

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta tropického zemědělství



Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta tropického
zemědělství**

Genetika vlka obecného (*Canis lupus*) v oblasti východní Asie se
zaměřením na Mongolsko

Bakalářská práce

Praha 2019

Vypracovala:

Natálie Kalčicová

Vedoucí práce:

Mgr. Barbora Černá Bolfíková, Ph.D.

Prohlášení

Čestně prohlašuji, že jsem tuto práci na téma „Genetika vlka obecného (*Canis lupus*) ve východní Asii se zaměřením na Mongolsko“ vypracovala samostatně, veškerý text je v práci původní a originální a všechny použité literární prameny jsem podle pravidel Citační normy FTZ řádně uvedla v referencích.

V Praze dne 19. 4. 2019

.....
Natálie Kalčicová

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí mé bakalářské práce Mgr. Barboře Černé Bolfíkové, Ph. D. za odborné vedení a pomoc při vypracovávání mé práce. Také děkuji České zemědělské univerzitě a Fakultě tropického zemědělství za poskytnutí možnosti výjezdu na letní školu v Mongolsku, kde byla navozena spolupráce s Mongolian National University, díky které jsem získala vzorky pro praktickou část bakalářské práce. Dále děkuji Ing. Mileně Smetanové za ochotu a asistenci při práci v laboratoři. Mé díky patří i nejbližší rodině a blízkým za podporu v průběhu studia.

Abstrakt

Genetika vlka obecného (*Canis lupus*) v oblasti východní Asie se zaměřením na Mongolsko

Přestože je vlk obecný (*Canis lupus*) největší současný zástupce čeledi psovitých na zemi a vrcholový predátor obývající Severní Ameriku a Eurasii, je jeho taxonomie, genetika a populační struktura ve východní Asii stále velice chudě prostudovanou oblastí a kontroverzním tématem. Většinová část bakalářské práce je vedena jako literární rešerše, ve které jsou shrnuty informace ohledně fylogeografie a genetické variability vlka právě v této oblasti a s detailním zaměřením na populaci v Mongolsku s ohledem na vliv místních podmínek. Potrava vlků zahrnuje kvůli nedostatku divokých kopytníků i dobytek pastevců vytvářející konflikt vedoucí k jejich nadměrnému lovu a jak národnímu, tak mezinárodnímu obchodu s těmito zvířaty. Pokračující perzekuce pravděpodobně snižující se populace by mohla v budoucnu vést až k úplnému vymření druhu jednoho z hlavních predátorů na tomto území, což by mohlo vést k narušení biodiverzity z důvodu nepřítomnosti důležité součásti přispívající k udržení správně a zdravě fungujícího ekosystému. Z těchto důvodů byl proveden sběr genetického materiálu psů a vlků v Mongolsku. Následné výsledky ze sekvenační reakce byly podrobeny analýze v počítačovém programu, pomocí kterého byly zjištěny základní genetické charakteristiky odebraných vzorků.

Klíčová slova: vlk, *Canis lupus*, Mongolsko, Asie, populace, fylogeografie, genetická diverzita

Author's abstract

Genetics of the Grey wolf in East Asia with a focus on Mongolia

Although wolf (*Canis lupus*) is the largest current representative of the Canidae family and top predator living in North America and Eurasia, its taxonomy, genetics and population structure in East Asia is still very poorly studied and controversial topic. Most of the bachelor thesis is literature review, in which information about phylogeography and genetic variability of the wolf in this area is summarized with a detailed focus on the population in Mongolia regarding the influence of local conditions. The wolves' diet includes (due to the lack of wild ungulates) pastoral cattle. This fact is creating conflict leading to excessive hunting and both national and international trade of these animals. Continuing persecution of a likely decreasing population could lead in the future to the extinction of one of the major predator species in this area, which could cause biodiversity disruption due to the absence of a key component contributing to the maintenance of a well-functioning ecosystem. For these reasons, genetic material of dogs and wolves in Mongolia was collected. Subsequent results from the sequencing reaction were analysed in a computer program to determine the basic genetic characteristics of the samples.

Key words: wolf, *Canis lupus*, Mongolia, Asia, population, phylogeography, genetic diversity

Obsah

1. Úvod	- 1 -
2. Cíle literární rešerše	- 2 -
3. Literární rešerše	- 3 -
3.1 Fylogeografická historie vlka obecného	- 3 -
3.2 Mezikontinentální rozšíření vlka obecného	- 4 -
3.2.1 Severní Amerika	- 4 -
3.2.2 Japonsko	- 5 -
3.3 Haploskupiny	- 6 -
3.3.1 Rozdělení haploskupin	- 7 -
3.3.1.1 Evropa	- 7 -
3.3.1.2 Asie	- 8 -
3.3.1.3 Severní Amerika	- 9 -
3.4 Rozšíření a taxonomické zařazení vlků v Asii	- 10 -
3.4.1 Poddruhy vlka v Asii	- 10 -
3.4.2 Problematika taxonomie vlků ve Východní a Jižní Asii	- 12 -
3.4.3 Indie	- 14 -
3.4.4 Nepál	- 16 -
3.4.5 Čína	- 18 -
3.5 Mongolsko	- 19 -
3.5.1 Charakteristika vlčí populace v Mongolsku	- 19 -
3.5.1.1 Velikost	- 19 -
3.5.1.2 Rozšíření	- 20 -
3.5.1.3 Taxonomie	- 20 -
3.5.1.4 Rozmnožování	- 21 -
3.5.2 Konflikty mezi lidmi a vlky	- 22 -
3.5.2.1 Lov vlků a jejich ochrana	- 22 -
3.5.2.2 Strava	- 26 -
4. Cíle praktické části	- 29 -
5. Materiál	- 29 -
6. Metodika	- 30 -

7.	Výsledky	- 32 -
8.	Diskuze.....	- 34 -
9.	Závěr	- 35 -
10.	Reference	- 36 -

Seznam obrázků:

Obrázek 1: Mapa východního Ruska a Aljašky s hranicemi Beringie vytvářející pevninský most vyznačenými šedou barvou. (Pruett & Winker 2005).....	4 -
Obrázek 2: Distribuce japonských vlků <i>Canis lupus hodophilax</i> a <i>Canis lupus hattai</i> . (Matsumura et al. 2014).....	5 -
Obrázek 3: Distribuce haploskupin 1 a 2 současných a starověkých vlků. Legenda přeložena z anglického jazyka. (Pilot et al. 2010).....	7 -
Obrázek 4: Síť haplotypů mtDNA vlků – tečky mezi haplotypy představují mutační kroky, které je mezi sebou dělí. (Pilot et al. 2010).....	8 -
Obrázek 5: Současné rozšíření vlka obecného v Asii, vlastní tvorba vytvořená podle publikovaných dat. (IUCN 2018; Sillero-Zubiri et al. 2004)	10 -
Obrázek 6: Mapa poddruhů <i>C. lupus</i> v Asii. (Nowak 1995).....	11 -
Obrázek 7: Rozšíření poddruhů <i>C. l. chanco</i> a <i>C. l. pallipes</i> . (Sharma et al. 2004)...	13 -
Obrázek 8: Mapa indického subkontinentu s lokalitami odběru vzorků různých poddruhů. (Sharma et al. 2004)	15 -
Obrázek 9: Kresba nepálského vlka. (Jnawali et al. 2011).....	17 -
Obrázek 10: Mapa Mongolska. (United Nations 2019)	19 -
Obrázek 11: Fylogenetické zařazení vlků z vybraných zemí, včetně sedmi zvýrazněných jedinců z Mongolska. (Koblmüller et al. 2016).....	21 -
Obrázek 12: Jednoletý vlk v zajetí, oblast Chövsgöl. (Eregdenedagva et al. 2016) ..	22 -
Obrázek 13: Vlčí kožešiny v Ulánbátaru, vlastní fotografie.	24 -
Obrázek 14: Tabulka mongolských druhů seřazených podle počtu povolení k exportu udělených CITES v průběhu let 1996-2015. (Wingard & Zahler 2018)	25 -
Obrázek 15: Umístění druhů podle odhadovaného počtu lovců, kteří se na dané druhy zaměřují. (Wingard & Zahler 2006)	26 -
Obrázek 16: Odběrová sada PERFORMAgene PG-100 od firmy Genotek.....	29 -
Obrázek 17: Fylogenetický strom vytvořen v programu MrBayes.	32 -
Obrázek 18: Alignment sekvencí nak_G01, nak_G02, nak_G05 (psi), nak_vlkmng (vlk) se sekvencemi z genové banky.	33 -

Seznam tabulek:

Tabulka 1: Poddruhy <i>C. lupus</i> v Asii, vlastní tvorba vytvořená podle publikovaných dat.	- 11 -
Tabulka 2: Tabulka se zmíněnými poddruhy vlka obecného, vlastní tvorba podle publikovaných dat. (Werhahn et al. 2017).....	- 18 -
Tabulka 3: Teplotní protokol PCR reakce.....	- 30 -

Seznam zkratek použitých v práci:

mtDNA – mitochondriální DNA

SNP – jednonukleotidový polymorfismus (single-nucleotide polymorphism)

CITES – Úmluva o mezinárodním obchodu s ohroženými druhy volně žijících živočichů a rostlin (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora či zkráceně Convention on International Trade in Endangered Species)

IUCN – Mezinárodní svaz ochrany přírody (International Union for Conservation of Nature)

SPA – Přísně chráněné území (Strictly Protected Area)

HNP – Národní park Hustai (Hustai National Park)

PCR – Polymerázová řetězová reakce (Polymerase Chain Reaction)

dNTP – deoxynukleotid trifosfát

NCBI – National Center for Biotechnology Information

MCMC – Markov Chain Monte Carlo

1. Úvod

Vlk obecný (*Canis lupus*) je jeden z nejvíce rozšířených suchozemských savců na světě, žijící převážně na severní polokouli od 13° do 20° s. š., ale také na Arabském poloostrově, v Mexiku a Indii. Jedná se o inteligentního predátora, který se adaptoval k přežití ve velkém spektru habitatů od arktické tundry po Arabskou poušť (Mech & Boitani 2003). Jeho dnešní výskyt je omezenější kvůli jeho perzekuci v minulosti, hlavně v 18. až 20. století (Hindrikson et al. 2017), kdy se na vlky pořádaly organizované lovy. Lov dobytka byl jeden z hlavních příčin pronásledování vlků. Snižování kvality a zvyšování fragmentace habitatu jsou dalšími důvody, proč se počet vlků snížil (Mech & Boitani 2003). I přesto je podle IUCN označen jako málo dotčený druh (IUCN 2018). Díky lokální ochraně se ale vlci postupně vrací zpět na původní místa jejich výskytu, zejména v Evropě (Chapron et al. 2014).

Vlci jsou dobře prozkoumáni v Evropě a Severní Americe, naopak v Asii je jejich situace velmi nejasná a málo prostudovaná. Taxonomické zařazení asijských vlků je značně kontroverzní a o jejich genetické diverzitě a fylogenezi není příliš známo. Několik vědeckých prací uvádí, že Asie je kolébkou původu psa (Ardalan et al. 2011; Savolainen et al. 2002), což je další důvod, proč si asijské vlci žádají další genetický výzkum. Vzhledem k biologii a stupni ochrany se k jejich sledování a sčítání používají nejčastěji fotopasti. Pro analýzu DNA jsou většinou používány vzorky získané neinvazivním způsobem, jako sběr trusu, moči či muzejní materiál.

Mongolsko je země s výbornými přírodními podmínkami pro život vlků (Eregdenagva et al. 2016) a poskytuje útočiště nemalému množství jedinců - okolo 30,000 (Wingard & Zahler 2018). V této práci jsem se snažila shrnout veškeré informace o genetické stránce vlčí populace v Mongolsku a činiteli, jež ji ovlivňují. Pozornost jsem věnovala i populacím v některých dalších, lépe prostudovaných státech v Jižní a Východní Asii (Indie, Nepál, Čína), jež by mohly mít vliv na genový tok i v Mongolsku.

2. Cíle literární rešerše

- Zjištění populačních charakteristik vlků ve východní Asii se zaměřením na Mongolsko.
- Prozkoumání míry genetické variability populací s ohledem na vliv místních podmínek.

3. Literární rešerše

3.1 Fylogeografická historie vlka obecného

Fylogeografie je vědní obor zabývající se geografickým rozšířením genetických vývojových větví (Randi 2011). Analýzou mtDNA je možné zjistit, že mnoho druhů má hlubokou a geograficky strukturovanou fylogenetickou historii. Studie vztahu mezi genealogií a geografii tvoří disciplínu, která může být označena jako vnitrodruhová (intraspecifická) fylogeografie (Avice et al. 1987).

