



UPPSALA
UNIVERSITET

Låglandsvisenten (*Bison bonasus bonasus*) tillbaka i Europa

En lyckad återintroduktion eller hotad av låg
genetisk variation?



Foto: Gustav Pettersson

Gustav Pettersson

Independent Project in Biology

Självständigt arbete i biologi, 15 hp, höstterminen 2012

Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Sammandrag

I Europa förekommer låglandsvisenten (*Bison bonasus bonasus*) idag som flera isolerade populationer. Arten försvann från de Europeiska skogarna i början av 1900-talet på grund av ökad konkurrens från andra herbivorer, sjukdomar överförda från tamboskap och tjuvjakt. Ett avelsprojekt på de sju återstående individerna startades i syfte att återintroducera låglandsvisenten men detta resulterade i en population som idag är inavlad. Denna litteraturstudie syftar till att beskriva hur stor graden av inavel är i dagens population och om de lider av någon form av inavelsdepression. Jag tar även upp vilka åtgärder man har tänkt genomföra för att minska inaveln i framtiden. Populationen idag har en inavelskoefficient på 0,20 vilket tyder på en hög grad av inavel. Detta har medfört att det finns en låg diversitet av alleler vilket troligen har resulterat i de problem som finns idag, däribland ökad känslighet för olika parasiter och sjukdomar. Effekterna är inte extremt allvarliga i nuläget men detta kan bero på att de lever i en stabil miljö. För att säkra artens framtid behöver man öka konnektiviteten mellan de fragment djuren lever i och på så sätt skapa förutsättningar för ett ökat genflöde mellan populationerna.

Inledning

Visenten (*Bison bonasus*) var i början av 1900-talet nära att dö ut men arten har nu återhämtat sig (Pucek 1991). De individer som finns idag härstammar från ett fåtal individer som hölls i fångenskap (Slatis 1960). Arter som, likt visenten, drastiskt minskar i antal för att sedan öka igen går igenom en så kallad flaskhals där arten riskerar att förlora en del av sin genetiska variation (Nei *et al.* 1975).

I populationer med låg genetisk variation drabbas djuren ofta av olika sjukdomar och fysikaliska missbildningar. Detta leder till en minskad fitness, den reproduktiva förmågan försämras och djuren har ofta en kortare livslängd (Reed & Frankham 2003). När den genetiska diversiteten minskar ökar ofta risken att utsättas för sjukdomar och parasiter och detta kan i vissa fall leda till att populationen dör ut (O'Grady *et al.* 2006). Anledningen till detta ligger i den begränsade förmågan att anpassa sig till förändringar i närmiljön (Reed & Frankham 2003, Frankham 2005). Ju fler alleler som finns i en population, desto större är sannolikheten att den kan anpassa sig till ett bredare spektrum av miljöer. Ängsnätfjärilen (*Melitea cinxia*) på Åland är ett bra exempel på detta (Saccheri *et al.* 1998). I populationer där den genetiska variationen var lägre än i andra populationer hade individerna en kortare livslängd och dessa populationer försvann under den period då studien genomfördes.

Ytterligare något som kan minska den genetiska variationen är inavel och det är främst i små populationer som konsekvenserna kan märkas (Frankham 2005, Bennet & Saunders 2010). Då närbesläktade individer får avkomma är sannolikheten stor att denna får alleler som är identiska med varandra. Då individer i små populationer får avkomma som är homozygot för flera loci riskerar vissa alleler att försvinna från populationen på grund av genetisk drift, slumpmässiga händelser. Hos exempelvis havsuttern (*Enhydra lutris*) har genetisk drift orsakat en förlust av 62 % av de alleler som fanns i populationen innan den gick igenom en

flaskhals (Larson *et al.* 2002). Även dödligheten hos djur påverkas av inavel. Ballou och Ralls (1982) märkte att dödligheten hos ungdjur av tre olika arter av ungulater, hovdjur, ökade med graden av inavel.

Det som på lång sikt kan rädda populationer med låg genetisk diversitet är ett tillskott av individer med alleler som inte finns i populationen, en så kallad genetisk räddning (Ingvarsson 2001). Detta har varit ett sätt att hjälpa flera utsatta arter däribland den svenska vargstammen (*Canis lupus*) där ett fåtal individer från den finsk-ryska stammen ibland etablerar sig i Sverige och förbättrat den genetiska statusen (Vilà *et al.* 2003). Ett naturligt tillskott av nya alleler är dock något som blir svårare i dag på grund av den ökande fragmenteringen av landskapet. Människans behov av nya områden medför att större områden exploateras (Laurance 2010). Detta leder ofta till att landskapet blir fragmenterat där den mänskliga infrastrukturen isolerar populationer av olika växt- och djurarter från varandra. Genom minskad möjlighet för interaktion med andra populationer ökar risken för inavel och de genetiska problem som det medför (Bennet & Saunders 2010).

Visenterna i Europa har en begränsad genetisk variation på grund av att de alla härstammar från ett fåtal individer. De lever idag i ett fragmenterat landskap där de olika populationerna ofta är isolerade från varandra (Perzanowski *et al.* 2004, Pucek 2004) och riskerar därmed att förlora mer av den begränsade genetiska variation som finns kvar. Denna litteraturstudie kommer behandla den genetiska statusen hos låglandsvisenten, den enda av de tidigare tre underarterna som överlevt till idag. Fokus kommer att ligga på att besvara följande frågor:

- Hur stor är inaveln hos visentstammen?
- Lider de av några sjukdomar eller fysiologiska missbildningar till följd av inaveln?
- Vilka åtgärder har man tänkt genomföra för att minska inaveln?

Artfakta

Visenten är med en längd på upp till 370 cm, inklusive svansen och en höjd på 180-195 cm den största herbivoren som lever i vilt tillstånd i Europa (Large herbivore network 2012). Vikten kan vara upp till 1000 kg (Nowak 1999). Den återfinns framförallt i löv- och blandskogar med tillgång till öppna områden men ursprungligen har den troligtvis levt i helt öppna habitat (Kerley *et al.* 2012). Födan består främst av olika gräs och örter som exempelvis starr (*Carex* spp.) och kirskål (*Aegopodium* spp.) men vintertid är bark, lavar och mossor huvudfödan (Krasinska *et al.* 1987, Wilson & Mittermeier 2011).

Visenten är ett flocklevande djur där honor, kalvar och unga tjurar lever i grupper om 13-19 individer men detta varierar med födotillgången (Krasinska *et al.* 1987, Wilson & Mittermeier 2011). I vissa fall, särskilt vintertid, kan flera hjordar samlas på platser med god födotillgång (Nowak 1999). Hemområdena för olika flockar överlappar ofta vilket leder till att individer byter grupp när flera flockar samlas (Large Herbivore Network 2012). Detta leder till att individer i en flock sällan är direkt släkt med varandra undantaget kor med årsungar som håller ihop tills kalven kan klara sig själv. Vuxna tjurar går ensamma eller i ungarligrupper

(på engelska: bachelor groups) med sällan mer än två individer (Krasinska & Krasinski 1995). Detta kan dock vara en effekt av att de lever på små områden där tjurarna inte kan leva åtskilda (Wilson & Mittermeier 2011).

Brunsten infaller mellan augusti och oktober och tjurarna ansluter sig då till en blandad grupp (Large Herbivore Network 2012). Visenten är en polygyn art vilket innebär att hanarna bildar ett harem av honor vilka han parar sig med (Wilson & Mittermeier 2011). Då en konkurrerande tjur kommer i närheten av en annans tjur harem utbryter en strid som avgör vilken hane som tar över gruppen (Krasinska *et al.* 1987). Efter brunsten går tjurarna tillbaka till sitt solitära liv. Hanarna blir ofta köns mogna vid 2-4 års ålder men de får inte tillfälle att para sig innan de är cirka sex år och starka nog att utmana de äldre tjurarna. Honor blir köns mogna vid tre års ålder och får då en kalv per år. Tvillingar förekommer men är mycket sällsynta. Honor lever i genomsnitt längre än tjurar, i vilt tillstånd kan de bli upp till 20 år gamla jämfört med 16 år för tjurar (Wilson & Mittermeier 2011).

