



VYTAUTO DIDŽIOJO  
UNIVERSITETO  
ŽEMĖS ŪKIO  
AKADEMIJA

MIŠKŲ IR EKOLOGIJOS FAKULTETAS

Sutarties Nr. F4-2019-155

Registracijos Nr. M-04-44/19

Mokslinio–taikomojo darbo  
**VILKŲ TYRIMŲ PASLAUGOS 2020 M.**  
Galutinė ataskaita

Darbo vadovė

dr. Renata Špinkytė-Bačkaitienė

**AKADEMIJA, 2020**

## **VYKDYTOJŲ SĄRAŠAS**

prof. dr. Darius Danusevičius (Vytauto Didžiojo universitetas)

prof. dr. Gediminas Brazaitis (Vytauto Didžiojo universitetas)

dr. Jurata Buchovska (Vytauto Didžiojo universitetas)

Mantas Sabalinka (Vytauto Didžiojo universitetas)

dokt. Rūta Kembrytė (Vytauto Didžiojo universitetas)

Mindaugas Maksvytis (Vytauto Didžiojo universitetas)

Kastytis Šimkevičius (Vytauto Didžiojo universitetas)

dr. Artūras Kibiša (Vytauto Didžiojo universitetas)

dr. Jolanta Stankevičiūtė (Vytauto Didžiojo universitetas)

Darbo vadovės adresas:

Vytauto didžiojo universitetas, Žemės ūkio akademija

Studentų 11, Akademija, LT– 53361, Kauno r.

Mob. tel.: +370-615-54101, el. paštas: renata.spinkyte-backaitiene@vdu.lt

## Santrauka

Lietuvos vilkų populiacijos genetinės įvairovės tyrimas pagal 2019–2020 m. medžioklės sezono metu sumedžiotų 118 vilkų DNR žymenis aukšto polimorfizmo 18 autosominių rekombinuojamų atskirai mikrosatelitų lokusų parodė, kad Lietuvos vilkų populiacija dabartiniu metu sėkmingai atstatinėja genetinę įvairovę ir jei sekančio sezono duomenys patvirtins šio sezono rezultatus, galima teigti kad populiacija yra genetinio atsistatymo pike.

Pagal DNR tyrimais gautus retų alelių ir aukšto heterozigotiškumo geografinio pasiskirstymo duomenis tikėtina, kad iš vakarų šį srautą pietų link gali kaupti Nevėžio upė ir via Baltikos magistralė, o iš rytų šį srautą riboja Lietuvos – Baltarusijos siena. Srautas eina miškų masyvais, kol nesusiduria su kompleksu barjerų - Neries upe, Vilniaus antropogeninių zonų sistema ir autostrada. Žemo stebimo heterozigotiškumo zona už Vilniaus pietų link buvo patvirtinta tiek 2018 tiek 2019 m, DNR tyrimais, kas rodo galimus barjerus genų srautui – Vilniaus antropogeninis klasteris, Neries upė, autostrada.

Atskleisti reikšmingi skirtumai tarp Lietuvos vilkų geografinių populiacijų. Genetinės struktūros analizė parodė, kad šalyje tikėtina yra trijų genetinių grupių struktūra. Šios trys genetinės grupės yra pasiskirstę nevienodai ir geografiškai skiria Lietuvą į rytinę ir vakarinę dalis. Viena iš šių genetinių grupių dominuoja Žemaitijoje, kitos dvi – rytinėje Lietuvoje.

2019–2020 m. medžioklės sezono metu sumedžiotų 118 vilkų hibridizacijos su šunimis intensyvumas nėra aukštas tik 4 iš 118 individų rodė 10-23 proc. genetinį panašumą su šunimi, kaip hibridizacijos indikatorius.

Amžiaus tyrimas (n=118) atskleidė, kad tarp sumedžiotų vilkų didžiąją dalį (55,1%) sudaro pirmų metų jaunikliai. Tai prognozuoja vilkų populiacijos augimo potencialą ateityje. Vyriausias sumedžiotas vilkas (patelė) ėjo devintus metus. Lietuvoje vidutinis sumedžiotų vilkų amžius (atmetus pirmamečius ir antramečius jauniklius) praėjusį sezoną buvo 4,83 metų.

Atliktas sumedžiotų patelių gimdų tyrimas atskleidė, kad, iš 54 į laboratoriją parsivežtų užšaldytų gimdų, tinkamai buvo išimta 13 gimdų (24,1%), 30 atvejų (55,6%), kai paimta tik dalis gimdos bei 10 atvejai (18,5%), kai paimti kiti vidaus organai. Tarp teisingai bei tinkamu laikotarpiu išimtų suaugusių patelių gimdų (n=8) 7 parodė, kad patelės pavasarį buvo vedusios jauniklius.

Genetinių ir amžiaus tyrimų pagrindu bei pateiktų pranešimų pagrindu suskaičiuotos vilkų šeimos susumuotos ir gauta, kad Lietuvos teritorijoje gyveno ne mažiau kaip 54 vilkų šeimos

Raktiniai žodžiai: genetinė įvairovė, genetinė struktūra, genų srautas, efektyvus populiacijos dydis, hibridizacija, vilkas, šuo, amžius, paplitimas, šeimų skaičius.

# Turinys

Turinys .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
• Įvadas .....	6
• Medžiaga ir metodai .....	8
• 2.1 Genetinis tyrimas .....	8
• Genetinė medžiaga .....	8
• DNR analizės.....	8
• Genetinės įvairovės tyrimas .....	11
• Genetinės diferenciacijos tyrimas .....	14
• Genetinės struktūros tyrimas.....	14
• Sibų ryšių nustatymas.....	15
• Hibridizacija su šunimis .....	15
• 2.2. Amžiaus tyrimas.....	15
• 2.3. Reprodukcijos tyrimas .....	17
• 2.4. Pranešimų apie didžiųjų plėšrūnų buvimą registravimo visus metus anketų duomenų analizė.....	17
• 2.5 Medžiojamųjų gyvūnų apskaitos pagal pėdsakus sniege duomenų analizė .....	17
• Rezultatai ir jų aptarimas .....	18
• Mėginių surinkimo ir grąžinimo darbų apimtys.....	18
• 3.1 Vilkų populiacijos genetinės įvairovės geografinis pasiskirstymas Lietuvoje.....	24
• 3.1.1 Mikrosatelitų lokusų charakteristika .....	24
• 3.1.2 Genetinė įvairovė ir inbrydingas .....	27
• 3.1.3 Sibų ryšiai populiacijoje.....	35
• 3.1.4 Apibendrinamas .....	41
• 3.2 Vilkų populiacijos genetinė diferenciacija ir struktūra Lietuvoje .....	42
• 3.2.1 Genetinė diferenciacija.....	42
• 3.2.2 Genetinė struktūra .....	44
• 3.2.3 Apibendrinimas .....	48
• 3.3 Hibridizacija su šunimis .....	48
• 3.4 Sumedžiotų vilkų amžius.....	55
• 3.5 Suaugusių patelių reprodukcija .....	58
• 3.6. Pranešimų apie didžiųjų plėšrūnų buvimą registravimo visus metus anketų duomenys .....	61
• 3.7. Medžiojamųjų gyvūnų apskaitos pagal pėdsakus sniege duomenys.....	68
• Išvados.....	71

- **Rekomendācijas** .....73
- **Literatūros sarakšas**.....74

- **Ivadas**

Rengiant bet kokios rūšies sveiko vystymo planus yra būtina ištirti genetinės įvairovės lygmenį ir pasiskirstymą tarp individų ir populiacijų (Laikre et al. 2009). Genetinės įvairovės rodiklių nustatymas taip leidžia daryti prielaidas apie populiacijų kilmę, jų evoliucijos istoriją (Carmichael et al. 2007, Yang & Jiang 2011). Neturint žinių apie genetinę įvairovę, galima klaidingai sumažinti populiacijų dydį ir įvairovę taip, kad iškilis išnykimo pavojus dėl genetinio dreifo ar inbrydingo poveikio (Allendorf and Luikart 2007). Lietuvoje jau yra buvęs drastiškas vilkų populiacijos dydžio kritimas apie 1970-tuos metus. Mažas populiacijos dydis gali lemti didesnį hibridizacijos intensyvumą su kitomis rūšimis, kadangi savos rūšies poravimosi porų skaičius mažas (Allendorf and Luikart 2007).

Genetiniuose tyrimuose yra svarbi populiacijos samprata. Populiaciją suprantame: (a) geografinė prasme kaip geografinė populiacija, kaip prieš atliekant genetinius populiacijų struktūros tyrimus, grupuojame individus teritoriškai į grupes (populiacijas) pagal jų tikėtino bendro poravimosi zonas, lemtas geografiniu artumu, bei reikšmingų migracijai gamtinių-antropogeninių barjerų nebuvimu, (b) genetinė prasme populiacijai tai genetiškai panašių, laisvai besiporuojančių individų grupė, esanti pakankamo dydžio, kad jų genofondas dominuotų palikuonyse bei genetiškai reikšmingai išsiskirtų nuo kaimyninių populiacijų.

Paprastai teritorijose, kur natūralios atrankos kryptis ir intensyvumas yra panašūs, populiacijų struktūrą formuoja genų migracija ir genetinis dreifas. Genetinis dreifas veikia mažose populiacijose kur dėl izoliacijos nėra reikšmingos genų migracijos ir vyksta atsitiktinė alelių fiksacija (alelių praradimas, išliekant dominuoti keliems aleliams lokuse), tolesnėse kartose tai lemia inbrydingą ir populiacijos nykimą. Populiacijos genetiškai stabilumui yra svarbu, kad šios evoliucinės jėgos būtų natūralioje pusiausviroje: genetinės įvairovės praradimą dėl dreifo atsvėrėtų genų migracija ir mutacijos.

Populiacijų genetiniai tyrimai atliekami trimis svarbiausiomis kryptimis: (a) genetinės įvairovės pasiskirstymo laiko ir geografiniuose gradientuose dėsnų ištyrimas, (b) poravimosi dėsnų ir evoliucinių jėgų poveikio ištyrimas, (c) genetinė diferenciacija ir genetinė struktūra regione rodo ar populiacija susideda iš kelių geografiškai atskirų sub-populiacijų izoliuotų migracijos barjeriais ar atvirkščiai viena laisvai besiporuojančių individų grupė. Svarbiausi populiacijos genetinės įvairovės rodikliai yra jų alelinis turtingumas (skirtingų genominių vienetų variantų skaičius), iš tėvų paveldėtas alelių gimingumas (stebimas heterozigotiškumas  $H_o$ ), alelių dažnių vienodumas (lauktinas heterozigotiškumas arba Nei genetinė įvairovė  $H_e$ ), lauktinas inbrydingas palikuonyse (Fis fiksacijos indeksas), efektyvus populiacijos dydis (negiminingų individų skaičius

idealyje populiacijoje) ir genų migracijos (srauto) stiprumas, rodantis aplinkos sąlygų tinkama populiacijos genetiškai stabilumui (stiprių barjerų migracijai nebuvimas). Šiuos rodiklius aptarsime 118 2019–2020 m. sezone sumedžiotų vilkų populiacijai, lygindami regionus, populiacijos ir individų DNR žymenų 18 autosominių mikrosatelitų lokusų duomenis.

**Darbo tikslas** – atlikti 2019–2020 metų medžioklės sezono metu Lietuvoje sumedžiotų vilkų amžiaus nustatymo, genetinius ir produktyvumo tyrimus, išanalizuoti pranešimų apie didžiųjų plėšrūnų buvimą registravimo visus metus anketas, medžiojamųjų gyvūnų apskaitų pagal pėdsakus sniege duomenis, siekiant įvertinti populiacijos dydį, erdvinį paplitimą, šeimų skaičių t. y. nustatyti, ar populiacijos naudojimas netrukdo pasiekti vilkų populiacijos apsaugos ir valdymo ilgalaikio tikslo.

**Šio darbo uždaviniai:**

- Surinkti sumedžiotų vilkų mėginius tyrimams;
- Atlikti surinktų mėginių laboratorinius tyrimus;
- Grąžinti medžiotojams po atlikto tyrimo ištuštintus dantis;
- Išanalizuoti pateiktus duomenis;
- Parengti tarpines ir galutinę ataskaitas.

- **Medžiaga ir metodai**

- **2.1 Genetinis tyrimas**

- Genetinė medžiaga

2019–2020 m. medžioklės sezono metu sumedžiotų vilkų surinkti mėginiai buvo subjektyviai suskirstyti genetinei analizei į geografines populiacijas pagal teritorinio artumo sąlygotą bendro poravimosi tikimybę ir reikšmingų gamtinių-antropologinių kliūčių jų laisvam poravimuisi nebuvimą, stengiantis išlaikyti panašų populiacijų dydį (2.1.1 lent., 2.1.2 pav.). Be to šalis buvo suskirstyta į keturis regionus, stiegiantis išlaikyti vienodas imtis tarp regionų. Viso pagal DNR žymenis ištirti 118 vilko individų, iš jų 54 patelės ir 64 patinai. Kaip referenciniai pavyzdžiai hibridizacijai ištirti buvo naudoti 18 šunų pavyzdžiai.

2.1.1 lent. Vilkų DNR tyrimų imtys pagal geografines populiacijas.

Populiacija	Kodas	Individu sk.
Kėdainiai	KEDA	11
Širvintos	SIRV	15
Mariampolė	MARI	9
Varėna	VARE	10
Biržai	BIRZ	13
Ignalina	IGNA	14
Rokiškis	ROKI	15
Jurbarkas	JURB	6
Šiauliai	SIAU	13
Telšiai	TELS	12

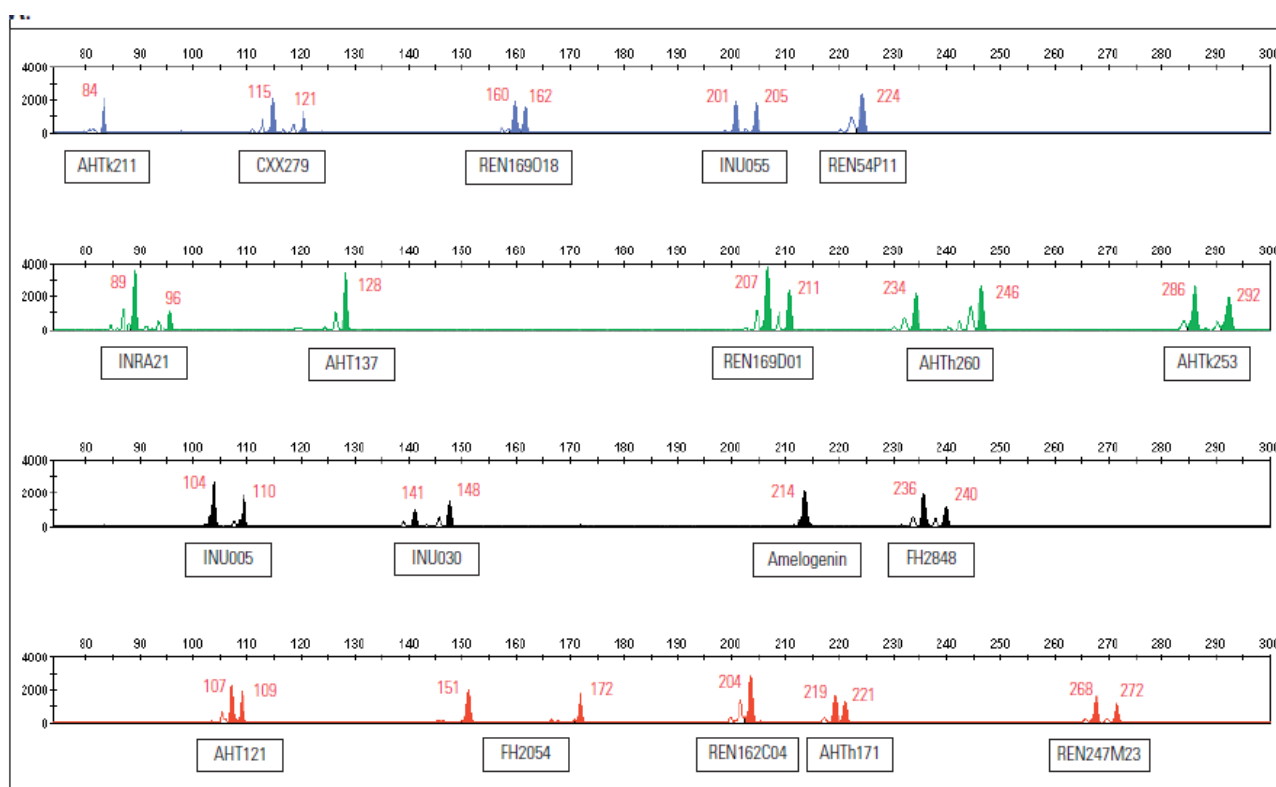
- DNR analizės

Vilkų DNR tyrimams iš kiekvieno sumedžiotą vilko buvo paimta po 100 mg raumens. Raumens pavyzdžiai patalpinti į Ependorf mėgintuvėlius. Kiekvieno vilko mėginiui suteiktas unikalus kodas. Raumens mėginiai DNR tyrimui surinkti 2019 metų pavasarį. Sumedžiotų vilkų mėginių buvo panaudota analizei 118 vnt. ir analizės palyginimui buvo pridėti 18 šunų seilių mėginiai. Iš viso pavyzdžių buvo 136.

DNR tyrimai atlikti Vytauto Didžiojo universitete Žemės ūkio akademijoje miško medžių genetikos laboratorijoje. DNR tyrimams išskirta iš vilko raumens ėminių, naudojant modifikuotą ATMA B (Dumolin et al, 1995) DNR išskyrimo metodą. Modifikuotas ATMA B DNR išskyrimo



metodas iš vilko raumens (Dumolin et al, 1995). Išskirtos DNR koncentracija nustatyta nanofotometru, 260 nm bangos ilgyje.



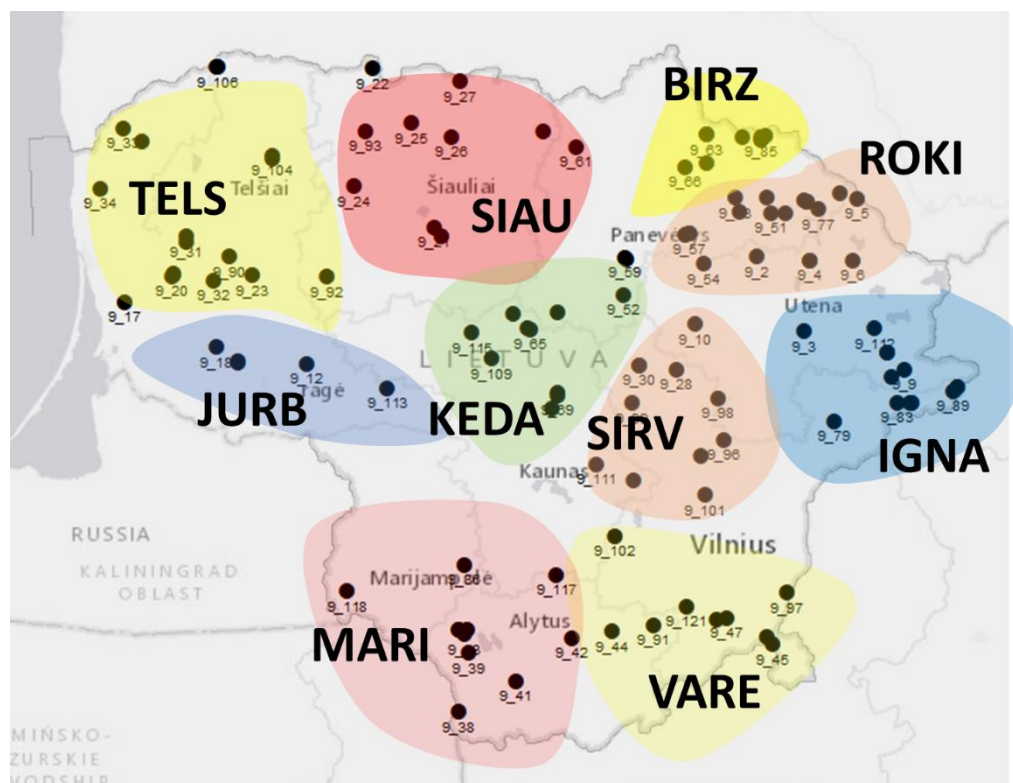
2.1.1 pav. *Canine Genotypes Panel 1.1* alelių pasiskirstymas pagal kontrolinį rinkinio pavyzdį. Lokusai yra skirtingose chromosomose, todėl išvengiame rezultatų nuokrypio dėl lokusų sąsajų sankabos grupėse.

Naudojamoje mikrosatelitų branduolio DNR žymenų sistemoje, kuri yra viena efektyviausių populiacijų genetinės įvairovės, inbrydingo rizikos ir hibridizacijos tyrimuose, efektyviai naudojama ir nepakeičiama DNR žymenų sistema žmonių ir galvijų tėvystės ar nusikaltėlių individualaus atpažinimo testuose (Thermo Scientific). Tyrimui imtas patikimas ir daugelyje kitų studijų naudotas 18 autosominių lokusų rinkinys *Canine Genotypes Panel 1.1* (Thermo Scientific), kuri sudaro 18 autosominių mikrosatelitų lokusų: AHTk211, CXX279, REN169018, INU055, REN54P11; INRA21, AHT137; REN169D01, AHTh260; AHTk253; INU005; INU030, FH2848, AHT121, FH2054, REN162C04, AHTh171, REN247M23. Aukščiausio tikslumo tėvystės tyrimuose lokusų skaičius svyruoja nuo 15 iki 19. Šis rinkinys naudotas daugelyje tyrimų, siekiant ištirti šunų ir vilkų hibridizacijos intensyvumą (pvz. Randi et al. 2014, Hulva et al. 2017, Godinho et al. 2011). Rinkinio lokusai ir reagentai parinkti taip, kad nebūtų mikrosatelitų fragmentų stuteringo ir +A problemų alelių PGR amplifikacijos metu, kas ženkliai sumažina klaidų tikimybę alelių kapiliarinės elektroforezės vertinimo metu (*Canine Genotypes Panel 1.1*, Thermo Fisher). Mūsų tyrimui naudoti

lokusai yra skirtingose chromosomose, taip išvengiame rezultatų nuokrypio dėl lokusų sąsajų sankabos grupėse.

PGR pagausinimo reakcija buvo vykdoma 22  $\mu$ L mišinyje sudarytame iš komponentų: Canine Genotypes Master Mix 10  $\mu$ L, Canine Genotypes Panel 1.1 Primer Mix 10  $\mu$ L, 50 ng DNR matrica. Pavyzdžiai amplifikuoti termocikleryje Pene Amp PCR System 9700 Applied Biosystems. DNR PGR fragmentų pagausinimo sąlygos: pirminė denatūracija 98 °C temperatūroje – 3 min., denatūracija 98 °C temperatūroje – 15 sek., 30 ciklai, pradmenų prisijungimas 60 °C temperatūroje 1,15 min., DNR sinteze 72 °C temperatūroje po 30 s. ir galutinė DNR sinteze 72 °C temperatūroje po 5 min. inkubacija 4 °C temperatūroje.

PGR produktai buvo analizuoti kapiliarinės elektroforezės metodu genetiniu analizatoriumi Applied Biosystems ABI 310. Naudotas standartas GeneScan 500 LIZ. Aleliai įvertinti GeneMapper 4.0 programa (Applied Biosystems). Aleliai nustatyti vizualiai pagal Canine Panel 1.1 rinkinio instrukcijas.



2.1.2 pav. Pagal DNR tyrinėtų vilkų sumedžiojimo vietas 2019 m. ir suskirstymas į geografines populiacijas (populiacijų kodai paaiškinti 2.1.1 lent.).

Lokusų alelių genotipavimo klaidų tikimybė buvo patikrinta programa Micro-checker (Van Oosterhout et al. 2004): alelių motyvų atitikimas, alelių iškritimas, nuliniai aleliai (neamplifikuoti aleliai dėl mutacijų SSR lokusų pradmenų prisijungimo vietose ar alelių nustatymo netikslumų).

2.1.2 lent. DNR tyrimui naudotų 18 mikrosatelitų lokusų charakteristika. Lokuso kodas pagal Canine Panel 1.1. SSR mot. yra kartotinių sekų motyvas bazių poromis. Na- bendras alelių skaičius lokuse (suma), Ne- efektyvus alelių skaičius, uHo- stebimas heterozigotiškumas, He – lauktinas heterozigotiškumas (pakoreguotas pagal nevienodą imtį), Fis yra inbrydingo koeficientas. Dest yra diferenciacijos indeksas ir jo reikšmingumas (P Dest), rodantys skirtumų tarp vilkų ir hibridų šunų reikšmingumą. Na freq>0.1 rodo ar nulinių alelių dažnis lokuse viršijo 0.2 pagal Micro-checker rezultatus. Individų skaičius generavęs šiuos rodiklius yra 136. Lokusai yra skirtingose chromosomose.

Lokusas	SSR mot. bp	Aleliu intervalas (dažniausias alelis), bp	Na	Ho	uHe
AHTk211	2	71-93 (87)	12	0.70	0.74
CXX279	2	111-127 (117)	9	0.63	0.84
REN169018	2	145-171 (163)	12	0.74	0.86
INU055	2	187-207 (199)	7	0.62	0.67
REN54P11	2	225-241 (235)	8	0.51	0.78
INRA21	2	72-102 (96)	12	0.87	0.82
AHT137	2	124-150 (144)	12	0.45	0.75
REN169D01	2	196-218 (204)	10	0.38	0.73
AHTh260	2	232-260 (242)	14	0.54	0.82
AHTk253	2	279-299 (285)	11	0.46	0.84
INU005	2	100-132 (124)	11	0.43	0.74
INU030	2	131-155 (141)	9	0.41	0.71
FH2848	2	220-250 (234)	15	0.23	0.69
AH121	2	64-114 (102)	21	0.89	0.89
FH2054	4	139-179 (155)	11	0.83	0.82
REN162C04	2	188-210 (204)	11	0.50	0.79
AHTh171	2	215-249 (227)	14	0.44	0.75
REN247M23	2	261-283 (273)	11	0.29	0.70

- Genetinės įvairovės tyrimas

Apskaičiuoti tokie genetinės įvairovės rodikliai:

(a) alelinės įvairovės rodikliai: Na – skirtingų alelių skaičius, Ne- efektyvus alelių skaičius (jei Ne ženkliai mažesnis nei Na alelių dažniai populiacijoje nėra vienodi, t.y. dominuoja keli dažni aleliai) ir Nar – retų alelių (dažnis visoje imtyje <5 proc.) skaičius (programa GeneAlex, Peakall and Smouse 2012) ir Ar - rarifikuotas alelinis turtingumas, leidžiantis objektyviai palyginti skirtingų

imčių genetinių vienetų alelinę įvairovę, apskaičiuotas programa FSTAT V 2.9.3.2 (Goudet 1995), kaip rafifikacijos pagrindas imtas mažiausios imties populiacija ir vidutinės imties populiacija,

$Nea = 1 / (\sum p_i^2)$ , kur  $p_i^2$  yra i-tojo alelių dažnis populiacijoje pakeltas kvadratu, Sum yra suma.

(b) Giminingų tėvų poravimosi ar genetinio dreifo poveikio rezultatas - stebimas heterozigotiškumas ( $H_o$ ) (rodantis identiškus alelius individo lokuso motininėje ir tėvinėje chromosomoje),

$H_o = N_{hetero} / N$ , kur  $N_{hetero}$  heterozigotinių lokusų skaičius,  $N$  – bendras lokusų skaičius.

(c)  $H_e$  – lauktinis heterozigotiškumas (pakoreguotas pagal nevienodą imtį), rodantis lokuso alelinių dažnių vienodumą populiacijoje, t.y ar nėra reikšmingo vieno ar kelių alelių dominavimo lokuse (alelių dominavimas veda prie inbrydingo palikuonių kartoje),

$H_e = (2N / (2N-1)) * (1 - \sum p_i^2)$ , kur  $p_i^2$  yra i-tojo alelių dažnis populiacijoje pakeltas kvadratu, Sum yra suma.

(d)  $F_{is}$ - inbrydingo koeficientas (pagal *Wright* fiksacijos indeksą  $F_{is}$ ), rodantis lauktiną homozigotiškumo perteklių individo viduje lyginant su visa populiacija palikuonių kartoje dėl giminingų tėvų poravimosi (FSTAT programa). Šis rodiklis rodo nukrypimus nuo atsitiktinio poravimosi dėl giminytės, stiprios diferenciacijos ir izoliacijos, genų dreifo ir kt.  $F_{is}$  priklauso nuo  $H_e$  ir  $H_o$  santykio. Jei  $H_o$  ženkliai mažesnis nei  $H_e$ , reiškia kad populiacijoje nors ir esant aukštai alelinei įvairovei (aukštas  $H_e$ ) giminingi individai poruojasi giminingose grupėse, galimai dėl fenologinio suderinamumo (medžiai), geografinių barjerų ar bendros kilmės (žvėrys).  $F_{is}$  kinta nuo -1 iki +1, kur neigiamos reikšmės rodo heterozigotų (didesnės įvairovės individų) perteklių palikuonyse pagrinde dėl atsitiktinio poravimosi genetiškai įvairioje populiacijoje, teigiamos - homozigotų perteklių palikuonyse dėl inbrydingo:

$F_{is} = (H_e - H_o) / H_e$ , kur  $H_e$  ir  $H_o$  yra mutilokusiniai  $H_e$  ir  $H_o$  vidurkiai.

(e) Programa MIGRATE\_N ver. 3.6.11 (Beerli 2006) paskaičiuotas efektyvus populiacijos dydis ( $N_e$ ) tai yra idealios populiacijos dydis kuris turėtų tą patį genetinės įvairovės paradimo dėl inbrydingo lygį per generaciją kaip tiriamosios populiacijos. Ideali populiacija tai tokia populiacija, kurioje (a) lytiškai aktyvių negiminingų vienas kitam ir neturinčių inbrydingo patinų ir patelių skaičius yra lygus, (b) poravimasis yra atsitiktinis ir visi lytiškai brandūs populiacijos nariai veda palikuonis, (c) nėra lytinės asimetrijos, (d) besiporuojančių individų skaičius išlieka pastovus kartu kaitoje. Ne leidžia prognozuoti genetinės įvairovės erozijos greitį populiacijoje. Tikrovėje visos šios

sąlygos yra retai išpildomos. Ne žemutine riba vilkų populiacijoje gali būti laikoma 50 (Hedrick and Fredrickson, 2008; Wayne and Hedrick, 2010). COLONY Ne nustatymui naudoja mažiau nuo populiacijos amžiaus struktūros priklausomą Ne nustatymo algoritmą, kuris pagrįstas sibų porų tikimybės indekso metodu (Wang 2009). 95 proc. Ne konfidencijos intervalas apskaičiuotas daugkartinio ėminių atrankos (bootstrapping) metodu.

