

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Ekologická a evoluční biologie



Lenka Veselovská

Fylogeografia a adaptívna evolúcia vlka dravého

Phylogeography and adaptive evolution of the grey wolf

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. Pavel Hulva Ph.D.

Praha, 2019

Prehlásenie

Prehlasujem, že som bakalársku prácu *Fylogeografia a adaptívna evolúcia vlka dravého* vypracovala samostatne s použitím uvedenej odbornej literatúry. Táto práca ani jej podstatná časť nebola predložená k získaniu iného alebo rovnakého akademického titulu.

V Prahe 16.8.2019

.....

Lenka Veselovská

Pod'akovanie

Na tomto mieste by som sa chcela v prvom rade poďakovať školiteľovi mojej bakalárskej práce, doc. RNDr. Pavlovi Hulvovi, Ph.D., za jeho užitočné konzultácie a rady, obetavý prístup a za čas, ktorý mi venoval. Ďalej chcem poďakovať mojej rodine za trpezlivosť a podporu. V neposlednom rade ďakujem priateľom za vecné postrehy, dôležité pripomienky ohľadom tejto práce a nezištnú pomoc.

Abstrakt

Vlk dravý je vysoko mobilný vrcholový predátor, kľúčový a dáždnikový druh v rámci ekosystémov po celom holarktickom areáli. Výskyt jeho populácií je ovplyvňovaný glaciálnou históriou, environmentálnymi podmienkami a ľudskou činnosťou. V súčasnej dobe sa vlci vracajú do človekom pozmenenej krajiny, kde boli vyhubení a prispôsobujú sa na život v nej. Ľudia sa veľkou časťou pričínili o jeho vyhynutie v mnohých oblastiach po svete, čo malo za následok pokles genetickej diverzity. Vďaka rôznym životným podmienkam vzniklo mnoho odlišných línií, ktoré sa dajú rozlíšiť na základe morfológických a hlavne genetických analýz. Klimatické podmienky môžu podmieniť vznik ekotypov, ktoré sa stanú dedičné a geneticky odlišiteľné. Cieľom práce je poskytnúť ucelený prehľad o fylogeografii a adaptívnej evolúcii vlka dravého v kontexte kombinácie genetických, geografických a morfológických dát.

Kľúčové slová: vlk dravý, *Canis lupus*, fylogeografia, ekotypy, adaptívna evolúcia

Abstract

Grey wolf is a highly mobile top predator, a keystone and umbrella species within ecosystems throughout the Holarctic area. The occurrence of wolves' populations is influenced by glacial history, environmental conditions and human activity. Nowadays, wolves are returning to a man-altered country where they were exterminated, and they are adapting to human dominated landscape. People have largely contributed to its extinction in many areas around the world, resulting in a decline in genetic diversity. Due to different demographic and environmental conditions, many different lineages have evolved, which can be distinguished based on morphological and genetic analyses. Climatic factors can result in the formation of ecotypes, which become heritable and genetically distinguishable. The aim of this thesis is to provide a comprehensive overview of the phylogeography and adaptive evolution of the grey wolf in the context of genetic, geographical and morphological combination data.

Keywords: grey wolf, *Canis lupus*, phylogeography, ecotypes, adaptive evolution

Obsah

Úvod.....	1
1. Charakteristika a rozšírenie vlka dravého.....	2
2. Fylogénéza.....	3
3. Evolučná história rozšírenia vlka dravého.....	5
4. Fylogeografia.....	6
4.1. Severná Amerika.....	10
4.2. Eurázia.....	11
5. Adaptívna evolúcia.....	14
Záver.....	18
Bibliografia.....	19

Úvod

Vlk dravý (*Canis lupus* Linnaeus, 1758) patrí medzi najväčších zástupcov čeľade *Canidae* a je jeden z najznámejších živočíchov na Zemi. Tento mimoriadne adaptabilný druh, obývajúci minimálne 330 000 rokov severnú pologuľu, sa postupom času rozšíril najskôr paleartickým areálom od Eurázie až po ten neartický v Severnej Amerike a Grónsku. Vďaka jeho vysokej mobilite ho dnes nájdeme po celom holarktickom území od severných oblastí Sibíri a Aljašky, po južné časti Indie, Číny a severu Mexika.

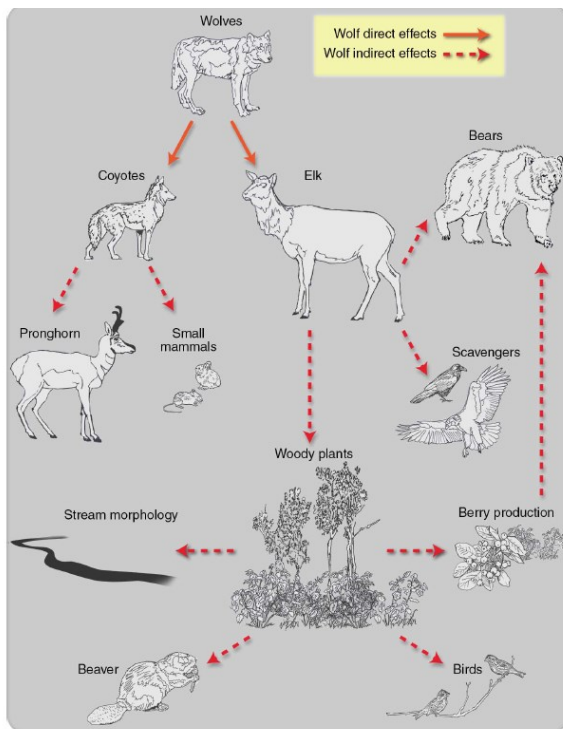
Toto obrovské rozšírenie umožnilo vznik rôznych ekotypov a populácií, ktoré sú geneticky a morfológicky odlišiteľné. V priebehu svojej evolúcie sa prispôbil na mnoho odlišných biotopov od arktickej tundry cez boreálne lesy po prérie a polopúšte. Je nenahraditeľným predátorom v ekosystémoch, kde sa vyskytuje a opäť sa stáva ekologickým faktorom aj v našej prírode. Kvôli jeho nenahraditeľnej funkcii v prírode sa v poslednej dobe stal dáždnikovým druhom a jeho ochrane je pripisovaný veľký význam.

Poznatky o populačnej biológii vysoko mobilných cicavcov v poslednej dobe pribúdajú zásluhou technologického a paradigmatického posunu v rade genetických aj ekologických odborov. Vďaka znalostiam z oblasti krajinnej genetiky a genomiky, sa dá skúmať okrem neutrálnej mikroevoúcie aj adaptívny vývoj v odlišných ekosystémoch. Na základe genetických dát sa jednotlivé populácie dajú od seba rozlíšiť aj v prípade ich geografického prekryvania sa. Výsledky týchto výskumov tvoria nenahraditeľné dáta pri rekonštrukcii migrácie a disperzie tohto druhu ako v minulosti, tak v súčasnosti a umožňujú nám monitorovať nielen populácie ako celok, ale tiež jednotlivcov.

Cieľom tejto práce je zhrnúť doterajšie poznatky o fylogeografii a adaptívnej evolúcii vlka dravého. Práca poskytuje prehľad geografických areálov rozšírenia vlka vo vzťahu k odlišným genetickým líniam, podáva ucelené informácie o rôznych ekotypoch a ich adaptáciách na environmentálne podmienky a genetickým zmenám v týchto areáloch. Táto bakalárska práca slúži ako literárna rešerš a príprava pre diplomovú prácu. Dôraz je preto kladený na areály v strednej Európe.

1. Charakteristika a rozšírenie vlka dravého

Vlk dravý, generalista a adaptabilný vrcholový predátor (obrázok č. 1) so širokým súvislým prírodným rozšírením tiahnúcim sa od palearktického areálu po nearktický. V Európe je to náš najrozšírenejší veľký mäsožravec (Randi 2011). Väčšinou sa vyhýba len močiarom a dažďovým lesom (Geffen, Anderson, and Wayne 2004), no inak obýva najrôznejšie stanovišťa ako sú arktické tundry, lesy a tajgy, stepi, prérie a polopúšte. Ako píše Hell, Slamečka, & Gašparík (2001) jeho južná hranica rozšírenia je India a čo sa týka osídľovania vysokých hôr, žije aj v nadmorskej výške 5500 metrov nad morom (v oblasti ako Kaukaz, Altaj a Pamír) (obrázok č. 2). Preferuje však ploché a zalesnené areály, krovia, prípadne areály špecifikované lovenou korisťou.

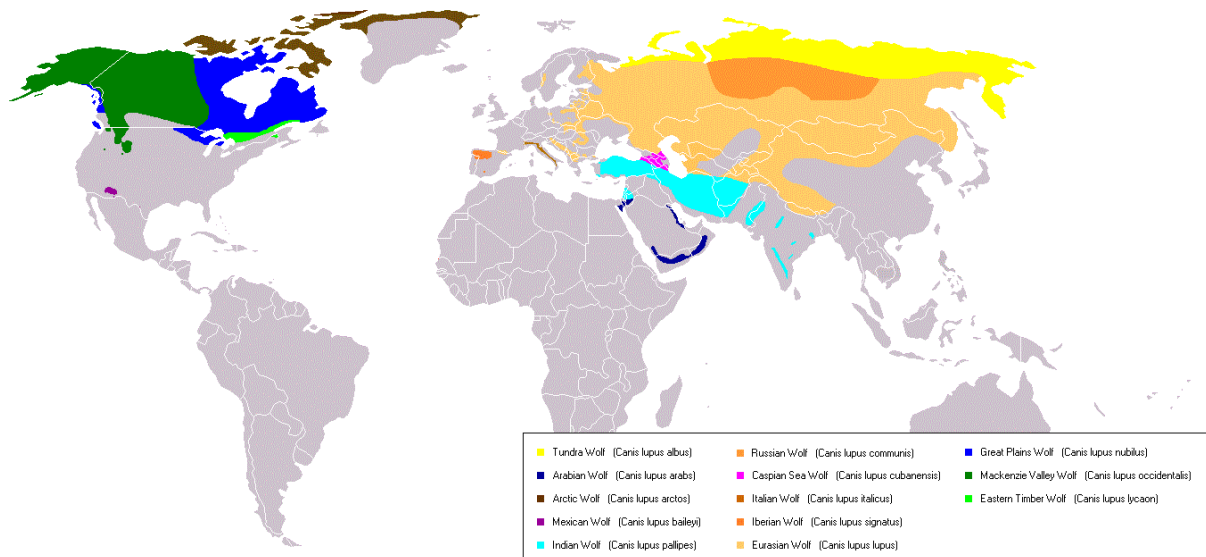


Obrázok 1 Vlk dravý ako vrcholový predátor s dôležitým vplyvom top-down efektu na biodiverzitu (Ripple et al., 2014).

