enn 0,05 angir at to-populasjonsmodellen stemmer bedre overens med dataene. Den mest sannsynlige modellen er merket med grønt. Sammenligning er bare foretatt der *best-fit* to-populasjonsmodell har lavere kji-kvadratverdi enn enkeltpopulasjonsmodell. «Unfeasible» betyr at modellen er overtilpasset. AWolf-prefiks refererer til aDNA-kvalitet på prøver, *qpAdm* resultater er ikke påvirket av prøve kvalitet (Harney et al. 2021).

Source population 1	Source population 2	df	chisq	Pop1 proportion	Pop2 proportion	Overfitting	<i>p</i> value
Test batch 1							
Wolf_Finland_2	AWolf_Norway_1	4	9.828	1.042	-0.042	unfeasible	0.366
Wolf_Finland_2	Wolf_Italy	4	9.284	0.902	0.098		
Wolf_Finland_2	Wolf_Latvia_2	4	9.629	1.246	-0.246	unfeasible	
Wolf_Finland_2	Wolf_Germany_4	4	9.782	1.18	-0.18	unfeasible	
AWolf_Norway_1	Wolf_Italy	4	51.497	0.402	0.598		
AWolf_Norway_1	Wolf_Latvia_2	4	26.873	0.078	0.922		
AWolf_Norway_1	Wolf_Germany_4	4	20.815	0.099	0.901		
Wolf_Italy	Wolf_Latvia_2	4	8.149	-0.522	1.522	unfeasible	
Wolf_Italy	Wolf_Germany_4	4	17.908	-0.831	1.831	unfeasible	
Wolf_Latvia_2	Wolf_Germany_4	4	2.75	3.416	-2.416	unfeasible	

Wolf_Finland_2	5	10.1	1	0
AWolf_Norway_1	5	107.948	1	0
Wolf_Italy	5	75.202	1	0
Wolf_Latvia_2	5	27.43	1	0
Wolf_Germany_4	5	21.564	1	0

Test batch 2

Wolf_Finland_2	AWolf_Norway_1	4	9.852	1.043	-0.043	unfeasible
Wolf_Finland_2	Wolf_Slovakia_3	4	9.916	0.924	0.076	0.636
Wolf_Finland_2	Wolf_Poland_4	4	8.69	1.328	-0.328	unfeasible
Wolf_Finland_2	Wolf_Russia(Karelia)	4	17.06	0.945	0.055	
AWolf_Norway_1	Wolf_Slovakia_3	4	31.241	0.235	0.765	
AWolf_Norway_1	Wolf_Poland_4	4	23.373	0.139	0.861	
AWolf_Norway_1	Wolf_Russia(Karelia)	4	14.163	-0.007	1.007	unfeasible
Wolf_Slovakia_3	Wolf_Poland_4	4	15.638	-1.695	2.695	unfeasible
Wolf_Slovakia_3	Wolf_Russia(Karelia)	4	14.251	0.001	0.999	
Wolf_Poland_4	Wolf_Russia(Karelia)	4	10.554	-0.673	1.673	unfeasible

Wolf_Finland_2	5	10.14	1	0
AWolf_Norway_1	5	108.006	1	0
Wolf_Slovakia_3	5	38.928	1	0
Wolf_Poland_4	5	25.854	1	0
Wolf_Russia(Karelia)	5	14.208	1	0

Test batch 3

Wolf_Finland_2	AWolf_Norway_1	4	10.549	1.024	-0.024	unfeasible
Wolf_Finland_2	Wolf_Russia_1	4	10.375	1.007	-0.007	unfeasible
Wolf_Finland_2	Wolf_Ukraine_3	4	10.365	0.927	0.073	0.709
Wolf_Finland_2	Wolf_Estonia_3	4	9.846	1.309	-0.309	unfeasible
AWolf_Norway_1	Wolf_Russia_1	4	86.857	1.174	-0.174	unfeasible
AWolf_Norway_1	Wolf_Ukraine_3	4	21.785	0.208	0.792	



AWolf_Norway_1	Wolf_Estonia_3	4	16.923	0.059	0.941
Wolf_Russia_1	Wolf_Ukraine_3	4	10.711	0.101	0.899
Wolf_Russia_1	Wolf_Estonia_3	4	11.859	0.051	0.949
Wolf_Ukraine_3	Wolf_Estonia_3	4	6.003	-1.166	2.166 unfeasible

Wolf_Finland_2		5	10.504	1	0
AWolf_Norway_1		5	108.285	1	0
Wolf_Russia_1		5	1233.167	1	0
Wolf_Ukraine_3		5	29.077	1	0
Wolf_Estonia_3		5	16.62	1	0

Test batch 4

Wolf_Finland_2	AWolf_Norway_1	5	12.702	0.922	0.078	0.082
Wolf_Finland_2	Wolf_Lithuania_3	5	10.809	1.155	-0.155 unfeasible	
Wolf_Finland_2	Wolf_Lithuania_2	5	3.211	5.509	-4.509 unfeasible	
AWolf_Norway_1	Wolf_Lithuania_3	5	46.142	0.465	0.535	
AWolf_Norway_1	Wolf_Lithuania_2	5	14.861	0.077	0.923	
Wolf_Lithuania_3	Wolf_Lithuania_2	5	10.424	-0.212	1.212 unfeasible	

Wolf_Finland_2		6	15.712	1	0
AWolf_Norway_1		6	392.508	1	0
Wolf_Lithuania_3		6	309.252	1	0
Wolf_Lithuania_2		6	17.048	1	0

---

Target population: Wolf\_Norway\_3

**Tabell 5.** Tabell 4. *qAdm*-modeller over blandet avstamming (*mixed ancestry*) hos norsk-svenske ulver (Wolf\_Norway\_4) fra multiple ulvepopulasjoner, inkludert pre-1970 norsk-svensk ulv (AWolf\_Norway\_1), den finske ulven med *best fit* (Wolf\_Finland\_2) og andre europeiske ulver (Wolf\_Italy, Wolf\_Latvia\_2, Wolf\_Germany\_4, Wolf\_Slovakia\_3, Wolf\_Poland\_4, Wolf\_Russia(Karelia), Wolf\_Russia\_1, Wolf\_Ukraine\_3, Wolf\_Estonia\_3, Wolf\_Lithuania\_3 og Wolf\_Lithuania\_2 (de to identiske samplene som klynget med finske ulver i PCA-resultatet)). Hver linje representerer et modellert opphav av norsk-svensk ulv (*target*) fra en av to opphavspopulasjoner (*source*). Kji-kvadrat verdi angir differansen mellom forventet og observert *f4*-observator gitt modell. En lav verdi angir at modellen er i henhold til dataene observert. *p*-verdi oppgis for sammenligning av modeller med opphav fra én versus to populasjoner. En *p*-verdi lavere enn 0,05 angir at to-populasjonsmodellen stemmer bedre overens med dataene enn én-populasjonsmodellen. Den mest sannsynlige modellen er merket med grønt. «Unfeasible» betyr at modellen er overtilpasset. AWolf-prefiks refererer til aDNA-kvalitet på prøver, *qAdm* resultater er ikke påvirket av prøve kvalitet (Harney et al. 2021).