Programa Migrate\_N naudoja koalescentine teorija pagrįstą Bajeso maksimalios tikimybės algoritmą, kuris rekonstruoja tėvinių kartų genotipus pagal specialiai sukurta mikrosatelitų duomenims Brauno judėjimo paremtą lokusų mutacijos modelį (atitinka IAM lokusų evoliucijos modelį). Programa paskaičiuoja *Theta* populiacijos indeksą kuris naudojamas apskaičiuoti Ne diploidinių individų autosominiams lokusams pagal šią formulę:

$Ne = Theta / (4 * 10^{-3})$ , kur  $10^{-3}$  mikrosatelitų mutacijos dažnis yra per generaciją.

(f) vilko populiacijos butelio kaklelio efekto praeityje testavimas pagal lauktiną alelių dažnių pasiskirstymą kiekviename lokuse populiacijai esant mutacijų – dreifo pusiausvyroje programa BOTTLENECK 1.2.02 (Cornuet and Luikart 1999); skaičiavimas remiasi tuo, kad efektyvų populiacijos dydžio sumažėjimą patyrę populiacijos vienu metu praranda alelius ir kartu mažėjant lauktinam heterozigotiškumui (alelių dažnių vienodumui, t.y. Nei genetinės įvairovės indeksui, toliau  $es_{He}$ ). Tačiau lauktinas heterozigotiškumas mažėja lėčiau nei alelinė įvairovė, todėl esamas populiacijos lauktinas heterozigotiškumas (alelių dažnių vienodumas, t.y. Nei genetinės įvairovės indeksas) būna didesnis nei tikėtinas lauktinas heterozigotiškumas populiacijai esant mutacijų – dreifo pusiausvyroje (toliau  $tik_{He}$ ). Tam, kad statistiškai patvirtinti ar populiacijoje yra reikšmingas lokusų skaičius su  $es_{He}$  pertekliumi programa atlieka tris testus: standartizuotų skirtumų SIGN testą (Cornuet and Luikart 1996), Wilcoxon rangų testą (Luikart et al., 1997a) ir alelių modulio pokyčio L formos pasiskirstymo testą (Luikart et al, 1997b). Lyginant su kitais testais, alelių modulio pokyčio indikatorius testas rodo tik neseną butelio kaklelio efektą ir remiasi dėsningumu, kad butelio kaklelio efekto neturėjusios populiacijos esančios mutacijų-dreifo pusiausvyroje turi didelius žemo dažnio alelių kiekius. Testas suskirsto alelius į 10 dažnio klasių ir statistiškai testuoja ar dažniai pasikristo pagal normalią L formos dispersiją, kuriai būdingas mažų dažnių alelių dominavimas. Pagal koalescencijos procesu parmetą modeliavimo remiantis trimis skirtingais SSR alelių matavimo (evoliucijos) modeliais (IAM, TPM, SMM) algoritmą programa Bottleneck sudaro tikėtiną n dydžio populiacijoje rastų alelių dažnių pasiskirstymą šiai populiacijai esant mutacijų – dreifo pusiausvyroje. Toliau pagal minėtus statistinius metodus apskaičiuojama ar yra reikšmingas  $es_{He}$  nukrypimas nuo  $tik_{He}$ .

(g) migrantų skaičius tarp regionų per generaciją:

$N_m = [(1 / F_{st}) - 1] / 4$ , kur  $F_{st}$  yra regiono fiksacijos indeksas lygintas su visa imtimi

- Genetinės diferenciacijos tyrimas

Genetinės diferenciacijos (skirtumų) reikšmingumas tarp geografinių populiacijų ir regionų Lietuvoje buvo nustatytas pagal: (a) genetinės diferenciacijos indeksus, kurie skaičiuoti pagal alelių dažnių skirtumus tarp genetinių vienetų ( $D_{est}$ ,  $F_{st}$ ) ir (b) AMOVA analizę pagal genetinius atstumus tarp genetinių vienetų (regionų, populiacijų, individų,) programomis FSTAT ir GeneAlex.

- Genetinės struktūros tyrimas

Tradicinė, neutralių lokusų tokių kai mikrosatelitai UPGMA klasterinė analizė, atlikta pagal Nei (1983) genetinius atstumus tarp populiacijų, pakoreguotus pagal nevienodas populiacijų imtis programa POPTREE2, klasterių reikšmingumas testuotas  $10^5$  iteracijų tarp lokusų (atsitiktiniai imama 15 lokusų ir apskaičiuojama atstumų tarp populiacijų matrica, procesas kartojamas  $10^5$  kartų gaunant  $10^5$  atstumų matricų, nustatoma hierarchinė struktūra, kuri gauta dažniausiai ir kiekvienai klasterinės dendrogramos šakai apskaičiuojamas procentas iteracijų davusių šią hierarchinę struktūrą, *bootstrap*s).

Tikslesniam genetinės struktūros nustatymui naudojome neparametrinį Bajeso klasterinės analizės metodą pagal Markovo grandinių iteracijas. Bajeso klasterinė analizė pagal STRUCTURE ver. 2.2.3 (Pritchard et al. 2000) programos algoritmus suskirstyto vilkų individus (118 vnt. be hibridų) į grupes, kurių skaičius  $K$  užduodamas programai (pvz. 5 grupes), apskaičiuojant tikimybes kiekvienam individui priklausyti vienai iš  $K$  grupių pagal jo DNR lokusų alelių dažnius. Bajeso algoritmas skirsto individus į grupes pagal jų genetinį panašumą iteratyviu (kartotiniu) metodu pagal Markovo grandinių iteracijos algoritmą ir Monte Carlo atsitiktinių pavyzdžių ėmimo algoritmą (vad. MCMC algoritmu). Pradžioje algoritmas priskiria individus į užduotą grupių skaičių ( $K$ , pvz.  $K=3$ ) atsitiktinai, po to nustato genetinių variantų dažnius grupėse ir perskirsto juos iš naujo į  $K$  grupes tačiau jau pagal jų genetinį panašumą. Šis pradinis perskirstymo ir priskyrimo analizės etapas vadinamas *burn in* periodu, kurio paskirtis yra sudaryti  $K$  grupių genetinį identitetą (stat. vad. *posterior* pasiskirstymą) tolesniam individų skirstymui. Toliau pradedamas MCMC iteracijų procesas ir kartojamas apie 100 000 iteracijų, kol pasiekiamas individų pasiskirstymo į  $K$  grupes pastovumas (konvergacija) ir pagal priskyrimo tam tikrai grupei skaičių apskaičiuojama tikimybė individo priklausymui šiai grupei. Tai viena tiksliausių plačiausiai naudojamų DNR duomenų klasterinės analizės metodikų (Liliana Porras-Hurtado et al., 2013). Mūsų tyrime mes naudojome 100 000 MCMC iteracijų ir 100 000 žingsnių ilgio *burn-in* periodą tikslu suskirstyti vilkų populiaciją

į K nuo 1 iki 10 grupių, po 10 pakartojimų kiekvienai grupei. Analizės atlikome pagal giminingų alelių dažnių ir admiksijos algoritmus, be *loc prior* funkcijos. Labiausiai tikėtinas genetinių grupių K skaičius nuo 2 iki 10 Lietuvos populiacijoje buvo nustatytas statistiškai pagal programos STRUCTURE\_HARVESTER (Earl and Von Holdt 2012) apskaičiuotą deltaK kriterijų ir individų priskyrimo tikimybių paklaidų mažėjimą, bei priskyrimo patikimumo indeksą (skaičius individų su 0,5 ir > priskyrimo tam tikram grupei K tikimybe).

- Sibų ryšių nustatymas

Šia analize pagal DNR duomenis siekėme nustatyti sibų ir pusiau sibų individus rekonstruoti jų tėvų genotipus pagal programos COLONY V2.0.5.3 (Jones and Wang 2010) Bajeso maksimalios tikimybės algoritmus, kurie rekonstruoja duotos populiacijos individų tėvinius genotipus ir priskiria jiems palikuonius kaip pusiau sibų (poligamijos modelis) ar pilnus sibų (monogamijos modelis). Mes naudojome abiejų lyčių monogamijos modelį.

- Hibridizacija su šunimis

Šios analizės tikslas buvo nustatyti genetinius panašumus tarp 2019–2020 metų medžioklės sezono sumedžiotų vilkų ir specialiai šiam tyrimui atrinktų 18 referencinių šunų individų pagal DNR žymenis 18 mikrosatelitų lokusų ir apskaičiuojant hibridizacijos tikimybės kiekvienam vilko individui bei nustatyti šalies regionus, kur šios tikimybės yra santykinai didesnės. Tikimybių apskaičiavimui naudojome Bajeso genetinio priskyrimo analizę pagal GENECLASS (Piry et al. 2004) programą. Naudojome Bajeso vilko individų priskyrimo šunų populiacijai algoritmus (Rannala and Mountain 1997), kiekvienam individui apskaičiuojant priskyrimo tikimybės pagal 10000 Monte Karlo permutacijų (Peatkau et al. 2004).

Kuo didesnė vilko individui tikimybė priklausyti šunų genetinei grupei, tuo stipresnė jo protėvių poravimosi su šunimis tikimybė. Jei tikimybė viršija 50 proc. tikėtinas poravimasis tėvų ar senelių kartose. Jei mažesnei nei 50 proc. hibridizacija vyko anksčiau nei senelių kartoje ar individai yra įvairaus lygmens hibridų palikuonys. Pagal Godinho et al. (2011), jei priskyrimo tikimybės viršija 10 proc., yra aukšta tikimybė, kad individas yra hibridas.

- **2.2. Amžiaus tyrimas**

Pagal dantų kaitą galima nustatyti tik jauno gyvūno amžių. Gyvūno amžių pagal dantų nudilimą galima nusakyti tik apytikriai. Dantų dilimo intensyvumas susijęs su skirtinga gyvūnų gyvenamąja aplinka, skirtinga mityba, mechaniniais pažeidimais, ligomis, genetika ir danties



mineraline sudėtimi. Visi šie veiksniai įtakoja nevienodą danties dilimą gyvenimo bėgyje. Norint tiksliai nusakyti amžių, tenka pasitelkti kitus, amžių nustatyti padedančius, požymius.

Danties šaknis yra padengta plonu cementito sluoksniu, kuris padeda laikyti žandikaulyje įtvirtintą dantį. Mechaninis (intensyvaus kramtymo metu) ir temperatūrinis (šiltasis/šaltasis metų laikas) stresas formuoja skirtingo tankumo ir mineralizacijos cementito sluoksnį. Šie metiniai cementito sutankėjimai sudaro „metinius“ žiedus aplink danties šaknį.

Vytauto Didžiojo universiteto, Žemės ūkio akademijos Medžioklėtyros laboratorijoje buvo atlikti sumedžiotų vilkų dantų histologiniai tyrimai amžiui nustatyti. Diskinio mikrotomo pagalba atlikti tikslūs pjūviai. Tinkamoje vietoje atpjautas plonas danties šaknies sluoksnis. Vėliau, paruošus bandinį ir jį mikroskopuojant, analizuoti cementito sluoksniai. Suskaičiuoti matomi sutankėjimo žiedai ir įvertintas amžius (2.2.1 pav.). Vilkų atveju prie matomų metinių rievių skaičiaus „pridėta“ dar viena rievė (vieni metai), nes pirmąją gyvenimo žiemą rievė nesusidaro.



2.2.1 pav. Metinės rievės danties cementito sluoksnyje (aštuonių metų amžiaus vilko danties pjūvio vaizdas per mikroskopą)



- **2.3. Reprodukcijos tyrimas**

Reprodukcijos tyrimams buvo atveriamos sumedžiotų vilkų patelių gimdos. Tose gimdos vietose, prie kurių paskutinio nėštumo metu buvo prisitvirtinę embrionai, išlieka tamsesnės dėmės (Strand *et al.*, 1995; Kojola, 2005; Santicchia *et al.*, 2105). Suskaičiavus tamsias dėmes, nustatomas augusių embrionų skaičius paskutinio patelės nėštumo metu.

- **2.4. Pranešimų apie didžiųjų plėšrūnų buvimą registravimo visus metus anketų duomenų analizė**

Analizei naudoti Valstybinės saugomų teritorijų tarnybos prie Aplinkos ministerijos iki 2020 m. rugsėjo 1 d. surinkti pranešimų apie didžiųjų plėšrūnų buvimą registravimo visus metus anketų duomenys

([https://biomon.lt/maps/index.php/view/map/?repository=zvrpedliz&project=zveriu\\_pranesimai\\_lizmapui](https://biomon.lt/maps/index.php/view/map/?repository=zvrpedliz&project=zveriu_pranesimai_lizmapui)). Į analizę įtraukti atvejai, įvykę nuo 2019 m. rugsėjo 1 d. Nustatant vilko populiacijos erdvinį paplitimą (arealą), populiacijos dydį (vilkų šeimų ir reprodukcijos atvejų skaičių) bei kitus populiacijos parametrus, taip pat naudoti ir apskaitos pagal pėdsakus sniege ([https://biomon.lt/maps/index.php/view/map/?repository=zvrpedsnieg&project=zveriu\\_pedsakai\\_sniege\\_lizmapui](https://biomon.lt/maps/index.php/view/map/?repository=zvrpedsnieg&project=zveriu_pedsakai_sniege_lizmapui)) bei 2019–2020 metų medžioklės sezono metu sumedžiotų vilkų duomenys ([https://biomon.lt/maps/index.php/view/map/?repository=zvrsumedzvilk&project=sumedzioti\\_vilkai\\_lizmap](https://biomon.lt/maps/index.php/view/map/?repository=zvrsumedzvilk&project=sumedzioti_vilkai_lizmap)).

- **2.5 Medžiojamųjų gyvūnų apskaitos pagal pėdsakus sniege duomenų analizė**

Analizei naudoti Valstybinės saugomų teritorijų tarnybos prie Aplinkos ministerijos iki 2020 m. balandžio 10 d. surinkti medžiojamųjų gyvūnų apskaitos pagal pėdsakus sniege duomenys ([www.biomon.lt](http://www.biomon.lt)). Apskaičiuota kanopinių žvėrių ir didžiųjų plėšrūnų santykinė gausa, įvertintas pėdsakų dažnumo indeksas šalies mastu ir atskirose apskrityse. Pėdsakų dažnumo indeksas paskaičiuotas pagal Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2018 m. vasario 12 d. įsakymo Nr. D1-98 „Dėl Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2000 m. birželio 27 d. įsakymo Nr. 258 „Dėl medžioklės Lietuvos Respublikos teritorijoje taisyklių patvirtinimo“ pakeitimo 42<sup>1</sup> punktu Medžioklės Lietuvos Respublikos teritorijoje taisyklių 5 priedo 18.1 ir 18.2 punktus:

18.1. 1 km pėdsakų maršruto, kuris nustatomas aptiktų pėdsakų skaičių padalijus iš maršruto ilgio; 18.2. 1 km pėdsakų maršruto per 24 val., kuris nustatomas aptiktų pėdsakų skaičių padalijus iš maršruto ilgio ir parų, praėjusių po sniego iškritimo, skaičiaus.

## • Rezultatai ir jų aptarimas

### • Mėginių surinkimo ir grąžinimo darbų apimtys

Vadovaujantis Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2019 m. spalio 14 d. įsakyму Nr. D1-608 „Dėl vilkų sumedžiojimo per 2019–2020 metų medžioklės sezoną limito patvirtinimo“ buvo patvirtintas 120 vilkų sumedžiojimo limitas. 2019–2020 metų vilkų medžioklės sezono metu buvo sumedžioti 123 vilkai.

**Mėginių surinkimas.** Vadovaujantis Medžioklės Lietuvos Respublikos teritorijoje taisyklių 9 priedo nurodymais bei pirkimo-pardavimo sutartimi Nr. F4-2019-155, buvo susisiepta bei atvykta pas kiekvieną vilką sumedžiojusį medžiotoją. Tokiu būdu buvo surinkta 118 sumedžiotų vilkų raumens pavyzdžių, 118 sumedžiotų vilkų apatinių iltinių dantų bei 54 sumedžiotų vilkų patelių gimdos (lentelė 3.1).

Lentelė 3.1. Sumedžiotų vilkų mėginių surinkimo ir sugrąžinimo rezultatai (neįskaičiuotas 2019-04-10 žuvęs vilkas, nes jo tyrimai atlikti pernai)

Paimti mėginiai	Maksimali galima paslaugų apimtis, vnt.	Paimtų mėginių skaičius		Sugrąžintų mėginių skaičius	
		vnt.	dalys nuo visų sumedžiotų, %	vnt.	%
Raumens gabalėlis	122	118	96,7	–	–
Iltinis dantis	122	118	96,7	118	100
Gimda	56	54	96,4	–	–

8 medžiotojai dėl įvairių priežasčių pateikė ne visus tyrimams reikalingus sumedžiotų vilko mėginius. Viso nepateikta: 4 raumens mėginiai, 4 iltiniai dantys ir 2 patelių gimdos (lentelė 3.2).

Lentelė 3.2. Kiekvieno sumedžiotto vilko mėginių pateikimas (♂ – patinas, ♀ – patelė, 1 – mėginys pateiktas, n – mėginys nepateiktas)

Eil. Nr.	Mėginio kodas	Rajonas	Sumedžiojimo data	Medžioklės plotų vienetas	Lytis DNR	Raumuo	Iltis	Gimda	Gimdos atitikimas reikalavimams	Medžiotojas
1	22	Akmenė	2020-01-04	Luokava	♀	1	1	1	neteisingai	R. P.
2	93	Akmenė	2020-01-11	Atrama	♂	1	1	nereikia		J. I.
3	42	Alytus	2019-11-23	Varčia	♀	1	1	1	teisingai	V. A.
4	40	Alytus	2020-01-08	Simnas	♂	1	1	nereikia		M. M.
5	54	Anykščiai	2019-12-14	Viešintos	♀	1	1	1	teisingai	L. S.
6	2	Anykščiai	2019-12-23	Svėdasai	♂	1	1	nereikia		J. P.
7	10	Anykščiai	2020-01-04	Šležai	♂	1	1	nereikia		S. E.
8	66	Biržai	2019-10-02	Kupreliškis	♀	1	1	1	neteisingai	D. E.
9	63	Biržai	2019-10-17	Būginiai	♂	1	1	nereikia		E. S.
10	62	Biržai	2019-10-18	Būginiai	♂	1	1	nereikia		E. S.
11	64	Biržai	2019-12-16	Būginiai	♂	1	1	nereikia		L. L.
12	41	Druskininkai	2019-11-03	Leipalingis	♂	1	1	nereikia		R. R.
13	102	Elektrėnai	2019-11-06	Jegelonių PMP	♂	1	1	nereikia		M. S.
14	112	Ignalina	2019-10-30	Miškininkas	♀	1	1	1	neteisingai	E. A.
15	7	Ignalina	2019-11-09	Didžiagiris	♂	1	1	nereikia		R. S.
16	8	Ignalina	2019-11-09	Didžiagiris	♀	1	1	1	teisingai	R. S.
17	1	Ignalina	2019-12-21	Didžiagiris	♀	1	1	1	teisingai	D. T.
18	9	Ignalina	2019-12-23	Mielagėnai-1	♂	1	n	nereikia		A. P.
19	67	Jonava	2019-11-09	Žeimiai	♀	1	1	1	neteisingai	V. Š.
20	68	Jonava	2019-12-07	Žeimiai	♀	1	1	1	neteisingai	S. D.
21	69	Jonava	2019-12-28	Žeimiai	♂	1	1	nereikia		V. G.
22	26	Joniškis	2019-11-02	Žiemgala	♂	1	1	nereikia		D. M.
23	27	Joniškis	2019-12-29	Žeimių	♂	1	1	nereikia		G. V.

24	113	Jurbarkas	2019-10-17	Alsa	♀	1	1	1	neteisingai	M. B.
25	11	Jurbarkas	2019-11-21	Balandinė	♀	n	1	1	neteisingai	L. S.
26	120	Kaišiadorys	2019-09-13	V.Kerševičiaus	♂	n	1	nereikia		V. K.
27	111	Kaišiadorys	2019-10-19	Palomenys	♀	1	1	1	teisingai	J. K.
28	107	Kaišiadorys	2019-12-27	Neris	♂	1	1	nereikia		D. M.
29	65	Kėdainiai	2019-10-22	Šlapaberžė	♀	1	1	1	neteisingai	L. S.
30	108	Kėdainiai	2019-10-24	Šlapaberžė	♂	1	1	nereikia		L. D.
31	109	Kėdainiai	2019-10-24	Ažuolas	♀	1	1	1	neteisingai	G. S.
32	110	Kėdainiai	2019-11-16	Balsiai	♂	1	1	nereikia		A. L.
33	115	Kėdainiai	2019-11-16	Pašušvys	♀	1	1	1	teisingai	G. P.
34	92	Kelmė	2019-11-16	Kražiai	♂	1	1	nereikia		P. M.
35	17	Klaipėda	2019-11-03	Ašpurviai	♀	1	1	1	neteisingai	G. R.
36	19	Klaipėda	2019-11-16	Tauras	♂	1	1	nereikia		V. S.
37	20	Klaipėda	2019-11-16	Tauras	♂	1	1	nereikia		V. G.
38	15	Klaipėda	2019-11-30	Tauras	♂	1	1	nereikia		T. V.
39	16	Kretinga	2019-11-09	PMP Žalgiris	♂	1	n	nereikia		S. S.
40	34	Kretinga	2019-12-21	Palanga	♂	1	1	nereikia		V. L.
41	56	Kupiškis	2019-10-16	Vidugiriai	♂	1	1	nereikia		I. M.
42	57	Kupiškis	2019-10-16	Vidugiriai	♀	1	1	1	neteisingai	I. M.
43	55	Kupiškis	2019-10-20	Vidugiriai	♂	1	1	nereikia		A. S.
44	53	Kupiškis	2019-12-20	Giria	♀	1	1	n		J. M.
45	38	Lazdijai	2019-10-16	Šilelis	♂	1	1	nereikia		J. P.
46	37	Lazdijai	2019-11-14	Ažuolynas	♀	1	1	1	neteisingai	K. U.
47	37A	Lazdijai	2019-11-14	Ažuolynas	♀	1	1	1	teisingai	K. U.
48	39	Lazdijai	2019-11-29	Giraitė	♂	1	1	nereikia		D. R.
49	43	Lazdijai	2020-01-06	PMP Kalniškės	♀	1	1	1	neteisingai	S. L.
50	35	Marijampolė	2019-11-13	Šlavanta	♀	n	n	n		R. R.
51	36	Marijampolė	2019-12-21	Jurgežeriai	♀	1	1	1	teisingai	S. B.

52	106	Mažeikiai	2019-11-02	Židikai	♀	1	1	1	neteisingai	L. G.
53	105	Mažeikiai	2019-11-02	Židikai	♂	1	1	nereikia		L. G.
54	60	Pakruojis	2019-11-02	Margiai	♂	1	n	nereikia		A. M.
55	58	Panevėžys	2019-11-14	Kranklys	♂	1	1	nereikia		S. S.
56	59	Panevėžys	2019-11-14	Kranklys	♀	1	1	1	neteisingai	S. S.
57	52	Panevėžys	2019-12-14	Maženiai	♀	1	1	1	neteisingai	A. Z.
58	48	Panevėžys	2020-01-03	PMP Panevėžio urėdijos	♀	1	1	1	neteisingai	A. G.
59	61	Pasvalys	2019-12-21	Pasvalio	♀	1	1	1	neteisingai	G. V.
60	117	Prienai	2019-12-21	Rotary Gamta	♂	1	1	nereikia		J. R.
61	116	Radviliškis	2019-12-19	Ažuolas	♀	1	1	1	neteisingai	E. B.
62	N	Raseiniai	2019-04-10	Papartis	tyrimai atlikti pernai					L. Ž.
63	114	Rietavas	2019-10-26	Jūra	♂	1	1	nereikia		M. K.
64	32	Rietavas	2019-10-26	Girėnai	♀	1	1	1	neteisingai	V. Z.
65	31	Rietavas	2019-11-19	Jūra	♀	1	1	1	neteisingai	E. K.
66	73	Rokiškis	2019-10-19	Sartai	♀	1	1	1	neteisingai	A. S.
67	74	Rokiškis	2019-10-22	Sartai	♀	1	1	1	neteisingai	A. S.
68	75	Rokiškis	2019-10-22	Sartai	♀	1	1	1	neteisingai	A. S.
69	76	Rokiškis	2019-10-23	Sartai	♂	1	1	nereikia		A. S.
70	84	Rokiškis	2019-11-03	Juodupė	♀	1	1	1	teisingai	S. L.
71	49	Rokiškis	2019-11-07	Alseta	♂	1	1	nereikia		A. A.
72	77	Rokiškis	2019-11-26	Sartai	♀	1	1	1	neteisingai	A. S.
73	72	Rokiškis	2019-11-30	Suvainiškis	♂	1	1	nereikia		V. S.
74	78	Rokiškis	2019-12-02	Sakalas	♀	1	1	1	neteisingai	J. S.
75	71	Rokiškis	2019-12-04	Juodupė	♂	1	1	nereikia		R. A.
76	70	Rokiškis	2019-12-04	Juodupė	♂	1	1	nereikia		R. A.
77	85	Rokiškis	2019-12-04	Juodupė	♀	1	1	1	neteisingai	S. L.
78	51	Rokiškis	2019-12-07	Alseta	♂	1	1	nereikia		D. V.
79	119	Rokiškis	2019-12-29	Salagirio	♂	1	1	nereikia		M. B.

80	50	Rokiškis	2020-01-05	Alseta	♀	1	1	1	neteisingai	A. A.
81	33	Skuodas	2019-10-01	Kretingos m.u. PMPV	♂	1	1	nereikia		V. K.
82	100	Šalčininkai	2019-10-20	Sakalas	♂	1	1	nereikia		E. T.
83	45	Šalčininkai	2019-11-06	Slanka	♀	1	1	1	neteisingai	V. K.
84	97	Šalčininkai	2019-11-16	Volungė	♀	1	1	1	neteisingai	J. L.
85	46	Šalčininkai	2019-11-17	Kernavas	♀	1	1	1	neteisingai	S. B.
86	47	Šalčininkai	2020-01-04	Kernavas	♂	1	1	nereikia		V. L.
87	24	Šiauliai	2019-11-15	Kuršėnų m.u.	♂	1	1	nereikia		P. R.
88	90	Šiauliai	2019-11-22	Aitra	♂	1	1	nereikia		D. U.
89	25	Šiauliai	2019-12-07	Tyrelio	♀	1	1	1	neteisingai	M. D.
90	21	Šiauliai	2019-12-21	Pakapė	♂	1	1	nereikia		D. P.
91	23	Šilalė	2019-10-19	Medvėgalis	♀	1	1	1	neteisingai	R. Š.-S.
92	18	Šilutė	2019-11-16	Vainutas	♂	1	1	nereikia		A. E.
93	96	Širvintos	2019-11-16	Giedra	♂	1	1	nereikia		A. G.
94	86	Širvintos	2019-12-09	Kieliai	♂	1	1	nereikia		H. A.
95	87	Švenčionys	2019-10-19	Trako broliai	♀	1	1	1	neteisingai	G. Z.
96	88	Švenčionys	2019-10-19	Trako broliai	♂	1	1	nereikia		G. Z.
97	79	Švenčionys	2019-11-23	Žeimena	♀	1	1	1	teisingai	M. P.
98	80	Švenčionys	2019-12-03	Svirkų	♂	1	1	nereikia		V. T.
99	81	Švenčionys	2019-12-03	Svirkų	♂	1	1	nereikia		V. T.
100	82	Švenčionys	2019-12-03	Reškutėnai	♂	1	1	nereikia		P. T.
101	89	Švenčionys	2019-12-15	Trako broliai	♂	1	1	nereikia		G. Z.
102	83	Švenčionys	2020-01-05	Švenčionių	♀	1	1	1	neteisingai	R. M.
103	12	Tauragė	2019-10-22	Norkiškės	♂	1	1	nereikia		V. S.
104	13	Tauragė	2020-01-08	Dabrupinė	♂	1	1	nereikia		E. J.
105	14	Tauragė	2020-01-08	Dabrupinė	♀	1	1	1	neteisingai	E. J.
106	103	Telšiai	2019-10-23	Nevarėnai	♂	1	1	nereikia		S. M.
107	104	Telšiai	2019-12-28	Nevarėnai	♂	1	1	nereikia		A. T.

108	29	Ukmergė	2019-11-02	Laičiai	♂	1	1	nereikia		A. K.
109	30	Ukmergė	2019-11-02	Laičiai	♀	1	1	1	neteisingai	A. K.
110	28	Ukmergė	2019-11-24	Žemaitkiemis	♂	1	1	nereikia		P. U.
111	98	Ukmergė	2019-12-03	Žilvelio	♀	1	1	1	neteisingai	Š. Ž.
112	99	Ukmergė	2019-12-11	Vepriai	♀	1	1	1	neteisingai	Š. V.
113	3	Utena	2019-10-07	Krašuona	♀	1	1	1	teisingai	R. M.
114	44	Varėna	2019-11-16	Dainava	♀	1	1	1	neteisingai	R. U.
115	91	Varėna	2019-11-30	Merkinė	♂	1	1	nereikia		A. B.
116	121	Varėna	2020-02-25	Pirčiupiai	♀	1	1	1	teisingai	R. G.
117	118	Vilkaviškis	2019-12-27	Giria	♂	1	1	nereikia		J. V.
118	94	Vilnius	2019-10-11	Melkio	♂	n	1	nereikia		E. M.
119	101	Vilnius	2019-10-26	Ažuolas	♂	1	1	nereikia		J. B.
120	4	Zarasai	2019-08-05	Kavoliai	♂	1	1	nereikia		A. B.
121	95	Zarasai	2019-10-26	Kavoliai	♀	1	1	1	teisingai	V. T.
122	6	Zarasai	2019-11-03	Gražutė	♀	1	1	1	neteisingai	J. Č.
123	5	Zarasai	2020-01-02	Saviekas	♂	1	1	nereikia		S. D.

**Mėginių gražinimas.** Pagal taisykles, tyrėjai, atsipjovę tyrimams reikalingą iltinio danties šaknies dalį, per numatytą laiką sugražino medžiotojams visus tyrimams paimtus iltinius dantis. Iš viso tyrimams buvo paimta 118 iltinių dantų bei po tyrimų grąžinta 118 iltinių dantų.

**Mėginių atitikimas reikalavimams.** Surinkti raumens gabalėliai ir gimdos turėjo būti laikomi šaldiklyje iki tyrėjas atvažiuos paimti mėginių. Taigi visi šie mėginiai buvo perduoti sušaldyti, todėl nebuvo galimybės iš karto patikrinti jų būklės.

Laboratorijoje pradėjus vykdyti mėginių tyrimus, paaiškėjo, kad visi raumens gabalėliai buvo paimti ir saugoti tinkamai. Iltinių dantų šaknų nuopjovos tyrimams buvo tinkamos. Tyrimams pateikta 54 vilkų patelių gimdos, tačiau laboratorijoje po mėginių atšildymo, pradėjus analizę, paaiškėjo, kad tik 13 gimdų paimta teisingai.