Medzi faktory ovplyvňujúce obývanie rôznych biotopov patrí rozdielna korisť, dostupnosť vody a útočísk, konkurencia, ľudský tlak a iné. A práve tieto environmentálne činitele môžu ovplyvňovať genetickú štruktúru druhu (Leonard 2014; Swenson et al. 2019). Okrem toho má vlk veľkú disperznú schopnosť a jednotlivci dokážu prejsť tisíce kilometrov (Fritts 1983), čo potvrdzujú aj rôzne fylogenetické štúdie, napríklad Ersmark et al. (2016, obrázok č. 7), kde sú si geneticky blízki vlci z rôznych kontinentov.

Najväčší areál vlka dravého bol po poslednej dobe ľadovej pred 11 500 rokmi a odvtedy sa aj kvôli ekologickým zmenám v krajine, no najmä nárastu ľudskej populácie zmenšoval. K tomu

prispel najmä reliéf krajiny, rozmiestnenie habitatov a legislatíva ochrany a lovu. V posledných storočiach je početnosť vlkov veľmi ovplyvnená ľudskou činnosťou a politickou situáciou v daných krajinách. Vlk je veľký oportunista, no preferuje voľne žijúce zvieratá ako sú kopytníky a malé cicavce. Keď má však nedostatok potravy vo voľnej prírode, zameriava sa na hospodárske zvieratá, čím sa zvyšujú nelegálne odstrelky a niekedy až jeho úplné vyhubenie na určitých územiach (Hell et al. 2001). K zotaveniu populácií za posledné desaťročia prispela



Obrázok 2 Holarktické rozšírenie poddruhov *Canis lupus* (commons.wiki.org)

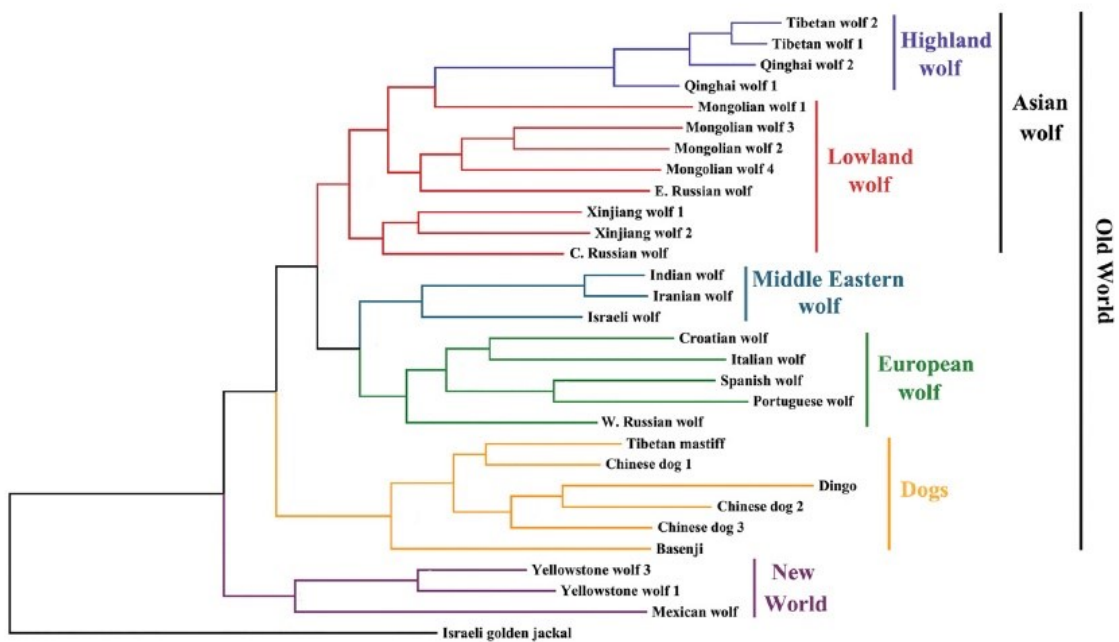
okrem environmentálnych zmien tiež zvýšená právna ochrana, rôzne programy na obnovu populácií a prirodzenej rekolonizácii. Vďaka tomuto sa podarilo zvýšiť vlčie populácie v rôznych častiach Európy, na juhozápade Severnej Ameriky či priamo v rezerváciách ako sú Rocky Mountains a Great Lakes v Severnej Amerike (Ripple et al., 2014).

2. Fylogénéza

Vlk dravý patrí do čeľade *Canidae*. Ako predchodcovia dnešných psových šeliem sa považuje vyhynutá čeľaď *Miacidae*, ktorá sa vyvinula približne pred 50 miliónmi rokov v Severnej Amerike. 8 miliónov rokov dozadu (dva milióny rokov po vzniku podčeľade *Canine*), boli schopní prejsť do Eurázie cez Beringov prielav a tým sa začala veľká radiácia moderných šeliem „Starého sveta“ (Wang et al., 2004).

Na rozhraní Pliocénu a Pleistocénu (2,588 miliónov rokov dozadu) sa spustila veľká disperzná a difúzna vlna pre terestrické cicavce kvôli následkom zmien vegetácie a posunom biómov,

spôsobených klimatickými cyklami (Sardella and Palombo 2007). Toto obdobie bolo pomenované Azzarolinom (1983) ako „Wolf Event“ alebo „vlčia udalosť“, definovaná



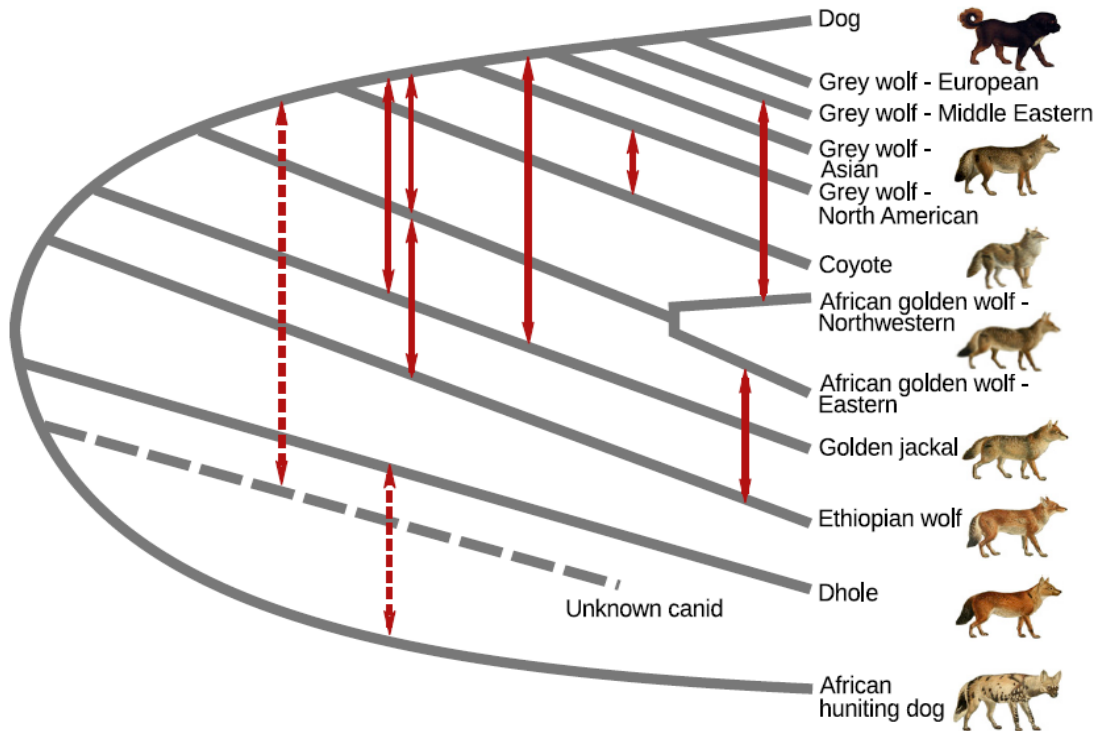
Obrázok 3 Upravený fylogenetický strom na zobrazenie jednotlivých poddruhov vlka s geografickým začlenením (Fan et al. 2016).

príchodom prvých predstaviteľov rodu *Canis* do západnej Európy.

Postupom času sa distribuovali po celom svete a s pomocou človeka sa dostali aj na Austrálsky kontinent. 300 000 rokov dozadu vznikol v Eurázii vlk dravý (*Canis lupus*) (Tedford, Wang, and Taylor 2009). Na obrázku č. 3 môžeme vidieť fylogézu s popísanými druhmi podľa geografických areálov. Jedna z prvých štúdií (Wayne 1993) fylogény čelade *Canidae*, kde boli použité molekulárne genetické prístupy na zobrazenie evolučných a príbuzenských vzťahov, hovorí o morfologickej rozmanitosti vlka, ktorá priamo koreluje s diverzitou biotopov a zároveň ich potravou. Čo komplikuje zachovanie genetickej diverzity divokých šeliem, je okrem hybridizácie najmä fragmentácia ich biotopov. Genetické rozdiely tohto druhu pripísal vo svojej predchádzajúcej práci skôr fragmentácii biotopov než dlhej genetickej izolácii. Genetické rozdiely sú však malé (Wayne et al. 1992).

Platí, že čím väčšia geografická vzdialenosť, tým silnejší je genetický odklon. Avšak rozsiahla fylogenetická analýza mitochondriálneho cytochrómu b (Wayne 1993) ukázala príbuzenské genotypy vlkov a šakalov z areálov natoľko vzdialených ako je Kalifornia a Florida. Týmto sa spochybnili desiatky popísaných poddruhov, ale zároveň sa posilnila homogenizácia genetických variácií vďaka génovému toku.

O zaujímavej alternatívnej fylogénéze (obrázok č.4) vyšla minulý rok štúdia (Gopalakrishnan et al. 2018), ktorá predpokladá, že predok vlka dravého (medzi iným aj kojota) ma spoločný genetický materiál z neznámeho druhu z bazálnej línie. Zdôrazňuje dôležitosť vnútrodruhového génového toku a hybridizácie, bez ktorých by niektoré formy ani nevznikli (napríklad šakal africký).

