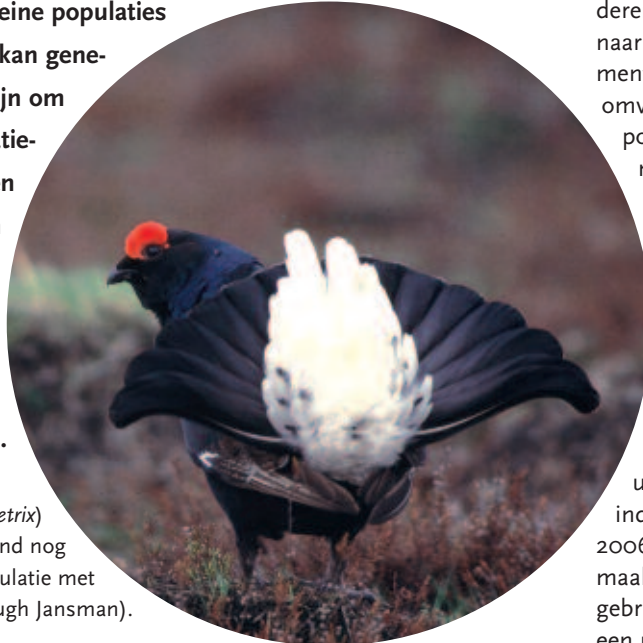


Genetica in het natuurbeheer: een onderschat werkinstrument

DNA is een rijke bron van informatie: het bevat gegevens over de historie van het individu en van zijn voorouders. DNA is daarom bij uitstek geschikt om gebruikt te worden voor individuele herkenning, een toepassing die ook steeds meer zijn weg vindt in het natuurbeheer. In kleine populaties met een gering aantal individuen kan genetische monitoring de oplossing zijn om inzicht te krijgen in de populatiedynamiek van kwetsbare soorten om daarmee nodige maatregelen te kunnen nemen. Als voorbeelden dienen de herintroducties van Otter en Hamster, en de laatste Nederlandse Korhoen populatie.



Van het Korhoen (*Lyrurus tetrix*) resteert in Nederland nog slechts één populatie met ca 20 individuen (foto: Hugh Jansman).

Genetische diversiteit bepaalt voor een groot deel de mogelijkheid van een soort of populatie om zich aan te passen aan een veranderend milieu of aan een veranderende leefomgeving. Zo richten studies naar de gevolgen van bijvoorbeeld fragmentatie zich op het bepalen van de omvang van de genetische variatie in populaties in een gefragmenteerd en niet gefragmenteerd milieu. Of zulke studies onderzoeken de relatie tussen populatiegrootte en genetische diversiteit (Honnay & Jacquemin, 2010; Bijlsma et al. en Vergeer & Ouborg, dit nummer). Genetische diversiteit kan echter ook als uniek hulpmiddel of gereedschap gebruikt worden in het natuurbeheer. Het DNA van ieder individu is uniek: het bevat de historie van dat individu en zijn grootouders (Carroll, 2006) en maakt individuen onderling allemaal verschillend (Leroi, 2004). Door slim gebruik te maken van DNA technieken kan een natuurbeheerder of een overheid veel meer te weten komen over bedreigingen