**Mėginių perdavimo–priėmimo pažymos** (244 vnt.) pateiktos prieduose.

- **3.1 Vilkų populiacijos genetinės įvairovės geografinis pasiskirstymas Lietuvoje**
- 3.1.1 Mikrosatelitų lokusų charakteristika

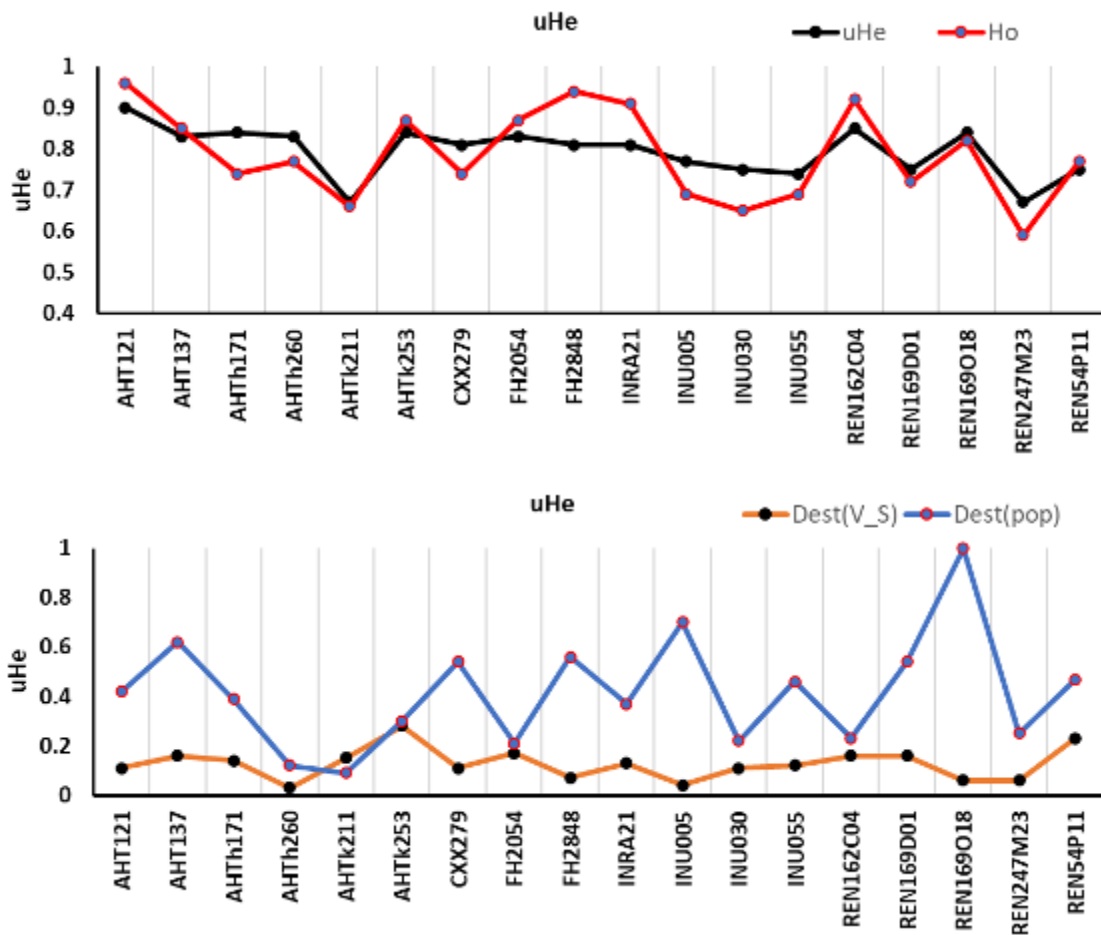
*Micro-checker* testas parodė, kad nulinių alelių dažnis buvo žemas ir neviršijo 0.1 ribos nei vienam iš 18 lokusų. Todėl tikėtina, kad nuliniai aleliai neturėjo reikšmingos įtakos inbrydingo ir stebimo heterozigotiškumo vertės bei nuo jų priklausantiems indeksams (3.1.1 lent.).

3.1.1 lent. Lokusų charakteristika. Na skirtingų alelių skaičius, Ho ir He – stebimas ir laukiamas heterozigotiškumas. Fis inbrydingo koeficientas. Dest – diferenciacijos indeksai ir jų reikšmingumas ( $P_{Dest}$ ) tarp vilkų - šunų ( $D_{est(V\_S)}$ ) ir tarp vilkų populiacijų ( $D_{est(reg)}$ ). Paskutiniame stulpelyje pateiktas *Micro-checker* programa Van Oosterhout metodu apskaičiuotas nulinių alelių dažnis. Jei nulinių alelių (nulinis alelis - vieno iš homologinių alelių amplifikacijos nebuvimas dėl mutacijų ar alelių vertinimo netikslumų) dažnis lokuse neviršija 0.01, jų poveikis stebimo heterozigotiškumo ir kitiems susijusiems rodikliams yra nereikšmingas (Van Oosterhout et al. 2006).

Lokusas	SSR mot. bp	Alelių intervalas (dažniausias alelis), bp	Na	Ne/Na	Ho	uHe	Fis	Dest(V_S)	PDest	Dest(pop)	PDest(pop)	Nulinių alelių dažnis
AHT121	2	64-114 (102)	23	0.4	0.96	0.90	-0.06	0.42	0.000	0.11	0.000	-0.03
AHT137	2	124-150 (144)	11	0.5	0.85	0.83	-0.04	0.62	0.000	0.16	0.000	-0.02
AHT171	2	215-249 (227)	12	0.5	0.74	0.84	0.11	0.39	0.000	0.14	0.000	0.05
AHT260	2	232-260 (242)	13	0.5	0.77	0.83	0.07	0.12	0.014	0.03	0.110	0.03
AHT211	2	71-93 (87)	8	0.4	0.66	0.67	0.01	0.09	0.026	0.15	0.000	0.00
AHT253	2	279-299 (285)	11	0.6	0.87	0.84	-0.03	0.30	0.000	0.28	0.000	-0.02
CXX279	2	111-127 (117)	9	0.6	0.74	0.81	0.08	0.54	0.000	0.11	0.000	0.04



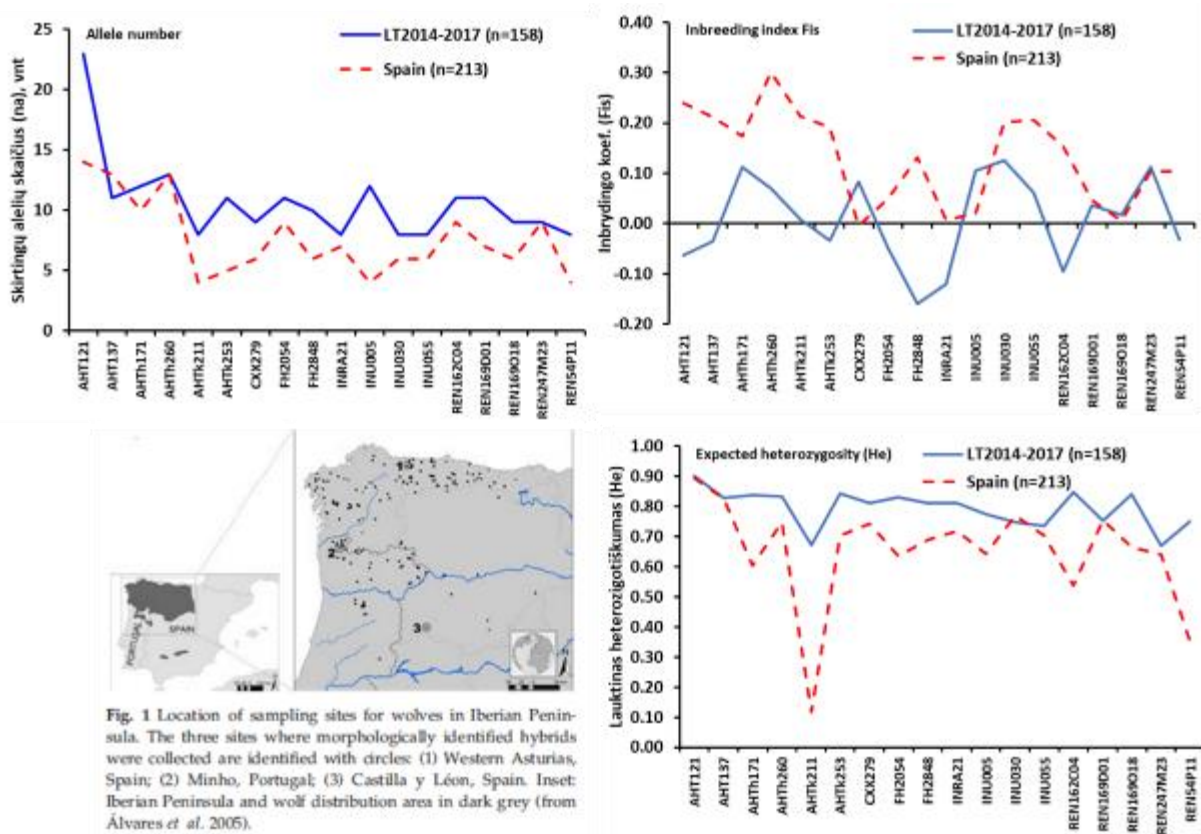
FH2054	4	139-179 (155)	11	0.5	0.87	0.83	-0.05	0.21	0.002	0.17	0.000	-0.03
FH2848	2	220-250 (234)	10	0.5	0.94	0.81	-0.16	0.56	0.000	0.07	0.011	-0.08
INRA21	2	87-101(97)	8	0.7	0.91	0.81	-0.12	0.37	0.000	0.13	0.001	-0.06
INU005	2	100-132 (124)	12	0.4	0.69	0.77	0.11	0.70	0.000	0.04	0.070	0.05
INU030	2	131-155 (141)	8	0.5	0.65	0.75	0.13	0.22	0.001	0.11	0.002	0.06
INU055	2	187-207 (199)	8	0.5	0.69	0.74	0.06	0.46	0.000	0.12	0.001	0.03
REN162C04	2	188-210 (204)	11	0.6	0.92	0.85	-0.09	0.23	0.000	0.16	0.000	-0.05
REN169D01	2	145-171 (163)	11	0.4	0.72	0.75	0.04	0.54	0.000	0.16	0.000	0.02
REN169O18	2	196-218 (204)	9	0.7	0.82	0.84	0.02	1.00	0.000	0.06	0.033	0.01
REN247M23	2	261-283 (273)	9	0.3	0.59	0.67	0.11	0.25	0.000	0.06	0.041	0.05
REN54P11	2	225-241 (235)	8	0.5	0.77	0.75	-0.03	0.47	0.000	0.23	0.000	-0.02
Bendras	-	-	192	-	-	-	-	0.42	0.000	0.12	0.000	-



3.1.1 pav. Lokusų polimorfiškumas ir geba diferencijuoti tarp vilkų ir šunų bei tarp vilkų populiacijų Lietuvoje.

Mūsų tyrime visi 18 lokusų buvo palyginti aukšto polimorfiškumo nuo 7 iki 21 skirtingų alelių lokuse, viso 2019-2020 metų medžioklės sezono sumedžiotų 118 vilkų imties 18-koje genominių autosominių rasti net 192 skirtingų alelių, tai aukšto polimorfizmo medžiaga jų genetinės įvairovės, struktūros, tėvystės ir hibridizacijos tyrimui (Randi et al 2014).

Reikšmingų sąsajų tarp lokusų polimorfiškumo ir galios diferencijuoti vilkus-šunis ar diferencijuoti vilkų populiacijas nenustatėme (3.1.1 pav.). Tai reiškia, kad vilkų populiacijos genetinės struktūros analizėje yra vertingi tiek aukšto, tiek žemesnio polimorfiškumo lokusai. Visuose lokusuose diferenciacija tarp vilkų ir šunų buvo reikšmingai stipresnė nei tarp vilkų populiacijų Lietuvoje (3.1.1 pav.). Genetinė diferenciacija tarp šunų ir vilkų buvo labai stipri daugumoje lokusų (3.1.1 lent.). Genetinė diferenciacija tarp Lietuvos vilko populiacijų taip pat buvo reikšminga (tik 2 lokusai iš 18 rodė nereikšmingą diferenciaciją 3.1.1 lent.). Tai rodo, kad mūsų naudotų lokusų rinkinys yra tinkamas tiek vilko hibridizacijos tiek genetinių skirtumų tyrimams. Plačiau apie tai sekančiuose skyriuose.



3.1.2 pav. Pagrindinių genetinės įvairovės rodiklių palyginimas tarp Lietuvos ir Ispanijos vilkų populiacijų pagal lokusus. Imties dydžiai buvo 258 Lietuvos populiacijoje ir 213 Ispanijos poliucijoje (Ispanijos vilkų duomenys iš Godinho et al. 2011).

Palyginome mūsų medžiagos ir Ispanijoje Godinho et al. (2011) atlikto vilkų tyrimo tais pačiais mikrosatelitų lokusais lokusų genetinio polimorfizmo rodiklius (3.1.2 pav.). Palyginimas parodė, kad (a) alelių skaičiaus ir bendros genetinės įvairovės indekso ( $H_e$ ) lokusų reikšmės stipriai siejasi tarp Lietuvos ir Ispanijos medžiagos, kas rodo panašų lokusų genominę priklausomybę, bei laboratorinių analizų patikimumą, (b) inbrydingo koeficiento ( $F_{is}$ ) reikšmės tarp Lietuvos ir Ispanijos lokusų skiriasi, kas rodo skirtumus tarp šalių vilkų populiacijų poravimosi dėsningumų ir evoliucinių jėgų poveikio ir (c) Ispanijos vilkų populiacija nusileidžia visuose trijuose pagrindiniuose genetinės įvairovės rodikliuose – žemesnė alelinė įvairovė, mažesnis Nei genetinės įvairovės indeksas ( $H_e$ ) ir didesnis inbrydingas (3.1.2 pav.).

### • 3.1.2 Genetinė įvairovė ir inbrydingas

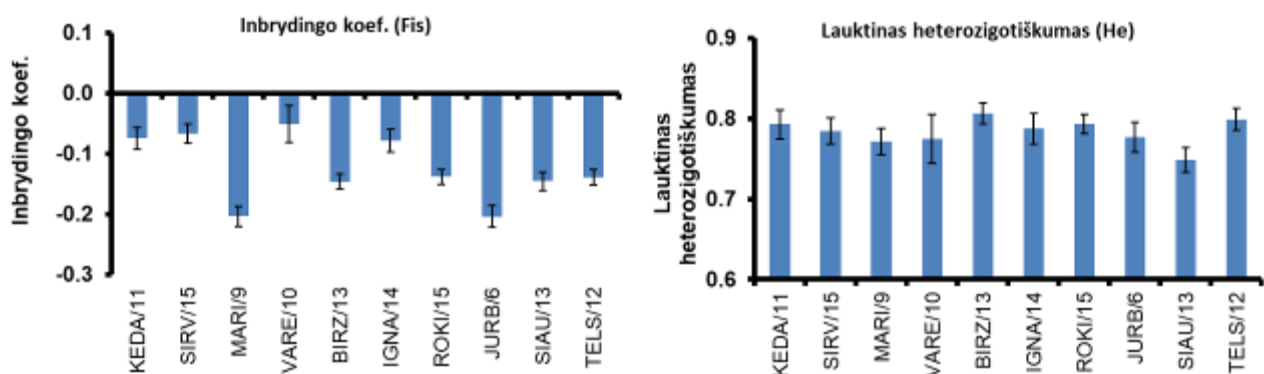
Pradėsime nuo vieno iš svarbiausių populiacijos genetinės įvairovės rodiklių – efektyvaus populiacijos dydžio ( $N_e$ ). Šis rodiklis parodo koks yra duotos populiacijos genetinės įvairovės atitikmuo idealiai genetinės įvairovės požiūriu populiacijai, kuri suprantama kaip atsitiktinės kryžmakaitos populiacija, kur lyčių santykis lygus, kartos nepersidengia, visi individai veda po lygų skaičių palikuonių, yra be inbrydingo, negiminingi vienas kitam ir populiacijos dydis yra pastovus (Waples 2005). Kitaip tariant,  $N_e$  parodo, kokio dydžio ideali populiacija (supaprastintai, negiminingų ir be inbrydingo individų skaičius) prarastų genetinę įvairovę, tokiu pačiu greičiu, kaip tiriamoji populiacija. Mažo  $N_e$  dydžio populiacijai gresia genetinės įvairovės erozija dėl genetinio dreifo, adaptacinio potencialo mažėjimas ir inbrydingo depresija. Mūsų skaičiavimai, pagal Migrate\_N algoritmą parodė, kad 2019–2020 m. sezono demografinėi imčiai  $N_d = 118$  vnt. efektyvus populiacijos dydis  $N_e$  yra 36 individai (2018–2019 m. sezono  $N_d = 99$  imčiai  $N_e$  buvo 24). Paprastai lyginamas demografinis (imties) populiacijos dydis  $N_d$  su  $N_e$ , apskaičiuojant jų santykį ( $N_e/N_d$ ). Mūsų atveju šis rodiklis būtų 0.27 (2018–2019 m. sezono  $N_d = 99$  imties, santykis  $N_e/N_d$  buvo 0.25).

3.1.2 lent. 2019-2020 m. sumedžiojimo sezono 118 vilkų imties genetines įvairovės rodikliai pagal geografines populiacijas ir visai 118 vilkų imčiai.  $N_a$  skirtingų alelių skaičius,  $H_o$  ir  $H_e$  – stebimas ir laukiamas heterozigotiškumas.  $F_{is}$  inbrydingo koeficientas.  $A_r$  – alelinis turtingumas.  $N_m$  yra genų srauto stiprumas tarp regionų šalies viduje (išreikštas migrantais per generaciją tarp regionų - centras, pietūs, rytai, vakarai). Išsamiau rodikliai paaiškinti 2.1 skyriuje.

Populiacija	Imties dydis, vnt	$N_a$	$H_o$	$uH_e$	$F_{is}$	$A_r$ baze9	$N_{m(reg\_LT)}$
KEDA	11	6.50	0.81	0.79	-0.07	6.10	-
SIRV	15	7.00	0.81	0.78	-0.07	6.19	-
MARI	9	5.78	0.87	0.77	-0.20	5.78	-

VARE	10	7.00	0.78	0.77	-0.05	6.69	-
BIRZ	13	7.11	0.89	0.81	-0.15	6.36	-
IGNA	14	7.00	0.82	0.79	-0.08	6.15	-
ROKI	15	7.11	0.87	0.79	-0.14	6.03	-
JURB	6	5.00	0.85	0.78	-0.20	5.57	-
SIAU	13	6.28	0.82	0.75	-0.15	-	-
TELS	12	6.39	0.87	0.80	-0.14	5.93	-
Bendras vidurkis	118	6.52	0.84	0.78	-0.12	6.37	12.8
Stand. pakl.		0.12	0.01	0.01	0.01	0.22	0.9

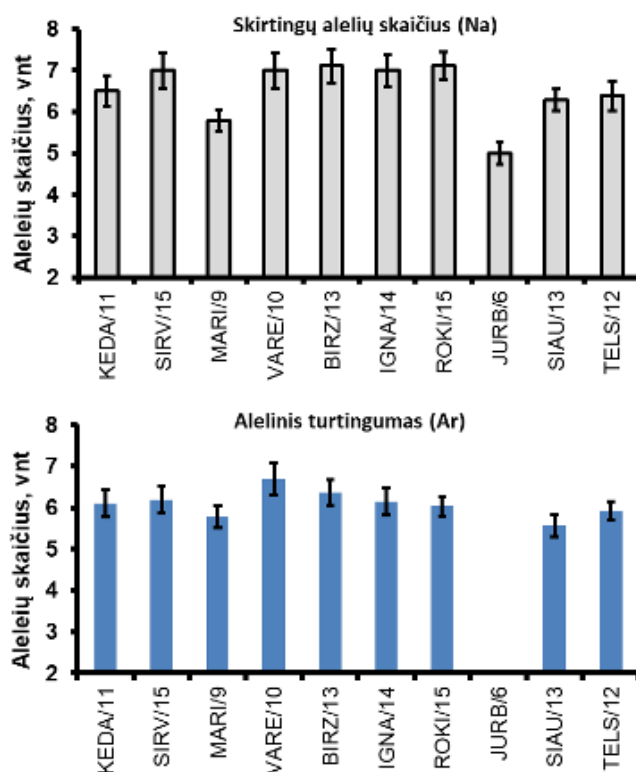
Abiejų sezonų Ne/Nd rodikliai panašūs, kas rodo duomenų patikimumą. Migrate\_N koalescencijos algoritmas yra vienas tiksliausių efektyvaus populiacijos dydžio (Ne) skaičiavimuose, mažiau priklausomas nuo teisingam Ne skaičiavimui būtinų išankstinių sąlygų išpildymo duotojoje imtyje, pvz. nelygaus lyčių santykio, tėvų ir vaikų buvimui imtyje, lokusų nukrypimui nuo HW pusiausvyros (Beerli 2009). Natūralios populiacijos dažnai netenkina idealios populiacijos sąlygų, todėl Ne paprastai būna mažesnis nei Nd, klausimas yra, kiek mažesnis (Palstra and Ruzzante 2008). Kritinė Ne/Nd riba yra 0.2, esant žemesnei ribai gresia išnykimas (Frankham 1995). Siektinas Ne/Nd optimumas būtų apie 0.5 (Mace and Lande 1991), kai nėra tiesioginio pavojaus populiacijos genetinės įvairovės erozijai dėl dreifo ar inbrydingo (Palstra and Ruzzante 2008). Pavyzdžiui, Suomijoje Ne/Nd rodiklis pagal 2009 m. duomenys viršijo 0.5 (Jansson 2013). Taigi priimant, kad efektyvus populiacijos dydis (Ne) yra 25-27 ir Ne/Nd santykis yra 0.25-0.27, matyti, kad Lietuvos populiacija dar nepasiekė savo genetinio optimumo.



3.1.3 pav. Lietuvos vilkų geografinių populiacijų inbrydingo koeficientas (Fis) ir pagrindinis genetinės įvairovės rodiklis - lauktinas heterozigotiškumas (žr. 2.1 poskyryje rodiklių pasakinius). Populiacijos imties dydis duotas po pasivirojo brūkšnio ties populiacijos kodu X ašyje. Populiacijos suskirstytos pagal regionus (centras, pietūs, rytai ir vakarai).

SIGN butelio kalelio tikimybės testas Lietuvos populiacijoje parodė reikšmingą nukrypimą nuo alelių pasiskirstymo pagal mutacijų – dreifo pusiausvyros būseną Lietuvos vilkų populiacijoje

( $p = 0.008$ , pagal lokusų evoliucijos IAM modelį, ir  $p = 0.0001$  pagal pakopinių mutacijų SMM modelį). Kitas butelio kaklelio testas pagal WILCOXON perteklinio laukтино heterozigotiškumo indeksą patvirtino šiuos rezultatus:  $p = 0.00001$  ir  $p = 0.003$  pagal IAM ir SMM lokuso evoliucijos modelius. Tai rodo, kad Lietuvos vilkų populiacija buvo patyrusi reikšmingą butelio kaklelio efektą. Tačiau modulio pokyčio indikatorius testas (*Bottleneck* programa) parodė, kad nėra reikšmingo nukrypimo nuo „L“ formos alelių klasių ir dažnių pasiskirstymo Lietuvoje. Pagal Luikart et al. (1998) modulio pokyčio indikatorius testas efektyviai rodo palyginti nesenus genetinės įvairovės siaurėjimo efektus keliose ankstesnėse kartose. Todėl tokie priešingi rezultatai tarp testų gaunami tada, kai butelio kaklelio efektas nebuvo labai stiprus ir pasireiškė seniau nei prieš 40-50 metų (mūsų atveju apie 1960-70 metus), o populiacija dėl pozityvios migracijos srauto yra sėkmingo genetinės įvairovės atsistatymo proceso eigoje, bet dar nėra pasiekusi pilno genetinės įvairovės optimumo (dreifo-mutacijų ekvilibriumo, Luikart et al. 1998). Populiacijai nepasiekus ar esant netoli genetinės įvairovės optimumo, vilkų populiacijos dydžio reguliavimas Lietuvoje turėtų būti vykdomas atsižvelgiant į DNR tyrimų genetinio monitoringo rezultatus, kai tiriami keliolikos metų populiacijos duomenys su vienodomis imtimis tarp populiacijų.

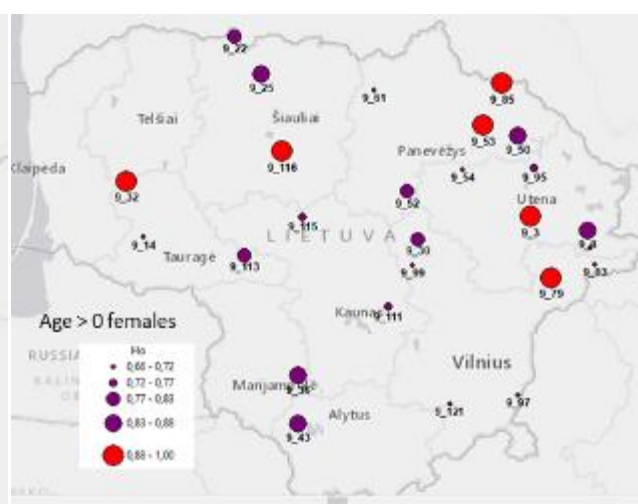
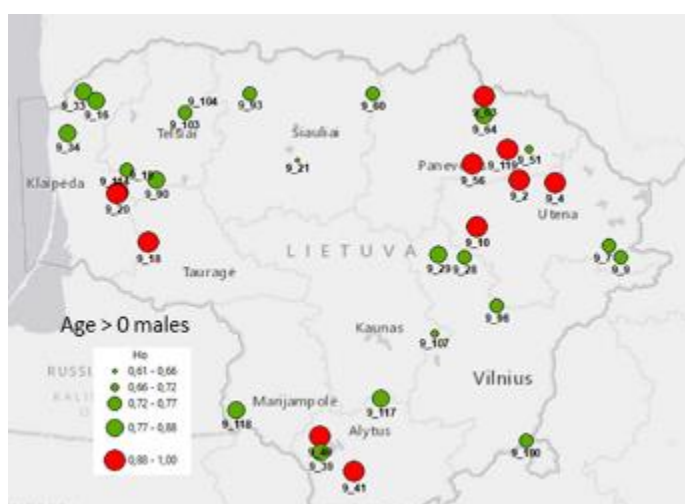
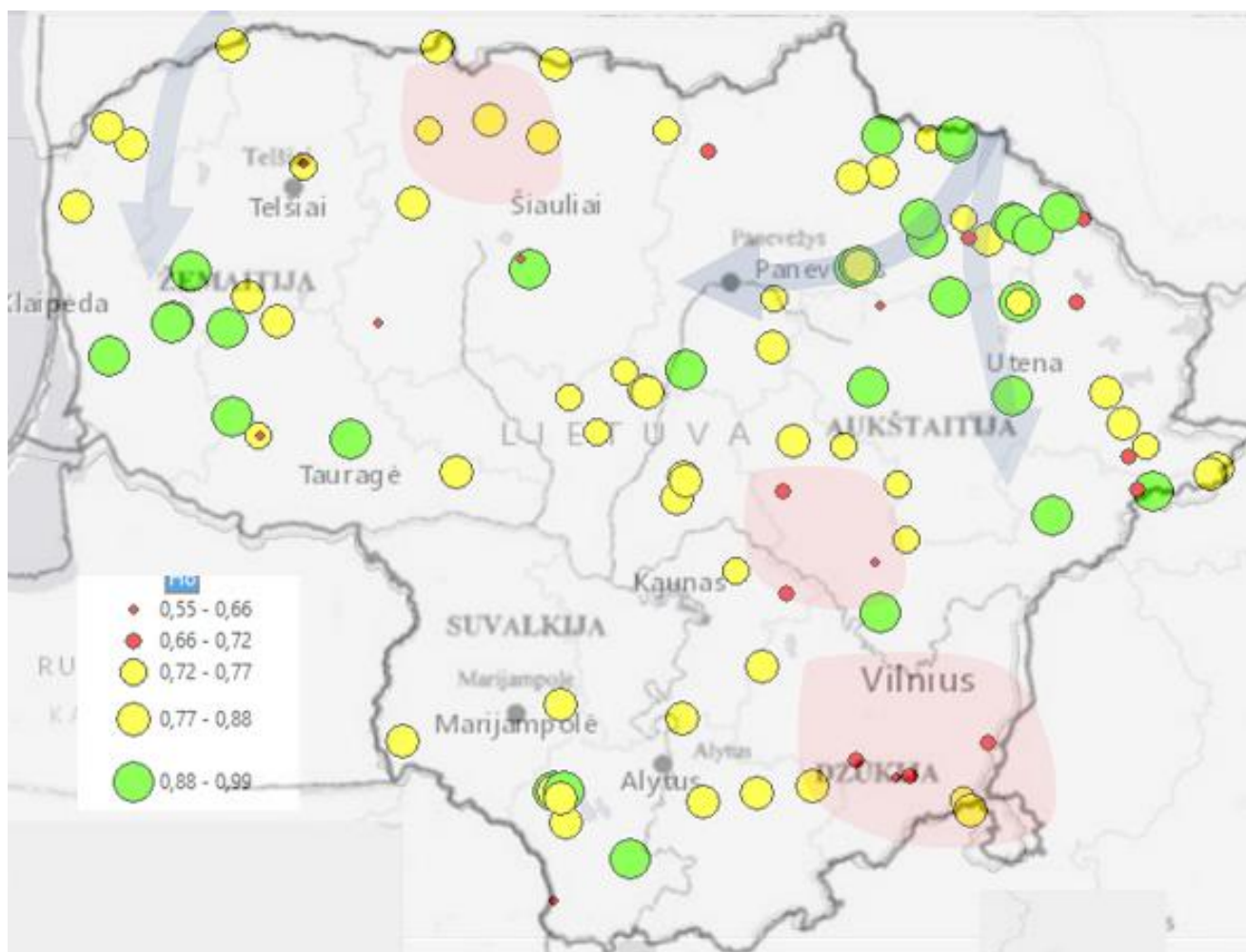


3.1.4 pav. Pagrindinių alelinės įvairovės rodiklių palyginimas tarp geografinių populiacijų. Viršuje skirtingų alelių skaičius rastas populiacijoje (jautrus populiacijos imties dydžiui, kuris duotas po pasivirojo brūkšnio X ašyje). Apačioje alelinis turtingumas – alelių skaičius apskaičiuotas maksimaliai niveliuojant imties dydžio skirtumus (žr. 2.1 sk.).