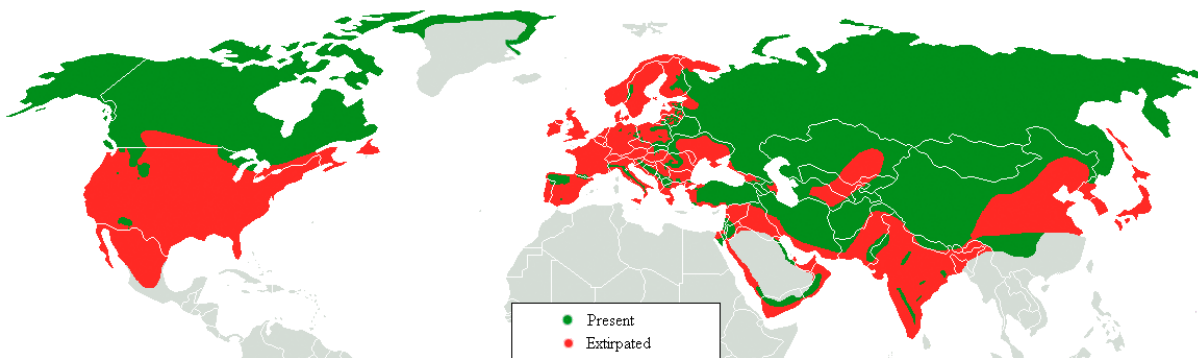


Obrázok 4 Fylogenetický strom, s neznámym predkom zobrazujúci rody *Canis* a génové toky medzi nimi (Gopalakrishnan et al. 2018).

3. Evolučná história rozšírenia vlka dravého

Od poslednej doby ľadovej sa svetový areál vlka dravého len zmenšoval a to najmä kvôli ekologickým zmenám v krajine, ale aj nárastu ľudskej populácie. No aj napriek tomu je to jediný voľne žijúci suchozemský cicavec s tak veľkým historickým a geografickým rozšírením, ako môžeme vidieť na obrázku č. 5 (Geffen et al. 2004). Za posledných 11 000 rokov sa vlk dravý dostal na pozíciu vrcholového predátora v rámci ekosystémov celého holarktického areálu (Geffen et al., 2004; Wang et al., 2004).

Odhadovaný vek (Vilà et al. 1999) pre všetky známe línie vlkov je 290 000 rokov dozadu, pričom sa ale väčšina haplotypov rozpadla pred posledným zaľadnením. Potenciálne sa teda dnešný stav genetickej variability vlkov sformoval práve počas, prípadne po pleistocénnom zaľadnení (Pilot et al. 2006), ktoré sa skončilo 11 800 rokov dozadu. Na obrázku č. 6 môžeme vidieť fylogénu severoamerických pleistocénnych vlkov a tých súčasných z celého sveta. Bazálne vetvy sú tvorené modernými vlkami z Eurázie a pleistocénnych z Beringie. Od nich sa potom odvodzujú moderní vlci Eurázie a Severnej Ameriky. Na zlome Pleistocénu a Holocénu nastal významný obrat. Kým dovtedy boli v Severnej Amerike rozmiestnené obe haploskupiny (Pilot et al. 2010), dnes tam nájdeme monofyletickú haploskupinu I, ktorou bola nahradená haploskupina II. V Eurázii sa stále vyskytujú obe (Ersmark et al. 2016; Leonard et al. 2007).



Obrázok 5 Geografické zobrazenie miest, kde bol vlk dravý v minulosti vyhubený (červené územia) a kde ho nájdeme aj dnes (zelené územia) (commons.wikimedia.org)

4. Fylogeografia

Fylogeografia sa zaoberá evolučnou príbuznosťou a zasadením do geografického kontextu. Skúma genetické vzťahy medzi populáciami a ich históriu v rámci geografického rozšírenia. V úplnej väčšine sa na takéto štúdiu využíva mitochondriálna DNA ako marker, kde sa sledujú konkrétne kombinácie alel určitej sekvencie. Táto jedinečná kombinácia, ktorá sa potom spoločne prenáša sa označuje ako haplotyp. Pomocou tohto môžeme skúmať druhovú variabilitu alebo maternálne línie.

Má sa za to, že krajina má výrazný vplyv na genetické štruktúry populácií, na druhy špecializované na určité biotopy, prípadne biotopy ťažko prechodné pre druhy s nízkou mobilitou. Naopak sa neočakával vplyv krajiny pre druh, ktorý je kozmopolitne rozšírený a má tak vysokú mobilitu ako vlk dravý, čím si vyslúžil rolu modelového organizmu pre takéto štúdiu (Geffen et al. 2004). Skoro polovica (43%) odlišností v genetických štruktúrach korelovala s typom vegetácie a teplotou (Pilot et al. 2006).

Pri štúdiu závislosti genetiky na prostredí, musíme zobrať do úvahy rôzne geografické a klimatické aspekty. Čo sa týka charakteristík areálu skúmaného druhu, podľa Geffena et al. (2004, podľa tabuľky 1 na strane 2483) majú význam najmä tieto environmentálne premenné:

1. *Zemepisná šírka a výška*

2. *Teplota*

- priemerné teploty, maximá a minimá

3. *Zrážky*

4. *Typ biotopu*

- otvorený, zatvorený

5. *Ostrovne bariéry*

6. *Klíma*

- Napríklad: studená morská, extrémne teplá kontinentálna, prechodná teplá, kontinentálna teplá, subarktická polárna, kontinentálna studená, extrémne studená kontinentálna klíma

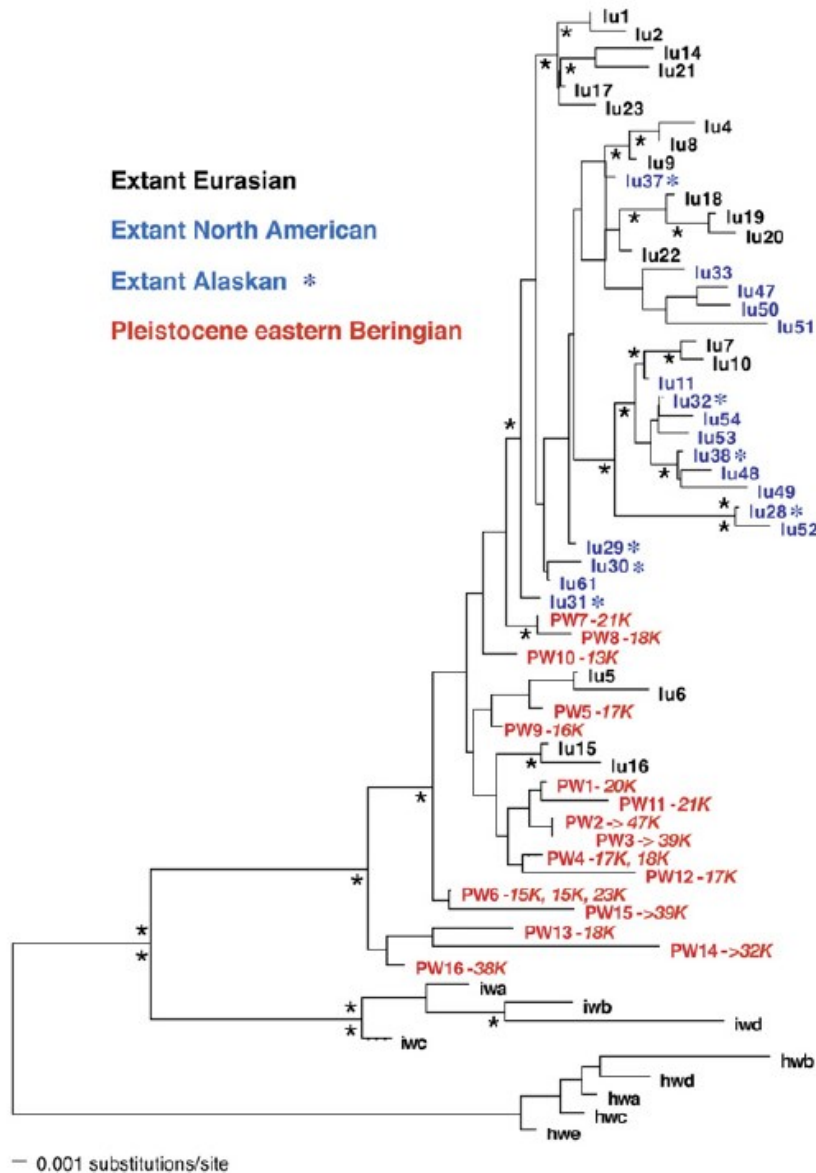
7. *Vegetácia*

- 6 vegetačných zón: vysokohorské lúky a kosodreviny, tajga, oceánske ihličnaté lesy, ihličnaté lesy v Skalnatých horách, zmiešaný les a prerie

Ďalší faktor, ktorý stojí za zmienku je špecializácia na korisť. Ako príklad sa uvádzajú severozápadné kanadské populácie naviazané na migračné trasy jeleňov. Každá svorka vlkov je viazaná na určité stádo vysokej zveri. Vďaka tomu môžeme pozorovať ako sa pohyb tohto stáda odráža v migračných cestách vlkov, čo sa potom odráža v populačnej genetickej štruktúre vlkov (Carmichael et al. 2001). Podobné pozorovanie nájdeme aj na našom území. Kým v Severnej Amerike to bol sob, u nás je to jeleň a na druhom mieste srnec. Počet a rozšírenie vlkov pritom kopíruje počet kopytníkov (Hell et al. 2001). V kontraste je štúdia Pilot et al. (2010), kde bola skúmaná potrava severoamerických a európskych vlkov, ktorá sa ukázala ako pomerne rovnaká. To značí, že za rôznorodosť haplotypov a postupné miznutie jednej haploskupiny môžu skôr ekologické zmeny poslednej doby ľadovej.

Špecializácia na korisť veľmi často súvisí s určitým biotopom, na ktorý má korisť preferenciu. Je potrebné tiež brať ohľad na areál a biotop, v akom určitý jedinec vyrastal. Dá sa predpokladať, že v dospelosti bude tento jedinec preferovať korisť, ktorá bola najhjojnšia v mieste jeho narodenia a dospievania. S najväčšou pravdepodobnosťou sa teda v budúcnosti usadí na území s rovnakými podmienkami a rovnakým typom koristi (Gese and Mech 1991; Pilot et al. 2006; Swenson et al. 2019).

Ak sa na fylogenetický strom genetických línií po celom svete pozrieme z kontinentálnej mierky, nebudeme prekvapení, keď na koncových polohách väčšinou nájdeme eurázijské populácie vlkov a severoamerické populácie vlkov a vo vnútorných kladoch zase ázijské (Vilà et al. 1999).