Taxonomi

Visenten är ett partåigt hovdjur (Artiodactyla) tillhörande familjen slidhornsdjur (Bovidae) och underfamiljen oxdjur (Bovinae). I denna underfamilj ingår bland andra nötboskap (*Bos taurus*), vattenbuffel (*Bubalus arnee*) och flera släkten av antiloper. Visenten bildar tillsammans med den amerikanska bisonoxen ett eget släkte, *Bison* men i äldre litteratur kan man dock se att både visenten och bisonoxen förs in i släktet *Bos* på grund av den genetiska likheten med nötkreatur (Miyamoto *et al.* 1989). Denna likhet gör det möjligt att i genetiska studier använda tekniker och verktyg som tagits fram för nötboskap (Roth *et al.* 2006, Tokarska *et al.* 2009a).

Under 1700-talet fanns det tre underarter av visenten, låglandsvisent (*Bison bonasus bonasus*), karpatisent (*B. b. hungarorum*) och bergsvisent (*B. b. caucasicus*) (Pucek 2004). De två senare är nu utdöda, karpatisenten dog ut i slutet av 1700-talet medan bergsvisenten dog ut i början av 1900-talet. Låglandsvisenten finns kvar tillsammans med en korsning mellan dessa och bergsvisenten kallad låglands-bergsvisent (Pucek 1991). En fjärde underart har föreslagits, höglandsvisenten (*Bison bonasus montanus*) som är resultatet av en korsning mellan låglandsvisent, låglands-bergsvisent och amerikansk bison (Rautian *et al.* 2000). Denna underart är dock inte accepterad som en egen underart (Pucek 1991, Olech 2008).

Hotstatus

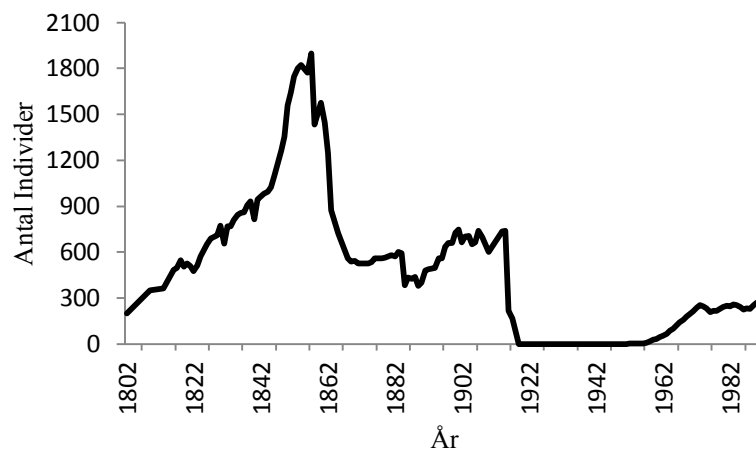
På IUCN:s rödlista (Olech 2008) är låglandsvisenten klassad som sårbar (vulnerable, VU) medan låglands-bergsvisenten är starkt hotad (endangered, EN). Denna klassning har de fått på grund av det låga populationsantalet i början av 2000-talet. Den genetiska diversiteten var då även lika stor som man kan förvänta sig att hitta i en population bestående av 1000 individer. Visenten är även upptagen i EU:s art- och habitatdirektiv (bilaga 2, annex II och IV) vilket innebär att arten och dess habitat behöver strikt skydd samt förvaltning (EU 1992).

Visenten i Europa

Visenten har varit spridd över stora delar av centrala Europa och Ryssland. Fynd av låglandsvisenten har påträffats i England, södra Sverige och Danmark medan de övriga två underarterna påträffades i Karpaterna och i länderna runt Kaukasus (Nowak 1999).

Kärnområdet för arten har varit östra Europa runt Polen, Baltikum, Ukraina och västra Ryssland och även i flera områden runt Svarta havet (Benecke 2005).

Mellan 1000- och 1100-talet hade låglandsvisenten försvunnit från flera länder i Europa (Wilson & Mittermeier 2011). Benecke (2005) menar dock att låglandsvisenten hade varit borta från dessa områden tidigare än så. Han pekar på att man kan ha förväxling benrester från låglandsvisent och uroxe (*Bos primigenius*) och att visentens totala utbredningsområde kan ha överskattats. I Polen var dock populationen stark, framförallt tack vare att djuren var skyddade från jakt (Pucek 1991). Under senare halvan av 1800-talet kan man dock se en nedgång i antalet individer i Europa (figur 1). Denna nedgång fortsatte tills det i början av 1900-talet endast fanns två populationer kvar, en i Bialowiezaskogen, på gränsen mellan Polen och Vitryssland, och en i Kaukasus (Wilson & Mittermeier 2011). Dessa var de sista hjordarna av låglands- respektive bergsvisenter som levde i vilt tillstånd. År 1919 sköts den sista vilt levande låglandsvisenten i Bialowieza av tjuvskyttar och 1927 mötte den sista bergsvisenten samma öde i Kaukasus.



Figur 1. Populationsutvecklingen över de vilt levande låglandsvisenterna i Bialowiezaskogen, på gränsen mellan Polen och Vitryssland, under 1800-talet och fram till 1992. Baserad på data från Jedrzejewska *et al.* (1997).

Orsaker till utdöendet

Anledningarna till låglandsvisentens tillbakagång är troligen många men det var troligen främst deterministiska hot, det vill säga hot som inte bygger på slumpmässiga faktorer. Vid sekelskiftet 1800-1900 blev stödutfodringen mer intensiv i Polen vilket tillsammans med minskade rovdjursstammar ledde till en ökning i rådjurspopulationen (*Capreolus capreolus*). Under denna period introducerade man även dovhjort (*Dama dama*) och kronhjort (*Cervus elaphus*) vilka snabbt ökade i antal (Pucek 1991). Den stora mängden herbivorer ledde till ökad konkurrens om födan och därmed minskad födotillgång för låglandsvisenten.

Ytterligare anledningar till tillbakagången är troligen sjukdomar som överfördes från tamboskap som betade fritt i skogen (Kita & Anusz 1991). En sjukdom som kan överföras på detta sätt är tuberkulos vilket påvisas av Pavlik *et al.* (2002). I studien, gjord på flera arter, var 70 % av de smittade individerna från Polen. Samtliga 12 låglandsvisenter i studien var smittade. Ytterligare en faktor som ledde till artens tillbakagång är habitatförlust (Pucek 1991). När skogen avverkades tvingades djuren leva på ett mindre område vilket ledde till ytterligare konkurrens om födan.

Det som slutligen ledde till att arten försvann var jakten. I Polen var det endast adelsmän som tilläts jaga visent och tjuvjakt bestraffades med döden (Pucek 2004). Detta system försvann dock under första världskriget då låglandsvisenter sköts av tyska soldater för att användas som mat trots att regeringen förbjöd det (Pucek 1991). Födottillgången minskade även då man inte stödutfodrade djuren till lika hög grad som tidigare. Populationen av bergsvisenter i Europa minskade även den som en följd av sjukdomar och ökat tjuvskytte under tidigt 1900-tal (Olech 2008).

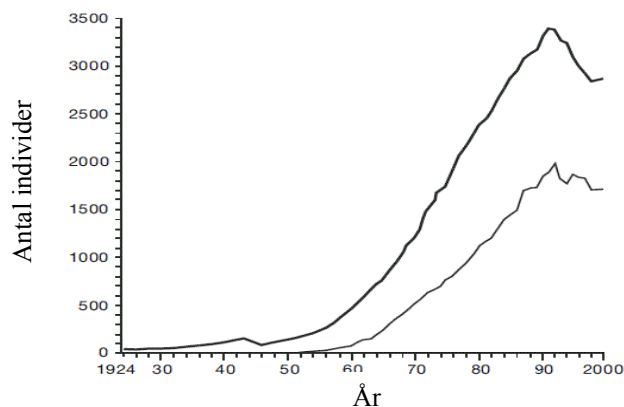
Återinförandet till Europas skogar

Strax efter att arten försvunnit från Europa startades arbetet med att återinföra visenten. Representanter från 16 länder grundade den internationella föreningen för bevarandet av visenten (på tyska: Internationale Gesellschaft zur Erhaltung des Wisents) (Pucek 1991). Tanken var att genom planerad avel mellan de återstående djurparksdjuren öka antalet individer och återintroducera arten. Efter en inventering av de återstående djuren fann man att det fanns 54 stycken kvar varav 39 kom från Bialowieza (Pucek 2004). Dessa härstammade alla från 12 individer varav sju stycken var låglandsvisenter vilket innebär att det finns en väldigt begränsad genetisk variation att arbeta med (Slatis 1960). En stor del av den variation som tidigare fanns hade troligtvis gått förlorad då det bland de individer som dog i flaskhalsen troligen fanns flera alleler som inte förkom i de överlevande individerna. Vidare var det även ett bekymmer att en stor majoritet av de återstående djuren kom från samma område då dessa troligen delade en stor del av sitt genetiska material.