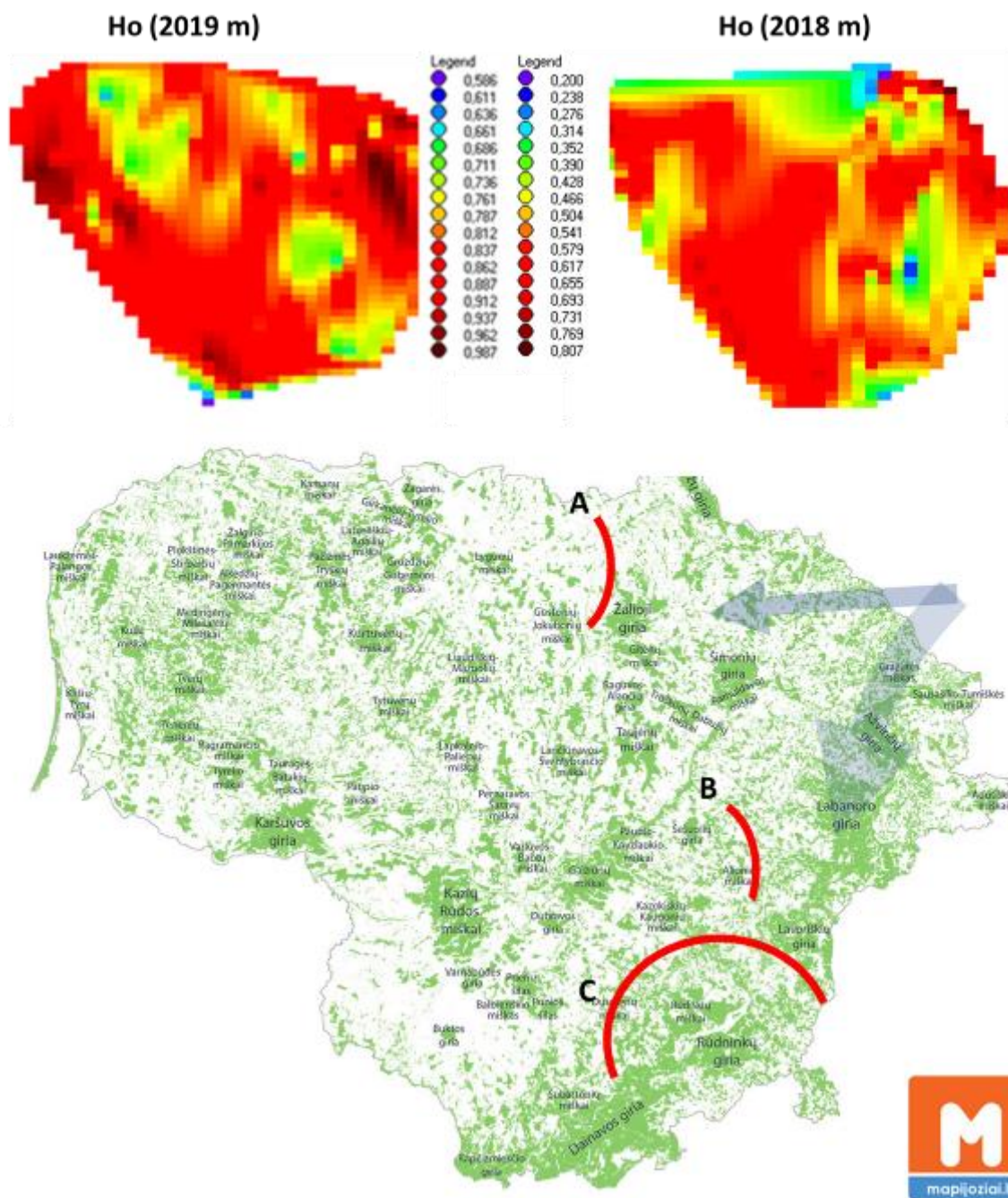
Bendra inbrydingo koeficiento reikšmė visoje 2019-2020 m. sumedžiotų vilkų Lietuvos populiacijoje (118 vilkų) siekė -0.12 ir vyravo tarp populiacijų nuo  $F_{is} = -0.07$  (pietrytinė Lietuva) iki  $F_{is} = -0.20$  (Marijampolė, Jurbarkas) (3.1.2 lent., 3.1.3 pav.). Jei inbrydingo koef. reikšmės svyruoja apie nulį, tai rodo genetiškai sveiką populiaciją, kai nėra reikšmingo nukrypimo nuo atliktinio poravimosi dėl per siauros genetinės įvairovės, bei nėra nei homozigotų, nei heterozigotų pertekliaus. Rodiklio  $F_{is}$  reikšmės -0.2 ir mažesnės rodo reikšmingą heterozigotų perteklių, mūsų atveju, tikėtiną dėl genų srauto (kryptingos genų migracijos, žr. į stebimo heterozigotiškumo ( $H_o$ ) geografinio pasiskyrimo rezultatus žemiau). Verta palyginti šiuos svarbius rodiklius su Suomijos vilkų populiacijos rodikliais, kur miškingumas yra aukštas ir populiacija tvarkoma genetinės įvairovės turtinimo link: 2009 m. duomenimis Suomijos vilkų populiacijoje  $H_o$  vyravo apie 0.70,  $H_e$  - apie 0.75, o  $F_{is} = 0.112$  (Jansson 2013). Suomijos mokslinai įvardino šias  $F_{is} = 0.112$  reikšmes, kaip keliančias nerimą, kadangi visai neseniai, per vilkų populiacijos atsigavimo piką Suomijoje 1995-1997 m.,  $F_{is}$  reikšmės buvo neigiamos, vyravo apie  $F_{is} = -0.05$  ( $F_{is} < 0$  reiškia aktyvų inbrydingo vengimą esant aukštai įvairovei, Jansson 2013). Vilkų populiacijos Italijoje  $F_{is} = 0.127$  (Verardi et al. 2006), Iberijos pusiasalyje  $F_{is} = 0.177$  (Sastre et al. 2011) ir  $F_{is} = 0.12$  Iberijos pusiasalio šiaurėje (Godinho et al. 2011). Taigi Lietuvos vilkų populiacijos inbrydingo rodikliai yra geri ir rodo, kad populiacija yra netoli nuo genetinio atsigavimo piko po praeities butelio kaklelio efekto.

Paprastai, tokia genetinės įvairovės rodiklių kombinacija, kai efektyvus populiacijos dydis nėra aukštas, o alelinė įvairovė, heterozigotiškumas, šeimų skaičius yra palyginti aukšti rodo, kad dalis šeimų yra giminingos viena kitai. Šių šeimų giminytės faktą mūsų duomenyse patvirtina gana stipriai išreikšta šeimų klasterių struktūra pateikta 3.1.3 poskyrio lentelėse (61 pusiau sibų šeimai, nustatyta 14 šeimų klasterių, šeimos priklausančios vienam klasteriui yra giminingos). Taip yra todėl, kad populiacija patyrė ženklią genetinės įvairovės sumažėjimą (vadinamą butelio kaklelio efektu), tačiau yra jos atstatymo procese, pagrinde per genų migraciją, ką patvirtina aukšti įvairovės rodikliai (Jansson 2013, Mech 1995, Luikart et al., 1998). J. Prusaitės duomenimis 1970 m. Lietuvos demografinis vilkų populiacijos dydis ( $N_d$ ) tesiekė 10-60 individų ir buvo daugiau nei dešimt kartų mažesnis nei 1950 metais, kai po II pasaulinio karo vilkų skaičius buvo gausus visoje Šiaurės Rytų Europoje (Bibikov 1985). Kaip parodė Bulgarijos atvejis, per didelis medžiojimo intensyvumas, atsakant į galvijų skerdimą, privedė prie ženklaus inbrydingo padidėjimo per vilko grupių socialines struktūros destabilizavimą praeito amžiaus septintame dešimtmetyje (Moura et al. 2013).





3.1.5 pav. Individų stebimo heterozigotiškumo ( $H_o$ ) geografinio pasiskirstymo dėsningumai. Viršuje parodyti visi 118 individų nepriklausomai nuo amžiaus. Sumedžiojimo vietos žymi  $H_o$  reikšmės: žemos  $H_o$  reikšmės, rodančios poravimąsi tarp giminingų individų, pažymėtos raudonais apskritimais, o ypač aukštos  $H_o$  reikšmės, rodančios negiminingų individų poravimąsi, tikėtina dėl genų srauto, pažymėtos žalia spalva (apatiniuose žemėlapiuose - raudona spalva). Rodyklės rodo tikėtinus, įvairovę turinčius, genų srautus. Upių žemėlapis – tikėtinus genų srautus kreipiančius barjerus. Šviesiai rausva spalva pažymėtos žemesnio  $H_o$  zonos. Apatiniuose žemėlapiuose duotos vyresnių nei 0 metų amžiaus (t.y. galinčių migruoti) individų  $H_o$  reikšmės atskirai patiniams ir patelėms, kur matyti žemesnės patelių  $H_o$  reikšmės.



3.1.6 pav. Viršuje Individų stebimo heterozigotiškumo ( $H_o$ , kur žemesnės reikšmės rodo poravimąsi tarp giminingų individų) interpoluotų reikšmių geografinis pasiskirstymas Lietuvoje pagal 2019-2020 m. ir 2018-2019 m. sumedžiojimų sezonų imtis. Matyti nuoseklus  $H_o$  kritimas vietovėse žemiau Vilniaus ir apie Širvintus. Apačioje, miškų žemėlapyje pavaizduoti tikėtini genų įvairovę praturtinančios migracijos keliai ir hipotetiniai barjerai, slopinantys genų srautus.

Panašiu laikotarpiu ir kitose Europos šalyse vyko ženklus po II pasaulinio karo išaugusios vilkų populiacijos mažinimas (Mech 1995). Ypač stipriai vilkų inbrydingas pasireiškė Švedijoje, kur



vilkų populiacijos inbrydingas prieš dešimtmetį buvo pasiekęs kritinę ribą, o  $H_o$  rodikliai krito ženkliau žemiau 0.5 (Ellegren 1999). Neseniai pagal mikrosatelitų DNR žymenis ištirtų šiaurės Ispanijos, Karpatų, Čekijos, Lenkijos vilkų  $H_o$  rodikliai viršija 0.6, o  $H_o/H_e$  santykis – apie 0.8 (Pilot et al. 2014). Tuo tarpu, mūsų tyrime  $H_o/H_e$  santykis viršija 1.

Kiti Lietuvos vilkų populiacijos genetinės įvairovės indikatoriai - lauktinas heterozigotiškumas ( $H_e = 0.78$ ), migrantų skaičius tarp regionų per generaciją ( $N_m = 4.5$  vnt., t.y. Ne padidėjimas vnt. per generaciją) ir alelinis turtingumas buvo palyginti aukšti (3.1.2 lent.). Tai rodo, kad alelinė įvairovė yra aukšta. Tačiau kodėl esant aikšties alelinės įvarvės ir žemiems inbrydingo rodikliams, gaunamos neoptimalios Ne reikšmės ir vis dar jaučiamos butelio kaklelio efekto pasekmės? Atsakymas yra, (a) padedant genų srautui, populiacija atsistatinėja po butelio kaklelio efekto, tačiau (b) šis atsistatymas geografiškai vyksta nevienodai – esama žemesnės įvairovės regionų, gal net uždarų „kišenių“, lemiančių giminių poravimąsi ir aukštesnį inbrydingą. Šias zonas galima nustatyti, ištyrus genetinės įvairovės rodiklių geografinio pasiskyrimo dėsninumus. Yra svarbu identifikuoti šias žemos genetinės įvairovės zonas, aptarti tikėtinas to priežastis ir genų srautų stiprumą bei geografinius dėsninumus Lietuvoje.

Toliau aptarsime genetinės įvairovės geografinio paskirstymo dėsninumus Lietuvoje geografinės populiacijos lygmenyje. Alelinės įvairovės ( $H_e$ ) indeksas buvo panašus ir pakankamai aukštas visose geografinėse populiacijose, bet ankščiausias – Biržų, Ignalinos, Rokiškio populiacijose (3.1.3 pav.). Tai rodo reikšmingą genų srauto praturtinantį poveikį. Visos Šiaurės Rytų ir Rytų Lietuvos populiacijos turėjo didesnius alelinio turtingumo rodiklio ( $A_r$ ) reikšmes (3.1.4 pav.). Visose populiacijose gautas reikšmingas heterozigotų perteklius ( $F_{is}$  rodiklis, 3.1.3 pav.). Tačiau  $F_{is}$  geografiškai pasiskirstė nevienodai – pastebėtinai aukštesnės  $F_{is}$  reikšmės Širvintų, Kėdainių ir Varėnos geografinėse populiacijose. Tai rodo, kad nors ir esant aukštesnei alelinei įvairovei geografinėje populiacijoje, individai yra linkę poruotis neatsitiktinai – giminingose grupėse. Tikėtinos to priežastys geografiniai ir antropogeniniai barjerai migracijai, didesnis medžiojimo intensyvumas. Kita iš tokių įvairių, bet uždarų grupių formavimosi priežasčių gali būti ir santykinai intensyvesnė hibridizacija su šuninių populiacija.

Todėl genetinės įvairovės praturtinimo prasme yra labai svarbu aptarti genų srauto pobūdį Lietuvos vilkų populiacijoje. Genų srauto šaltinius, kryptis ir pasiskirstymą Lietuvoje padeda išaiškinti keli svarbūs rodikliai: (a) heterozigotų koncentracijos geografinio išsidėstymo dėsninumai ir (b) retų alelių geografinis pasiskirstymas, (c) statistiniai migrantų skaičiaus rodikliai šalyje.

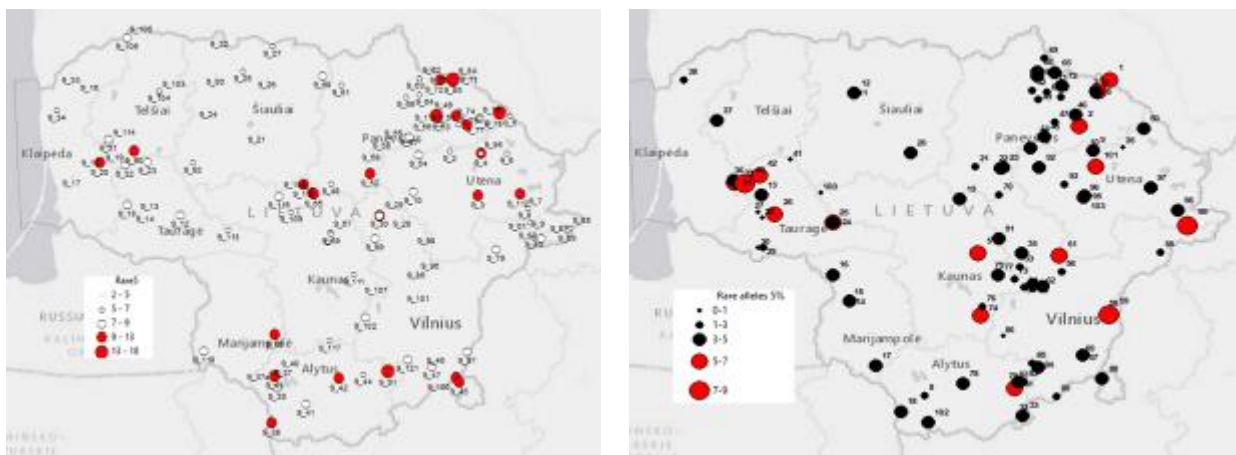
Vienas reikšmingiausių individo lygmenyje nustatomų genetinės įvairovės rodiklių yra individo multilokusinė stebimo heterozigotiškumo (Ho) reikšmė ir jos geografinis pasiskirstymas (3.1.5 ir 3.1.6 pav.). Ho rodo tėvų giminystės laipsnį dėl žemos poravimosi grupių genetinės įvairovės, kuri mūsų medžiagoje yra tikėtina migracijos barjerų pasekmė. Ho reikšmės mažesnės nei 0.4 kelia susirūpinimą, o mažesnės nei 0.2 rodo labai tikėtiną artimų giminių (pusiau sibų) poravimąsi. 2019-2020 m. kaip ir 2018-2019 m. medžioklės sezonų medžiagoje aukščiausios Ho reikšmės koncentruotos šiaurės rytų Lietuvoje, iš kur tęsiasi pietų kryptimi iki Vilniaus rajono (3.1.5 pav.). Tikėtina, kad šie aukštesnio Ho geografinio išsidėstymo dėsniumai indikuoja genų srautus per Šiaurės Rytų Lietuvą miško masyvais Pietų link (rodyklės 3.1.5 pav. ir 3.1.6 pav.). Iš vakarų šį srautą Pietų link gali kreipti Nevėžio upė ir via Baltikos magistralė. Iš Rytų šį srautą riboja Lietuvos – Baltarusijos siena. Srautas eina miškų masyvais, kol nesusiduria su kompleksu barjerų - Neries upe, Vilniaus antropogeninių zonų sistema ir autostrada. Atskiruose vyresnio nei 0 amžiaus patinų ir patelių Ho geografinio pasiskirstymo žemėlapiuose matyti, kad panašiai kaip 2018-2019 m. medžiagoje pagrindiniai genų srauto nešėjai yra patinai (daugiau aukšto Ho individų nei pas pateles 3.1.5 pav.). Didžiausia aukšto Ho indekso patinų koncentracija Šiaurės Rytų Lietuvoje (3.1.5 pav.). Didžiausias žemo Ho ( $<0.5-0.6$ ) individų dažnis rastas rajonuose aplink Vilnių, Širvintus (3.1.5 pav.). Kaip minėta aukščiau, rajonuose aplink Vilnių galimi antropogeniniai barjerai vilkų migracijai (urbanizuotos, zonos, autostrada, Neries upė), Vakaruose Nemuno upė, o Rytuose ir Pietuose siena su Baltarusija, taip suformuojama savita genų srautą ribojanti zona, lemianti uždaresnes poravimosi grupes.

Taip pat paminėtinas aukštesnės Ho individų klasteris Tauragės – Klaipėdos rajonuose (3.1.5 pav., 3.1.6 pav.). Todėl galimi ir kiti genų srauto šaltiniai iš Vakarų Latvijos ar net Šiaurės Rytų Lenkijos (tam patvirtinti reikia tolesnių tyrimų).

Migrantų skaičius tarp 4 regionų Lietuvoje per generaciją siekia 19 individų (2018-2019 m. sezono 8 individai, pagal GeneAlex algoritimą), kas yra sveikas rodiklis 118 individų dydžio imties teste. Šis rodiklis rodo, kad, šalies mastu, nėra ženklų barjerų vilkų migracijai Lietuvoje ir į Lietuvą ir, kad migracija stiprėja.

Kito svarbaus individo lygmens genetinės įvairovės rodiklio – individo retų alelių skaičiaus geografinis pasiskirstymas Lietuvoje parodė didesnę retų alelių koncentraciją Šiaurės rytinėje Lietuvos dalyje (3.1.7 pav.). Panašūs retų alelių geografinio pasiskirstymo dėsniumai gauti ir 2018-2019 m. sezono duomenyse (3.1.7 pav., dešinėje). Pagal patinų retų alelių išsidėstymą, galima prielaida, kad vilkų migracija iš Rytų stipriau vyksta per Latvijos sieną nei per Baltarusijos sieną ir eina žemyn iki Neries. Kaip ir 2018-2019 m., 2019-2020 m. sezone aptikta negausi retų alelių

koncentracija Žemaitijoje ties Rietavu. Priešingai nei 2018-2019 m, 2019-2020 m. sezone rasta retų alelių grupė pietų Lietuvoje abejose Nemuno pusėse. Pastarosios šaltinis galai būti migrantai iš Lenkijos ar hibridizacija su šunimis. Pietvakarinėje Lietuvos dalyje, taip radome aukštesnio heterozigotiškumo (3.1.5 pav.) ir hibridizacijos su šunimis zonas (žr. 3.3 skyriuje). Migrantai į Žemaitiją gali patekti tiesiogiai iš Latvijos.



3.1.7 pav. Retų alelių, kurių dažnis visoje 2019-2020 m. (118 vnt. kairėje) ir 2018-2019 m. (99 vnt. dešinėje) sezone sumedžiotų vilkų imtyje mažesnis nei 5% geografinis pasiskirstymas Lietuvoje. Taškai žymi vilkų sumedžiojimo vietas, jų dydis yra proporcingas retų alelių rastų šio individo 18 lokusų skaičiui. Maksimalus individo alelių skaičius mūsų tyrimo 18-oje lokusų yra 36, todėl jei individas turi 5-7 retus alelius reiškia, kad apie 1/3 jo visų alelių yra reti ir jis ar jo tėvai yra migrantai iš tolesnio genofondo populiacijos. Tokie individai žemėlapiuose pažymėti raudonai.

### - 3.1.3 Sibų ryšiai populiacijoje

Pagal programos COLONY sibų ryšių tikimybių algoritmus rasta 61-na pusiau sibų šeima 118 individų populiacijoje (2018-2019 m. sumedžiojimo sezono imtyje 60 pusiau sibų šeimos 99 vnt. populiacijoje) (3.1.3 lent.). Pusiau sibų šeimą sudaro tos pačios motinos palikuonys, kurių tėvas gali būti skirtingas (šeima mūsų atveju nėra poravimosi pora, o nusako tokius giminystės ryšius kaip broliai, seserys, gali pasitaikyti ir tėvų su vaikais). Vienų metų ir vyresnių vilkų imtyje ( $n=51$ ) nustatyta 40 skirtingų pusiau sibų šeimų, iš jų 9 šeimos turėjo 2-3 narius, kitos po vieną narį (3.1.8 pav.). Vyresnių individų atveju sibų išsidėstymas rodo šeimos narių migracijos apimtį, ypač analizuojant atskirai patinus ir patelas (3.1.8 pav.). Pav. 3.1.8 matyti, kad dauguma suaugusių šeimos narių negyveno vienoje vietoje ir migravo 50 km ir toliau vienas nuo kito. Šis suaugusių šeimos narių atsiskyrimas yra teigiamas dėsningumas, sudarantis mažesnę tikimybę giminių poravimuisi ir praturtinantis įvairovę kitose grupėse.

3.1.3 lent. Pusiau sibų šeimų struktūra: individų suskirstymas į pusiau sibų šeimas pagal poligamijos modelį (COLONY algoritmas). Pusiau siba tai vienos motinos palikuonys nepriklausomai nuo tėvo. Individai priklausantys vienai šeimai turi tą patį šeimos kodą. Vilko id. tai kiekvieno individo identifikacinis numeris (vienodas mūsų tyrimo grafikuose ir lentelėse). Šeimų grupė rodo giminystę tarp šeimų (t.y. vieno klasterio šeimos yra giminingos pagal COLONY algoritmą). Taip pat duoti individus charakterizuojantys rodikliai: Ho - stebimas heterozigotiškumas (individo tėvų giminystės rodiklis, artimas nuliui, tėvai stipriai giminingi, jei artimas vienetui, tėvai negiminingi), DOG1-tikimybė priskyrimo šunų rūšiai (t.y. hibridizacijos su šunimis tikimybė, jei >0.1 tikėtina hibridizacija pagal Godinho et al. (2011), lytis Y – patinas, X- patelė. Vilkų genetinė grupė rodo, kokiai platesnė geografinės aprėpties grupei individas priklauso pagal Bajeso klasterinės analizės rezultatus. Individai lentelėje išrikiuoti pagal motinos šeimos kodą.

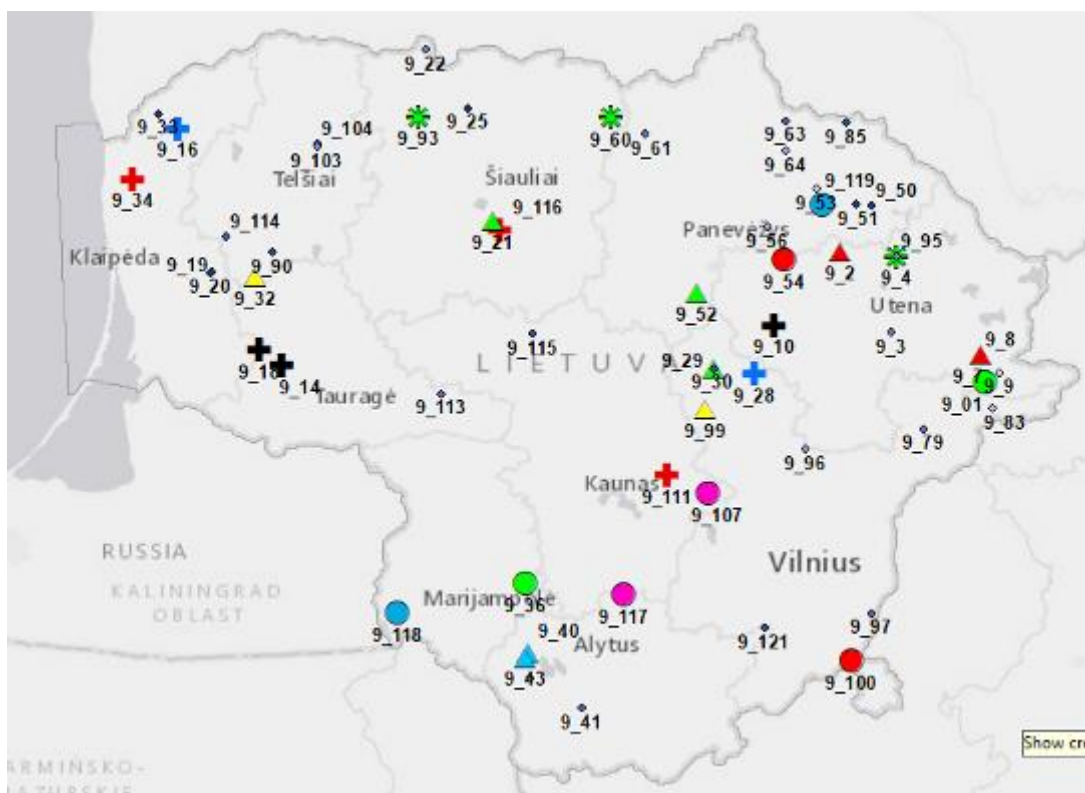
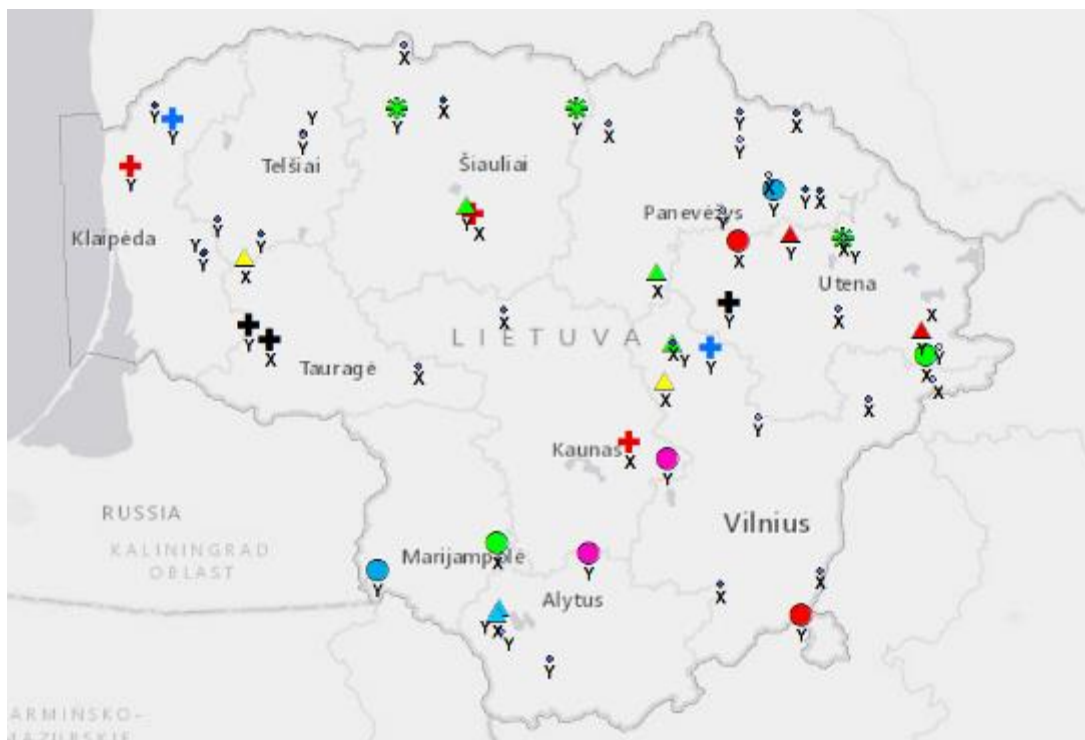
Id.	Rajonas	Amžius, m	Lytis	Ho	Šeimų grupė	Pusiau sibų šeimos kodas pagal motiną	Pusiau sibų šeimos kodas pagal tėvą	Tikimybė priklausymui šuns rūšiai pagal GeneClass	Vilkų genetinė grupė (Structure)
9_01	Ignalina	6	X	0.722	1	1	1	0.00	1
9_36	Marijampolė	5	X	0.889	1	1	35	0.01	2
9_44	Varėna	0	X	0.889	1	1	34	0.00	2
9_100	Šalčininkai	0	Y	0.778	2	2	2	0.00	2
9_54	Ankščiūnai	1	X	0.667	2	2	22	0.00	2
9_101	Vilnius	0	Y	0.944	2	3	3	0.01	1
9_9	Ignalina	-	Y	0.778	2	3	43	0.07	1
9_102	Elektrėnai	0	Y	0.882	3	4	4	0.05	2
9_92	Kelmė	0	Y	0.667	3	4	10	0.01	3
9_103	Telšiai	5	Y	0.778	3	5	5	0.00	2
9_108	Kėdainiai	0	Y	0.833	3	5	10	0.00	2
9_104	Telšiai	1	Y	0.611	4	6	6	0.00	2
9_73	Rokiškis	0	X	1.000	4	6	41	0.01	3
9_74	Rokiškis	0	X	0.944	4	6	41	0.00	3
9_77	Rokiškis	0	X	0.944	4	6	9	0.01	3
9_105	Mažeikiai	0	Y	0.882	2	7	7	0.06	3
9_106	Mažeikiai	0	X	0.889	5	8	8	0.00	2
9_118	Vilkaviškis	6	Y	0.889	5	8	20	0.04	3
9_119	Rokiškis	4	Y	0.944	5	8	8	0.01	2
9_49	Rokiškis	0	Y	0.778	5	8	42	0.00	3
9_66	Biržai	0	X	0.889	5	8	49	0.02	3
9_107	Kaišiadorys	2	Y	0.722	4	9	9	0.00	1
9_117	Prienai	4	Y	0.833	4	9	19	0.02	1
9_58	Panevėžys	0	Y	0.611	4	9	45	0.00	1