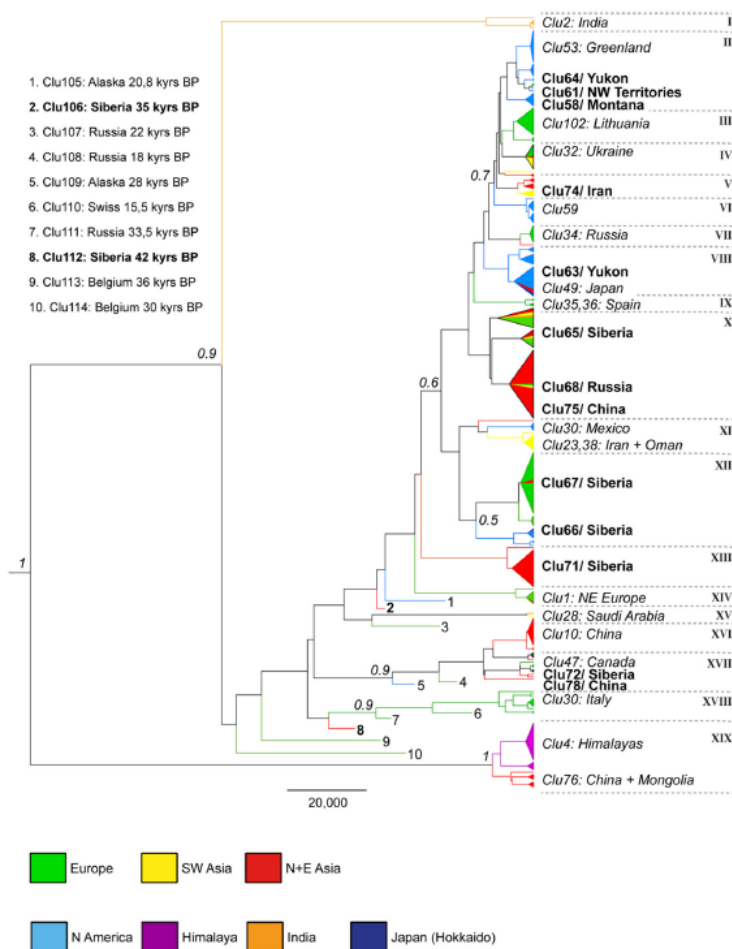


Obrázok 6 Fylogenéza dnešných a pleistocénskych vlkov zo štúdie Jennifer A. Leonard (2007). Použitá metóda "Neighbor-Joining" na zobrazenie príbuznosti dnešných vlkov z Eurázie, Severnej Ameriky a starodávnych vlkov z Beringiskej oblasti. Zobrazuje pravekých vlkov Severnej Ameriky na bazálnej vetve k moderným.

V staršej štúdií z roku 1999 (Vilà et al.) bolo popísaných podľa úseku kontrolného regiónu na mitochondriálnej DNA celkom 34 haplotypov vlka dravého naprieč Eurázijským kontinentom až po Severnú Ameriku. Väčšina z nich bola sústredená len v jednej lokalite, prípadne boli zdieľané medzi susednými oblasťami. Extrémny prípad jedného haplotypu sa vyskytol u vlčej

populácie v Portugalsku a bol rozšírený do oblastí v Chorvátsku, Grécku, Turecku a tiež do európskej časti Ruska a Švédska. Celkovo však v rozmiestnení haplotypov neexistuje jasný geografický vzorec.

V štúdií z roku 2016 (Ersmark et al.) bola pozorovaná diverzita haplotypov na úseku kontrolného regiónu mitochondriálnej DNA zo širokého areálu od Pyrenejského polostrova, cez Sibír, juh Ázie, cez Beringiu až po Grónsko. Na základe získaných výsledkov bol vytvorený fylogenetický strom (obrázok č. 7), zachytávajúci historické a aj súčasné vzorky vlka dravého. Bazálnu vetvu tu tvoria dve línie Himalájskych a Indických vlkov (na spodku fylogenetického stromu, označené rímskymi číslicami ako XIX).



Obrázok 7 Fylogenetický strom zo štúdie Ersmark (2016).

Klady reprezentujú vlkov z rôznych geografických areálov, pričom sú zahrnuté historické aj moderné vzorky. Oblasti s novo popísaným haplotypom sú vyznačené hrubým písmom.

Blízko bazálnych línií sa držia všetky historické vzorky (klady označené arabskými číslicami). Vzorky vlkov zo Severnej Ameriky sa zhlukujú do spoločných haplotypov, naopak pri európskej populácii spolu úzke väzby netvorí aj napriek tomu, že ide o blízke alebo dokonca susediace areály, napríklad Španielsko a Taliansko. Toto je v kontraste s výskumom Vilà et al. (1999), kde populácie z Pyrenejského polostrova boli susediace klady na fylogenetickom

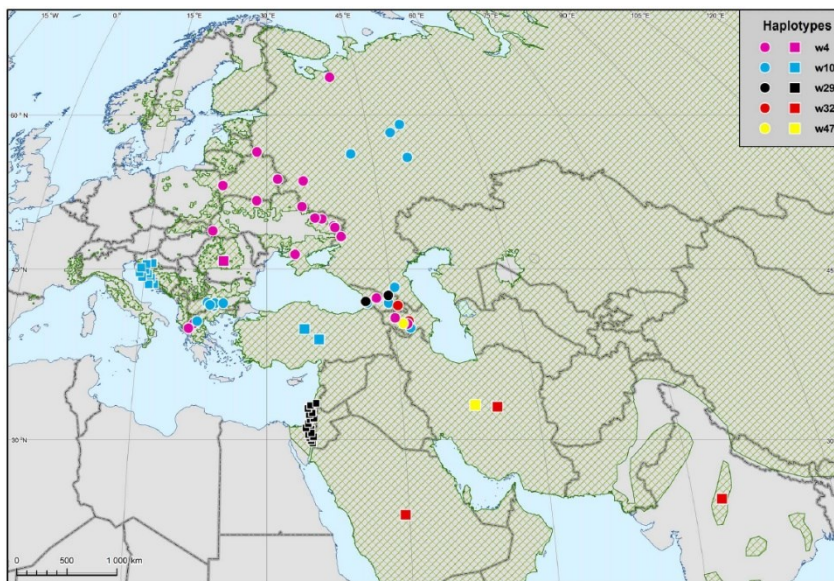
strome. Avšak mohlo ísť o malú sadu vzoriek, pri ktorej takéto rozdiely neboli zjavné. Aj napriek tomu, že pri vlkoch nájdeme desiatky haplotypov (Ersmark et al. 2016), odlišnosti medzi nimi sú minimálne (Vilà et al. 1999).

4.1. Severná Amerika

Pokles mora v oblasti Beringie spôsobil vznik pevninského mostu, ktorý umožnil prechod mnohých línií cicavcov vrátane vlkov medzi kontinentami (Koblmüller et al., 2016; Wang et al., 2004). Všetky súčasné populácie vlkov, vrátane južných mexických, pochádzajú pravdepodobne z jednej kolonizácie z Eurázie (Koblmüller et al. 2016). Podľa analýzy kontrolnej oblasti mitochondriálnej DNA Pilot et al. (2010) boli na území Severnej Ameriky objavené stopy po 19 haplotypoch, z toho jeden bol objavený v Kanade a zároveň v Grécku. Americká a eurázijská populácia spolu zdieľajú trend výrazného poklesu genetickej diverzity, ktorý bol zapríčinený intenzívnym lovom, kedy bol vlk na niektorých miestach úplne vyhladený. Porovnávanie diverzity z tohto obdobia a zo súčasnosti zistili, že genetická diverzita populácií bola viac ako dvojnásobne vyššia než je tá dnešná (z 9 historických haplotypov sa aktuálne našli len 3), ktorá sa zachovala len vďaka populáciám v severných areáloch v Kanade a na Aljaške. Mexické populácie predstavovali tiež určité izolované refugium a vďaka ich izolovanosti od populácií na severe utrpeli značnú stratu genetickej diverzity (Leonard, Vilà, and Wayne 2005). Zaujímavé je, že napriek izolovanosti Grónskeho ostrova, sa tu nenašli jedinečné haplotypy, ale namiesto toho sa tu vyskytuje len jeden haplotyp, ktorý sa vyskytoval aj v Severnej Amerike (Ersmark et al. 2016). Weckworth, Talbot, & Cook (2010) rozdeľujú severoamerické populácie na dva nezávisle sa vyvíjajúce areály: pobrežných a kontinentálnych vlkov. Kontinentálne vlky sa postupne rozširovali zo severských refugií a naopak tí pobrežní, predstavujú línie, ktoré v 20. storočí ľudia takmer vyhubili a geneticky sú si príbuznejší s mexickými populáciami. Rovnako ako Pilot et al. (2010) zamerali svoj výskum na kontrolnú oblasť mitochondriálnej DNA a našli 17 rozličných haplotypov, z ktorých dva boli v severoamerickej populácii zastúpené 76%. Kontinentálni vlci mali 9 samostatných haplotypov, zatiaľ čo pobrežní len 2. Dva haplotypy zdieľali obe populácie a 4 haplotypy sa našli v príľahlom Rusku.

4.2. Eurázia

Prepojenie týchto dvoch kapitol nám ponúkajú beringskí vlci, ktorých areál sa rozprestiera na oboch kontinentoch (Loog et al. 2018). Z tohto územia pochádzajú najstaršie záznamy o vlkovi dravom a odtiaľto sa neskôr šírili celým holarktickým areálom. Spoločného predka s vlčimi populáciami z Beringie zdieľajú napríklad niektorí vlci z odľahlých oblastí v Mongolsku a v Číne (Ersmark et al. 2016). Štúdia zameraná na kontrolnú oblasť mitochondriálnej DNA odhalila, že oba kontinenty, Európa aj Ázia, spoločne zdieľajú len 3 haplotypy, ale jednotlivo ich má Ázia 30 a Európa o 6 menej (Pilot et al. 2010). Príklad rozmiestnenia haplotypov v Ázii môžeme vidieť na obrázku č. 8. Chýbajú však severné a východné územia, kde boli v roku 2016 (Ersmark et al.,) objavené nové haplotypy z areálov na severokórejskej hranici, na polostrove Čukotka a na hranici Ruska s Čínou. Sporné je šírenie vlkov v južnom Japonsku a na Hokkaide. Ich genetická štruktúra totiž nie je veľmi podobná. V tomto prípade by mohlo ísť o dve rôzne kolonizačné trasy, zatiaľ čo populácie z juhu Japonska boli príbuzné tým eurázijským, populácie na ostrove Hokkaido sa museli rozšíriť



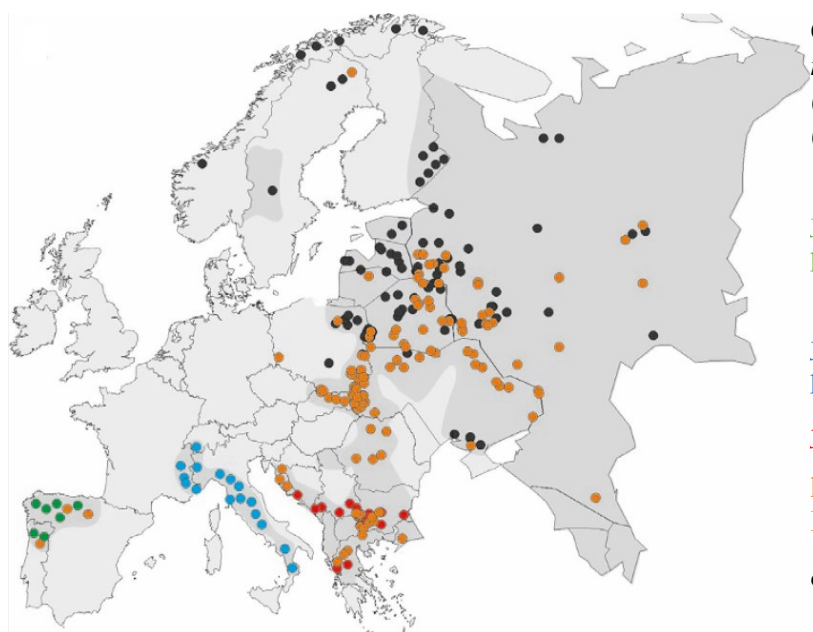
Obrázok 8 Rozmiestnenie haplotypov po Ázijskom kontinente (prevzaté z Pilot et al., 2014)

z populácií v Severnej Amerike, s ktorými majú spoločné fylogenetické klady (Koblmüller et al. 2016) alebo z Kórejského polostrova (Matsumura, Inoshima, and Ishiguro 2014).