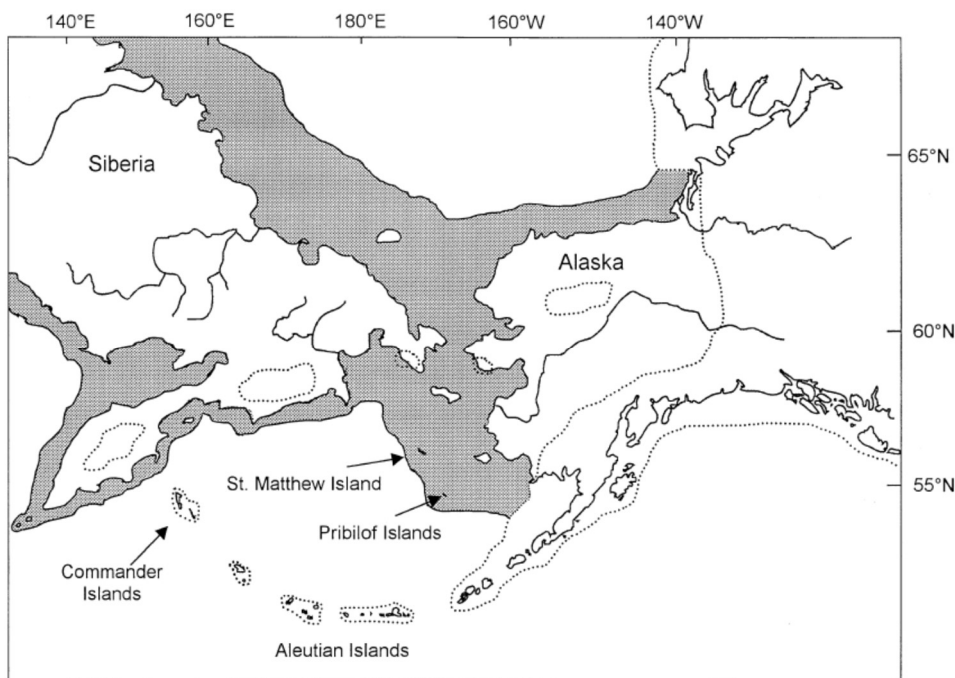
Přestože by biologie vlků nepředpovídala fylogeografickou strukturu, silné vzory diferenciací vznikaly opakovaně v celém jejich areálu. Genetická diferenciací vlčí populace je úzce propojena s vlastnostmi habitatu. Vlci obývají severní polokouli obsahující velice odlišné biomy – od lesů přes stepi až po pouště. Vlci žijící v těchto rozdílných habitatech se jim logicky rozdílně přizpůsobují, neboť mají přístup k jiné kořisti nebo žijí v jiných teplotních podmínkách apod. Vlci jsou tedy dobrým modelem druhu, jehož genetickou strukturu ovlivňují faktory prostředí. Lze tedy předpokládat, že environmentální změna by mohla způsobit zánik habitatu, což by mohlo zapříčinit následný zánik populace. Taková populace by byla nahrazena odlišnou populací, což by způsobilo ztrátu unikátní populace a tím i snížení diverzity (Leonard 2015). Skupiny vlčí populace vztahující se k určitému místu tedy vykazují genetickou odlišnost způsobenou ekologickými procesy, které ovlivňují sílu genetického toku (Pilot et al. 2006). Podle fosilních nálezů je genetická diverzita nižší, než by se předpokládalo, ale současné vlčí populace se rozšiřují a návraty vlků do oblastí, kde se dříve nacházely, umožňují formování nových populací (Leonard 2015).

Genetická struktura vlků je také ovlivněna událostmi vzniklými v dobách ledových (Vilà et al. 1999). Během období zalednění v Pleistocénu docházelo k historickým procesům, které měly efekt na vnitrodruhové změny (Hewitt 1996). U mnoha současných druhů mají rozdílné linie mtDNA nepřekrývající se rozšíření, což je možná důsledek jejich izolace v uzavřených územích při zalednění, které fungovaly jako přírodní bariéra genetického toku z jiných populací (Avice et al., 1998).

3.2 Mezikontinentální rozšíření vlka obecného

3.2.1 Severní Amerika

Koblmüller et al. (2016) tvrdí, že mitochondriální genomy všech žijících vlků v Severní Americe včetně Mexických vlků jsou s největší pravděpodobností odvozeny od eurasijských vlků, kteří rozšířili výskyt vlka obecného do Severní Ameriky. Kolonizace Severní Ameriky proběhla, když se vytvořil pevninský most mezi Eurasií a Severní Amerikou (Obrázek 1) ještě před posledním glaciálním maximem – úplným zaledněním Arktidy, což je mnohem později, než co se předpokládalo z fosilních nálezů. Je možné, že tyto linie již vymřely a byly rychle nahrazeny, proto není možné je ve fosilních nálezech zpozorovat.



Obrázek 1: Mapa východního Ruska a Aljašky s hranicemi Beringie vytvářející pevninský most vyznačenými šedou barvou. (Pruett & Winker 2005)

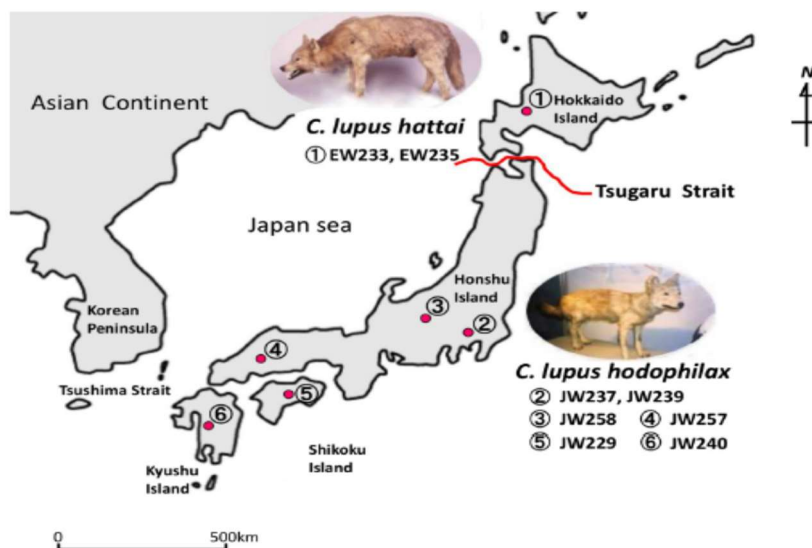
Vlk je jeden z mála velkých predátorů, kteří přežili vymírání megafauny (velkých živočichů) v době svrchního Pleistocénu. Unikátně adaptovaný a geneticky rozdílný vlčí ekotyp vymřel v Severní Americe ve svrchním Pleistocénu pravděpodobně kvůli vymírání jiných druhů, včetně vlčí kořisti. Přežití druhů v Severní Americe tedy záviselo na přítomnosti forem v jiných oblastech. Tito vlci byli ale geneticky jedineční a morfologicky odlišní a ukazuje se, že jsou více příbuzní s eurasijskými vlky svrchního

Pleistocénu a nejsou si příbuzní se současnými vlky. Moderní severoameričtí vlci tedy nejsou jejich přímými potomky. Skoro všichni moderní holarktičtí vlci sdílejí společný původ, zatímco starověcí vlci ze Severní Ameriky jsou fylogeneticky přidružení k oddělené skupině moderních evropských vlků, předpokládající evoluční zvrát mezi vlky v Severní Americe (Leonard et al. 2007). Nowak (1995) uvádí, že současné poddruhy vlka ze severní Evropy jsou porovnatelné s těmi ze Severní Ameriky. Euroasijský poddruh *C. l. communis* je více příbuzný se skupinou na severu Severní Ameriky než se euroasijskými vlky. Dále i poddruhy *C. l. lupus* a *C. l. albus* mají více společného se Severní Amerikou než Eurasií (Nowak 1995).

3.2.2 Japonsko

Pevninské mosty umožnily dvě samostatné kolonizace Hokkaida a jižních japonských ostrovů (Obrázek 2). Data kolonizace Hokkaida a jižních ostrovů Japonska souvisí s nízkými stavy mořské hladiny, jež umožnily vznik pevninských mostů, které byly nutné pro kolonizaci těchto ostrovů (Koblmüller et al. 2016). Matsumura et al. (2014) tvrdí, že Hokkaidó bylo kolonizováno poměrně nedávno. Sekvence vyhynulého vlka Ezo z Hokkaida (*C.l.hattai*) se značně lišily od vlků z jižních ostrovů, ale byly dost blízce příbuzné s jednou americkou větví, což by naznačovalo migraci z Ameriky do Eurasie. (Koblmüller et al. 2016). Je možné, že příčina nenalezení příbuzných haplotypů vlka z jižních ostrovů souvisí se změnami četnosti haploskupin (Pilot et al. 2010), jimž se věnuji v další kapitole.

Obrázek 2: Distribuce japonských vlků *Canis lupus hodophilax* a *Canis lupus hattai*. (Matsumura et al. 2014)

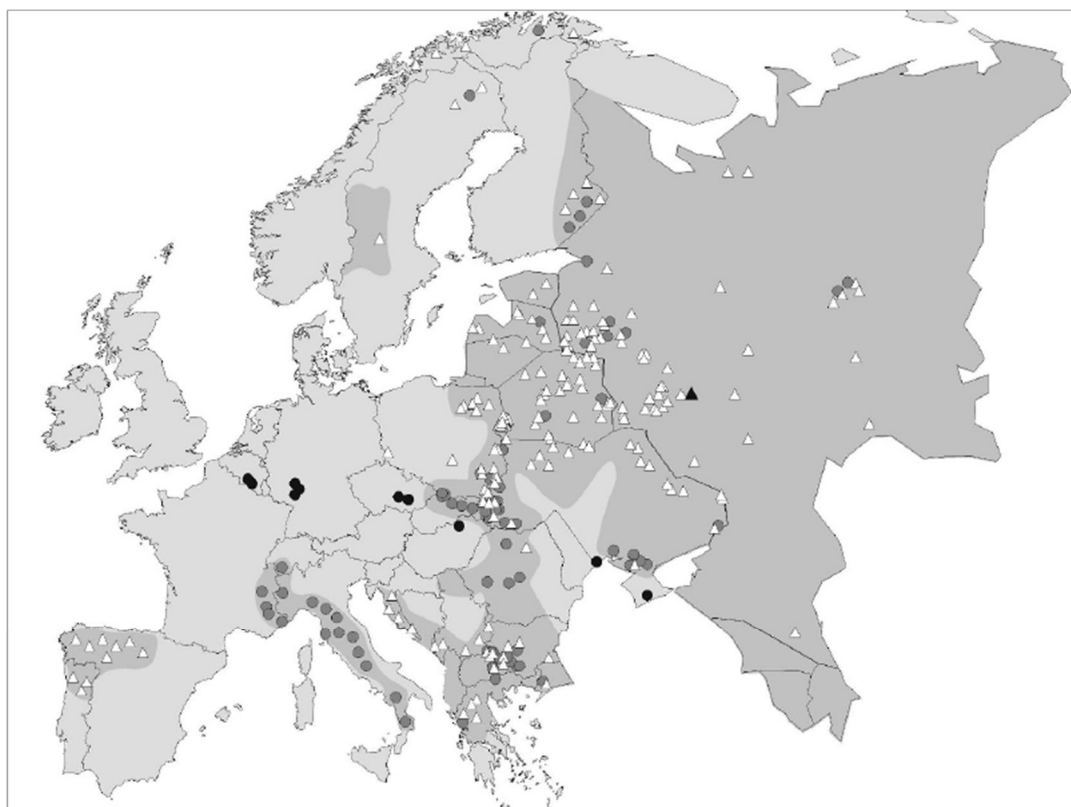


3.3 Haploskupiny

Haplotyp představuje celkový počet sekvenčních variant v haploidním stavu při procesu rozmnožování. Každé vajíčko nebo spermie obsahuje pouze jeden z každého chromozomového páru (Barry Cox et al. 2016). Je to tedy skupina genů zděděná od jednoho z rodičů (Nature Education 2014). Nejčastěji se pojem haplotyp používá ve spojení s mtDNA.

Haploskupina je skupina podobných haplotypů, které sdílí společného předka s jednonukleotidovým polymorfismem (International Society of Genetic Genealogy 2018). Jednonukleotidový polymorfismus (anglicky single-nucleotide polymorphism = SNP) je genetická variace. Každý SNP představuje změnu v jednom nukleotidu.

Pilot et al. (2010) se ve své studii, založené na analýze proměnlivosti mitochondriální DNA (mtDNA) současných populací a porovnáním se starověkými populacemi, pokusila o rekonstrukci fylogeografické historie evropských vlků a analyzovala vztahy mezi evropskými vlky a jedinci z jiných kontinentů. Na základě fylogenetických stromů a sítí definovala dvě haploskupiny – haploskupinu 1 a haploskupinu 2, které představují hlavní rozdělení vlčí populace v současnosti. Podle této studie tvoří haploskupina 1 monofyletickou větev, haploskupina 2 byla podle některých metod označena jako větev a jiné metody vyhodnotily, že se skládá z několika malých větví, které mají základní pozici ve stromu. Monofyletický taxon je skupina složená z organismů zahrnující posledního, nejsoučasnějšího předka ze všech těchto organismů a všech potomků tohoto předka (Abbey 1997). Vlčí haploskupiny jsou rozděleny pěti mutačními kroky: třemi tranzicemi, transverzí a inzercí/delecí (Pilot et al. 2010). Jde o bodové mutace, kde dochází ke změně na jednom nukleotidu. Tranzice a transverze patří mezi nukleotidové substituce. Tranzice představuje záměnu purinového nukleotidu za purinový nebo pyrimidinového za pyrimidinový. Transverze je označení pro záměnu purinového nukleotidu za pyrimidinový a naopak. Delece a inserce jsou mutace posunové a dochází při nich k odebrání či vložení jednoho nebo více nukleotidů do nukleotidové sekvence.



Haplotypy z haploskupiny 1: \triangle Současné \blacktriangle Starověké
 Haplotypy z haploskupiny 2: \bullet Současné \bullet Starověké

Obrázek 3: Distribuce haploskupin 1 a 2 současných a starověkých vlků. Legenda přeložena z anglického jazyka. (Pilot et al. 2010)

Současná četnost haploskupin v celé evropské populaci činí 76 % pro haploskupinu 1 a 24 % pro haploskupinu 2. Distribuce haploskupin u současných a starověkých vlků je vyznačena na přiložené mapě (Obrázek 3) (Pilot et al. 2010).

