



EN DNA-BASERET UNDERSØGELSE AF FØDEVALG HOS KRONDYR I KLELUND DYREHAVE

Undersøgelse af den rumlige og tidsmæssige variation i krondyrenes fødevalg

Videnskabelig rapport fra DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi

nr. 190

2016



AARHUS
UNIVERSITET

DCE – NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

[Tom side]

EN DNA-BASERET UNDERSØGELSE AF FØDEVALG HOS KRONDYR I KLELUND DYREHAVE

Undersøgelse af den rumlige og tidsmæssige variation i krondyrenes fødevalg

Videnskabelig rapport fra DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi

nr. 190

2016

Camilla Fløjgaard¹

Lars Haugaard¹

Marta de Barba²

Pierre Taberlet²

Rasmus Ejrnæs¹

¹Institut for Bioscience, Aarhus Universitet

²Centre National de la Recherche Scientifique, Laboratoire d'Ecologie Alpine (LECA), France



AARHUS
UNIVERSITET

DCE – NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

Datablad

Serietitel og nummer: Videnskabelig rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi nr. 190

Titel: En DNA-baseret undersøgelse af fødevalg hos krondyr i Klelund Dyrehave
Undertitel: Undersøgelse af den rumlige og tidsmæssige variation i krondyrenes fødevalg

Forfattere: Camilla Fløjgaard¹, Lars Haugaard¹, Marta de Barba², Pierre Taberlet² & Rasmus Ejrnæs¹
Institutioner: ¹Aarhus Universitet, Institut for Bioscience & ²Centre National de la Recherche Scientifique, Laboratoire d'Ecologie Alpine (LECA), France

Udgiver: Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi ©
URL: <http://dce.au.dk>

Udgivelsesår: September 2016
Redaktion afsluttet: Juni 2016
Redaktion: Tommy Asferg
Faglig kommentering: Peter Sunde
Kvalitetssikring, DCE: Jesper R. Fredshavn

Finansiel støtte: Klelund Dyrehave

Bedes citeret: Fløjgaard, C., Haugaard, L., de Barba, M., Taberlet, P. & Ejrnæs, R. 2016. Fødevalg hos krondyr i Klelund Dyrehave. Undersøgelse af den rumlige og tidsmæssige variation i krondyrenes fødevalg. Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi, 60 s. - Videnskabelig rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi nr. 190
<http://dce2.au.dk/pub/SR190.pdf>

Gengivelse tilladt med tydelig kildeangivelse

Sammenfatning: Her undersøges fødesammensætningen, estimeret ved andel af eDNA-sekvenser i ekskrementet, af krondyr i Klelund Dyrehave, en dyrehave med biodiversitetsforvaltning som formål, og i kulturlandskabet udenfor dyrehaven. Vi undersøger også fødekvaliteten, estimeret ved kvælstofindholdet i ekskrementer. I et mindre deldatasæt fra jagtsæsonen ser vi på sammenhængen mellem den størrelses-korrigerede vægt og dyrenes køn, alder, og fødens sammensætning og -kvalitet. Vi diskuterer resultaterne relevans for forvaltningen, herunder betydningen af tilskudsfodring og hegn for krondyrenes effekter på naturarealerne.

Emneord: *Cervus elaphus*, krondyr, kronhjort, rewilding, fødevalg, nøgleart, tilskudsfodring, rådyr, naturgenopretning, naturforvaltning, naturpleje

Layout: Grafisk Værksted, AU Silkeborg
Foto forside: Michael Sand
ISBN: 978-87-7156-213-2
ISSN (elektronisk): 2244-9981

Sideantal: 60

Internetversion: Rapporten er tilgængelig i elektronisk format (pdf) som
<http://dce2.au.dk/pub/SR190.pdf>

Indhold

1	Forord	5
2	Sammenfatning	6
3	Summary	8
4	Baggrund og formål	9
4.1	Krondyrenes føde	12
4.2	Krondyrenes fødevalg og individets kondition	13
4.3	Krondyrenes effekter på økosystemerne	14
5	Materialer og metoder	16
5.1	Klelund Dyrehave	16
5.2	GPS-mærkning af krondyr	16
5.3	Indsamling af prøver fra ekskrementer	18
5.4	DNA-analyser	19
5.5	Kvælstofindholdet i ekskrementer og fødekvaliteten	20
5.6	Nedlagte dyrs kondition	21
5.7	Tilskudsfoder	22
5.8	Statistiske analyser	23
6	Resultater	24
6.1	Habitatselektion i dyrehaven	24
6.2	Rumlig og tidslig variation i fødevalg	26
6.3	Kvælstofindholdet i ekskrement og fødekvaliteten	31
6.4	Krondyrenes fødevalg og individets kondition	32
6.5	Tilskudsfoder	34
6.6	Krondyrenes fødevalg udenfor hegn	36
6.7	Rådyrene i Klelund Dyrehave	37
7	Konklusioner og perspektivering	39
7.1	Krondyrenes habitatselektion og fødevalg	39
7.2	Krondyrenes fødevalg og individets kondition	40
7.3	Betydningen af tilskudsfoder	40
7.4	Hegnets effekt på græsningen af naturarealer	41
7.5	Rådyrene i Klelund Dyrehave	42
8	Referencer	43
9	Appendiks 1: DNA-barcoding	48
10	Appendiks 2: Yderligere resultater	51

[Tom side]

1 Forord

Projektet er udført af postdoc Camilla Fløjgaard i samarbejde med skov- og landskabsingeniør Lars Haugaard under vejledning af seniorforsker Rasmus Ejrnæs. Desuden har seniorforskere Peter Sunde og Liselotte Wesley Andersen, professor Jens-Christian Svenning og ph.d.-studerende Pil Birkefeldt Pedersen fra Institut for Bioscience, Aarhus Universitet bidraget med værdifuld viden og vejledning undervejs. DNA-analyserne er udført af postdoc Marta De Barba under vejledning af forskningschef Pierre Taberlet fra Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Laboratoire d'Ecologie Alpine (LECA) i Grenoble, Frankrig. Vi er meget taknemmelige for økonomisk støtte til projektet fra Klelund Dyrehave. Også en stor tak til Steffen Rytter Bengtsson fra Faunaforst for mange værdifulde input og til Michael Vissing Rasmussen, driftsleder og skytte i Klelund Dyrehave, for at dele sin viden om dyrehavens dyr og for det store arbejde med indsamling af prøver og data fra de nedlagte dyr.

2 Sammenfatning

Langt de fleste målsætninger og motivationer i krondyrforvaltningen i Danmark relateres til jagtinteresser og skader på afgrøder og beplantninger. I dette projekt ser vi nærmere på forvaltningen af vores største hjemmehørende planteæder, krondyret, som en nøgleart i en helhedsorienteret naturforvaltning i Klelund Dyrehave, et hegnet naturområde med biodiversitet som formål. GPS-mærkede dyr har bidraget med et indblik i krondyrenes præference for de forskellige habitattyper i dyrehaven. Vi har undersøgt den tidslige og rumlige variation i dyrenes fødesammensætning ved at bruge DNA-metabarcoding til at identificere planterester i dyrenes ekskrement. Fødekvantiteten er estimeret ud fra kvælstofindholdet i dyrenes ekskrement. Fødesammensætningen og -kvaliteten er både undersøgt indenfor og udenfor hegnet. I et mindre delprojekt for jagtsæsonen har vi undersøgt sammenhængen mellem dyrenes størrelseskorrigerede vægt (kondition) og dyrenes køn, alder, fødesammensætning og -kvalitet.

Årstidsvariationen i krondyrenes præference for forskellige habitater stemmer overens med deres fødevalg. Nål, græs og lyng udgør de hyppigste fødeemner om vinteren, hvor tilskudsfoder i form af wrapphø og hel havre må forventes at bidrage betydeligt til andelen af græssekvenser i prøverne, og dette understøttes også af den særligt høje præference for foderpladserne i samme periode. I løbet af sommeren stiger andelen af sekvenser fra urter og løv, mens andelen af nål falder. Resultaterne viser et stort overlap i fødesammensætningen mellem krondyrene indenfor og udenfor hegnet, men også en del forskelle. Udenfor hegnet æder dyrene mindre gran, lyng, siv og halvgræs, men æder til gengæld bl.a. bede. Der er også stor forskel i kvælstofindholdet. Ekskrement udenfor hegnet indeholder signifikant større mængder kvælstof end indenfor hegnet, hvilket tyder på en mere næringsrig føde udenfor hegnet.

Datasættet for jagtsæsonen viste, at krondyrenes vægt som forventet var positivt korreleret med kanonbenets længde, men derudover var også kvælstofindholdet og fødesammensætningen vigtig for spidshjortene og fødesammensætningen var vigtig for hjortene >2 år. For hinderne var sammenhængen mindre entydig end for hjortene, da ingen af de målte variable var signifikante.

Tilskudsfodringen har en stor betydning for græsningseffekten af krondyrene i dyrehaven. Et fravær af tilskudsfoderet vil sandsynligvis øge krondyrenes indtag af lyng, som allerede er et hyppigt fødeemne om vinteren, og det vil sandsynligvis bidrage til foryngelse lyngen og reducere tilgroningen på heden. Desuden vil krondyrene sandsynligvis indtage mere af de fødekilder, vi kan se, at dyrene allerede benytter sig af om vinteren, dvs. græs og nål. Det ville antageligt efterlade en del af de lysåbne økosystemer med tydeligere effekter af græsning. Tilskudsfoderet har også betydning for dyrevelfærd i dyrehaven i og med at fodringen antageligt er med til at mindske vinterdødeligheden betydeligt. Det er ikke usandsynligt, at man vil kunne forvalte uden tilskudsfoder med den nuværende bestandsstørrelse og regulering samt en yderligere konvertering af plantage til lysåben natur uden at øge vinterdødeligheden, om end en sådan forvaltning ville drage nytte af muligheden for at regulere bestanden udenfor jagtsæsonen, hvis det vurderes nødvendigt ud fra et dyrevelfærdssynspunkt.

Afgrøder er både energi- og næringsrige, og derfor vil krondyr, der færdes frit i landskabet, benytte sig af afgrøderne som føderessource. Vi kan se, at hegnet har en udtalt effekt både på sammensætningen af føden og på kvælstofindholdet i føden. Ved en højere tæthed af krondyr og en mere naturlig fødevalg må krondyrenes natureffekter, som fx at bidrage til at holde de lysåbne naturtyper fri for tilgroning og foryngelse af lyngen, være mere udprægede indenfor hegnet end udenfor. Men ved store tætheder af krondyr i landskabet opstår der ofte udprægede konflikter med andre arealanvendelser, fx landbrug, skovbrug og trafik. Hegnet er således en forudsætning for at sikre disse økosystemeffekter af krondyr i et kulturlandskab med mange forskellige arealanvendelser.

3 Summary

We investigate the composition of red deer diet, estimated as percent DNA-sequences in their feces, in a fenced nature area with biodiversity conservation as management goal. We also estimate the diet quality by the Nitrogen content in the feces. We compare these results to red deer outside the fence with access to a typical cultural landscape dominated by agriculture. For the hunting season, availability of data from individual animals enabled us to investigate the relationship between the red deer size-corrected weight and age, sex, diet composition and quality. We discuss our findings in relation to the management of deer in the deer park, but also more general, including the effects of supplementary feeding and fencing on the impact of red deer grazing in nature areas.

4 Baggrund og formål

Overalt i Europa er de store vilde pattedyr i fremgang. I Europa er der ca. 2,5 mio krondyr, og krondyr er dermed den af de vilde arter, der har den største samlede biomasse i Europa (Deinet m.fl. 2013). Også i Danmark er krondyrene i fremgang, og der er nu en bestand på ca. 21.000 dyr (Flinterup 2013). Krondyr er højt værdsatte mål for jagten, men skaber også konflikter med fx landbrug og skovbrug. Det er derfor heller ikke så underligt, at langt de fleste målsætninger og motivationer i krondyrforvaltningen i Danmark relateres til jagtinteresser og skader på afgrøder og beplantninger (Apollonio m.fl. 2010).

Samtidig er der også en øget forståelse for og værdsættelse af de store planteædere som vigtige elementer, der skaber dynamiske forstyrrelser og mangfoldighed i europæiske økosystemer (Danell 2006). De seneste palæoøkologiske undersøgelser peger på, at det forhistoriske europæiske landskab var karakteriseret af en stor mangfoldighed i vegetationen og lysåben skov med en høj diversitet af store planteædere (Vera m.fl. 2006, Sandom m.fl. 2014). Denne baseline for vores økosystemer bruges i særdeleshed som videnskabeligt argument for *rewilding*, en ny naturbeskyttelsesstrategi, der fokuserer på genudsætning af nøglearter for at gendanne selvforvaltende og mangfoldige økosystemer (Sandom m.fl. 2013). Rewilding leder tankerne hen på udsættelsesprojekter som fx Europæisk bison på Bornholm, vildheste på Langeland og sågar elefanter i den danske natur. Men måske det var mere nærliggende at se nærmere på forvaltningen af vores største hjemmehørende planteæder, krondyret, som en nøgleart i en helhedsorienteret naturforvaltning af vores økosystemer og ikke kun som jagtbart eller skadevoldende vildt.

Krondyrene udfører primært deres effekt på økosystemerne igennem deres fouragering. Første skridt for at opnå en økosystemeffekt er derfor at opretholde et passende højt og varierende græsningstryk i naturområderne. Der er en helt klar konflikt mellem ønsket om at opretholde et højt græsningstryk på forholdsvis næringsfattige naturområder og at undgå, at dyrene æder næringsrige afgrøder, som er til rådighed stort set overalt i vort landskab. Her kan hegn være en god løsning, hvorved et højt græsningstryk på naturområderne opretholdes, mens omkringliggende marker og skove skånes (Figur 4.1).

Figur 4.1. Hegn bruges i større eller mindre udstrækning i vildtforvaltningen typisk for at mindske konflikterne mellem vildt og landbrug, her ved Rold Skov som afværgehegn omkring marken mod vildtet fra skoven sammen med en taktisk placeret næringsrig fodermark i skovbrynet. (Foto: Rasmus Ejrnæs).



Klelund Dyrehave (på grænsen mellem Vejen og Varde Kommune) er en såkaldt biodiversitetsdyrehave (Miljøministeriet, Vejledning om Skovloven, Bilag 7 – retningslinjer for tilladelser til dyrehaver af hensyn til biodiversitet), hvor man netop har sat hegn for at opretholde en relativ stor bestand af krondyr. Denne bestand af krondyr anvendes som værktøj i et større naturgenopretningsprojekt, hvor landskabet forvaltes som en helhed for at tilgode biodiversiteten. Hegnet er altså en nødvendighed for at undgå, at dyrene fouragerer på dyrkede marker frem for på naturområderne. Samtidig undgår man ved hegning konflikter med omkringliggende land- og skovbrug. Dyrehaven består primært af hede og plantage med fortrinsvis ikke-hjemmehørende arter, som ønskes konverteret til et dynamisk økosystem med hjemmehørende arter og naturlige processer med fokus på biodiversitetsforvaltning.

Da krondyrene udøver deres effekt på vegetationen gennem deres fouragering, er deres føde altså nøglen til at forstå deres rolle i økosystemet. Vores viden om hjortevildtets fødepræferencer i forskellige landskaber og under forskellige forvaltningsmodeller er begrænset. Der er et ønske om, at hjortevildtet i kraft af deres græsning kan medvirke til at vedligeholde biodiversiteten knyttet til lysåbne naturtyper i moser, enge, overdrev og heder, men vi ved ikke, hvor store tætheder af dyr dette vil kræve, og vi ved ikke, hvordan adgangen til næringsrige fodermarker og tilskudsfodring påvirker dyrenes effekter på vegetationen. Eksempelvis vil dyrenes nedbidning af buske og træer afhænge af deres adgang til andre fødekilder i vinterhalvåret. Ligeledes er vores viden om krondyrenes fødepræferencer gennem året begrænset. Da det er meget svært at observere, hvad sky dyr som fx krondyr æder, kan man i stedet undersøge resterne af deres føde enten i maveindholdet fra nedlagte eller på anden vis omkomne dyr eller i deres ekskrement. Denne type undersøgelser er ekstremt tidskrævende og ofte er det kun muligt at opdele fødeemnerne i grove taksonomiske grupper (fx nåletræer, græsser, urter) eller plantedele (fx bark, korn) (Jensen 1968). I dag er der udviklet helt nye muligheder med meta-stregkodning, hvor bestemte dele af planternes DNA kan genkendes i prøverne (DNA-metabarcoding), hvorved man kan opnå en finere taksonomisk opløsning samt en hyppighed af sekvensen i prøven (Valentini m.fl. 2009). Dette gør det muligt at analysere mange prøver med relativ høj rumlig og tidslig opløsning. Metoden er endnu relativ ny, men har blandt andet været anvendt med succes til studiet af eksempelvis bisons fødevalg i Polen (Kowalczyk m.fl. 2011), fordelingen af fødenicher mellem afrikanske pattedyr (Kartzinel m.fl. 2015) og årstidsbestemt variation i gemsers fødevalg (Rayé m.fl. 2011).

Hegningen af Klelund Dyrehave gør det muligt at belyse adskillige interessante aspekter af krondyrforvaltningen, fx kan en sammenligning med fødesammensætningen udenfor hegn give os et billede af betydningen af tilgængeligheden af landbrugsafgrøder for sammensætningen af føden og fødekvaliteten og dermed hegnets betydning for dyrenes økosystemeffekt. Fødesammensætningen må dog også forventes at variere meget med køn, alder og størrelse af dyrene, og betydningen af denne variation undersøges i et mindre datasæt fra dyr nedlagt i dyrehaven.

Figur 4.2. Klelund Dyrehaves arealanvendelse i 2014 (Ortofoto fra 2014, Geodatastyrelsen). Ud af de ca. 1415 ha udgør heden ca. 320 ha, og her er der i mindre omfang udført traditionel hedepleje i form af rydning af eksotiske vedplanter og afskrælning af humusjordlag. Græslandet på knap 200 ha omfatter både overdrev, enge og nyligt ryddede skovparceller samt de tidligere vildagre, som nu ligger hen som mere naturlige skovlysninger. Moserne udgør også en betydelig del af arealet med ca. 100 ha. Det store skovareal består af ca. 625 ha nål og 100 ha løv. Derudover er der en mindre del af arealet, som er vej, bolig, parkeringsplads ect. ("Andet"). Det skraverede områder viser ejendommens arealer udenfor hegn, hvor prøverne fra krondyr udenfor hegn er indsamlet. Nederst i venstra hjørne ses Klelund Dyrehaves placering på et danmarkskort.



Formålet med det nu afsluttede forskningsprojektet i Klelund Dyrehave var at belyse nogle af de udfordringer og spørgsmål, der opstår ved at lave naturpleje med vilde dyr under hegn. Desuden bidrager projektet generelt til vores viden om krondyrenes biologi og fødevalg. Vi vil belyse, hvordan dyrenes fødevalg varierer i løbet af året ift. fødetilgængeligheden i dyrehaven, herunder betydningen af tilskudsfoder, og hvordan hegnede krondyrs fødevalg varierer i forhold til fritgående krondyr i landskabet. Vi vil også belyse dyrenes individuelle variation i fødevalg og fødekvalitet samt relationerne til dyrenes køn, alder og kondition. Med dette som udgangspunkt, vil vi diskutere naturforvaltningen med krondyr som aktør specifikt for Klelund Dyrehave og perspektivere mere generelt for natur- og krondyrforvaltningen i Danmark.

4.1 Krondyrenes føde

Krondyr er både græssere og "browsere", dvs. at de både æder græs og urter, men også vedplanter. Sammensætningen af føden varierer med fødeudbuddet i løbet af året, således at græs, urter og friske skud fra træer ædes fortrinsvist i vækstsæsonen, og de mere forvædede dele, fx bark, og stedsegrønne dele ædes fortrinsvist i løbet af vinteren. Tidligere analyser af maveindholdet fra danske krondyr i Rold Skov og plantager ved Ringkøbing Fjord, Ho Bugt og Trend Storskov har vist stor variation mellem områderne, men også sammenfald i de hyppigste fødeemner for krondyrene (Jensen 1968, Petersen 1998). Græs, halvgræs og siv var krondyrenes primære fødeemner i alle områderne og udgjorde omkring halvdelen af føden. Særligt bølget bunke (*Deschampsia flexuosa*) udgjorde en stor andel af det fortærede græs. Hedelyng var også en vigtig del af føden og udgjorde op til 50 % (Jensen 1968, Petersen 1998). Nåletræer var en vigtig del af føden særligt i vinterens sidste måneder og udgjorde op til 20 %, og tilsvarende var urter vigtigst i sommermånederne (dog også i december i Trend), hvorimod løvtræer spillede en mindre rolle i krondyrenes føde (Jensen 1968, Petersen 1998). Et nyere studie, der sammenligner krondyrenes fødevalg på tværs af Europa, har vist lignende resultater; græs og halvgræs udgør cirka en tredjedel af føden, men der er stor variation, som kan tilskrives variationen i habitater, således at hedelyng udgør en stor fødeandel i hedeområder, mens frugter og kerner udgør en stor del af føden i blandet habitat med blandet løvskov (Gebert & Verheyden-Tixier 2001).

Ved at bruge DNA-metabarcoding (stregkodning) som metode til at undersøge krondyrenes fødesammensætning kan planteresterne i ekskrement identificeres ved at matche sekvenserne i deres kloroplast med sekvenser i en database (Taberlet m.fl. 2007, Valentini m.fl. 2009, Valentini m.fl. 2009). Når man analyserer DNA, der er indsamlet fra miljøet, fx fra ekskrementer fundet ude i landskabet, betegnes det også eDNA (e for *environmental*). I dag kan man lave en effektiv analyse af DNA-indholdet i eDNA prøver ved meta-stregkodning, som identificerer stumper af planternes DNA i prøverne, hvorved man kan opnå en relativ fin taksonomisk opløsning samt en hyp-pighed af sekvensen i prøven (Valentini m.fl. 2009).

Et andet vigtigt aspekt i dyrenes fødevalg er fødens kvalitet. Dette er ofte estimeret ved at måle kvælstofindholdet i ekskrementer – en relation der er bekræftet af eksperimenter, hvor fødens kvalitet er kendt og sammenlignet med forskellige kvælstofmål i ekskrementer (Hodgman m.fl. 1996). Denne metode har tidligere været kritiseret, da kvælstofindholdet i ekskrementer også afhænger af fordøjeligheden af fødeemnerne (Hobbs 1987), men er dog blevet fastslået som et brugbart indeks for fødekvaliteten (Leslie m.fl. 2008). Vi forventer en årstidsvariation i kvælstofindholdet, hvor kvælstofindholdet er højt i starten af vækstsæsonen, hvor planterne sætter nye skud. Dyrehaven kan inddeles i tre forskellige områder (syd, midt og nord – se 5.1) med markant forskel i bonitet og plantesamfund, og vi forventer, at kvælstofindholdet vil variere mellem områderne, således at kvælstofindholdet i syd vil være højere end midt og nord. Det højeste kvælstofindhold forventer vi at se udenfor hegnet, hvor dyrene har adgang til næringsrige afgrøder.

Hegnet i Klelund Dyrehave afgrænser udvalget af fødeemner for dyrene, men omfatter stadig en næringsgradient fra næringsfattig lysåben hede og næringsfattig plantage til mere næringsrig lysåben vådbunds natur og løvskov i ådalen. Ved at indsamle data, der dækker hele gradienten indenfor hegnet, samt udenfor hegnet, er det muligt at undersøge den rumlige og

tidslige variation. GPS-mærkning af dyrene bidrager desuden til vores forståelse af, hvordan dyrene vælger at udnytte de forskellige habitater i dyrehaven, og supplerer tolkningen af, hvilke fødeemner der er vigtige i tid og rum. Det kan forhåbentligt bidrage til en forvaltning til fordel for både biodiversiteten og dyrene selv. En sammenligning med krondyrenes føde udenfor heget vil desuden hjælpe med at forstå effekten af at indhegne naturområder på dyrenes fødevalg. Forskelle i fødevalget indenfor heget og udenfor heget vil desuden kunne indgå i en diskussion af betydningen af heget som forvaltningsværktøj.