Čo sa týka vlčích areálov v Indii a Číne, väčšina štúdií je zameraná skôr na hybridizáciu so psom než na podrobnú analýzu mitochondriálnej DNA, prípadne na samotný výskyt (Aggarwal et al. 2007; Wang et al. 2016). Pozorovanie z roku 2015 (Yumnam, Negi, Maldonado, Fleischer, & Jhala) zamerané na oblasť cytochrómu b mitochondriálnej DNA, odhalilo 9 haplotypov na území Indie z celkových 12 vzoriek a preto by bol potrebný rozsiahlejší výskum

na potvrdenie bohatosti v tomto areáli. Rovnakú genetickú štruktúru objavili (Rueness et al. 2011) pri porovnávaní vzoriek vlka dravého z Kanady, ktoré predstavovali sesterský klad k populáciám zo Švédska, Japonska a Saudskej Arábie. Ich vzdialenejšími príbuznými sa ukázali byť vlci z areálov v Himalájach a v Indii. Prechod medzi oboma kontinentmi na juhu vytvárajú kaukazské populácie vlkov. Napriek biogeografickej bariére Veľkého Kaukazu, tu pozorujeme génový tok medzi populáciami v západnej Ázii rovnako ako vo východnej Európe. Z nájdených 9 haplotypov, opäť na mitochondriálnom úseku kontrolného regiónu, boli len 3 jedinečné pre kaukazský areál a zvyšok haplotypov sa rozšíril napríklad do Saudskej Arábie, Iránu, Indie či Ruska, ale aj Turecka, Chorvátska, Poľska a inde (Pilot et al. 2014).

Pri veľkej analýze európskych populácií (Dufresnes et al. 2018), kde bolo porovnávaných 155 historických vzoriek kontrolného regiónu mitochondriálnej DNA s 1814 súčasnými vzorkami, sa našlo 42 haplotypov, z ktorých len polovica (22) sa objavuje v dnešných populáciách. Z pleistocénových vzoriek z územia západnej Európy bolo zistené, že v minulosti tu dominovala haploskupina II, no za posledné tisícročia aj tu prevládla haploskupina I, s aktuálnymi 87% (Pilot et al. 2006, 2010). Čo sa týka strednej Európy, nie všade je dominantná haploskupina I. Jednoznačne dominuje v menej hornatých oblastiach a rovinách na území Poľska a v baltických populáciách. Jej zastúpenie nájdeme aj v dinársko-balkánskom areáli. Tu sa ale postupne mieša s haploskupinou II, ktorá je dominantnou v Karpatskej populácii.



Obrázok 9 Rozmiestnenie niektorých haplotypov po Európe (prevzaté a upravené z Pilot et al. (2010).

jedinečné haplotypy z Pyrenejského polostrova

jedinečné haplotypy z Apeninského polostrova

jedinečné balkánske haplotypy

haplotypy zo severovýchodnej Európy a zároveň z Balkánu

ostatné haplotypy

Európske populácie vlkov sú na rozdiel od tých severoamerických malé a vysoko fragmentované (Wayne et al. 1992). Spolu s ázijskými populáciami majú pravdepodobne zníženú genetickú variabilitu v dôsledku nedávnych populačných bottleneckov (Randi et al. 2000; Vilà et al. 1999), no aj tak bola väčšina haplotypov objavená v Eurázii (Ersmark et al. 2016). Nedávna analýza vzoriek z ľadu na severe a východe Ázie ukázala 13 nových haplotypov (Ersmark et al. 2016). Spolu s Pilot et al. (2006) vyvracajú doterajšie štúdie, ktoré vravia, že väčšina populácií naprieč Euráziou má jedinečný haplotyp. Analýza vzoriek z východnej Európy ukázala, že väčšina populácií má viac ako jeden haplotyp a tieto haplotypy sú rôzne geograficky distribuované. S týmto súhlasí aj predchádzajúce pozorovanie (opäť úseku kontrolného regiónu na mitochondriálnej DNA), kde vo východnej Európe našli z 29 jedincov 9 rôznych haplotypov a zo severu Ázie z 5 jedincov 3 rozličné haplotypy (Randi et al. 2000). Tento kontrast medzi počtom haplotypov môže závisieť od počtu sledovaných vzoriek alebo od silno fragmentovaných vlčích populácií v predchádzajúcich štúdiách. Napríklad na obrázku č. 9 sú to populácie na Pyrenejskom a Apeninskom polostrove (Pilot et al. 2006, 2010). Podľa genomických údajov VonHoldta et al. (2011) je genetická odlišnosť týchto vlkov výsledok izolácie počas poslednej doby ľadovej.

V štúdiu Hulva et al. (2018) dostala stredná Európa prezývku „*križovatka*“ vďaka svojej geografickej polohe, kde sa stretávajú genetické línie z rôznych strán. Navyše je areál ovplyvnený okolitými pohoriami a vplyvmi človeka. Čo sa týka celkovej genetickej diverzity v Európe, v západnej časti bol vlk dravý v 20. storočí takmer úplne vyhladený a zachovala sa tam veľmi malá rôznorodosť na rozdiel od východných častí (Dufresnes et al. 2018). Vyhladený bol aj v Škandinávii, kde po opätovnej kolonizácii populácie trpeli inbreedingom (Vilà et al., 2003), no v súčasnosti tam nájdeme disperziu haplotypov z Fínska, Estónska a Ruska (Hindrikson et al. 2017; Jansson et al. 2014). Štúdia vlčích areálov vo Fínsku ukázala 92% pokles populácie oproti historickým populáciám z prelomu 19. a 20. storočia (Aspi et al. 2006). Spolu so škandinávskou populáciou je talianska najrozsiahlejšia, čo sa týka genotypovej diverzity (Fabbri et al. 2014). Tiež boli v minulom storočí takmer vyhubení a od Álp po juh Apeninského polostrova prežilo len pár desiatok jedincov v Apeninách (Hindrikson et al. 2017). Geneticky príbuzné populácie, či priamo potomkov, nájdeme okrem alpínskej populácie, v areáloch francúzskych Pyrenej a v Katalánsku. Inak prevláda stále určitá izolovanosť (Fabbri et al. 2014; Hindrikson et al. 2017; Randi et al. 2000).

Existujú rôzne smery disperzie vlkov v Európe. Karpatské a balkánske populácie sa pohybujú smerom na západ (Bakan et al. 2014). Počas úbytku vlčích populácií v minulých storočiach,

prežila v balkánskom areáli veľká populácia, ktorá sa v súčasnosti pomaly rozširuje do západoeurópskych a najmä alpínskych populácií (Dan et al. 2016). Vytvára sa tým génový tok, ktorý prináša nové príležitosti pre dobrú životaschopnosť novozaložených vlčích areálov (Hindrikson et al. 2017). Karpatská populácia je veľmi kontinuálna s minimálnou fragmentáciou a jedinečnou veľkosťou (Gula, Hausknecht, and Kuehn 2009; Hindrikson et al. 2017). Väčšina jedincov v nej žije v Rumunsku a na Ukrajine (Bakan et al. 2014), avšak zvyšky roztrúsenej distribúcie nájdeme napríklad v Maďarsku (Boitani 2000). Geneticky sa líšia napríklad od balkánskej populácie (Bakan et al. 2014), ale najväčšiu genetickú odlišnosť môžeme pozorovať so susednými nížinnými populáciami (stredoeurópske, baltické, pontické) (Czarnomska et al. 2013; Pilot et al. 2006).