3.3.1 Rozdělení haploskupin

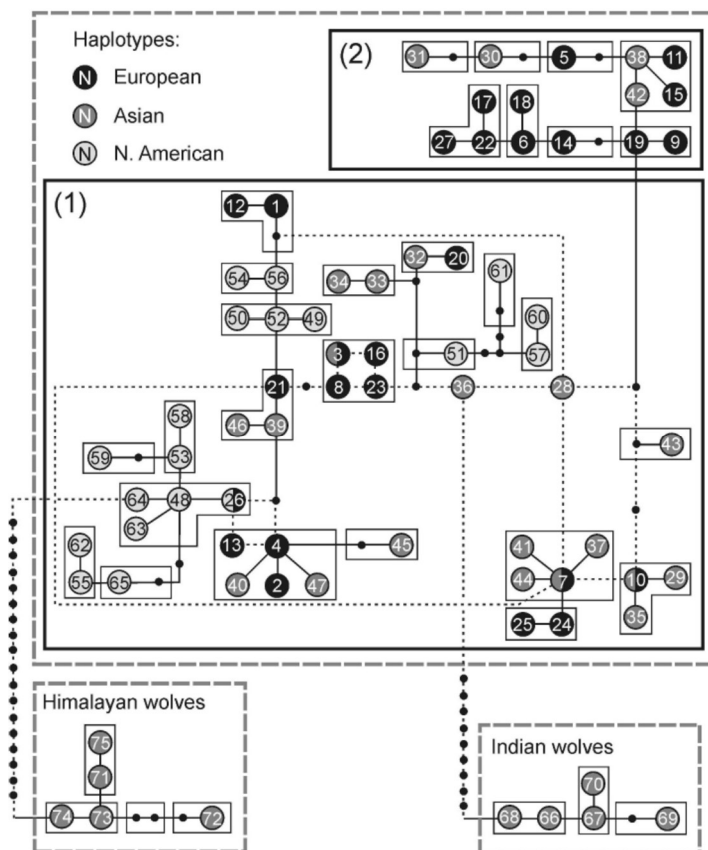
3.3.1.1 Evropa

Haplotypy představující tyto dvě haploskupiny se sice překrývají geograficky, ale podstatně se různí ve frekvencích v různých částech Evropy. V Eurasii jsou rozšířeny obě haploskupiny, zatímco v Severní Americe se v současných vlčích objevuje pouze haploskupina 1. Všechny starověké vzorky ze západní Evropy datované v období mezi 44,000 a 1,200 lety patřily do haploskupiny 2, což znamená dlouhodobou převahu haploskupiny v této oblasti. Porovnání mezi dnešními a starověkými četnostmi výskytu a

rozdělením haploskupin v Evropě naznačuje, že haploskupina 2 byla v průběhu posledních pár tisíciletí vytlačena a přečíslena haploskupinou 1. Jelikož genetické změny vlků v Severní Americe a v Evropě se sobě podobají, lze předpokládat, že je způsobily stejné ekologické procesy spojené s přechodem z období Pleistocénu do období Holocénu, kdy docházelo k extrémní klimatické nestabilitě, jež zapříčinila vymření mnoha živočišných druhů (Pilot et al. 2010).

3.3.1.2 Asie

S výjimkou indických a himalájských vlků se haplotypy z rozdílných kontinentů neseskupují do samostatných větví a nerozlišují se do evolučně významných jednotek. Haplotypy indických a himalájských vlků tvoří jasně odlišné větve (Obrázek 4) (Pilot et al. 2010).



Obrázek 4: Síť haplotypů mtDNA vlků – tečky mezi haplotypy představují mutační kroky, které je mezi sebou dělí. (Pilot et al. 2010)

3.3.1.3 *Severní Amerika*

Zatímco v Eurasii jsou rozšířeny oba haplotypy, v Severní Americe došlo k úplnému nahrazení haploskupiny 2 haploskupinou 1. Když vezmeme v úvahu podobnost potravy vlků ve svrchním Pleistocénu v Severní Americe a v Evropě, shoda ve změnách frekvence haploskupin na obou místech by mohla znamenat, že jsou v souvislosti s ekologickými změnami, které se udály po posledním glaciálním maximu (Pilot et al. 2010). Vyhynulý severoamerický ekotyp z období svrchního Pleistocénu (Leonard et al. 2007) patřil do haploskupiny 2 (Pilot et al. 2010). Tito vlci byli morfologicky popsáni jako robustní ekotypy a pravděpodobně byli adaptováni na lov koní, bizonů a mamutů (Hofreiter & Barnes 2010). Je tedy možné, že pleistocenní vlci napříč Eurasií a Severní Amerikou zřejmě tvořili souvislou, téměř panmiktickou populaci. Tato populace se ale patrně lišila oproti populaci současných vlků žijících v těchto oblastech dnes (Hofreiter 2007). Spíše než na úplné nahrazení haploskupiny 2 haploskupinou 1 se Ersmark et al. (2016) ve svém článku přiklání k možnému bottlenecku, který se odehrál v přechodu z období Pleistocénu do období Holocénu. Bottleneck je výraz pro prudké zmenšení velikosti populace způsobující snížení genetické variability.

3.4 Rozšíření a taxonomické zařazení vlků v Asii

Vlci obývají většinu kontinentu s výjimkou Jihovýchodní Asie a některých částí Východní a Jižní Asie (IUCN 2018; Sillero-Zubiri et al. 2004). Ve velké části Arabského poloostrova se ovšem nevyskytují (Boitani 2003). V Jižní Koreji je vlk považován za vyhynulého a ve většině Severní Koreje pravděpodobně také (Obrázek 5) (Kim et al. 2014).



Obrázek 5: Současné rozšíření vlka obecného v Asii, vlastní tvorba vytvořená podle publikovaných dat. (IUCN 2018; Sillero-Zubiri et al. 2004)

3.4.1 Poddruhy vlka v Asii

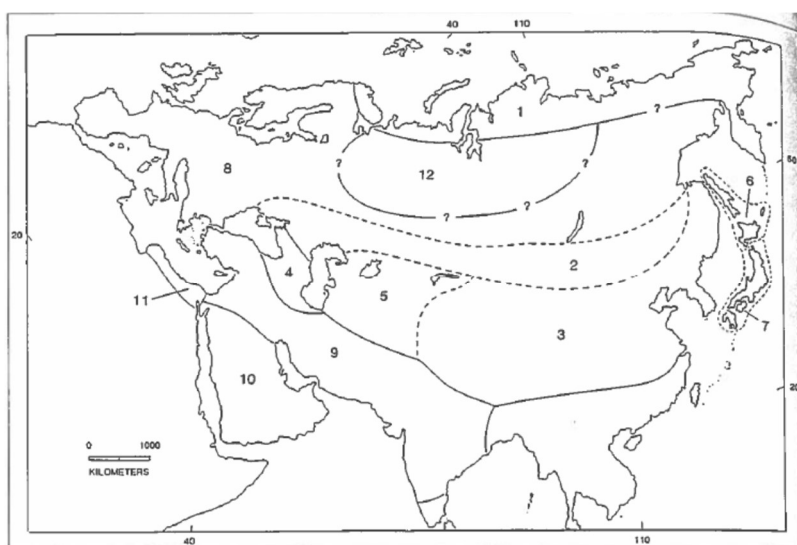
Systematika vlků v Asii je zvláště složitá, nejasná a zůstává kontroverzní. Mech (1970) popsal 32 poddruhů vlka zahrnující celý svět. Hall (1981) jich našel celkem 24 v Severní Americe. I když je popsáno mnoho poddruhů, rozdíly mezi nimi nejsou ověřeny genetickou analýzou (Sharma et al. 2004). Dřívější studie byly založené pouze na rozdílech morfologických, ekologických a behaviorálních. Sokolov & Rossolimo (1985) popsal poddruhy vlka obecného v Eurasii a Nowak (1995) vychází z jejich a dalších vědeckých prací a udává území, kde se určité poddruhy vyskytují (Tabulka 1, Obrázek 6). Pozměnil názvy a rozmezí různých poddruhů, což je dále vysvětleno.

Název poddruhu	Rozšíření	Číslo na mapě (Obrázek 6)
<i>albus</i>	nejsevernější část Eurasie	1
<i>campestris (lupus)</i>	od Evropy na východ až do nspecifikované oblasti Ruska, centrální Asie, jižní Sibiř, Čína, Mongolsko, Korea, Himalájský region	2
<i>chanco (lupus)</i>		3
<i>desertorum (lupus)</i>		5
<i>cubanensis</i>	Kavkaz a sousední části Turecka a Íránu	4
<i>hattai†</i>	Japonsko (Hokkaidó)	6
<i>hodophillax†</i>	Japonsko (Honšú, Kjúšú, Šikoku)	7
<i>communis</i>	s jistotou jen v Uralu středoseverního Ruska, ale pravděpodobně obývá většinu východní Evropy a Sibiře	12
<i>pallipes</i>	Izrael až Indie	
<i>arabs¹</i>	Arabský poloostrov	10
<i>lupaster²</i>	Egypt, Libye	11

Tabulka 1: Poddruhy *C. lupus* v Asii, vlastní tvorba vytvořená podle publikovaných dat.

(Nowak 1995; Sokolov & Rossolimo 1985)

† vyhynulý poddruh, ¹synonymum k poddruhu *pallipes*, někdy se považuje za platný druh, ² někdy přiřazován k šakalovi obecnému (*Canis aureus*) (Ferguson 1981).



Obrázek 6: Mapa poddruhů *C. lupus* v Asii. (Nowak 1995)

Nowak (1995) navrhl spojení poddruhů *C. l. chanco*, *C. l. campestris* a *C. l. desertorum* s poddruhem *lupus*. Důvodem pro toto spojení bylo nalezení vzorků spadajících do poddruhů *C. l. campestris*, *C. l. chanco* a *C. l. desertorum* v oblasti Švédska. Švédsko ale obývá poddruh *lupus*. Myslel si tedy, že je možné, že tyto čtyři poddruhy se neliší a ve skutečnosti existuje poddruh pouze jeden, jenž tvoří areál rozléhající se ze severozápadní Evropy až po Čínu. Vzdálená populace středního a severního Ruska by tak musela být přejmenována, jelikož byla popsána jako *C. l. lupus* (Sokolov & Rossolimo 1985) a Nowak (1995) pro ni navrhuje název *C. l. communis*. Tento předpoklad je v nesouladu s novějšími studii založenými na genetických analýzách. *C. l. chanco* je geneticky ověřený poddruh a obývá oblasti střední Asie (Aggarwal et al. 2007; Aggarwal et al. 2003; Sharma et al. 2004).

3.4.2 Problematika taxonomie vlků ve Východní a Jižní Asii

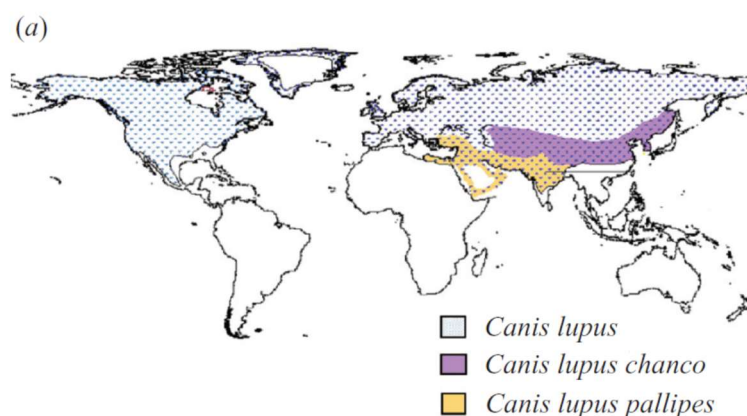
Problematika taxonomického zařazení vlků ve Východní a Jižní Asii přímo ovlivňuje genetiku a populační charakteristiky vlků v Mongolsku. Lze předpokládat, že vlčí populace obývající oblasti Indie, Nepálu, Číny, Korey a Ruska tvoří soubor poddruhů, které se mohou nacházet i v Mongolsku. Pro zjištění populačních charakteristik v Mongolsku jsem se tedy rozhodla prozkoumat i některé blízké oblasti (Indie, Nepál, Čína), které jsou lépe prostudovány. Přestože jsou k dispozici rozdílné informace a výsledky o taxonomické situaci se liší, pokusila jsem se je v následujících podkapitolách shrnout.

C. l. pallipes označovaný jako indický vlk obývá oblast Izraele až Indie (Nowak 1995), Shrotriya et al. (2012) uvádí oblast Indie, Íránu, Iráku a některé části Arábie. Oproti jiným evropským vlkům je menší a je adaptován na vyšší teplotní podmínky (Nowak 1995). Je uváděno, že má šedavě oranžovohnědou barvu, někdy smíchanou s černou na zádech a někteří mají až červený nádech. Vlčata mají špinavě hnědou barvu s mléčně bílou skvrnou na hrudi, která mizí po šestém týdnu života v době, kdy se objevuje pod krkem černý límec, jenž v dospělosti zaniká. Dorůstají do výšky 90 cm i s hlavou, ocas dosahuje délky 40 až 43 cm (Pocock 1941). *C. l. pallipes* je podle IUCN uznán jako poddruh.

C. l. chanco obývá oblasti střední Asie. Územím zasahuje do Tibetu, Číny, Mongolska (Fox & Chundawat 1995; Wilson 2003) Ruska a možná Severní a Jižní

Koreje, ohraničený na jihu horským systémem Altaj a pohořím Ťan-šan a na jihu Tibetskou náhorní plošinou (The Wolf Intelligencer 2019). Zbarvení bylo popsáno jako oranžovohnědé, na hřbetu smíchané s šedou a černou barvou. Oblast od krku před hrud' až po břicho čistě bílá. Hlava je šedohnědá, čelo prošedivělé. Délka těla je 110 cm a ocas měří 38 cm. (Gray 1863).