Source population 1	Source population 2	df	chisq	Pop1 proportion	Pop2 proportion	Overfitting <sup>p</sup> value
Test batch 1						
Wolf_Finland_2	AWolf_Norway_1	4	8.613	1.02	-0.02	unfeasible
Wolf_Finland_2	Wolf_Italy	4	8.725	0.966	0.034	
Wolf_Finland_2	Wolf_Latvia_2	4	7.862	1.368	-0.368	unfeasible
Wolf_Finland_2	Wolf_Germany_4	4	8.27	1.208	-0.208	unfeasible
AWolf_Norway_1	Wolf_Italy	4	54.384	0.408	0.592	
AWolf_Norway_1	Wolf_Latvia_2	4	24.798	0.102	0.898	
AWolf_Norway_1	Wolf_Germany_4	4	20.577	0.086	0.914	
Wolf_Italy	Wolf_Latvia_2	4	7.969	-0.671	1.671	unfeasible
Wolf_Italy	Wolf_Germany_4	4	16.555	-0.433	1.433	unfeasible
Wolf_Latvia_2	Wolf_Germany_4	4	3.259	3.742	-2.742	unfeasible
Wolf_Finland_2		5	8.669	1	0	
AWolf_Norway_1		5	111.088	1	0	
Wolf_Italy		5	77.692	1	0	
Wolf_Latvia_2		5	25.91	1	0	
Wolf_Germany_4		5	20.984	1	0	
Test batch 3						
Wolf_Finland_2	AWolf_Norway_1	4	8.646	1.021	-0.021	unfeasible
Wolf_Finland_2	Wolf_Slovakia_3	4	8.692	1.009	-0.009	unfeasible
Wolf_Finland_2	Wolf_Poland_4	4	7.192	1.371	-0.371	unfeasible
Wolf_Finland_2	Wolf_Russia(Karelia)	4	1.89	6.735	-5.735	unfeasible

AWolf_Norway_1	Wolf_Slovakia_3	4	31.408	0.228	0.772
AWolf_Norway_1	Wolf_Poland_4	4	22.328	0.128	0.872
AWolf_Norway_1	Wolf_Russia(Karelia)	4	12.349	-0.012	1.012 unfeasible
Wolf_Slovakia_3	Wolf_Poland_4	4	14.216	-1.714	2.714 unfeasible
Wolf_Slovakia_3	Wolf_Russia(Karelia)	4	12.029	-0.115	1.115 unfeasible
Wolf_Poland_4	Wolf_Russia(Karelia)	4	8.897	-0.622	1.622 unfeasible

Wolf_Finland_2		5	8.717	1	0
----------------	--	---	-------	---	---

AWolf_Norway_1		5	111.179	1	0
Wolf_Slovakia_3		5	37.982	1	0
Wolf_Poland_4		5	24.214	1	0
Wolf_Russia(Karelia)		5	12.423	1	0

Test batch 3

Wolf_Finland_2	AWolf_Norway_1	4	9.306	0.998	0.002
Wolf_Finland_2	Wolf_Russia_1	4	9.203	0.992	0.008
Wolf_Finland_2	Wolf_Ukraine_3	4	9.098	1.034	-0.034 unfeasible
Wolf_Finland_2	Wolf_Estonia_3	4	8.303	1.404	-0.404 unfeasible
AWolf_Norway_1	Wolf_Russia_1	4	91.993	1.188	-0.188 unfeasible
AWolf_Norway_1	Wolf_Ukraine_3	4	20.904	0.187	0.813
AWolf_Norway_1	Wolf_Estonia_3	4	15.671	0.074	0.926
Wolf_Russia_1	Wolf_Ukraine_3	4	10.832	0.105	0.895
Wolf_Russia_1	Wolf_Estonia_3	4	11.634	0.061	0.939
Wolf_Ukraine_3	Wolf_Estonia_3	4	5.685	-1.507	2.507 unfeasible

Wolf_Finland_2		5	9.044	1	0
----------------	--	---	-------	---	---

AWolf_Norway_1		5	111.38	1	0
Wolf_Russia_1		5	1099.687	1	0
Wolf_Ukraine_3		5	25.712	1	0
Wolf_Estonia_3		5	16.029	1	0

Test batch 4

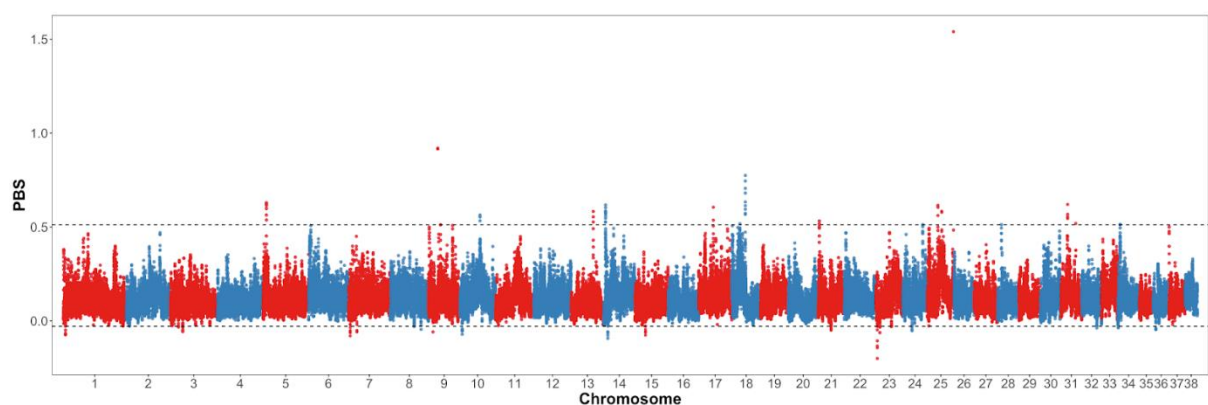
Wolf_Finland_2	AWolf_Norway_1	5	10.654	0.91	0.09	0.070
Wolf_Finland_2	Wolf_Lithuania_3	5	8.986	1.177	-0.177	unfeasible
Wolf_Finland_2	Wolf_Lithuania_2	5	3.282	6.569	-5.569	unfeasible
AWolf_Norway_1	Wolf_Lithuania_3	5	43.932	0.454	0.546	
AWolf_Norway_1	Wolf_Lithuania_2	5	12.399	0.089	0.911	
Wolf_Lithuania_3	Wolf_Lithuania_2	5	8.502	-0.233	1.233	unfeasible
Wolf_Finland_2		6	13.933	1	0	
AWolf_Norway_1		6	379.717	1	0	
Wolf_Lithuania_3		6	278.191	1	0	
Wolf_Lithuania_2		6	14.932	1	0	

Target population: Wolf\_Norway\_4

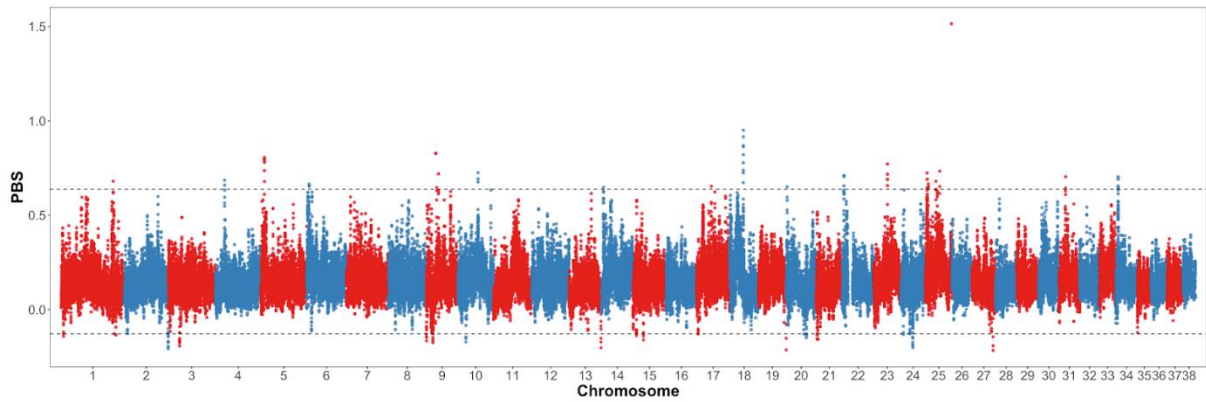
### 3.6 Test for signaler på lokal tilpasning i fennoskandiske ulver