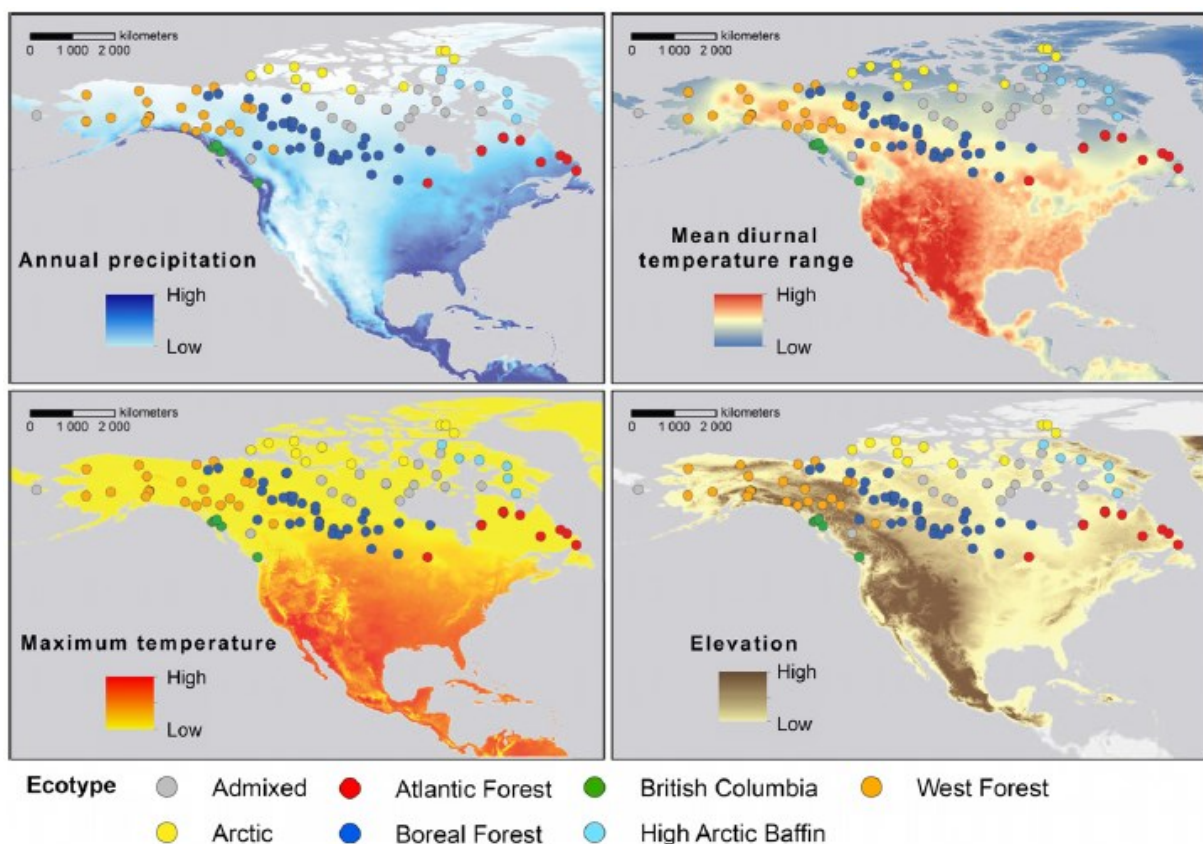
Nížinné populácie v strednej Európe sú najviac ovplyvnené baltickou populáciou vlkov, zasahujúcou severovýchod Poľska (Czarnomska et al. 2013). Zásobuje južnejšie položené populácie haplotypmi z prvej skupiny, ktoré sa tiahnu západným smerom, ale nie málo jedincov nájdeme aj na severe Slovenska (Czarnomska et al. 2013; Hulva et al. 2018; Pilot et al. 2010). Kým pred nástupom výrazného vplyvu človeka bolo skoro celé územie Slovenska obsadené vlkami, neskôr boli v niekoľkých vlnách takmer vyhubení (Hell et al. 2001), dnes sa však ich populácie zotavujú (Hulva et al. 2018). Populačnú štruktúru môže ovplyvniť fragmentácia krajiny ako napríklad líniové stavby v údoliach. V kontraste je štúdia od severne susediaceho štátu, kde bolo na poľských populáciách dokázané, že fragmentácia krajiny cestami a ľudskými sídlami ovplyvňuje vlčiu disperziu minimálne (Gula et al. 2009). Preto na severozápade krajiny nájdeme šírenie vlčích populácií zo stredoeurópskych a baltických areálov, patriacich do haploskupiny I, avšak väčšinu územia pokrývajú karpatské populácie šíriace sa z východu smerom na západ. V Českej republike bol vlk úplne vyhubený, posledné desaťročia sa zriedkavo objavoval v pohraničných územiach (Bufka et al. 2005). Dnes sa sever Českej republiky postupne osídľuje vlkami zo stredoeurópskych populácií. Z východnej časti štátu postupne dispergujú aj vlci zo Slovenskej republiky patriaci haploskupiny II karpatskej populácie. Existuje aj určitá disperzia smerujúca z juhu od alpínskych populácií, ale zatiaľ je minimálna (Hnutí DUHA Olomouc 2019; Hulva et al. 2018).

5. Adaptívna evolúcia

V predchádzajúcej kapitole sa spomínal pokles genetickej diverzity. Ibaže vlk dravý za posledné tisícročia utrpel pokles aj v morfolologickej diverzite a to ako v Eurázii, tak aj

v Severnej Amerike (Leonard et al. 2007). Kým v Pleistocéne žili na území Severnej Ameriky tri druhy: vlk dravý, pravlk (*Canis dirus*) a beringský vlk, dnes tam nájdeme len vlka dravého (Meachen, Brannick, and Fry 2016).

Všeobecne je ťažko rozlíšiť, ktoré morfológické a fenotypové prejavy sú výsledkom environmentálne podmienenej genetickej variability. Ako uvádza Gipson et al. (2002) vplyv na podiel bielych vlkov, ktorý sa zvýšil z menej než 2% v USA, na vyše 90% v tajge a na severe Kanady a v Grónsku, nemá len zemepisná šírka sama o sebe, ale jej silná korelácia s genetickými variáciami v tamojších populáciách, ktoré vznikli ekologickými vplyvmi. Týmto vzniká takzvaný *ekotyp* – populácia, ktorá je dedične prispôbená podmienkam prostredia.



Genetické analýzy zistili, že pleistocénsky vlk zo Severnej Ameriky je ekotypom súčasného vlka dravého (Leonard et al. 2007; Pilot et al. 2010). Bolo by nepresné definovať rôznorodosť genetiky len na základe zemepisnej šírky alebo výšky, pretože zatiaľ čo severojužná osa predstavuje niekoľko rôznych biotopov, západovýchodná je tvorená väčšinou tým istým klimatickým režimom či biotopom (Geffen et al. 2004).

Obrázok 10 Rozmiestnenie siedmich ekotypov vlka dravého v Severnej Amerike, v rôznych environmentálnych podmienka: (zľava zvrchu) ročný úhrn zrážok, denný rozsah teplôt, maximálna teplota a nadmorská výška (Schweizer, VonHoldt, et al. 2016).

Štúdie sú zamerané na rozdelenie jednotlivých areálov na základe environmentálnych faktorov a následne sú pozorované morfológické odlišnosti ako je dĺžka srsti, jej farba, veľkosť tela a veľkosť hlavy, chrup alebo typ koristi. Environmentálne faktory sú väčšinou rovnaké ako pri štúdiu fylogeografie (ako bolo spomínané v predchádzajúcej kapitole). Obrázok č. 10 vznikol zo štúdie (Schweizer et al., 2016, strana 387), kde boli nasledujúce environmentálne kritériá, pri ktorých je empiricky overený vplyv na ekológiu vlka: *ročný úhrn zrážok, maximálna teplota v najteplejšom mesiaci a minimálna teplota v najchladnejšom mesiaci v roku, rozsah denných teplôt, zrážky za najchladnejší štvrťrok, nadmorská výška, priemerná ročná teplota, sezónna teplota a sezónne zrážky, percento zalesnenia a vegetačný index.*

Telo vlka je prispôbené na svižný pohyb na veľké vzdialenosti. Hmotnosť sa pohybuje v rozmedzí 40-80 kg, pričom existujú jasné geografické adaptácie. Najmenšie jedince nájdeme v púštnych a polopúštnych oblastiach s hmotnosťou okolo 40 kg a naopak maximá, okolo 80 kg, dosahujú vlci z Minnesoty, pričom výnimočne môžu túto hmotnosť dosiahnuť aj naše, slovenské, vlky (Hell et al. 2001).

Pri beringských vlkoch nájdeme jedinečnú kraniodentálnu plasticitu. Nevyskytuje sa nikde v Severnej Amerike dnes ani v minulosti. Beringskí vlci boli dobre stavaní na lov veľkej koristi v období poslednej doby ľadovej. Pleistocénska adaptácia chrupu oproti súčasným vlkom spočívala v silnejších čelustných svaloch, dlhších a širších stoličkách. Je to pripisované potrave, ktorá v tom období pozostávala najmä z bizónov a pižmoňov (Ersmark et al. 2016; Leonard et al. 2007). Zriedkavou potravou sa stal aj mamut, aj keď nie je isté, či išlo o predáciu alebo skôr požieranie zvyškov zdochlín (Fox-Dobbs, Leonard, and Koch 2008). S tým súvisí väčšie opotrebovanie a lámavosť zubov. U beringských vlkov, podobne ako je to dnes pozorované pri hyenách škrvnitých, bola vyššia frekvencia opotrebovania chrupu spôsobená prehryzovaním kostí koristi (Leonard et al. 2007; Van Valkenburgh and Hertel 1999). Beringskí vlci však neboli jediní so silným chrupom. Čo sa týka morfológie lebky, je tu rozdielnosť viac badateľná než na chrupe. Beringskí vlci ju mali celkovo väčšiu, s kratšou a vyššou ústnou dutinou. Zároveň bol skrátenejší a rozšírený aj pysk, všetko dokopy plne prispôbené väčšej a silnejšej koristi. Morfológickú odlišnosť nájdeme napríklad aj pri vyhynutých japonských vlkoch. Bola menšia a prirovnávaná k psiemu plemenu akita-inu (Endo et al. 1997)

Na odhalenie molekulárnych mechanizmov adaptácie použili Schweizer, Robinson, et al. (2016) genomické prístupy analýzy SNP markerov a 1040 kódujúcich a 5000 nekódujúcich oblastí. Objavili časti génov vo vlčích populáciách na východe Severnej Ameriky, spôsobujúce napríklad tmavú kožušinu (Anderson et al. 2009), ktoré asociovali s teplotou a pokrývkou

povrchu krajiny (piesok, štrk, tráva, sneh a pod.). Čo sa týka Severnej Ameriky, na západe kontinentu sa našla vyššia farebná variabilita než na východe. Výskyt vlkov s čiernym sfarbením srsti bol v 20. storočí nadpolovičný, čo dokonca viedlo k mylnému pomenovaniu s prívlastkom *niger* (Hell et al. 2001).

V arktických oblastiach a v boreálnych lesoch mali vlci častejšie mutácie v génoch zodpovedných za zrak, čuch a sluch, čo bolo vysvetlené ako divergentný prirodzený výber (Schweizer, Robinson, et al. 2016). Okrem mutácii nájdeme nové štúdie, dokazujúce vplyv imunitného systému v jednotlivých biotopoch na adaptívny vývoj vlka (Liu et al. 2017; Schweizer, VonHoldt, et al. 2016), avšak je potrebné bližšie preskúmanie v týchto oblastiach.

Záver

Z doterajších štúdií na tému fylogeografia vlka dravého vyplýva, že vlčie populácie a ich výskyt ovplyvňuje mnoho environmentálnych faktorov, prípadne historické udalosti alebo lovená korisť. Napriek tomu, že vlk vie veľmi dobre reagovať na zmeny podmienok, fragmentácia biotopov ako sú cesty, železnice, ľudské sídla, spôsobuje aj tak určité obmedzenie génového toku. Tým sa populácie stávajú menšie a izolovanejšie, a preto sú viac vystavené genetickému driftu.

Úbytok vlčích populácií bol zaznamenaný v 19. a 20. storočí, kedy nastal mimoriadne aktívny lov a hubenie. Severoamerické populácie prežili najmä v aljašských a kanadských refúgiách. Izolované populácie nájdeme v Európe. Medzi najvýznamnejšie, čo sa týka jedinečnosti haplotypov a ďalšej kolonizácie patria populácie z Apeninského, Pyrenejského polostrova a balkánske populácie. Významným zdrojom pre rekolonizáciu sú tiež populácie na východe - v oblastiach bývalého Sovietskeho zväzu, ktoré vytvárajú nové príležitosti pre génový tok prinášajúci lepšiu životaschopnosť do nových populácií.