För att underlätta avelsarbetet och minimera inaveln protokollförde man alla individer, både låglandsvisenter och låglands-bergsvisenten, och hur de var släkt med varandra. Dessa anteckningar samlades i visenternas stambok (European Bison Pedigree Book, EBPB) som än idag uppdateras. Ett annat syfte med denna är att säkerställa att inga hybrider används i arbetet. Man värnar om den unika genpool som finns hos låglandsvisenten, även om den är begränsad. Vid hybridisering riskerar unika alleler att gå förlorade och detta ville man undvika (Ghosh *et al.* 2012). I djurparker och privata hägn hade visenter korsats med både nötkreatur och amerikansk bison och i vissa fall fått fertil avkomma trots att detta inte sker naturligt (Raczynski & Bolbot 2009).

I början av 1940-talet råkade visenten dock ut för ytterligare en flaskhals. Den tyska regeringen började korsa visenter av båda underarterna med existerande bison/visenthybrider för att snabbt öka antalet individer trots protester från de ansvariga för projektet. Alla dessa hybrider avlivades senare för att hålla artens genom intakt. Detta ledde till att populationen

sjönk från de närmare 200 individerna man haft tidigare till endast 93 stycken (figur 2). Avelsarbetet fortgick dock och 1952 kunde de första djuren återintroduceras (Pucek 1991). Den första lokalen de släpptes ut i var Bialowiezaskogen och snart återintroducerade man både låglandvisent och bergsvisent även i andra länder, först Vitryssland (1961) och sedan Litauen (1973) (Pucek 2004). Populationerna ökade snabbt i antal till de nästan 1800 låglandvisenter som fanns i vilt tillstånd år 2011 (figur 2, tabell 1).

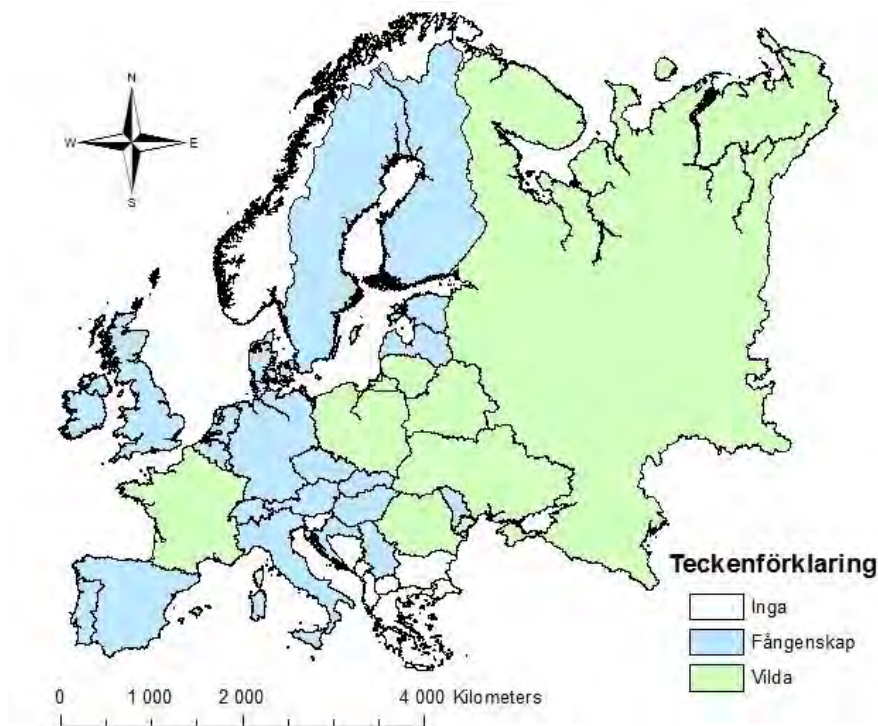


Figur 2. Populationsutvecklingen för visenten i Europa (sammanslagning av både låglandvisent och låglandsbergsvisent) från utdöendet till år 2000. Den övre kurvan är totalt antal individer (frilevande och i fångenskap) och den undre visar antalet frilevande djur. Modifierad efter Pucek (2004).

Tabell 1. Antalet visenter i Europa år 2011 fördelat på de båda varianterna av visent som finns idag. Baserad på data från European Bison Conservation Center (2012).

	Vilt		
	levande	Fångenskap	Totalt
Låglandvisent	1777	441	2218
Låglands-bergsvisent	1154	1064	2218
Totalt	2931	1505	4436

Idag finns låglandvisenten i 29 länder runtom i Europa varav åtta länder har frigående populationer (figur 3). Dessa populationer förvaltas väl med syftet att åter få livskraftiga populationer. I Bialowieza stödutfodrar man djuren och avlivar sjuka djur för att sjukdomen, utifall att den är smittsam, inte ska sprida sig till de övriga individerna (Pucek 2004). Man har även i de lokala populationer där stammen är livskraftig aktivt skjutit några individer varje år, fördelat över olika åldersgrupper för att dessa populationer inte ska bli för stora (Krasinska *et al.* 1987, Pucek 2004). I de fall det finns resurser brukar man istället flytta individer till områden med små populationer.



Figur 3. Låglandsvisentens utbredning i Europa. Efter data från European Bison Conservation Center (2012). Bakgrundskarta modifierad efter ESRI ArcGIS Online (2012).

Inavel

Inavel är vanligt i små populationer och sker då nära släktingar producerar avkomma. Denna process minskar den genetiska diversiteten i populationer (Frankham 2005) och kan i slutändan leda till att, framförallt små bestånd, dör ut (Frankham 1995). Ju längre tid en population är liten desto större är risken att den genetiska variationen minskar på grund av genetisk drift. (Nei *et al.* 1975). Släktingar har till viss del samma genupsättning och när dessa får avkomma är sannolikheten stor att denna får två likadana alleler från sina föräldrar. Vissa alleler går på detta sätt mot fixering medan andra alleler förloras.

Den genetiska diversiteten

Som mest kan det i hela populationen av visenter finnas 24 alleler för varje locus, två från vardera av de 12 grundarna. Detta förutsätter dock att alla hade en unik uppsättning gener vilket inte är troligt (Slatis 1960). För låglandsvisenten är andelen tillgängliga alleler troligen ännu mindre då dessa härstammar från sju individer, fyra hanar och tre honor (Hartl & Pucek 1994). Dessa individer har dock inte bidragit lika mycket till den genetiska variation som finns idag. Den variation som finns i mitokondrie-DNA:t (mtDNA) tyder på att en av honorna har bidragit mer med sitt genetiska material än de övriga två (Wojcik *et al.* 2009). mtDNA nedärvs endast från modern och hos 87 individer från Bialowieza fanns det endast tre olika varianter, haplotyper, en vanlig, en ovanlig och en väldigt sällsynt. Detta överensstämmer med data som visar att gener från en hona, Planta, förekommer till mycket högre grad än gener från de övriga två honorna (29,4 % respektive < 6,0 % för den övriga två) (Pucek 2004).