9_109	Kėdainiai	0	X	0.778	3	10	11	0.00	3
9_23	Šilalė	0	X	0.889	3	10	28	0.00	3
9_25	Šiauliai	3	X	0.882	3	10	30	0.00	3
9_10	Ankščiiai	6	Y	0.944	5	11	12	0.01	2
9_14	Tauragė	1	X	0.667	5	11	24	0.04	3
9_18	Šilutė	7	Y	0.944	5	11	27	0.07	3
9_110	Kėdainiai	0	Y	0.778	6	12	13	0.03	3
9_65	Kėdainiai	0	X	0.833	6	12	13	0.01	3
9_111	Kaišiadorys	8	X	0.778	2	13	14	0.01	1
9_116	Radviškis	1	X	0.944	2	13	7	0.05	1
9_34	Kretinga	4	Y	0.833	2	13	3	0.06	1
9_112	Ignalina	0	X	0.833	3	14	15	0.00	2
9_42	Alytus	0	X	0.833	3	14	39	0.01	2
9_79	Švenčionys	3	X	0.944	3	14	50	0.02	3
9_113	Jurbarkas	0	X	0.833	4	15	16	0.00	3
9_114	Rietavas	5	Y	0.778	7	16	17	0.00	2
9_115	Kėdainiai	4	X	0.778	3	17	18	0.02	2
9_121	Varėna	3	X	0.722	8	18	21	0.02	2
9_12	Tauragė	0	Y	1.000	2	19	22	0.00	3
9_90	Šiauliai	5	Y	0.889	2	19	32	0.00	3
9_13	Tauragė	0	Y	0.778	4	20	23	0.01	3
9_15	Klaipėda	0	Y	0.889	5	21	25	0.01	3
9_17	Klaipėda	0	X	0.944	5	21	27	0.07	3
9_20	Klaipėda	4	Y	1.000	5	21	25	0.00	3
9_24	Šiauliai	0	Y	0.833	5	21	29	0.00	2
9_16	Kretinga	-	Y	0.889	1	22	26	0.01	3
9_28	Ukmergė	6	Y	0.778	1	22	31	0.06	1
9_19	Klaipėda	3	Y	0.944	5	23	25	0.01	3
9_21	Šiauliai	6	Y	0.667	2	24	7	0.02	3
9_29	Ukmergė	3	Y	0.833	2	24	32	0.00	3
9_52	Panevėžys	2	X	0.833	2	24	32	0.06	3
9_22	Akmenė	7	X	0.833	4	25	23	0.03	3
9_5	Zarasai	0	Y	0.722	4	25	46	0.06	3
9_59	Panevėžys	0	X	0.778	4	25	45	0.03	1
9_26	Joniškis	0	Y	0.833	3	26	30	0.02	3
9_27	Joniškis	0	Y	0.833	2	27	7	0.01	3
9_78	Rokiškis	0	X	1.000	2	27	54	0.00	2

9_2	Anykščiai	5	Y	1.000	3	28	15	0.00	2
9_67	Jonava	0	X	0.824	3	28	50	0.01	1
9_68	Jonava	0	X	0.889	3	28	51	0.02	1
9_69	Jonava	0	Y	0.889	3	28	51	0.01	1
9_7	Ignalina	5	Y	0.778	3	28	4	0.00	1
9_30	Ukmergė	5	X	0.824	3	29	4	0.01	2
9_31	Rietavas	0	X	0.944	9	30	33	0.00	2
9_32	Rietavas	7	X	0.944	3	31	28	0.00	2
9_55	Kupiškis	0	Y	0.944	3	31	18	0.01	2
9_99	Ukmergė	5	X	0.722	3	31	50	0.01	1
9_33	Skuodas	6	Y	0.889	1	32	34	0.00	1
9_87	Švenčionys	0	X	0.833	1	32	31	0.00	1
9_89	Švenčionys	0	Y	0.889	1	32	55	0.00	1
9_37	Lazdijai	0	X	0.944	4	33	23	0.04	3
9_37a	Lazdijai	0	X	0.833	4	33	23	0.15	3
9_40	Alytus	1	Y	1.000	4	33	38	0.23	3
9_43	Lazdijai	0	X	0.889	4	33	38	0.01	3
9_38	Lazdijai	0	Y	0.556	4	34	36	0.00	2
9_64	Biržai	4	Y	0.889	4	34	9	0.00	1
9_39	Lazdijai	5	Y	0.889	4	35	23	0.01	3
9_3	Utena	5	X	1.000	10	36	37	0.01	2
9_41	Druskininkai	7	Y	0.944	7	37	17	0.10	1
9_45	Šalčininkai	0	X	0.833	7	38	17	0.01	2
9_46	Šalčininkai	0	X	0.611	7	38	40	0.01	2
9_47	Šalčininkai	0	Y	0.722	4	39	41	0.04	3
9_48	Panevėžys	0	X	0.944	5	40	27	0.23	2
9_4	Zarasai	5	Y	0.944	2	41	43	0.03	2
9_60	Pakruojis	-	Y	0.778	2	41	47	0.03	1
9_93	Akmenė	7	Y	0.778	2	41	32	0.00	3
9_50	Rokiškis	1	X	0.889	5	42	44	0.00	2
9_70	Rokiškis	0	Y	0.833	5	42	53	0.00	1
9_51	Rokiškis	4	Y	0.722	4	43	16	0.00	3
9_76	Rokiškis	0	Y	0.944	4	43	41	0.00	3
9_53	Kupiškis	0	X	0.944	2	44	22	0.00	2
9_56	Kupiškis	4	Y	0.944	3	45	5	0.03	2
9_57	Kupiškis	0	X	0.833	5	46	44	0.02	1
9_86	Širvintos	0	Y	0.667	5	46	53	0.03	1

9_96	Širvintos	7	Y	0.778	5	46	59	0.03	1
9_98	Ukmergė	0	X	0.778	5	46	12	0.00	1
9_61	Pasvalys	3	X	0.722	6	47	13	0.00	3
9_62	Biržai	0	Y	0.882	11	48	48	0.01	2
9_63	Biržai	4	Y	0.944	11	48	48	0.01	2
9_6	Zarasai	0	X	0.722	12	49	52	0.01	2
9_71	Rokiškis	0	Y	0.833	5	50	24	0.02	3
9_85	Rokiškis	7	X	0.944	5	50	20	0.01	2
9_72	Rokiškis	0	Y	0.778	5	51	24	0.00	1
9_84	Rokiškis	0	X	0.944	5	51	24	0.01	1
9_75	Rokiškis	0	X	0.944	4	52	41	0.01	3
9_80	Švenčionys	0	Y	0.722	1	53	55	0.03	1
9_81	Švenčionys	0	Y	0.722	1	53	55	0.01	1
9_82	Švenčionys	0	Y	0.944	1	54	26	0.01	2
9_88	Švenčionys	0	Y	0.722	1	54	56	0.00	2
9_83	Švenčionys	1	X	0.722	2	55	43	0.00	2
9_8	Ignalina	4	X	0.889	13	56	57	0.02	1
9_91	Varėna	0	Y	0.889	5	57	8	0.00	2
9_95	Zarasai	6	X	0.778	14	58	58	0.01	3
9_97	Šalčininkai	0	X	0.722	3	59	51	0.01	2

<sup>1</sup>- Šeima pagal motiną rodo, kad jos nariai yra vienos mamos vaikai. Jei šių vaikų tėvas turi tą patį kodą tai reiškia, kad šie vaikai yra vieno tėvo, jei tėvo kodas skirtingas - skirtingų tėvų. Jei panašaus amžiaus patinas ir patelė yra priskirti vienai šeimai, tai rodo, kad jie yra brolis ir sesuo (ne lytinio poravimosi pora). Kai sumaišomos kartos ir lytiškai brandi patelė ar patinas papuola į vieną šeimą su jaunikliais jie gali būti jauniklių tėvai.

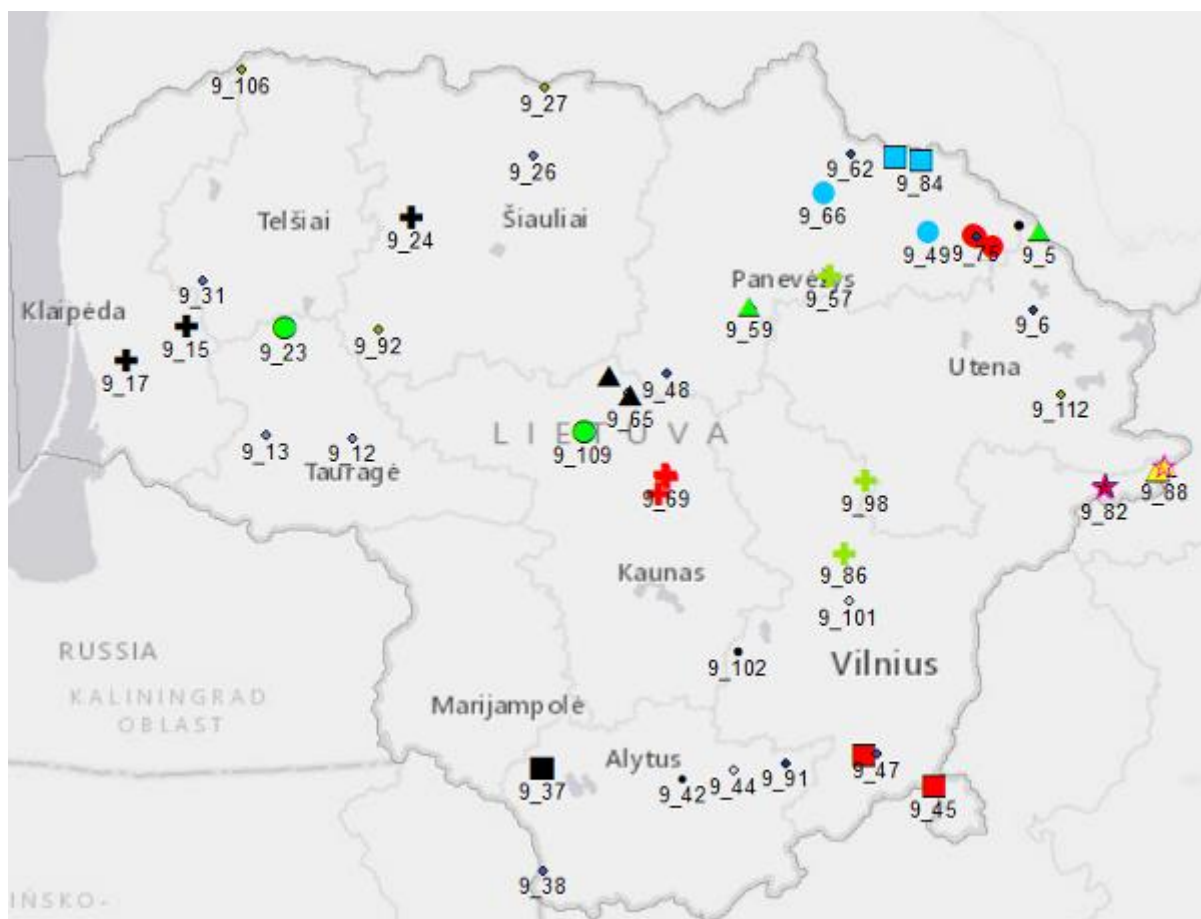


3.1.8 pav. Vilkų pusiau sibirų šeimų pasiskirstymas Lietuvos teritorijoje pagal DNR tyrimo duomenis vienų metų ir vyresnio amžiaus vilkų imtyje (1-nų metų ir vyresnių vilkų skaičius 51). Skirtingi simboliai žymi 9 skirtingas šeimas su 2-3 nariais, kitos 31 šeimos rasta tik po vieną atstovą ir jie žymėti vienodu simboliu. Viršutiniame žemėlapyje individų sumedžiojimo vietas pažymėtos pagal lytį (Y- vyriškas, X- moteriškas), o apatiniame žemėlapyje – pagal individų kodus.



Jauniklių imtyje (amžius 0 m., n=64) nustatyta 44-ios skirtingos pusiau sibų šeimos (t.y. 118 vilkų imtyje buvo 64 jaunikliai, kurie priklausė 44-ioms skirtingoms šeimoms). Priešingai nuo vyresnių vilkų šeimos narių išsidėstymo, jaunikliai aptikti vienoje vietovėje (15-20 km radiuse), išskyrus kelis atvejus, kuriuos reikėtų analizuoti atskirai (3.1.9 pav.).

COLONY apskaičiuoti šeimų klasteriai rodo šeimų giminystę (3.1.3 lent.). Visoje 118 vilkų ir 61 šeimos apimtyje nustatyta 14 šeimų klasterių (pvz. klasteris Nr. 1. apėmė 5-kais šeimas, klasteris Nr.2 – 10 šeimų). Šie klasteriai ir yra buvusio butelio kaklelio efekto palikimas.



3.1.9 pav. Vilkų pusiau sibų šeimų pasiskirstymas Lietuvos teritorijoje pagal DNR tyrimo duomenis vilkų jaunikliams (amžiaus=0 metų, imties dydis n=64). Jauniklių imtyje (n=64) nustatyta 44-ios skirtingos pusiau sibų šeimos (t.y. 118 vilkų imtyje buvo 64 jaunikliai, kurie priklausė 44-ioms skirtingoms šeimoms). Skirtingi simboliai žymi 15 skirtingų šeimų su 2-3 nariais, kitų 29 šeimų rasta tik po vieną šeimos atstavą ir jie žymėti vienu simboliu.

#### • 3.1.4 Apibendrinamas

Apibendrint Lietuvos vilkų populiacijos genetinės įvairovės tyrimas pagal 2019-2020 m. sezone sumedžiotų 118 vilkų DNR žymenis aukšto polimorfizmo 18 autosominių rekombinuojamų

atskirai mikrosatelitų lokusų parodė, kad Lietuvos vilkų populiacija netolimoje praeityje buvo patyrusi reikšmingą efektyvaus populiacijos dydžio kritimą (pagal Sastre et al. 2010 kriterijus), tačiau dabartiniu metu sėkmingai atstatinėja genetinę įvairovę ir jei sekančio sezono duomenys patvirtins šio sezono rezultatus, galima teigti, kad populiacija yra genetinio atsistatymo pike (lauktinas heterozigotiškumas  $H_e$  0.78 naujų imigrantų skaičius tarp regionų per generaciją – 13, gana aukštas alelinis turtingumas, gausu retų alelių, inbrydingas žemas). Vienintelis kriterijus neleidžiantis teigti, kad populiacija yra pasiekusi genetinės įvairovės optimumą yra efektyvus populiacijos dydis, kuris išreikštas kaip procentas nuo imties dydžio 2018-2019 ir 2019-2020 m. sezonui vyrauja tarp 25-27 proc. (siekiamybė – 50 proc.). Tačiau visi kiti rodikliai rodo, kad populiacija sparčiai atsistatinėja, pagrinde dėka stipraus genų srauto Šiaurės Rytų Lietuvoje miško masyvais pietų link. Pagal DNR tyrimais gautus retų alelių ir aukšto heterozigotiškumo geografinio pasiskirstymo duomenis tikėtina, kad iš Vakarų šį srautą Pietų link gali kreipti Nevėžio upė ir via Baltikos magistralė, o iš Rytų šį srautą riboja Lietuvos – Baltarusijos siena. Srautas eina miškų masyvais, kol nesusiduria su kompleksu barjerų - Neries upė, Vilniaus antropogeninių zonų sistema ir autostrada. Labai svarbu šį genų srautą puoselėti. Žemo stebimo heterozigotiškumo zona už Vilniaus pietų link buvo patvirtinta tiek 2018-2019 m., tiek 2019-2020 m. medžioklės sezono surinkti, DNR tyrimais, kas rodo galimus barjerus genų srautui – Vilniaus antropogeninis klasteris, Neries upė, autostrada.

## • **3.2 Vilkų populiacijos genetinė diferenciacija ir struktūra Lietuvoje**

### • 3.2.1 Genetinė diferenciacija

Pagal alelių dažnių skirtumus apskaičiuoti vilkų genetinės diferenciacijos indeksai tarp regionų nebuvo neaukšti bet statistškai reikšmingi (3.2.1 lent.). 2019-2020 m. sezonui gauta silpnesnė genetinė diferenciacija tarp regionų nei 2018-2019 m. sezonui. Migrantų skaičius tarp regionų visoje populiacijoje siekė 8 ir 12 vilkus per generaciją, atitinkami 2018-2019 m. ir 2019-2020 m. sezonams.

3.2.1 lent. Vilkų regioninės diferenciacijos indeksai ( $D_{est}$ ,  $F_{st}$ ) ir jų statistinis reikšmingumas ( $p$  pagal 1000 permutacijų) tarp 4-rių Lietuvos regionų ir tarp populiacijų.  $D_{est}$  ir  $F_{st}$  tai grupių genetinės diferenciacijos indeksai skaičiuoti alternatyviais algoritmais. Migrantų skaičius per generaciją ( $N_m$ ) tarp regionų pagal formulę  $N_m = [(1 / F_{st}) - 1] / 4$

Imtis	Indeksas	Indekso reikšmė	p	Migrantai /generaciją, vnt.
Viso 99 vnt. (2018-2019 m)	$F_{st\_regionas}$	0.031	0.001	8

Viso 118 vnt. (2019-2020 m)	Fst_regionas	0.010	0.001	12
Viso 118 vnt. (2019-2020 m)	Fst_populiacija	0.018	0.001	-

3.2.2 lent. Porinės Fst diferenciacijos indeksų (FSTAT Theta indeksai) statistinis reikšmingumas tarp Lietuvos regionų (<0.05 skirtumai reikšmingi).

2018-2019 m	Rytai	Pietūs	Vakarai
Š. Rytai	0.06667	0.075	0.00833
Rytai		0.00833	0.00833
Pietūs			0.00833
2019-2020 m	PIETUS	RYTAI	VAKAR
CENTR	0.001	0.005	0.088
PIETUS		0.001	0.002
RYTAI			0.005

Žemaitijos regiono vilkai reikšmingai skyrėsi nuo kitų regionų, o skirtumai tarp kitų regionų buvo nereikšmingi, išskyrus Rytų ir Pietų regionus (3.2.2 lent.). Šis rezultatas tikėtina taip atspindi migracijos pasekmes, kai Šiaurės Rytų regionas panašėja su Rytų ir Pietų regionais, bet skiriasi nuo Žemaitijos regiono.

Molekulinės variacijos analizė (AMOVA) yra diferenciacijos nustatymo metodas, kuris atlieka skirtumų reikšmingumo skaičiavimus pagal genetinius atstumus (ne pagal alelių dažnius kaip fiksacijos indeksai) ir gali padalinti molekulinę variaciją procentais tarp regionų, tarp populiacijų regionuose ir tarp individų populiacijose, parodė, kad pagal Fst (IAM mutacijų modelis), įvedus populiacijos į modelį, skirtumai tarp regionų tampa nereikšmingi, kadangi skirtumai tarp populiacijų regionų viduje buvo stipresnei nei tarp regionų (3.2.3 lent.). Taip pat ir individai variavo stipriai populiacijų viduje, kas yra sveikas genetinis rodiklis. Šie rezultatai rodo, kad nėra reikšmingų barjerų tarp regionų genų migracijai imant viso šalies mastu, o gauti populiacijų skirtumai tikėtina yra stipriai lemiami migracijos pobūdžio (iš kur eina genų srautas). Panašūs rezultatai gauti ir Lietuvą dydžiu artinančioje pietinėje Suomijos dalyje (Jansson 2016).

3.2.3 lent. Molekulinės variacijos (AMOVA) analizės rezultatai (GenAlex). LL – laisvės laipsniai. P-indekso reikšmingumas pagal 1000 permutacijų.

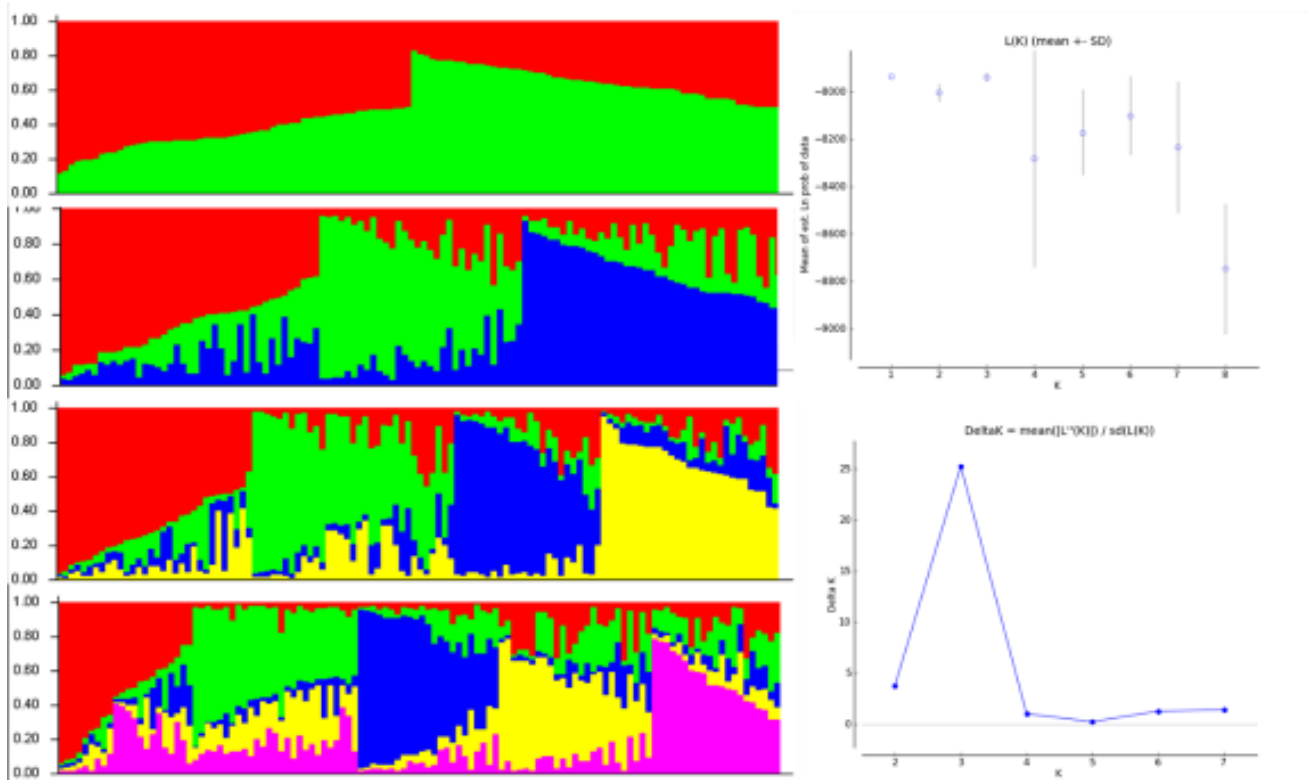
Variacijos šaltinis	LL	Dispersija	Var. %	Indeksas	Indekso reikšmė	p
2018–2019 m						
Tarp regionų	3	0.003	1%	Frt	0.000	0.447
Tarp populiacijų regionų viduje	8	0.278	4%	Fsr	0.043	0.000
Populiacijų viduje	186	6.223	96%			

Viso	197					
2019–2020 m.						
Tarp regionų	3	0.000	0%	Rrt	0.003	0.095
Tarp populiacijų regionų viduje	6		2%	Rsr	0.015	0.002
Populiacijų viduje	226	103.100	95%			
Viso	235					

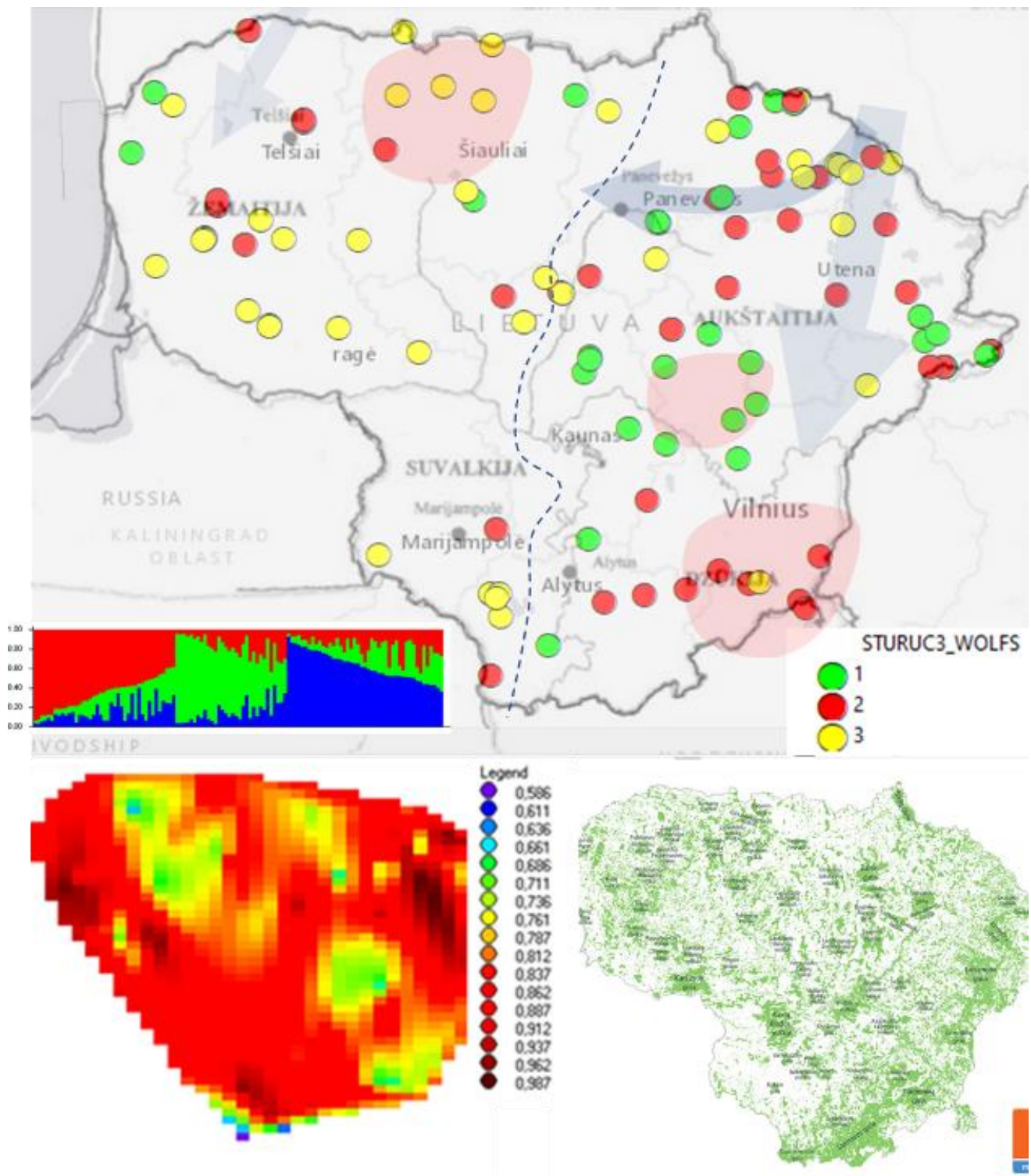
### • 3.2.2 Genetinė struktūra

Vilkų geografinių populiacijų genetinę struktūrą ištyrėme pagal (a) Bajeso klasterinės analizės metodu (STRUCTURE programa) ir (b) pagal alelių dažnio geografinio pasiskirstymo dėsnį Voronoi tesliacijos pagrindu, išskiriant statistiškai reikšmingo alelių dažnio pokyčio geografinės ribas pagal Monmonier algoritmą (AiS programa, Miller 2005).

Bajeso klasterinė analizė turi vieną svarbų pranašumą prieš tradicinę klasterinę analizę, nes pastaroji duoda bendrą evoliucinį medį ir sunku rasti vietą dendrogramoje, kur skirti genetines grupes, tuo tarpu Bajeso tikimybių metodas ir MCMC algoritmas leidžia statistiniais metodais nustatyti labiausiai tikėtiną genetinių grupių skaičių. Bajeso klasterinė analizė parodė, kad testuojant nuo 1 iki 9 genetinių grupių struktūras pagal Earl and von Holdt (2012) metodiką, Lietuvoje yra labiausia tikėtina 3-jų genetiškai skirtingų vilkų grupių struktūra (DeltaK kriterijus 3-rių grupių struktūrai buvo reikšmingai didesnis, 3.2.4 pav.). Ženkliai didesnės deltaK kriterijaus tikimybių paklaidos rodo, kad 4 ir daugiau genetinių grupių struktūra Lietuvoje yra mažai tikėtina (3.2.4 pav. dešinėje). Didesnės priskyrimo grupei tikimybių paklaidos rodo struktūros nepatikimumą, kai vienas individas yra priskiriamas beveik lygiomis tikimybėmis kelioms genetinėms grupėms ir tarp iteracijų šios tikimybės pradeda duoti priskyrimo paklaidas, nes priskyrimas tampa atsitiktinis, genetiškai nepagrystas. Ši priskyrimo tikimybių degradacija aiškiau matyti skirtingo grupių skaičiaus tikimybių histogramose, kai didėjant genetinių grupių skaičiui, vis sunkiau tampa patikimai priskirti individus tam tikrai vienai genetinei grupei (3.2.4 pav. kairėje).



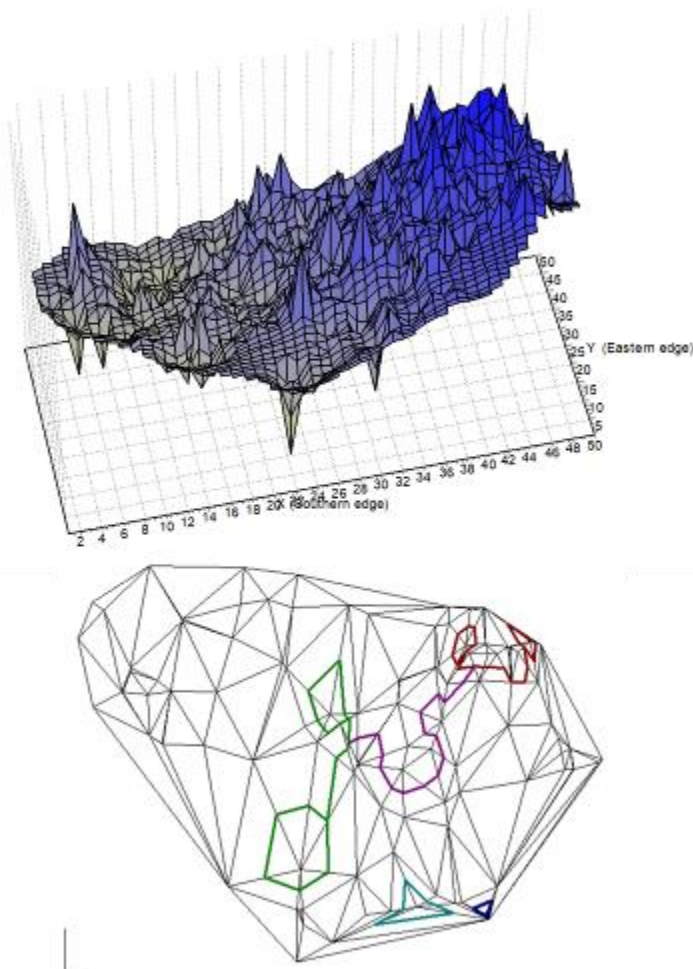
3.2.4 pav. 2019–2020 m. medžioklės sezono metu sumedžiotų vilkų duomenų pagrindu dešinėje pateikti vilko genetinių grupių skaičiaus Lietuvoje nustatymo testo rezultatai, testuojant nuo 2 iki 8 grupių (K) struktūras. Aukščiausias delta K kriterijus (Y ašis, pav. kairėje) rodo labiausiai tikėtiną genetinių grupių skaičių Lietuvoje – 3 genetinės grupės. Viršuje dešinėje pateiktas individų priskyrimo grupei standartinės paklaidos tarp iteracijų, kuo didesnė paklaida, tuo sunkiau patikimai priskirti individą grupei, tuo mažiau patikima tampa struktūra. Kairėje pateiktos individų tikimybės priklausyti vienai iš K Bajeso klasterine analize nustatytų genetinių grupių (toliau STRUCTURE grupės). Kiekvienas stulpelis rodo atskirą vilką (viso yra 118 stulpelių). Stulpelio spalva rodo tikimybę priklausyti tam tikrai genetinei grupei, kuri pažymėta skirtingomis spalvomis. Patikimiausiai yra priskirti tie individai, kurių priskyrimo tikimybė vienai iš grupių viršija 70 proc.