S2 D. K. Sharma and others *Ancient wolf lineages*



Obrázek 7: Rozšíření poddruhů *C. l. chanco* a *C. l. pallipes*. (Sharma et al. 2004)

Na začátku 21. století se publikovalo několik studií věnujících se taxonomickému zařazení vlků v Indii, Nepálu a oblasti Himálaje poskytující nové informace o poddruzích *C. l. pallipes*, *C. l. chanco* a nově nalezených populací. V Indii se populace vlků v oblasti Transhimálaje považovala za poddruh *C. l. chanco*, nacházející se na mnoha dalších územích, ovšem Aggarwal et al. (2003) udává, že je zcela geneticky odlišný a představuje doteď neznámý druh nebo poddruh. Navrhuje pro poddruh název *C. l. himalayensis* nebo pro druh název *C. himalayensis*. Tato populace obývá vysokohorské oblasti a je přizpůsobena studenějšímu klimatu. Druhá skupina indických vlků obývajících pouště a polopouště poloostrovní Indie a považující se za poddruh *C. l. pallipes* je taky geneticky unikátní a navrhuje pro ni název *C. l. indica* nebo *C. l. himalayensis*. U obou se předpokládá přes milion let trvající separace a nezávislá evoluce bez křížení s rody *Canis*, *Cuon* nebo *Lycaon*.

Dalším faktem způsobující zmatek je, že přívlastkem „himalájský“ jsou označovány vlci obývající oblast Himálaje, ale jejich taxonomické zařazení je myšleno různě (Werhahn et al. 2017). V minulosti, Hodgson (1847) přiřadil himalájského vlka

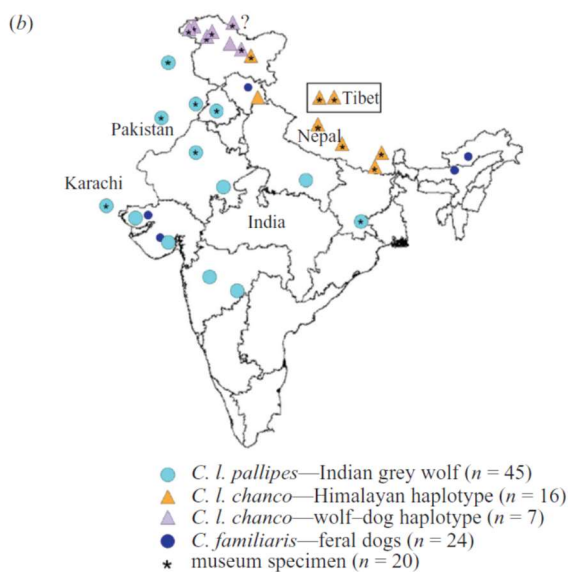
k *C. l. laniger* a Blanford (1898) jej spojil s *C. l. lupus*. Pocock (1941) poté tyto dva taxony sloučil s poddruhem *C. l. chanco*. V některých nových studiích se názvem „himalájský“ myslí nově navržený poddruh *C. l. himalayensis*. Stejnou populaci ale (Sharma et al. 2004) nazývá *C. l. chanco* – himálajský haplotyp.

S podobnou nejasností se lze setkat u poddruhu *C. l. chanco*. Werhahn et al. (2017) tvrdí, že název poddruhu *C. l. chanco* je geograficky správně používán pro severní část střední Asie, ale zpochybňují jeho zařazení jako poddruhu, jelikož jedinci z Tibetské náhorní plošiny a Himaláje, u kterých se předpokládalo, že patří pod poddruh *C. l. chanco* nebo *C. l. laniger* spadají pod himalájskou linii *C. l. himalayensis*. Dále mongolští jedinci, také původně označovaní jako *C. l. chanco*, spadají pod monofyletický komplex holarktického vlka obecného, ale netvoří uvnitř něj žádnou vlastní odlišnou monofyletickou skupinu. Werhahn et al. (2017) uvádí, že mongolský vlk *C. l. chanco* obývá pouze Mongolsko a zbytek střední Asie obývá *C. l. himalayensis*.

3.4.3 Indie

Přestože Indie není součástí východní Asie, vlčí populace v této zemi je oproti ostatním lépe popsána a je důležitým místem ovlivňující další státy, včetně Mongolska. Indie je z taxonomického hlediska velice problematická a nejasná oblast. Nachází se zde 4,400-7,100 jedinců žijících se především na antilopě jelení (*Antilope cervicapra*) a dobytku (International Wolf Center 2019). Aggarwal et al. (2003) uvádí, že indická populace se dá rozdělit na dva typy vlků, představující dvě oddělené populace, o kterých se předpokládá, že jsou poddruhy (Aggarwal et al. 2003). Je to vlk „himalájský“ neboli „tibetský“, který se nachází pouze v oblasti vyšší Transhimaláje, adaptovaný na chladnější podnebí a strmější plochy s počtem 400-1,100 jedinců (International Wolf Center 2019), jinde udáván počet 350 jedinců (Fox & Chundawat 1995) a je považován za populaci poddruhu *C. l. chanco*. Druhá, větší populace s 4,000 až 6,000 jedinci obývajících méně zalesněné pastýřské oblasti (International Wolf Center 2019) indického vlka na poloostrovní části Indie se považuje za *C. l. pallipes*. Oba vlčí typy nacházející se v Indii mají status ohroženého druhu podle zákona Indian Wildlife Protection Act, 1972 (Parliament of India 1972). Indie se nacházela i na listině CITES v dodatku I (CITES 2017). Spousta jiných organizací ale nemá ani menší populaci himalájského vlka ve svém listu, protože je často zařazují do poddruhu *C. l. chanco*, který se nachází v hojném počtu

i jinde na světě. Indický region Transhimálaje, u něhož se předpokládalo, že spadá do oblasti populace poddruhů právě „tibetského“ vlka (*C. l. chanco*), je možná úplně odlišný druh nebo poddruh. *C. l. chanco* z Indie se geneticky odlišuje od jiných jedinců tohoto poddruhu ve světě. Tyto dvě populace, které byly považovány za součást *C. l. pallipes* a *C. l. chanco* jsou tak možná oddělené populace, a jak už bylo uvedeno, mohly by být povýšeny na samostatné poddruhy nebo druhy a je pro ně navrhován nový název *C. l. himalayensis* a *C. indica* nebo *C. l. himalayensis* a *C. l. indica*. Obě populace se ve velké míře liší od všech na světě a představují nejstarší linie mezi nimi a Indie by mohla tak představovat centrum vlčí evoluce (Aggarwal et al. 2007; Aggarwal et al. 2003). Ačkoli Aggarwal et al. (2003) uvedl „himalájského“ vlka jako geneticky jedinečného, není zařazen do Červeného seznamu IUCN (IUCN 2018), přestože jeho linie je více divergentní a tím pádem více geneticky unikátní než poddruh *C. l. pallipes*, který tvoří monofyletickou větev uvnitř souboru vlka obecného v holartické oblasti a je uznaným poddruhem IUCN (Werhahn et al. 2017).



Obrázek 8: Mapa indického subkontinentu s lokalitami odběru vzorků různých poddruhů. (Sharma et al. 2004)

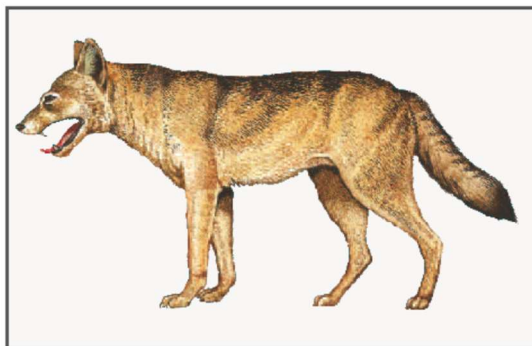
Sharma et al. (2004) uvádí, že všechny dosud studované vlčí a psí sekvence mitochondriální DNA spadají do společné „wolf-dog“ větve. V Indii se ale našly i sekvence, které do této větve nespádají. Všechny sekvence *C. l. pallipes* z indických nížin mají jeden ze čtyř blízce příbuzných haplotypů, které tvoří odlišnou sesterskou linii k linii wolf-dog. U himalájského *C. l. chanco* také několik sekvencí nespádalo do společné psí

a vlčí větve. Vzorky z nejzápadnějšího území Kašmíru, Himáčalpradéše, Nepálu a Tibetu se vysoce lišily a tvoří bazální větev uvnitř *Canis lupus*. Výsledky tedy předpokládají, že mezi mtDNA indické *C. l. pallipes* větve a wolf-dog větví není žádný genový tok a objevení himalájské větve představuje dnešní pokračující existenci velice staré linie žijící v těchto regionech s vyšší nadmořskou výškou. Zdá se, že tyto tři odlišné větve (Obrázek 8) se od sebe měly oddělit a vyvinout ve středním Pleistocénu. Himalájský *C. l. chanco* se považuje za nejstaršího se vznikem před 800,000 lety, indický *C. l. pallipes* je společně s wolf-dog větví mladší a vznikl před 400,000 lety. Poznatek o chybějící introgresi mtDNA mezi těmito třemi větvemi je pozoruhodný a překvapivý, neboť vlci mají skvělé rozšiřovací schopnosti (Mech 1995) a například genový tok mezi Eurasií a Amerikou je vysoký (Koblmüller et al. 2016; Vilà et al. 1999).

3.4.4 Nepál

V Nepálu je vlk, uvedený jako *C. l. lupus*, označený na červeném seznamu IUCN jako kriticky ohrožený druh a je uveden v národním seznamu chráněných živočichů (Government of Nepal 1973; Jnawali et al. 2011). Navzdory tomu je výzkum této šelmy v Nepálu značně omezený a vlčí výskyt snížený kvůli vysoké mortalitě způsobené jejich lovením vlastníky dobytka a nedostatkem divoké kořisti (Chetri et al. 2016). Bylo pozorováno méně než 50 dospělých jedinců a populační velikost je odhadnuta na 30-50 zvířat a pravděpodobně se snižuje (Jnawali et al. 2011). Subba et al. (2017) vytvořili studii zaměřenou na rozšíření vlka obecného v Himálaji a Transhimálaji pomocí trusu, fotopastí a publikovaných informací. Uvádějí zde, že vlk patří s irbisem (*Panthera uncia*) a rysem ostrovidem (*Lynx lynx*) k hlavním šelmám v Himaláji, hlavní kořisti je nahur modrý (Pseudois nayaur), antilopa čiru (*Pantholops hodgsonii*), gazela tibetská (*Procapra picticaudata*), ovce argali (*Ovis ammon*) a kiang (*Equus kiang*).

Přítomnost vlků byla zaznamenána primárně ve vysokohorských pastvinách. Vlci jsou zde přizpůsobeni na lovení na otevřených stanovištích. Barva srsti je značně proměnlivá, mění se od světle šedé po bíločernou. Nejčastěji je ale kožich šedý promíchaný s delšími černými chlupy, na břicho světlejší (Obrázek 9) (Jnawali et al. 2011).



Obrázek 9: Kresba nepálského vlka. (Jnawali et al. 2011)

Jejich taxonomické zařazení je velice nejednoznačné. Nepálští vlci vykazují jistou podobnost s „himalájskými“ vlky, mají podobné morfologické znaky a obývají obdobné habitaty (Subba et al. 2017). Sillero-Zubiri et al. (2004) sjednotil poddruhy ve střední Asii popsané Nowakem (1995) do jednoho poddruhu - *C. l. lupus*. Werhahn et al. (2017) pomocí genetických dat dokázal zařazení indického vlka do odlišné větve a doplnil současné údaje o rozšíření „himalájského“ vlka o dříve nepotvrzenou oblast severozápadního Nepálu. Sharma et al. (2004) v Nepálu našel čtyři vzorky himalájského haplotypu *C. l. chanco* (*C. l. himalayensis*). Nelze ale potvrdit jejich současný výskyt v Nepálu, neboť tyto čtyři vzorky byly odebrány z muzejních exponátů (Sharma et al. 2004). V největší nepálské chráněné oblasti Annapurna nacházející se v Transhimaláji byl na základě DNA extrahované z trusu nalezen haplotyp zařazený do monofyletické skupiny *C. l. chanco* (Chetri et al. 2016). Tento haplotyp byl objeven nově a nepřřadil se ke čtyřem vzorkům himalájského vlka, které objevili Sharma et al. (2004). Tabulka 2 popisuje poddruhy, které se mohou vyskytovat v Nepálu, jejich rozšíření a jestli jsou uznanými druhy IUCN.

Vědecký název	Obecný název	Území	Uznáný IUCN
<i>C. l. lupus</i>	Eurasijský vlk obecný	Evropa, Asie	ano
<i>C. l. chanco</i>	Mongolský vlk obecný	Tibetská náhorní plošina	ne
<i>C. himalayensis</i> (<i>C. l. chanco</i> – himálajský haplotyp)	Himálajský vlk	Himálaje, Tibetská náhorní plošina	ne
<i>C. l. pallipes</i>	Indický vlk obecný	Jihozápadní Asie, Střední východ	ano

Tabulka 2: Tabulka se zmíněnými poddruhy vlka obecného, vlastní tvorba podle publikovaných dat. (Werhahn et al. 2017)

V okrese Dolpa byly analyzovány vzorky vlčího trusu. Nalezený haplotyp spadl do skupiny haplotypů „himalájského“ vlka, kterého lze nazvat *C. l. himalayensis* nebo *C. l. chanco* – himalájské větve (synonymum) (Subba et al. 2017). Tato větev, která se nachází v západní trans-himalájské Indii (Aggarwal et al. 2003) tedy napovídá, že i v Nepálu, ve značně podobné krajině, se jim daří.