Hos tjurarna återfinns ett liknande mönster där en hane, Plebjer, har bidragit med sina gener till mycket högre grad än de övriga tre (54,5 % respektive < 5,0 % för de övriga tre). Vidare finns det i dagens population enbart en variant av Y-kromosomen vilken kommer från just Plebjer. Anledningen till detta ligger troligen i att Plebjer och två andra tjurar var de enda hanarna av låglandsvisenten som överlevde den andra flaskhalsen under 1940-talet (Pucek 2004). Y-kromosomen från de övriga två hanarna har försvunnit under avelsprojektet troligen som en följd av slumpen eller dåligt avelsarbete. Uppfödarna hade inte tillgång till alla djur samtidigt då avelsarbetet skedde på flera platser i Europa. Ibland lät man därför närbesläktade individer para sig för att snabbt öka antalet individer. Plebjer fick bland annat kalvar med sina egna döttrar vid ett par tillfällen (Kobrynczuk 1985). Detta gjorde man trots de genetiska problem det medför och troligen grundar det sig i den begränsade kunskapen man hade om genetik. Ytterligare en orsak till den skeva fördelningen kan ligga i det haremsystem som visenten har. När de första djuren släpptes ut kan Plebjer och hans avkomma ha varit mer dominanta än de övriga hanarna. Dessa individer kan då oftare ha parat sig med honorna än de övriga tjurarna och till en högre grad fört sina gener vidare.

Studier på mikrosatelliter, områden i genomet med upprepande, ickekodande sekvenser av nukleotider, pekar på att den genetiska variationen hos låglandsvisenten är låg. Mikrosatelliter har en hög mutationsfrekvens vilket innebär att en population som inte har utsatts för stora genetiska förluster borde ha en hög variation av olika mikrosatelliter. En population med låg variation torde nyligen ha genomgått en flaskhals som den ännu inte har återhämtat sig från (Bennet 2000). Mikrosatelliter används ofta för att uppskatta den genetiska variationen i genomet men huruvida detta är representativt eller ej kan diskuteras. Hos låglandsvisenten finns det i medeltal 2,3 olika alleler hos de satelliter som har studerats (Luenser *et al.* 2005, Tokarska *et al.* 2009b). Ingen förändring i antal har skett sedan 1955, varken åt det negativa eller det positiva hållet (Tokarska *et al.* 2009b). Vidare fanns det hos 18 undersökta mikrosatelliter nio som hade fler än en allel (polymorfa), medan fem stycken hade en allel (monomorfa) (Luenser *et al.* 2005).

Liknande studier har gjorts på områden i genomet där en nukleotid via en mutation har blivit utbytt mot en annan, så kallad singel-nukleotid-polymorfism (SNP) (Sarre & Georges 2009). Hos nära 53 000 olika SNP hittade man i två olika undersökningar 960 respektive 929 som var polymorfa (Tokarska *et al.* 2009a, Pertoldi *et al.* 2010). I medeltal är detta 1,8 % av de identifierade SNP som har mer än en allel. Pertoldi *et al.* (2010) jämförde detta med de två underarterna av amerikansk bison, slättbison (*Bison bison bison*) och skogsbison (*Bison bison athabascae*) som liksom visenten har gått igenom en flaskhals. Hos dessa djur var det 2,6 % respektive 2,9 % av alla SNP som var polymorfa.

Grad av inavel

För att undersöka hur stor graden av inavel är räknade Olech (1987) ut den sammanlagda inavelskoefficienten (F) för låglandsvisenten och låglands-bergsvisent. Denna koefficient används för att undersöka sannolikheten att två alleler har samma ursprung. För den samlade populationen av visenter var detta värde 0,20 vilket är nära det värde på 0,25 som fås när två

helsyskon parar sig med varandra. Detta innebär att sannolikheten att alla individer är genetiskt lika i genomsnitt är 20 %. Variationen mellan individer är dock stor. Bland de 3617 individer som undersöktes visade 255 individer inga tecken på inavel ($F = 0$) medan 71 stycken visade en hög grad av inavel ($F \geq 0,5$; $F_{\max} = 0,65$). Populationen av låglandsvisenter i Bialowieza visade en något högre grad av inavel än genomsnittet ($F = 0,22$).

För att uppskatta frekvensen av heterozygota individer hos låglandsvisenten har man använt olika metoder. Gebczynski och Tomaszewska-Guszkiewicz (1987) samt Hartl och Pucek (1994) beräknar ett medeltal för andelen heterozygota locus som finns. Detta görs med formeln:

$$\sum H / N \text{ där } H = \text{den sammanlagda graden av heterozygositet}$$
$$N = \text{det totala antalet undersökta loci}$$

Gebczynski och Tomaszewska-Guszkiewicz (1987) beräknade detta värde till 0,035 baserat på 20 loci och menar att detta är ett normalt värde då heterozygositeten kan variera mycket mellan olika partåiga hovdjur. De jämför med graden av heterozygositet för den amerikanska bisonoxen som har ett något lägre värde, 0,023 (Baccus *et al.* 1983). Hartl och Pucek (1994) var dock skeptiska till detta resonemang och replikerade studien som Gebczynski och Tomaszewska-Guszkiewicz (1987) gjort men denna gång med 69 loci. Resultatet blev ett tre gånger lägre värde, 0,012.

I modernare rapporter räknar man dock ut den förväntade heterozygositeten för samtliga locus och kalkylerar ett medelvärde utifrån antalet polymorfa loci. I undersökningen av Hartl och Pucek (1994) blev den förväntade heterozygositeten 0,207 medan Tokarska *et al.* (2009b) fann att den var 0,28. Pertoldi *et al.* (2010) räknade ut att heterozygositeten var 0,135 och jämförde det med värden för bisonoxen, 0,199 (slättbison) och 0,197 (skogsbison). Tokarska *et al.* (2009b) räknade ut den effektiva populationsstorleken hos de 71 djur som undersöktes. Resultatet blev att dessa individer hade lika mycket genetiskt material som man kan vänta sig att finna i en population på knappt 22 individer vilket motsvarar 30,7 % av det faktiska antalet djur. Detta tyder på att låglandsvisenten har ett underskott av heterozygota individer vilket troligen är ett resultat av den inavel som har skett.

Inavelsdepression och sjukdomar

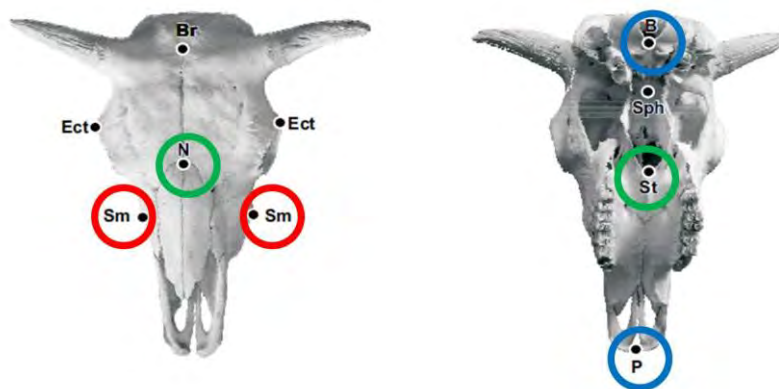
Med den grad av inavel som låglandsvisenten lider av är risken för olika sjukdomar stor. Inavel leder som beskrivet ovan till minskad genetisk variation via genetisk drift och med det ökar även sannolikheten att drabbas av sjukdomar. Genetisk drift kan orsaka att skadliga, recessiva alleler blir vanligare och dessa kan ansamlas i homozygota individer. När fitness hos individerna i en population minskar som en följd av inavel pratar man om att de är drabbade av inavelsdepression. Trots att låglandsvisenten gått igenom en väldigt svår flaskhals finns det inte lika många tecken på inavelsdepression som man kan förvänta sig.

Ett problem som arten som helhet är utsatta för är en försämrad fekunditet, en nedgång i antalet födda kalvar. Slati (1960) jämförde antalet födda kalvar per år hos honor listade i

EBPB från 1932-1954. Det han fann var att skillnaden mellan inavlade och utavlade djur var minimal. Anledningen till detta ligger troligen i att dessa två grupper är ganska lika varandra på grund av den begränsade genetiska variationen. Från 1963 och framåt verkar dock det totala antalet kalvar en hona får under sin livstid minska (Olech 1987). Detta förmodar man dock bero på att det i datasetet finns många unga kor som inte hunnit få några kalvar än. Detta sänker då medelvärdet avsevärt.