Flere studier har funnet signaler på genetiske tilpasninger som kan ha sammenheng med lokale miljøforhold i ulike ulvebestander (Zhang et al. 2014; Schweizer et al. 2016; Schweizer et al. 2018). Slike studier er blant annet av betydning i den grad det er et mål å ta vare på genetisk mangfold og unik genetisk sammensetning av dokumentert adaptiv verdi. For å studere forekomst av unike genetiske tilpasninger i norsk-svensk bestand utførte vi seleksjonsskanning ved hjelp av PBS. To sett med populasjoner ble benyttet for å detektere signaler på lokal tilpasning i ulike sammenligninger av populasjoner, inklusive hele moderne finske populasjon (alle delpopulasjoner) og moderne italiensk/spansk populasjon (inkludert alle ulveprøver fra Italia og Spania) som sammenligning, og kinesisk lavlandsbestand (Wang et al. 2015; Fan et al. 2016) som utgruppe.

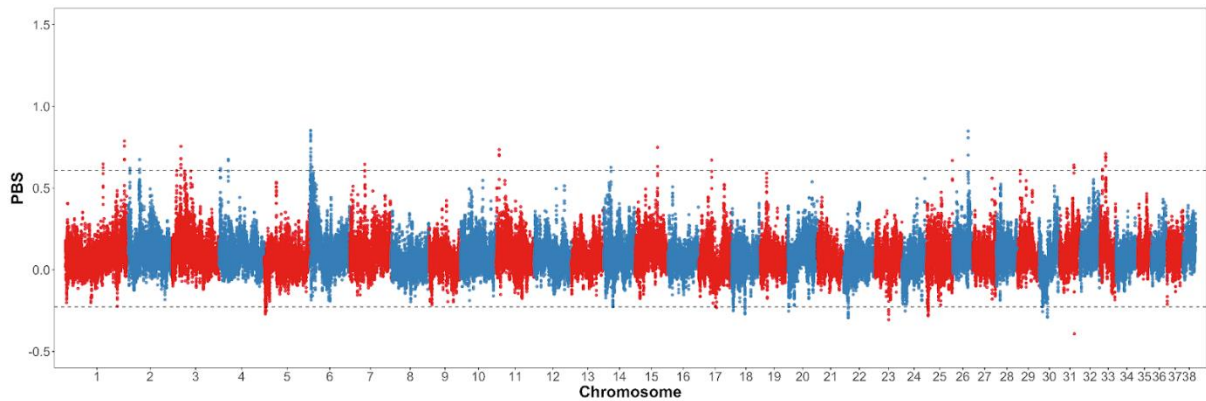
Vi fant overlappende genomregioner på kromosom 5 og 18 som viste store ulikheter mellom norsk-svensk populasjon og de to andre populasjonene (Fig. 17 og 18). Da vi brukte opprinnelig (ancestral) finsk ulv (Wolf\_Finland\_2) som sammenligning for å detektere seleksjonssignaler spesifikke for norsk-svensk bestand, så fant vi imidlertid ingen overlapp med de to tidligere resultatene (Fig. 19). Dette indikerer at det ikke er tilstrekkelig med signaler på naturlig seleksjon akkumulert i reetablert norsk-svensk bestand. Dette er rimelig gitt den korte tiden som er gått siden bestanden ble skilt fra finsk opphav. Signaler som påvises stammer fra opprinnelig populasjon (Wolf\_Finland\_2).



**Figur 17.** Manhattan-plot av PBS med moderne norsk-svenske ulver som fokale populasjoner. PBS-verdier er beregnet i 100-kbp sliding-vinduer med stegstørrelse på 20kbp. De to andre populasjonene som er benyttet er finske ulver og kinesiske lavlandsulver. Stiplet linje indikerer 99,95 og 0,05 persentiler av alle PBS-verdier.



**Figur 18.** Manhattan-plot av PBS med moderne norsk-svenske ulver som fokale populasjoner. PBS-verdier er beregnet i 100-kbp sliding-vinduer med stegstørrelse på 20kbp. De to andre populasjonene som er benyttet er spansk-italienske ulver og kinesiske lavlandsulver. Stiplet linje indikerer 99,95 og 0,05 persentiler av alle PBS-verdier.



**Figur 19.** Manhattan-plot av PBS med moderne norsk-svenske ulver som fokale populasjoner. PBS-verdier er beregnet i 100-kbp sliding-vinduer med stegstørrelse på 20kbp. De to andre populasjonene som er benyttet er opprinnelig (ancestral) finsk ulv til norsk-svensk bestand (Wolf\_Finland2; tabell 2-5) og kinesiske lavlandsulver. Stiplet linje indikerer 99,95 og 0,05 persentiler av alle PBS-verdier.

## 4 Diskusjon

Denne rapporten er basert på analyser av genetisk opphav til norske og svenske ulver med et datasett bestående av 1309 genomer av ulv og hund. Resultatene belyser spørsmål knyttet til avstamning, nærmere bestemt spørsmål om hvilken bestand den norsk-svenske ulven stammer fra, grad av innblanding av arvemateriale fra hund, hvilket slektskap det er mellom dagens bestand og den som tilsynelatende ble utryddet mot slutten av 1900-tallet, mønstre for genetisk fitness, og mulige signaler og indikasjoner på unike genetisk tilpasninger.

### 4.1 Finske ulver er genetisk mest lik dagens norsk-svenske ulvestamme

Resultatene våre støtter hypotesen om at finsk ulv, og spesielt ulv som i dag hovedsakelig finnes i sørvestlige Finland, er mest sannsynlig opphav til den moderne norsk-svenske ulvebestanden. Vi kan ikke fullstendig utelukke muligheten for at opphavsbestanden geografisk strekker seg til også å inkludere ulv på den russiske siden av grensen (vi fant ett finsk ulveindivid prøvetatt nær grensen til Russland som har samme genetisk bakgrunn som de vestfinske ulvene). Det er likevel et tydelig og sterkt genetisk slektskap mellom norsk-svenske ulver og den finske ulvebestanden, og *ADMIXTURE*- og *PCA*-resultater bekrefter at ulver i Norge og Sverige deler samme genetiske bakgrunn som nålevende ulver i Finland (Fig. 6 og 12).

Dette er i samsvar med overvåkningsdata og tidligere genetiske studier (Wabakken et al. 2001; Flagstad et al. 2003; Vilà et al. 2003b; Åkesson et al. 2016). Analyser av parvis genetisk affinitet viser at nålevende finsk ulv er de som har størst genetisk slektskap med nålevende norsk og svensk ulv (Fig. 13). Ved å kjøre admixture-modellering i *qpAdm* finner vi at en delpopulasjon i sørvestlige Finland er den mest sannsynlige kilden til den norsk-svenske ulvestammen (Tabeller 2-5). *PCA* og *ADMIXTURE* analyser viser også at nålevende norsk-svensk bestand er klart separert fra den finske, og dermed danner en egen genetisk klynge (Fig. 3 og 6). Dette skyldes mest sannsynlig det høye innavlsnivået i norsk-svensk ulv og lav heterozygoti. Effekten av genetisk drift i denne populasjonen er forsterket gjennom innavl.