I Klelund Dyrehave er der også en mindre vinterbestand af rådyr på 100-150 individer. Krondyr kan ved høje tætheder have en negativ effekt på rådyrbestanden (Latham m.fl. 1997). Andre studier indikerer, at rådyrene ofte er udsat for konkurrence om ressourcerne fra krondyrene, særligt når der er begrænsede ressourcer og deres fødenicher i stor udstrækning overlapper (Latham m.fl. 1999). Krondyrene æder mere eller mindre den føde der er til rådighed i økosystemet, mens rådyrene er mere kræsne og går efter specifikke fødeemner (Latham m.fl. 1999). Vi forventer derfor, at rådyrene er mere "browsere" end krondyrene er, dvs. at de æder flere vedplanter, og at de generelt lever af føde med højere energi- og kvælstofindhold. Omvendt, hvis rådyrene er udsat for stor konkurrence fra krondyrene, kunne man forestille sig, at de blev tvunget til at leve af føde af ringere næringsværdi.

Vi forventer, at både variationen i fødesammensætningen og fødekvaliteten varierer med årstiden, da fødeudbuddet og væksten i planterne er meget årstidsbestemt. Desuden forventer vi en vis afhængighed af området, hvor prøverne er indsamlet. Krondyr kan bevæge sig over meget store afstande, og størstedelen af føden passerer igennem fordøjelsessystemet på ca. 2-4 dage (Gill 1961, refereret i Jensen 1968). Umiddelbart giver dette ikke anledning til at antage en kraftig sammenhæng mellem, hvad prøven indeholder, og hvor den er fundet. Dog ved vi fra erfaringer fra ejeren, skytten og andre, der arbejder i Klelund Dyrehave, at der er en tendens til, at dyrene holder sig til et delområde. Fx holder de store hjorte til i den sydlige del af dyrehaven og bevæger sig stort set kun nordpå i forbindelse med brunsten. Dette er yderligere understøttet af vores observationer fra GPS-mærkningen af dyrene.

4.2 Krondyrenes fødevalg og individets kondition

Langt størstedelen af studiet er baseret på data indsamlet fra ekskrement i felten, hvor dyrenes køn, alder osv. er ukendt. I et mindre deldatasæt fra nedlagte dyr i jagtsæsonen vil vi undersøge, i hvilken grad dyrenes fødevalg spiller sammen med køn og alder og bidrager til variationen i individernes vægt.

Der er store kønsforskelle på krondyrene både med hensyn til deres størrelse og adfærd. Vi kan derfor forvente, at disse forskelle vil afspejles i deres fødesammensætning og -kvalitet. Man kan forestille sig, at hinde søger at indtage en høj kvalitet føde under drægtighed og mælkeproduktion, mens hjortene under gevirudviklingen og op til og efter brunsten har behov for at indtage en høj kvalitet føde. Dette aspekt af variationen i føden er meget sjældent belyst på grund af mangel på data (Gebert & Verheyden-Tixier 2001). Dog er der enkelte studier, der har undersøgt emnet, men resultaterne er ikke entydige, da der både er studier, som viser, at betydningen af køn ikke er signifikant (Gebert & Verheyden-Tixier 2001), og andre studier, som viser, at der er forskelle i fødesammensætningen i forhold til både køn og alder (Azorit m.fl. 2012).

For at udforske dette aspekt af krondyrenes fødevalg har Klelunds skytte noteret de nedlagte dyrs køn, alder, vægt og kanonbenets længde. Dyrenes kondition er derefter beregnet ud fra kanonbenets længde og vægt. Generelt gælder det, at tungere dyr også er større end lettere dyr, mens tungere individer har en bedre kropskondition end lettere individer af samme størrelse (Toigo m.fl. 2006). Dyrenes vægt svinger meget i løbet af året og responderer hurtigt på ændringer i miljøet. Skelettets vækst er derimod mindre følsomt overfor udsving i fødetilgængelighed og -kvalitet, og afspejler længerevarende miljøforhold (Toigo m.fl. 2006). Dyrenes kondition kan udtrykkes ved den størrelseskorrigerede vægt ud fra dyrenes brækkede vægt og deres størrelse estimeret ved fx kanonbenets længde (Schulte-Hostedde m.fl. 2005).

Kondition giver et relativt kortsigtet billede af miljøforholdene for dyrene, hvorimod dyrenes størrelse giver et indblik i de generelle miljøforhold i dyrehaven i dyrets vækstperiode.

Generelt er konditionen af både hinder og hjorte aldersbestemt, således at den optimale kondition opnås for hinder i aldersklasserne 3-7 år, mens konditionen for hjorte kraftigt klinger af, når de når over 11 år (Clutton-Brock m.fl. 1982). Energiomkostningerne ved drægtighed og mælkeproduktion har stor effekt på hindernes kondition i løbet af sommermånederne, og deres kondition i efteråret vil være væsentligt ringere end konditionen af hinder uden kalv (Clutton-Brock m.fl. 1982). Dyrenes kondition, forventer vi, er bestemt af dyrenes fødeindtag (både sammensætning og kvalitet) samt alder, køn og muligvis også tidspunkt på året. Desuden, har (Sunde & Haugaard 2014) påvist en effekt af tidspunkt på året på slagtevægten for hinder og hjorte og forskellige aldersklasser.

Dyrenes fødesammensætning (eDNA-analyser af deres ekskrement) og -kvalitet (kvælstofindhold) giver et øjebliksbillede af, hvad dyrene har ædt og vil variere afhængig af køn og alder, men også afspejle årstiden og habitaterne, dyret har bevæget sig i, samt en vis grad af tilfældighed.

4.3 Krondyrenes effekter på økosystemerne

Der er stor fokus på mulighederne for at anvende store planteædere til at skabe mangfoldighed i levesteder og ressourcer og derved tilgodesee biodiversiteten. Dette ses fx ved den udbredte brug af forskellige husdyr til at opretholde lysåbne naturtyper som enge, kær, overdrev og strandenge i naturplejen. Paradoksalt nok er krondyrene mest kendt for deres negative effekter på økosystemerne, særligt i skovene (se fx Fuller & Gill 2001, Gill & Beardall 2001, Kirby 2001, Holt m.fl. 2010). Forvaltningen af store bestande af krondyr i et kulturlandskab, hvor skovene er voldsomt trængt tilbage, kan være en stor udfordring at forene med bevaring af bestemte skovtyper, som det fx er tilfældet på de Britiske Øer. Men de effekter, der opfattes som negative, skal sættes i perspektiv. De dokumenterede negative effekter af krondyrenes græsning vedrører ofte kun et begrænset udsnit af økosystemet og biodiversiteten, fx plantesamfund i skovbunden, eller sågar enkeltarter som fx nattergalen, vis habitat øjensynligt er reduceret som følge af græsning i underskoven (Palmer & Truscott 2003, Holt m.fl. 2010). Ved et så snævert fokus og ved kun at fokusere på det, der går tabt, så overses de positive effekter af krondyrene nemt.

Vigtigst for biodiversiteten er nok den rolle, krondyrene kan spille i økosystemet i forhold til at skabe mangfoldighed i habitatet og skabe muligheder og føderessourcer for andre arter. Mangfoldigheden omfatter omdannelsen af blade og græs til ekskrement, hvilket skaber rumlig variation i næringsstofkredsløbet, reducerer mængden af nedfaldsblade og ændrer jordbunds-egenskaberne i forhold til økosystemer uden græsning (Appleby 1982, Gill & Beardall 2001, Veiberg m.fl. 2004). Denne effekt er særlig udpræget, når tætheden af græssende dyr varierer i tid og rum. På trods af, at kun få arter er særligt tilpasset krondyrekskrement, så er der mange arter af insekter og svampe, der kan bruge krondyrenes ekskrement som levested og ressource. Krondyrenes ekskrement har den fordel, at det er frit for medicinrester fra ormekur og lignende, som ellers er en stor trussel mod gødningsinsekter (Mitchell m.fl. 1976). Store planteædere bidrager også med store ådsler, som også er en vigtig ressource for mange arter af specialiserede nedbrydere, som fx invertebrater og svampe, men også større dyr som pattedyr og rovfugle (Barboza & Bowyer 2000, Melis m.fl. 2004, Barton m.fl. 2013). Ådslerne bidrager også til lokal berigelse af jorden med mineraler og næringsstoffer (Barton m.fl. 2013). Den "skade", dyrene forvolder på unge træer igennem bid og barkskrælning, vil hjælpe svampe, insekter og epifytter med at kolonisere træerne, og senere hen kan det føre til hulheder til gavn for flagermus og fugle. I takt med at træerne bliver til veterantræer, kan græsning i skovbunden øge veterantræernes overlevelse, da de ellers er følsomme overfor at blive skygget væk af unge kraftigt voksende træer (Rackham 2008).

I forvaltningen af dyrehaven er der stor opmærksomhed på ovenstående afledte effekter af krondyrene på biodiversiteten, men dokumentationen af disse effekter har ikke været formålet med projektet. Projektet har forløbet i en periode, hvor der er sket mange ændringer i vegetationen i dyrehaven i form af almindelig naturpleje og mere dramatiske ændringer som konvertering fra plantage til blottet jordbund og efterfølgende naturlige successionsstadier med græsser og urter og efterhånden vedplanter. Igennem undersøgelser af krondyrenes føde samt GPS-mærkede dyrs færdsel i dyrehaven vil vi diskutere den rumlige og tidslige variation i dyrenes udnyttelse af ressource og habitater, og hvordan denne supplerer og afhænger af andre forvaltningstiltag i dyrehaven.

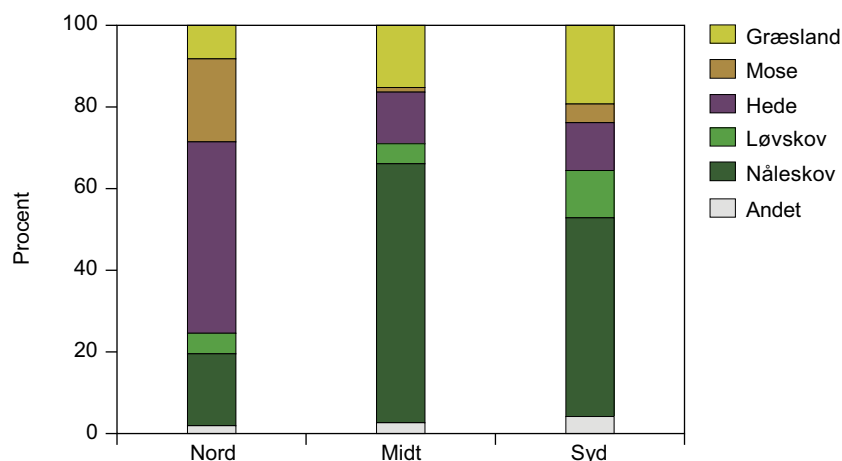
5 Materialer og metoder

5.1 Klelund Dyrehave

Klelund Dyrehave er en biodiversitetsdyrehave, dvs. en dyrehave, hvor de indhegnede dyr spiller en nærværd naturlig rolle i økosystemet med det formål at bidrage positivt til biodiversiteten (Miljøministeriet, Vejledning om Skovloven, Bilag 7 – retningslinjer for tilladelser til dyrehaver af hensyn til biodiversitet). Dyrehavens hegn blev sat i 2010, og arealet er på 1415 ha og rummer græsland, mose, hede og løv- og nåleskov. Skovarealerne er under konvertering fra primært eksotiske nåletræsarter til hjemmehørende løvtræsarter. I konverteringsperioden produceres der fortsat tømmer m.v., men efterfølgende er det målet, at arealerne skal henligge i en urørt tilstand. Forårsbestanden af krondyr er på 300-400 krondyr og den årlige bestandstilvækst på ca. 150 dyr reguleres ved afskydning i jagtsæsonen, men jagt som rekreation har derudover ringe betydning for forvaltningen af krondyrene. Dyrevelfærden er højt prioriteret og den naturlige vinterdødelighed forsøges minimeret igennem afskydningen og ekstensiv fodring af dyrene i vinterhalvåret.

Dyrehaven kan groft inddeles i tre områder (**Figur 5.1**), der er landskabeligt forskelligt karakteriseret ift. vegetationen, hydrologien og topografien. Det nordlige område (30 % af arealet) er karakteriseret af vidtstrakte heder og moser. Det midterste område (37 % af arealet) er primært gammel plantage, tidligere vildtagre, som nu ligger hen som mere naturlige skovlysninger samt rydninger opstået ved konvertering fra skov til lysåben natur. Det sydlige område (33 % af arealet) er delvist karakteriseret af en ådal med moser i de lavtliggende områder og løvskovsklædte ådalsskrænter, men også gammel agerjord og kulturrenge, som nu er taget ud af drift.

Figur 5.1. Vegetationen i de tre karakteristiske områder i Klelund Dyrehave opgjort som % dække af græsland (tidligere vildtagre, tidlige successionsstadier efter konvertering fra skov til lysåben natur, enge, osv.), mose, hede, løvskov, nåleskov og andet (veje, bygninger osv.). Opgørelsen er baseret på data fra skovkortet fra 2014.



5.2 GPS-mærkning af krondyr

I alt er der mærket 10 krondyr (4 hinder, 6 hjorte) i alderen 2-6 år med GPS-halsbånd i perioden fra 2013 til 2015, og i skrivende stund er tre af disse halsbånd stadig i brug. Planen er at opnå GPS-mærkning af 12 dyr i alt, og derfor fortsætter dette delprojekt i 2016-17.

5.2.1 Fangst af krondyr og GPS-halsbånd

Til fangst af krondyr til GPS-mærkning anvendes ofte selvudløsende fælder med udlagt foder og udstyret med SMS-alarm. Herefter immobiliseres det enkelte dyr ved hjælp af CO₂-gevær. Erfaring viser dog, at det kan vare endog meget længe, før kronvildtet accepterer sådanne opsatte fælder samt begynder at benytte dem og det udlagte foder. I stedet har vi i dette projekt benyttet aktiv fangst, hvor de enkelte dyr udvælges fritgående i dyrehaven og immobiliseres ved brug af kruttdrevent gevær med en rækkevidde op til 50 meter, og hvor pilene er udstyret med VHF-sendere. Fangst/immobilisering blev af tekniske samt lovgivningsmæssige årsager foretaget af teknikere fra Bioscience, Aarhus Universitet, dyrlæge samt medarbejdere i Klelund Dyrehave assisteret af Carsten Grøndahl og Torben Christiansen.

I dette projekt er anvendt GPS PLUS halsbånd fra Vectronic. GPS PLUS har mulighed for manuel "drop-off" af halsbåndet som ekstra sikkerhed, hvor det alternative GPS PRO Light alene benytter sig af timer-baseret "drop-off". Desuden giver UHF kommunikationen i GPS PLUS mulighed for løbende at downloade aktivitetsdata, som ellers først vil være tilgængelig efter "drop-off" og generhvervelse. For at få så høj opløsning på positionsdata som muligt i kombination med længst mulig driftstid opsættes halsbånd til logning af position med 15 minutters intervaller. På baggrund af valgte batteristørrelse (4D) giver det en driftstid på ca. 365 dage under normale forhold. Intervalleret blev i 2014 ændret til 30 minutter for, til gengæld i kortere perioder, at kunne øge logningen, fx under drivjagter og Skovens Dag, for således at få et mere detaljeret indblik i dyrenes færdsel. Efter endt brug på det enkelte dyr falder halsbåndet af ved hjælp af den indbyggede "drop-off"-mekanisme, og halsbånd kan genfindes i terrænet via den indbyggede VHF-sender. Positionsdata sendes automatisk fra det enkelte halsbånd via GSM-nettet flere gange i døgnet til en basestation på Bioscience, Kalø. Afvigende GPS-punkter, som ligger udenfor hegnet, samt punkter med dårlig satellitdækning er fjernet fra datasættet.

5.2.2 Dyreetiske overvejelser

Immobilisering af krondyr vil uundgåeligt forvolde en vis grad af stress og ubehag, men næppe i en grad, der er væsentlig værre end det stressniveau, som dyr også bliver udsat for i naturen, fx i forbindelse med afholdelse af drivjagter. Bedøvelse uden forudgående indfangning i fangstbåse vil givetvist være mindre stressende for dyrene, end hvis de fanges i fangstbåse, hvor de vil kunne tilbringe op til et par timer, inden de bedøves. Bedøvelse af krondyr indebærer en risiko for dødsfald pga. dosering. Rent dyretisk vil dette svare til en aflivning gennem indsovning hos dyrlægen. Selve halsbåndet vil principielt også kunne genere og forstyrre dyret. Vores erfaringer både fra et tidligere projekt i 2006-2008, hvor krondyr blev påmonteret væsentligt større og tungere GPS-halsbånd, og fra Klelund Dyrehave tyder ikke på, at krondyrene på nogen måde generes af halsbåndene (**Figur 5.2**).

Figur 5.2. Kronhjort med GPS-halsbånd (midt i rudlen) på et af arealerne, der for nyligt er konverteret fra nåletræsplantage til lysåben natur. (Foto: Michael Sand for Klelund Dyrehave)



5.2.3 Habitatselektion og besøg ved foderstationerne

Datasættet med GPS-positioner er rensat, således at vi kun bruger positioner, der er valideret med mindst tre satellitter og med $DOP \leq 5$ (Dilution of precision, tommelfingerregel for god til meget god præcision).

Foderstationerne er afgrænset som polygoner på et kort og omfatter det omtrentlige areal, hvor der er bragt foder ud. Vinterfoderet består af wraphø i opsatte høhække og hel havre spredt på jorden. Efterfølgende har vi beregnet antal GPS-positioner, der ligger indenfor foderstationerne hver måned. Da der i nogle perioder er forskellige logningsintervaller og start- og slutdato har vi beregnet antal besøg ved foderstationerne som procent af det totale antal GPS-punkter per måned. Dette er sammenholdt med klimadata fra månederne. Månedlig gennemsnitstemperatur og antal dage med frost per måned er taget fra Månedsoversigterne april 2013 til december 2015 på DMIs hjemmeside (Danmarks Meteorologiske Institut).

Habitatselektion er beregnet som en selektionsratio (SR), dvs. som procent GPS-punkter i et givent habitat divideret med det givne habitats areal (Aarts m.fl. 2008). $\ln SR > 0$ indikerer, at dyrene har opholdt sig i det givne habitat mere end forventet ud fra dets areal i dyrehaven, og $\ln SR < 0$ indikerer, at dyrene har opholdt sig mindre i habitatet end forventet ud fra arealet. I beregningerne af arealet har vi taget højde for de arealer, der er fraegnet til produktion af hø i månederne maj-august.

Med til tolkningen af data hører også antallet af GPS-mærkede dyr, deres køn og deres primære tilholdsområde. For det meste har der ikke været mere end tre mærkede dyr af gangen. Det første år var det tre hjorte, andet år var det to hjorte og en hind, og tredje år var det tre hinder. Det første år gik de tre mærkede dyr i hhv. Nord, Syd og Midt, men i de andre år har de mærkede dyr bevæget sig primært i Syd og Midt og meget lidt i Nord.

5.3 Indsamling af prøver fra ekskrementer

Der er indsamlet to sæt prøver til DNA-analyse: 1) der er indsamlet 484 prøver fra krondyreksekrementer (fald) i naturen fordelt over de tre områder i

dyrehaven samt udenfor hegnene og fordelt over 12 måneder (ca. 10 prøver fra hvert område for hver måned) og 2) der er indsamlet 93 prøver (43 prøver fra hinder og 50 prøver fra hjorte) fra nedlagte krondyr i jagtsæsonen (1.9.-31.1. for hjortene og 1.10.-31.1. for hinder og kalve). For sidstnævnte datasæt er der også data på køn, alder, vægt og kanonbenets længde. Indsamlingen forløb fra august 2013 til juli 2014.

For at sikre at prøver indsamlet i naturen er fra forholdsvis frisk ekskrement (se Figur 5.3), er disse indsamlet i transekter udlagt i de tre forskellige områder samt udenfor hegnene. Dette muliggjorde at rydde transekterne for ekskrement og efterfølgende indsamle ekskrement med en uges mellemrum for derved at sikre, at ekskrementet ikke var ældre end en uge. Transekterne blev udlagt i områder, hvor krondyrene afsætter ekskrement, for at sikre en ligelig fordeling af prøver fra de tre områder og henover året. Prøver fra nedlagte dyr er udtaget fra dyrenes endetarm umiddelbart efter jagten. Foruden prøver til DNA-analyse er der tilsvarende indsamlet prøver til kvælstofanalyse.

Figur 5.3. Relativt friskt krondyr-ekskrement i juli måned. Da der kun er krondyr og rådyr i dyrehaven er det muligt at adskille arternes ekskrement på størrelsen. Ved at rydde transekterne en uge forud for indsamling sikres, at ekskrementet er frisk. Om sommeren, når nedbrydningen går meget hurtigt, indsamles desuden kun prøver fra ekskrement, der ser frisk ud (glinsende, ikke udtørret), og for at minimere kontaminering indsamles der ikke prøver fra ekskrement, som er synligt forstyrret af insekter. (Foto: Camilla Fløjgaard)



Der var et ønske om at undersøge rådyrene i dyrehaven og deres fødevalg til sammenligning med krondyrene i dyrehaven. Dette lykkedes desværre ikke i den planlagte udstrækning. Rådyrenes ekskrement var meget svært at finde, og der blev kun indsamlet et mindre antal prøver fra rådyr både i felten ($n=6$) og fra nedlagte dyr ($n=9$).

5.4 DNA-analyser

DNA-analyserne er foretaget af postdoc Marta De Barba hos Laboratoire d'Ecologie Alpine (LECA) i Grenoble, Frankrig. Laboratoriet er førende indenfor DNA-metastregkodning.

I Afsnit 9 – Appendiks 1 findes en udførlig metodebeskrivelse (på engelsk).

5.4.1 Tolkning af DNA-resultater

DNA-barcoding er en relativ ny metode, og dens anvendelse til at besvare komplekse økologiske spørgsmål er meget ny. Derfor er metoden under stadig udvikling, og vi lærer også løbende nyt om metodens anvendelighed og dens begrænsninger. Vi har i løbet af de sidste par år lært, at antallet af se-

kvenser, der påvises i prøverne, afhænger af mange faktorer, fx nedbrydningsgraden, længden på DNA-sekvenserne i prøverne (jo kortere, desto nemmere opformes de af PCR, Deagle m.fl. (2006)), årstiden (der er mere kloroplast-DNA i vækstsæsonen), plantedel (der er mere kloroplast-DNA i friske skud og blade, end der er i bark eller visne plantedele) osv. (Bradley m.fl. 2007, Valentini m.fl. 2009). Det betyder, at andelen af fundne sekvenser ikke direkte kan oversættes til en tilsvarende andel af fødens volumen. Men man kan sammenholde andelen af sekvenser med frekvensen af sekvenser (antal prøver den givne sekvens forekommer i), som giver et mere robust billede af, hvad dyrene oftest har ædt (Rayé m.fl. 2011).

Da DNA-materialet i ekskrement er forholdsvis nedbrudt, ligger der en udfordring i at matche DNA-sekvenserne til bestemte arter, og ofte er det kun muligt at identificere sekvenserne til slægt, underfamilie eller familie. For at kunne sammenligne prøvernes sammensætning er man derfor nødt til at arbejde med en taksonomisk "laveste fællesnævner" (lowest possible taxonomic level, Rayé m.fl. (2011)). Derudover kan man opsummere sekvenserne på højere taksonomisk niveau, fx familie eller orden, eller på vækstform.

5.5 Kvælstofindholdet i ekskrementer og fødekvaliteten

Prøverne til kvælstofanalyse er tørret, homogeniseret og vejlet af i små beholdere. Der er brugt en Elementar Vario El Cube kromatograf til grundstofanalyse til at bestemme indholdet af kvælstof, N, i prøverne. Kvælstofindholdet er angivet i procent.