3.4.5 Čína

Existuje několik vědeckých článků publikovaných mimo Čínu, tvrdících, že se vlci nenacházejí ve velké části země (Nowak 2003; Sokolov & Rossolimo 1985). Nicméně, podle studie vytvořené v Číně shrnující čínskou literaturu, vlci obývají téměř celou zemi (Lu et al. 2016). Wang (2003) popsal pět poddruhů/podtypů vyskytujících se v čínském vnitrozemí: *C. l. desertorum*, *C. l. fulchneri*, *C. l. chanco*, formu vlka nacházející se ve Vnitřním Mongolsku (čínská autonomní oblast) a formu vlka nacházející se v Jižní Číně. Jiná publikace uvádí informaci, že Vnitřní Mongolsko obývá *C. l. chanco*. Žádná čísla o celkové velikosti čínské populace nejsou k dispozici, ale je známo, že její velikost se dramaticky snížila (Honghai et al. 1998).

3.5 Mongolsko

Mongolsko (Obrázek 10) poskytuje útočiště 128 druhům savců a mnoho z nich je ohrožených nebo endemických pro oblast Střední Asie. V průběhu minulých dvou století došlo k výraznému poklesu populace některých živočišných druhů. Příčinu lze hledat ve změnách mongolské sociální a ekonomické sféry (Clark et al. 2006).



Obrázek 10: Mapa Mongolska. (United Nations 2019)

3.5.1 Charakteristika vlčí populace v Mongolsku

3.5.1.1 Velikost

Vlk představuje v Mongolsku nejrozšířenější druh velké šelmy (Kaczensky et al. 2008) a je s irbisem a rysem jeden ze tří největších predátorů v zemi (Wingard & Zahler 2018). Bohužel ale neexistují žádné vědecké studie o vlčí populaci v Mongolsku. Pokud je brána v potaz maximální nosná kapacita země, lze se pohybovat mezi 50,000 až 100,000 vlky, skutečná velikost populace je ale velmi pravděpodobně mnohem nižší (Wingard & Zahler 2006). V roce 1980 byl mongolskou Akademií věd odhadnut počet vlků na 30,000 jedinců (Wingard & Zahler 2018), v roce 2003 na 10,000-20,000 jedinců (Boitani 2003; Wilson 2003). Průzkum z roku 2005 s použitím populační hustoty pozorované na Aljašce předpokládá populaci o velikosti 20,000-30,000 jedinců (Wingard

& Zahler 2018). Eregdenedagva et al. (2016) cituje práci v mongolštině od Naranchuu (2013), kde se uvádí, že populace v roce 1989 čítala 32,000 jedinců.

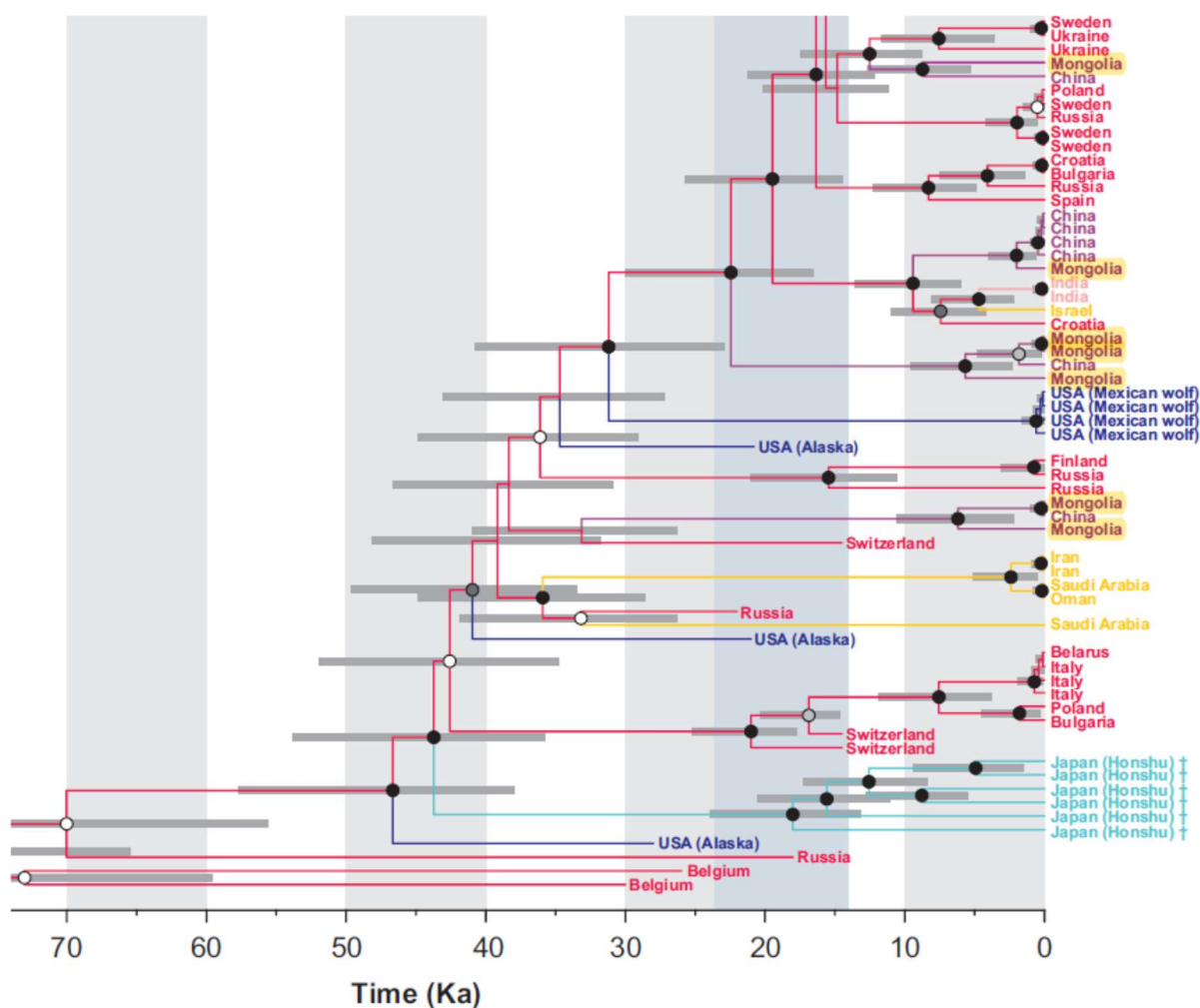
3.5.1.2 *Rozšíření*

Ve studii mongolských biologů ze sedmdesátých let se uvádí, že populace vykazuje rovnoměrné rozšíření (Wingard & Zahler 2018) a vlci se nacházejí po celé zemi (Wilson 2003). Clark et al. (2006) také uvádí, že jsou široce rozšířeni po celé zemi v malých hustotách. Mallon (1985) tvrdí, že se vlci vyskytují ve všech oblastech země, včetně pouště, přestože je jejich rozšíření nerovnoměrné a na některých místech ojedinělé. Obývají tajgu, lesostep, step a pouštní oblasti, tedy prakticky celou zemi (Eregdenedagva et al. 2016).

3.5.1.3 *Taxonomie*

Celkové taxonomické zařazení vlků v Mongolsku je stále nejasné a je potřeba genetické studie. Historicky se předpokládá, že v Mongolsku žije populace poddruhu *C. l. chanco* (Wilson 2003). Tuto skutečnost podporuje i (Werhahn et al. 2017), který pro poddruh *C. l. chanco*, který žije v severní části střední Asie, ale jak už bylo uvedeno, zpochybňuje oprávnění populace jako poddruhu, neboť tato populace se fylogeneticky řadí do holarktické linie, kde netvoří vlastní monofyletickou linii. Není ale jasné, jaké omezení a evoluční procesy způsobily takové rozdělení. Podle mtDNA sekvencí Sharma et al. (2004) linie *C. l. chanco* z Tibetské náhorní plošiny v západním a středním Kašmíru, Tibetu, Číny, Ruska a také právě Mongolska spadají pod široce rozšířenou wolf-dog větev.

Vlci z jižních oblastí jsou menší a mají světle šedou barvu, ti ze severu země jsou velcí a tmavošedí (Obrázek 12). Zdá se, že jejich hustota na jihu je nižší než na severu (Eregdenedagva et al. 2016). Bannikov (1954) cit. podle Eregdenedagva et al. (2016) zvažoval pravděpodobnost, že severní a jižní populace mohou být poddruhy. Severní oblasti jsou obývány sibiřským lesním vlkem – *C. l. altaicus*, Tibetský vlk – *C. l. chanco* obývá Džungárii. Mongoský vlk – *C. l. tschiliensis* obývá severní pohoří a oblasti tajgy, Vnitřní Mongolsko a pravděpodobně i Korejský poloostrov (Heptner & Naumov (1974) cit. podle Eregdenedagva et al. (2016)).



Obrázek 11: Fylogenetické zařazení vlků z vybraných zemí, včetně sedmi zvýrazněných jedinců z Mongolska. (Kobl Müller et al. 2016)

3.5.1.4 Rozmnožování

Jedna smečka se průměrně sestává z 6-8, někdy 10-15 jedinců. Vlci se páří od konce ledna až do března a jsou v tomto období nadmíru neklidní a agresivní. Vlčata se rodí po 62 až 63 dnech okolo konce dubna a začátku května a obvykle je jich 5-6, ale výjimečně dokonce až 13 (Eregdenedagva et al. 2016). Zajímavé je, že jeden vlčí pár s jejich potomky může za 7 let vyprodukovat 334 jedinců (Naranchuu 2013) cit. podle Eregdenedagva et al. (2016).



Obrázek 12: Jednoletý vlk v zajetí, oblast Chövsgöl. (Eregdenedagva et al. 2016)

3.5.2 Konflikty mezi lidmi a vlky

3.5.2.1 Lov vlků a jejich ochrana

Vlk byl v Mongolsku ještě donedávna jeden z mála druhů, pro které neplatila žádná lovecká sezóna, zákaz nebo kvóta. Vlk se nachází v dodatku II CITES druhů, kromě Bhútánu, Pákistánu, Nepálu a Indie, kteří spadají pod dodatek I (CITES 2017). Obchod je povolený, ale musí obsahovat vývozní povolení ze země původu (Wingard & Zahler 2018).

Sosorbaram (1969) cit. podle Reading et al. (1998) píše, že Mongolsko poskytuje útočiště relativně velké populaci vlků obecných, což by se ale mohlo změnit, pokud bude pokračovat jejich perzekuce. Stabilita populace je velkou otázkou, protože jejich počet se v průběhu minulých let snížil, neboť většina lidí žijící v této oblasti je silně závislá na dobytku a vlk jakožto predátor představuje pro jejich hospodářství hrozbu. V roce 2015 byl vlk obecný označen druhým nejvíce pronásledovaným druhem hned po svišti (*Marmota siberica*) (Wingard & Zahler 2018). V mongolském červeném seznamu IUCN je v globálním měřítku vlk uveden jako málo dotčený taxon, ale v rámci Mongolska je označen jako téměř ohrožený taxon (Clark et al. 2006).

Vlk obecný se nachází i na přísně chráněném území (SPA – Strictly protected Area) sousedící s jihem hlavního města Ulánbátar – Bogd Khan Uul. Dochází v něm ovšem k dramatickým poklesům populace divokých zvířat, které jsou způsobeny ilegálním lovem (World Bank 2010). Lovecké výpravy na vlky jsou uskutečňovány dokonce i v chráněných územích (Wingard & Zahler 2018). Vedení SPA odhaduje, že kolem 400 chudých obyvatel občasně loví nebo využívá zdrojů v Bogd Khan Uul. V nedávné době došlo v Mongolsku ke zvýšení četnosti nezákonného lovení, což způsobuje velký tlak na populace velkých savců (World Bank 2010). Dalším problémem je vysoký počet ilegálně pasoucího se dobytka v Bogd Khan Uul SPA. Důsledkem je predace volně se pasoucího dobytka vlky a tím vznikají konflikty mezi pastýři a vlky, což vede k zabíjení vlků (Nakazawa et al. 2008).

Dalším příkladem může být Dornod Aimag, nejvýchodnější provincie Mongolska, kde se nachází některé unikátní živočišné druhy. Nachází se mezi Ruskem na severu a Čínou na východě a jihu. Dochází zde k poklesu lovu vlků lidmi, což by mohlo naznačovat snižující se vlčí populaci a nemusí jednoduše jen reflektovat menší poptávku nebo potřebu. Lov může být snížen právě kvůli snižujícímu se počtu vlků v kraji. Skutečnost, že se populace vlků snižuje, je v protikladu s informacemi od mongolských biologů a místních úředníků, kteří tvrdí, že se vlčí populace naopak zvyšuje. I dotazovaní místní lidé projevíli jasnou nelibost nad přítomností vlků v provincii. Také je možné, že populaci ovlivňuje i rapidně zvyšující se počet obyvatelstva v Mongolsku (Reading et al. 1998).

Zabití vlka je v mongolské společnosti oslavováno, protože potvrzuje lovcovu sílu a schopnosti. Vlk má v mongolské kultuře mýtické postavení jakožto předek všech Mongolů, ale i tak stále představuje hrozbu pro živobytí mnoha lidí. Před rokem 1990, v období sovětské éry, byl pořádán národní lov na vlky každý první únorový víkend, což způsobilo jejich vymření na mnoha místech. Podle některých biologů a pastevců, vlčí populace po roce 1990 začala vzrůstat (Hovens & Tungalaktuja 2005). Mongolové vždycky ponechali přinejmenším jedno nebo dvě vlčata v noře.