### 4.2 Ingen genetisk innblanding fra hund eller andre ulvebestander enn den finske

Vi finner ingen holdepunkter for at norsk-svensk ulv har genetisk innblanding fra andre ulvebestander enn den finske som er undersøkt, og heller ikke fra hund. Hverken *D*-observator (Fig. 15) eller *qpAdm* modellering (Tabell 2) viser høyere andel hundeavstamning i den norsk-svenske bestanden enn noen annen ulvebestand som det er samlet inn prøver fra i verden så langt. Tvert imot, *D*-observatoranalyse støtter argumentet at norsk-svensk ulv har mindre slektskap med hund enn noen annen ulv i datasettet vi studerte, med mulig unntak av den tidligere beskrevne unike kinesiske høylandsulven.

Vi understreker at vi kan ikke slå fast absolutt mengde innslag av hund i studerte ulvebestander. Dette skyldes at ulver rundt omkring i verden har en kompleks hybridiseringshistorie med hunder og andre medlemmer av hundefamilien (Freedman et al. 2014; Skoglund et al. 2015; Fan et al. 2016; Freedman and Wayne 2017; Pilot et al. 2018). Tilgang på flere historiske hundegenomer vil bidra til å kaste lys over dette spørsmålet i fremtidige studier. Vi utførte som tidligere beskrevet analysen ved å sammenligne *relativt hundeslektskap* i ulike ulvepopulasjoner rundt om i verden. Vi fant på denne måten ingen indikasjoner på nylig innblanding fra hund i den norsk-svenske bestanden (Tabell 2), og altså ingen andre ulver i verden som er mer «rene» enn den vi har i vår del av verden. Vi kan også utelukke at norsk-svensk ulv bærer på innblanding av genetisk materiale fra andre studerte europeiske bestander enn den finske, eller på materiale fra ulv i studerte dyrehager (Tabell 3-5). Vi ser en klar genetisk strukturering hos ulver utenfor Europa, og de er tydelig

separerte fra europeisk ulv (Fig. 2-6), noe som gjør det ekstremt usannsynlig at de har bidratt inn mot opphavet til norsk-svensk ulv.

### **4.3 Utryddelse og reetablering av fennoskandiske ulver**

Vi finner at den nåværende norsk-svenske ulvebestanden har en ulik genetisk bakgrunn sammenlignet den nå utryddede bestanden som levde i regionen før 1970 (Fig. 3, 6 og 14). Vi ser det samme mønsteret for utskifting hos finsk ulv, som opplevde redusert populasjonsstørrelse på tidlig 1900-tall og en relativt nylig bestandsøkning (Aspi et al. 2006). Vi har imidlertid relativt få finske prøver av ulv fra pre-1970, og observert endring i Finland kan også bare være tilsynelatende og et resultat av utilstrekkelig prøvetagning. Hva angår den norsk-svenske bestanden, på den andre siden, kan vi konkludere at det er klare forskjeller i genetisk sammensetning av bestand før og etter 1970. Det er interessant å bemerke at selv om den opprinnelige norsk-svenske ulvestammen er genetisk ulik dagens bestand, så ser vi at ulver i noen svenske og finske dyrehager er genetisk mer lik denne opprinnelige, utryddede stammen.

### **4.4 Høy grad av innavl i norsk-svensk ulvebestand**

Den norsk-svenske ulvestammen er svært innavlet, som beskrevet i tidligere studier (Vilà et al. 2003; Räikkönen et al. 2006; Hagenblad et al. 2009; Åkesson et al. 2016; Kardos et al. 2018). Svært innavlede bestander må anses som sårbare og med liten evne til å tilpasse seg økologiske og miljømessige endringer. Ulv på Isle Royale (USA) kan være verdt å sammenligne med, både fordi de er kjent for å være innavlede og har et lignende mønster med nylig innavl (Robinson et al. 2019). Den ble etablert av to eller tre ulver på 1940-tallet, og på det meste besto bestanden av rundt 50 individer. Etter et sykdomsutbrudd på 1980-tallet kollapset bestanden og ble ikke gjenopprettet før en enkelt ulv immigrerte fra fastlandspopulasjonen. Bestanden er fortsatt utsatt for mange genetiske defekter, deriblant redusert overlevelse og reproduksjon, og er ansett som nær utryddet (Hedrick et al. 2014; Peterson et al. 2014). Den moderne norsk-svenske ulvebestanden har en ganske lignende historie, og noen studier har også her rapportert om medfødte defekter (Liberg et al. 2005; Räikkönen et al. 2006).

## 5 Konklusjon

I denne studien konkluderer vi, med stor sikkerhet, at den moderne norsk-svenske ulvebestanden er genetisk mest lik den finske ulvebestanden, og at den nåværende bestanden er genetisk distinkt fra den som ble utryddet en gang før 1970. Vi finner det imidlertid sannsynlig at dyr som representerer siste gjenlevende rest av denne nå utryddede bestanden fortsatt er å finne i visse finske og svenske dyrehager. Vi kan også konkludere med stor sikkerhet at det ikke er mer, og mest sannsynlig mindre, slektskap med hund i genomene til moderne norsk-svenske ulver sammenlignet med de fleste andre ulver i verden. Vi finner ingen holdepunkter for nylig hybridisering mellom ulver og hunder i genomer til norsk-svensk ulv som vi har studert. Videre finner vi at norsk-svenske ulver er sterkt innavlet, og at dette sannsynligvis ligger til grunn for sterk genetisk drift som igjen har medført at norsk-svenske ulver er blitt genetisk differensierte fra opphavsbestand i løpet av de siste tiårene. På den andre siden finner vi det rimelig å konkludere at det er ingen unike genetiske tilpasninger i norsk-svensk ulv sammenlignet med andre ulvebestander.



## 6 Ordliste

Admixture: genetisk blanding av evolusjonære linjer som har vært adskilt.

aDNA: ancient DNA, eller gammelt DNA, DNA isolert fra historisk gammelt materiale, for eksempel fra museumsmateriale.

Alleler: genvarianter fra ett og samme gen eller fra en bestemt fysisk lokasjon på et kromosom.

Ancestry: ætt, opphav.

Autosom: kromosom som ikke er et kjønnskromosom.

Mikrosatellitter: kort DNA-sekvens på noen få baser som repeteres et antall ganger.

Baser, basepar/bp: grunnleggende enhet i DNA-molekylet, arvematerialets «bokstaver».

Bias: systematisk avvik fra det som er riktig.

Domestisert: art som gjennom seleksjon er blitt tilpasset menneskelige behov og menneskelig miljø.

Dominant: effekten av én genvariant overstyrer effekten av en annen variant av det samme genet.

Effektiv populasjonsstørrelse: størrelsen på en idealisert bestand med like mye genetisk drift som en studert bestand, men der faktorer som seleksjon, genflyt, ujevn kjønnsbalanse og variasjon i bestandsstørrelse ikke spiller noen rolle.

Evolusjon: endring i genetisk sammensetning av en bestand over tid.

Fase/fasing: å bestemme om genvarianter har opphav i kromosomer arvet fra henholdsvis far eller mor.

Fenotype: egenskaper ved en organisme som er observerbare, for eksempel knyttet til adferd, morfologi og fysiologi.

Fitness: et individs overlevelses- og formeringsevne, sett i forhold til andre individer i en bestand.

Flaskehals (bottleneck): betydelig reduksjon i en bestands størrelse.

Founders: grunnleggere.

$F_{ST}$ : mål på genetisk differensiering.

Gbp: gigabasepar, 1 000 000 000 basepar.

Gendiversitet: mål på genetisk mangfold.

Genetisk drift: evolusjon gjennom tilfeldig endring av genetisk sammensetning i en bestand.