Generelt kan man antage en positiv sammenhæng mellem kvælstofindholdet i ekskrementet og kvælstofindholdet i føden (Leslie m.fl. 2008), men sammenhængen kan forstyrres af store mængder tanniner i føden. Tanniner binder sig til proteiner i fordøjelsesprocessen og besværliggør fordøjelsen af disse, hvilket resulterer i et mindsket optag af kvælstof og dermed en øget udskillelse af kvælstof i ekskrementet (Osborn & Ginnett 2001, Leslie m.fl. 2008). Da *browssere* indtager større mængder tanniner i deres føde, har det været betvivlet, om man kan bruge kvælstofindholdet i ekskrementet som indeks for fødekvaliteten for rådyr. En undersøgelse af sammenhængen mellem fødekvaliteten og kvælstofindholdet i ekskrementet hos rådyr har vist, at kvælstofindholdet i ekskrementet ikke kan bruges til at sammenligne fødekvalitet på individniveau, men kan bruges som indeks for fx sæsonvariationen i fødekvaliteten på populationsniveau (Verheyden m.fl. 2011). Vi antager derfor, at sammenligninger af gennemsnitligt kvælstofindhold, fx mellem områderne eller mellem krondyr og rådyr, kan tolkes som forskelle i fødekvalitet.

Da der sker en vis fordampning af kvælstof, kan kvælstofindholdet i prøverne indsamlet fra ekskrement i felten variere afhængig af, hvor frisk det indsamlede materiale er. Vi testede dette ved at sammenligne prøver indsamlet fra felten med prøver indsamlet fra nedlagte dyr, hvor fordampningen må forventes at være minimal (0). Da der ikke er grund til at forvente en skævhed i, hvor frisk det indsamlede materiale har været i de forskellige områder eller måneder, antager vi, at effekten af fordampningen ikke giver en skævvridning i kvælstofindholdet i prøverne mellem de forskellige områder. Da fordampningen af kvælstof er temperaturafhængig, forventer vi derimod en øget fordampning i sommermånederne. Kvælstofindholdet kan derfor være underestimeret i prøverne fra sommermånederne, men igen forventer vi ikke, at det giver en skævvridning i sammenligninger mellem områderne indenfor samme måned.

Analyser af kvælstofindholdet i prøver fra rådyr sammenlignet med prøver fra krondyr viste umiddelbart, at rådyrenes ekskrement indeholdt mere kvælstof end krondyrenes. Dog var størstedelen af prøverne fra rådyr indsamlet fra nedlagte dyr. For at tage højde for, at det øgede kvælstofindhold ikke bare var et resultat af den mindske kvælstoffordampning, underøgte vi, om der var statistisk forskel på kvælstofindholdet i prøverne fra rådyr og krondyr indsamlet i felten og fra nedlagte dyr.

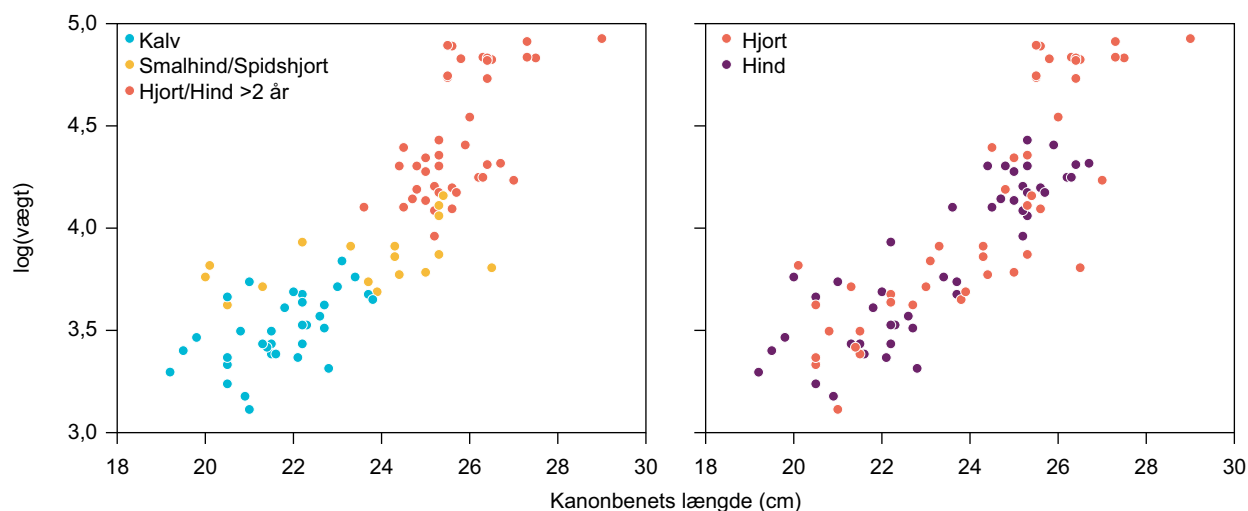
5.6 Nedlagte dyrs kondition

For nedlagte dyr blev køn, alder og brækket vægt noteret. Dyrenes størrelse er estimeret ved kanonbenets længde (**Figur 5.4**). Det er ikke alle mål, der er angivet for alle individer, da der under drivjagt er nedlagt mange dyr, og der ikke har været tid til at notere alle målene. Således er der kun noteret alder for 33 individer, primært hjorte. Dyrene er efterfølgende inddelt i aldersklasserne kalve, smalhinder/spidshjorte og voksne hinder/hjorte. Vi ender med et datasæt på 92 individer, hvor alle mål er til rådighed, dog er der kun målt kvælstofindhold i 91 prøver.

Figur 5.4. Måling af længden på kanonbenet (forløbet). Længden måles som afstanden mellem de små indsænkninger i hver ende af kanonbenet, hvor pegefingrene er placeret. I det viste eksempel er målet 164 mm for et rådyr. (Foto: Lars Haugaard)



Dyrenes kondition kan udtrykkes ved at korrigere vægten med størrelsen (dvs. kondition = vægt/kanonbenets længde), men ofte bruges afvigelse (residualerne) af en lineær regression af (log-transformeret) vægt på størrelse (Schulte-Hostedde m.fl. 2005, McKinney m.fl. 2014). Dog er forholdet mellem log-vægt og kanonbenets længde umiddelbart ikke lineært i vores datasæt, og det ser ud til, at forholdet er anderledes for voksne dyr og i særdeleshed for voksne hjorte (**Figur 5.5**). Vi har derfor valgt at bruge den log-transformerede vægt som den afhængige variabel og lade den log-transformerede kanonbenslængde indgå på lige fod med de andre forklarende variable; alder, køn, dato (som fortløbende antal dage), kvælstofindhold (N), og variationen i fødesammensætningen (som NMS-ordinationsakserne 1, 2 og 3) i en lineær regression (*generalized least squares*). Vi har både analyseret datasættet samlet og opdelt på køn og aldersklasser. Der er udført en modelseleksion, hvor vi først fjerner ikke-signifikante variable og derefter undersøger, om modellerne forbedres af interaktioner. Den bedste model er valgt baseret på en betydelig nedgang i AIC.



Figur 5.5. Den log-transformerede vægt som funktion af kanonbenets længde med datapunkter markeret efter A. aldersklasser kalve, ungdyr (smalhinder og spidshjorte) og adulte (hjorte og hinder ≥ 2 år) og B. køn.

5.7 Tilskudsfoder

I sæsonerne 2013/2014 og 2014/2015 blev der tilbudt tilskudsfoder i perioden december-april. Der blev tilbudt tilskudsfoder i form af wraphø, der er produceret i hegninger indenfor dyrehavehegnet. Det er et krav i dyrehavetilladelsen, at al føde skal produceres indenfor hegnet. For at begrænse næringsstofimporten. I vinteren 2013/14 er der undtagelsesvist, og på baggrund af dispensation fra Naturstyrelsen, suppleret med hel havre, da dyrene efter en usædvanlig hård vinter i 2012/13 efterfulgt af en meget tør sommer, allerede i starten af efteråret havde meget dårligt huld. Der blev importeret ca. 95 ton hel havre til dyrehaven. Normalvis bruges 200-300 wrapboller, men i 2013/14 blev der kun brugt 54 wrapboller pga. supplement med havre. Tilskudsfoderet bliver tilbudt dyrene på dertil indrettede foderstationer fordelt rundt omkring i dyrehaven, dog ikke <100 m fra beskyttet natur, dvs. at der er meget lidt tilskudsfoder i den nordligste del af dyrehaven. Foderet bliver tilbudt efter behov, således at hvis en høhæk tømmes hurtigt, så opstilles en høhæk mere på samme foderplads osv. Havren lægges ud i spor omkring foderstationerne.

Anvendelsen af hel havre som vinterfoder giver en del begrænsninger i undersøgelsen af betydningen af tilskudsfoder for dyrenes fødevalg. Havrekerne indeholder fortrinsvist stivelse og meget små mængder kloroplast-DNA, og vil derfor være dårligt repræsenteret i sekvenserne, selv om dyrene givetvis har ædt store mængder. DNA i høslættets planter vil også blive delvist nedbrudt, når det opbevares som wraphø. Udredningen af, hvilke sekvenser der stammer fra tilskudsfoderet, vanskeliggøres af, at mange planter i tilskudsfoderet findes vildt i dyrehaven. Fx findes hvidkløver på mange åbne habitater i dyrehaven og vil i nogen udstrækning være grøn det meste af året.

Der er lavet vegetationsundersøgelser (pinpoint-metoden, se Fredshavn (2004)); to undersøgelser på hver af de fire marker, der bruges til høslæt, for at kvantificere sammensætningen i wraphø-foderet (**Tabel 5.1**).

Tabel 5.1. Opsummering af sammensætningen af planter i wraphø baseret på den gennemsnitlige dækningsgrad af planterne estimeret med pinpoint-metoden og 5m-cirkel i 8 plots fordelt på høslætmarkerne. Familie/orden svarer til LPTU (står for Lowest Possible Taxonomic Unit) datasættet med DNA-sekvenser, der er fundet i dyrenes ekskrementer.

Plante	Familie/orden	Vækstform	Dækningsgrad
Hvid kløver	Ærteblomstfamilien	Urt	0.64
Almindelig rajgræs	Græsfamilien	Græs	0.53
Eng-Rottehale	Græsfamilien	Græs	0.50
Rød svingel	Græsfamilien	Græs	0.39
Almindelig hønsetarm	Nellikeordenen	Urt	0.28
Mælkebøtte/Cikorie	Kurvblomstordenen	Urt	0.19
Almindelig kællingetand	Ærteblomstfamilien	Urt	0.16
Almindelig hvene	Græsfamilien	Græs	0.13
Eng-Rapgræs	Græsfamilien	Græs	0.10
Hejrenæb	Storkenæbfamilien	Urt	0.09
Rød kløver	Ærteblomstfamilien	Urt	0.09
Agertidsel	Kurvblomstordenen	Urt	0.06
Almindelig svinemælk	Kurvblomstordenen	Urt	0.06
Fløjlsgræs	Græsfamilien	Græs	0.06
Humlesneglebælg	Ærteblomstfamilien	Urt	0.06
Almindelig kongepen	Kurvblomstordenen	Urt	
Almindelig stedmoderblomst	Violfamilien	Urt	
Blød hejre	Græsfamilien	Græs	
Draphavre	Græsfamilien	Græs	
Flerfarvet ærenpris	Vejbredfamilien	Urt	
Glat vejbred	Vejbredfamilien	Urt	
Hundegræs	Græsfamilien	Græs	
Hvid økseøjle	Kurvblomstordenen	Urt	
Kommen	Skærmpantefamilien	Urt	
Kruset tidsel	Kurvblomstordenen	Urt	
Læge ærenpris	Vejbredfamilien	Urt	
Lancet-vejbred	Vejbredfamilien	Urt	
Lav ranunkel	Ranunkelfamilien	Urt	

5.8 Statistiske analyser

Ved brug af multivariate analyser er det forsøgt at illustrere strukturen af det komplekse datasæt. Der er brugt Nonmetric Multidimensional Scaling (NMS) ordination til at illustrere variationen (afstanden) mellem prøverne i det økologiske rum (se fx Forsyth & Davis 2011). Vi har valgt at vise variationen grafisk i to dimensioner, da den 3. dimension viser sig, at forklare meget lidt variation. Efterfølgende er der lavet et *vector fit* for at se, hvilke fødeemner (opgjort som procent sekvenser på familie- og ordenniveau) der forklarer mest af variationen. Vi undersøger også, hvordan kvælstofindholdet i prøverne forklarer variationen i fødesammensætningen. Alle forberedende øvelser og statistiske analyser er udført i computerprogrammet R (R Development Core Team 2010). Desuden er der brugt envejs- og tovejs ANOVA til at analysere, hvilke faktorer der er signifikante for variationen i fødesammensætningen. Tukey-test har ydermere belyst, hvilke parvise sammenligninger der var signifikant forskellige. Vi har tjekket for normalitet i data ved visuel inspektion af qq-plot og residual-plot.

6 Resultater

6.1 Habitatselektion i dyrehaven

De GPS-mærkede dyr i dyrehaven afslører, at deres udnyttelse af habitatet varierer meget over året. Det kan ses af de store sæsonprægede udsving i habitatselektionsratioen (**Figur 6.1**). Der er også en del variation mellem årene, som kan skyldes forskellige vejrforhold eller individuelle forskelle mellem de mærkede dyr. Fx var det kun hjorte, der blev mærket i 2013 og det kan betyde, at de GPS-mærkede dyr ikke var repræsentative for hele bestanden. Dette betyder også, at vi skal være opmærksomme på, at uoverensstemmelser mellem de indsamlede data på dyrenes fødevalg og dyrenes habitatselektion kan skyldes den lille stikprøvestørrelse i de GPS-mærkede dyr. I **Figur 6.9** kan man se, hvor mange dyr der var mærket på et givent tidspunkt og deres køn.

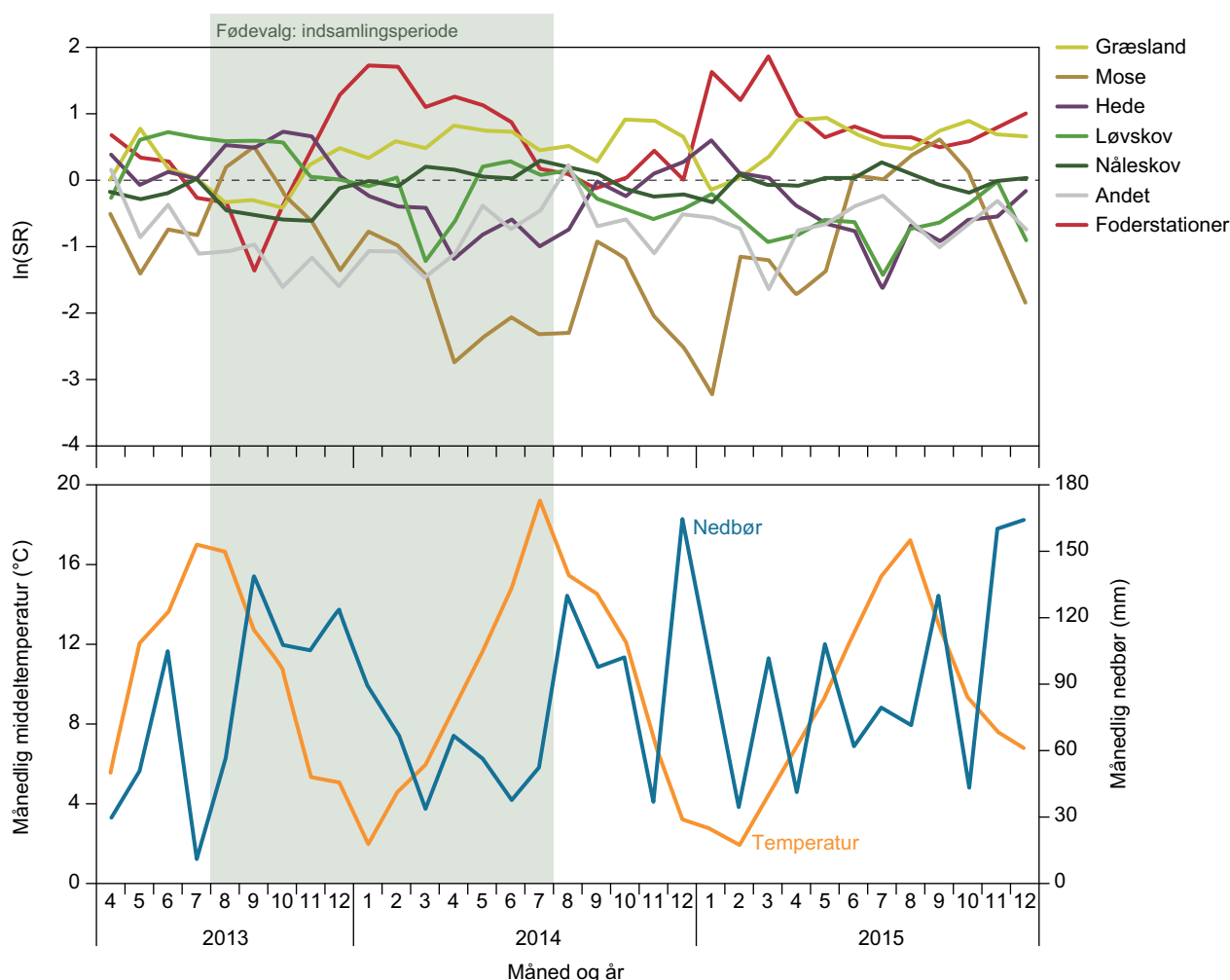
Meget iøjenfaldende er den tydelige præference for foderpladserne i vintermånederne, og at denne stort set er sammenfaldende med de koldeste perioder, men fortsætter også ud på foråret formentlig indtil vækstsæsonen går i gang.

Græslandet, dvs. enge, marker, sletter, tidligere vildtagre, brandbælter, overdrev og lign., har næsten altid en ratio over 0, men svinger i overensstemmelse med fødetilgængeligheden på disse arealer, hvor tørre somre kan gøre græslandet uattraktivt, fx er indekset meget lavt for sensommeren og efteråret 2013, hvor sommeren var usædvanlig varm og tør. Moserne, som udgør en relativ lille del af dyrehavens areal (**Figur 5.1**), foretrækkes kun i begrænsede perioder; ca. august – oktober, men ikke i 2014. Dette kan skyldes, at de dyr, der i 2014 var GPS-mærkede, primært opholdt sig i syd og midt, hvor moserne udgør et mindre areal end i nord.

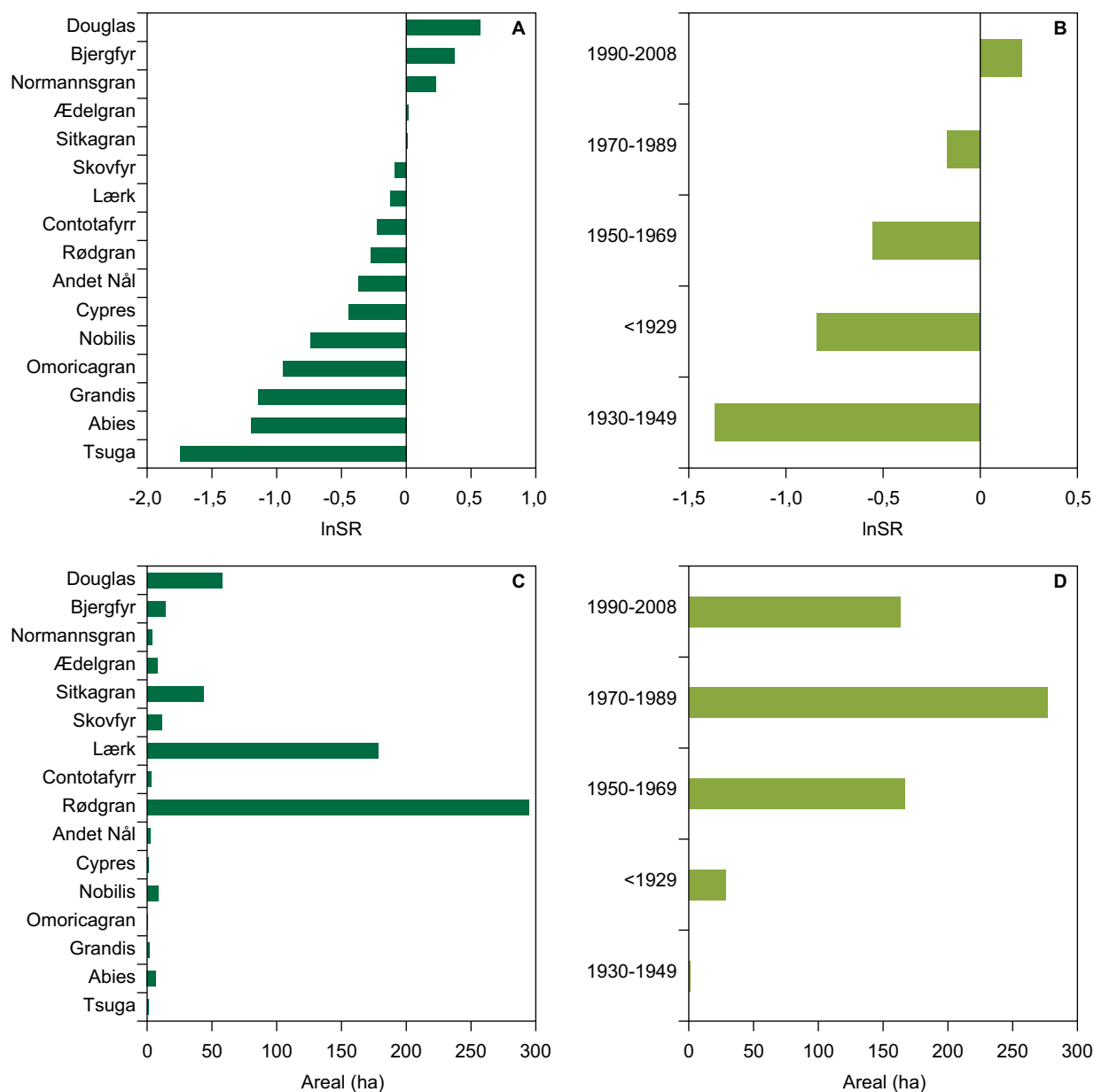
Hederne, som udgør en større del af dyrehaven, særligt i nord, opsøges primært i sensommer-efterår – dog ikke i 2015. Hederne opsøges særligt meget i sensommeren og efteråret 2013. Et lignende mønster ses også for løvskoven, som opsøges usædvanligt meget i sommeren og efteråret 2013 og ellers ikke. Det tyder altså på, at under de usædvanlig tørre forhold i sommeren 2013, har dyrene benyttet sig mere af løvskoven og heden. Generelt stiger indekset for heden i løbet af efteråret, men falder i vinterperioden og stiger igen, når vækstsæsonen sætter ind. Omtrent samme mønster finder vi i antallet af sekvenser af lyng i prøverne (**Figur 6.6**). Imidlertid stemmer disse resultater ikke overens med tidligere studier, der har fundet, at hedelyng er en af de vigtigste føderessourcer for krondyrene om vinteren (Jensen 1968) og afspejler sandsynligvis udbuddet af alternative fødekilder, herunder tilskudsfoderet, som tilbyddes i dyrehaven.

Umiddelbart ser det ud til, at krondyrene ikke specifikt opsøger områderne med nåleskov, da indekset for dette habitat generelt er lavt og uden de store sæsonvariationer. Nåleskoven udgør det største areal i dyrehaven, men krondyrene bruger det mindre, end vi ville forvente ud fra dets størrelse. Det betyder ikke, at krondyrene ikke bryder sig om at opholde sig i nåleskoven, eller at den ikke er vigtig som fødekilde eller skjul. Man kan sige, at der er måske rigeligt nåleskov til at dække dyrenes behov. Dette billede kan nuanceres yderligere ved at kigge på selektionsratioen indenfor

forskellige aldersklasser og bevoksningstyper i nåleskoven. Figur 6.2 viser store forskelle i, hvilke typer bevoksninger og hvilke aldersklasser dyrene foretrækker. Krondyrene foretrækker yngre bevoksninger både som skjul og som fødekilde. Når det kommer til bevoksningstype, så har bevoksninger med douglasgran, bjergfyr og normannsgran et indeks over 0, mens bevoksninger med tsuga, abies, grandis, og omorikagran er blandt de mindst foretrukne. Lærk og rødgran, som udgør det største areal af nåleskoven, er næsten neutrale med indeks på lidt under 0. Dette resultat skal dog tages med forbehold da bevoksningstypen angiver hovedtræarten, men reelt kan være blandingskulturer.