V roce 2005 byl vlk uveden do mongolského zákona jako početný druh a nevztahují se na něj žádné potřeby povolení, lovecká sezóna nebo kvóty a nyní je pravidelně předmětem loveckých zákazů a velmi limitovaných kvót. V posledních několika letech, 2014–2016, byla určená kvóta pro celou zemi jen na 20 kusů, ta se ale nerespektuje a ročně je loveno více než 20 vlků. Úplné lovecké zákony se také objevovaly

na různých místech začátkem roku 2010, přestože žádný celostátní zákon ještě ustanovený nebyl. Navzdory limitům a zákazům ve východních provinciích, studie předpokládá, že vlci jsou i tak stále loveni a prodáváni ve značné míře, jak na domácím trhu, tak mezinárodně. Ceny vlčích kožešin (Obrázek 13) vysoce vzrostly jak v zahraničí, tak na domácím trhu a jsou vystaveny veřejně v obchodech v Ulánbátaru. Jsou považovány za nejteplejší. Přívěsky spojeny s mysticismem a silou lze najít ve většině obchodů. Kotníky jsou také značně oblíbené a jakožto náboženské a léčebné předměty jsou konzumovány všechny části vlka. Vlčí maso, jazyk a slezina jsou používány k léčení takřka všech neduhů. Jeden vlk stál v roce 2015 na domácím trhu okolo 400-450 USD. Mezinárodní trh pohání hlavně Čína (Wingard & Zahler, 2018).



Obrázek 13: Vlčí kožešiny v Ulánbátaru, vlastní fotografie.

Další přísně chráněná oblast, národní rezervace Gobi B v gobijské poušti v jihozápadním Mongolsku (Gobi A – druhá rezervace v sušší části Gobi se nachází východně na hranici s Čínou), také poskytuje útočiště populaci vlků. Aby se zde vlci vyhnuli lidským lovcům, ubírají se raději do vyšších horských terénů než do rovinných stepů. Na těchto místech jsou ovšem snadno viditelní a jako většina zabitých vlků postřeleni z motorových vozidel (Kaczensky et al. 2008). Poměr zastřelených vlků se v nedávných letech zvýšil právě především i z důvodu, že se vozidla a zbraně staly více dostupné veřejnosti. Pronásledování vlků džípy v otevřené stepi a používání samonabíjecích pušek je běžným sportem (Wingard & Zahler 2018). Tradiční způsob

lovení ale zahrnuje několikadenní stopování na koni před nalezením a zabitím zvířete (Charlier 2015). Jižní hranice parku je také mezinárodní hranicí mezi Mongolskem a Čínou. Prohlídka tržišť odhalila produkty z 2,000 vlků na dvou hraničních tržištích, přestože CITES uděluje jen 150 povolení každý rok (Kaczensky et al. 2008). Obrázek 14 ukazuje, že vlk obecný zaujímá v Mongolsku první místo v tabulce popisující druhy, kterým bylo uděleno nejvíc povolení k exportu v průběhu let 1996-2015 (Wingard & Zahler 2018).

1996-2015		
MONGOLIA'S CITES Export Permits		
TOP 10 Species		
#	Species	Permits
#1	Gray Wolf	291
#2	Argali	263
#3	Saker Falcon	83
#4	Golden Eagle	30
#5	Pallas's Cat	28
#6	Brown Bear	23
#7	Eurasian Lynx	16
#8	Snow Leopard	16
#9	Cinereous Vulture	15
#10	Siberian Ibex	14
	Other	166
		945

Obrázek 14: Tabulka mongolských druhů seřazených podle počtu povolení k exportu udělených CITES v průběhu let 1996-2015. (Wingard & Zahler 2018)

Konfliktem mezi lidmi a vlky se zabývala i další studie, v provincii Dornogobi, kde se na jihovýchodě země nachází přírodní rezervace Ikh Nart. Velikost vlčí populace není známa. Vlci se zde živí divokou zvěří jako například ovce argali (*Ovis ammon*) nebo kozorožci sibiřskými (*Capra sibirica*). Tyto dva druhy představují jediné divoké kopytníky nacházející se v rezervaci ve vysokých počtech. Vysoká vegetace poskytuje vlkům pravděpodobně větší výhodu. V rezervaci byl risk lovení vlky větší v oblastech s vyšší stepní vegetací, zahrnující jak stromy (jilm, vrba), tak traviny (kavyl). Dobytek je na takových místech více zranitelný, jelikož jeho ostražitost klesá. Naopak na otevřených pláních je risk menší, což lidem vytváří větší bezpečnost pro jurty postavené na těchto místech. Omezením této studie je poměrně malá část stepního regionu, který byl vybrán. Na druhou stranu obsahuje směs různých habitatů, které se rozprostírají po většině

středního a jižního Mongolska a zasahují i do dalších zemí – Kazachstánu a Číny (Davie et al. 2014).

No	Scientific Name	Common Name	Estimated Number of Hunters in Mongolia
1.	<i>Marmota sibirica</i>	Siberian marmot	139,000
2.	<i>Canis lupus</i>	Gray wolf	75,000
3.	<i>Vulpes vulpes</i>	Red fox	44,000
4.	<i>Procapra gutturosa</i>	Mongolian gazelle	34,000
5.	<i>Capreolus pygargus</i>	Roe deer	29,000
6.	<i>Vulpes corsac</i>	Corsac fox	25,000
7.	<i>Sus scrofa</i>	Wild boar	20,000
8.	<i>Sciurus vulgaris</i>	Red squirrel	6,500
9.	<i>Cervus elaphus</i>	Red deer	5,000
10.	<i>Lynx lynx</i>	Eurasian lynx	3,000

Obrázek 15: Umístění druhů podle odhadovaného počtu lovců, kteří se na dané druhy zaměřují. (Wingard & Zahler 2006)

Po rozpadu Sovětského svazu nejsou k dispozici žádné oficiální záznamy ulovených vlků, ale průzkum z roku 2004 v zemi odhalil, že skoro 1,000 mongolských lovců nahlásilo zabítí přes 1,770 vlků (Reading et al. 1998). V průběhu 20 let bylo obchodováno minimálně s 2,249 jedinci, průměrně 112/rok (Wingard & Zahler 2018). Vlk se umístil na druhém místě v tabulce mongolských druhů seřazených podle odhadovaného počtu lovců, kteří se na dané druhy zaměřují (Obrázek 15) (Wingard & Zahler 2006).

3.5.2.2 Strava

Jejich potrava se skládá zásadně z živočišné složky, od malých hmyzožravců přes hlodavce, jako jsou sysli, pišťuchy a svišti, až po všechny větší kopytníky, jako například antilopy, kozy, ovce, kulany, srnce, jeleny a losy a dále se také živí mnoha ptačími druhy. Preferují větší kořisti, ale celkové složení stravy tvoří široké spektrum, které se liší podle místa. Domácí zvířata jsou také součástí vlčího jídelníčku (Eregdenedagva et al. 2016).

Co se týče celkové stravy vlků v Bogd Khan Uul SPA, v roce 2004 se našlo 12 položek ve vzorcích trusu: kůň, koza, jelen lesní (*Cervus elaphus*), ovce, malí hlodavci, hmyz, svišť (Siberian marmot – *Marmota sibirica*), ptáci, zajíc (Zajíc africký – *Lepus timidus* nebo Zajíc běláček – *Lepus timidus*), jak, sysel (ground squirrel long-tailed Siberian

souslik – *Spermophilus undulatus*) a skot. Nejčastěji se vyskytující kořistí byl kůň, druhou koza. Chlupy kopytníků se objevily v 94,4 % vzorků, naopak chlupy malých savců jen v 21,4 %, což naznačuje dávání přednosti větším zvířatům. Analýza tedy ukázala, že hlavní kořistí byli domácí kopytníci, ale loveni byli i malí savci. Očekávalo se, že jelen lesní, srnec obecný, prase divoké, kabar pižmový a kozorožec (rod *Capra*) budou většinou kořistí v Bogd Khan Uul SPA, ale podle studie se vlci živili spíše dobyt看em než divokými kopytníky, což ale pravděpodobně záviselo na dostupnosti těchto dvou skupin. Je například odhadnuto, že v Bogd Khan Uul SPA se nachází pouze 100 jelenů a 4,100 až 22,100 kusů dobytka (Nakazawa et al. 2008). Nízký počet jelenů je s největší pravděpodobností způsoben pytláčením v Mongolsku, protože jsou jak legálně, tak nelegálně loveni kvůli parohům a lýči z parohů Finch (1999) cit. podle Nakazawa et al. (2008).

V Dornod Aimagu, nejvýchodnější provincii Mongolska, konkrétně například v přírodní rezervaci Ugtam Uul a místních stepích, vlci loví gazely (*Procapra guttorosa*) (Wilson 2003).

Útoky vlků ovlivňují také přežití reintrodukovaných koní Převalského (*Equus ferus przewalski*) v národním parku Hustai (HNP), který se nachází 100 km jihozápadně od Ulánbátaru a populace vlků je v něm odhadnuta na 20-50 jedinců. Koně Převalského tvořily pouze menšinou část, méně než 1 % celkového obsahu vlčí stravy. Studie zaměřená na složení stravy vlků v HNP také ukázala, že ji (kromě července, srpna a září) z 50 % a více tvořil dobytek. Zejména tedy v zimním období (Hovens & Tungalaktuja 2005; Van Duyne et al. 2009). V zimě vlčí útoky vzrůstají kvůli nedostatku potravy. Je obvyklé, že rodina ztratí několik telat a ovcí za jednu noc. Vlčí smečka dokonce napadá stádo během dne, když jsou ovce daleko od pastevce (Charlier 2015). V období let 2003-2005, vlci v národním parku Hustai způsobili pastevcům ročně škody v hodnotě 600 až 1900 USD, což odpovídá 5 až 11 % z celkové ceny stáda. Z dostupného dobytka byli nejvíce loveni koně, zatímco jeleni (*Cervus elaphus*) a svišti (*Marmota sibirica*) byli upřednostňováni z divokých druhů (Van Duyne et al. 2009). Jak jsem viděla na vlastní oči, v Mongolsku se dobytek pase zcela volně, žádného oplocení se nevyužívá. Mongolští majitelé někdy nevidí své koně i týdny, zatímco ovce a kozy se pasou přes den a na noc jsou zavírání do jurty, takže jim nehrozí takové nebezpečí (Hovens & Tungalaktuja 2005). Je potvrzené, že vlci jsou potravně flexibilní a přizpůsobiví predátoři a jsou schopni žít se na širokém spektru kořistí, ale jejich jasně hlavním zdrojem potravy je divoká zvěř a

při jejich hojnosti a vysoké diverzitě se vyhledávání dobytka kvůli potravě snižuje (Jędrzejewski et al. 2012; Meriggi & Lovari 1996; Okarma 1995). Ovšem je-li v jejich okolí tohoto zdroje nedostatek, jsou nuceni lovit i dobytek, což způsobuje už zmíněný konflikt mezi lidmi a vlky (Nakazawa et al. 2008).

Sezónní výkyvy v HNP ve vlčí stravě by mohly být způsobeny především životním cyklem jelenů. Například červnový pokles divoké zvěře v jídelníčku vlků se shoduje s obdobím rození kolouchů, kdy většinou laně odcházejí ze stáda, aby porodily a po porodu se na určitou dobu osamostatní a konzumují mláděcí moč a výkaly, čímž se snižuje pravděpodobnost, že je vlci naleznou. V červenci a srpnu, kdy se kolouši přidávají ke stádu a je jednoduché je najít a zabít, jejich počet ve stravě vzrůstá a podobně je tomu také v říjnu, kdy je ostražitost jelenů snížena kvůli období říje (Hovens & Tungalaktuja 2005). Je známo, že vlci jsou pro dobytek nejnebezpečnější po období páření, které končí březnem, protože jsou hubení a vyhladovělí (Eregdenedagva et al. 2016).

4. Cíle praktické části

- Sběr genetického materiálu psů a vlků v Mongolsku.
- Zjištění základních genetických charakteristik odebraných vzorků.

5. Materiál

Pět vzorků mongolských psů bylo odebráno v průběhu letní školy v Mongolsku v srpnu 2018 jako srovnávací materiál. Jednalo se o dva jedince z Jihogobijského ajmagu a tři jedince z Centrálního ajmagu, několik desítek kilometrů od hlavního města Ulánbátaru. Vlčí vzorek kontrolní DNA byl získán v provincii Orkhon. Všechny vzorky byly odebrány neinvazivním způsobem, stěrem bukální sliznice pomocí speciální odběrové sady PERFORMAgene PG-100 dodávané kanadskou firmou Genotek (Obrázek 16).

Dále byla vytvořena spolupráce s Mongolian National University. Gantulga Gankhuyang z katedry ekologie a Battogtokh Nasanbat z katedry biologie byli seznámeni s metodami správného odběru vlčího trusu se speciální odběrovou sadou. Odběr byl doporučen v zimě, vzhledem k lepší kvalitě a konzervaci vzorků v tomto období. Jelikož vzorky trusu v národním parku Gorkhi Terelj z července 2018 byly odebrány v létě, nedosahovaly dostatečné kvality pro genetickou analýzu a nemohly být použity v této práci.



**Obrázek 16: Odběrová sada PERFORMAgene PG-100 od firmy Genotek.
(Ottawa, Kanada)**

6. Metodika

Praktická část v laboratoři se skládala z izolace DNA ze stěrů bukální sliznice, namnožení kontrolního úseku D-loop mtDNA, kontroly amplifikovaných úseků pomocí gelové elektroforézy, purifikace DNA, přípravy produktů na sekvenační reakci a samotné sekvenační reakce.