Genetisk redning (genetic rescue): innførsel av genetisk materiale i en bestand som øker mangfold og minsker risiko for utryddelse.

Genetiske markører: ulike typer av DNA-sekvenser som kan benyttes for å måle variasjon og identifisere grupper eller arter.

Genflyt: overføring av genetisk materiale mellom bestander eller arter.

Genom: det totale arvematerialet til en organisme.

Genotype: genetisk materiale til en organisme knyttet til et bestemt gen eller kromosomregion.

Genotype-calling: bestemmelse av genotype til et individ.

Heterozygoti: å ha ulike genvarianter av samme gen på et bestemt sted av et kromosom.

Homozygoti: å ha like genvarianter av samme gen på et bestemt sted av et kromosom.

Hybridisering: formering mellom genetisk ulike individer, enten innen samme art eller mellom arter.

Imputasjon: erstatning av manglende data.

Innavl: formering mellom beslektede individer.

Innavlsdepresjon: redusert overlevelse og formeringsevne til avkom som resultat av innavl.

Innavlskoeffisient: sannsynligheten for å arve to identiske genvarianter av et gitt gen/kromosomregion som følge av at foreldrene er i slekt med hverandre.

Introgresjon: overføring av genmateriale mellom arter, genflyt mellom arter.

Kbp: kilobasepar, 1 000 basepar.

Kromosom: organiserte strukturer av arvemateriale i celler.

Likelihood: numerisk beskrivelse av hvor sannsynlig det er at noe vil inntreffe.

MAF, minor allele frequency: frekvens av genvariant som ikke er den vanligste.

Mapping, kartlegging: bestemmelse av plassering av gener på kromosomer.

Mbp: megabasepar, 1 000 000 basepar.

Mitokondrielt DNA: arvemateriale i cellens mitokondrier, nedarves gjennom morslinjen.

Mixed ancestry: blandet opphav.

NGS-teknologi: next generation sequencing, DNA sekvenseringsteknologi karakterisert av svært høy gjennomstrømming.

PCA: prinsipalkomponentanalyse, metode for å beskrive variasjon i kompliserte datasett.

Recessiv: effekten av én genvariant blir overstyrt av effekten av en annen variant av det samme genet.

ROH, Runs of homozygosity: lange strekk av homozygote genotyper langs et kromosom som følge av innavl.

Sekvenseringsdybde: antall ganger en base er sekvensert, hvor mange avlesninger som ligger til grunn for rekonstruert DNA-sekvens.

Seleksjon, naturlig seleksjon: evolusjon som følge av at noen individer har egenskaper som gjør at de har større sannsynlighet for å danne avkom enn andre.

Sete, site: posisjon, base.

SNP: single nucleotide polymorphism, forskjellig base i en bestemt kromosomposisjon hos to individer.

Turnover: erstatning.

Y-kromosommikrosatelitter: mikrosatelitter som ligger på hannlige Y-kromosomer, og som dermed nedarves gjennom farslinje.

## 7 Litteraturliste

- Alexander, D.H., Novembre, J., Lange, K. (2009). Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Res.* 19, 1655–1664.
- Allendorf, F.W., Leary, R.F., Spruell, P., Wenburg, J.K. (2001). The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends Ecol. Evol.* 16, 613–622.
- Anderson, T.M., vonHoldt, B.M., Candille, S.I., Musiani, M., Greco, C., Stahler, D.R., Smith, D.W., Padhukasahasram, B., Randi, E., Leonard, J.A., et al. (2009). Molecular and evolutionary history of melanism in North American gray wolves. *Science* 323, 1339–1343.
- Armstrong, E.E., Taylor, R.W., Prost, S., Blinston, P., van der Meer, E., Madzikanda, H., Mufute, O., Mandisodza-Chikerema, R., Stuelpnagel, J., Sillero-Zubiri, C., et al. (2019). Cost-effective assembly of the African wild dog (*Lycaon pictus*) genome using linked reads. *Gigascience* 8, giy124.
- Aspi, J., Roininen, E., Ruokonen, M., Kojola, I., Vilà, C. (2006). Genetic diversity, population structure, effective population size and demographic history of the Finnish wolf population. *Mol. Ecol.* 15, 1561–1576.
- Auton, A., Rui Li, Y., Kidd, J., Oliveira, K., Nadel, J., Holloway, J.K., Hayward, J.J., Cohen, P.E., Grealley, J.M., Wang, J., et al. (2013). Genetic recombination is targeted towards gene promoter regions in dogs. *PLoS Genet.* 9, e1003984.
- Bergström, A., Frantz, L., Schmidt, R., Ersmark, E., Lebrasseur, O., Girdland-Flink, L., Lin, A.T., Storå, J., Sjögren, K.-G., Anthony, D., et al. (2020). Origins and genetic legacy of prehistoric dogs. *Science* 370, 557–564.
- Botigué, L.R., Song, S., Scheu, A., Gopalan, S., Pendleton, A.L., Oetjens, M., Taravella, A.M., Seregély, T., Zeeb-Lanz, A., Arbogast, R.-M., et al. (2017). Ancient European dog genomes reveal continuity since the Early Neolithic. *Nat. Commun.* 8, 16082.
- Caniglia, R., Fabbri, E., Galaverni, M., Milanesi, P., Randi, E. (2014). Noninvasive sampling and genetic variability, pack structure, and dynamics in an expanding wolf population. *J. Mammal.* 95, 41–59.
- Carøe, C., Gopalakrishnan, S., Vinner, L., Mak, S.S.T., Sinding, M.H.S., Samaniego, J.A., Wales, N., Sicheritz-Pontén, T., Gilbert, M.T.P. (2018). Single-tube library preparation for degraded DNA. *Methods Ecol. Evol.* 9, 410–419.
- Ceballos, F.C., Joshi, P.K., Clark, D.W., Ramsay, M., Wilson, J.F. (2018). Runs of homozygosity: windows into population history and trait architecture. *Nat. Rev. Genet.* 19, 220–234.
- Ceballos, F.C., Gürün, K., Altınışık, N.E., Gemici, H.C., Karamurat, C., Koptekin, D., Vural, K.B., Mapelli, I., Sağlıcan, E., Süreç, E., et al. (2021). Human inbreeding has decreased in time through the Holocene. *Curr. Biol.* 31, 3925–3934.
- Chang, C.C., Chow, C.C., Tellier, L.C., Vattikuti, S., Purcell, S.M., Lee, J.J. (2015). Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience* 4, 7.
- Charlesworth, D., and Willis, J.H. (2009). The genetics of inbreeding depression. *Nat. Rev. Genet.* 10, 783–796.
- Chavez, D.E., Gronau, I., Hains, T., Kliver, S., Koepfli, K.-P., Wayne, R.K. (2019). Comparative genomics provides new insights into the remarkable adaptations of the African wild dog (*Lycaon pictus*). *Sci. Rep.* 9, 8329.
- Dabney, J., Knapp, M., Glocke, I., Gansauge, M.-T., Weihmann, A., Nickel, B., Valdiosera, C., Garcia, N., Paabo, S., Arsuaga, J.-L., et al. (2013). Complete mitochondrial genome sequence of a Middle Pleistocene cave bear reconstructed from ultrashort DNA fragments. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110, 15758–15763.
- Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C.A., Banks, E., DePristo, M.A., Handsaker, R.E., Lunter, G., Marth, G.T., Sherry, S.T., et al. (2011). The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics* 27, 2156–2158.
- DePristo, M.A., Banks, E., Poplin, R., Garimella, K.V., Maguire, J.R., Hartl, C., Philippakis, A.A., del Angel, G., Rivas, M.A., Hanna, M., et al. (2011). A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nat. Genet.* 43, 491–498.