Figur 6.1. Habitatselektionsratio, SR: Når den ln-transformerede SR er under 0, har dyrene opholdt sig i habitatet mindre end forventet ud fra habitatets areal, mens hvis $SR > 0$, så har dyrene opholdt sig i habitatet mere end forventet. Habitaternes areal er estimeret ud fra skovkortet fra 2014, dog er der løbende sket ændringer fx konvertering af nåleskovsplantage til åben slette/græsland, som der ikke er taget højde for her. Der er korrigeret for perioderne, hvor arealerne til høproduktion er heget fra. Den nederste del af figuren angiver månedlig middeltemperatur og nedbør. Boksen markerer den periode, hvor der er indsamlet prøver fra ekskrement i felten. Indenfor samme periode er der i jagtsæsonen (september-januar) indsamlet prøver til delprojektet om kondition. Man kan se mere om de enkelte mærkede dyr, deres køn, og hvor de har haft deres primære tilholdsområde i dyrehaven, i **Figur 6.9**. Der skal gøres opmærksom på, at der i de fleste måneder kun var tre GPS-mærkede dyr, og der er derfor en vis usikkerhed i mønstrene i SR, som til dels kan skyldes køns- og aldersforskelle i individerne samt en vis grad af tilfældighed.



Figur 6.2. Habitatseleksionsratio, SR, opgjort på forskellige bevoksningstyper (A) og bevoksningssalder (B). Til sammenligning er fordelingen af arealet på de forskellige bevoksningstyper (C) og –alder (D) vist. Når den ln-transformerede SR er under 0, har dyrene opholdt sig i bevoksningstypen mindre end forventet ud fra bevoksningstypens areal, mens hvis $SR > 0$, så har dyrene opholdt sig i bevoksningstypen mere end forventet. Bevoksningstypernes areal er estimeret ud fra skovkortet fra 2014.

6.2 Rumlig og tidlig variation i fødevalg

Resultaterne af eDNA-analyserne kan med ovenstående forbehold (se afsnit 5.4.1) tages som et udtryk for dyrenes fødesammensætning. Den rumlige og tidlige variation er kvantificeret og illustreret ved en multivariat ordination af procent sekvenser opgjort på højest mulige taksonomiske opløsning. Opdelingen af ordinationens punkter på måneder og områder viser, at der er stor forskel mellem måneder og områder, og at denne forskel varierer i løbet af året. Fx er der i januar til april, hvor udbuddet af føde må forventes at være lille, relativt lille variation i fødesammensætningen og stort overlap mellem områderne. I måneder som fx maj og juni, hvor vækstsæsonen går i gang og fødeudbudet bliver mere varieret, ser vi også en større variation

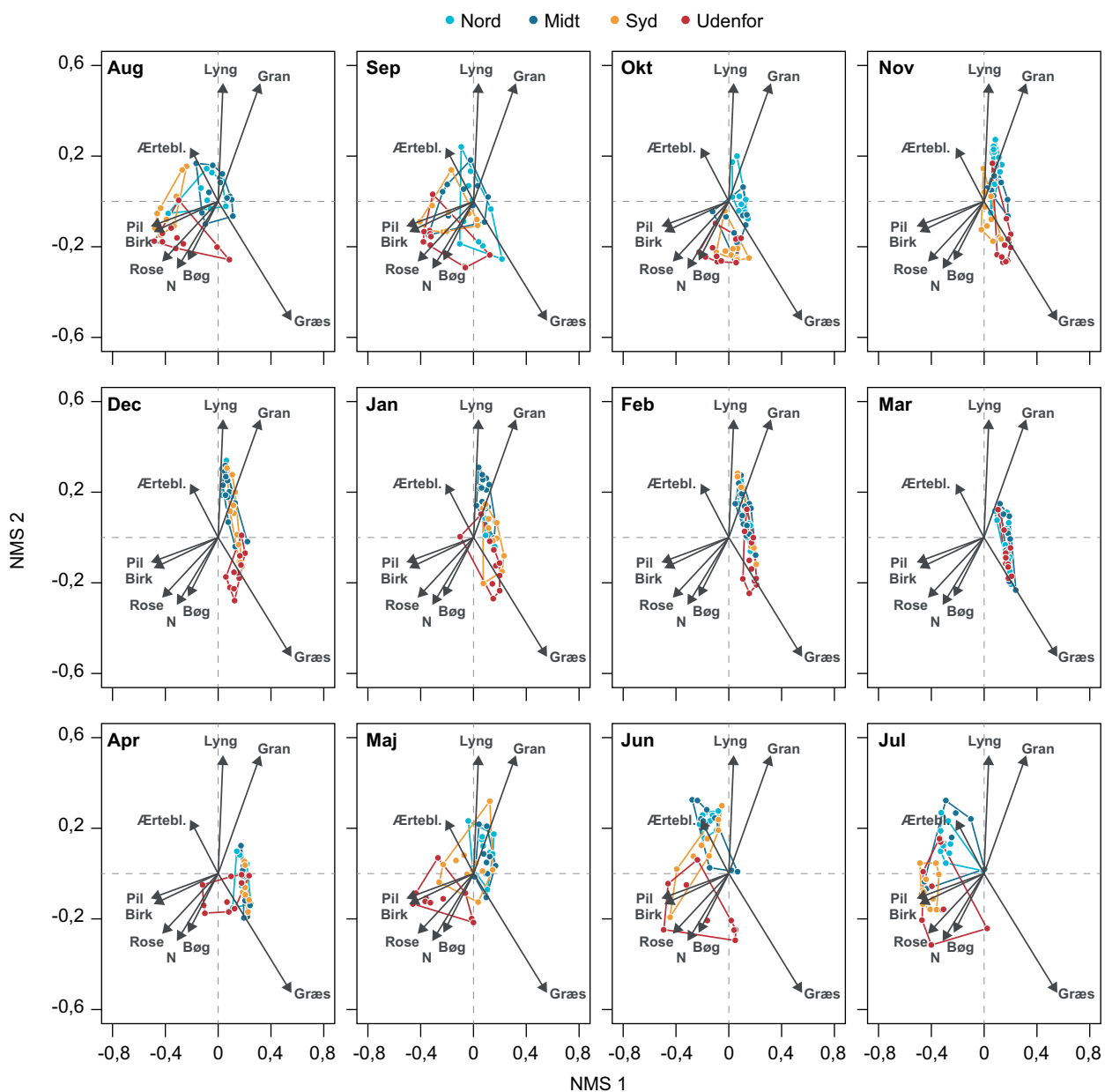
i fødesammensætningen. Særligt adskiller fødesammensætningen udenfor hegnet sig fra den indenfor hegnet i denne periode.

Disse resultater understøttes af tovejs-ANOVA, der viser, at både område og måned forklarer signifikant variation i fødesammensætningen (**Tabel 10.3**). En Tukey-test viser, at fødesammensætningen (NMS1+2) udenfor hegnet er signifikant forskelligt fra områderne indenfor hegnet (**Tabel 10.4**), mens områderne syd-midt og syd-nord er signifikant forskellige ift. fødesammensætningen (NMS1). Der er signifikant forskel på fødesammensætningen i 42 ud af 66 parvise sammenligninger af måneder. Måneder, der ikke er signifikant forskellige er typisk på hinanden følgende måneder fra oktober til april, fx oktober-november, november-december osv. (**Tabel 10.5**). Dette stemmer overens med at det også er i denne periode af året, hvor fødegrundlaget er forholdsvis uændret.

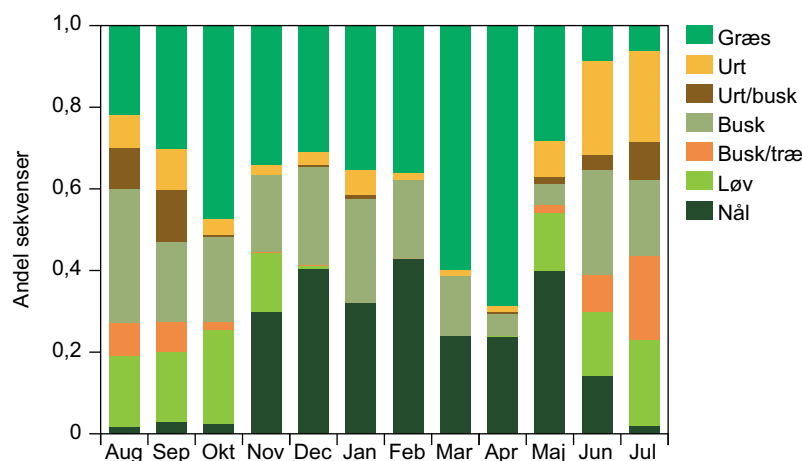
Vektorer, som forklarende variable fittet til ordinationsakserne, viser, at indholdet af sekvenser fra gran-, græs- og lyngfamilien forklarer meget af variationen i fødesammensætningen, men også sekvenser fra lyng-, ærteblomst-, krap-, kodriver-, birke-, pile-, bøge- og rosenfamilien samt kvælstofindholdet forklarer signifikant variation i fødesammensætningen. Figur 6.3 viser et tydeligt skift i føden i starten af vinteren mod fødeemner i lyng-, gran- og græsfamilien og primært græs sidst på vinteren/først på foråret. I takt med at vækstsæsonen går i gang, øges variationen i fødesammensætningen, og variationen i områdernes vegetation afspejles også i dyrenes fødesammensætning, fx indeholder krondyrenes ekskrement indenfor hegnet flere sekvenser fra lyng og gran, mens krondyrenes ekskrement udenfor hegnet indeholder flere sekvenser fra løvtræer og er mere kvælstofrig.

Disse resultater stemmer overens med den månedlige sammensætning af føden indenfor hegnet opgjort på planternes vækstformer, fx øges andelen af sekvenser fra nåletræer først på vinteren og bliver ved med at udgøre en stor andel af føden i løbet af vinteren og foråret, mens andelen af græs øges sidst på vinteren (**Figur 6.4**).

Til sammenligning fandt en stor undersøgelse af krondyrenes maveindhold på tværs af Europa ikke nogen stor årstidsvariation i sammensætningen, men at føden var meget afhængig af habitatet (Gebert & Verheyden-Tixier 2001). Jensen (1968) viser forskelle i maveindholdet mellem sommer og vinter: Fra sommer til vinter skifter føden fra græs og urter til græs, lyng og nål. Dette stemmer overens med vores resultater med undtagelse af, at vi finder, at der er flest sekvenser fra lyng om sommeren og stort set ingen om vinteren (se kategorien Busk i **Figur 6.4**).

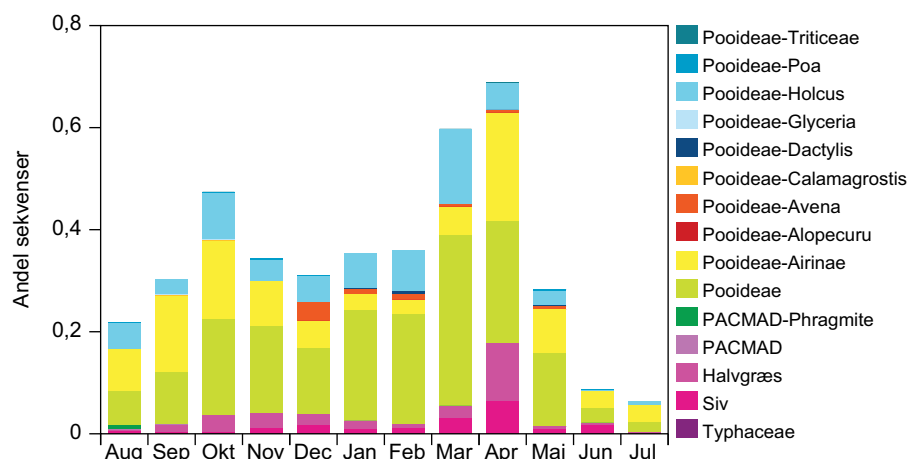


Figur 6.3. Variation i krondyrenes fødesammensætning i de tre forskellige områder i dyrehaven og udenfor dyrehaven fordelt på hver måned fra august 2013 til juli 2014. NMS på afstandene mellem prøverne er baseret på deres frekvens af sekvenser i højest mulige taksonomiske opløsning. Vektorene er fittet til NMS-akserne ($p \leq 0,05$ og $r^2 \geq 0,1$) og viser indholdet af sekvenser af gran-, lyng-, græs-, ærteblomst-, birke-, bøge-, krap-, kodriver-, rosen- og pilefamilien og kvælstofindholdet, N. Vektorene for ærteblomst-, krap-, og kodriverfamilien er næsten sammenfaldende og ca. af samme længde. Vektorene er skaleret efter deres r^2 -værdi.



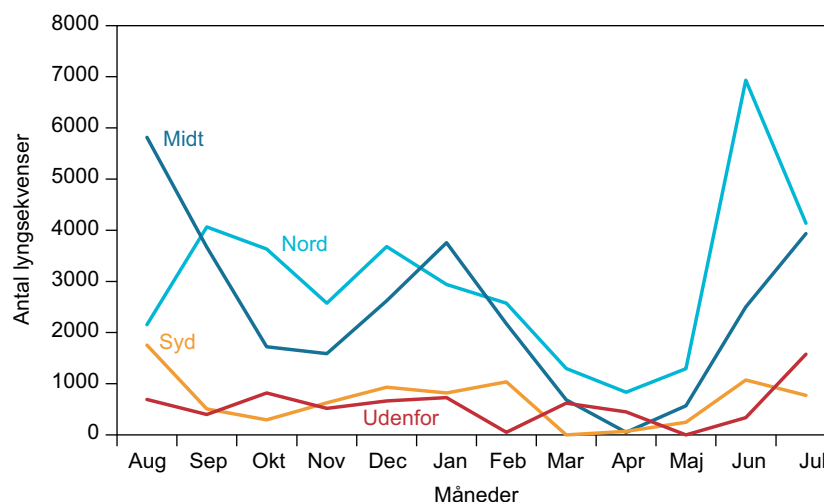
Figur 6.4. Månedlig oversigt over procent sekvenser summeret i planternes forskellige vækstform, fundet i ekskrementer fra Klelund Dyrehaves krondyr. Gruppen Urt/Busk indeholder Rosenunderfamilien Rosoideae, som både indeholder urter og buske og derfor ikke kan adskilles. Gruppen Busk/Træ indeholder Pilefamilien, Kirsebærslægten og Æblestammen, som omfatter arter af både træer og buske. Gruppen Busk indeholder stort set kun sekvenser fra lyngfamilien. Tilskudsfodringen i 2013 blev påbegyndt i slutningen af november og varede ca. til udgangen af april.

Kategorien Græs i **Figur 6.4** kan yderligere nuanceres ved at opdele sekvenserne i en finere taksonomisk opløsning (**Figur 6.5**). Umiddelbart ser det ud til, at siv og halvgræs udgør en mindre del af føden, da de forekommer i mindre udstrækning blandt sekvenserne. For halvgræs kan dette dog skyldes, at sekvenserne af halvgræs er ca. 25 % længere end græssernes sekvenser og derved opformeres i ringere grad i PCR-metoden og derved også forekommer sjældnere i datasættet (se afsnit 5.4.1). En stor andel af sekvenserne er ikke identificeret nærmere end til græsunderfamilien Pooideae og det betyder, at denne gruppe af sekvenser kan indeholde sekvenser fra de græsslægter, som er angivet i figuren, men det kan også være sekvenser fra andre slægter i Pooideae. **Figur 6.5** viser også, at Airinae (bl.a. bølget bunke) og *Holcus* (hestegræsslægten) udgør en stor andel af græssekvenserne. Som forventet er der ikke mange sekvenser fra havre i tilskudsfoderet (*Avena*) (se afsnit 0), men der ses dog en lille andel i de måneder, hvor der tilbydes tilskudsfoder (december-april).



Figur 6.5. Procent sekvenser af græs mere detaljeret. Navnene er angivet på latin og baseret på NCBI-taksonomi, da der i nogle tilfælde ikke eksisterer officielle danske navne. Der er en stor andel af sekvenserne, som ikke er nærmere identificeret end til Pooideae, og derfor kan indeholde sekvenser fra arter i de andre Pooideae-grupper. Typhaceae er Dunhammerfamilien. PACMAD er en linje indenfor græsfamilien, som indeholder bl.a. slægterne tandbælg og blåtop. *Phragmites*: tagrør. Pooideae uden nærmere specifikation indeholder bl.a. almindelige fodergræsser, som fx svingel og rajgræs. Airinae: græsstamme, der bl.a. indeholder slægten Bunke. Følgende græsslægter er identificeret: *Alopecurus*: rævehale, *Avena*: havre, *Calamagrostis*: rørhvene, *Dactylis*: hundegræs, *Glyceria*: sødgræs, *Holcus*: hestegræs, *Poa*: rapgræs, som også indeholder almindelige fodergræsser. Triticeae: en græsstamme, der bl.a. indeholder kvikgræs.

Tolkningen af DNA-sekvenser som fødesammensætningen er en udfordring og omfatter nogle forbehold (se afsnit 5.4.1). Det er svært at tage højde for en forskel i opformeringen af DNA-sekvenserne, da vi ikke præcis ved, hvordan dette påvirker antallet af sekvenser. Men hvis vi sammenligner det gennemsnitlige antal af den samme sekvens fundet i prøverne i de forskellige måneder, så kan vi minimere effekten af forskellig opformering i sekvenseringen. Tilbage er så at vurdere, om antallet af sekvenser afhænger af, hvilke dele af planten der er blevet ædt, og om disse var friske skud, som indeholder mere kloroplast-DNA end ældre skud. Figur 6.6 viser en oversigt over lyng-sekvenser fordelt på året, og som forventet er der en stigning i sekvenserne i vækstsæsonen. Men der er stor forskel mellem områderne, og denne forskel må tilskrives en forskel i, hvor meget dyrene i de tre områder udnytter lyng som føderessource, hvilket igen afhænger af, hvor meget lyng der er til rådighed og dennes palatabilitet (velsmagenhed) i forhold til andre fødeemner i områderne. For områderne midt og nord ser det ud til, at udnyttelsen af lyng som føderessource falder i løbet af vinteren, da antallet af sekvenser falder på trods af, at vi ikke vil forvente en ændring i indholdet af kloroplast-DNA på denne årstid.



Figur 6.6. Antal lyngsekvenser (gennemsnit af prøverne indsamlet i de fire forskellige områder) fordelt på månederne i indsamlingsperioden. Lyngsekvenserne er summen af sekvenser, der er identificeret som hedelyng og revling og sekvenser, der kun er identificeret til lyng-underfamilien *Ericoideae*, som sandsynligvis indeholder sekvenser fra klokkel yng, som er talrig i dyrehaven. På trods af, at antallet af lyngsekvenser i prøverne er mindre følsomt overfor de begrænsninger, der er i tolkningen af eDNA-resultater (se afsnit 5.4.1), da buskene er stedsgrønne, så må vi forvente, at mængden af kloroplast-DNA stiger i de friske skud i starten af vækstsæsonen. Sammenligningen på tværs af månederne skal altså gøres med forbehold, mens sammenligningerne mellem områderne er mere robuste.

6.3 Kvælstofindholdet i ekskrement og fødekvaliteten

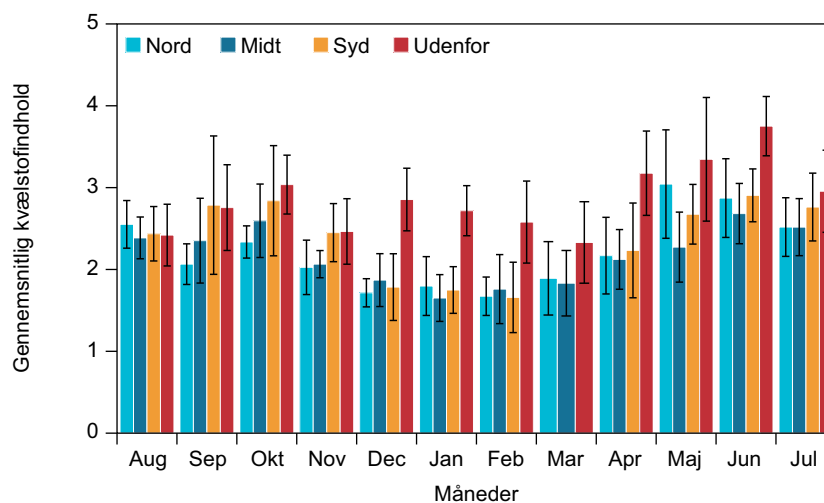
Der er tydelig forskel på kvælstofindholdet i ekskrementen både udenfor heget og i de tre forskellige områder indenfor heget og mellem de forskellige måneder (Figur 6.7, Tabel 10.6). Der er signifikant forskel på kvælstofindholdet i parvise sammenligninger af områderne med undtagelse af syd-nord og nord-midt (Tabel 10.7). Kvælstofindholdet er højest i prøverne udenfor heget, og indenfor heget har prøverne fra syd det højeste indhold kvælstof. Der er også signifikant forskel på parvise sammenligninger af måneder, der ligger i forskellige sæsoner (sammenligninger af vintermånederne december, januar, februar og marts med måneder i vækstsæsonen april, maj, juni, juli og august), hvor kvælstofindholdet er højest i vækstsæsonen (Tabel 10.8).

Kvælstof er generelt en begrænsende faktor for planteædere, og derfor er plantedele og -arter med et højt kvælstofindhold attraktive fødeemner (Mattson 1980). Græsser har et forholdsvis højt kvælstofindhold på ca. 1-5%, og plantedele i vækst, fx nye blade og skud, indeholder mere kvælstof end de ældre dele af planterne (Mattson 1980). Hel høstet havre, som dyrene indenfor heget havde adgang til som vinterfoder, indeholder til sammenligning ca. 1,62-1,77 % kvælstof (Grant 2002). Adgangen til vintersæd, som er friske blade af græs, udenfor heget kan altså forklare den store forskel i kvælstofindholdet om vinteren.

En sammenligning af kvælstofindholdet i prøver indsamlet i felten og prøver indsamlet fra nedlagte dyr, hvor fordampningen er minimal, viste en signifikant forskel (Figur 10.2). En øget fordampning fra prøver indsamlet i felten om sommeren kan altså forklare, hvorfor kvælstofindholdet i

månederne juni-september, hvor vi kan antage, at der er mange friske skud og blade til rådighed for dyrene, mod forventning er relativt lavt. Det gennemsnitlige kvælstofindhold i prøverne fra krondyr i dyrehaven varierer fra $1,70\% \pm 0,05$ SE i januar til $2,81\% \pm 0,07$ SE i juni, hvor kvælstofindholdet er højest. Til sammenligning er kvælstofindholdet i ekskrementer fra krondyr i et skovområde med enge i Tjekkiet $1,62\% \pm 0,19$ SE om vinteren og $3,74\% \pm 0,26$ SE i starten af planternes vækstsæson (Kamler & Homolka 2005). I Skotland var det gennemsnitlige kvælstofindhold i krondyrenes maveindhold $1,2-1,5\%$ om vinteren (Latham, Staines & Gorman 1999). Baseret på kvælstofindholdet i ekskrementer, æder krondyrene i Klelund en ringere kvalitet føde om sommeren end krondyrene i Tjekkiet, mens de om vinteren æder en bedre kvalitet føde end krondyrene i Tjekkiet og Skotland. Denne forskel kan skyldes at krondyrene i Klelund har adgang til tilskudsfoder.

Figur 6.7. A. Gennemsnitligt kvælstofindhold ($\pm$ standard afvigelse) i prøverne indsamlet hver måned i de 4 områder.