Ytterligare något som verkar variera mellan olika år är dödligheten hos kalvar. Fram till 1953 var det lägre dödlighet hos inavlade djur än hos utavlade individer (Slatis 1960). Det han dock inte undersökte var om graden av inavel korrelerar med dödligheten. Detta gjorde Olech (1987) som märkte att dödligheten ökar med graden av inavel från 1963 och framåt. Dessa data bygger direkt på varandra då de är hämtade från samma källa, EBPB. Skillnaden ligger i vad de olika författarna jämför dödligheten med. Gör man en direkt jämförelse mellan mortaliteten och graden av inavel såsom Olech (1987) gjorde kan man enkelt visa hur inaveln påverkar dödligheten och på vilket sätt.

Ytterligare en negativ effekt av den begränsade genetiska variationen är en förminskning av skallbenet (Kobrynczuk 1985, Krasinska *et al.* 2008). Neurokraniet, den del av skallbenet som sträcker sig från övre delen av bakhuvudet till slutet av pannbenet (figur 4), är kortare hos nutida tjurar än individer från 1930-1950 både vad gäller medelvärdet och det maximala värdet (Krasinska *et al.* 2008). Om denna minskning av skallen blir tillräckligt stora riskerar tjurarna allvarliga skador när de stångar varandra under brunsten. Honorna visar tecken på andra skillnader i skallformen. Splanchokraniet, ansiktbenen (figur 4), är signifikant mindre nu, både i bredd och höjd, än vad de var tidigare och blir mindre med en ökad grad av inavel (Kobrynczuk 1985).



Figur 4. Beskrivning av skallbenet hos visenterna. Sm-Sm bredd splanchokranium (röda cirklar); N-St höjd splanchokranium (gröna cirklar); P-B längd neurokranium (blå cirklar). Modifierad efter Krasinska *et al.* (2008).

Immunförsvar

Hos låglandsvisenterna är variationen liten i histokompatibilitetskomplexet (MHC), ett genkomplex bestående av flera gener som är viktiga för immunförsvaret. När en organism angrips av en patogen är det proteiner från MHC-komplexet som hjälper T-cellerna att känna igen och bekämpa de främmande substanserna (Kindt *et al.* 2007). MHC-generna är mycket

polymorfa för att kunna agera mot många olika angrepp. Individerna i populationer med låg diversitet av olika MHC-gener riskerar därmed att insjukna i flera olika sjukdomar då de proteiner som krävs för att motverka dessa saknas.

Låglandsvisenterna i Bialowieza har endast fyra alleler vid ett MHC-locus med beteckningen DRB-3 (Radwan *et al.* 2007). Detta kan jämföras med de 12 alleler som finns hos den amerikanska bisonoxen och de 115 som finns hos nötboskap (Traul *et al.* 2005). Dessa alleler är troligen utsatta för hårt selektivt tryck då det är de individer med de alleler som kan stöta bort de farligaste sjukdomarna som överlever till nästa generation (Radwan *et al.* 2007). Även andra loci i komplexet är allelfattiga, Babik *et al.* (2012) hittade sammanlagt tre haplotyper för MHC-komplexet innehållande sju olika alleler. Den amerikanska bisonoxen har här 29 alleler medan nötboskap har 64 olika alleler.

Att variationen är så låg i DRB-3 pekar på att låglandsvisenterna kan vara känsliga för många olika sjukdomar och parasiter. De fyra alleler som finns kan bara känna igen ett begränsat antal främmande proteiner och kan inte förhindra alla infektioner som kan drabba populationen (Radwan *et al.* 2007). Detta är viktigt att tänka på med tanke på storleken på de hjordar som nu strövar i Bialowieza och framförallt när man stödutfodrar djuren då de kan samlas i enorma mängder runt fodringsplatserna (Pucek 1991).

Nematoden *Ashworthius sidemi* är en relativt ny parasit som etablerat sig i bland annat Polen och Vitryssland på grund av att man introducerade sikahjorten (*Cervus nippon*). Det första exemplaret hittades 1997 (Drozd *et al.* 2003, Demiaszkiewicz *et al.* 2009, Radwan *et al.* 2010). Det är en parasit som sätter sig i löpmagen på idisslande djur där den suger blod och kan orsaka diarré. Kalvar som infekteras kan drabbas av en nedgång i hälsan och riskerar att avlida (Demiaszkiewicz *et al.* 2009). I en undersökning av 110 individer från Bialowieza fann man att 98 % var infekterade med rundmasken och varje djur var infekterade med mellan en och 44 310 maskar (Radwan *et al.* 2010). Detta gör den mycket vanligare än andra parasitmaskar som drabbar låglandsvisenten. Fler djur var infekterade i de områden där bestånden var som tätast vilket visar på en negativ effekt av utfodringen. Drozd *et al.* (2003) upptäckte att låglandsvisenten till högre grad är infekterad av *A. sidemi* än två andra värddjur, rådjur och kronhjort. Dessa var infekterade med 200 respektive 119 maskar medan låglandsvisenten var infekterad med 852-4000 stycken. Denna stora skillnad kan bero på skillnader i den genetiska variationen i MHC-komplexet. Kronhjorten i Polen har troligen en större genetisk variation i MHC-komplexet än låglandsvisenten vilket påvisas av Swarbrick *et al.* (1995) som undersökte kronhjortar från Nya Zeeland och USA.

Balanoposthitis

Balanoposthitis är en sjukdom som drabbar tjurarnas genitalier. De främsta symptomen är olika sorters skador på förhuden såsom tjocka, vätskefyllda svullnader (ödem), ansamlingar av död hud och i vissa fall sterilitet (Pucek 2004). Man vet inte riktigt vad det är som orsakar sjukdomen men man har hittat flera bakterier som orsakar efterkommande infektioner däribland *Mycoplasma bovis genitalium* (Thiede *et al.* 2002), *Fusobacterium necrophorum* (Jakob *et al.* 2000) och *Arcanobacterium* spp. (Lehnen 2006). En patogen som dock kan vara

en av orsakerna till insjuknandet i balanoposthitis hos boskap är bovint herpesvirus 1 (BHV-1) (Wrathall *et al.* 2006). Även hos låglandsvisenten kan detta virus vara involverat men till vilken grad är oklart (Kita & Anusz 1991).

Det framtida arbetet

Det återstår fortfarande mycket arbete innan låglandsvisenten återhämtat sig från flaskhalsen. De stora problem som kvarstår är enligt bevarandeplanen (Pucek 2004):

- Habitatförlust och fragmentering som leder till små och isolerade populationer.
- Fortsatt begränsad genpool kombinerat med ett begränsat genflöde som medför att populationen är fortsatt känslig för nya sjukdomar.
- Entusiasmen och viljan för ett fortsatt bevarandearbete har sjunkit

De huvudsakliga metoderna som fastlades för det fortsatta arbetet var ett fortsatt avelsarbete i djurparker och reservat samt en vidare utveckling av de viltlevande populationerna, främst genom att öka konnektiviteten i landskapet och på så sätt underlätta genflödet mellan de isolerade populationerna.

Det fortsatta avelsarbetet

Det fortsatta arbetet i djurparker och reservat är inte bara viktigt för att föda fram fler individer som man kan plantera ut, det är även viktigt för att föda upp genetiskt viktiga individer. Då man i fångenskap kan påverka vilka djur som parar sig med varandra kan man undvika att djur som är alltför nära släkt med varandra får avkomma och därmed hålla graden av inavel på en låg nivå. Man kan även avla fram individer med gener som är underrepresenterade i de olika populationerna (Pucek 2004). För att underlätta detta arbete föreslår man att internationella uppfödningssentra inrättas. Det är därför viktigt att fortsätta arbetet med släktskapsboken som innehåller information om vilka individer som har vilka gener. De djur som lever i fångenskap fungerar även som en säkerhet om något skulle hända med de utplanterade populationerna (Jonas Elmwall, muntligen).