- Ellegren, H. (1999). Inbreeding and relatedness in Scandinavian grey wolves *Canis lupus*. *Hereditas* 130, 239–244.
- Ellegren, H., Savolainen, P., Rosén, B. (1996). The genetical history of an isolated population of the endangered grey wolf *Canis lupus*: a study of nuclear and mitochondrial polymorphisms. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 351, 1661–1669.
- Fabbri, E., Miquel, C., Lucchini, V., Santini, A., Caniglia, R., Duchamp, C., Weber, J.-M., Lequette, B., Marucco, F., Boitani, L., et al. (2007). From the Apennines to the Alps: colonization genetics of the naturally expanding Italian wolf (*Canis lupus*) population. *Mol. Ecol.* 16, 1661–1671.
- Fabbri, E., Caniglia, R., Kusak, J., Galov, A., Gomerčić, T., Arbanasić, H., Huber, D., Randi, E. (2014). Genetic structure of expanding wolf (*Canis lupus*) populations in Italy and Croatia, and the early steps of the recolonization of the Eastern Alps. *Mamm. Biol.* 79, 138–148.
- Fan, Z., Silva, P., Gronau, I., Wang, S., Armero, A.S., Schweizer, R.M., Ramirez, O., Pollinger, J., Galaverni, M., Del-Vecchio, D.O., et al. (2016). Worldwide patterns of genomic variation and admixture in gray wolves. *Genome Res.* 26, 163–173.
- Flagstad, Ø., Walker, C.W., Vilà, C., Sundqvist, A.-K., Fernholm, B., Hufthammer, A.K., Wiig, Ø., Koyola, I., Ellegren, H. (2003). Two centuries of the Scandinavian wolf population: patterns of genetic variability and migration during an era of dramatic decline. *Mol. Ecol.* 12, 869–880.
- Frankham, R. (2005). Stress and adaptation in conservation genetics. *J. Evol. Biol.* 18, 750–755.
- Frantz, L.A.F., Mullin, V.E., Pionnier-Capitan, M., Lebrasseur, O., Ollivier, M., Perri, A., Linderholm, A., Mattiangeli, V., Teasdale, M.D., Dimopoulos, E.A., et al. (2016). Genomic and archaeological evidence suggest a dual origin of domestic dogs. *Science* 352, 1228–1231.
- Fredrickson, R.J., Siminski, P., Woolf, M., Hedrick, P.W. (2007). Genetic rescue and inbreeding depression in Mexican wolves. *Proc. Biol. Sci.* 274, 2365–2371.
- Freedman, A.H., Wayne, R.K. (2017). Deciphering the origin of dogs: from fossils to genomes. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 5, 281–307.
- Freedman, A.H., Gronau, I., Schweizer, R.M., Ortega-Del Vecchyo, D., Han, E., Silva, P.M., Galaverni, M., Fan, Z., Marx, P., Lorente-Galdos, B., et al. (2014). Genome sequencing highlights the dynamic early history of dogs. *PLoS Genet.* 10, e1004016.
- Gómez-Sánchez, D., Olalde, I., Sastre, N., Enseñat, C., Carrasco, R., Marques-Bonet, T., Lalueza-Fox, C., Leonard, J.A., Vilà, C., Ramírez, O. (2018). On the path to extinction: Inbreeding and admixture in a declining grey wolf population. *Mol. Ecol.* 27, 3599–3612.
- Gopalakrishnan, S., Samaniego Castruita, J.A., Sinding, M.-H.S., Kuderna, L.F.K., Räikkönen, J., Petersen, B., Sicheritz-Ponten, T., Larson, G., Orlando, L., Marques-Bonet, T., et al. (2017). The wolf reference genome sequence (*Canis lupus lupus*) and its implications for *Canis* spp. population genomics. *BMC Genomics* 18, 495.
- Gopalakrishnan, S., Sinding, M.-H.S., Ramos-Madrugal, J., Niemann, J., Samaniego Castruita, J.A., Vieira, F.G., Carøe, C., Montero, M. de M., Kuderna, L., Serres, A., et al. (2018). Interspecific gene flow shaped the evolution of the genus *Canis*. *Curr. Biol.* 28, 3441–3449.
- Grewal, S.K., Wilson, P.J., Kung, T.K., Shami, K., Theberge, M.T., Theberge, J.B., White, B.N. (2004). A genetic assessment of the Eastern wolf (*Canis lycaon*) in Algonquin Provincial Park. *J. Mammal.* 85, 625–632.
- Haak, W., Lazaridis, I., Patterson, N., Rohland, N., Mallick, S., Llamas, B., Brandt, G., Nordenfelt, S., Harney, E., Stewardson, K., et al. (2015). Massive migration from the steppe was a source for Indo-European languages in Europe. *Nature* 522, 207–211.
- Hagenblad, J., Olsson, M., Parker, H.G., Ostrander, E.A., Ellegren, H. (2009). Population genomics of the inbred Scandinavian wolf. *Mol. Ecol.* 18, 1341–1351.
- Hailer, F., Leonard, J.A. (2008). Hybridization among three native North American *Canis* species in a region of natural sympatry. *PLoS One* 3, e3333.
- Harney, É., Patterson, N., Reich, D., and Wakeley, J. (2021). Assessing the performance of qpAdm: a statistical tool for studying population admixture. *Genetics* 217, iyaa045.
- Hedrick, P.W., Garcia-Dorado, A. (2016). Understanding inbreeding depression, purging, and genetic rescue. *Trends Ecol. Evol.* 31, 940–952.