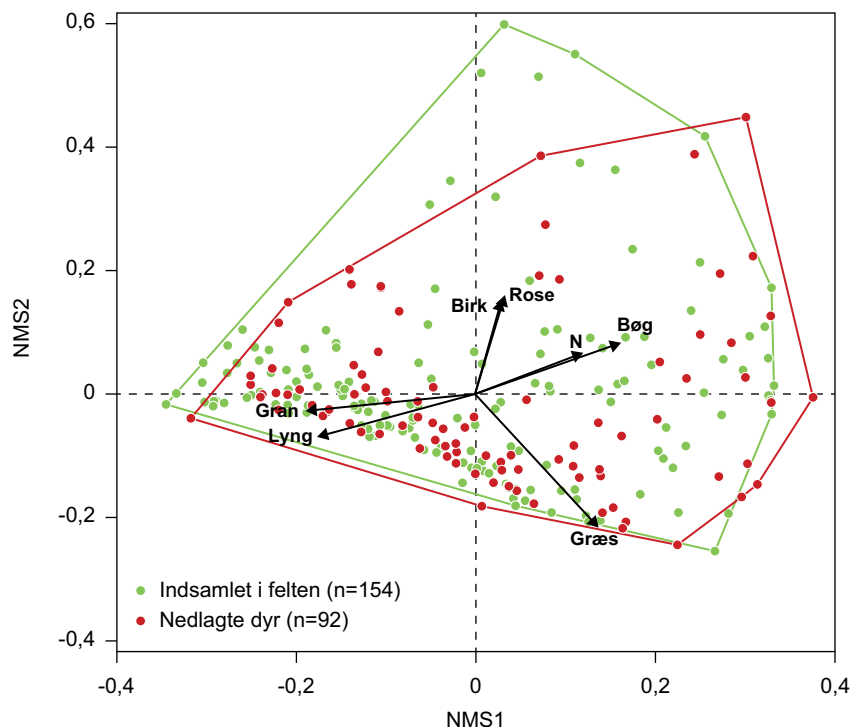


6.4 Krondyrenes fødevalg og individets kondition

Nedlagte dyr er udvalgte efter en demografisk afskydningsplan for dyrehaven og dermed er dette del-datasæt ikke nødvendigvis et repræsentativt udvalgt af bestanden af krondyr i dyrehaven eller sammenlignelig med de tilfældigt indsamlede prøver fra felten. Ordinationen af variationen i fødesammensætningen af prøverne indsamlet fra nedlagte dyr og prøver fra felten i samme tidsperiode viser, at der er meget stort overlap (**Figur 6.8**). Vi kan derfor godt perspektivere vores resultater fra delprojektet på nedlagte dyr til det større datasæt indsamlet i felten.

Modelselektionen viser, at der er stor forskel mellem de forskellige aldersklasser og køn. Kanonbenets længde er som forventet en vigtig forklarende faktor for dyrenes vægt, og relationen er altid positiv, og for kalvene er det den eneste vigtige forklarende variabel, om end den ikke er signifikant for spidshjorte og hinder (**Tabel 6.1**). Resultaterne for kalvene stemmer overens med, at de prioriterer vækst og ikke oplagrer meget fedt og muskelvæv. Desuden udviser de endnu ikke store kønsforskelle. Men der er en forholdsvis stor andel af variationen i kalvenes vægt, som ikke kan forklares, men kan fx skyldes forskelle i mødrenes kondition, genetisk variation etc.

Figur 6.8. Variationen i fødesammensætningen i nedlagt vildt versus variationen i fødesammensætningen i prøver indsamlet i felten i tilsvarende tidsperiode (jagtsæsonen).



Tabel 6.1. Modelselektion og - resultater af log(vægt) som afhængig variabel. Datasættet er delt op på kalve (både hanner og hunner), spidshjorte, smalhinder og adulte (>2år) hinder og hjorte. Det var ikke muligt at lave en model for smalhinder grundet det lave antal. For hinderne var der ikke nogen signifikante forklarende variable. Den bedste model er markeret med fed. LogKB, log-transformeret kanonbenslængde. Alle forklarende variable står til højre for skæringspunktet og alle er kontinuerte med undtagelse af Køn, som er en faktor (1=hinder, 2=hjorte). Kanonbenets længde var meget tæt på signifikant for hjorte >2 år i model 1 ($p=0.06$) og derfor blev den tilføjet i model 3, hvor den viste sig at være signifikant og desuden faldt AIC og R^2 øgedes. Visuel inspektion af qq-plots og residual-plots viser, at der er problemer med normalitet og heterogenitet i modellerne for spidshjorte, hjorte >2 år og hinder >2 år, mens modellen for kalvene ikke viser nogle tydelige overtrædelser.

GLS	N	Skæringspunkt	LogKB	Køn(2)	Dage	N	NMS1	NMS2	NMS3	AIC	R^2
1.Log(vægt); kalve	34	-1.63	1.51**	0.03	0.00	-0.05	0.15	-0.08	0.17	3.82	43.14
2.Log(vægt); kalve	34	-2.13	1.83***							-24.93	31.58
1.Log(vægt); spidshjorte	13	-1.11	0.88		0.01**	0.33*	0.60	-1.27*	0.00	4.64	83.49
2.Log(vægt); spidshjorte	13	1.73*			0.00**	0.34*		-1.46*		4.50	63.09
1.Log(vægt); smalhinder	4										
1.Log(vægt); hjorte >2år	21	-4.10	2.73		-0.00	-0.04	1.35*	0.52	-0.50	18.25	57.54
2.Log(vægt); hjorte >2år	21	4.49***					0.82			10.17	14.12
3.Log(vægt); hjorte >2år	21	-7.15	3.57**				0.85*			2.62	41.61
1.Log(vægt); hinder >2år	19	1.52	1.71		0.00	-0.03	-0.03	-0.58	-0.20	-2.05	33.49

En stor del af variationen i spidshjortenes vægt kan forklares ud fra fødesammensætningen og -kvaliteten, mens tidspunkt på året spiller en mindre rolle. Hjortene >2 år viser et lignende resultat, dog er kun fødesammensætningen signifikant. På grund af det lille antal smalhinder var det ikke muligt at lave en model for disse, og for hinder >2 år var det ikke muligt at finde signifikante forklarende variable. Der er altså andre forhold, fx mælkeproduktion, drægtighed og social struktur (Clutton-Brock m.fl. 1982), som vi ikke har taget højde for her, men som er afgørende for hindernes vægt.

Manglen på signifikans i ovenstående modeller, samt problemer med normalitet og heterogenitet i residualerne, kan skyldes de lave antal individer i hver model og derfor rapporterer vi også en samlet model for hele datasættet, hvor køn og alder i stedet indgår som forklarende variable. Den samlede model viser lignende resultater; kanonbenets længde samt fødesammensætning er de vigtigste forklarende variable for vægten, og der er en signifikant positiv effekt af at være voksen hjort (dvs. interaktionen alder(2):køn(2), se Tabel 6.2).

Tabel 6.2. Modelselektion og - resultater af log(vægt) som afhængigvariabel for hele datasættet. Den bedste model er markeret med fed. Alle forklarende variable står til højre for skæringspunktet og alle er kontinuerte med undtagelse af køn (1=hinder, 2=hjorte) og alder (0=kalve, 1=smalhinder/spidshjorte, 2=hinder og hjorte >2år), som er faktorer. LogKB, log-transformeret kanonbenslængde. Visuel inspektion af qq-plot or residual-plot viser ingen tydelige problemer med normalitet og heterogenitet.

GLS	n	Skærings-	logKB	Alder(1)	Alder(2)	Køn(2)	Dage	N	NMS1	NMS2	NMS3	Alder(1):	Alder(2):	AIC	R ²
		punkt										Køn(2)	Køn(2)		
Log(vægt)91	-1.40	1.47***	0.21***	0.62***	0.15**	0.00	-0.00	0.55***	0.54***	0.17				-12.11	59.82
Log(vægt)91	-1.27	1.52***	0.19**	0.60***	0.11**			0.50***	0.47***					-31.98	59.61
Log(vægt)91	-1.24	1.53***	0.46*	0.29*	0.04			0.34**	0.34*			-0.14	0.22*	-34.69	61.06

Kvælstofindholdet, som antages at afspejle fødekvalitet, er kun signifikant som forklarende variabel for spidshjortene. Dette er måske overraskende, da kvælstof er et vigtigt element i dyrenes føde (Mattson 1980), og kondition og vægt forventeligt afhænger af fødens kvalitet. Men kvælstofindhold er ikke det eneste vigtige element i føden for krondyrene. Et studie i variationen i fødeelektionen hos hinder har vist, at der er en stor præference for føde med et højt sukkerindhold, og at de udvælger og varierer føden med årstiderne, så den passer til deres behov (Verheyden-Tixier m.fl. 2008). Lignende kunne man forvente var tilfældet for hjortene >2 år, hvor netop fødesammensætningen, men ikke kvælstofindholdet, viser sig at være signifikant. Der er altså nogle køns- og aldersrelaterede forskelle i fødepræference, som kommer til udtryk i vægten.

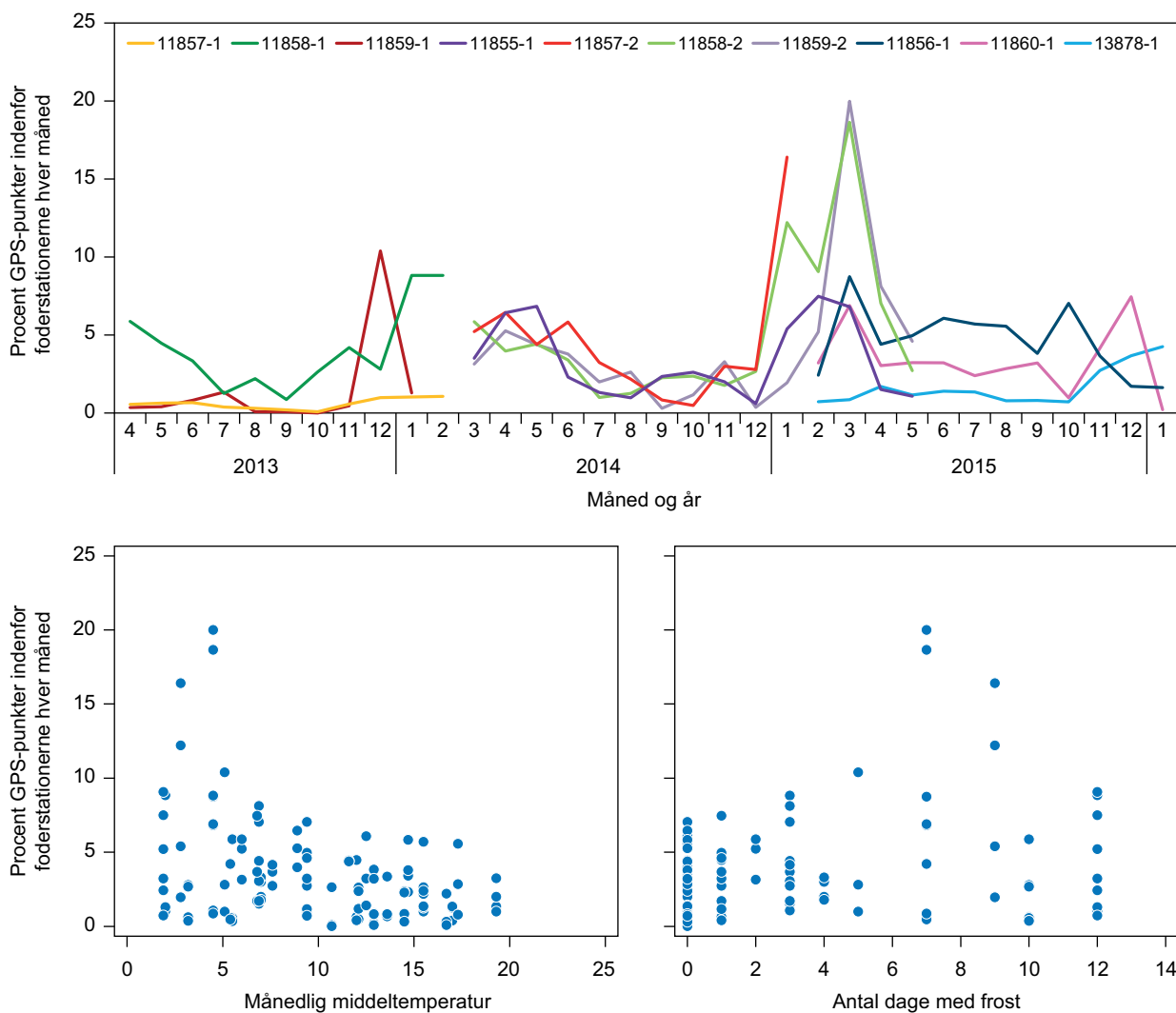
Tilsammen danner resultaterne et billede af, at forskelle i de to køns adfærd og biologi og dermed forskelle i deres fødepræferencer, udløser en forskel i deres vægt. Vi ved fra observationer i dyrehaven, at de store hjorte primært holder til i syd, hvorimod hinderne primært findes i nord og midt. Eftersom området, som dyrene færdes i, har stor betydning for fødesammensætningen, kan det forklare den signifikante positive effekt af at være voksen hjort på dyrenes vægt (Tabel 6.2). Tidligere studier har desuden vist, at social rangering har betydning for hvad krondyrene æder, således at dominerende hjorte indtager den højeste kvalitet føde (Appleby 1980). Hjortene har særligt brug for at tanke op efter brunsten i efteråret, og i denne periode har prøverne fra syd det højeste kvælstofindhold. Omvendt har hinderne brug for energi og høj fødekvalitet i foråret og sommeren under drægtighed og mælkeproduktion.

6.5 Tilskudsfoder

Antallet af GPS-positioner, der falder indenfor foderstationerne, har vi brugt som en proxy for, hvornår dyrene udnytter tilskudsfoderet. Resultaterne er vist i Figur 6.9. Det ses tydeligt, at dyrenes besøg ved foderstationerne stiger igennem vintermånederne og er hyppige i december, januar, februar og marts. Der er også mange GPS-punkter ved foderpladserne i april, maj og juni, og dette skyldes sandsynligvis, at når vækstsæsonen starter, er foderstationerne, der ofte ligger i kanten af vildtagre eller andre åbne græsarealer, attraktive

pga. den naturlige plantevækst på arealerne. Man kan forestille sig, at udyttelsen af tilskudsfoderet varierer med vejret, således at dyrene vil benytte sig mere af tilskudsfoderet i perioder med kulde og særligt snedække. På trods af at begge vintre er karakteriseret af meget milde temperaturer, få dage med frost og meget lidt snedække, så kan man se, at besøgene ved foderstationerne øges ved lave temperaturer, mens sammenhængen med antal dage med frost er mindre tydelig Figur 6.9.

Dette billede er også reflekteret i krondyrenes habitatseleksion, hvor vi kan se en tydelig præference for foderpladserne over de andre habitater i vintermånederne og det tidlige forår (Figur 6.1).



Figur 6.9. Hvornår udnyttes tilskudsfoderet? Øverst: Procent GPS-punkter, der falder indenfor foderstationerne hver måned. Foderstationerne er åbne områder, typisk vildtagre eller rydninger i skoven, hvor der tilbydes tilskudsfoder i perioden fra december til hen på foråret, ca. april måned. Serien er angivet med halsbåndenes id-nummer samt 1 og 2 for første eller anden gang halsbåndet var i brug. Generelt om de mærkede dyr (primært område dyret færdes i og køn): 11857-1 (midt, hjort), 11858-1 (syd, hjort), 11859-1 (nord, hjort), 11855-1 (midt, hind), 11857-2 (syd, hjort), 11858-2 (midt, hjort), 11859-2 (nord, hind), 11856-1 (syd og midt, hind), 11860-1 (syd og midt, hind), 13878-1 (midt og nord, hind). Nederst tv: Procent GPS-punkter indenfor foderstationerne hver måned som funktion af den månedlige middeltemperatur. Nederst th: Procent GPS-punkter indenfor foderstationerne hver måned som funktion af antallet af dage med frost per måned.

Tilskudsfoderet består både af wrapphø og hel havre. Hel havre kan være svær at identificere ud fra DNA-sekvenserne, både fordi hel havre indeholder ringe mængder kloroplast-DNA, men også fordi vi ikke kan adskille de forskellige græsser ud fra de stumper DNA, der var til stede i prøverne. Høet består af urter og græs, og ud fra deres dækningsgrad (Tabel 5.1) udgør urter den største del af høet.

Hvis dyrene æder meget tilskudsfoder i form af wrapphø, vil vi altså forvente at se en relativ stor andel af urte-sekvenser i prøverne indsamlet om vinteren. Men dette er ikke tilfældet (Figur 6.4). Langt den største del af sekvenser om vinteren stammer fra græs. En del af disse sekvenser stammer sandsynligvis fra høet og fra havren, og kan også forklare hvorfor mængden af lyng er mindre end forventet i forhold til Jensen (1968). I marts og april stiger andelen af græssekvenser yderligere, og dette kan skyldes, at den havre, der blev fordelt ud på jorden siden december har spiret og indeholder mere kloroplast-DNA. I overensstemmelse med dette stiger kvælstof-indholdet i prøverne i samme periode.

Sidst men ikke mindst kan den store andel af græssekvenser om vinteren stamme fra naturlige græs-fødeemner, som vælges på grund af deres sukkerindhold (Verheyden-Tixier m.fl. 2008). Bølget bunke, som ellers ofte anses som af ringe ernæringsmæssig kvalitet, er grøn hele året og har tidligere vist sig at være en vigtig føderesource for krondyr om vinteren (Jensen 1968). Bølget bunke findes i vid udstrækning i dyrehaven, både på heden og i skoven. Habitatselektionen viser også, at dyrene opsøger græslandet i samme periode, som tilskudsfoderet bliver tilbudt (Figur 6.1).

6.6 Krondyrenes fødevalg udenfor hegnet

Figur 6.3 kan man se, at krondyrenes fødeniche udenfor hegnet varierer i forhold til krondyrene i områderne indenfor hegnet i løbet af året. Om vinteren er der større lighed i fødens sammensætning indenfor hegnet og udenfor hegnet. I planternes vækstsæson er der mindre overlap og i maj, juni og juli er der næsten intet overlap mellem fødevalget indenfor og udenfor hegnet.

Krondyrene udenfor hegnet kan færdes frit i kulturlandskabet, som i dette område i stor udstrækning er opdyrket landbrugsland og i mindre grad skovbrug og næringsfattige naturarealer som heder og indlandsklitter. Ejendommens arealer udenfor hegnet består primært af tidligere nåleplantage og en mindre andel løvskov. Arealerne fungerer som en steppingstone for krondyr, der vandrer gennem landskabet. I overensstemmelse med dette indeholder prøverne udenfor hegnet en stor andel sekvenser fra græs-, gran-, lyng-, bøge-, rosen-, pile- og birkefamilien.

Fra Tabel 10.2 kan man udlede de generelle ligheder og forskelle i krondyrenes føde indenfor og udenfor hegnet. Hvis man sammenligner de vigtigste fødeemner, der forekommer i mere end 20% af prøverne, så minder området udenfor hegnet meget om områderne indenfor hegnet. Trods den store lighed i de plantesekvenser, der forekommer oftest i føden, så er der stor forskel på, hvor hyppigt de forekommer indenfor og udenfor hegnet. Udenfor hegnet forekommer sekvenser fra gran-, lyng- og ærteblomstfamilien sjældnere, hvorimod sekvenser fra bøge-, rosen-, pile-, og birkefamilien forekommer oftere end indenfor hegnet. Vi finder da også konsekvent signifikante forskelle mellem området udenfor hegnet og områderne indenfor hegnet med hensyn til fødesammensætningen (Tabel 10.4).

Udenfor hegnet har dyrene ædt planter af amarantfamilien. Amarantfamilien forekommer i mere end 10% af prøverne og omfatter almindelige afgrøder som fx foderbede og sukkerroe, men også ukrudstplanter fra slægterne gåsefod og mælde. Udenfor hegnet har dyrene også ædt planter fra korsblomstfamilien, som forekommer som fx raps og roer i det dyrkede land, og planter fra violfamilien, fx stedmoderblomster, der forekommer som "ukrudt" i dyrkede marker. Dog indeholder fodermarkerne indenfor hegnet og dermed tilskudsfoderet også stedmoderblomster (Tabel 5.1). At sekvenser fra violfamilien ikke findes indenfor hegnet, kan muligvis skyldes nedbrydningsgraden af wraphø-materialet, eller at violerne udgør så lille en andel af føden, at det er blevet "overset" i analyserne. Dyrene udenfor hegnet har i mindre grad ædt af elm, hestekastanje og natskygge (fx kartoffel og tomat). Omvendt, er der også fødeemner, som ikke er blevet ædt eller er blevet ædt i mindre grad udenfor end indenfor hegnet. Sekvenser fra krap-, kodriver-, og porsfamilien (fx snerre, fredløs, skovstjerne, pors) er stort set ikke fundet i prøverne udenfor hegnet, og de forekommer ellers i >10% af prøverne i Nord. Halvgræs og siv, som forekommer i >17% af prøverne indenfor hegnet, forekommer i <5% af prøverne udenfor hegnet.

Hvor stor en andel af krondyrenes føde udenfor hegnet, der udgøres af afgrøder er svært at udrede, da den taksonomiske opløsning på sekvenserne ikke er høj nok. Mange afgrøder som fx majs, havre og hvede bliver identificeret som græs på familie-, underfamilie- eller slægtsniveau. Da afgrøderne i græsfamilien er spredt ud over det taksonomiske træ, er det derfor meget vanskeligt at adskille afgrøderne fra de vilde græsser. Det samme gælder andre familier, som fx korsblomstfamilien, som både indeholder nogle af de mest almindelige afgrøder, som fx raps, men også mange vilde blomsterarter.

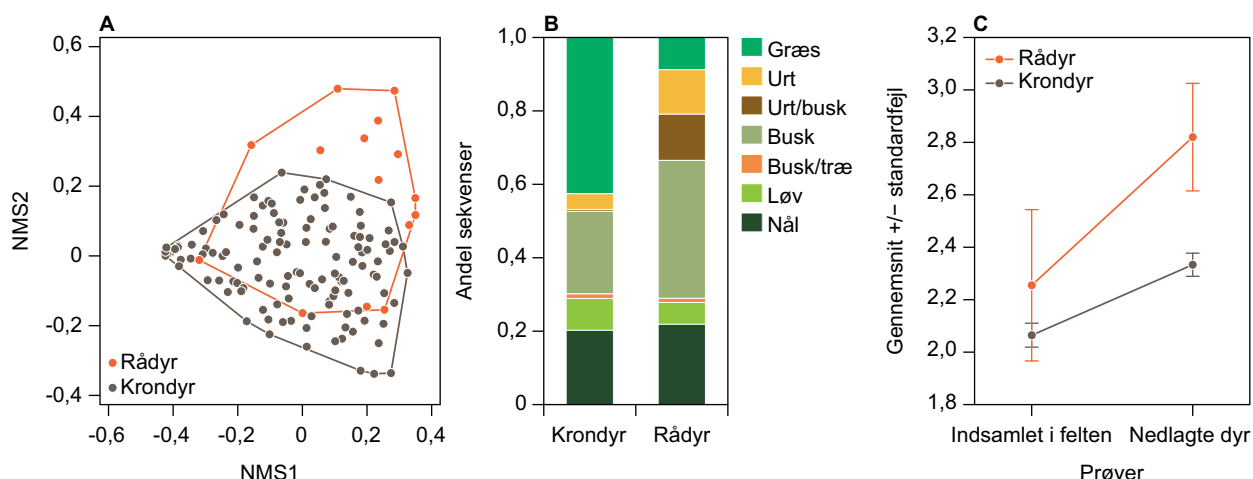
Krondyrene foretrækker afgrøder i god vækst og kvalitet, som er velforsynet med vand og gødning (Asferg & Olesen 2004). I tråd med dette indeholder prøverne udenfor hegnet større mængder kvælstof end indenfor hegnet i alle måneder undtagen august og september (Figur 6.7). Der er signifikant forskel på kvælstofindholdet udenfor hegnet og områderne indenfor hegnet på tværs af månederne (Tabel 10.7). Det gennemsnitlige kvælstofindhold i prøverne udenfor adskiller sig særligt i vintermånederne, hvor det er relativt højt, og kvælstofindholdet i alle tre områder indenfor hegnet er relativt lavt. Forskellen kan skyldes, at dyrene udenfor hegnet har mulighed for at benytte vintersæd som fødekilde. I Figur 10.1 kan man se, at prøverne udenfor hegnet indeholder en meget stor andel sekvenser fra græs netop i disse måneder. Tilsvarende indeholder prøverne indenfor hegnet en mindre andel græs. Forskellen kan skyldes, at dyrene udenfor hegnet æder friske skud fra vintersæd, som indeholder store mængder DNA, mens dyrene indenfor hegnet godt nok æder wraphø og havre, men disse fødeemner indeholder ikke så store mængder DNA.