DNA byla izolována podle protokolu přiloženého k odběrové sadě PERFORMAgene PG-100 od firmy Genotek (Laboratory protocol for manual purification of DNA from 0.5 mL of Performagene™ sample). Koncentrace izolované DNA byla změřena na přístroji Nanodrop 2000. Pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) byl amplifikován úsek D-loop mtDNA s vysokou mutační rychlostí. Příprava na reakci zahrnuje nachystání reakční směsi. Reakční směs obsahuje PCR Master Mix (PPP TopBio) obsahující Taq DNA polymerázu, směs dNTP (deoxynukleotid trifosfáty), MgCl₂ a optimalizovaný reakční pufr. Dále je potřeba přidat primery Thr-L (5' - CAA TTC CCC GGT CTT GTA ACC C - 3') a DL-H (5' - CCT GAA GTA GAA ACC AGA TG - 3'), PCR vodu a DNA. PCR reakce probíhala v termocykléru při objemu 25 μ l. Teplotní protokol s časy jednotlivých fází reakce je popsán v Tabulce 3.

Krok	Teplota (°C)	Čas (min)	Pořadí
Počáteční tepelná aktivace	95 °C	5	1
Denaturace	95 °C	1	2
Nasednutí primerů	50 °C	1	3
Syntéza DNA	72 °C	1	4
Zpět ke kroku 2, cyklus opakovat 34x			5
Závěrečná polymerace	72 °C	10	6
Zastavení reakce	12 °C	∞	7

Tabulka 3: Teplotní protokol PCR reakce.

Úspěšnost PCR reakce byla zkontrolována gelovou elektroforézou. Při kontrole byl vyřazen psí vzorek G03. Pro purifikaci amplifikované DNA byl použit Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit od firmy Geneaid. PCR produkt byl vyřezán z agarového gelu vzhledem k nespecifickým produktům. Výsledné přečištěné produkty měly objem 30 μ l.

Výsledná koncentrace byla změřena pomocí spektrofotometru Nanodrop 2000. Před sekvenační reakcí je nutné k 2 μ l přečištěné DNA přidat 5,5 μ l PCR vody a 0,5 μ l DL-H primeru. Výsledné produkty byly zaslány na sekvenační reakce do servisní laboratoře na Přírodovědeckou fakultu Univerzity Karlovy v Praze.

Celkově byly získány 4 sekvence, jedna vlčí a tři psí. Osekvenované části DNA byly upravovány a analyzovány v programu Geneious. Tyto úseky byly alignovány metodou ClustalW. Výsledky byly porovnány s daty v genové bance National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Kódy vzorků z genové banky, převzato z Koblmüller et al. (2016):

Mongolia 1 – KU696392

Mongolia 2 – KU696393

Mongolia 3 – KU696394

Mongolia 4 – KU696395

Mongolia 5 – KU696396

China – KU696391

Chinese Wolf 5 – KU644669

Canis lupus chanco – GQ374438

Indian Wolf 2 – KU644666

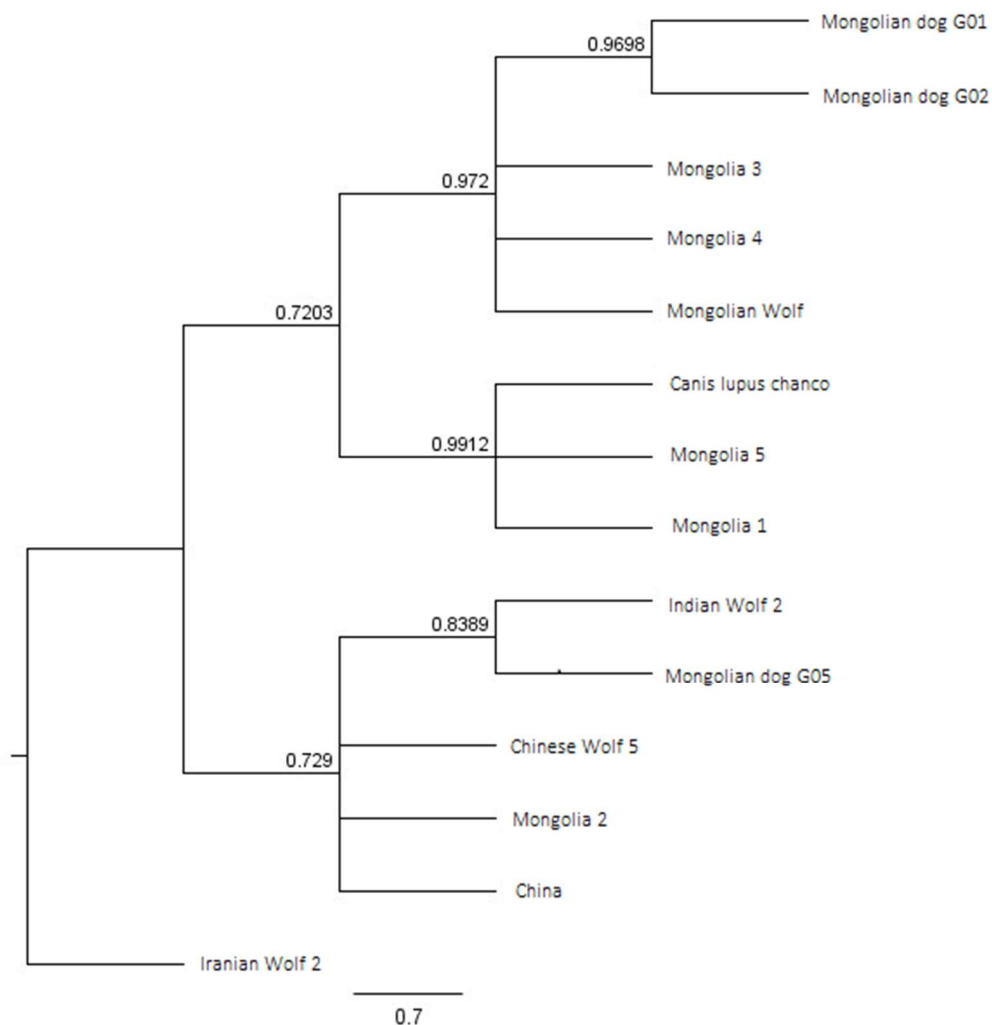
Iranian Wolf 2 – KU644671

Fylogenetický strom byl vytvořen v programu MrBayes s nastavením 500,000 kroků Markov Chain Monte Carlo (MCMC) po 100,000 MCMC burn-in periodě. Stromy byly zaznamenávány po každých 200 krocích MCMC.

7. Výsledky

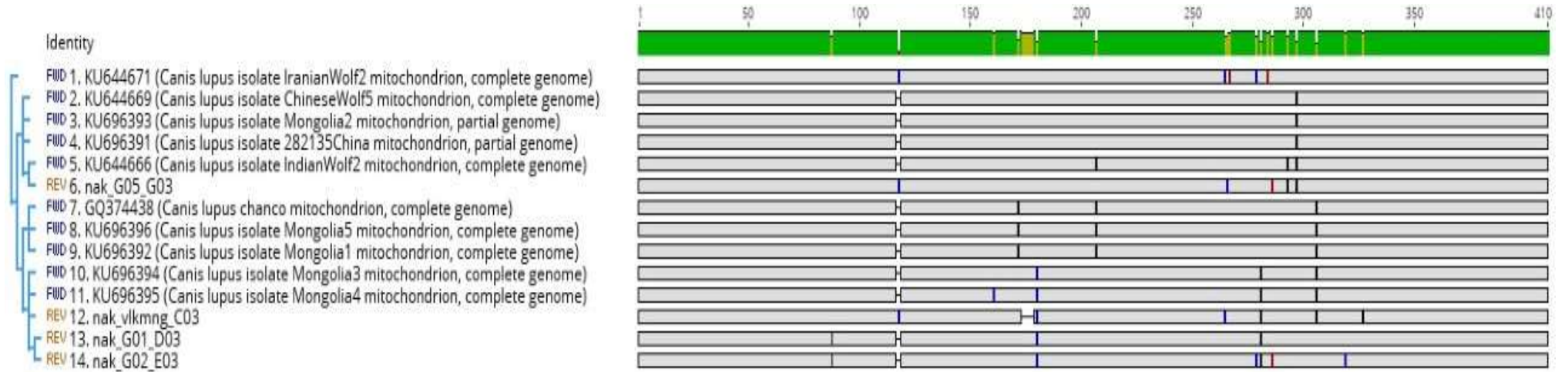
Podařilo se získat celkem 4 sekvence z části kontrolního úseku D-loop mtDNA. Jeden ze psích vzorků se neamplifikoval. Na Obrázku 18 je alignment získaných sekvencí s daty z genové banky NCBI. Kvůli jeho velkým rozměrům je vložen na další stránku na šířku.

Fylogenetický strom (Obrázek 17) byl zakořeněn sekvencí vlka z Iránu. Naše získaná sekvence mongolského vlka klastrovala s mongolskými vlky 3 a 4 z publikace Koblmüller et al. (2016) a dvěma sekvencemi námi osekvenovaných psů. Lokalita vlků 2 a 3 z (Koblmüller et al. 2016) není dohledatelná. Třetí mongolský vlk se přiřadil ke skupině vlků z Indie, Číny a Mongolska.



Obrázek 17: Fylogenetický strom vytvořen v programu MrBayes.

Obrázek 18: Alignment sekvencí nak_G01, nak_G02, nak_G05 (psi), nak_vlkmng (vlk) se sekvencemi z genové banky.



8. Diskuze

Sběr vlčího trusu v národním parku Gorkhi Terelj ve spolupráci s členy Mongolian National University uskutečněný za účelem extrakce a analýzy DNA pro zjištění genetických charakteristik vlků byl neúspěšný vzhledem k nízké kvalitě vzorků v letním období. Opětovný odběr vzorků v zimě by byl velice prospěšný, vzhledem k nedostatku informací o rozšíření vlků v Mongolsku. Z fotopastí a analýz DNA vzorků vlčího trusu by se v budoucnosti mohla vyhodnotit přítomnost vlků v jednotlivých oblastech a určit genetická variabilita populací.

Z pěti PCR produktů byly čtyři úspěšně osekvenovány. U jednoho ze psích vzorků neproběhla sekvenační reakce dostatečně dobře a byl následně vyřazen z analýzy. Podle fylogenetického stromu se psi řadí k vlkům, což by mohlo ukazovat na hybridizaci mezi psem a vlkem. Psí vzorky spadaly mezi vlčí haplotypy, nicméně srovnávací databáze nebyla dostatečná, neobsahala další psy a vlky. Výsledek tedy nemůžeme považovat za důkaz hybridizace psa a vlka v Mongolsku, protože je známo, že vlčí haplotypy se objevují i v psích populacích jako důsledek nekompletního lineage sortingu. Vzhledem k nejasnosti původu vlků v genové bance nedokážeme přiřadit náš získaný haplotyp k poddruhu či populaci v Mongolsku. Nízký počet vzorků představuje nevýhodu. Doplnění práce detailnějším výzkumem s větším počtem vzorků a markerů, by vedlo k lepší identifikaci rozdílů mezi populacemi a jedinci zástupců psů a vlků a jejich hybridů. Pro získání kvalitních dat je doporučeno rovnoměrné odebrání vzorků.

9. Závěr

O vlčí populaci v Mongolsku je k dispozici málo informací. Jejich populační charakteristiky nejsou prostudované a taxonomické zařazení není jasné. Předpokládá se, že v Mongolsku žije populace poddruhu *C. l. chanco* a populace netvoří žádnou samostatnou linii (Werhahn et al. 2017). S jistotou lze říci, že velikost mongolské populace se rapidně snižuje a pokud bude současný trend pokračovat, může dojít až k jejímu vymření. Hlavním důvodem snižování populace je lov vlků. Vlci jsou loveni hlavně kvůli predaci dobytka a pro obchodní účely (Wingard & Zahler 2018). Mongolská populace může obsahovat i linie z jiných zemí.

Vzhledem k popsaným okolnostem je velmi doporučen další výzkum vlčí populace v Mongolsku. Dále je doporučeno stanovení efektivních ochranných opatření pro vlka jakožto klíčového predátora v Mongolsku pro udržení biodiverzity. Velice důležité je budoucí zlepšení vztahů mezi vlky a lidmi a vyřešení konfliktů v sociální a ekonomické sféře.

Pro výzkumné účely se podařilo získat jeden vlčí a pět psích vzorků DNA z bukálních stěrů. Tyto vzorky byly použity při laboratorní části pro izolaci DNA, sekvenční reakci a analýzu výsledků v počítačovém softwaru. Vzhledem k malému počtu vzorků a nejasnosti původu vzorků v genové bance je doporučen výzkum s více vzorky s lokacemi odběrů, který bude vhodný pro doplnění chybějících informací.