2.3.5 pav. Viršuje - vilkų individų, priskirtų vienai iš 3-jų STRUCTURE genetinių grupių, geografinis pasiskirstymo žemėlapis Lietuvoje. Vilkų sumedžiojimo vietas žymi genetinės grupės pažymėtas skirtingais simboliais. Rausvai pažymėtos sritys žemėlapyje rodo žemo stebimo heterozigotiškumo (giminių poravimosi,  $H_o$ ) zonas. Rodyklės – tikėtinas genų srauto kryptis (pagal 3.1.2 poskyrio rezultatus). Apačioje kairėje pateiktas individų stebimo heterozigotiškumo geografinio pasiskirstymo žemėlapis Lietuvoje. Apačioje dešinėje – Lietuvos miškų masyvų tinklo žemėlapis.



STRUCTURE genetinių grupių geografinis paskirstymas Lietuvos teritorijoje buvo neatsitiktinis (3.2.5 pav.). 3.2.5 pav. matyti aiški tendencija, kad Žemaitijoje dominuoja 3-čios genetinės grupės individai, o 1 ir 2 grupių individai konstruojasi rytinėje dalyje, apytikriai ribojami Nevėžio – Nemuno upių. Tikėtina, kad 1 ir 2 genetinės grupės siejasi su migruojančiais individais per Šiaurės Rytų Lietuvą Pietų link. Tai, kad vienos genetinės grupės nariai nesikoncentruoja vienoje vietoje, o yra pasklidę į atskirus regionus yra teigiamas genų migraciją rodantis rezultatas. Pastebėtinai vienos genetinės grupės individų dominavimas žemo heterozigotiškumo zonose ties Širvintais ir į Pietus nuo Vilniaus (3.2.5 pav.), o Šiaurės Rytų Lietuvoje, kur dominuoja aukšto heterozigotiškumo individai, aptinkamos visos trys genetinės grupės. Šių genetinių grupių geografinis paskirstymas patvirtina praeitame poskyryje išdėstyta prielaidą apie genų srauto pobūdį Šiaurės Rytų Lietuvoje Vilniaus link (3.2.5 pav.).



2.3.6 pav. Lietuvos vilkų populiacijų genetinė struktūra pagal reikšmingų alelių dažnio pokyčių geografinių ribų nustatymo analizę (M algoritmas). Viršuje interpoliuotų Nei (1983) genetinių atstumų paviršinė diagrama, vaizduojant Lietuvą (X ašis – rytų ilguma, Y ašis – šiaurės plotuma). Apačioje – reikšmingo alelių dažnio pokyčio ribos Lietuvos teritorijoje pagal Monmonier algoritmą.

Lietuvos vilkų populiacijų reikšmingų alelių dažnio pokyčių geografinių ribų nustatymo analizė pavertino Bajeso klasterinės analizės rezultatus, nustatydamą reikšmingų genetinių skirtumų ribą tarp Rytų ir Vakarų Lietuvos vilkų populiacijų (3.2.6 pav.). Taip pat ir interpoliuotų Nei (1983) genetinių atstumų paviršinė diagrama parodė, kad genetiškai panašesnės populiacijos skirstosi į rytinę ir vakarinę dalis. Be to, genetinių atstumų paviršinė diagrama parodė stipresnę individų diferenciaciją (aukštesnę įvairovę) Šiaurės Rytų Lietuvoje (daugiau aukštų pikų 3.2.6 pav.). Šie rezultatai sutinka su 2018–2019 m. sezono genetinės struktūros analizės rezultatais, kurie atskleidė nestiprią, bet statistškai reikšmingą Žemaitijos vilkų diferenciaciją iš kitų šalies regionų.

- **3.2.3 Apibendrinimas**

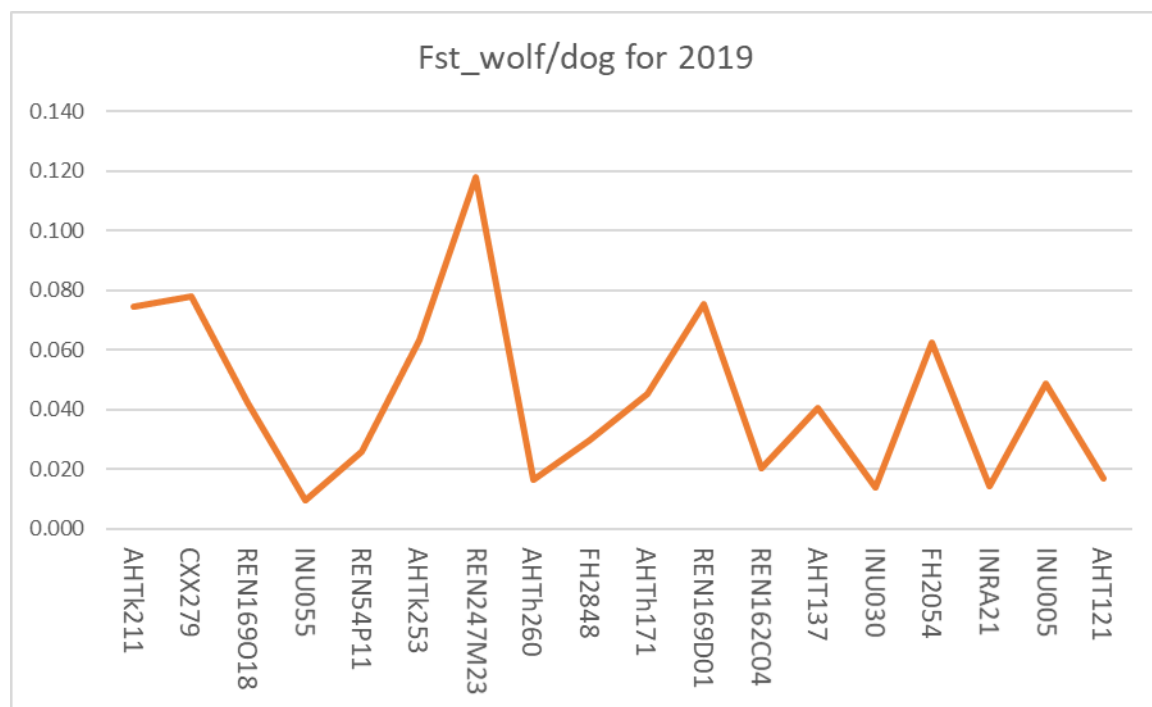
AMOVA atkleidė reikšmingus skirtumus tarp Lietuvos vilkų geografinių populiacijų. Genetinės struktūros analizė parodė, kad šalyje tikėtina yra trijų genetinių grupių struktūra. Šios trys genetinės grupės yra pasiskirstę nevienodai ir geografiškai skiria Lietuvą į rytinę ir vakarinę dalis. Viena iš šių genetinių grupių dominuoja Žemaitijoje, kitos dvi – rytinėje Lietuvoje. Rytinės Lietuvos genetinės grupės greičiausi yra migrantų grupės, turinčios įvairių introgresijos laipsnį su vietiniu genofondu. Todėl Lietuvoje tikėtina trijų genetinių populiacijų struktūra, vienai iš jų koncertuojantis Žemaitijoje, kitoms dviem gana mišriai - rytų Lietuvoje. Pastebėtina, kad migracijos kliūtys gali lemti mažesnės geografinės apimties vienos genetinės grupės individų klasterius ties Širvintais ir į Pietus nuo Vilniaus. Tikėtina, kad Nemunas, Nevėžis ir Neris bei kiti antropologiniai – gamtiniai barjerai turi reikšmingos įtakos genų srauto pobūdžiui ir kryptiai ir tokiu būdu daro įtaka populiacijos genetiniai struktūrai Lietuvoje. Taip pat svarbu išskirti rytų Lietuvos miškų masių susisiekančio tinklo svarbą vilkų migracijai ir populiacijos genetinės įvairybės stabilumui.

- **3.3 Hibridizacija su šunimis**

Bendra multilokusinė genetinė diferenciacija tarp vilkų ir šunų populiacijų mūsų tyrime buvo stipri ir statistškai reikšminga aukštu 0,001 lygmeniu ( $F_{st} = 0.044^{***}$ ,  $D_{est}=0.370^{***}$ ). Lokusų geba diferencijuoti šunis ir vilkus skyrėsi (3.3.1 pav., 3.3.1 lent.). Visų lokusų, išskyrus vieną INU055, diferenciacijos indeksai rodė statistškai reikšmingą diferenciaciją tarp vilkų ir šunų (3.3.1 lent.). Ypač stipriai vilkai ir šunys skyrėsi lokuse REN24723, kuriam vilkų ir šunų diferencijuos indeksas  $F_{st}$  siekė net 0.12 (3.3.1 pav.). Kartu su aukštais lokusų polimorfiškumo rodikliais (žr. 3.1.1



poskyryje) šie reikšmingi diferenciacijos indeksai rodo, kad mūsų naudotas DNR lokusų derinys statistškai patikimai diferencijuoja ir yra tinkamas šunų - vilkų hibridizacijos tyrimui.



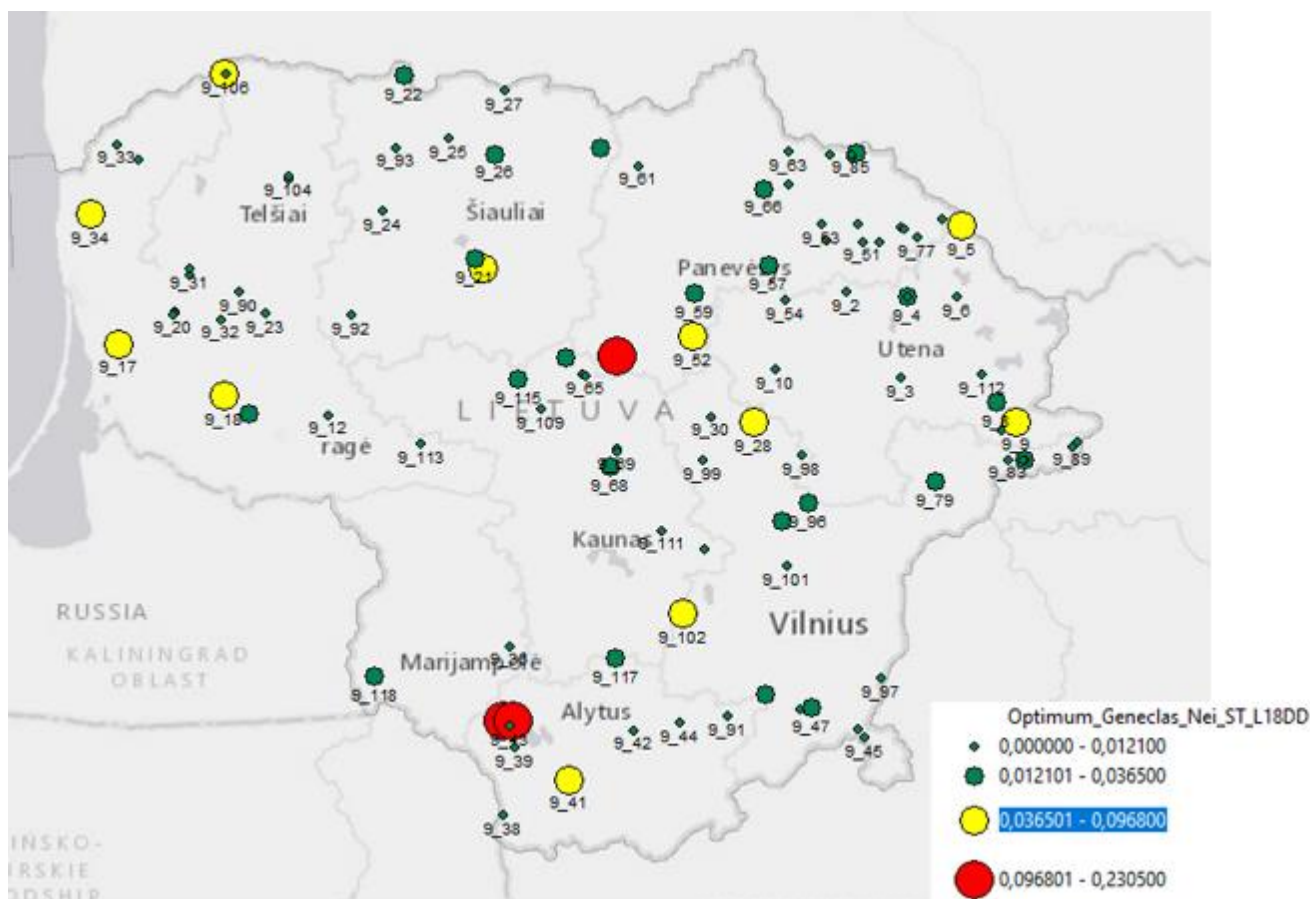
3.3.1 pav. DNR lokusų diferenciacijos indeksai tarp vilkų ir šunų populiacijos (pagal permutacijų testą visos Fst reikšmės yra reikšmingai aukštesnės už nulį, 0,05 tikimybės lygmenyje, išskyrus lokusą INU055).

3.3.1 lent. Genetinės diferenciacijos indeksai (Fst ir Dest) ir jų reikšmingumas (P) tarp vilkų ir šunų pagal lokusus.

Lokusas	Fst	Dest	P (Fst)	P Dest
<b>AHTk211</b>	0.075	0.421	0.001	0.001
<b>CXX279</b>	0.078	0.615	0.001	0.001
<b>REN169O18</b>	0.042	0.444	0.001	0.001
<b>INU055</b>	0.009	0.069	0.063	0.045
<b>REN54P11</b>	0.026	0.271	0.004	0.002
<b>AHTk253</b>	0.063	0.360	0.001	0.001
<b>REN247M23</b>	0.118	0.741	0.001	0.001
<b>AHTh260</b>	0.017	0.225	0.005	0.002
<b>FH2848</b>	0.030	0.196	0.001	0.001

<b>AHTh171</b>	0.045	0.520	0.001	0.001
<b>REN169D01</b>	0.075	0.728	0.001	0.001
<b>REN162C04</b>	0.020	0.237	0.001	0.001
<b>AHT137</b>	0.041	0.449	0.001	0.001
<b>INU030</b>	0.014	0.111	0.034	0.033
<b>FH2054</b>	0.063	0.594	0.001	0.001
<b>INRA21</b>	0.014	0.083	0.004	0.003
<b>INU005</b>	0.049	0.306	0.001	0.001
<b>AHT121</b>	0.017	0.258	0.006	0.001
<b>Visų lokusų apimtyje</b>	0.044	0.370	0.001	0.001

Bajeso genetinio vilkų individų genetinio priskyrimo šunų populiacijai analizė parodė, kad daugumai iš 118 individų priskyrimo tikimybės buvo mažesnės nei 0.05 (3.3.2 lent.). Tačiau 4 iš 118 vilkų individų turėjo priskyrimo šuns populiacijai tikimybes aukštesnes nei 0.10. Du iš jų id. 9\_40 (amžius 0) ir 9\_37a (amžius 0) priklausė vienai pusiau sibių šeimai (nr. 3, t.y. buvo vienos motinos vaikai) ir rasti netoliese Alytaus rajono dalyje link Lazdijų (3.3.2 pav.). Kitas aukščiausios mūsų imtyje priskyrimo tikimybės individas id. 9\_48 rastas Panevėžio rajone (3.3.2 pav.). Ketvirtasis individas id. 9\_41 su priskyrimo tikimybe lygia 0.10 rastas Druskininkų rajone (amžius 7 m. 3.3.2 pav.). Geografiškai pastebinamas hibridizacijos tikimybių padidėjimas Lazdijų, Panevėžio raj. (3.3.2 pav.). Mažas populiacijos dydis gali lemti didesnę hibridizacijos intensyvumą su kitomis rūšimis, jei savos rūšies porų skaičius mažas (Allendorf and Luikart 2007, p. 428). Tačiau mūsų atveju, populiacijos gausa tikrai nėra tokia žema, kad skatintų natūralią hibridizaciją. Mūsų tyrime gauti hibridizacijos intensyvumo rezultatai yra panašūs į Čekijoje, Lenkijoje ir Ispanijoje vykdytų hibridizacijos tyrimų rezultatus su SSR žymenų sistemomis, kur vilkų priskyrimo šunų grupei tikimybės neviršijo 15 proc. (Godinho et al. 2011, Randi et al, 2014, Huvla et al. 2017), pvz. Ispanijos Iberijos dalyje apie 4 proc. tirtų individų turėjo introgresijos su šunis apie 10-12 proc. tikimybes (Godinho et al. 2011).



3.3.2 pav. GENECLASS Bajeso vilkų priskyrimo analizės šunų genetinei grupei tikimybės pagal DNR tyrimo rezultatus. Tikimybės kinta nuo 0 iki 1. Taškai žymi vilkų sumedžiojimo vietas, jų dydis Bajeso tikimybę priklausyti šunų genetinei grupei ir taip rodo hibridizacijos su šunimis laipsnį individo tėvų ir ankstesnėse kartose. Tikėtina, kad Bajeso tikimybė priskyrimui šunų genetinei grupei didesnė nei 0.1 rodo hibridizaciją su šunimis (Godinho et al. 2011)

3.3.2 lent. GENECLASS Bajeso vilkų individų priskyrimo šuns populiacijai tikimybės, kurioms esant didesnėms nei 0.1 tikėtinas hibridizacijos su šunimis faktas (Godinho et al. 2011). Vilko individai išrikiuoti pagal GENECLASS priskyrimo tikimybes žemėjančia tvarka. Pirmi 4 individai tikėtini hibridai. Taip pat duoti ir vilko individų stebimo heterozigotiškumo (Ho) indeksas (rodantis tėvų giminystę), priklausymas pusiau sibių šeimai pagal tėvą ir pagal motiną, bei STRUCTURE genetinė grupė (1- būdinga Žemaitijai, 2 ir 3- rytų Lietuvai)

id	Rajonas	Long.	Lat.	Tikimybė priklausymui šuns rūšiai pagal GeneClass	Amžius, m	Lytis	Ho	Pusiau sibių šeimos kodas pagal motiną	Pusiau sibių šeimos kodas pagal tėvą	Vilkų genetinė grupė (Structure)
9_40	Alytus	23.582578	54.345613	<b>0.23</b>	1	Y	1.00	33	38	3
9_48	Panevėžys	24.160309	55.507264	<b>0.23</b>	0	X	0.94	40	27	2
9_37a	Lazdijai	23.526694	54.344930	<b>0.15</b>	0	X	0.83	33	23	3
9_41	Druskininkai	23.895118	54.153634	<b>0.10</b>	7	Y	0.94	37	17	1

9_9	Ignalina	26.374962	55.300573	<b>0.07</b>	N	Y	0.78	3	43	1
9_18	Šilutė	21.983110	55.379539	<b>0.07</b>	7	Y	0.94	11	27	3
9_17	Klaipėda	21.396761	55.544318	<b>0.07</b>	0	X	0.94	21	27	3
9_105	Mažeikiai	21.982931	56.382144	<b>0.06</b>	0	Y	0.88	7	7	3
9_28	Ukmergė	24.918896	55.299211	<b>0.06</b>	6	Y	0.78	22	31	1
9_34	Kretinga	21.234831	55.949927	<b>0.06</b>	4	Y	0.83	13	3	1
9_52	Panevėžys	24.581451	55.568409	<b>0.06</b>	2	X	0.83	24	32	3
9_5	Zarasai	26.073574	55.914828	<b>0.06</b>	0	Y	0.72	25	46	3
9_102	Elektrėnai	24.526926	54.690864	<b>0.05</b>	0	Y	0.88	4	4	2
9_116	Radviliškis	23.415054	55.779880	<b>0.05</b>	1	X	0.94	13	7	1
9_37	Lazdijai	23.526694	54.344930	<b>0.04</b>	0	X	0.94	33	23	3
9_118	Vilkaviškis	22.807873	54.485473	<b>0.04</b>	6	Y	0.89	8	20	3
9_14	Tauragė	22.119548	55.326281	<b>0.04</b>	1	X	0.67	11	24	3
9_47	Šalčininkai	25.236367	54.387413	<b>0.04</b>	0	Y	0.72	39	41	3
9_110	Kėdainiai	23.872884	55.502981	<b>0.03</b>	0	Y	0.78	12	13	3
9_4	Zarasai	25.766191	55.691904	<b>0.03</b>	5	Y	0.94	41	43	2
9_86	Širvintos	25.070399	54.983091	<b>0.03</b>	0	Y	0.67	46	53	1
9_80	Švenčionys	26.415205	55.179384	<b>0.03</b>	0	Y	0.72	53	55	1
9_22	Akmenė	22.973960	56.375153	<b>0.03</b>	7	X	0.83	25	23	3
9_60	Pakruojis	24.068528	56.152178	<b>0.03</b>	n	Y	0.78	41	47	1
9_56	Kupiškis	24.996351	55.790064	<b>0.03</b>	4	Y	0.94	45	5	2
9_59	Panevėžys	24.588589	55.703178	<b>0.03</b>	0	X	0.78	25	45	1
9_96	Širvintos	25.218163	55.042127	<b>0.03</b>	7	Y	0.78	46	59	1
9_57	Kupiškis	24.996924	55.789385	<b>0.02</b>	0	X	0.83	46	44	1
9_66	Biržai	24.966944	56.027712	<b>0.02</b>	0	X	0.89	8	49	3
9_8	Ignalina	26.261926	55.361456	<b>0.02</b>	4	X	0.89	56	57	1
9_79	Švenčionys	25.924019	55.110108	<b>0.02</b>	3	X	0.94	14	50	3
9_26	Joniškis	23.476866	56.135271	<b>0.02</b>	0	Y	0.83	26	30	3
9_117	Prienai	24.145533	54.546928	<b>0.02</b>	4	Y	0.83	9	19	1
9_68	Jonava	24.122688	55.157456	<b>0.02</b>	0	X	0.89	28	51	1
9_21	Šiauliai	23.369746	55.810767	<b>0.02</b>	6	Y	0.67	24	7	3
9_121	Varėna	24.980262	54.430919	<b>0.02</b>	3	X	0.72	18	21	2
9_115	Kėdainiai	23.608378	55.432768	<b>0.02</b>	4	X	0.78	17	18	2
9_71	Rokiškis	25.480443	56.135998	<b>0.02</b>	0	Y	0.83	50	24	3
9_16	Kretinga	21.506918	56.117884	<b>0.01</b>	n	Y	0.89	22	26	3
9_43	Lazdijai	23.562042	54.327128	<b>0.01</b>	0	X	0.89	33	38	3
9_97	Šalčininkai	25.617325	54.481583	<b>0.01</b>	0	X	0.72	59	51	2

9_63	Biržai	25.108799	56.141321	<b>0.01</b>	4	Y	0.94	48	48	2
9_45	Šalčininkai	25.533791	54.288517	<b>0.01</b>	0	X	0.83	38	17	2
9_81	Švenčionys	26.415547	55.179332	<b>0.01</b>	0	Y	0.72	53	55	1
9_77	Rokiškis	25.826414	55.875182	<b>0.01</b>	0	X	0.94	6	9	3
9_62	Biržai	25.108799	56.141321	<b>0.01</b>	0	Y	0.88	48	48	2
9_111	Kaišiadorys	24.401416	54.954685	<b>0.01</b>	8	X	0.78	13	14	1
9_101	Vilnius	25.099241	54.840039	<b>0.01</b>	0	Y	0.94	3	3	1
9_82	Švenčionys	26.406503	55.177534	<b>0.01</b>	0	Y	0.94	54	26	2
9_19	Klaipėda	21.705422	55.638133	<b>0.01</b>	3	Y	0.94	23	25	3
9_69	Jonava	24.159619	55.206863	<b>0.01</b>	0	Y	0.89	28	51	1
9_13	Tauragė	22.115760	55.328721	<b>0.01</b>	0	Y	0.78	20	23	3
9_73	Rokiškis	25.729636	55.906671	<b>0.01</b>	0	X	1.00	6	41	3
9_3	Utena	25.726900	55.436060	<b>0.01</b>	5	X	1.00	36	37	2
9_92	Kelmė	22.684624	55.634320	<b>0.01</b>	0	Y	0.67	4	10	3
9_75	Rokiškis	25.748163	55.901791	<b>0.01</b>	0	X	0.94	52	41	3
9_99	Ukmergė	24.628701	55.175573	<b>0.01</b>	5	X	0.72	31	50	1
9_85	Rokiškis	25.459872	56.133647	<b>0.01</b>	7	X	0.94	50	20	2
9_30	Ukmergė	24.682520	55.316268	<b>0.01</b>	5	X	0.82	29	4	2
9_119	Rokiškis	25.320781	55.865915	<b>0.01</b>	4	Y	0.94	8	8	2
9_39	Lazdijai	23.589111	54.256496	<b>0.01</b>	5	Y	0.89	35	23	3
9_46	Šalčininkai	25.170455	54.382103	<b>0.01</b>	0	X	0.61	38	40	2
9_95	Zarasai	25.767301	55.693937	<b>0.01</b>	6	X	0.78	58	58	3
9_36	Marijampolė	23.560603	54.584315	<b>0.01</b>	5	X	0.89	1	35	2
9_15	Klaipėda	21.704756	55.645993	<b>0.01</b>	0	Y	0.89	21	25	3
9_6	Zarasai	26.039799	55.692452	<b>0.01</b>	0	X	0.72	49	52	2
9_67	Jonava	24.155779	55.213238	<b>0.01</b>	0	X	0.82	28	50	1
9_55	Kupiškis	24.971818	55.785211	<b>0.01</b>	0	Y	0.94	31	18	2
9_10	Anykščiai	25.034762	55.462190	<b>0.01</b>	6	Y	0.94	11	12	2
9_27	Joniškis	23.536740	56.329280	<b>0.01</b>	0	Y	0.83	27	7	3
9_65	Kėdainiai	23.978268	55.445845	<b>0.01</b>	0	X	0.83	12	13	3
9_84	Rokiškis	25.460569	56.120629	<b>0.01</b>	0	X	0.94	51	24	1
9_42	Alytus	24.246293	54.313672	<b>0.01</b>	0	X	0.83	14	39	2
9_114	Rietavas	21.786155	55.758934	<b>0.00</b>	5	Y	0.78	16	17	2
9_32	Rietavas	21.963038	55.621674	<b>0.00</b>	7	X	0.94	31	28	2
9_109	Kėdainiai	23.736730	55.339057	<b>0.00</b>	0	X	0.78	10	11	3
9_106	Mažeikiai	21.984509	56.381397	<b>0.00</b>	0	X	0.89	8	8	2
9_2	Anykščiai	25.431500	55.706299	<b>0.00</b>	5	Y	1.00	28	15	2

9_112	Ignalina	26.182684	55.447665	<b>0.00</b>	0	X	0.83	14	15	2
9_61	Pasvalys	24.272158	56.098628	<b>0.00</b>	3	X	0.72	47	13	3
9_90	Šiauliai	22.064344	55.705792	<b>0.00</b>	5	Y	0.89	19	32	3
9_93	Akmenė	22.930531	56.155637	<b>0.00</b>	7	Y	0.78	41	32	3
9_98	Ukmergė	25.183603	55.193912	<b>0.00</b>	0	X	0.78	46	12	1
9_20	Klaipėda	21.694296	55.637134	<b>0.00</b>	4	Y	1.00	21	25	3
9_25	Šiauliai	23.222759	56.182667	<b>0.00</b>	3	X	0.88	10	30	3
9_74	Rokiškis	25.749207	55.901533	<b>0.00</b>	0	X	0.94	6	41	3
9_31	Rietavas	21.782635	55.777157	<b>0.00</b>	0	X	0.94	30	33	2
9_107	Kaišiadorys	24.644557	54.895911	<b>0.00</b>	2	Y	0.72	9	9	1
9_44	Varėna	24.500740	54.337011	<b>0.00</b>	0	X	0.89	1	34	2
9_100	Šalčininkai	25.493135	54.317488	<b>0.00</b>	0	Y	0.78	2	2	2
9_64	Biržai	25.107501	56.041839	<b>0.00</b>	4	Y	0.89	34	9	1
9_83	Švenčionys	26.327527	55.180730	<b>0.00</b>	1	X	0.72	55	43	2
9_113	Jurbarkas	23.063364	55.230676	<b>0.00</b>	0	X	0.83	15	16	3
9_76	Rokiškis	25.750724	55.902204	<b>0.00</b>	0	Y	0.94	43	41	3
9_23	Šilalė	22.206713	55.639559	<b>0.00</b>	0	X	0.89	10	28	3
9_58	Panevėžys	24.593116	55.698530	<b>0.00</b>	0	Y	0.61	9	45	1
9_01	Ignalina	26.286678	55.271677	<b>0.00</b>	6	X	0.72	1	1	1
9_87	Švenčionys	26.711704	55.237635	<b>0.00</b>	0	X	0.83	32	31	1
9_91	Varėna	24.772758	54.360358	<b>0.00</b>	0	Y	0.89	57	8	2
9_24	Šiauliai	22.854361	55.957995	<b>0.00</b>	0	Y	0.83	21	29	2
9_33	Skuodas	21.387743	56.165250	<b>0.00</b>	6	Y	0.89	32	34	1
9_72	Rokiškis	25.334333	56.131688	<b>0.00</b>	0	Y	0.78	51	24	1
9_88	Švenčionys	26.711632	55.236585	<b>0.00</b>	0	Y	0.72	54	56	2
9_12	Tauragė	22.553752	55.320674	<b>0.00</b>	0	Y	1.00	19	22	3
9_103	Telšiai	22.331327	56.054599	<b>0.00</b>	5	Y	0.78	5	5	2
9_7	Ignalina	26.261954	55.361932	<b>0.00</b>	5	Y	0.78	28	4	1
9_104	Telšiai	22.331098	56.066949	<b>0.00</b>	1	Y	0.61	6	6	2
9_70	Rokiškis	25.460811	56.133806	<b>0.00</b>	0	Y	0.83	42	53	1
9_29	Ukmergė	24.682520	55.316268	<b>0.00</b>	3	Y	0.83	24	32	3
9_78	Rokiškis	25.963406	55.935116	<b>0.00</b>	0	X	1.00	27	54	2
9_51	Rokiškis	25.523264	55.863549	<b>0.00</b>	4	Y	0.72	43	16	3
9_50	Rokiškis	25.614787	55.861834	<b>0.00</b>	1	X	0.89	42	44	2
9_89	Švenčionys	26.680813	55.221753	<b>0.00</b>	0	Y	0.89	32	55	1
9_38	Lazdijai	23.527593	54.037875	<b>0.00</b>	0	Y	0.56	34	36	2
9_54	Anykščiai	25.094091	55.681162	<b>0.00</b>	1	X	0.67	2	22	2