Man föreslår även att det startas en genbank för att bevara den genetiska variation som finns idag och för att underlätta utbytet av gener mellan de olika isolerade populationerna. Detta kan vara möjligt då det går att samla in sperma från döda tjurar och frysa in dem (Kozdrowski *et al.* 2011). De såg dock att rörligheten hos de upptinade spermierna sjönk drastiskt efter 90 min i 37 °C vilket innebär att de kanske inte klarar av att befrukta ägget. För att öka sannolikheten att lyckas med artificiell insemination behöver den ske nära ägget. Kozdrowski *et al.* (2011) menar dock att mer forskning behövs för att man ska veta exakt var inseminationen bör ske för att maximera chansen för befruktning.

Fortsatt utplantering

Ett fortsatt arbete med att utplantera låglandsvisenter bör medföra att det blir tätare mellan populationerna för att underlätta genflödet. Man behöver hitta lokaler stora nog att hysa en population av låglandsvisenter och som ligger tillräckligt nära andra, redan existerande, populationer så ett effektivt genflöde kan ske. Problematiken här är att det är dyrt att plantera

ut visenter, att flytta et djur kostar 100 000 SEK (Jonas Elmwall muntligen). I dagsläget har det gjorts en del undersökningar angående var man kan introducera nya hjordar men dessa rör för det mesta låglands-bergsvisenten (Perzanowski *et al.* 2004, Kuemmerle *et al.* 2011a, Ziolkowska *et al.* 2012). De mest ideala områdena ligger i östra och centrala Europa däribland de Karpatiska bergen där det finns flera, närliggande lokaler där man kan introducera låglands-bergsvisenten (Kuemmerle *et al.* 2011a, Kuemmerle *et al.* 2011b, Ziolkowska *et al.* 2012).

När man planterar ut djur är det flera faktorer man behöver ta hänsyn till, en av de främsta är konfliktrisken med människan. Det är inte ovanligt att visenter går ut på odlade fält där de kan orsaka signifikanta skador. Mellan åren 2000-2008 registrerades det i Polen 1083 fall av betes- och trampsador på grödor som orsakades av visenter (Hofman-Kaminska & Kowalczyk 2012). Som ersättning betalades det ut motsvarande 1 653 145 SEK till de polska bönderna. Detta är dock inga stora belopp om man jämför med de 4 240 000 SEK som 2011 betalades ut till svenska bönder som fått grödor förstörda av betande fåglar (Karlsson *et al.* 2012). Antalet skador verkar dock öka då 46 % av det totala beloppet utbetalades 2010 (762 044 SEK).

Det finns få högkvalitativa habitat i närheten av odlingslandskap men tittar man på andra potentiella konflikter mellan visent och människa finner man att de bäst lämpade habitatet finns i områden där någon slags konflikt återfinns, exempelvis med boskapsskötsel (Kuemmerle *et al.* 2011b). Tamboskap och visenter nyttjar gärna liknande habitat vilket betyder att det kan bli svårt att introducera visenter där det finns en etablerad boskapsskötsel. De habitat som är bäst lämpade för bete blir ofta inhägnade till förmån för boskap vilket gör området sämre för visenten som då inte har tillgång till dessa marker. Det förekommer även att visenter attackerar tamdjur även om det är ovanligt. Hofman-Kaminska & Kowalczyk (2012) observerades fyra fall där visenter hade dödat tamdjur, två hundar, en häst och ett nötkreatur. Den skadan som orsakas på lantnäringen kan leda till en negativ syn på visenten och en motvilja mot projektet att återintroducera dem likt den attityd som finns mot de stora rovdjuren i bland annat Sverige.

Diskussion

Trots att alla individer i genomsnitt är väldigt lika varandra genetiskt och att antalet alleler för många loci är kritiskt låga verkar låglandsvisenterna inte lida av många allvarliga depressiva effekter. Nedgången i fekunditet och den ökade dödligheten hos kalvar är båda effekter som uppmärksammades hos de låglandsvisenter som levde under den första delen av återintroduceringsprojektet. På senare tid har inga undersökningar gjorts på detta vilket medför att det inte går att säga hur det ser ut nu. Problemen med det försvagade immunförsvaret är inte i nuläget ett allvarligt problem då de lever i en stabil miljö och, med få undantag, verkar vara motståndskraftiga mot de existerande patogener som finns. I framtiden kan dock problemen bli allvarligare om nya patogener skulle drabba djuren. Detta är speciellt viktigt att tänka på om stödutfordringen fortsätter eftersom djuren vintertid samlas i stora antal runt dessa platser och risken för att patogener sprids är överhängande. Om detta ska

fortsätta bör man överväga att kanske ha flera platser där man stödutfodrar djuren för att minska risken för sjukdomsspridning.

Att inte fler negativa effekter har märkts kan vara på grund av att flaskhalsen orsakade en rening (purging) vilket innebär att skadliga, recessiva alleler försvann eller blev extremt ovanliga som en följd av att de individer som bar på dessa genvarianter dog (Hedrick & Kalinowski 2000). Om detta har skett förutsätter det att de sju individerna av låglandsvisent som användes i avelsprojektet inte hade några skadliga alleler eller endast ett litet antal. Detta antagande är speciellt viktigt med tanke på de två individer som tillsammans har bidragit med cirka 80 % av den genetiska diversitet vi ser i dagens djur. Om dessa individer hade haft några skadliga alleler skulle det ha märkts i dagens populationer då de i sådana fall hade visat tecken på skador från detta. Det är visserligen möjligt att Plebjer, den hane varifrån över 50 % av den genetiska variationen i dagens individer kommer från var känslig mot balanoposthitis vilket om så är fallet förklarar varför denna sjukdom blir vanligare.

Ytterligare en anledning till varför man inte har sett några fler depressiva effekter hos låglandsvisenten kan vara det habitat de lever i. Om de biotoper de lever i är stabila kommer djuren inte behöva anpassa sig och selektionen kommer inte vara lika tydlig som om de hade levt i habitat som var mer föränderliga. En hög genetisk variation är viktigt när det sker en miljöförändring. Ju större variation desto större är sannolikheten att det finns individer som kan överleva och fortplanta sig i den nya miljön. Den nya parasiten *A. sidemi* är exempel på en miljöförändring som skett för låglandsvisenten. Att man har hittat så många som 44 000 individer av denna nematod i en infekterad låglandsvisent tyder på att dessa djur inte har något försvar mot dem. Om den genetiska variationen hade varit större hade låglandsvisenten kanske varit infekterade till mindre grad än vad de är idag.

Ökade förbindelser mellan populationer

Då dagens populationer är isolerade från varandra anser jag att man bör lägga fokus på att binda ihop dessa med varandra. Detta kan göras dels genom att etablera marginalpopulationer som beskrivet ovan, dels genom att anlägga korridorer som underlättar för individer att röra sig mellan olika fragment. Detta är ingenting som tas upp i den aktuella bevarandeplanen (Pucek 2004) men det kan vara en lösning. Det råder dock viss oenighet om huruvida korridorer fungerar eller inte så man bör därför först anlägga ett antal korridorer för att se om dessa skulle nyttjas av låglandsvisenten. Det finns rapporter som tyder på att korridorer underlättar migration för de flesta taxa (Gilbert-Norton *et al.* 2010) vilket innebär att det inte är omöjligt att dem kan användas för att binda samman populationer.

Flera hjordar i Ukraina är helt isolerade och Perzanowski *et al.* (2004) anser att den enda lösningen för att förhindra inavel hos dessa är att regelbundet förse dem med individer utifrån. Dessa hjordar är så kallade sänkppopulationer (sink) där populationstillväxten är negativ. För att dessa populationer ska kvarstå krävs ett ständigt inflöde av individer från en källpopulation (source) (Pulliam 1988). Att regelbundet flytta djur till ett område som detta skulle kosta mycket pengar och är endast en kortsiktig lösning. För att den långsiktigt ska kunna kvarstå

krävs att den kopplas samman med andra populationer så en naturlig förflyttning av individer kan ske.