- Hedrick, P.W., Peterson, R.O., Vucetich, L.M., Adams, J.R., Vucetich, J.A. (2014). Genetic rescue in Isle Royale wolves: genetic analysis and the collapse of the population. *Conserv. Genet.* 15, 1111–1121.
- Hindrikson, M., Remm, J., Männil, P., Ozolins, J., Tammela, E., Saarma, U. (2013). Spatial genetic analyses reveal cryptic population structure and migration patterns in a continuously harvested grey wolf (*Canis lupus*) population in north-eastern Europe. *PLoS One* 8, e75765.
- Hindrikson, M., Remm, J., Pilot, M., Godinho, R., Stronen, A.V., Baltrūnaitė, L., Czarnomska, S.D., Leonard, J.A., Randi, E., Nowak, C., et al. (2017). Wolf population genetics in Europe: a systematic review, meta-analysis and suggestions for conservation and management. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 92, 1601–1629.
- Hoepfner, M.P., Lundquist, A., Pirun, M., Meadows, J.R.S., Zamani, N., Johnson, J., Sundström, G., Cook, A., FitzGerald, M.G., Swofford, R., et al. (2014). An improved canine genome and a comprehensive catalogue of coding genes and non-coding transcripts. *PLoS One* 9, e91172.
- Jackiw, R.N., Mandil, G., Hager, H.A. (2015). A framework to guide the conservation of species hybrids based on ethical and ecological considerations. *Conserv. Biol.* 29, 1040–1051.
- Jędrzejewski, W., Branicki, W., Veit, C., MeĐugorac, I., Pilot, M., Bunevich, A.N., Jędrzejewska, B., Schmidt, K., Theuerkauf, J., Okarma, H., et al. (2005). Genetic diversity and relatedness within packs in an intensely hunted population of wolves *Canis lupus*. *Acta Theriol.* 50, 3–22.
- Kapp, J.D., Green, R.E., Shapiro, B. (2021). A fast and efficient single-stranded genomic library preparation method optimized for ancient DNA. *J. Hered.* 112, 241–249.
- Kardos, M., Åkesson, M., Fountain, T., Flagstad, Ø., Liberg, O., Olason, P., Sand, H., Wabakken, P., Wikenros, C., Ellegren, H. (2018). Genomic consequences of intensive inbreeding in an isolated wolf population. *Nat Ecol Evol* 2, 124–131.
- Larsson, H.-O. (1988). *The wolf* (Stockholm: Bokförlaget Natur och Kultur).
- Liberg, O., Andrén, H., Pedersen, H.-C., Sand, H., Sejberg, D., Wabakken, P., Kesson, M., Bensch, S. (2005). Severe inbreeding depression in a wild wolf (*Canis lupus*) population. *Biol. Lett.* 1, 17–20.
- Lindblad-Toh, K., Wade, C.M., Mikkelsen, T.S., Karlsson, E.K., Jaffe, D.B., Kamal, M., Clamp, M., Chang, J.L., Kulbokas, E.J., Zody, M.C., et al. (2005). Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature* 438, 803–819.
- Linnell, J.D.C., Brøseth, H., Solberg, E.J., Brainerd, S.M. (2005). The origins of the southern Scandinavian wolf *Canis lupus* population: potential for natural immigration in relation to dispersal distances, geography and Baltic ice. *Wbio* 11, 383–391.
- Liu, Y.-H., Wang, L., Xu, T., Guo, X., Li, Y., Yin, T.-T., Yang, H.-C., Hu, Y., Adeola, A.C., Sanke, O.J., et al. (2018). Whole-genome sequencing of African dogs provides insights into adaptations against tropical parasites. *Mol. Biol. Evol.* 35, 287–298.
- Mak, S.S.T., Gopalakrishnan, S., Carøe, C., Geng, C., Liu, S., Sinding, M.-H.S., Kuderna, L.F.K., Zhang, W., Fu, S., Vieira, F.G., et al. (2017). Comparative performance of the BGISEQ-500 vs Illumina HiSeq2500 sequencing platforms for palaeogenomic sequencing. *Gigascience* 6, 1–13.
- Manichaikul, A., Mychaleckyj, J.C., Rich, S.S., Daly, K., Sale, M., Chen, W.-M. (2010). Robust relationship inference in genome-wide association studies. *Bioinformatics* 26, 2867–2873.
- Marchini, J., Howie, B. (2010). Genotype imputation for genome-wide association studies. *Nat. Rev. Genet.* 11, 499–511.
- Mech, L.D. (1995). The challenge and opportunity of recovering wolf populations. *Conserv. Biol.* 9, 270–278.
- Meyer, M., Kircher, M. (2010). Illumina Sequencing Library Preparation for Highly Multiplexed Target Capture and Sequencing. *Cold Spring Harb. Protoc.* 2010, db.prot5448.
- Patterson, N., Price, A.L., Reich, D. (2006). Population structure and eigenanalysis. *PLoS Genet.* 2, e190.
- Patterson, N., Moorjani, P., Luo, Y., Mallick, S., Rohland, N., Zhan, Y., Genschoreck, T., Webster, T., Reich, D. (2012). Ancient admixture in human history. *Genetics* 192, 1065–1093.
- Perri, A.R., Mitchell, K.J., Mouton, A., Álvarez-Carretero, S., Hulme-Beaman, A., Haile, J., Jamieson, A., Meachen, J., Lin, A.T., Schubert, B.W., et al. (2021). Dire wolves were the last of an ancient New World canid lineage. *Nature* 591, 87–91.
- Peterson, R.O., Vucetich, J.A., Bump, J.M., Smith, D.W. (2014). Trophic cascades in a multicausal world: Isle Royale and Yellowstone. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 45, 325–345.

- Phung, T.N., Wayne, R.K., Wilson, M.A., Lohmueller, K.E. (2019). Complex patterns of sex-biased demography in canines. *Proc. Biol. Sci.* 286, 20181976.
- Pilot, M., Greco, C., vonHoldt, B.M., Jędrzejewska, B., Randi, E., Jędrzejewski, W., Sidorovich, V.E., Ostrander, E.A., Wayne, R.K. (2014). Genome-wide signatures of population bottlenecks and diversifying selection in European wolves. *Heredity* 112, 428–442.
- Pilot, M., Greco, C., vonHoldt, B.M., Randi, E., Jędrzejewski, W., Sidorovich, V.E., Konopiński, M.K., Ostrander, E.A., Wayne, R.K. (2018). Widespread, long-term admixture between grey wolves and domestic dogs across Eurasia and its implications for the conservation status of hybrids. *Evol. Appl.* 11, 662–680.
- Plassais, J., Kim, J., Davis, B.W., Karyadi, D.M., Hogan, A.N., Harris, A.C., Decker, B., Parker, H.G., Ostrander, E.A. (2019). Whole genome sequencing of canids reveals genomic regions under selection and variants influencing morphology. *Nat. Commun.* 10, 1489.
- Price, A.L., Patterson, N.J., Plenge, R.M., Weinblatt, M.E., Shadick, N.A., Reich, D. (2006). Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat. Genet.* 38, 904–909.
- Räikkönen, J., Bignert, A., Mortensen, P., Fernholm, B. (2006). Congenital defects in a highly inbred wild wolf population (*Canis lupus*). *Mamm. Biol.* 71, 65–73.
- Ramos-Madrugal, J., Sinding, M.-H.S., Carøe, C., Mak, S.S.T., Niemann, J., Samaniego Castruita, J.A., Fedorov, S., Kandyba, A., Germonpré, M., Bocherens, H., et al. (2021). Genomes of Pleistocene Siberian wolves uncover multiple extinct wolf lineages. *Curr. Biol.* 31, 198–206.
- Reich, D., Patterson, N., Campbell, D., Tandon, A., Mazieres, S., Ray, N., Parra, M.V., Rojas, W., Duque, C., Mesa, N., et al. (2012). Reconstructing Native American population history. *Nature* 488, 370–374.
- Ripple, W.J., Estes, J.A., Beschta, R.L., Wilmers, C.C., Ritchie, E.G., Hebblewhite, M., Berger, J., Elmhagen, B., Letnic, M., Nelson, M.P., et al. (2014). Status and ecological effects of the world's largest carnivores. *Science* 343, 1241484.
- Robinson, J.A., Räikkönen, J., Vucetich, L.M., Vucetich, J.A., Peterson, R.O., Lohmueller, K.E., Wayne, R.K. (2019). Genomic signatures of extensive inbreeding in Isle Royale wolves, a population on the threshold of extinction. *Sci Adv* 5, eaau0757.
- Rubinacci, S., Ribeiro, D.M., Hofmeister, R.J., Delaneau, O. (2021). Efficient phasing and imputation of low-coverage sequencing data using large reference panels. *Nat. Genet.* 53, 120–126.
- Sastre, N., Vilà, C., Salinas, M., Bologov, V.V., Urios, V., Sánchez, A., Francino, O., Ramírez, O. (2011). Signatures of demographic bottlenecks in European wolf populations. *Conserv. Genet.* 12, 701–712.
- Schubert, M., Ermini, L., Der Sarkissian, C., Jónsson, H., Ginolhac, A., Schaefer, R., Martin, M.D., Fernández, R., Kircher, M., McCue, M., et al. (2014). Characterization of ancient and modern genomes by SNP detection and phylogenomic and metagenomic analysis using PALEOMIX. *Nat. Protoc.* 9, 1056–1082.
- Schweizer, R.M., vonHoldt, B.M., Harrigan, R., Knowles, J.C., Musiani, M., Coltman, D., Novembre, J., Wayne, R.K. (2016). Genetic subdivision and candidate genes under selection in North American grey wolves. *Mol. Ecol.* 25, 380–402.
- Schweizer, R.M., Durvasula, A., Smith, J., Vohr, S.H., Stahler, D.R., Galaverni, M., Thalmann, O., Smith, D.W., Randi, E., Ostrander, E.A., et al. (2018). Natural selection and origin of a melanistic allele in North American gray wolves. *Mol. Biol. Evol.* 35, 1190–1209.
- Seddon, J.M., Parker, H.G., Ostrander, E.A., Ellegren, H. (2005). SNPs in ecological and conservation studies: a test in the Scandinavian wolf population. *Mol. Ecol.* 14, 503–511.
- Seddon, J.M., Sundqvist, A.-K., Björnerfeldt, S., Ellegren, H. (2006). Genetic identification of immigrants to the Scandinavian wolf population. *Conserv. Genet.* 7, 225–230.
- Sinding, M.-H.S., Gopalakrishnan, S., Vieira, F.G., Samaniego Castruita, J.A., Raundrup, K., Heide Jørgensen, M.P., Meldgaard, M., Petersen, B., Sicheritz-Ponten, T., Mikkelsen, J.B., et al. (2018). Population genomics of grey wolves and wolf-like canids in North America. *PLoS Genet.* 14, e1007745.
- Sinding, M.-H.S., Gopalakrishnan, S., Ramos-Madrugal, J., de Manuel, M., Pitulko, V.V., Kuderna, L., Feuerborn, T.R., Frantz, L.A.F., Vieira, F.G., Niemann, J., et al. (2020). Arctic-adapted dogs emerged at the Pleistocene–Holocene transition. *Science* 368, 1495–1499.
- Skoglund, P., Ersmark, E., Palkopoulou, E., Dalén, L. (2015). Ancient wolf genome reveals an early divergence of domestic dog ancestors and admixture into high-latitude breeds. *Curr. Biol.* 25, 1515–1519.