6.7 Rådyrene i Klelund Dyrehave

Fødesammensætningen hos krondyr og rådyr (september, oktober, november og december 2013 og januar 2014) viser et stort overlap i deres fødenicher, men også at de adskiller sig (Figur 6.10 A). Der er signifikant forskel på rådyrenes og krondyrenes placering mht. deres fødesammensætning (Der er signifikant forskel på rådyrenes og krondyrenes placering på ordinationsakserne, Tabel 10.10). På grund af det lave antal prøver fra rådyrene har det ikke været muligt at lave en opdeling på måneder eller områder, så det er muligt, at det store overlap i dyrenes fødeniche afspejler et overlap i tid og rum. Med andre ord, dyrenes fødenicher kan være yderligere separeret på en given årstid eller

i et givent habitat end figuren her illustrerer. Rådyrene æder betydelig mindre græs og mere buske og urter end krondyrene (Figur 6.10 B). Denne forskel skyldes tilsyneladende, at lyng- og rosenfamilien udgør vigtigere fødeemner for rådyrene end krondyrene (Tabel 10.11).

Vores resultater er i tråd med den gængse opfattelse af rådyrene som *browsere* og krondyrene som mere *græssende*. Et studie af maveindhold fra rådyr og krondyr i Skotland har fundet lignende resultater med hensyn til sammensætningen af føden (Latham m.fl. 1999). Studier af rådyrenes fødevalg og -niche har vist, at rådyrene er selektive i deres fødevalg, og deres fødeniche er mindre og indlejret i de større dyrs fødeniche (elg og krondyr) (Tixier m.fl. 1997, Nichols m.fl. 2015).



Figur 6.10. Rådyrenes fødesammensætning og -kvalitet sammenlignet med krondyrenes: A. Variationen i fødesammensætningen hos krondyr (n=217) og rådyr (n=15) i månederne september, oktober, november, december og januar (måneder for hvilke der er indsamlet prøver fra rådyr). NMS er lavet på afstandene mellem prøverne baseret på deres frekvens af sekvenser i den laveste taksonomiske fællesnævner. B. Fødesammensætning opgjort som andel sekvenser fordelt på forskellige plantevækstformer. Gruppen Urt/Busk indeholder rosenunderfamilien Rosoideae, som både indeholder urter og buske og derfor ikke kan adskilles. Gruppen Busk/Træ indeholder bl.a. kirsebærslægten og æblestammen, som omfatter arter af både træer og buske. C. Gennemsnitligt kvælstofindhold $\pm$ standardfejlen i prøverne fra rådyr og krondyr indsamlet fra ekskrement i felten og indsamlet fra nedlagte dyr (RådyrFelt n=4, RådyrNedlagt n=9, KrondyrFelt n=124, KrondyrNedlagt n=92). Tukey-testen viser, at der er signifikant forskel på kvælstofindholdet i prøverne fra nedlagte rådyr og krondyr, men ikke på kvælstofindholdet i prøver indsamlet i felten.

Analyser af kvælstofindholdet i prøver fra rådyr sammenlignet med prøver fra krondyr viste umiddelbart, at rådyrenes ekskrement indeholdte mere kvælstof end krondyrenes (Figur 6.10). Dog var størstedelen af prøverne fra rådyr indsamlet fra nedlagte dyr, og det øgede kvælstofindhold kan derfor skyldes den mindskede kvælstoffordampning. ANOVA og Tukey-tests viste, at det kun var i prøverne fra rådyr og krondyr indsamlet fra nedlagte dyr, at denne forskel var signifikant og ikke i prøverne indsamlet i felten. Det gennemsnitlige kvælstofindhold i prøverne (på tværs af indsamlingsmetode) fra rådyr er $2,65\% \pm 0,18$ SE og for krondyr er det $2,24\% \pm 0,03$ SE. Til sammenligning var det gennemsnitlige kvælstofindhold i ekskrement fra rådyr i kulturlandet i Frankrig ca. $3,25\%$ i efteråret i åbne habitater og lidt lavere i skove og om vinteren (Verheyden m.fl. 2011). I et område med granplantage og en lille andel løvtræer i Tjekkiet varierer kvælstofindholdet i rådyr ekskrementer fra $3,97\%$ ved vækstsæsonens start til $1,47\%$ om vinteren (Kamler & Homolka 2005). I Skotland var det gennemsnitlige kvælstofindhold i rådyrenes maveindhold $1,6$ - $1,8\%$ om vinteren (Latham m.fl. 1999). Rådyrene i Klelund placerer sig altså mellem det antageligt næringsrige franske kulturlandskab og de forholdsvis næringsfattige plantager i Skotland.

7 Konklusioner og perspektivering

7.1 Krondyrenes habitatseleksion og fødevalg

Krondyrenes føde i Klelund Dyrehave stemmer overens med tidligere undersøgelser af krondyrenes føde i Danmark og Europa. Så på trods af, at krondyrene frie bevægelighed er hindret, og de er begrænset til de fødeemner, der nu en gang er til rådighed i dyrehaven, viser deres fødevalg altså ingen store afvigelser fra, hvad vi ellers ved om krondyrenes føde i store ikke-hegnede næringsfattige naturområder (Jensen 1968, Petersen 1998).

Krondyrenes fødevalg varierer i løbet af året og tilpasses årstidsvariationen i fødetilgængeligheden. Desuden spiller fødekvaliteten, fx N-indhold, og dyrenes køns- og aldersrelaterede behov sandsynligvis en rolle for, hvad dyrene vælger at æde på forskellige tidspunkter af året (Verheyden-Tixier m.fl. 2008). Der er også stor rumlig variation i føden, og der er tydelig sammenhæng mellem hvilke sekvenser vi finder i prøverne, og hvad der gror i det område, hvor prøverne er fundet. Der er også overensstemmelse mellem årstidsvariationen i dyrenes præference for forskelligt habitat, og hvad dyrene æder i løbet af året.

Plantagen udgør den største del af dyrehaven, men det kun er en mindre del af plantagen, der faktisk er attraktiv for dyrene. Vi kan se, at de foretrækker de yngre bevoksninger, da disse leverer det bedste fødegrundlag og skjul. Ældre bevoksninger er mindre interessante, typisk fordi stammerne bliver så høje, at der er meget lidt skjul mellem de nøgne stammer, friske skud er uden for rækkevidde, og der er langt mindre græs og urter i bunddækket når trækrønerne slutter sammen og lukker af for lyset. Der er også stor forskel på præferencen for de forskellige typer bevoksninger. Dette kan selvfølgelig også reflektere alderen på de forskellige typer bevoksninger. Det er oplagt at tænke disse resultater ind i den generelle forvaltning af dyrehaven og planlægningen af konvertering fra plantage til frie successionsstadier. Ud over at parcellerne udlagt til fri succession, i det mindste i de tidlige stadier, bidrager til det lysåbne græsland, som vi har valgt at kalde de lysåbne græsdominerede vegetationstyper, så er det også her, at mange træer sætter frø og spirer i stor udstrækning. Frøpuljen i dyrehaven stammer overvejende fra de mange nåletræer, og der er derfor en massiv opvækst af nåletræer på græslandet og måske særligt på de nyligt konverterede områder, der ligger omgivet af parceller med nåletræer. Opvæksten af de unge træer kan være en vigtig føderessource for dyrene, særligt om vinteren, og kan være med til at forklare, hvorfor græslandet er relativt attraktivt i vinterperioden.

Perioden i starten af projektet var usædvanlig, da en meget hård vinter i 2012 blev efterfulgt af en tør sommer i 2013. Habitatvalget i sommeren og efteråret 2013 adskiller sig fra de to efterfølgende år, som ikke var ramt af de samme usædvanlige vejrforhold. Men denne afvigelse giver et indblik i, hvilke fødekilder dyrene opsøger som alternativ, når de er pressede. Græslandet har ikke været attraktivt under de tørre vejrforhold, og i stedet har dyrene søgt til løvskoven. Så selv om løvskoven ellers sjældent har et indeks over 0, så er den sandsynligvis vigtig som alternativ fødekilde i tørkeperioder.

7.2 Krondyrenes fødevalg og individets kondition

Som i andre studier er vi også begrænset af, at vi kun har data fra jagtsæsonen. Vi finder, at fødesammensætningen og -kvaliteten betyder mest for spidshjortenes og de voksne hjortes vægt, og dette kan netop hænge sammen med, at hjortenes kondition efter brunsten er mere afhængig af fødeindtaget end på andre tidspunkter af året.

På tidspunktet for vores undersøgelser (2013-14) havde Klelund Dyrehave kun været heget i ca. 3 år, og det må derfor forventes, at en relativ stor andel af krondyrbestanden er vokset op, inden heget blev sat, og de har derfor i en periode af deres opvækst haft adgang til næringsrige afgrøder udenfor det der dengang hed Klelund Plantage. Samtidig er der en del af bestanden, som er vokset op efter heget er sat. Den konditions-mæssige effekt af at afskære krondyrene adgangen til de næringsrige marker, vil manifestere sig med en vis forsinkelse.

Kalvene prioriterer vækst og oplagrer ikke så meget fedt og muskeltvæv, og deres vægt kan derfor bruges som et udtryk for bestandens trivsel. Deres vægt er positivt korreleret med kanonbenets længde, selv om der også her er en del uforklaret variation, som fx kan skyldes moderens kondition. Vægten af kalvene i Klelund Dyrehave ligger på et gennemsnit på 29,4 kg og altså lavere end kalvene i Oksbøl (1985-2012) og på Djursland (2008-2013), som har en gennemsnitsvægt på ca. 30-40 kg (se Figur 20 i Sunde & Haugaard 2014). Dette bør dog ikke nødvendigvis være en bekymring, da den lavere vægt sandsynligvis er et resultat af, at krondyrene indenfor heget har en mindre kulturpåvirket fødesammensætning, end fritgående krondyr i kulturlandet.

7.3 Betydningen af tilskudsfoder

Tilskudsfodringen har en stor betydning for græsningseffekten af krondyrene i dyrehaven. Det havde været optimalt at lave et kontrolofforsøg, hvor krondyrene ikke blev tilbudt tilskudsfoder for at se effekten af tilskudsfoderet. Dette har dog ikke været muligt, og i stedet kan vi diskutere, hvilke effekter tilskudsfoderet har på krondyrenes økosystemeffekter. Et tidligere studie af krondyrenes føde har vist vigtigheden af lyng og græs for krondyrene om vinteren (Jensen 1968), og at i hvert fald hinderne udsøger græsset på grund af det relativt høje sukkerindhold (Verheyden-Tixier m.fl. 2008).

Et fravær af tilskudsfoderet vil sandsynligvis øge krondyrenes indtag af lyng, som allerede er et hyppigt fødeemne om vinteren, hvilket også vil være i overensstemmelse med det tidligere studie af krondyrs fødeselektion, der viser et øget indtag af hedelyng om vinteren (Jensen 1968). En almindelig forventning er, at det vil forynge lyngen og reducere tilgroningen på heden, da dyrene også vil æde af de vedplanter, der i øvrigt vokser mellem lyngen (Bullock & Pakeman 1997). Desuden vil krondyrene sandsynligvis indtage mere af de fødekilder, vi kan se, at dyrene allerede benytter sig af om vinteren, dvs. græs og nål. Det ville antageligt efterlade en del af de lysåbne økosystemer med tydeligere effekter af græsning og tråd og dermed mulighed for vegetationsbrud i plantesamfund med dominans af tuedannende, flerårige græsser som fx bølget bunke og blåtop.

Tilskudsfoderet har en betydning for dyrevelfærden i dyrehaven i og med at fodringen antageligt er med til at mindske vinterdødeligheden betydeligt. Ved at indhegne dyrene påtager ejer sig et ansvar for dyrenes trivsel, og dyrevelfærden er da også den primære årsag til tilskudsfodringen. Hvordan et

ophør af tilskuds fodring i dyrehaven præcist vil påvirke dyrevelfærden er svært at forudsige. Der sker en væsentlig bestandsregulering gennem jagt hvert år, og det må vi antage kommer den værste vinterdødelighed i forkøbet. Det er ikke usandsynligt, at man vil kunne forvalte uden tilskudsfoder med den nuværende bestandsstørrelse og regulering samt en yderligere konvertering af plantage til lysåben natur med græs og lyng, som dyrene kan benytte i stedet for tilskudsfoder. Men igen, vil dette være meget afhængigt af vinteren, da en længere periode med snedække i så fald ville afskære dyrene fra denne fødekilde. Hegnede naturområder uden tilskudsfodring er udbredt i Holland, hvor man stræber efter en forvaltning med så lidt menneskelig indblanding som muligt, fx i Veluwezoom Nationalpark. Veluwezoom består mest af bakket og sandet morænelandskab men også tidligere landbrugsjord og plantage (Schneekloth & Ibsen 2001). Områdets biomasse er ca. 3,7 t/km² og inkluderer udover krondyrene også vildsvin, kvæg og heste (Præsentation af Jeroen de Koe, 2014). Tilsvarende er biomassen i Klelund ca. 2,5 t/km². I Holland er der dog mulighed for reaktiv regulering af populationen, dvs. at det er muligt, at regulere bestanden udenfor jagtsæsonen, hvis det vurderes nødvendigt ud fra et dyrevelfærdssynspunkt eller ud fra effekter på eller konflikter med andre interesser i området. Da Klelund Dyrehave ikke kan benytte sig af reaktiv regulering, må man regulere bestanden proaktivt i jagtsæsonen, dvs. at man er nødt til at regulere bestanden i efteråret, inden man reelt set kan vurdere, hvor hård vinteren bliver, og hvad fødetilgængeligheden vil være i løbet af vinteren, og dermed hvor trængte dyrene bliver i løbet af vinteren.

Sidst men ikke mindst har udlægningen af arealer til høslæt en betydning for den generelle forvaltning af Klelund Dyrehave med biodiversitet til formål. Produktionsarealerne omlægges og tilsås med næringsrige foderplanter og bidrager således ikke til biodiversiteten og naturværdien i dyrehaven. Hvor fodermarkerne har islet af vilde blomster, kan de sågar have en negativ effekt på biodiversiteten, da de mange blomster vil tiltrække insekter og andre dyr, som så må lade livet under høsten, og markerne kan derfor fungere som en såkaldt *sink* i landskabet.

Når tilskudsfodringen om vinteren sker med eget sommerhøslæt, vil det også kunne forskubbe den balance, der normalt er i et helårsgræsset landskab. Uden tilskudsfoder vil en naturlig sæsonvariation i fødetilgængeligheden skabe en balance, hvor de begrænsede føderessourcer om vinteren regulerer bestandstætheden, og dyrene får ædt godt op af den føde, der er i landskabet. Til gengæld vil den lave bestandstæthed om sommeren tilgodese de vilde planter, som har bedre mulighed for at vokse op og blomstre uden at blive græsset ned af dyrene. Det er til stor gavn for hele insektfaunaen, som kommer til fuld udfoldelse i sommermånederne. Denne balance kan forskubbes ved en udligning af sæsonvariationen i fødetilgængeligheden ved at tilskudsfodre om vinteren.

7.4 Hegnets effekt på græsningen af naturarealer

Afgrøder er både energi- og næringsrige, og derfor vil krondyr, der færdes frit i landskabet, benytte sig af afgrøderne som føderessource. Og ved store tætheder af krondyr i landskabet opstår der ofte udprægede konflikter med andre arealanvendelser, fx landbrug, skovbrug og trafik. Formålet med hegnene er at opretholde en forholdsvis tæt bestand af krondyr og styre denne til at græsse på naturarealer for således at anvende dyrene i naturforvaltning.

gen. En vigtig effekt af hegnet er også, at undgå konflikterne mellem den store bestand af krondyr og de arealanvendelser, der er udenfor hegnet.

Vi kan se, at hegnet har en udtalt effekt både på sammensætningen af føden og på kvælstofindholdet i føden. Selv om der er mange ligheder i fødesammensætningen indenfor og udenfor hegnet, så adskiller føden sig alligevel på nogle vigtige punkter. Indenfor hegnet æder dyrene mere gran, lyng, halvgræs og siv. Ved en højere tæthed af krondyr og en mere naturlig fødevalg må krondyrenes natureffekter, som fx at bidrage til at holde de lysåbne naturtyper fri for tilgroning og foryngelse af lyngen, være mere udprægede indenfor hegnet end udenfor. Hegnet er således en forudsætning for at sikre disse økosystemeffekter af krondyr i et kulturlandskab med mange forskellige arealanvendelser.

7.5 Rådyrene i Klelund Dyrehave

Umiddelbart er der ikke noget i vores undersøgelser, der afviger fra den etablerede viden om rådyr og deres fødevalg i forhold til krondyrenes. Det er svært at konkludere, om rådyrene er i negativ konkurrence med den store bestand af krondyr i dyrehaven. Som arealanvendelsen ser ud på nuværende tidspunkt, er der store arealer, der tilgodeser krondyrene og deres græsning. De store åbne græsdominerede habitater og skovene tilgodeser krondyrene, der har en fordel over rådyrene, fordi de foretrækker græs, og fordi de kan nå højere på træerne. Hvis man ønsker at tilgodeser rådyrene i arealforvaltningen i dyrehaven fremadrettet, så vil etableringen (eller naturlig udvikling) af intermediære successionsstadier med tornede krat af fx roser og slåen, som er ufremkommeligt for de store krondyr, kunne være til fordel for rådyrene. Denne proces er dyrehaven allerede i gang med i konverteringen fra plantage til naturlig græsningsskov med hjemmehørende arter og arealer til fri succession.

8 Referencer

- Apollonio, M., R. Andersen & R. Putman (2010). European ungulates and their management in the 21st century, Cambridge University Press.
- Appleby, M. C. (1980). Social rank and food access in red deer stags. *Behaviour* 74(3): 294-309.
- Appleby, M. C. (1982). The Consequences and Causes of High Social Rank in Red Deer Stags. *Behaviour* 80(3/4): 259-273.
- Asferg, T. & C. R. Olesen (2004). Danmarks hjortevildt. Aarhus, Naturhistorisk Museum.
- Azorit, C., S. Tellado, A. Oya & J. Moro (2012). Seasonal and specific diet variations in sympatric red and fallow deer of southern Spain: a preliminary approach to feeding behaviour. *Animal Production Science* 52(8): 720-727.
- Barboza, P. S. & R. T. Bowyer (2000). Sexual segregation in dimorphic deer: a new gastrocentric hypothesis. *Journal of Mammalogy* 81(2): 473-489.
- Barton, P., S. Cunningham, D. Lindenmayer & A. Manning (2013). The role of carrion in maintaining biodiversity and ecological processes in terrestrial ecosystems. *Oecologia* 171(4): 761-772.
- Bradley, B. J., M. Stiller, D. M. Doran-Sheehy, T. Harris, C. A. Chapman, L. Vigilant & H. Poinar (2007). Plant DNA sequences from feces: potential means for assessing diets of wild primates. *American Journal of Primatology* 69(6): 699-705.
- Bullock, J. M. & R. J. Pakeman (1997). Grazing of lowland heath in England: Management methods and their effects on heathland vegetation. *Biological Conservation* 79(1): 1-13.
- Clutton-Brock, T. H., F. E. Guinness & S. D. Albon (1982). Red deer: behavior and ecology of two sexes, University of Chicago press.
- Danell, K. (2006). Large herbivore ecology, ecosystem dynamics and conservation [electronic resource], Cambridge University Press.
- Danmarks Meteriologiske Institut. Månedens, sæsonen og årets vejr. Retrieved 11/01/2016, 2016.
- Deagle, B., J. P. Eveson & S. Jarman (2006). Quantification of damage in DNA recovered from highly degraded samples—a case study on DNA in faeces. *Frontiers in Zoology* 3(1): 11.
- Deinet, S., C. Ieronymidou, L. McRae, I. J. Burfield, R. P. Foppen, B. Collen & M. Böhm (2013). Wildlife comeback in Europe: The recovery of selected mammal and bird species, Zoological Society of London.
- Flinterup (2013). Hjortevildtoversigten 2013. Jæger 8.

- Forsyth, D. M. & N. E. Davis (2011). Diets of non-native deer in Australia estimated by macroscopic versus microhistological rumen analysis. *The Journal of Wildlife Management* 75(6): 1488-1497.
- Fredshavn, J. (2004). Teknisk anvisning til kortlægning af terrestriske naturtyper, Danmarks Miljøundersøgelser, Aarhus Universitet.
- Fuller, R. J. & R. M. A. Gill (2001). Ecological impacts of increasing numbers of deer in British woodland. *Forestry* 74(3): 193-199.
- Gebert, C. & H. Verheyden-Tixier (2001). Variations of diet composition of Red Deer (*Cervus elaphus* L.) in Europe. *Mammal Review* 31(3-4): 189-201.
- Gill, J. (1961). Die Durchgangszeiten der Nahrung durch den Verdauungskanal und die physischen Eigenschaften des Kotes beim Rothirsch (*Cervus elaphus* L.), 5. Tagung des Intern. Ringes d. Jagdwiss. Bologna.
- Gill, R. M. A. & V. Beardall (2001). The impact of deer on woodlands: the effects of browsing and seed dispersal on vegetation structure and composition. *Forestry* 74(3): 209-218.
- Grant, R. (2002). Kornudbytter og høstet kvælstof-udvikling i perioden 1985-2000. Internt notat, Danmarks Miljøundersøgelser.
- Hobbs, N. T. (1987). Fecal Indices to Dietary Quality: A Critique. *The Journal of Wildlife Management* 51(2): 317-320.
- Hodgman, T. P., B. B. Davitt & J. R. Nelson (1996). Monitoring mule deer diet quality and intake with fecal indices. *Journal of Range Management* 49(3): 215-222.
- Holt, C. A., R. J. Fuller & P. M. Dolman (2010). Experimental evidence that deer browsing reduces habitat suitability for breeding Common Nightingales *Luscinia megarhynchos*. *Ibis* 152(2): 335-346.
- Jensen, P. V. (1968). Food selection of the Danish Red Deer (*Cervus elaphus* L.) as determined by examination of the rumen content. *Danish Review of Game Biology* 5(3).
- Kamler, J. & M. Homolka (2005). Faecal nitrogen: a potential indicator of red and roe deer diet quality in forest habitats. *Folia Zoologica* 54(1/2): 89.
- Kartzinel, T. R., P. A. Chen, T. C. Coverdale, D. L. Erickson, W. J. Kress, M. L. Kuzmina, D. I. Rubenstein, W. Wang & R. M. Pringle (2015). DNA metabarcoding illuminates dietary niche partitioning by African large herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112(26): 8019-8024.
- Kirby, K. J. (2001). The impact of deer on the ground flora of British broad-leaved woodland. *Forestry* 74(3): 219-229.
- Kowalczyk, R., P. Taberlet, E. Coissac, A. Valentini, C. Miquel, T. Kamiński & J. M. Wójcik (2011). Influence of management practices on large herbivore diet—Case of European bison in Białowieża Primeval Forest (Poland). *Forest Ecology and Management* 261(4): 821-828.