Att etablera fler lokala populationer för att underlätta genflödet är ett av de viktigaste stegen för att uppnå gynnsam bevarandestatus för låglandsvisenten. Allteftersom olika GIS-program utvecklas och tillgången till högupplösta flyg- och satellitbilder ökar blir det enklare att hitta områden som lämpar sig för en eller flera hjordar. När man introducerar dessa marginalpopulationer är det dock flera saker som är viktiga att tänka på. Dels måste de ligga tillräckligt nära redan etablerade populationer så att ett genflöde kan ske, dels bör man vara medveten om eventuella konflikter med lantnäringen. Om skadorna på åkermark fortsätter att öka finns det risk för motsättningar till bevarandearbetet vilket avsevärt kan försvåra projektet. Man behöver även noga räkna ut hur stora områden en livskraftig population behöver för att kunna kvarstå. Om man planterar ut ett antal djur i ett fragment som är för litet för att hålla en livskraftig population kommer man endast skapa ytterligare en sänkpolygon (Kramer-Schadt *et al.* 2011).

Slutsats

För att låglandsvisenten även framöver ska finnas i Europa krävs det att dagens isolerade populationer knyts samman så ett effektivt genutbyte kan ske. För att detta ska kunna bli möjligt behövs ett bra samarbete mellan bevarandeprojektet och regeringarna i de berörda länderna. Ett effektivt samarbete mellan de olika länderna är nödvändigt för att uppnå hållbar bevarandestatus. Som det ser ut nu krävs mycket resurser för att dels introducera individer till nya områden och dels för att förstärka existerande populationer. Det behövs även mer forskning kring olika metoder för att binda samman de populationer som finns idag för att se vad som går och inte går att göra. De existerande habitaten måste även förvaltas för att undvika att de krymper ytterligare. Som det ser ut nu finns det risk att inaveln kommer öka i de lokala populationerna om inga nya gener introduceras vilket kan leda till allvarigare konsekvenser än de vi ser idag.

Tack

Ett stort tack riktas till mina medstudenter Piotr Rowinski och Daniel Holm för deras återkoppling på denna text. Även Katariina Kiviniemi Birgersson tackas för bra handledning och idéer på hur arbetet kunde utvecklas. Slutligen tackar jag Jonas Elmwall, viltvårdare vid Taxinge Säteri som lät mig fotografera deras låglands-bergsvisenter.

Referenser

- Baccus R, Ryman N, Smith M, Reuterwall C, Cameron D. 1983. Genetic variability and differentiation of large grazing mammals. *Journal of mammology* **64**: 109-120.
- Babik W, Kawalko A, Wojcik J, Radwan J. 2012. Low major histocompatibility complex class I (MHC I) variation in the European bison (*Bison bonasus*). *Journal of heredity* **103**: 349–359.

- Ballou J, Ralls K. 1982. Inbreeding and juvenile mortality in small populations of ungulates: A detailed analysis. *Biological conservation* **24**: 239-272.
- Benecke N. 2005. The Holocene distribution of European bison– the archaeozoological record. *Munibe* **57**: 421 – 428.
- Bennet P. 2000. Mikrosatellites. *Journal of clinical pathology – molecular pathology* **53**: 177-183.
- Bennet A, Saunders D. 2010. Habitat fragmentation and landscape change. I: Sodhi N, Ehrlich P (red.). *Conservation biology for all*. ss. 88-104. Oxford University Press. New York.
- Demiaszkiewicz A, Lachowicz J, Osńska B. 2009. *Ashworthius sidemi* (Nematoda, Trichostrongylidae) in wild ruminants in Bialowieza Forest. *Polish journal of veterinary sciences* **12**: 385-288.
- Drozd J, Demiaszkiewicz A, Lachowicz, J. 2003. Expansion of the Asiatic parasite *Ashworthius sidemi* (Nematoda, Trichostrongylidae) in wild ruminants in Polish territory. *Parasitology research* **89**: 94–97.
- EU. 1992. Council Directive 92/43/EEC of 21 May 1992 on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora. *Europeiska gemenskapens officiella tidning* **15**.
- European Bison Conservation Center. 2012. WWW-dokument: http://www.bison-ebcc.eu/bison_data_2011.pdf. Hämtad 2012-12-04.
- Frankham R. 1995. Inbreeding and extinction – a threshold effect. *Conservation biology* **9**: 792-799.
- Frankham R. 2005. Genetics and extinction. *Biological conservation* **126**: 131-140
- Gebczynski M, Tomaszewska-Guszkiewicz K. 1987. Genetic variability in the European bison. *Biochemical systematics and ecology* **15**: 285-288.
- Ghosh A, Meirmans P, Haccou P. 2012. Quantifying introgression risk with realistic population genetics. *Proceedings of the royal society biological sciences* **279**: 4747-4754.
- Gillbert-Norton L, Wilson R, Stevens J, Beard K. 2010. A meta-analytic review of corridor effectiveness. *Conservation biology* **24**: 660-668.
- Hartl G, Pucek Z. 1994. Genetic depletion in the European bison (*Bison bonasus*) and the significance of electrophoretic heterozygosity for conservation. *Conservation biology* **8**: 167-174.
- Hedrick P, Kalinowski S. 2000. Inbreeding depression in conservation biology. *Annual review of ecology and systematics* **31**: 139-162.
- Hofman-Kaminska E, Kowalczyk R. 2012. Farm Crops Depredation by European Bison (*Bison bonasus*) in the Vicinity of Forest Habitats in Northeastern Poland. *Environmental management* **50**: 530–541.
- Ingvarsson P. 2001. Restoration of genetic variation lost – the genetic rescue hypothesis. *Trends in ecology and evolution* **16**: 62-63.
- Jakob W, Schröder H-D, Rudolph M, Krasinski Z, Krasinska M, Wolf O, Lange A, Cooper J, Frölich K. 2000. Necrobacillos in free-living male European bison in Poland. *Journal of wildlife diseases* **36**: 248-256.
- Jedrzejewska B, Jedrzejewski W, Bunevich A, Milkowski L, Krasinski Z. 1997. Factors shaping population densities and increase rates of ungulates in Bialowieza primeval forest (Poland and Belarus) in the 19th and 20th centuries. *Acta therologica* **42**: 399-451.

- Karlsson J, Danell A, Månsson J, Svensson L. 2012. Viltskadestatistik 2011. Viltskadecenter.
- Kerley G, Kowalczyk R, Crooms P. 2012. Conservation implications of the refugee species concept and the European bison: king of the forest or refugee in a marginal habitat? *Ecography* **35**: 519-529.
- Kindt T, Goldsby R, Osborne B, Kuby J. 2007. *Immunology*. W. H. Freeman and Company. New York. 189.
- Kita J, Anusz K. 1991. Serologic survey for bovine pathogens in free-ranging European bison from Poland. *Journal of wildlife diseases* **27**: 16-20.
- Kozdrowski R, Nizanski W, Dubiel A, Olech W. 2011. Possibilities of using the European bison (*Bison bonasus*) epididymal spermatozoa collected post-mortem for cryopreservation and artificial insemination: a pilot study. *Reproductive biology and endocrinology* **9**:31.
- Kobrynczuk F. 1985. The influence of inbreeding on the shape and size of the skeleton of the European bison. *Acta theriologica* **30**: 379-422.
- Kramer-Schadt S, Kaiser T, Frank K, Wiegand T. 2011. Analyzing the effect of stepping stones on target patch colonization in structured landscapes for Eurasian lynx. *Landscape ecology* **26**: 501-513.
- Krasinska M, Cabon-Raczynska K, Krasinski Z. 1987. Strategy of habitat utilization by european bison in the Bialowieza forest. *Acta theriologica* **32**: 147-202.
- Krasinska M, Krasinski Z. 1995. Composition, group size and spatial distribution of European bison bulls in Bialowieza forest. *Acta therologica* **40**: 1-21.
- Krasinska M, Szuma E, Kobrynczuk F, Szara T. 2008. Morphometric variation of the skull during postnatal development in the Lowland European bison *Bison bonasus bonasus*. *Acta theriologica* **53**: 193–216.
- Kuemmerle T, Perzanowski K, Akcakaya H, Beaudry F, Van Deelen T, Parnikoza I, Khoyetskyy P, Waller D, Radeloff V. 2011a. Cost-effectiveness of strategies to establish a European bison metapopulation in the Carpathians. *Journal of applied ecology* **48**: 317–329.
- Kuemmerle T, Radeloff V, Perzanowski K, Kozlo P, Sipko T, Khoyetskyy P, Bashta A-T, Chikurova E, Parnikoza I, Baskin L, Angelstam P, Waller D. 2011b. Predicting potential European bison habitat across its former range. *Ecological applications* **21**: 830–843.
- Large herbivore foundation. 2007. LHF & the European bison species action plan. Large herbivore foundation. Strasbourg.
- Large herbivore network. 2012. Wisent, European bison. WWW-dokument: <http://www.lhnet.org/wisent-european-bison/>. Large Herbivore Network. Hämtad 2012-11-12.
- Larson S, Jameson R, Etnier M, Fleming M, Bentzen P. 2002. Loss of genetic diversity in sea otters (*Enhydra lutris*) associated with the fur trade of the 18th and 19th centuries. *Molecular ecology* **11**: 1899-1903.
- Laurance W. 2010. Habitat destruction: death by a thousand cuts. I: Sodhi N, Ehrlich P (red.). *Conservation biology for all*. s. 73. Oxford University Press. New York.
- Lehnen A, Busse H-J, Frölich K, Krasinska M, Kämpfer P, Speck S. 2006. *Arcanobacterium bialowiezense* sp. nov. and *Arcanobacterium bonasi* sp. nov., isolated from the prepuce of European bison bulls (*Bison bonasus*) suffering from balanoposthitis, and emended description of the genus *Arcanobacterium* Collins *et al.* 1983. *International journal of*