- Smeds, L., Aspi, J., Berglund, J., Kojola, I., Tirronen, K., Ellegren, H. (2021). Whole-genome analyses provide no evidence for dog introgression in Fennoscandian wolf populations. *Evol. Appl.* 14, 721–734.
- Sundqvist, A.K., Ellegren, H., Olivier, M., Vilà, C. (2001). Y chromosome haplotyping in Scandinavian wolves (*Canis lupus*) based on microsatellite markers. *Mol. Ecol.* 10, 1959–1966.
- Svensson, L., Wabakken, P., Maartmann, E., Cardoso Palacios, C., Flagstad, Ø., Åkesson, M. (2021). Inventering av varg vintern 2020-2021. Bestandsovervåking av ulv vinteren 2020-2021. 1-2021. 55 s.
- Vilà, C., Walker, C., Sundqvist, A.-K., Flagstad, Ø., Andersone, Z., Casulli, A., Kojola, I., Valdmann, H., Halverson, J., Ellegren, H. (2003a). Combined use of maternal, paternal and bi-parental genetic markers for the identification of wolf–dog hybrids. *Heredity* 90, 17–24.
- Vilà, C., Sundqvist, A.-K., Flagstad, Ø., Seddon, J., Björnerfeldt, S., Kojola, I., Casulli, A., Sand, H., Wabakken, P., Ellegren, H. (2003b). Rescue of a severely bottlenecked wolf (*Canis lupus*) population by a single immigrant. *Proc. Biol. Sci.* 270, 91–97.
- vonHoldt, B.M., Cahill, J.A., Fan, Z., Gronau, I., Robinson, J., Pollinger, J.P., Shapiro, B., Wall, J., Wayne, R.K. (2016). Whole-genome sequence analysis shows that two endemic species of North American wolf are admixtures of the coyote and gray wolf. *Sci Adv* 2, e1501714.
- Wabakken, P., Sand, H., Liberg, O., Bjärvall, A. (2001). The recovery, distribution, and population dynamics of wolves on the Scandinavian peninsula, 1978-1998. *Can. J. Zool.* 79, 710–725.
- Wang, G.-D., Zhai, W., Yang, H.-C., Fan, R.-X., Cao, X., Zhong, L., Wang, L., Liu, F., Wu, H., Cheng, L.-G., et al. (2013). The genomics of selection in dogs and the parallel evolution between dogs and humans. *Nat. Commun.* 4, 1860.
- Wang, G.-D., Zhai, W., Yang, H.-C., Wang, L., Zhong, L., Liu, Y.-H., Fan, R.-X., Yin, T.-T., Zhu, C.-L., Poyarkov, A.D., et al. (2015). Out of southern East Asia: the natural history of domestic dogs across the world. *Cell Res.* 26, 21–33.
- Wang, M.-S., Wang, S., Li, Y., Jhala, Y., Thakur, M., Otecko, N.O., Si, J.-F., Chen, H.-M., Shapiro, B., Nielsen, R., et al. (2020). Ancient hybridization with an unknown population facilitated high-altitude adaptation of canids. *Mol. Biol. Evol.* 37, 2616–2629.
- Watterson, G.A. (1975). On the number of segregating sites in genetical models without recombination. *Theor. Popul. Biol.* 7, 256–276.
- Wiedmer, M., Oevermann, A., Borer-Germann, S.E., Gorgas, D., Shelton, G.D., Drögemüller, M., Jagannathan, V., Henke, D., Leeb, T. (2016). A RAB3GAP1 SINE insertion in Alaskan huskies with polyneuropathy, ocular abnormalities, and neuronal vacuolation (POANV) resembling human Warburg micro syndrome 1 (WARBM1). *G3: Genes, Genomes, Genetics* 6, 255–262.
- Yi, X., Liang, Y., Huerta-Sanchez, E., Jin, X., Cuo, Z.X.P., Pool, J.E., Xu, X., Jiang, H., Vinckenbosch, N., Korneliussen, T.S., et al. (2010). Sequencing of 50 human exomes reveals adaptation to high altitude. *Science* 329, 75–78.
- Zhang, W., Fan, Z., Han, E., Hou, R., Zhang, L., Galaverni, M., Huang, J., Liu, H., Silva, P., Li, P., et al. (2014). Hypoxia adaptations in the grey wolf (*Canis lupus chanco*) from Qinghai-Tibet Plateau. *PLoS Genet.* 10, e1004466.
- Åkesson, M., Liberg, O., Sand, H., Wabakken, P., Bensch, S., Flagstad, Ø. (2016). Genetic rescue in a severely inbred wolf population. *Mol. Ecol.* 25, 4745–4756.







**NTNU Vitenskapsmuseet** er en enhet ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet, NTNU.

NTNU Vitenskapsmuseet skal utvikle og formidle kunnskap om natur og kultur, samt sikre, bevare og gjøre de vitenskapelige samlingene tilgjengelige for forskning, forvaltning og formidling.

Institutt for naturhistorie driver forskning innenfor biogeografi, biosystematikk og økologi med vekt på bevaringsbiologi. Instituttet påtar seg forsknings- og utredningsoppgaver innen miljøproblematikk for ulike offentlige myndigheter innen stat, fylker, fylkeskommuner, kommuner og fra private bedrifter. Dette kan være forskningsoppgaver innen våre fagfelt, konsekvensutredninger ved planlagte naturinngrep, for- og etterundersøkelser ved naturinngrep, fauna- og florakartlegging, biologisk overvåking og oppgaver innen biologisk mangfold.

ISBN 978-82-8322-299-9  
ISSN 1894-0056

© NTNU Vitenskapsmuseet  
Publikasjonen kan siteres fritt med kildeangivelse

[www.ntnu.no/museum](http://www.ntnu.no/museum)