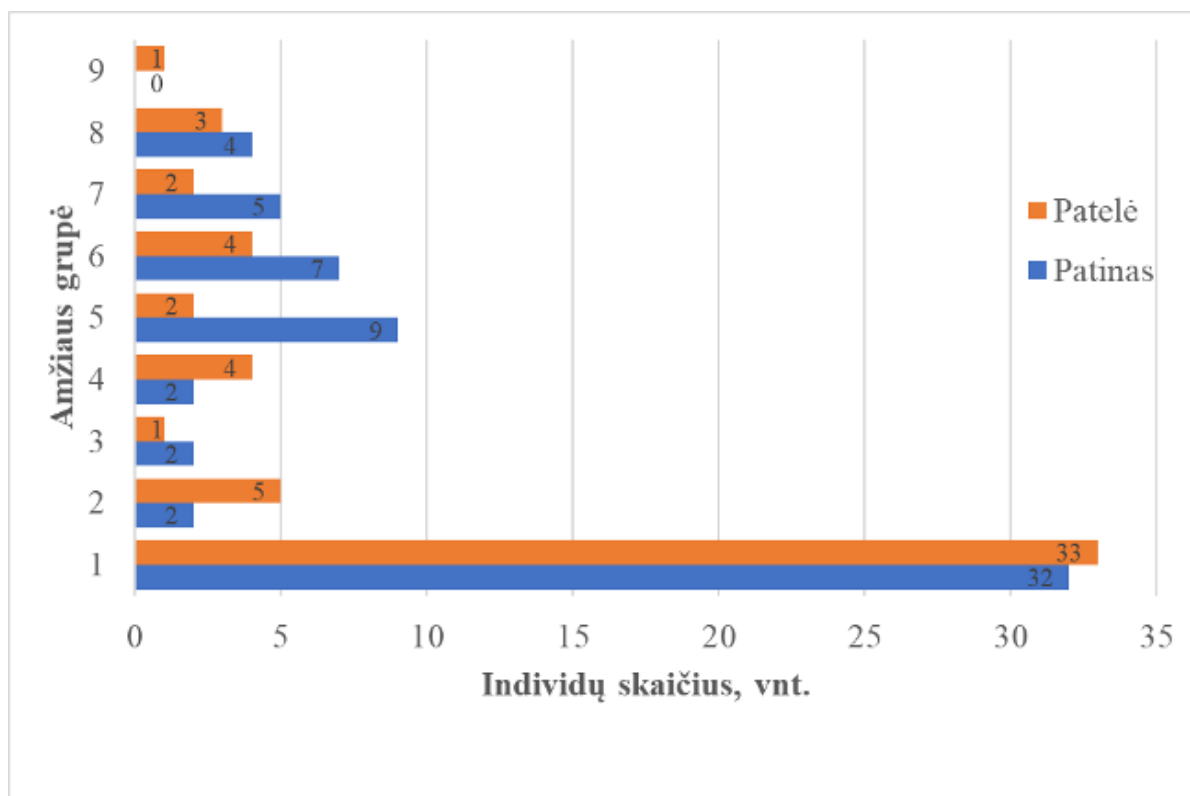
9_53	Kupiškis	25.291529	55.916043	<b>0.00</b>	0	X	0.94	44	22	2
9_108	Kėdainiai	23.963359	55.450306	<b>0.00</b>	0	Y	0.83	5	10	2
9_49	Rokiškis	25.496041	55.918427	<b>0.00</b>	0	Y	0.78	8	42	3

Apibendrinimas. DNR tyrimas pagal 18 polimorfinių SSR lokusų parodė, kad, pagal 2019–2020 metų sezono sumedžiojimo 118 vnt. vilkų imtį ir 18 šunų referencinę biblioteką, vilkų hibridizacijos su šunimis intensyvumas nėra aukštas tik 4 iš 118 individų rodė 10–23 proc. genetinį panašumą su šunimi, kaip hibridizacijos indikatorius (Godinho et al. 2011, 2018 metais - 6 iš 99 rodė 10–15 proc. tikimybes). Keli hibridizacijos atvejai turėjo geografinį ir genetinį panašumą – buvo vienos motinos palikuonys rasti vienoje vietovėje.

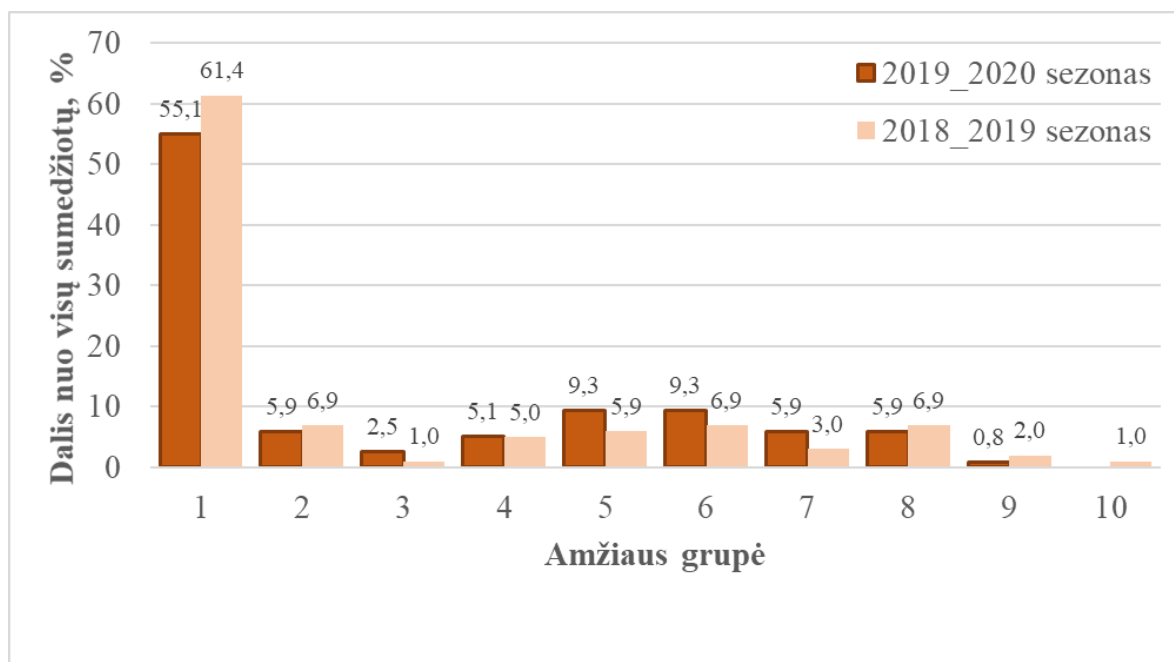
### • 3.4 Sumedžiotų vilkų amžius

Ištyrus 2019–2020 metų medžioklės sezono metu sumedžiotų vilkų apatinius iltinius dantis, nustatyta, kad 55,1% individų sudarė 5–8 mėnesių amžiaus jaunikliai (3.4.1 pav.). 2018–2019 metų medžioklės sezono metu tokio amžiaus jaunikliai taip pat sudarė didžiausią dalį tarp sumedžiotų vilkų, t. y. 61,4% individų. Pirmamečių jauniklių amžiaus grupėje (vilkų amžius iki metų) patinų buvo sumedžiota šiek tiek mažiau nei patelių, atitinkamai 32 patinai (49,2%) ir 33 patelės (50,8%). Palyginimui, praėjusį sezoną patinai sudarė didesnę dalį (61,3%) šioje amžiaus grupėje.

Vyresnėse amžiaus grupėse vilkų buvo sumedžiota po mažiau. Atitinkamose amžiaus grupėse buvo sumedžiota po 0,9–9,3% individų nuo bendro visų sumedžiotų vilkų skaičiaus. Štai antramečiai jaunikliai sudarė 5,9% nuo visų per pastarąjį sezoną Lietuvos teritorijoje sumedžiotų vilkų, tai labai panaši reikšmė, kaip ir prieš tai buvusį sezoną (6,9%). Vyriausias sumedžiotas vilkas (patelė) ėjo devintus metus. Tai vėl panašus rezultatas į prieš tai buvusio sezono, kai vyriausia sumedžiota patelė ėjo dešimtus metus (3.4.2. pav.).



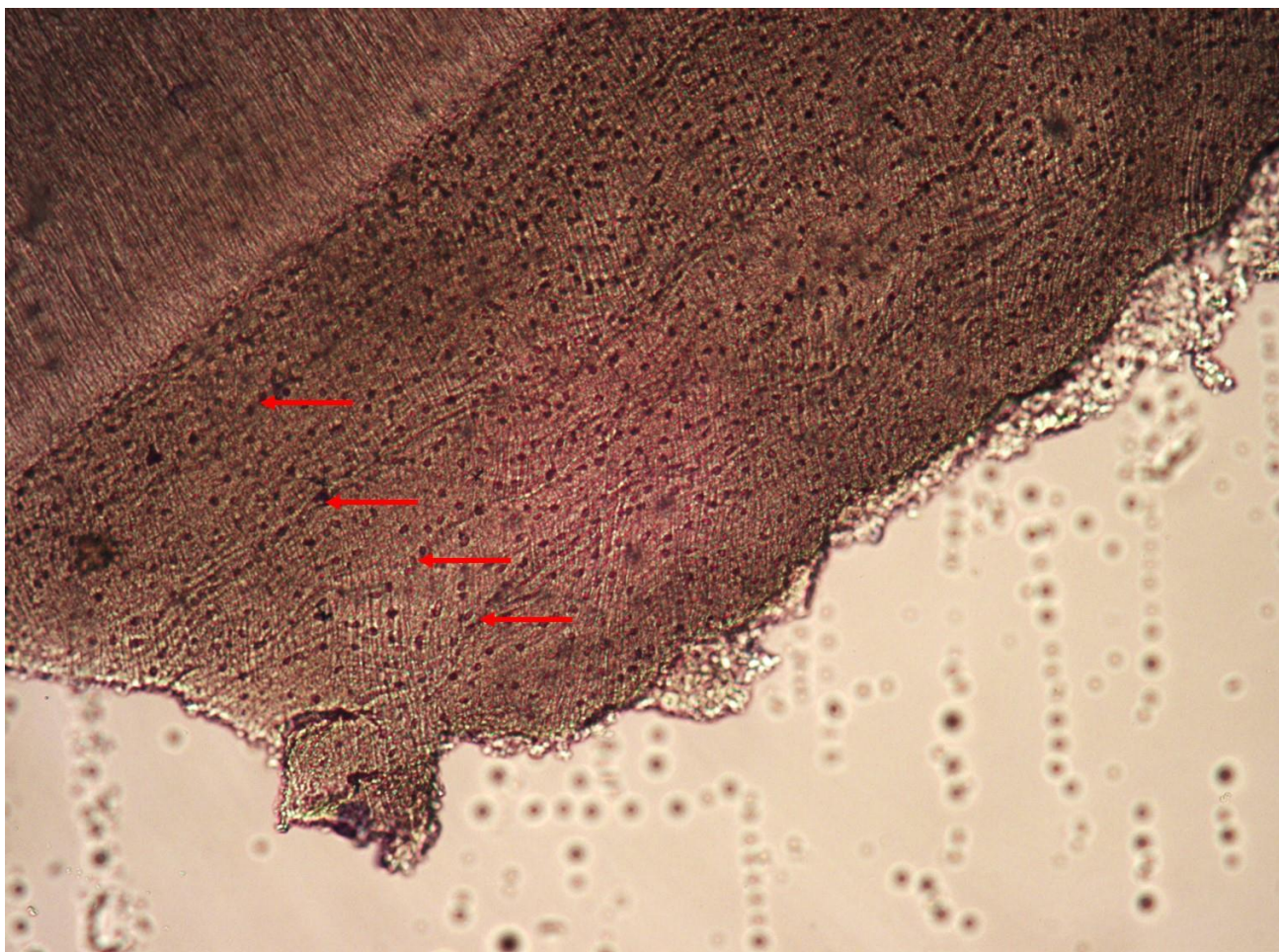
3.4.1. pav. 2019–2020 metų medžioklės sezono metu sumedžiotų vilkų pasiskirstymas amžiaus grupėse pagal lytį



3.4.2. pav. 2018–2019 ir 2019–2020 metų medžioklės sezonų metu sumedžiotų vilkų pasiskirstymo amžiaus grupėse palyginimas

Lietuvoje vidutinis sumedžiotų vilkų amžius (atmetus pirmamečius ir antramečius jauniklius) 2019–2020 metų sezoną buvo 4,83 metų (3.4.3 pav.) (ankstesnį sezoną – 5,25 metų).





3.4.3 pav. Penkių metų individo danties pjūvis su matomomis keturiomis metinėmis rievėmis

Nustatytas lytinis pasiskirstymas tarp sumedžiotų patinų ir patelių 2019–2020 metų medžioklės sezono metu buvo 1:0,85. Taigi praėjusį sezoną patinų dalis (54,1%) populiacijoje buvo didesnė nei patelių (45,9%). Palyginimui 2018–2019 metų medžioklės sezono metu sumedžioti patinai sudarė 59,2% populiacijoje, 2017-2018 metų medžioklės sezono metu – 52%, 2016-2017 metų medžioklės sezono metu – 51%, o 2015-2016 metų medžioklės sezono metu – 59%.

2019–2020 metų medžioklės sezono metu, analogiškai kaip ir 2018–2019 metų medžioklės sezono metu, didelės pirmamečių jauniklių dalies susidarymą tarp sumedžiotų vilkų galėjo įtakoti keletas priežasčių. Pirmiausia, aišku, tai, kad jauniklių gyvybingoje populiacijoje ir turėtų būti daug. Kita labai tikėtina priežastis, kad jaunikliai dar prastai išugdę savisaugos instinktus ir patirtį, be to jiems medžioklės sezono laikotarpis sutampa su pirmaisiais nuo gaujos atsiskyrimo žingsniais. Tai atskleidė ir mūsų atlikti genetiniai tyrimai, kai dar metų nesulaukę tos pačios vados jaunikliai buvo sumedžioti dideliais atstumais vieni nuo kitų. Tokiais atstumais migruojantys jaunikliai atsiduria už savo gimtosios gaujos ribų, svetimose teritorijose.

- **3.5 Suaugusių patelių reprodukcija**

Atliktas sumedžiotų patelių gimdų tyrimas atskleidė, kad, iš 54 į laboratoriją parsivežtų užšaldytų gimdų, tinkamai buvo išimta 13 gimdų (24,1%) (3.5.1 pav.). Nustatyta 30 atvejų, kai paimta tik dalis gimdos (55,6%) (3.5.4. pav.) bei 10 atvejų (18,5%), kai paimti kiti vidaus organai (3.5.2. pav.). Tarp teisingai išimtų gimdų ( $n=13$ ) 3 jų buvo pirmamečių jauniklių patelių (3.5.3 pav.) ir 1 antrametės jauniklės patelės. Pirmametės patelės nuo savo gimimo dar net nebuvo sulaukusios rujos sezono, o antrametės teoriškai taip pat neturėtų 2019 metų žiemą būti dalyvavusios rujoje, ką ir patvirtino gimdos atvėrimas.

Kaip ir praėjusį sezoną, dažniausia pasitaikiusi medžiotojų klaida buvo, kad jie paimdavo ne visą gimdą, tai yra vienas iš gimdos ragų arba dalis jų būdavo nupjauta (jų trūkdavo) (3.5.4. pav.). Tyrimams tinkamos gimdos turėjo būti su gimdos ragais užsibaigiančiais kiaušidėmis. Taip pat, kaip ir praėjusį sezoną, pasitaikė ne vienas atvejis, kai medžiotojai tyrimams perdavė vilko šlapimo pūslę (3.5.2. pav.), manydami, kad tai gimda.



3.5.1 pav. Teisingai išimta sumedžiotos penkių metų amžiaus vilko patelės gimda



3.5.2 pav. Vietoj gimdos paimti kiti vidaus organai



3.5.3 pav. Sumedžiotos pirmametės vilko patelės teisingai išimta gimda

Išanalizavus tinkamai ir dalinai išimtas gimdas, vis dėlto galime daryti kai kurias išvadas. Apžiūrėjus visas ( $n=3$ ), įskaitant ir dalinai išimtas, antramečių jauniklių patelių gimdas, galima konstatuoti, kad jos jauniklių dar nebuvo turėjusios (3.5.4 pav.). Tai patvirtina praėjusio sezono tyrimų rezultatus, kad mūsų gamtinėmis sąlygomis savo pirmąją žiemą jauniklės rujoje nedalyvauja.





3.5.4 pav. Sumedžiotos antrametės vilko patelės dalinai išimta gimda

Iš tinkamai išimtų 9 suaugusių patelių gimdų, viena netiko reprodukcijos analizei, nes patelė buvo žuvusi vasario 25 d. Likusios 8 gimdos atskleidė, kad 7 patelės pavasarį buvo vedusios jaunikius (3.5.1. lentelė). Vyriausia sumedžiota aštuonių metų patelė taip pat pavasarį vedė 3 jaunikius.

Lentelė 3.5.1. Vilko patelių gimdose buvusių embrionų skaičius ir gyvūno amžius

Individo amžius, metai	Imties dydis, vnt.	Embrionų skaičius, vnt.		
		min	max	vidurkis
3	1			0
4	2	6	8	7
5	2	7	9	8
6	2	6	10	8
8	1			3

Iš dalinai išimtų gimdų matyti, kad trejų metų amžiaus patelė pavasarį nebuvo vedusi jauniklių. Registruotas įdomus atvejis, kai penkių metų amžiaus patelė nebuvo nei karto vedusi jauniklių (3.5.5. pav.). Prie šio atvejo reikia paminėti, kad šios patelės kaukolė buvo neproporcingai mažų parametrų, lyginant su kitų tokio pat amžiaus patelių kaukolėmis.

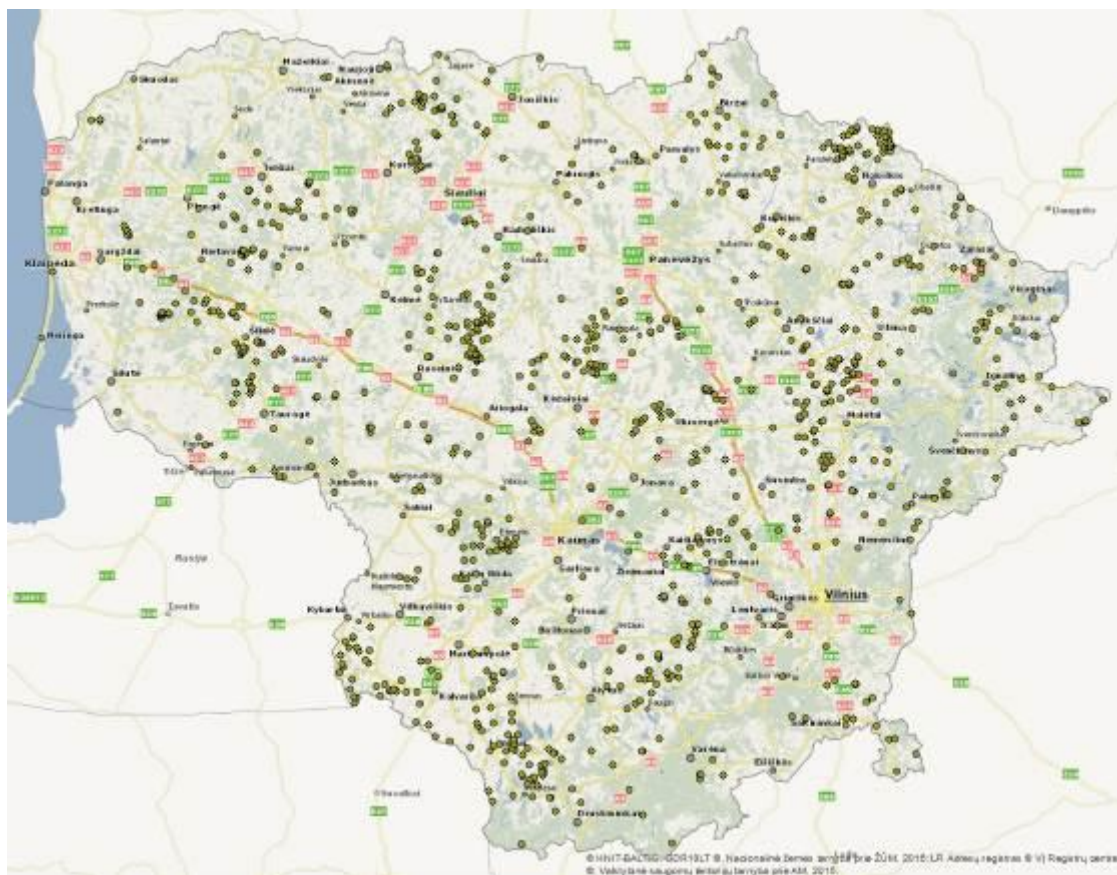


3.5.5. pav. Penkių metų amžiaus patelės gimda, kai patelė nebuvo nei karto vedusi jauniklių

Apžiūrėjus tinkamai ir dalinai išimtas suaugusių patelių gimdas ( $n=10$ ), galima teigti, kad 70% patelių pavasarį buvo vedusios jauniklius. Šis rodiklis skiriasi nuo nustatyto praėjusį sezoną, kuomet buvo ištirta, kad jauniklius vedė pusė patelių.

### • 3.6. Pranešimų apie didžiųjų plėšrūnų buvimą registravimo visus metus anketų duomenys

Valstybinės saugomų teritorijų tarnybos prie Aplinkos ministerijos Biologinės įvairovės duomenų bazės skiltyje „Didžiųjų plėšrūnų buvimą registravimas visus metus“ buvo registruotas 991 pranešimas apie stambiųjų plėšrūnų ir jų veiklos požymių stebėjimus, įvykusius laikotarpyje nuo 2019 m. rugsėjo 1 d. iki 2020 m. rugsėjo 1 d. (3.6.1. pav.). Didžiąją dalį (89,7%) registruotų stambiųjų plėšrūnų stebėjimo atvejų sudarė vilkų ir jų veiklos pėdsakų stebėjimai ( $n=889$ ) (3.6.1. lentelė). Per analizuojamą laikotarpį sistemoje buvo užregistruotas 391 atvejis, kai vilkai užpuolė ūkinius gyvūnus ar naminius augintinius. Tokie atvejai sudarė 44,0% nuo visų atvejų, kai buvo stebimi vilkai ar jų veikla. Palyginti dažnai (29,4%) buvo registruoti atvejai, kai stebėtas gyvas individas ( $n=261$ ). Aptikti pėdsakai sudarė 19,0% stebėjimo atvejų ( $n=169$ ).



3.6.1. pav. Didžiųjų plėšrūnų ir jų veiklos požymių stebėjimo atvejų, registruotų Valstybinės saugomų teritorijų tarnybos prie Aplinkos ministerijos Biologinės įvairovės duomenų bazėje, išsidėstymas Lietuvos teritorijoje laikotarpyje nuo 2019 m. rugsėjo 1 d. iki 2020 m. rugsėjo 1 d.

Lentelė 3.6.1. Didžiųjų plėšrūnų ir jų veiklos požymių stebėjimo atvejų skaičiai laikotarpyje nuo 2019 m. rugsėjo 1 d. iki 2020 m. rugsėjo 1 d., registruoti Valstybinės saugomų teritorijų tarnybos prie Aplinkos ministerijos Biologinės įvairovės duomenų bazėje

Rūšies stebėjimo faktas	Atvejų skaičius, vnt.			Viso atvejų, vnt.
	Vilkas	Lūšis	Rudasis lokys	
Aptikti ekskrementai	17	2	0	19
Aptikti pėdsakai	169	10	2	181
Girdėtas balsas	12	0	0	12
Kitos rūšies faktas	0	0	0	0
Užpulti laukiniai gyvūnai	35	4	0	39
Užpulti ūkiniai gyvūnai ar naminiai augintiniai	391	0	0	391
Rastas negyvas individas	4	0	0	4
Stebėtas gyvas individas	261	80	4	345
Visi atvejai	889	96	6	991

Toliau analizuojant duomenis, apie tai, kokio dydžio vilkų grupės registruojamos pranešimuose, nebuvo įtraukti tie atvejai, kai buvo registruojami vilkų užpulti ūkiniai ar laukiniai gyvūnai bei naminiai augintiniai, nes didžiąja dalimi tokių atvejų būna sudėtinga nustatyti plėšrūnų skaičių, todėl manome, kad skaičiai gali būti nepatikimi. Taigi, atmetus aukščiau išvardintus atvejus, didžiąją dalį (62,5%) vilkų ir jų veiklos požymių registravimo atvejų (n=469) sudarė, tokie atvejai, kai buvo registruojamas vienas vilkas. Tai, kad dažniausiai buvo registruojamas vienas vilkas galėjo nulemti tiek techninės galimybės, tiek vilko, kaip rūšies, etologiniai niuansai. Fotografavimo režimu nustatytos automatinės vaizdo registravimo kameros tarp nuotraukų fotografavimo daro pauzes, todėl, kai kamera nufotografuojamas vienas vilkas, nebūtinai jis išties būna vienas. Nesant ištisinės sniego dangos, kai galima pasekti pėdsakais ir tiksliau nustatyti vilkų skaičių, taip pat sunku nustatyti vilkų skaičių didesnėje grupėje. Be to yra pastebėta, kad ne žiemos laikotarpiu arba nesant gilesnės sniego dangos, vilkų gauja dažnai laikosi suskilusi mažesnėmis grupelėmis arba netgi pavieniui. Taigi aukščiau aprašytomis sąlygomis dažna pavienių individų registracija neturėtų stebinti ir neturėtų vesti prie išvados, kad vilkai nesudaro gaujų.

Didžiųjų plėšrūnų buvimo registravimo visus metus duomenys buvo įvertinti pagal patikimumą:

C1 – nepaneigiami faktai, kurie vienareikšmiškai patvirtina vilko buvimą (vilko nuotraukos, gyvūno sugavimas, genetiniai duomenys, sumedžiotas ar rastas žuvęs gyvūnas, telemetriniai duomenys);

C2 – tai dokumentais pagrįsti (fotografijos, vaizdo ar garso įrašai) vilkų buvimą įrodantys jų veiklos požymiai (išgirsti staugimai, pėdsakai, ekskrementai, urinacijos, grobio likučiai, vilkų guoliai ir urvai);

C3 – nepatvirtinti stebėjimai (visi stebėjimai be jų įrodymo nuotraukomis ar pan.; visi veiklos požymiai, kurie yra pernelyg seni, nepakankamai ryškūs ar nepakankamai dokumentuoti; požymiai, kurių per mažai, kad būtų galima pasitikėti). Kategorija C3 išskirstyta į dvi subkategorijas „tikėtina“ ir „abejotina“.

Dauguma pranešimų (58,2%) buvo įvertinti C2 patikimumo kategorija (3.6.2. lentelė). Šioje kategorijoje (C2) dominavo pranešimai, kai buvo registruoti užpulti ūkiniai gyvūnai ar naminiai augintiniai (58,8%), aptikti pėdsakai (27,8%), užpulti laukiniai gyvūnai (6,2%). Tokios rūšies pranešimų, kaip ir rastų ekskrementų ar girdėto balso, aukščiausias įvertinimas gali būti tik būtent C2, nes stebimi ne patys vilkai, o jų veiklos žymės. C1 patikimumo kategorija įvertinta 18,9% pranešimų, kai buvo dokumentais pagrįsti gyvo vilko stebėjimai ar surastas negyvas individas. C3 (tikėtina) patikimumo kategorija įvertinta 22,2% pranešimų, nes pildant pranešimą nebuvo pridėta

fotografija, vaizdo ar garso įrašas. Tačiau reikia pastebėti, kad vertinant pranešimus susidarė įspūdis, jog visi į C3 (tikėtina) kategoriją patekę pranešimai yra tikrų faktų deklaravimas, tiesiog, dėl įvairių priežasčių pranešimų pildytojai nepateikė įrodančių dokumentų. Realiai, jei tik būtų buvusi išpildyta sąlyga dėl įrodančių dokumentų pridėjimo, visi C3 (tikėtina) kategorijos pranešimai būtų patekę į aukštesnio patikimumo kategoriją. Keletas pranešimų buvo įvertinti C3 (abejotina) kategorijos patikimumu, nes tikėtina, kad tai netyčiniai dubliai prieš kelias minutes užpildyto analogiško pranešimo.