- Latham, J., B. Staines & M. Gorman (1997). Correlations of red (*Cervus elaphus*) and roe (*Capreolus capreolus*) deer densities in Scottish forests with environmental variables. *Journal of Zoology* 242(4): 681-704.
- Latham, J., B. Staines & M. Gorman (1999). Comparative feeding ecology of red (*Cervus elaphus*) and roe deer (*Capreolus capreolus*) in Scottish plantation forests. *Journal of Zoology* 247(3): 409-418.
- Leslie, D. M., R. T. Bowyer & J. A. Jenks (2008). Facts From Feces: Nitrogen Still Measures Up as a Nutritional Index for Mammalian Herbivores. *The Journal of Wildlife Management* 72(6): 1420-1433.
- Mattson, W. J. (1980). Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annual review of ecology and systematics* 11: 119-161.
- McKinney, M. A., T. Atwood, R. Dietz, C. Sonne, S. J. Iverson & E. Peacock (2014). Validation of adipose lipid content as a body condition index for polar bears. *Ecology and evolution* 4(4): 516-527.
- Melis, C., I. Teurlings, J. C. Linnell, R. Andersen & A. Bordoni (2004). Influence of a deer carcass on Coleopteran diversity in a Scandinavian boreal forest: a preliminary study. *European Journal of Wildlife Research* 50(3): 146-149.
- Mitchell, B., D. McCowan & I. Nicholson (1976). Annual cycles of body weight and condition in Scottish red deer, *Cervus elaphus*. *Journal of Zoology* 180(1): 107-127.
- Nichols, R., J. G. M. Cromsigt & G. Spong (2015). DNA left on browsed twigs uncovers bite-scale resource use patterns in European ungulates. *Oecologia* 178(1): 275-284.
- Osborn, R. G. & T. F. Ginnett (2001). Fecal nitrogen and 2, 6-diaminopimelic acid as indices to dietary nitrogen in white-tailed deer. *Wildlife Society Bulletin*: 1131-1139.
- Palmer, S. & A.-M. Truscott (2003). Browsing by deer on naturally regenerating Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and its effects on sapling growth. *Forest Ecology and Management* 182(1): 31-47.
- Petersen, M. R. (1998). Botanisk analyse af vomprøver af rådyr (*Capreolus capreolus*) fortrinsvis fra Borris Hede. Master, University of Copenhagen.
- Rackham, O. (2008). Ancient woodlands: modern threats. *New Phytologist* 180(3): 571-586.
- Rayé, G., C. Miquel, E. Coissac, C. Redjadj, A. Loison & P. Taberlet (2011). New insights on diet variability revealed by DNA barcoding and high-throughput pyrosequencing: chamois diet in autumn as a case study. *Ecological Research* 26(2): 265-276.
- Sandom, C., C. J. Donlan, J. C. Svenning & D. Hansen (2013). Rewilding. *Key Topics in Conservation Biology* 2: 430-451.

Sandom, C. J., R. Ejrnæs, M. D. D. Hansen & J.-C. Svenning (2014). High herbivore density associated with vegetation diversity in interglacial ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.

Schneekloth, M. & S. R. Ibsen (2001). *Hollandsk naturforvaltning: perspektiver og muligheder for Danmark*, Nepenthes.

Schulte-Hostedde, A. I., B. Zinner, J. S. Millar & G. J. Hickling (2005). Restitution of mass-size residuals: Validating body condition indices. *Ecology* 86(1): 155-163.

Sunde, P. & L. Haugaard (2014). *Bæredygtig krondyrforvaltning: Populationsbiologiske analyser af krondyrbestandene på Oksbøl og Djursland med reference til jagtlig forvaltning*, Aarhus Universitet, DCE-Nationalt Center for Miljø og Energi. 106.

Taberlet, P., E. Coissac, F. Pompanon, L. Gielly, C. Miquel, A. Valentini, T. Vermet, G. Corthier, C. Brochmann & E. Willerslev (2007). Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic Acids Research* 35(3): e14-e14.

Team, R. D. C. (2010). *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria, R Foundation for Statistical Computing.

Tixier, H., P. Duncan, J. Scehovic, A. Yant, M. Gleizes & M. Lila (1997). Food selection by European roe deer (*Capreolus capreolus*): effects of plant chemistry, and consequences for the nutritional value of their diets. *Journal of Zoology* 242(2): 229-245.

Toïgo, C., J.-M. Gaillard, G. Van Laere, M. Hewison & N. Morellet (2006). How does environmental variation influence body mass, body size, and body condition? Roe deer as a case study. *Ecography* 29(3): 301-308.

Valentini, A., C. Miquel, M. A. Nawaz, E. V. A. Bellemain, E. Coissac, F. Pompanon, L. Gielly, C. Cruaud, G. Nascetti, P. Wincker, J. E. Swenson & P. Taberlet (2009). New perspectives in diet analysis based on DNA barcoding and parallel pyrosequencing: the trnL approach. *Molecular Ecology Resources* 9(1): 51-60.

Valentini, A., F. Pompanon & P. Taberlet (2009). DNA barcoding for ecologists. *Trends in Ecology & Evolution* 24(2): 110-117.

Veiberg, V., L. E. Loe, A. Mysterud, R. Langvatn & N. C. Stenseth (2004). Social rank, feeding and winter weight loss in red deer: any evidence of interference competition? *Oecologia* 138(1): 135-142.

Vera, F., E. Bakker & H. Olff (2006). Large herbivores: missing partners of western European light-demanding tree and shrub species? Large herbivore ecology, ecosystem dynamics and conservation. K. Danell, R. P. Duncan, R. Bergström & J. Pastor. Cambridge University Press. 11: 203.

Verheyden-Tixier, H., P.-C. Renaud, N. Morellet, J. Jamot, J.-M. Besle & B. Dumont (2008). Selection for nutrients by red deer hinds feeding on a mixed forest edge. *Oecologia* 156(3): 715-726.

Verheyden, H., L. Aubry, J. Merlet, P. Petibon, B. Chauveau-Duriot, N. Guillon & P. Duncan (2011). Faecal nitrogen, an index of diet quality in roe deer *Capreolus capreolus*? *Wildlife Biology* 17(2): 166-175.

Aarts, G., M. MacKenzie, B. McConnell, M. Fedak & J. Matthiopoulos (2008). Estimating space-use and habitat preference from wildlife telemetry data. *Ecography* 31(1): 140-160.

9 Appendiks 1: DNA-barcoding

9.1 Laboratory methods

DNA extraction was performed in a room dedicated to processing low quantity DNA samples following the protocol for extracting extracellular DNA described in Taberlet et al. (2012), using approximately 1 g of dried faeces and 5-10 mL phosphate buffer (Na₂HPO₄; 0.12 M; pH ~8) per sample, and recovering the DNA extracts in 100 µL. Fourteen extraction negative controls were included to monitor for contamination and were analysed following the same protocol used for the faecal samples.

The P6 loop of the chloroplast trnL (UAA) intron in angiosperms and gymnosperms was amplified for identifying plant species in the diet (Taberlet et al. 2007). PCR amplifications contained 1x concentrated TaqGold Mastermix (Life Technologies), 0.5 µM of each primer, 0.0032 mg bovine serum albumin (BSA, Roche Diagnostics) and 2 µL DNA extract, in 20 µL reaction volume. Thermocycling conditions had an initial denaturation step of 10 minutes at 95°C, followed by 40 cycles of 30 seconds at 95°C, 30 seconds at 50°C, and 60 seconds at 72°C. Following De Barba et al. (2014), we used PCR negative controls (n=13) and aliquots (n=18) of a positive control sample in the experiment to monitor the performance of the amplification and the sequencing, and to guide the selection of filtering parameters in the sequence analysis process. The positive control sample was made by mixing known quantities of the DNA extract of 16 plant species (Table 5.1). Three PCR replicates were performed for all samples. Primer used in each PCR were uniquely modified by the addition of molecular identifier tags on the 5' end, to allow the assignment of sequence reads to their source samples. Tags differed on both ends of a PCR product and were composed by eight nucleotides, containing at least five differences among them (Coissac 2012).

Table 9.1. Species, DNA quantity, and detection of plants used to prepare the positive control DNA samples.

Species	Ng/PCR	Number of positive controls where the species was detected
<i>Taxus baccata</i>	1.000000	18
<i>Salvia pratensis</i>	0.500000	18
<i>Populus tremula</i>	0.250000	18
<i>Rumex acetosa</i>	0.125000	18
<i>Carpinus betulus</i>	0.062500	17
<i>Fraxinus excelsior</i>	0.031250	18
<i>Picea abies</i>	0.015625	0
<i>Lonicera xylosteum</i>	0.007813	4
<i>Abies alba</i>	0.003906	0
<i>Acer campestre</i>	0.001953	0
<i>Briza media</i>	0.000977	0
<i>Rosa canina</i>	0.000488	0
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	0.000244	0
<i>Geranium robertianum</i>	0.000122	0
<i>Rhododendron ferrugineum</i>	0.000061	0
<i>Lotus corniculatus</i>	0.000031	0

PCR products were purified using the MinElute PCR purification kit (QIAGEN GmbH), and finally mixed together. The sequencing was carried out on HiSeq 2000 (Illumina Inc., San Diego, CA, USA), following the manufacturer's instructions, using a commercial service (www.fasteris.com). A total of 100 nucleotides were sequenced on each extremity of the DNA fragments.

9.2 Sequence analysis and filtering

A sequence reference database for taxonomically identifying plant sequences detected in the samples was built by extracting the P6 loop of the chloroplast trnL (UAA) intron for Viridiplantae from EMBL nucleotide library (release 122) using ecoPCR program (Ficetola et al. 2010).

Sequence reads were analysed and filtered following De Barba et al. (2014) using the OBITools (<http://metabarcoding.org/obitools>) and program R 2.14.1v (R Development Core Team 2011) with the following exception: i. sequences identified as “head” in <2 or “singleton” in <3 sample replicates, of at least one sample, were considered erroneous and therefore deleted; ii. only samples having at least two out of three replicates with distance among each other smaller than 0.6 were kept for further analysis; iii only sequences observed in at least 2 replicates of the same sample were retained. Finally, we considered only sequences with identity $\geq 95\%$ over the entire query sequence length with any reference sequence.

9.3 Results

Next-generation sequencing of the 1944 samples (603 faeces, 14 extraction negatives, 13 PCR negatives, 18 PCR positives, 3 replicates/sample) generated a total of about 38 million paired-end sequence reads for which primers and tags could be identified (Table 5.2). Sequence analysis and filtering resulted in the final list of 141 sequences for 602 out of 603 faecal samples analysed (see DD_ResultTables provided as separate files). 12%, 47% and 13% of these sequences were identified to family, genus, and species level respectively. No contamination was detected in the PCR and extraction negative controls, except for extraction negative ctl06 that appeared contaminated with sequence “gh_00006” identified as *Quercus*. The sequences of seven plant species composing the positive controls were detected after the filtering (Table 1).

Table 9.2. Summary of the number of sequences retained after different steps of the data filtering protocol.

Step	Number of sequences
Paired-end reads for which primers and tags were identified	38362620
Unique sequences	720493
Unique sequences longer than 10 bp, and with occurrence ≥ 1000	1479
Unique sequences after removal of sequences with frequency ≤ 0.01	593
Unique sequences after removal of sequences identified as “head” in <2, or “singleton” in <3 sample replicates in at least one sample	253
Unique sequences after removal of sequences present in <2 sample replicates	253
Unique sequences with best identity $\geq 95\%$	145

9.4 Literature cited

Coissac E (2012) OligoTag: A program for designing sets of tags for next-generation sequencing of multiplexed samples. In: Data Production and Analysis in Population Genomics (eds. Pompanon F, Bonin A), pp. 13-31. Humana Press, New York.

De Barba M, Miquel C, Boyer F, et al. (2014) DNA metabarcoding multiplexing and validation of data accuracy for diet assessment: application to omnivorous diet. *Molecular Ecology Resources* 14, 306-323.

Ficetola G, Coissac E, Zundel S, et al. (2010) An In silico approach for the evaluation of DNA barcodes. *BMC genomics* 11, 434.

Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, et al. (2007) Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic Acids Research* 35, e14.

Taberlet P, Prud'Homme SM, Campione E, et al. (2012) Soil sampling and isolation of extracellular DNA from large amount of starting material suitable for metabarcoding studies. *Molecular Ecology* 21, 1816-1820.

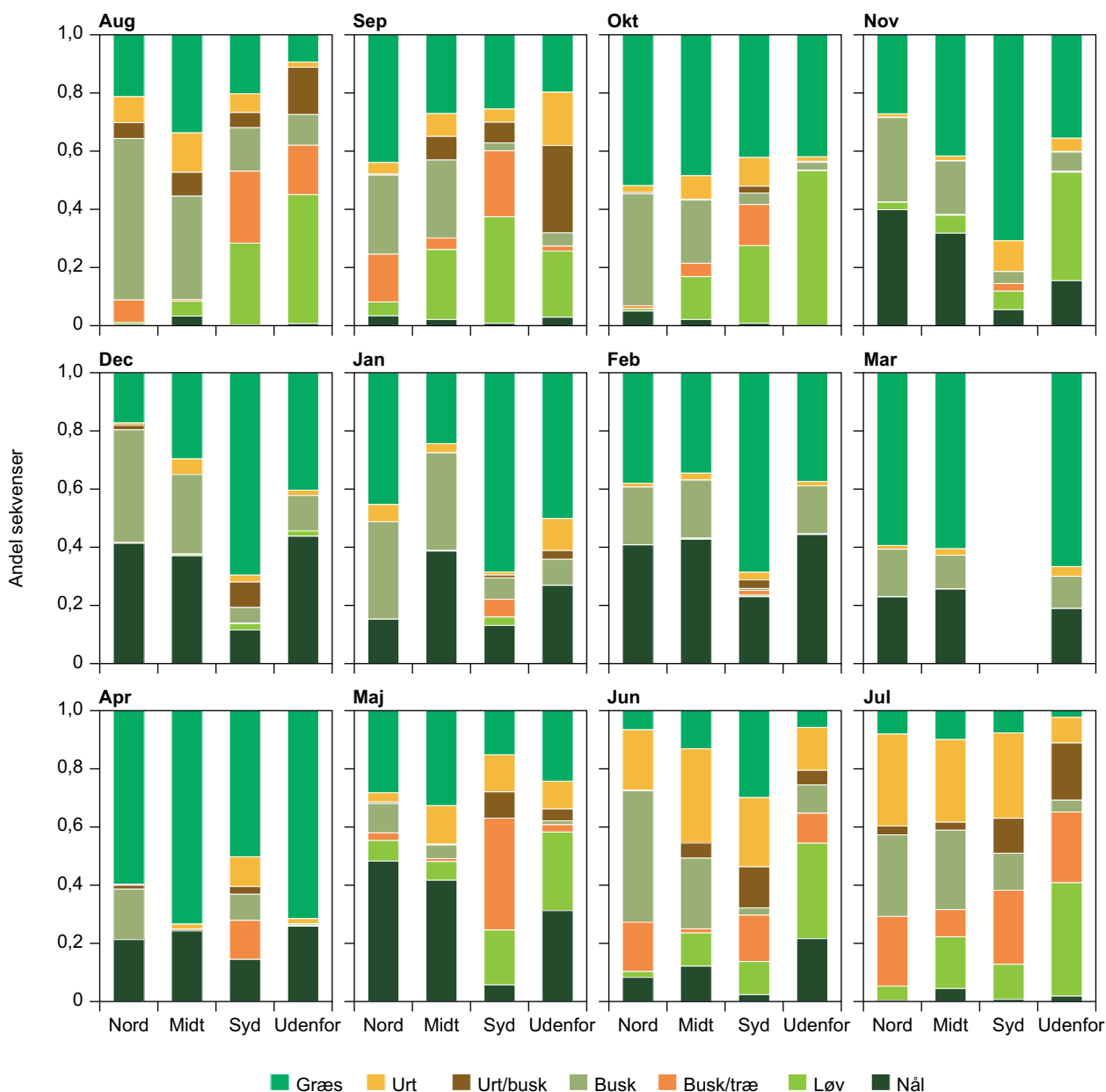
Team RDC (2011) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

10 Appendiks 2: Yderligere resultater

10.1 Rumlig og tidslig variation i fødevalg

Tabel 10.1. Vektorfit-analyse af, hvilke variable der forklarer variationen i NMS-ordinationen. De forklarende variable er indholdet af sekvenser opgjort på familie/ordens niveau og kvælstofindholdet, N, i prøverne.

Procent sekvenser	NMS1	NMS2	r ²	Pr(>r)
Græs	0,73	-0,69	0,83	0,00
Gran	0,52	0,85	0,53	0,00
Lyng	0,07	1,00	0,39	0,00
Pil	-0,98	-0,21	0,39	0,00
Birk	-0,96	-0,27	0,37	0,00
Rose	-0,85	-0,53	0,36	0,00
N	-0,72	-0,69	0,27	0,00
Bøg	0,66	-0,75	0,17	0,00
Ærteblomst	-0,67	0,75	0,14	0,00
Krapfamilien	-0,61	0,79	0,13	0,00
Kodriverfamilien	-0,71	0,70	0,11	0,00
Korsvedfamilien	-0,86	-0,51	0,06	0,00
Pileurtfamilien	-0,99	0,15	0,04	0,00
Halvgræsfamilien	0,98	-0,17	0,04	0,00
Amarantfamilien	-0,59	-0,81	0,04	0,00
Sivfamilien	0,99	-0,16	0,03	0,00
Læbeblomstordenen	-0,99	-0,12	0,03	0,00
Kurvblomstordenen	-0,65	-0,76	0,03	0,00
Maskeblomstfamilien	-0,95	0,32	0,02	0,01
Lønfamilien	-0,95	-0,32	0,02	0,01
Cypresfamilien	0,29	0,96	0,02	0,02
Ribsfamilien	-0,48	0,88	0,01	0,01
Ranunkelfamilien	-0,68	-0,73	0,01	0,03
Korsblomstfamilien	0,40	-0,92	0,01	0,03
Porsfamilien	-0,91	0,41	0,01	0,04
Bryophyta	0,47	-0,88	0,01	0,03
Violfamilien	-0,79	-0,61	0,01	0,16
Hestekastanjefamilien	-0,15	-0,99	0,01	0,17
Mangeløvfamilien	-0,33	0,94	0,01	0,22
Nældefamilien	-1,00	-0,08	0,01	0,26
Storkenæbfamilien	0,17	0,99	0,01	0,26
Dunhammerfamilien	0,17	-0,99	0,01	0,24
Natskyggefamilien	0,46	-0,89	0,00	0,35
Nellikeordenen	-0,15	-0,99	0,00	0,40
Natlysfamilien	-0,94	-0,34	0,00	0,55
Surklæverfamilien	0,97	0,23	0,00	0,62
Skærmpantefamilien	0,39	0,92	0,00	0,77
Vejbredfamilien	-0,96	0,27	0,00	0,78
Elmefamilien	-1,00	0,08	0,00	0,94



Figur 10.1. Oversigt over procent sekvenser, opgjort i planternes vækstform, fundet i prøverne indsamlet i de fire forskellige områder og fordelt på måneder. Gruppen Urt/Busk indeholder rosenunderfamilien Rosoideae, som både indeholder urter og buske og derfor ikke kan adskilles. Gruppen Busk/Træ indeholder pilefamilien, kirsebærslægten og æblestammen, som omfatter arter af både træer og buske. Som nævnt i metodeafsnittet, så er der en række begrænsninger, der gør, at fordelingen af andelen af sekvenser i ekskrementen ikke direkte kan tolkes som fordelingen af andelen af fødeemner. Fx vil mængden af DNA-sekvenser afhænge af årstiden, hvilken del af planten dyrene har ædt, opformeringen af sekvenser i PCR, nedbrydningsgraden af plantematerialet ved indtagelse og graden af fordøjelse af plantedelen.

For at teste om der er forskel i variationen i fødesammensætningen i prøverne indsamlet i forskellige måneder og områder, er der brugt en tovejs-ANOVA, hvor også interaktionen mellem måned og område er taget med. ANOVA'en viser, at der er forskel på fødesammensætningen i prøverne imellem månederne og imellem områderne, samt at der er en interaktion mellem måned og område (Tabel 10.6).

Tabel 10.2. Oversigt over sekvenser fundet i prøverne opgjort som antal sekvenser (n), frekvensen af sekvenser i alle prøverne i procent (FR) og frekvensen af sekvensens forekomst i prøverne i procent (FO). Cellerne er markeret med farver: Orange er >20%, gul er 10-20%.

Orden/Familie	Alle prøver			Nord			Midt			Syd			Udenfor hegn			Indenfor hegn		
	n	FR	FO	n	FR	FO	n	FR	FO	n	FR	FO	n	FR	FO	n	FR	FO
Græsfamilien	2,250,016	31.92	95.69	491,166	31.49	99.12	596,372	31.55	95.83	345,903	22.47	93.52	816,575	39.63	95.04	1,433,441	28.50	96.16
Granfamilien	1,100,274	15.61	74.74	296,646	19.02	76.11	448,302	23.72	86.81	224,344	14.57	75.00	130,982	6.36	59.50	969,292	19.10	79.30
Lyngfamilien	967,227	13.72	72.07	396,084	25.40	94.69	391,255	20.70	84.03	91,339	5.93	59.26	88,549	4.30	48.76	878,678	17.34	79.33
Bøgefamilien	504,012	7.15	37.58	23,124	1.48	17.70	74,719	3.95	25.00	265,575	17.25	62.04	140,594	6.82	49.59	363,418	7.56	34.91
Ærteblomstfamilien	276,831	3.93	35.73	64,061	4.11	34.51	89,017	4.71	36.81	79,272	5.15	50.93	44,481	2.16	22.31	232,350	4.66	40.75
Rosenfamilien	449,488	6.38	33.26	23,387	1.50	17.70	34,662	1.83	15.97	152,050	9.88	45.37	239,389	11.62	57.85	210,099	4.40	26.35
Pilefamilien	448,222	6.36	30.18	96,048	6.16	30.97	24,665	1.30	9.72	123,261	8.01	31.48	204,248	9.91	52.89	243,974	5.16	24.06
Birkefamilien	391,166	5.55	27.10	13,245	0.85	11.50	35,592	1.88	18.06	168,976	10.98	44.44	173,354	8.41	37.19	217,813	4.57	24.67
Pileurtfamilien	70,441	1.00	18.28	9,826	0.63	13.27	18,805	0.99	20.83	4,216	0.27	7.41	37,594	1.82	29.75	32,847	0.63	13.84
Halvgræsfamilien	140,629	1.99	15.20	38,509	2.47	16.81	72,744	3.85	26.39	20,470	1.33	11.11	8,907	0.43	4.13	131,722	2.55	18.10
Kurvblomstordenen	54,022	0.77	14.78	4,332	0.28	4.42	16,232	0.86	22.22	10,578	0.69	16.67	22,880	1.11	14.05	31,142	0.61	14.44
Sivfamilien	74,226	1.05	14.58	13,078	0.84	15.93	41,143	2.18	22.22	16,348	1.06	13.89	3,656	0.18	4.96	70,570	1.36	17.35
Nellikeordenen	66,231	0.94	10.68	8,983	0.58	8.85	15,396	0.81	13.89	2,610	0.17	5.56	39,242	1.90	13.22	26,989	0.52	9.43
Mangeløvfamilien	11,841	0.17	7.19	2,059	0.13	7.96	4,166	0.22	8.33	3,345	0.22	7.41	2,272	0.11	4.96	9,569	0.19	7.90
Krapfamilien	11,508	0.16	6.98	5,080	0.33	11.50	2,796	0.15	7.64	3,632	0.24	9.26	0	0.00	0.00	11,508	0.24	9.47
Kodriverfamilien	22,596	0.32	6.57	13,976	0.90	13.27	4,147	0.22	6.25	3,503	0.23	6.48	970	0.05	0.83	21,626	0.45	8.67
Porsfamilien	60,880	0.86	5.34	50,659	3.25	15.93	4,105	0.22	2.08	6,116	0.40	4.63	0	0.00	0.00	60,880	1.29	7.55
Amarantfamilien	22,531	0.32	3.08	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	22,531	1.09	12.40	0	0.00	0.00
Natlysfamilien	12,186	0.17	3.08	4,808	0.31	6.19	5,734	0.30	2.78	950	0.06	1.85	696	0.03	1.65	11,491	0.22	3.61
Korsvedfamilien	49,809	0.71	2.87	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	1,411	0.09	1.85	48,398	2.35	9.92	1,411	0.03	0.62
Lønfamilien	16,280	0.23	2.46	136	0.01	0.88	0	0.00	0.00	6,415	0.42	7.41	9,729	0.47	2.48	6,551	0.14	2.76
Ranunkelfamilien	9,243	0.13	2.05	0	0.00	0.00	630	0.03	1.39	0	0.00	0.00	8,613	0.42	6.61	630	0.01	0.46
Bryophyta	3,448	0.05	2.05	2,190	0.14	4.42	1,086	0.06	2.78	173	0.01	0.93	0	0.00	0.00	3,448	0.07	2.71
Vejbredfamilien	4,085	0.06	1.85	445	0.03	1.77	1,837	0.10	2.08	0	0.00	0.00	1,803	0.09	3.31	2,282	0.04	1.28
Korsblomstfamilien	6,100	0.09	1.23	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	6,100	0.30	4.96	0	0.00	0.00
Violfamilien	6,041	0.09	1.03	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	6,041	0.29	4.13	0	0.00	0.00
Maskeblomstfamilien	1,981	0.03	1.03	653	0.04	1.77	0	0.00	0.00	1,328	0.09	2.78	0	0.00	0.00	1,981	0.04	1.52
Katostfamilien	3,061	0.04	0.62	0	0.00	0.00	1,317	0.07	0.69	1,207	0.08	0.93	537	0.03	0.83	2,525	0.05	0.54
Skærplantfamilien	4,169	0.06	0.62	0	0.00	0.00	264	0.01	0.69	3,472	0.23	0.93	433	0.02	0.83	3,736	0.08	0.54
Læbeblomstordenen	2,110	0.03	0.62	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	2,110	0.14	2.78	0	0.00	0.00	2,110	0.05	0.93
Dunhammerfamilien	883	0.01	0.41	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	883	0.06	1.85	0	0.00	0.00	883	0.02	0.62
Surkløverfamilien	4,160	0.06	0.41	0	0.00	0.00	4,160	0.22	1.39	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	4,160	0.07	0.46
Nældefamilien	1,530	0.02	0.41	1,018	0.07	0.88	512	0.03	0.69	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	1,530	0.03	0.53
Elmefamilien	148	0.00	0.21	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	148	0.01	0.83	0	0.00	0.00
Hestekastanjenfamilien	858	0.01	0.21	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	858	0.04	0.83	0	0.00	0.00
Natskyggefamilien	1,019	0.01	0.21	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	1,019	0.05	0.83	0	0.00	0.00
Ribsfamilien	425	0.01	0.21	0	0.00	0.00	425	0.02	0.69	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	425	0.01	0.23
Storkenæbfamilien	182	0.00	0.21	0	0.00	0.00	182	0.01	0.69	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00	182	0.00	0.23

ANOVA'en viser ikke, hvilke måneder og områder der skiller sig ud, og derfor er der yderligere lavet en Tukey-test. For simplicitetens skyld er interaktionen mellem måned og område taget ud. Tukey-testen for parvis sammenligning af områderne på tværs af alle månederne viser, at der er forskel på den gennemsnitlige variation i fødesammensætningen i områderne indenfor hegn og udenfor hegn med undtagelse af nord-midt, som for NMS1 og NMS2 ikke er signifikant forskellige (Tabel 10.4).