10. Reference

- Abbey D. 1997. Graphical explanation of basic phylogenetic terms. University of California Museum of Paleontology. Berkeley. Available from <https://ucmp.berkeley.edu/glossary/gloss1/phyly.html> (accessed January 2019).
- Aggarwal RK, Kivisild T, Ramadevi J, Singh L. 2007. Mitochondrial DNA coding region sequences support the phylogenetic distinction of two Indian wolf species. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* **45**:163-172.
- Aggarwal RK, Ramadevi J, Singh L. 2003. Ancient origin and evolution of the Indian wolf: evidence from mitochondrial DNA typing of wolves from Trans-Himalayan region and Pennisular India. *Genome Biology* 4 (P6) DOI:10.1186/gb-2003-4-6-p6.
- Ardalan A, Kluetsch CF, Zhang Ab, Erdogan M, Uhlén M, Houshmand M, Tepeli C, Ashtiani SRM, Savolainen P. 2011. Comprehensive study of mtDNA among Southwest Asian dogs contradicts independent domestication of wolf, but implies dog–wolf hybridization. *Ecology and evolution* **1**:373-385.
- Avise JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC. 1987. Intraspecific Phylogeography - the Mitochondrial-DNA Bridge between Population-Genetics and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**:489-522.
- Bannikov AG. 1954. Mlekopitajuščije Mongolskoj narodnoj respubliki (Vol. 1). Akademija nauk SSSR, Moskva.
- Barry Cox C, D Moore P, Ladle R. 2016. Biogeography : an ecological and evolutionary approach (9th ed.). John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, West Sussex.
- Blanford WT. 1898. The Fauna of British India: Including Ceylon and Burma (Vol. 4). Taylor & Francis, London
- Boitani L. 2003. Wolf conservation and recovery. Pages 317-340 in Mech LD & Boitani L, editors. *Wolves: Behaviour, Ecology, and Conservation*. University of Chicago Press, Chicago.
- CITES. 2017. Appendices I, II and III. CITES. Available from <https://cites.org/eng/app/appendices.php> (accessed October 2018).

- Clark EL, Munkhbat J, Dulamtseren S, Baillie J, Batsaikhan N, Samiya R, Stubbe M. 2006. Mongolian Red List of Mammals. Regional red list series **1**:98-99.
- Davie HS, Murdoch JD, Lhagvasuren A, Reading RP. 2014. Measuring and mapping the influence of landscape factors on livestock predation by wolves in Mongolia. *Journal of Arid Environments* **103**:85-91.
- Eregdenbagva D, Samjaa R, Stubbe M, Stubbe A. 2016. Historische und aktuelle Daten zum Wolf in der Mongolei. Erforschung biologischer Ressourcen der Mongolei/ Exploration into the Biological Resources of Mongolia **13**:409-444.
- Ersmark E, et al. 2016. From the Past to the Present: Wolf Phylogeography and Demographic History Based on the Mitochondrial Control Region. *Frontiers in Ecology and Evolution* **4**.
- Ferguson WW. 1981. The systematic position of *Canis aureus lupaster* (Carnivora: Canidae) and the occurrence of *Canis lupus* in North Africa, Egypt and Sinai. *Mammalia* **45**:459-466.
- Finch C. 1999. *Mongolia's Wild Heritage*. Avery Press, Boulder, Colorado.
- Fox J, Chundawat R. 1995. Wolves in the Transhimalayan region of India: the continued survival of a low-density population. Pages 95-103 in Carbyn LN, Fritts SH, Seip DR, & Institute CC, editors. *Ecology conservation of wolves in a changing world*. Canadian Circumpolar Institute, Edmonton, Alberta.
- Government of Nepal. (1973). *National Parks and Wildlife Conservation Act*. Kathmandu: Government of Nepal
- Gray JE. 1863. Notice of Chanco or Golden Wolf from Chinese Tartary. Pages 94 in Zoological Society of London, editors. *Proceedings of the general meetings for scientific business of the Zoological Society of London*. Taylor and Francis, London.
- Hall ER. 1981. *The Mammals of North America*. John Wiley & Sons, New York.
- Heptner V, Naumov N. 1974. *Die Säugetiere der Sowjetunion (Vol. 2)*. Fischer Verlag, Jena.
- Hewitt GM. 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological journal of the Linnean Society* **58**:247-276.
- Hindrikson M, et al. 2017. Wolf population genetics in Europe: a systematic review, meta-analysis and suggestions for conservation and management. *Biological Reviews* **92**:1601-1629.

- Hodgson B. 1847. Description of the wild ass (*Asinus polydon*) and wolf of Tibet (*Lupus laniger*). *Jour. Nat. Hist* **7**:474.
- Hofreiter M. 2007. Pleistocene Extinctions: Haunting the Survivors. *Current Biology* **17**:R609-R611.
- Hofreiter M, Barnes I. 2010. Diversity lost: are all Holarctic large mammal species just relict populations? *Journal of Biology* **9**:24.
- Honghai Z, Jianmin Z, Zhuanbin W, Zhongxin G, Yuan P. 1998. Food habits of the grassland wolf in Inner Mongolia of China. *Journal of Forestry Research* **9**:40-43.
- Hovens J, Tungalaktuja K. 2005. Seasonal fluctuations of the wolf diet in the Hustai National Park (Mongolia). *Mammalian Biology* **70**:210-217.
- Chapron G, et al. 2014. Recovery of large carnivores in Europe's modern human-dominated landscapes. *science* **346**:1517-1519.
- Charlier B. 2015. *Faces of the wolf: managing the human, non-human boundary in Mongolia*. Brill, Leiden, The Netherlands.
- Chetri M, Jhala YV, Jnawali SR, Subedi N, Dhakal M, Yumnam B. 2016. Ancient Himalayan wolf (*Canis lupus chanco*) lineage in Upper Mustang of the Annapurna Conservation Area, Nepal. *ZooKeys*143.
- International Society of Genetic Genealogy. 2018. Haplotype. ISOGG. Available from <https://isogg.org/wiki/Haplotype> (accessed February 2019).
- International Wolf Center. 2019. Wolves of the World, India Available from www.wolf.org/wow/asia/india (accessed February 2019).
- IUCN. 2018. The IUCN Red List of Threatened Species. IUCN. Available from www.iucnredlist.org (accessed November 2018).
- Jędrzejewski W, et al. 2012. Prey choice and diet of wolves related to ungulate communities and wolf subpopulations in Poland. *Journal of Mammalogy* **93**:1480-1492.
- Jnawali SR, et al. 2011. *The Status of Nepal's Mammals: The National Red List Series*. Department of National Parks and Wildlife Conservation Kathmandu.
- Kaczensky P, Enkhsaikhan N, Ganbaatar O, Walzer C. 2008. The Great Gobi B Strictly Protected Area in Mongolia-refuge or sink for wolves *Canis lupus* in the Gobi. *Wildlife Biology* **14**:444-457.

- Kim S-B, Suh M-H, Lee B-Y, Kim ST, Park C-H, Oh H-K, Kim H-Y, Lee J-H, Lee SY. 2014. Korean Red List of Threatened Species (Second ed.). National Institute of Biological Resources, Second edition, Incheon.
- Koblmüller S, Vilà C, Lorente-Galdos B, Dabad M, Ramirez O, Marques-Bonet T, Wayne RK, Leonard JA. 2016. Whole mitochondrial genomes illuminate ancient intercontinental dispersals of grey wolves (*Canis lupus*). *Journal of Biogeography* **43**:1728-1738.
- Leonard JA. 2015. Ecology drives evolution in grey wolves. *Evolutionary Ecology Research* **16**:461-473.
- Leonard JA, Vila C, Fox-Dobbs K, Koch PL, Wayne RK, Van Valkenburgh B. 2007. Megafaunal extinctions and the Disappearance of a Specialized Wolf Ecomorph. *Current Biology* **17**:1146-1150.
- Lu W, Ya-Ping M, Qi-Jun Z, Ya-Ping ZHANG PS, Guo-Dong W. 2016. The geographical distribution of grey wolves (*Canis lupus*) in China: a systematic review. *Zoological research* **37**:315.
- Mallon D. 1985. The mammals of the Mongolian People's Republic. *Mammal Review* **15**:71-102.
- Matsumura S, Inoshima Y, Ishiguro N. 2014. Reconstructing the colonization history of lost wolf lineages by the analysis of the mitochondrial genome. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **80**:105-112.
- Mech LD. 1970. *The Wolf: The Ecology and Behavior of an Endangered Species*, by L. David Mech. Doubleday, New York.
- Mech LD. 1995. The challenge and opportunity of recovering wolf populations. *Conservation biology* **9**:270-278.
- Mech LD, Boitani L. 2003. *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. University of Chicago Press, Chicago.
- Meriggi A, Lovari S. 1996. A review of wolf predation in southern Europe: does the wolf prefer wild prey to livestock? *Journal of applied ecology* **15**:1561-1571.
- Nakazawa C, Tungalagtuya K, Maruyama N, Suda K. 2008. Food habits of gray wolves in the Bogdkhan Mountain Strictly Protected Area, Mongolia. *Biosphere conservation: for nature, wildlife, and humans* **9**:1-8.
- Naranchuu T. 2013. *Mongol nutgijn čono (Der Wolf in der Mongolei) (Vol. 2)*, Ulaanbaatar.

- Nature Education. 2014. haplotype / haplotypes. Nature Education. Available from <https://www.nature.com/scitable/definition/haplotype-142> (accessed February 2019).
- Nowak RM. 1995. Another look at wolf taxonomy. Pages 375-397 in Carbyn LN, Fritts SH, Seip DR, & Institute CC, editors. Ecology and conservation of wolves in a changing world. Canadian Circumpolar Institute, Edmonton, Alberta.
- Nowak RM. 2003. Wolf evolution and taxonomy. Pages in editors. Wolves: Behaviour, Ecology, and Conservation. University of Chicago Press, Chicago
- Okarma H. 1995. The trophic ecology of wolves and their predatory role in ungulate communities of forest ecosystems in Europe. *Acta theriologica* **40**:335-386.
- Parliament of India. (1972). The Indian Wildlife (Protection) Act. India
- Pilot M, Branicki W, Jedrzejewski W, Goszczynski J, Jedrzejewska B, Dykyy I, Shkvryra M, Tsingarska E. 2010. Phylogeographic history of grey wolves in Europe. *Bmc Evolutionary Biology* 10 (104) DOI:10410.1186/1471-2148-10-104.
- Pilot M, Jedrzejewski W, Branicki W, Sidorovich VE, Jedrzejewska B, Stachura K, Funk SM. 2006. Ecological factors influence population genetic structure of European grey wolves. *Molecular Ecology* **15**:4533-4553.
- Pocock RI. 1941. The Fauna of British India, Including Ceylon and Burma: Mammalia Vol. II. Taylor & Francis, London.
- Pruett CL, Winker K. 2005. Biological impacts of climatic change on a Beringian endemic: cryptic refugia in the establishment and differentiation of the rock sandpiper (*Calidris ptilocnemis*). *Climatic Change* **68**:219-240.
- Randi E. 2011. Genetics and conservation of wolves *Canis lupus* in Europe. *Mammal Review* **41**:99-111.
- Reading RP, Mix H, Lhagvasuren B, Tseveenmyadag N. 1998. The commercial harvest of wildlife in Dornod Aimag, Mongolia. *The Journal of wildlife management* **62**:59-71.
- Savolainen P, Zhang Y-p, Luo J, Lundeberg J, Leitner T. 2002. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. *science* **298**:1610-1613.
- Sharma D, K., Maldonado J, E., Jhala Y, V., Fleischer R, C. 2004. Ancient wolf lineages in India. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **271**:S1-S4.

- Shrotriya S, Lyngdoh S, Habib B. 2012. Wolves in Trans-Himalayas: 165 years of taxonomic confusion. *Current Science* **103**:885-887.
- Sillero-Zubiri C, Hoffmann M, Macdonald DW. 2004. Canids: foxes, wolves, jackals, and dogs: status survey and conservation action plan. IUCN Gland, Switzerland.
- Sokolov VE, Rossolimo OL. 1985. Taxonomy and variability. Pages 21-50 in Bibikov D, editors. *The wolf: History, Systematics, Morphology, Ecology*. Nauka Publishers, Moscow, Russia.
- Sosorbaram J. 1969. Game mammals of Dornod Aimag. Research of the Mongolian Academy of Sciences' Institute of General and Experimental Biology **4**:73-87.
- Subba SA, et al. 2017. Distribution of grey wolves *Canis lupus lupus* in the Nepalese Himalaya: implications for conservation management. *Oryx* **51**:403-406.
- The Wolf Intelligencer. 2019. Mongolian wolf (*Canis lupus chanco*). Available from <https://thewolfintelligencer.com/mongolian-wolf-canis-lupus-chanco/> (accessed February 2019).
- United Nations. 2019. Geospatial Information Section. Geospatial Information Section. New York. Available from <https://www.un.org/Depts/Cartographic/english/htmain.htm> (accessed April 2019).
- Van Duyn C, Ras E, De Vos AE, De Boer WF, Henkens RJ, Usukhjargal D. 2009. Wolf predation among reintroduced przewalski horses in Hustai National Park, Mongolia. *The Journal of wildlife management* **73**:836-843.
- Vilà C, Amorim IR, Leonard JA, Posada D, Castroviejo J, Petrucci-Fonseca F, Crandall KA, Ellegren H, Wayne RKJMe. 1999. Mitochondrial DNA phylogeography and population history of the grey wolf *Canis lupus*. **8**:2089-2103.
- Wang Y. 2003. A complete checklist of mammal species and subspecies in China: a taxonomic and geographic reference. China Forestry Publishing House **27**:29.
- Werhahn G, Senn H, Kaden J, Joshi J, Bhattarai S, Kusi N, Sillero-Zubiri C, Macdonald DW. 2017. Phylogenetic evidence for the ancient Himalayan wolf: towards a clarification of its taxonomic status based on genetic sampling from western Nepal. *Royal Society open science* **4** (170186) DOI:10.1098/rsos.170186.
- Wilson W. 2003. Nomads, sheep, and wolves: The conservation of cultural landscapes in eastern Mongolia. Paper presented at the World Wolf Congress.

Wingard J, Zahler P. 2006. Silent steppe: the illegal wildlife trade crisis in Mongolia.
The World Bank, Washington.

Wingard J, Zahler P. 2018. Silent steppe: Mongolia's Wildlife Trade Crisis, Ten Years
Later. The World Bank, Washington.

World Bank. 2010. Mongolia - Revitalization of Mongolia's Protected Areas through
Effective Forest Management of Bogd Khan Uul Project (English). World Bank,
Washington, DC.