K adaptačnému potenciálu, schopnosti reagovať na zmeny prostredia a antropogénne vplyvy, významne prispieva genetická diverzita vlčích populácií. Klimatické podmienky môžu podmieniť vznik ekotypov, ktoré môžu byť geneticky odlišné. Najznámejší príklad nájdeme na beringskom ekotype. Vlci boli v tom čase morfológicky prispôbení okolitým podmienkam a to najmä väčšej a silnejšej koristi, ktorá spôsobila geneticky dedičný väčší chrup, vyššiu ústnu dutinu či silnejšie čeľustné svaly.

Výskumy z oblastí s dlhodobým výskytom vlka ako napríklad Severná Amerika alebo východná Európa, nám poskytujú veľa fylogeografických dát. Výskyt vlka je tu dobre spracovaný aj z genetického hľadiska. Do budúca by nemal chýbať kompletný prehľad demografickej a fylogeografickej histórie rodu *Canis*, pretože ako uviedli Ersmark et al. (2016), vo všetkých doterajších štúdiách figurovali starodávne vzorky vlka dravého z rôznych časových období, nehovoriac o rôznych geografických rozšíreniach. Máme veľa starodávnych vzoriek z Európy, Beringie či Sibíri, ale chýbajú vzorky napríklad z odľahlých častí Ázie. S návratom vlka do strednej Európy sa nám ponúka skvelá príležitosť venovať sa tejto problematike ďalej. Budúce výskumy so zameraním na mapovanie výskytu vlka dravého v strednej Európe by v kombinácii s genetickými dátami mohli priniesť nové poznatky aj o adaptácii vlka na antropogénne členitú krajinu a jeho schopnosť tvoriť životaschopné populácie v človekom pozmenenej krajine.

Bibliografia

- Aggarwal, Ramesh K., Toomas Kivisild, Jetty Ramadevi, and Lalji Singh. 2007. "Mitochondrial DNA Coding Region Sequences Support the Phylogenetic Distinction of Two Indian Wolf Species." *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 45(2):163–72.
- Anderson, Tovi M., Bridgett M. von Holdt, Sophie I. Candille, Marco Musiani, Claudia Greco, Daniel R. Stahler, Douglas W. Smith, Badri Padhukasahasram, Ettore Randi, Jennifer A. Leonard, Carlos D. Bustamante, Elaine A. Ostrander, Hua Tang, Robert K. Wayne, and Gregory S. Barsh. 2009. "Molecular and Evolutionary History of Melanism in North American Gray Wolves." *Science* 323:1339–43.
- Aspi, J., E. Roininen, M. Ruokonen, I. Kojola, and C. Vilà. 2006. "Genetic Diversity, Population Structure, Effective Population Size and Demographic History of the Finnish Wolf Population." *Molecular Ecology* 15(6):1561–76.
- Azzaroli, Augusto. 1983. "Quaternary Mammals and the 'End-Villafranchian' Dispersal Event— a Turning Point in the History of Eurasia." *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 44(0031):117-139.
- Bakan, J., V. Lavadinović, Z. Popović, and L. Paule. 2014. "Genetic Differentiation of Grey Wolf Population (Canis Lupus l.) From Balkan and Carpathians." *Balkan Journal of Wildlife Research* 1(1):87–93.
- Boitani, L. 2000. "Acknowledgements The Process behind the Elaboration of the Action Plans." *Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats. Council of Europe, Strasbourg.* (June):s.14.
- Bufka, Luděk, Marco Heurich, Thomas Engleder, Manfred Wölfl, Jaroslav Červený, and Wolfgang Scherzinger. 2005. "Wolf Occurrence in the Czech-Bavarian-Austrian Border Region—Review of the History and Current Status." *Silva Gabreta* 11(1):27–42.
- Carmichael, L. E., J. A. Nagy, N. C. Larter, and C. Strobeck. 2001. "Prey Specialization May Influence Patterns of Gene Flow in Wolves of the Canadian Northwest." *Molecular Ecology* 10(12):2787–98.
- Czarnomska, Sylwia D., Bogumiła Jędrzejewska, Tomasz Borowik, Magdalena Niedziałkowska, Astrid V. Stronen, Sabina Nowak, Robert W. Mysłajek, Henryk Okarma, Maciej Konopiński, Małgorzata Pilot, Wojciech Śmietana, Romolo Caniglia, Elena Fabbri, Ettore Randi, Cino Pertoldi, and Włodzimierz Jędrzejewski. 2013. "Concordant Mitochondrial and Microsatellite DNA Structuring between Polish Lowland and Carpathian Mountain Wolves." *Conservation Genetics* 14(3):573–88.
- Đan, M., D. Šnjegota, N. Veličković, M. Stefanović, D. Obreht Vidaković, and D. Ćirović. 2016. "Genetic Variability and Population Structure of Grey Wolf (Canis Lupus) in Serbia." *Russian Journal of Genetics* 52(8):821–27.
- Dufresnes, Christophe, Christian Miquel, Nadège Remollino, François Biollaz, Nicolas Salamin, Pierre Taberlet, and Luca Fumagalli. 2018. "Howling from the Past: Historical Phylogeography and Diversity Losses in European Grey Wolves." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 285(1884).
- Endo, Hideki, Iwao Obara, Tomohiro Yoshida, Masamichi Kurohmaru, Yoshihiro Hayashi,

- and Naoki Suzuki. 1997. "Osteometrical and CT Examination of the Japanese Wolf Skull." *Journal of Veterinary Medical Science* 59(7):531–38.
- Ersmark, Erik, Cornelya F. C. Klütsch, Yvonne L. Chan, Mikkel-holger S. Sinding, Steven R. Fain, Natalia A. Illarionova, Mattias Oskarsson, Mathias Uhlén, Ya-ping Zhang, Love Dalén, and Peter Savolainen. 2016. "From the Past to the Present: Wolf Phylogeography and Demographic History Based on the Mitochondrial Control Region." *Frontiers in Ecology and Evolution* 4(December):1–12.
- Fabbri, E., R. Caniglia, J. Kusak, A. Galov, T. Gomerčić, H. Arbanasić, D. Huber, and E. Randi. 2014. "Genetic Structure of Expanding Wolf (*Canis Lupus*) Populations in Italy and Croatia, and the Early Steps of the Recolonization of the Eastern Alps." *Mammalian Biology* 79(2):138–48.
- Fan, Zhenxin, Pedro Silva, Ilan Gronau, Shuoguo Wang, Aitor Serres Armero, Rena M. Schweizer, Oscar Ramirez, John Pollinger, Marco Galaverni, Diego Ortega Del-Vecchyo, Lianming Du, Wenping Zhang, Zhihe Zhang, Jinchuan Xing, Carles Vilà, Tomas Marques-Bonet, Raquel Godinho, Bisong Yue, and Robert K. Wayne. 2016. "Worldwide Patterns of Genomic Variation and Admixture in Gray Wolves." *Genome Research* 26(2):163–73.
- Fox-Dobbs, Kena, Jennifer A. Leonard, and Paul L. Koch. 2008. "Pleistocene Megafauna from Eastern Beringia: Paleoecological and Paleoenvironmental Interpretations of Stable Carbon and Nitrogen Isotope and Radiocarbon Records." *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 261(1–2):30–46.
- Fritts, S. H. 1983. "Record Dispersal by a Wolf from Minnesota." *Journal of Mammalogy* 64(1):166–67.
- Geffen, Eli, Marti J. Anderson, and Robert K. Wayne. 2004. "Climate and Habitat Barriers to Dispersal in the Highly Mobile Grey Wolf." *Molecular Ecology* 13(8):2481–90.
- Gese, E. M. and L. D. Mech. 1991. "Dispersal of Wolves (*Canis Lupus*) in Northeastern Minnesota." *Canadian Journal of Zoology* 69(12):2946–2955.
- Gipson, Philip S., Edward E. Bangs, Theodore N. Bailey, Diane K. Boyd, H. Dean, Douglas W. Smith, Michael D. Jiminez, Philip S. Gipson, Edward F. Bangs, Theodore N. Bailey, K. B. Diane, H. Dean Cluff, Douglas W. Smith, and Michael D. Jiminez. 2002. "Color Patterns among Wolves in Western North America." *Wildlife Society Bulletin* 30(3):821–30.
- Gopalakrishnan, Shyam, Mikkel Holger S. Sinding, Jazmín Ramos-Madrigal, Jonas Niemann, Jose A. Samaniego Castruita, Filipe G. Vieira, Christian Carøe, Marc de Manuel Montero, Lukas Kuderna, Aitor Serres, Víctor Manuel González-Basallote, Yan Hu Liu, Guo Dong Wang, Tomas Marques-Bonet, Siavash Mirarab, Carlos Fernandes, Philippe Gaubert, Klaus Peter Koepfli, Jane Budd, Eli Knispel Rueness, Mads Peter Heide-Jørgensen, Bent Petersen, Thomas Sicheritz-Ponten, Lutz Bachmann, Øystein Wiig, Anders J. Hansen, and M. Thomas P. Gilbert. 2018. "Interspecific Gene Flow Shaped the Evolution of the Genus *Canis*." *Current Biology* 28(21):3441-3449.e5.
- Gula, Roman, Roland Hausknecht, and Ralph Kuehn. 2009. "Evidence of Wolf Dispersal in Anthropogenic Habitats of the Polish Carpathian Mountains." *Biodiversity and Conservation* 18(8):2173–84.
- Hell, Pavel, Jaroslav Slamečka, and Jozef Gašparík. 2001. *Vlk v Slovenských Karpatoch a vo*

Svete. Bratislava: PaRPRESS.