Lentelė 3.6.2. Vilkų ir jų veiklos požymių stebėjimo atvejų skaičiai pagal patikimumą laikotarpyje nuo 2019 m. rugsėjo 1 d. iki 2020 m. rugsėjo 1 d., registruoti Valstybinės saugomų teritorijų tarnybos prie Aplinkos ministerijos Biologinės įvairovės duomenų bazėje

Rūšies stebėjimo faktas	Atvejų skaičius, vnt.				Viso atvejų, vnt.
	C1	C2	C3 tikėtina	C3 abejotina	
Aptikti ekskrementai	0	12	5	0	17
Aptikti pėdsakai	0	144	22	3	169
Girdėtas balsas	0	7	5	0	12
Kitos rūšies faktas	0	0	0	0	0
Užpulti laukiniai gyvūnai	0	32	3	0	35
Užpulti ūkiniai gyvūnai ar naminiai augintiniai	0	304	85	2	391
Rastas negyvas individas	4	0	0	0	4
Stebėtas gyvas individas	164	18	77	2	261
Visi atvejai	168	517	197	7*	889

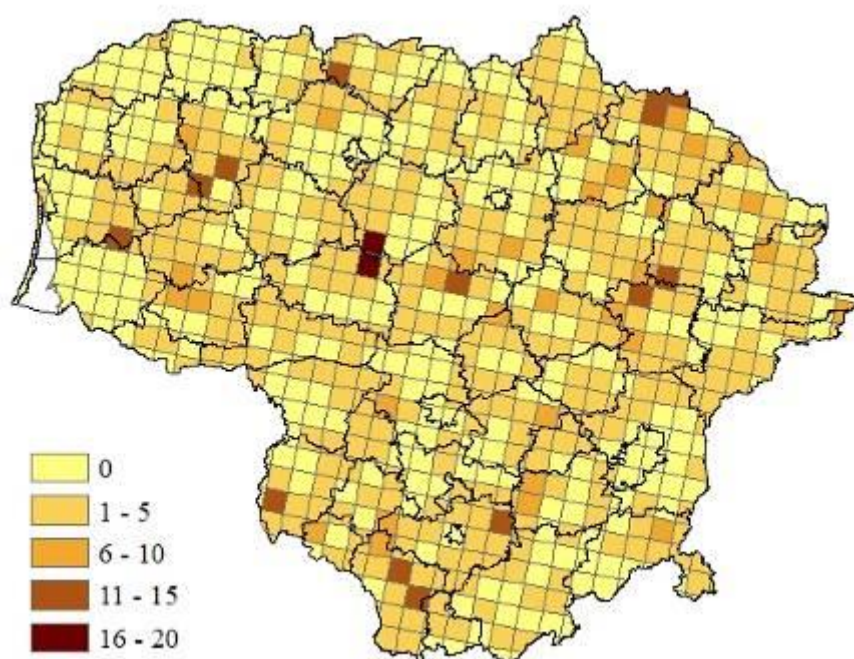
\*kategorijai „C3 abejotina“ buvo priskirti 5 atvejai, kai manoma, kad netyčia buvo sudubliuotas tas pats pranešimas

Tolimesnei analizei, nustatant vilko populiacijos erdvinį paplitimą (arealą), populiacijos dydį (vilkų šeimų ir reprodukcijos atvejų skaičių) bei kitus populiacijos parametrus, buvo naudoti pranešimai apie vilkų buvimo registravimus visus metus (įvykusius laikotarpyje nuo 2019 m. rugsėjo 1 d. iki 2020 m. rugsėjo 1 d.), o taip pat dėl išsamumo įtraukti ir 2020 m. apskaitos pagal pėdsakus sniege bei 2019–2020 metų medžioklės sezono metu sumedžiotų vilkų duomenys. Remiantis šiais duomenimis, vilkų sutinkamumas Lietuvos teritorijoje atvaizduotas 10x10 km tinklelio gardelėse (3.6.2. pav.). Priklausomai nuo registracijos atvejų skaičiaus, tenkančio tinklelio gardelei, naudojama



skirtinga spalva. Gardelės, kuriose per metus nebuvo registruota nei vieno vilkų buvimo atvejo (geltona spalva) sudarė 46,6%, kai registruotas 1 atvejis – 20,0%, 2 atvejai – 13,0%.

Deja, nepaisant visų pastangų, informuojant visuomenę apie stambiųjų plėšrūnų registraciją vieningoje sistemoje [www.biomon.lt](http://www.biomon.lt), tenka pripažinti, kad gautas rezultatas vis dar nepakankamas, kad būtų atskleistas tikrasis vilko populiacijos erdvinis paplitimas. 3.6.2. paveiksle matomos geltonos gardelės, kuriose „nėra“ vilkų, sutampa su Biržų giria, Žaliaja giria, Kamanų pelke ir taip toliau. Šiose paminėtose teritorijose ir visoje eilėje analogiškų teritorijų vilkai gyvena, tačiau nuo 2019 m. rugsėjo 1 d. iki 2020 m. rugsėjo 1 d. pranešimų į sistemą negauta.



3.6.2. pav. Valstybinės saugomų teritorijų tarnybos prie Aplinkos ministerijos Biologinės įvairovės duomenų bazėje nuo 2019 m. rugsėjo 1 d. iki 2020 m. rugsėjo 1 d. registruotų pranešimų apie vilkus skaičių pasiskirstymas 10x10 km gardelėje

Skaičiuojant populiacijos dydį (vilkų šeimų ir reprodukcijos atvejų skaičių), pirmiausiai atsižvelgta į 2019–2020 m. medžioklės sezono metu sumedžiotų vilkų amžių ir genetinių tyrimų rezultatus. Reprodukcijos atvejų skaičiui nustatyti buvo atrinkti tik 2019–2020 m. medžioklės sezono metu sumedžiotų vilkų jaunikliai ( $n=65$ ), tai yra individai, kurių amžius buvo 5–8 mėnesiai. Genetiniais tyrimais buvo nustatyta, kad sumedžioti jaunikliai dalijasi į 44 artimais giminystės ryšiais nesusijusias grupes (po 1, 2 ar 3 atstovus grupėje), tai yra sumedžioti jaunikliai pagal savo kilmę buvo iš 44 atskirų šeimų.

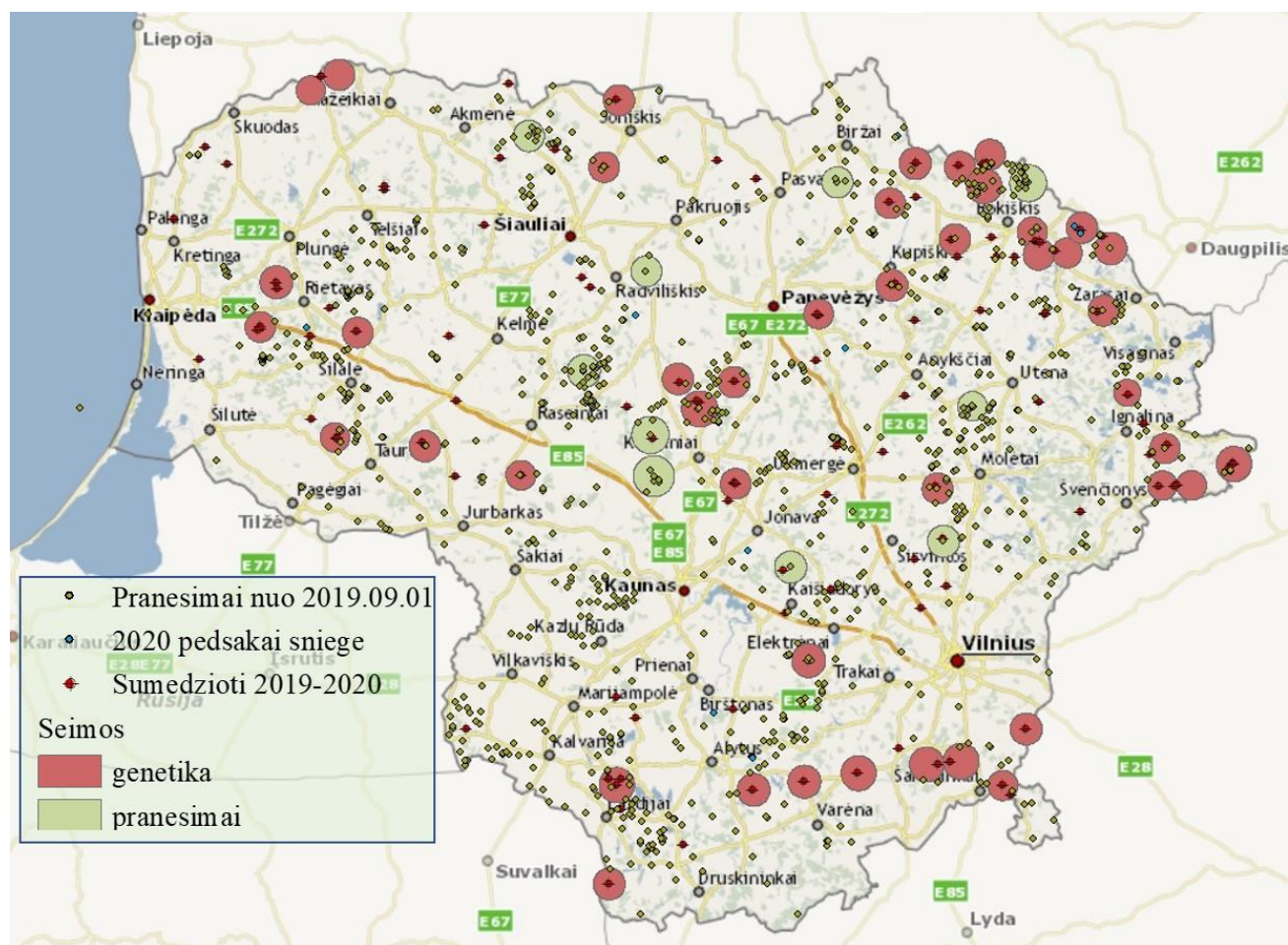
Sekančiu etapu (skaičiuojant vilkų šeimų ir reprodukcijos atvejų skaičių) buvo išanalizuoti pranešimai apie vilkų buvimo registravimus visus metus (įvykusius laikotarpyje nuo 2019 m. rugsėjo 1 d. iki 2020 m. rugsėjo 1 d.). Atrinkti tik tie atvejai, kai pranešimu registruoti ne mažiau kaip 4 vilkai. Atvejai, kuomet buvo nufotografuoti tik paskersti gyvūnai, buvo neįtraukti, kaip neturintys pakankamai įrodymų dėl vilkų skaičiaus. Taip pat neįtraukti tie atvejai, kai vilkų skaičiui pagrįsti nebuvo pridėtos nuotraukos ar vaizdo įrašai. Taigi vilkų šeimos skaičiuotos tik tuo atveju, jei pranešime buvo registruoti 4 ir daugiau vilkų vienu metu, teikiamą informaciją pagrindžiant kokybiškomis vilkų ar jų pėdsakų nuotraukomis arba vaizdo įrašais (3.6.3. pav.).



SUNTEK 000000 10/31/2019 18:52:17 1°C/33°F 100%

3.6.3. pav. Kokybiškomis nuotraukomis dokumentuoti pranešimai apie 4 ir daugiau vilkų buvimo registravimus visus metus (įvykusius laikotarpyje nuo 2019 m. rugsėjo 1 d. iki 2020 m. rugsėjo 1 d.). Nuotraukos iš Valstybinės saugomų teritorijų tarnybos prie Aplinkos ministerijos Biologinės įvairovės duomenų bazės

Registruojant atskirą šeimą, buvo atsižvelgiama, kad šeimų teritorijų epicentrai būtų pakankamai nutolę nuo kaimyninių šeimų. Vadovaujantis pranešimų medžiaga buvo nustatyta 10 vilkų šeimų.



3.6.4. pav. Vilkų buvimo registracijos taškai pagal pranešimų registravimą visus metus, apskaitas pagal pėdsakus sniege bei sumedžiojimus. Genetinių ir amžiau tyrimų pagrindu bei pateiktų pranešimų pagrindu išskirtas minimalus vilkų šeimų kiekis

Genetinių ir amžiau tyrimų pagrindu bei pateiktų pranešimų pagrindu suskaičiuotos vilkų šeimos susumuotos ir gauta, kad Lietuvos teritorijoje gyveno ne mažiau kaip 54 vilkų šeimos (3.6.4. pav.).



### • 3.7. Medžiojamųjų gyvūnų apskaitos pagal pėdsakus sniege duomenys

Analizei naudoti Valstybinės saugomų teritorijų tarnybos prie Aplinkos ministerijos iki 2020 m. balandžio 10 d. surinkti medžiojamųjų gyvūnų apskaitos pagal pėdsakus sniege duomenys. Dėl išskirtinai šiltos ir besniegės 2019–2020 metų žiemos didžiojoje šalies dalyje nebuvo sąlygų atlikti medžiojamųjų gyvūnų apskaitą pagal pėdsakus sniege. Lietuvos hidrometeorologijos tarnybos prie Aplinkos ministerijos Meteorologinių stebėjimų skyriaus duomenimis, sausio-kovo mėnesiais šalyje sniego danga buvo užfiksuota tik epizodiškai atskiruose rajonuose. Susidarius tokioms sąlygoms, duomenis pateikė tik 46 medžioklės plotų vienetai, o vilkai buvo registruoti tik 7 iš jų (3.7.1. lent.). Atliekant apskaitas iš viso maršrutuose buvo nueiti 457 kilometrai.

Lentelė 3.7.1. Pėdsakų dažnumo indeksas pagal Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2018 m. vasario 12 d. įsakymo Nr. D1-98 „Dėl Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2000 m. birželio 27 d. įsakymo Nr. 258 „Dėl medžioklės Lietuvos Respublikos teritorijoje taisyklių patvirtinimo“ pakeitimo 42<sup>1</sup> punktu Medžioklės Lietuvos Respublikos teritorijoje taisyklių 5 priedo 18.1 punktą "1 km pėdsakų maršruto, kuris nustatomas aptiktų pėdsakų skaičių padalijus iš maršruto ilgio“

Rajonai	Vilkas	Lūšis	Naminis šuo	Paprastasis šakalas	Rudasis lokys	Šernas	Stirna	Taurusis elnias	Danielius	Briedis	Stumbras
Akmenės r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,7692	5,3846	15,5556	0,0000	0,0000	0,0000
Alytaus r.	0,2859	0,0476	0,0000	0,0000	0,0000	3,2873	2,7156	6,5269	1,0481	0,0000	0,0000
Anykščių r.	0,0951	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,4757	2,5214	3,4253	0,2854	0,8563	0,0000
Biržų r.	0,1614	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,0492	3,4705	1,2914	0,0000	0,0000	0,0000
Ignalinos r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,1418	6,1034	1,5985	0,1246	1,0172	0,0000
Joniškio r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1477	4,8260	1,9534	0,3940	0,2298	0,0000
Jurbarko r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	7,0000	1,3333	0,0000	0,0000	0,0000
Pasvalio r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1874	1,1715	0,3280	0,0000	0,0469	0,0000
Plungės r.	0,0000	0,0133	0,0000	0,0000	0,0000	0,9032	5,3659	1,7798	0,2258	0,2789	0,0000
Radviškio	0,0820	0,0273	0,0000	0,0000	0,0000	0,9024	3,3361	2,3517	0,4375	0,4375	0,0000
Raseinių r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,3367	6,0606	4,3771	0,0000	0,6734	0,0000
Rietavo r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	2,5435	10,0402	2,1419	0,0000	0,6693	0,0000
Skuodo r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,3812	3,3840	1,4503	0,0000	0,2072	0,0000
Švenčionių	0,0214	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,9859	5,9150	0,2135	0,0000	0,5552	0,0000
Tauragės r.	0,6079	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,6079	55,4711	5,6231	0,0000	1,9757	0,0000
Utenos r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0855	6,3302	1,7536	0,4705	0,8554	0,0000
Varėnos r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,3411	3,6835	0,6139	0,0000	0,5457	0,0000
Vilkaviškio	0,0000	0,0695	0,0000	0,0000	0,0000	0,8339	4,1001	1,4593	0,0000	0,0000	0,0000
Vilniaus r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,3384	6,9374	0,6768	0,0000	1,0152	0,0000
Lietuva	0,0660	0,0083	0,0000	0,0000	0,0000	0,9115	7,5693	2,8660	0,1572	0,4928	0,0000

2020m. žiemą vykdytų apskaitų pagal pėdsakus sniege metu daugeliu atveju gauti pėdsakų dažnumo indeksai rajonuose buvo mažesni nei 2019 m. žiemą (3.7.2. lent.). Tačiau tokius rezultatus reikėtų vertinti atsargiai dėl mažo apeitų apskaitos maršrutų kiekio bei dėl trumpai išsilaikiusios epizodinės sniego dangos. Vidutiniškai apskaitos maršrutai buvo praeiti, kai po snigimo buvo

praėjusios 32 val., per laikotarpį kol gyvūnai ant šviežio, o dažnu 2020 m. žiemos atveju ir pirmo, sniego dar mažai juda.

Lentelė 3.7.2. Pėdsakų dažnumo indeksų, gautų vilko ir lūšies apskaitų pagal pėdsakus sniege metu, palyginimas 2019 m. ir 2020 m. žiemomis

Rajonai	Vilkas		Lūšis	
	2019 m.	2020 m.	2019 m.	2020 m.
Akmenės r.	0,0925	0,0000	0,0000	0,0000
Alytaus r.	0,0000	0,2859	0,0000	0,0476
Anykščių r.	0,0545	0,0951	0,1334	0,0000
Biržų r.	0,1457	0,1614	0,0670	0,0000
Ignalinos r.	0,1039	0,0000	0,0546	0,0000
Joniškio r.	0,0372	0,0000	0,0000	0,0000
Jurbarko r.	0,0642	0,0000	0,0000	0,0000
Pasvalio r.	0,0941	0,0000	0,0000	0,0000
Plungės r.	0,0171	0,0000	0,0084	0,0133
Radviliškio	0,1487	0,0820	0,0000	0,0273
Raseinių r.	0,1447	0,0000	0,0000	0,0000
Rietavo r.	0,0459	0,0000	0,0386	0,0000
Skuodo r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Švenčionių r.	0,2107	0,0214	0,0103	0,0000
Tauragės r.	0,3530	0,6079	0,0000	0,0000
Utenos r.	0,7856	0,0000	0,7961	0,0000
Varėnos r.	0,1081	0,0000	0,0447	0,0000
Vilkaviškio r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0695
Vilniaus r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Lietuva	0,0884	0,0660	0,0321	0,0083

Daugumas apskaitos maršrutų (76,7%) buvo praeita nepraėjus dviem paroms po paskutinio sniego iškritimo (3.7.3. lent.).

Lentelė 3.7.3. Pėdsakų dažnumo indeksas pagal Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2018 m. vasario 12 d. įsakymo Nr. D1-98 „Dėl Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2000 m. birželio 27 d. įsakymo Nr. 258 „Dėl medžioklės Lietuvos Respublikos teritorijoje taisyklių patvirtinimo“ pakeitimo 42<sup>1</sup> punktu Medžioklės Lietuvos Respublikos teritorijoje taisyklių 5 priedo 18.2 punktą "1 km pėdsakų maršruto per 24 val., kuris nustatomas aptiktų pėdsakų skaičių padalijus iš maršruto ilgio ir parų, praėjusių po sniego iškritimo, skaičiaus“

Rajonai	Vilkas	Lūšis	Naminis šuo	Paprastasis šakalas	Rudasis lokys	Šernas	Stirma	Taurusis elnias	Danielius	Briedis	Stumbras
Akmenės r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,7692	5,3846	15,5556	0,0000	0,0000	0,0000
Alytaus r.	0,2144	0,0476	0,0000	0,0000	0,0000	1,9771	2,5488	3,8590	0,6193	0,0000	0,0000
Anykščių r.	0,0951	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,4757	2,5214	3,4253	0,2854	0,8563	0,0000

Biržų r.	0,1614	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,0492	3,4705	1,2914	0,0000	0,0000	0,0000
Ignalinos r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,0691	5,9373	1,5674	0,1246	0,9861	0,0000
Joniškio r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1149	3,8001	1,3624	0,3365	0,1806	0,0000
Jurbarko r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	7,0000	1,3333	0,0000	0,0000	0,0000
Pasvalio r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1874	1,1715	0,3280	0,0000	0,0469	0,0000
Plungės r.	0,0000	0,0133	0,0000	0,0000	0,0000	0,8036	4,6487	1,4345	0,2258	0,2457	0,0000
Radviliškio	0,0820	0,0273	0,0000	0,0000	0,0000	0,7383	2,5021	2,0645	0,4102	0,3828	0,0000
Raseinių r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,3367	6,0606	4,3771	0,0000	0,6734	0,0000
Rietavo r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	2,5435	10,0402	2,1419	0,0000	0,6693	0,0000
Skuodo r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,3812	3,3840	1,4503	0,0000	0,2072	0,0000
Švenčionių	0,0214	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,9859	5,9150	0,2135	0,0000	0,5552	0,0000
Tauragės r.	0,6079	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,6079	55,4711	5,6231	0,0000	1,9757	0,0000
Utenos r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0855	6,3302	1,7536	0,4705	0,8554	0,0000
Varėnos r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1705	1,8417	0,3070	0,0000	0,2729	0,0000
Vilkaviškio	0,0000	0,0695	0,0000	0,0000	0,0000	0,8339	4,1001	1,4593	0,0000	0,0000	0,0000
Vilniaus r.	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,3384	6,9374	0,6768	0,0000	1,0152	0,0000
Lietuva	0,0622	0,0083	0,0000	0,0000	0,0000	0,8141	7,3192	2,6434	0,1301	0,4696	0,0000

## • Išvados

1. Lietuvos vilkų populiacijos genetinės įvairovės tyrimas pagal 2019–2020 m. medžioklės sezono metu sumedžiotų 118 vilkų DNR žymenis aukšto polimorfizmo 18 autosominių rekombinuojamų atskirai mikrosatelitų lokusų parodė, kad Lietuvos vilkų populiacija netolimoje praeityje buvo patyrusi reikšmingą efektyvaus populiacijos dydžio kritimą, tačiau dabartiniu metu sėkmingai atstatinėja genetinę įvairovę ir, jei sekančio sezono duomenys patvirtins šio sezono rezultatus, galima teigti, kad populiacija yra genetinio atsistatymo pike (lauktinas heterozigotiškumas  $H_e$  0.78 naujų imigrantų skaičius tarp regionų per generaciją – 13, gana aukštas alelinis turtingumas, gausu retų alelių, inbrydingas žemas). Vienintelis kriterijus neleidžiantis teigti, kad populiacija yra pasiekusi genetinės įvairovės optimumą yra efektyvus populiacijos dydis, kuris išreikštas kaip procentas nuo imties dydžio 2018–2019 m. ir 2019–2020 m. medžioklės sezonui vyrauja tarp 25-27 proc. (siekiamybė – 50 proc.).

2. Pagal DNR tyrimais gautus retų alelių ir aukšto heterozigotiškumo geografinio pasiskirstymo duomenis tikėtina, kad iš vakarų ši srautą Pietų link gali krypti Nevėžio upė ir Via Baltica magistralė, o iš Rytų ši srautą riboja Lietuvos–Baltarusijos siena. Srautas eina miškų masyvais, kol nesusiduria su kompleksu barjerų - Neries upe, Vilniaus antropogeninių zonų sistema ir autostrada. Labai svarbu ši genų srautą puoselėti. Žemo stebimo heterozigotiškumo zona už Vilniaus Pietų link buvo patvirtinta tiek 2018–2019 m. tiek 2019–2020 m. sezono, DNR tyrimais, kas rodo galimus barjerus genų srautui – Vilniaus antropogeninis klasteris, Neries upė, autostrada.

3. AMOVA atkleidė reikšmingus skirtumus tarp Lietuvos vilkų geografinių populiacijų. Genetinės struktūros analizė parodė, kad šalyje tikėtina yra trijų genetinių grupių struktūra. Šios trys genetinės grupės yra pasiskirstę nevienodai ir geografiškai skiria Lietuvą į rytinę ir vakarinę dalis. Viena iš šių genetinių grupių dominuoja Žemaitijoje, kitos dvi – rytinėje Lietuvoje. Rytinės Lietuvos genetinės grupės greičiausi yra migrantų grupės, turinčios įvairių introgresijos laipsnį su vietiniu genofonu. Tikėtina, kad Nemunas, Nevėžis ir Neris bei kiti antropologiniai – gamtiniai barjerai turi reikšmingos įtakos genų srauto pobūdžiui ir kryptiai ir tokiu būdu daro įtaką populiacijos genetiniai struktūrai Lietuvoje. Taip pat svarbu išskirti Rytų Lietuvos miškų masyvų susiekiančio tinklo svarbą vilkų migracijai ir populiacijos genetinės įvairovės stabilumui.

4. DNR tyrimas pagal 18 polimorfinių SSR lokusų parodė, kad, pagal 2019–2020 metų sumedžiojimo 118 vnt. vilkų imtį ir 18 šunų referencinę biblioteką, vilkų hibridizacijos su šunimis intensyvumas nėra aukštas tik 4 iš 118 individų rodė 10-23 proc. genetinį panašumą su šunimi, kaip hibridizacijos indikatorių (Godinho et al. 2011, 2018–2019 metais - 6 iš 99 rodė 10-15 proc.

tikimybės). Keli hibridizacijos atvejai turėjo geografinį ir genetinį panašumą – buvo vienos motinos palikuonys rasti vienoje vietovėje.

5. Amžiaus tyrimas (n=118) atskleidė, kad tarp sumedžiotų vilkų didžiąją dalį (55,1%) sudarė pirmų metų jaunikliai. Tai prognozuoja vilkų populiacijos augimo potencialą ateityje. Vyriausias sumedžiotas vilkas (patelė) ėjo devintus metus. Lietuvoje vidutinis sumedžiotų vilkų amžius (atmetus pirmamečius ir antramečius jauniklius) praėjusį sezoną buvo 4,83 metų.

6. Atliktas sumedžiotų patelių gimdų tyrimas atskleidė, kad, iš 54 į laboratoriją parsivežtų užšaldytų gimdų, tinkamai buvo išimta 13 gimdų (24,1%), 30 atvejų (55,6%), kai paimta tik dalis gimdos bei 10 atvejai (18,5%), kai paimti kiti vidaus organai. Tarp teisingai bei tinkamu laikotarpiu išimtų suaugusių patelių gimdų (n=8) 7 parodė, kad patelės pavasarį buvo vedusios jauniklius.

7. Genetinių ir amžiaus tyrimų pagrindu buvo nustatyta, kad sumedžioti jaunikliai (amžius iki 1 metų) dalijasi į 44 artimais giminystės ryšiais nesusijusias grupes (šeimas). Pranešimų apie vilkų buvimo (įvykusio laikotarpyje nuo 2019 m. rugsėjo 1 d. iki 2020 m. rugsėjo 1 d.) registravimus visus metus (VSTT Biologinės įvairovės duomenų bazėje) pagrindu suskaičiuota dar 10 atskirų vilkų šeimų. Atsižvelgiant į biologiškai galimus šeimų teritorijų nutolimus, gauta, kad Lietuvos teritorijoje gyveno ne mažiau kaip 54 vilkų šeimos.



- **Rekomendacijos**

- Populiacijai esant genetinės įvairovės atsistatymo procese yra svarbus šio proceso monitoringas, todėl siūlome sukurti vilko populiacijos genetinės įvairovės monitoringo (stebėsenos) metodiką ir ją įgyvendinti. Vilko populiacijos dydžio reguliavimas Lietuvoje turėtų būti vykdomas moksliniu pagrindu pagal DNR tyrimų genetinio monitoringo rezultatus, kur ištirti keliolikos metų populiacijos duomenys su vienodomis imtimis tarp populiacijų.
- Atlikti kraštovaizdžio fragmentacijos ir antropogeninių-gamtinių barjerų identifikacijos tyrimus tikslu nustatyti reikšmingas kliūtis genų migracijai, ypač atkreipti dėmesį žemesnės įvairovės priežastis rajonuose aplink Vilnių.
- Tęsti hibridizacijos su šunimis intensyvumo tyrimus, identifikuojat hibridizaciją sąlygojančius veiksnius ir jos intensyvumo sąsajas su galvijų pjovimo dažniu.
- Valstybinės saugomų teritorijų tarnybos prie Aplinkos ministerijos Biologinės įvairovės duomenų bazės pagalba surenkami vertingi duomenys, papildantys informaciją, gautą iš sumedžiotų vilkų tyrimų, tačiau stambiųjų plėšrūnų buvimo registracija (tiek pagal žiemos apskaitas, tiek pagal stebėjimu visus metus) šioje sistemoje vyksta nepakankamai intensyviai. Reikalingos papildomos priemonės teikiamų duomenų kiekiui padidinti.

## • Literatūros sąrašas

- Allendorf FW and Luikart G. 2007. Conservation and the genetics of populations. Blackwell Publishing.
- Bibikov, L.I. 1985. Volk (Wolf). Nauka, Moscow pp. 413 (in Russian).
- Beerli P., 2006. Comparison of Bayesian and maximum-likelihood inference of population genetic parameters. *Bioinformatics* 22:341-345
- Beerli P., 2009. How to use MIGRATE or why are Markov chain Monte Carlo programs difficult to use? In *Population Genetics for Animal Conservation*, G. Bertorelle, M. W. Bruford, H. C. Hauffe, A. Rizzoli, and C. Vernesi, eds., vol. 17 of *Conservation Biology*, Cambridge University Press, Cambridge UK, pp. 42-79.
- Cornuet J.M. and Luikart G., 1997 Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144:2001-2014.
- Earl, Dent A. and vonHoldt, Bridgett M. (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* vol. 4 (2) pp. 359-361 doi: 10.1007/s12686-011-9548-7
- Ellegren, H. 1999. Inbreeding and relatedness in Scandinavian grey wolves *Canis lupus*. *Hereditas* 130: 239-244.
- Frankham R (1995) Effective population size/ adult population size ratios in wildlife: a review. *Genetics Research* 66: 95–107.
- Godinho, R. et al. 2011. Genetic evidence of multiple events of hybridization between wolves and domestic dogs in Iberian Peninsula. *Molecular Ecology* 20:5154-5166.
- Hedrick, P.W., Fredrickson, R.J., 2008. Captive breeding and the reintroduction of Mexican and red wolves. *Mol. Ecol.* 17, 344–350.
- Hulva P. et al. Wolves at the crossroad: Fission–fusion range biogeography in the Western Carpathians and Central Europe. *B I O D I V E R S I T Y R E S E A R C H* DOI: 10.1111/ddi.12676
- Luikart G, Allendorf FW, Cornuet JM, Sherwin WB. 1998. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *J. Hered.* 89: 238–247.
- Laikre L, Nilsson T, Primmer CR, Ryman N & Allendorf FW .2009. Importance of genetics in the interpretation of favourable conservation status. *Conservation Biology* 23: 1378–1381.
- Jansson E. 2013. PAST AND PRESENT GENETIC DIVERSITY AND STRUCTURE OF THE FINNISH WOLF POPULATION. *ACTA UNIVERSITATIS OULUENSIS A Sci e n t i a e Rerum Nat u r a l i u m* 608, PhD thesis, 77 p. (and 4 papers)
- Mace, G. M. & Lande, R. (1991). Assessing extinction threats: towards a reevaluation of IUCN threatened species categories. *Conservation Biology* 5, 148-157.
- Mech LD, (1995). The challenge and opportunity of recovering wolf populations. *Conserv. Biol.* 9: 270-278.
- Moura AE, Tsingarska E, Dąbrowski M, Czarnomska SD, Jędrzejewska B, et al. (2013) Unregulated hunting and genetic recovery from a severe population decline: the cautionary case of Bulgarian wolves. *Conservation Genetics* (01 November 2013). doi:<https://doi.org/10.1007/s10592-013-0547-y>.
- Peakall, R. and Smouse P.E. (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28, 2537-2539.

- Pilot, Małgorzata Michał J. Dąbrowski, Vahram Hayrapetyan, Eduard G. Yavruyan, Natia Kopaliani, Elena Tsingarska, Barbara Bujalska, Stanisław Kamiński, 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? 2014<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093828>.
- Randi, E. et al. 2014. Multilocus detection of wolf x dog hybridization in Italy and guidelines form marker selection. PLoS One 9(1): doi 10.1371.
- Sastre Natalia, Carles Vila, Maria Salinas, Vladimir V. Bologov, Vicente Urios, Armand Sanchez, Olga Francino, Oscar Ramirez. 2010. Signatures of demographic bottlenecks in European wolf populations. Conserv Genet DOI 10.1007/s10592-010-0177-6
- Wang J 2009. A new method for estimating effective population sizes from a single sample of multilocus genotypes. Molecular Ecology 18: 2148-2164.
- Wayne, R.K., Hedrick, P.W., 2010. Genetics and wolf conservation in the American West: lessons and challenges. Heredity 107, 16–19.