- systematic and evolutionary microbiology **56**: 861–866.
- Luenser K, Fickel J, Lehnen A, Speck S, Ludwig A. 2005. Low level of genetic variability in European bison (*Bison bonasus*) from the Bialowieza National Park in Poland. *European journal of wildlife research* **51**: 84-87.
- Miyamoto M, Tanhauser S, Laipis P. 1989. Systematic relationships in the Artiodactyl tribe Bovini (Family Bovidae), as determined from mitochondrial DNA sequences. *Systematic zoology* **38**: 342-349.
- Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* **29**: 1-10.
- Nowak R. 1999. Walker's Mammals of the World volym 2. Sjätte upplagan. Johns Hopkins University Press. Baltimore.
- O'Grady J, Brook B, Reed D, Ballou J, Tonkyn D, Frankham R. 2006. Realistic levels of inbreeding depression strongly affect extinction risk in wild populations. *Biological conservation* **133**: 42-51.
- Olech W. 1987. Analysis of inbreeding in European bison. *Acta theriologica* **32**: 373-387.
- Olech W. 2008. *Bison bonasus*. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. WWW-dokument: <http://www.iucnredlist.org/details/2814/0>. Hämtad 2012-12-04.
- Pavlik I, Machackova M, Ayele W, Lamka J, Parmova I, Melicharek I, Hanzlikova M, Körmendy B, Nagy G, Cvetnic Z, Ocepek M, Lipiec M. 2002. Incidence of bovine tuberculosis in wild and domestic animals other than cattle in six Central European countries during 1990–1999. *Veterinarni medicina* **47**: 122-131.
- Pertoldi C, Wojcik J, Tokarska M, Kawalko A, Kristensen T, Loeschke V, Gregersen V, Coltman D, Wilson G, Randi E, Henryon M, Bendixen C. 2010. Genome variability in European and American bison detected using the BovineSNP50 BeadChip. *Conservation genetics* **11**: 627-634.
- Perzanowski K, Olech W, Kozak I. 2004. Constraint for establishing a meta-population of the European bison in Ukraine. *Biological conservation* **120**: 345-353.
- Pucek, Z. 1991. History of the European bison and problems of its protection and management: I: Bobek B, Perzanowski K, Regelin W (red.). *Global trends in wildlife management volym 1*, ss.19-39. 18th IUGB Congress, Jagellonian University, Krakow.
- Pucek Z (red.). 2004. Status survey and conservation action plan: European bison. IUCN/SSC Bison specialist group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- Pulliam H. 1988. Sources, sinks and population regulation. *The American naturalist* **132**: 652-661.
- Raczyński J, Bolbot M (red.). 2009. European bison pedigree book in history and today. Drukarnia Chroma. Bialowieza.
- Radwan J, Kawalko A, Wojcik J, Babik W. 2007. MHC-DRB3 variation in a free-living-population of the European bison, *Bison bonasus*. *Molecular ecology* **16**: 531–540.
- Radwan J, Demiaszkiewicz A, Kowalczyk R, Lachowicz J, Kawalko A, Wojcik J, Pyziel A, Babik W. 2010. An evaluation of two potential risk factors, MHC diversity and host density, for infection by an invasive nematode *Ashworthius sidemi* in endangered European bison (*Bison bonasus*). *Biological conservation* **143**: 2049-2053.
- Rautian G, Kalabushkin B, Nemtsey A. 2000. A New Subspecies of the European Bison,

- Bison bonasus montanus* ssp. nov. (Bovidae, Artiodactyla). Doklady biological sciences **375**: 636-640.
- Reed D, Frankham R. 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. Conservation biology **17**: 230-237.
- Roth T, Pfeiffer I, Weising K, Brenig B. 2006 Application of bovine microsatellite markers for genetic diversity analysis of European bison (*Bison bonasus*). Journal of animal breeding and genetics **123**: 406-409.
- Saccheri I, Kuusaari M, Kankare M, Vikman P, Fortelius W, Hanski I. 1998. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. Nature **392**: 491-494.
- Sarre S, Georges A. 2009. Genetics in conservation and wildlife management: a revolution since Caughley. Wildlife research **36**: 70-80.
- Slatis H. 1960. An analysis of inbreeding in the European bison. Genetics **45**: 275-287.
- Swarbrick P, Schwaiger F-W, Epplen J, Buchan G, Griffin J, Crawford A. 1995. Cloning and sequencing of expressed DRB genes of the red deer (*Cervus elaphus*) Mhc. Immunogenetics **42**: 1-9.
- Thiede S, Spargser J, Rosengarten R, Jakob W, Streich W, Krasinska M, Frölich K. 2002. Antibodies against *Mycoplasma bovis* in Free-living European Bison (*Bison bonasus*) with Balanoposthitis. Journal of wildlife diseases **38**: 760-763.
- Tokarska M, Marshall T, Kowalczyk R, Wojcik J, Pertoldi C, Kristensen T, Loeschcke V, Gregersen V, Bendixen C. 2009a. Effectiveness of microsatellite and SNP markers for parentage and identity analysis in species with low genetic diversity: the case of European bison. Heredity **103**: 326-332.
- Tokarska M, Kawalko A, Wojcik J, Pertoldi C. 2009b. Genetic variability in the European bison (*Bison bonasus*) population from Białowieża forest over 50 years. Biological journal of the Linnean society **97**: 801-809.
- Traul D, Bhushan B, Eldridge J, Crawford T, Li H, Davies C. 2005. Characterization of *Bison bison* major histocompatibility complex class IIa haplotypes. Immunogenetics **57**: 845-854.
- Vilà C, Sundqvist A-K, Flagstad Ø, Seddon J, Björnerfeldt S, Kojola I, Casulli A, Sand H, Wabakken P, Ellergren H. 2003. Rescue of a severely bottlenecked wolf (*Canis lupus*) population by a single immigrant. Proceedings of the royal society: biological sciences **270**: 91-97.
- Wilson E, Mittermeier R. (red.). 2011. Handbook of the mammals of the world - Volume 2. Lynx Ediciones. Barcelona. 677.
- Wojcik J, Kawalko A, Tokarska M, Jaarola M, Vallenback P, Pertoldi C. 2009. Post-bottleneck mtDNA diversity in a free-living population of European bison: implications for conservation. Journal of zoology **277**: 81-87.
- Wrathall A, Simmons H, van Soom A. 2006. Evaluation of risks of viral transmission to recipients of bovine embryos arising from fertilisation with virus-infected semen. Theriogenology **65**: 247-274.
- Ziółkowska E, Ostapowicz K, Kuemmerle T, Perzanowski K, Radeloff V, Kozak J. 2012. Potential habitat connectivity of European bison (*Bison bonasus*) in the Carpathians. Biological conservation **146**: 188-196.