Tukey-testen for parvis sammenligning af månederne viser, at der er signifikant forskel på variationen i fødesammensætningen (NMS1) i 46 ud af 66 sammenligninger på tværs af områder. De måneder, der ikke er signifikant forskellige er typisk måneder, der ligger indenfor samme sæson. Tilsvarende resultater findes for ANOVA og Tukey-tests for variationen i fødesammensætningen repræsenteret af ordinationsaksen NMS2 (resultater ikke vist).

Tabel 10.3. Tovejs-ANOVA af NMS-variationen (bygget på lavest mulige taksonomiske niveau) i prøver indsamlet i felten (n=484) som funktion af indsamlingsmåneden og – området (Nord, Midt, Syd, Udenfor). Residualerne af ANOVA'en for NMS1 og NMS2 var tilsyneladende normalt fordelt baseret på en visuel vurdering af et qq-plot, mens NMS3 viste en mindre "hale" i venstre side, dog var $p < 0,05$ for både Shapiro-Wilk og Anderson-Darling tests for normalitet i data.

NMS1	df	SumSq	Mean Sq	F	p
Måned	11	11,65	1,06	122,60	<0,001
Område	3	0,61	0,20	23,51	<0,001
Måned:Område	32	2,01	0,06	7,25	<0,001
Residualer	436	3,77	0,01		
NMS2	Df	SumSq	Mean Sq	F	p
Måned	11	1,94	0,18	16,73	<0,001
Område	3	3,66	1,22	115,72	<0,001
Måned:Område	32	1,37	0,04	4,05	<0,001
Residualer	436	4,60	0,01		
NMS3	Df	SumSq	Mean Sq	F	p
Måned	11	2,03	0,18	22,91	<0,001
Område	3	1,16	0,39	48,11	<0,001
Måned:Område	32	1,39	0,04	5,39	<0,001
Residualer	436	3,52	0,01		

Tabel 10.4. Tukey-test med parvise sammenligninger af gennemsnittet af variationen i fødesammensætningen (NMS1, NMS2 og NMS3) i hvert af de 4 områder på tværs af månederne.

Sammenligning (NMS1)	forskel	laveste	højeste	p adj
Udenfor- Midt	-0,07	-0,11	-0,04	0,00
Udenfor -Nord	-0,07	-0,11	-0,04	0,00
Syd - Midt	-0,07	-0,10	-0,03	0,00
Syd - Nord	-0,07	-0,11	-0,03	0,00
Syd- Udenfor	0,01	-0,03	0,04	0,99
Nord -Midt	0,00	-0,03	0,04	1,00
Sammenligning (NMS2)	forskel	laveste	højeste	p adj
Udenfor- Midt	-0,20	-0,24	-0,17	0,00
Syd - Midt	-0,09	-0,13	-0,05	0,00
Udenfor -Nord	-0,22	-0,25	-0,18	0,00
Syd - Nord	-0,10	-0,14	-0,07	0,00
Syd- Udenfor	0,11	0,07	0,15	0,00
Nord -Midt	0,01	-0,02	0,05	0,73
Sammenligning (NMS3)	forskel	laveste	højeste	p adj
Syd-Midt	-0,10	-0,13	-0,06	0,00
Syd -Nord	-0,14	-0,17	-0,10	0,00
Udenfor – Nord	-0,08	-0,11	-0,04	0,00
Syd – Udenfor	-0,06	-0,09	-0,02	0,00
Nord - Midt	0,04	0,01	0,07	0,01
Udenfor- Midt	-0,04	-0,07	0,00	0,03

Tabel 10.5. Tukey-test med parvise sammenligninger af gennemsnittet af variationen i fødesammensætningen i hver måned på tværs af områderne. Her vist for NMS1. NMS 2 og NMS 3 er ikke vist.

Sammenligning	Forskel	Laveste	Højeste	P adj
Aug-Apr	-0,35	-0,43	-0,27	0,00
Jul-Apr	-0,49	-0,57	-0,41	0,00
Jun-Apr	-0,33	-0,42	-0,25	0,00
Maj-Apr	-0,20	-0,28	-0,12	0,00
Sep-Apr	-0,29	-0,37	-0,21	0,00
Dec-Aug	0,30	0,22	0,38	0,00
Feb-Aug	0,32	0,24	0,40	0,00
Jan-Aug	0,30	0,22	0,38	0,00
Maj-Aug	0,16	0,08	0,24	0,00
Mar-Aug	0,36	0,28	0,44	0,00
Nov-Aug	0,29	0,21	0,37	0,00
Okt-Aug	0,22	0,14	0,30	0,00
Jul-Dec	-0,43	-0,52	-0,35	0,00
Jun-Dec	-0,28	-0,36	-0,19	0,00
Sep-Dec	-0,23	-0,31	-0,15	0,00
Jul-Feb	-0,46	-0,54	-0,38	0,00
Jun-Feb	-0,30	-0,38	-0,22	0,00
Maj-Feb	-0,17	-0,25	-0,09	0,00
Sep-Feb	-0,26	-0,34	-0,18	0,00
Jul-Jan	-0,43	-0,52	-0,35	0,00
Jun-Jan	-0,28	-0,36	-0,20	0,00
Sep-Jan	-0,23	-0,32	-0,15	0,00
Maj-Jul	0,29	0,21	0,37	0,00
Mar-Jul	0,50	0,42	0,58	0,00
Nov-Jul	0,42	0,34	0,50	0,00
Okt-Jul	0,35	0,27	0,43	0,00
Sep-Jul	0,20	0,12	0,28	0,00
Mar-Jun	0,34	0,26	0,43	0,00
Nov-Jun	0,27	0,18	0,35	0,00
Okt-Jun	0,20	0,11	0,28	0,00
Mar-Maj	0,21	0,12	0,29	0,00
Sep-Mar	-0,30	-0,38	-0,22	0,00
Sep-Nov	-0,22	-0,30	-0,14	0,00
Jun-Jul	0,16	0,07	0,24	0,00
Sep-Okt	-0,15	-0,23	-0,07	0,00
Okt-Mar	-0,15	-0,23	-0,06	0,00
Maj-Dec	-0,14	-0,22	-0,06	0,00
Maj-Jan	-0,14	-0,22	-0,06	0,00
Okt-Apr	-0,14	-0,22	-0,06	0,00
Jul-Aug	-0,14	-0,22	-0,05	0,00
Maj-Jun	0,13	0,05	0,22	0,00
Nov-Maj	0,13	0,05	0,21	0,00
Okt-Feb	-0,11	-0,19	-0,03	0,00
Sep-Maj	-0,09	-0,17	-0,01	0,01
Okt-Jan	-0,08	-0,16	0,00	0,04
Okt-Dec	-0,08	-0,16	0,00	0,05
Nov-Mar	-0,08	-0,16	0,01	0,09

Okt-Nov	-0,07	-0,15	0,01	0,15
Nov-Apr	-0,07	-0,15	0,01	0,20
Mar-Dec	0,07	-0,02	0,15	0,27
Sep-Aug	0,06	-0,02	0,14	0,27
Mar-Jan	0,06	-0,02	0,15	0,30
Okt-Maj	0,06	-0,02	0,14	0,39
Dec-Apr	-0,06	-0,14	0,02	0,48
Jan-Apr	-0,06	-0,14	0,03	0,51
Sep-Jun	0,04	-0,04	0,13	0,85
Mar-Feb	0,04	-0,04	0,12	0,92
Nov-Feb	-0,04	-0,12	0,04	0,93
Feb-Apr	-0,03	-0,11	0,05	0,99
Feb-Dec	0,03	-0,05	0,11	1,00
Jan-Feb	-0,02	-0,11	0,06	1,00
Jun-Aug	0,02	-0,06	0,10	1,00
Nov-Jan	-0,01	-0,09	0,07	1,00
Nov-Dec	-0,01	-0,09	0,07	1,00
Mar-Apr	0,01	-0,07	0,09	1,00
Jan-Dec	0,00	-0,08	0,08	1,00

10.2 Kvælstofindholdet i ekskrement og fødekvaliteten

For at teste om der er forskel i kvælstofindholdet i prøverne indsamlet i forskellige måneder og områder, er der brugt en tovejs-ANOVA, hvor også interaktionen mellem måned og område er taget med. ANOVA'en viser, at der er forskel på kvælstofindholdet i prøverne imellem månederne og imellem områderne, samt at der er en interaktion mellem måned og område (Tabel 10.6).

Tabel 10.6. Tovejs-ANOVA af kvælstofindholdet ($n=484$) i prøver indsamlet i felten som funktion af indsamlingsmåneden og – området (Nord, Midt, Syd, Udenfor). Residualerne af ANOVA'en var tilsyneladende normalt fordelt baseret på en visuel vurdering af et qq-plot og residual-plot, dog var $p < 0,05$ for både Shapiro-Wilk og Anderson-Darling tests for normalitet i data.

	df	Sum Sq	Mean Sq	F	p
Måned	11	58,06	5,278	29,064	<0,001
Område	3	37,25	12,417	68,375	<0,001
Måned:Område	32	17,43	0,545	2,999	<0,001
Residualer	436	79,18	0,182		

ANOVA'en viser dog ikke, hvilke måneder og områder der skiller sig ud, og derfor er der yderligere lavet en Tukey-test, som viser, hvilke måneder og områder der er signifikant forskellige. For simplicitetens skyld er interaktionen mellem måned og område taget ud. Tukey-testen for parvis sammenligning af områderne på tværs af alle månederne viser, at der er forskel på det gennemsnitlige kvælstofindhold i prøverne fra de forskellige områder på tværs af måneder, og at forskellen mellem prøverne indsamlet udenfor hegnet og de tre områder indenfor hegnet er signifikant (Tabel 10.7). Desuden er Nord ikke signifikant forskellig fra de to andre områder indenfor hegnet, men Syd og Midt er signifikant forskellige.

Tabel 10.7. Tukey-test med parvise sammenligninger af gennemsnittet af kvælstofindholdet i prøverne fra ekskrement i hver af de 4 områder på tværs af månederne.

Sammenligning	forskel	laveste	højeste	p adj
Udenfor-Midt	0.695	0.549	0.840	0.000
Udenfor-Nord	0.639	0.486	0.792	0.000
Syd-Udenfor	-0.506	-0.661	-0.350	0.000
Syd-Midt	0.189	0.039	0.339	0.007
Syd-Nord	0.133	-0.025	0.290	0.133
Nord-Midt	0.056	-0.092	0.204	0.762

Tukey-testen for parvis sammenligning af månederne viser, at der er signifikant forskel på kvælstofindholdet i 38 ud af 66 sammenligninger på tværs af områder. De måneder, der ikke er signifikant forskellige, er typisk måneder, der ligger indenfor samme sæson (**Tabel 10.5**).

Tabel 10.8. Tukey-test med parvise sammenligninger af gennemsnittet i kvælstofindhold i ekskrementer i hver måned på tværs af områderne.

Sammenligning	Forskel	Laveste	Højeste	P adj
Jun-Dec	0.950	0.616	1.284	0.000
Maj-Dec	0.742	0.412	1.071	0.000
Jul-Feb	0.745	0.409	1.081	0.000
Jun-Feb	1.086	0.750	1.422	0.000
Maj-Feb	0.877	0.546	1.209	0.000
Okt-Feb	0.754	0.423	1.086	0.000
Jul-Jan	0.743	0.407	1.079	0.000
Jun-Jan	1.084	0.748	1.420	0.000
Maj-Jan	0.875	0.544	1.207	0.000
Okt-Jan	0.752	0.421	1.084	0.000
Mar-Jul	-0.701	-1.043	-0.359	0.000
Mar-Jun	-1.042	-1.384	-0.700	0.000
Nov-Jun	-0.788	-1.120	-0.455	0.000
Mar-Maj	-0.834	-1.172	-0.496	0.000
Okt-Mar	0.711	0.373	1.049	0.000
Okt-Dec	0.619	0.289	0.948	0.000
Jun-Apr	0.618	0.280	0.956	0.000
Jul-Dec	0.609	0.275	0.943	0.000
Jun-Aug	0.591	0.257	0.925	0.000
Nov-Maj	-0.579	-0.907	-0.251	0.000
Sep-Feb	0.542	0.211	0.874	0.000
Sep-Jan	0.540	0.209	0.872	0.000
Sep-Jun	-0.544	-0.882	-0.206	0.000
Feb-Aug	-0.495	-0.823	-0.167	0.000
Jan-Aug	-0.493	-0.821	-0.165	0.000
Sep-Mar	0.498	0.160	0.837	0.000
Feb-Apr	-0.468	-0.800	-0.137	0.000
Jan-Apr	-0.466	-0.798	-0.135	0.000
Okt-Nov	0.456	0.128	0.784	0.000
Mar-Aug	-0.451	-0.785	-0.117	0.001
Nov-Jul	-0.447	-0.779	-0.114	0.001

Mar-Apr	-0.424	-0.763	-0.086	0.003
Sep-Dec	0.406	0.077	0.736	0.003
Maj-Apr	0.409	0.076	0.743	0.004
Maj-Aug	0.382	0.053	0.712	0.009
Dec-Aug	-0.359	-0.685	-0.034	0.017
Dec-Apr	-0.332	-0.662	-0.003	0.046
Sep-Maj	-0.335	-0.669	-0.002	0.048
Jun-Jul	0.341	-0.001	0.683	0.052
Okt-Jun	-0.331	-0.669	0.007	0.061
Nov-Feb	0.298	-0.028	0.624	0.110
Nov-Jan	0.296	-0.029	0.622	0.115
Okt-Apr	0.286	-0.047	0.620	0.176
Jul-Apr	0.277	-0.061	0.615	0.236
Okt-Aug	0.259	-0.070	0.589	0.292
Nov-Mar	0.254	-0.078	0.587	0.333
Jul-Aug	0.250	-0.084	0.584	0.371
Sep-Nov	0.244	-0.084	0.572	0.379
Sep-Okt	-0.212	-0.546	0.121	0.631
Maj-Jun	-0.208	-0.546	0.130	0.676
Nov-Aug	-0.197	-0.521	0.127	0.696
Sep-Jul	-0.203	-0.541	0.135	0.714
Nov-Apr	-0.170	-0.498	0.158	0.866
Nov-Dec	0.162	-0.161	0.486	0.890
Feb-Dec	-0.136	-0.463	0.192	0.970
Jan-Dec	-0.134	-0.461	0.194	0.973
Maj-Jul	0.133	-0.205	0.471	0.980
Okt-Maj	-0.123	-0.457	0.211	0.988
Mar-Dec	-0.092	-0.426	0.242	0.999
Sep-Apr	0.074	-0.260	0.408	1.000
Sep-Aug	0.047	-0.283	0.377	1.000
Mar-Feb	0.044	-0.292	0.380	1.000
Mar-Jan	0.042	-0.294	0.378	1.000
Aug-Apr	0.027	-0.303	0.357	1.000
Jan-Feb	0.002	-0.328	0.332	1.000
Okt-Jul	0.010	-0.328	0.348	1.000

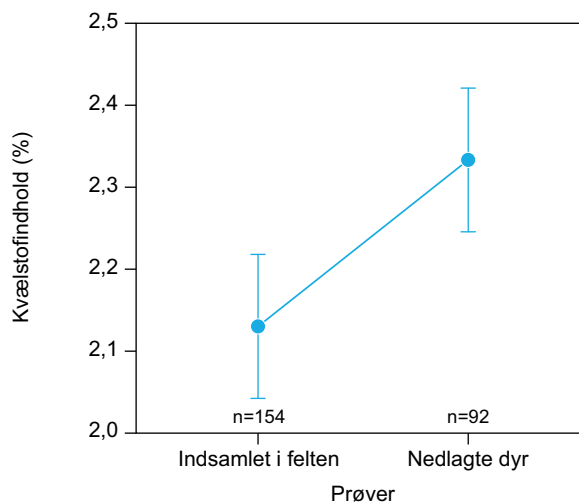
10.3 Fordampning af kvælstof fra ekskrement

Der vil være sket en fordampning af kvælstof fra ekskrement indsamlet i felten. Spørgsmålet er, hvor betydelig denne fordampning er, og hvordan den har indflydelse på tolkningen af resultaterne for kvælstofindholdet. Eftersom prøverne fra nedlagte dyr er indsamlet umiddelbart efter jagt og fra endetarmen, må vi antage, at der ikke er sket en nævneværdig fordampning af kvælstof fra disse prøver. Vi har testet, om der er en forskel i kvælstofindholdet i prøverne fra nedlagte krondyr og prøver indsamlet fra krondyrenes ekskrement i felten i jagtsæsonen (Tabel 10.9). Testen viser, at der er signifikant forskel på kvælstofindholdet. Kvælstofindholdet i prøverne fra nedlagte dyr er højere end i prøverne indsamlet fra ekskrement i felten (Figur 10.2).

Tabel 10.9. ANOVA: Er der forskel i kvælstofindholdet i prøver indsamlet fra nedlagte krondyr og indsamlet fra ekskrement i felten i jagtsæsonen?

	Df	SumSq	MeanSq	F	p
Nedlagt/Felten	1	2,37	2,3749	9,217	0,002
Residualer	244	62,87	0,2577		

Figur 10.2. Forskel i gennemsnitligt kvælstofindhold ($\pm$ standard afvigelsen) i prøver indsamlet fra ekskrement i felten og prøver indsamlet fra nedlagte dyr.



10.4 Rådyrene i Klelund Dyrehave

Tabel 10.10. ANOVA: To-vejs ANOVA af kvælstofindholdet i prøverne som funktion af interaktionen mellem Krondyr/Rådyr og prøver fra felten/nedlagte dyr. Logistisk regression af Rådyr/Krondyr som funktion af NMS-akserne 1, 2 og 3.

		Df	SumSq	Mean Sq	F	P
Kvælstof	Krondyr/Rådyr	1	2,68	2,68	11,55	0,001
	Felten/Nedlagt	1	4,46	4,46	19,26	0,000
	Krondyr/Rådyr: Felten/Nedlagt	1	0,23	0,23	1,00	0,319
	Residualer	225	52,13	0,232		
		Estimate	Std. Error	z-value	Pr	
Krondyr/Rådyr(Intercept)		-4,39	0,94	-4,70	0,000	
NMS1		9,19	2,98	3,08	0,002	
NMS2		8,12	2,40	3,38	0,001	
NMS3		-17,45	6,03	-2,89	0,004	

Tabel 10.11. Fordelingen af sekvenser fra forskellige plantefamilier i prøver fra krondyr (n=124) og rådyr (n=15) angivet som % sekvenser og som % prøver, hvor sekvenser af plantefamilien forekommer. Tabellen er sorteret efter % forekomst af plantefamilier i prøver fra rådyr.

Familie/Orden	Krondyr		Rådyr	
	Sekvenser (%)	Forekomst (%)	Sekvenser (%)	Forekomst (%)
Lyngfamilien	21.84	86.64	37.33	93.33
Granfamilien	17.31	80.18	19.80	73.33
Græsfamilien	32.99	100.00	8.98	60.00
Rosenfamilien	1.12	12.90	12.18	53.33
Bøgefamilien	8.52	30.88	6.06	40.00
Birkefamilien	0.64	6.45	1.40	33.33
Pileurtfamilien	0.09	2.76	0.90	26.67
Ærteblomstfamilien	2.26	34.10	8.54	13.33
Kurvblomstordenen	0.19	5.99	0.58	13.33
Mangeløvfamilien	0.35	14.75	0.26	13.33
Nellikeordenen	0.46	10.60	0.57	13.33
Surkløverfamilien	0.00	0.00	0.88	13.33
Gedebladfamilien	0.00	0.00	0.09	6.67
Halvgræsfamilien	10.61	30.88	0.69	6.67
Korsvedfamilien	0.04	0.92	0.15	6.67
Krapfamilien	0.03	1.38	0.10	6.67
Nældefamilien	0.00	0.00	0.15	6.67
Pilefamilien	1.02	7.37	0.13	6.67
Ranunkelfamilien	0.00	0.00	0.37	6.67
Sivfamilien	1.26	20.28	0.14	6.67
Skærmpantefamilien	0.13	0.46	0.23	6.67
Vejbredfamilien	0.01	0.46	0.49	6.67
Bryophyta	0.18	5.07	0.00	0.00
Cypresfamilien	0.06	1.38	0.00	0.00
Dunhammerfamilien	0.24	0.92	0.00	0.00
Katostfamilien	0.14	0.92	0.00	0.00
Natlysfamilien	0.18	0.46	0.00	0.00
Porsfamilien	0.33	3.69	0.00	0.00
Storkenæbfamilien	0.01	0.46	0.00	0.00

[Tom side]

EN DNA-BASERET UNDERSØGELSE AF FØDEVALG HOS KRONDYR I KLELUND DYREHAVE

Her undersøges fødesammensætningen, estimeret ved andel af eDNA-sekvenser i ekskrementet, af krondyr i Klelund Dyrehave, en dyrehave med biodiversitetsforvaltning som formål, og i kulturlandskabet udenfor dyrehaven. Vi undersøger også fødekvaliteten, estimeret ved kvælstofindholdet i ekskrementer. I et mindre deldatasæt fra jagtsæsonen ser vi på sammenhængen mellem den størrelseskorrigerede vægt og dyrenes køn, alder, og fødens sammensætning og -kvalitet. Vi diskuterer resultaterne relevans for forvaltningen, herunder betydningen af tilskudsfodring og hegn for krondyrenes effekter på naturarealerne.