- Hindrikson, Maris, Jaanus Remm, Malgorzata Pilot, Raquel Godinho, Astrid Vik Stronen, Laima Baltrūnaitė, Sylwia D. Czarnomska, Jennifer A. Leonard, Ettore Randi, Carsten Nowak, Mikael Åkesson, José Vicente López-Bao, Francisco Álvares, Luis Llaneza, Jorge Echegaray, Carles Vilà, Janis Ozolins, Dainis Rungis, Jouni Aspi, Ladislav Paule, Tomáš Skrbínšek, and Urmas Saarma. 2017. “Wolf Population Genetics in Europe: A Systematic Review, Meta-Analysis and Suggestions for Conservation and Management.” *Biological Reviews* 92(3):1601–29.
- Hnutí DUHA Olomouc. 2019. “Do Česka Zasahuje 16 Vlíčích Teritorií.” Retrieved August 7, 2019 (<https://www.selmy.cz/tiskove-zpravy/do-ceska-zasahuje-16-vlcich-teritorii/>).
- Hulva, Pavel, Barbora Černá Bolfiková, Vendula Woznicová, Milena Jindřichová, Markéta Benešová, Robert W. Mysłajek, Sabina Nowak, Maciej Szewczyk, Natalia Niedźwiecka, Michał Figura, Andrea Hájková, Atilla D. Sándor, Vladimír Zyka, Dušan Romportl, Miroslav Kutal, Slavomír Findo, and Vladimír Antal. 2018. “Wolves at the Crossroad: Fission-Fusion Range Biogeography in the Western Carpathians and Central Europe” edited by J. Austin. *Diversity and Distributions* 24(2):179–92.
- Jansson, Eeva, Jenni Harmoinen, Minna Ruokonen, and Jouni Aspi. 2014. “Living on the Edge: Reconstructing the Genetic History of the Finnish Wolf Population.” *BMC Evolutionary Biology* 14(1).
- Koblmüller, Stephan, Carles Vilà, Belen Lorente-Galdos, Marc Dabad, Oscar Ramirez, Tomas Marques-Bonet, Robert K. Wayne, and Jennifer A. Leonard. 2016. “Whole Mitochondrial Genomes Illuminate Ancient Intercontinental Dispersals of Grey Wolves (*Canis Lupus*).” *Journal of Biogeography* 43(9):1728–38.
- Leonard, Jennifer A. 2014. “Ecology Drives Evolution in Grey Wolves.” *Evolutionary Ecology Research* 16(6):461–73.
- Leonard, Jennifer A., Carles Vilà, Kena Fox-Dobbs, Paul L. Koch, Robert K. Wayne, and Blaire Van Valkenburgh. 2007. “Megafaunal Extinctions and the Disappearance of a Specialized Wolf Ecomorph.” *Current Biology* 17(13):1146–50.
- Leonard, Jennifer A., Carles Vilà, and Robert K. Wayne. 2005. “Legacy Lost: Genetic Variability and Population Size of Extirpated US Grey Wolves (*Canis Lupus*).” *Molecular Ecology* 14(1):9–17.
- Liu, Guangshuai, Honghai Zhang, Guolei Sun, Chao Zhao, Shuai Shang, Xiaodong Gao, Tian Xia, and Xiufeng Yang. 2017. “Characterization of the Peripheral Blood Transcriptome and Adaptive Evolution of the MHC I and TLR Gene Families in the Wolf (*Canis Lupus*).” *BMC Genomics* 18(1):1–14.
- Loog, Liisa, Olaf Thalmann, Mikkel-Holger S. Sinding, Verena J. Schuenemann, Angela Perri, Mietje Germonpré, Herve Bocherens, Kelsey E. Witt, Jose A. Samaniego Castruita, Marcela S. Velasco, Inge K. C. Lundstrøm, Nathan Wales, Gontran Sonet, Laurent Frantz, Hannes Schroeder, Jane Budd, Elodie-Laure Jimenez, Sergey Fedorov, Anders Eriksson, Boris Gasparyan, Andrew W. Kandel, Martina Lázničková-Galetová, Hannes Hapierala, Hans-Peter Uerpmann, Pavel A. Nikolskiy, Elena Y. Pavlova, Vladimir V. Pitulko, Karl-Heinz Herzig, Ripan S. Malhi, Eske Willerslev, Anders J. Hansen, Keith Dobney, M. Thomas P. Gilbert, Johannes Krause, Greger Larson, Anders Eriksson, and Andrea Manica. 2018. *Modern Wolves Trace Their Origin to a Late*

Pleistocene Expansion from Beringia.

- Matsumura, Shuichi, Yasuo Inoshima, and Naotaka Ishiguro. 2014. "Reconstructing the Colonization History of Lost Wolf Lineages by the Analysis of the Mitochondrial Genome." *Molecular Phylogenetics and Evolution* 80(1):105–12.
- Meachen, Julie A., Alexandria L. Brannick, and Trent J. Fry. 2016. "Extinct Beringian Wolf Morphotype Found in the Continental U.S. Has Implications for Wolf Migration and Evolution." *Ecology and Evolution* 6(10):3430–38.
- Pilot, Małgorzata, Wojciech Branicki, Włodzimierz Jędrzejewski, Jacek Goszczyński, Bogumiła Jędrzejewska, Ihor Dykyy, Maryna Shkvryra, and Elena Tsingarska. 2010. "Phylogeographic History of Grey Wolves in Europe." *BMC Evolutionary Biology* 10(1):104.
- Pilot, Małgorzata, Michał J. Dąbrowski, Vahram Hayrapetyan, Eduard G. Yavruyan, Natia Kopalani, Elena Tsingarska, Barbara Bujalska, Stanisław Kamiński, and Wiesław Bogdanowicz. 2014. "Genetic Variability of the Grey Wolf *Canis Lupus* in the Caucasus in Comparison with Europe and the Middle East: Distinct or Intermediary Population?" *PLoS ONE* 9(4).
- Pilot, Małgorzata, Włodzimierz Jędrzejewski, Wojciech Branicki, Vadim E. Sidorovich, Bogumiła Jędrzejewska, Krystyna Stachura, and Stephan M. Funk. 2006. "Ecological Factors Influence Population Genetic Structure of European Grey Wolves." *Molecular Ecology* 15(14):4533–53.
- Randi, Ettore. 2011. "Genetics and Conservation of Wolves *Canis Lupus* in Europe." *Mammal Review* 41(2):99–111.
- Randi, Ettore, Vittorio Lucchini, Mads Fjeldso Christensen, Nadia Mucci, M. Stephan, Gaudenz Dolf, and Volker Loeschke. 2000. "Mitochondrial DNA Variability in Italian and East European Wolves : Detecting the Consequences of Small Population Size and Hybridization Published by : Blackwell Publishing for Society for Conservation Biology Stable URL : [Http://Www.Jstor.Org/Stable/264](http://www.jstor.org/stable/264)." *Conservation Biology* 14(2):464–73.
- Rueness, Eli Knispel, Maria Gulbrandsen Asmyhr, Claudio Sillero-Zubiri, David W. Macdonald, Afework Bekele, Anagaw Atickem, and Nils Chr Stenseth. 2011. "The Cryptic African Wolf: *Canis Aureus Lupaster* Is Not a Golden Jackal and Is Not Endemic to Egypt." *PLoS ONE* 6(1).
- Sardella, Raffaele and Maria Rita Palombo. 2007. "The Pliocene-Pleistocene Boundary: Which Significance For So Called 'Wolf Event' Evidence From Western Europe." *Quaternaire* 18(1):65–71.
- Schweizer, Rena M., Jacqueline Robinson, Ryan Harrigan, Pedro Silva, Marco Galverni, Marco Musiani, Richard E. Green, John Novembre, and Robert K. Wayne. 2016. "Targeted Capture and Resequencing of 1040 Genes Reveal Environmentally Driven Functional Variation in Grey Wolves." *Molecular Ecology* 25(1):357–79.
- Schweizer, Rena M., Bridgett M. VonHoldt, Ryan Harrigan, James C. Knowles, Marco Musiani, David Coltman, John Novembre, and Robert K. Wayne. 2016. "Genetic Subdivision and Candidate Genes under Selection in North American Grey Wolves." *Molecular Ecology* 25(1):380–402.
- Swenson, Jon E., Petter Wabakken, Barbara Zimmermann, Håkan Sand, Andrés Ordiz,

- Mikael Åkesson, Camilla Wikenros, Cyril Milleret, and Ana Sanz-Pérez. 2019. “No Place like Home? A Test of the Natal Habitat-Biased Dispersal Hypothesis in Scandinavian Wolves.” *Royal Society Open Science* 5(12):181379.
- Tedford, Richard H., Xiaoming Wang, and Beryl E. Taylor. 2009. “Phylogenetic Systematics of the North American Fossil Caninae (Carnivora: Canidae).” *Bulletin of the American Museum of Natural History* 325(325):1–218.
- Van Valkenburgh, Blaire and Fritz Hertel. 1999. “Ough Times at La Brea: Tooth Breakage in Large Carnivores of the Late Pleistocene.” *Science* 261:456–59.
- Vilà, C., I. R. Amorim, J. A. Leonard, D. Posada, J. Castroviejo, F. Petrucci-Fonseca, K. A. Crandall, Ellegren H., and R. K. Wayne. 1999. “Mitochondrial DNA Phylogeography and Population History of the Grey Wolf *Canis Lupus*.” *Molecular Ecology* 8:2089–2103.
- Vilà, Carles, Anna Karin Sundqvist, Øystein Flagstad, Jennifer Seddon, Susanne Björnerfeldt, Ilpo Kojola, Adriano Casulli, Håkan Sand, Petter Wabakken, and Hans Ellegren. 2003. “Rescue of a Severely Bottlenecked Wolf (*Canis Lupus*) Population by a Single Immigrant.” *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270(1510):91–97.
- VonHoldt, Bridgett M., P. John Pollinger, Earl A. Dent, James C. Knowles, Adam R. Boyko, Heidi Parker, Eli Geffen, Malgorzata Pilot, Wlodzimierz Jedrzejewski, Bogumila Jedrzejewska, Vadim Sidorovich, Claudia Greco, Ettore Randi, Marco Musiani, Roland Kays, Carlos D. Bustamante, Elaine A. Ostrander, John Novembre, and Robert K. Wayne. 2011. “A Genome-Wide Perspective on the Evolutionary History of Enigmatic Wolf-like Canids.” *Genome Research* 21:1294–1305.
- Wang, Lu, Ya-Ping Ma, Ya-Ping Zhang, Qi-Jun Zhou, Guo-Dong Wang, and Peter Savolainen. 2016. “The Geographical Distribution of Grey Wolves (*Canis Lupus*) in China: A Systematic Review.” *Zoological Research* 37(6):315–26.
- Wang, Xiaoming, Richard H. Tedford, Blaire Van Valkenburgh, and Robert K. Wayne. 2004. “Evolutionary History, Molecular Systematics, and Evolutionary Ecology of Canidae.” Pp. 39-54. in *The Biology and Conservation of Wild Canids*. Oxford: Oxford University Press.
- Wayne, Robert K. 1993. “Molecular Evolution of the Dog Family.” *Trends in Genetics* 9(6):218–24.
- Wayne, Robert K., Niles Lehman, Marc W. Allard, and Rodney L. Honeycutt. 1992. “Mitochondrial DNA Variability of the Gray Wolf: Genetic Consequences of Population Decline and Habitat Fragmentation.” *Conservation Biology* 6(4):559–69.
- Weckworth, Byron V., Sandra L. Talbot, and Joseph A. Cook. 2010. “Phylogeography of Wolves (*Canis Lupus*) in the Pacific Northwest.” *Journal of Mammalogy* 91(2):363–75.
- Yumnam, Bibek, Tripti Negi, Jesús E. Maldonado, Robert C. Fleischer, and Yadvendradev V. Jhala. 2015. “Phylogeography of the Golden Jackal (*Canis Aureus*) in India.” *PLoS ONE* 10(9):1–18.