GENETISCHE VARIATIE

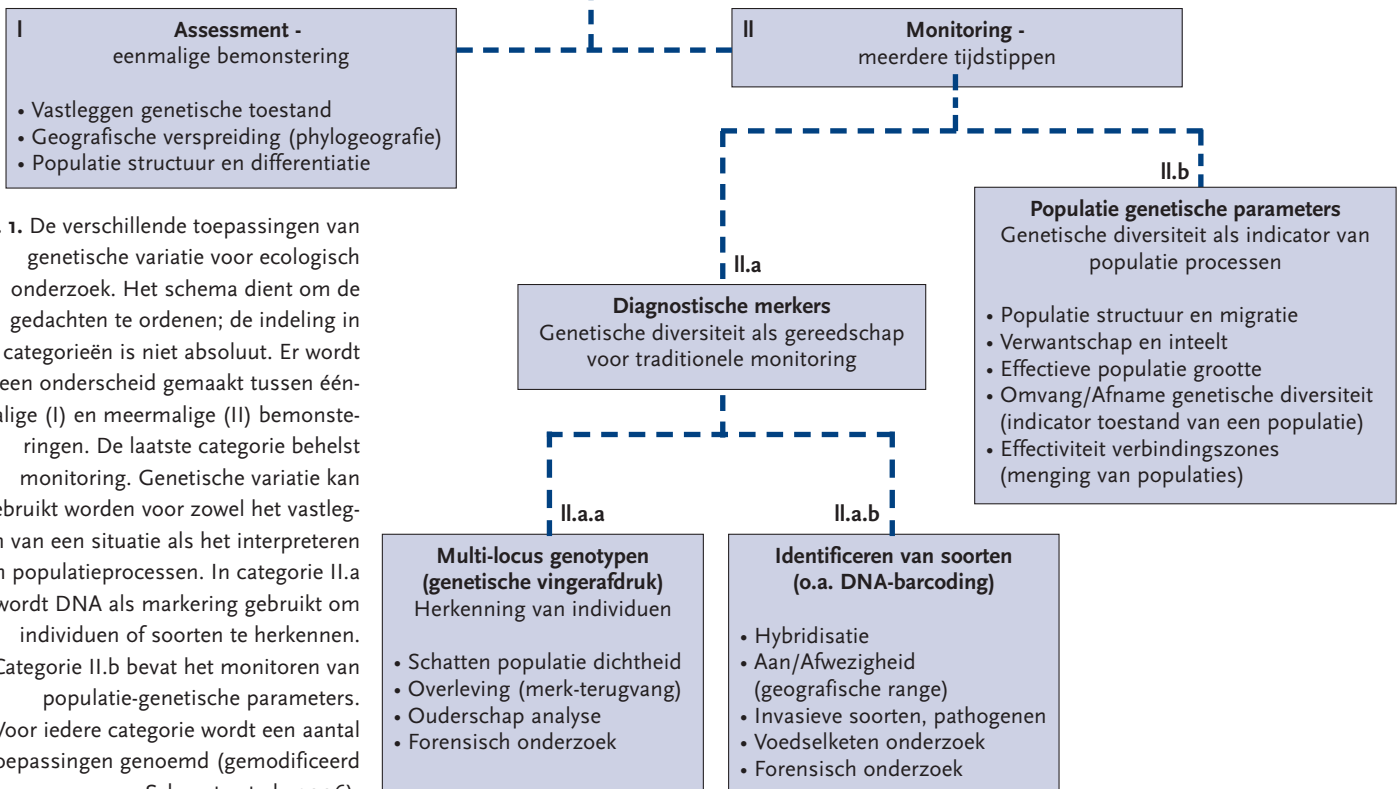


Fig. 1. De verschillende toepassingen van genetische variatie voor ecologisch onderzoek. Het schema dient om de gedachten te ordenen; de indeling in categorieën is niet absoluut. Er wordt een onderscheid gemaakt tussen éénmalige (I) en meermalige (II) bemonsteringen. De laatste categorie behelst monitoring. Genetische variatie kan gebruikt worden voor zowel het vastleggen van een situatie als het interpreteren van populatieprocessen. In categorie II.a wordt DNA als markering gebruikt om individuen of soorten te herkennen. Categorie II.b bevat het monitoren van populatie-genetische parameters. Voor iedere categorie wordt een aantal toepassingen genoemd (gemodificeerd naar Schwartz et al., 2006).

Beschrijven - Vastleggen → Individuele herkenning → Interpretatie - Processen



Foto 1. Ecoducten zijn bij uitstek geschikt om de effectiviteit van verbindingzones te onderzoeken (foto: Ecoduct Groene Woud, Rijksweg A2; foto: Rijkswaterstaat Dienst Noord Brabant).

van ingrepen in het landschap of de afwezigheid van zulke bedreigingen. In figuur 1 is schematisch aangegeven hoe genetische diversiteit kan worden gebruikt voor ecologisch onderzoek. Het is daarbij belangrijk om onderscheid te maken tussen een eenmalige bemonstering (categorie I) of het herhaaldelijk bemonsteren van populaties (categorie II). In het laatste geval spreken we van genetische monitoring. Een eenmalige bemonstering kan voor velerlei doeleinden gebruikt worden: het in kaart brengen van de variatie tussen populaties in hetzelfde gebied, hetzij op Europese schaal, het bestuderen van historische kolonisatieroutes van soorten na de laatste ijstijd (Hewitt, 2000) of de oorsprong van invasieve soorten (bijv. Kastanjemineermot of Maiswortelboorder). Het beschrijft de situatie op dat moment en uit de genetische patronen kan een idee worden verkregen over migratie van genen tussen populaties, de mate van isolatie en de verspreidingsroutes. Tevens kan deze eerste meting gaan fungeren als referentie voor toekomstige metingen om daaruit veranderingen te kunnen afleiden (monitoring, categorie II). Een ander belangrijk onderscheid in figuur 1 is tussen genetische diversiteit als middel (het herkennen van individuen of soorten; categorie IIa) en als doel om veranderingen te bestuderen (indicator van processen; categorie IIb).

Minder versturende opsporingstechnieken dankzij DNA

In de begintijd van het moleculair genetisch onderzoek was altijd veel DNA van goede kwaliteit nodig. Bij dieren ging het bij voorkeur om bloed- of weefselmonsters en bij planten om verse bladeren of knoppen. Wanneer gewerkt wordt met gesloten of doodgereden dieren is dat geen pro-

bleem, maar bij zeldzame soorten die niet gevangen mogen worden of slechts zeer sporadisch voorkomen zijn andere technieken vereist. De technieken zijn inmiddels zo geavanceerd geworden dat er tegenwoordig zelfs DNA kan worden verkregen uit een enkele zaadcel of stuifmeelkorrel. Met deze minieme hoeveelheden DNA is de kans op fouten wel groter, maar toch kan er meestal een goed genetisch profiel (de genetische vingerafdruk) verkregen worden. Ook uit haren, veren, eischalen en verse uitwerpselen van dieren kan tegenwoordig DNA worden verkregen (Kohn & Wayne, 1997). Dit is bij uitstek het materiaal dat in het veld kan worden verzameld zonder dieren te verstoren of te vangen. Via deze indirecte manier van waarnemen kan dan toch een beeld van de genetische status van een populatie worden verkregen, maar ook een schatting van het minimum aantal aanwezige dieren of eventuele verwantschap tussen individuen. Bovendien komen er door de technologische vooruitgang steeds meer mogelijkheden voor (dier) ecologisch onderzoek. Tegenwoordig wordt bijvoorbeeld veel gebruik gemaakt van planten en dieren uit collecties van musea om de oorspronkelijke genetische diversiteit van soorten of populaties te beschrijven. Het gebruik van al deze secundaire DNA bronnen, museummateriaal, keutels, haren, eischalen enz., wordt aangeduid met de term niet-invasieve genetica. Daarmee is meteen een ander voordeel duidelijk: de methode kan als zeer diervriendelijk worden gekenschetst want, in tegenstelling tot zenders en transponders, hoeven de dieren niet gevangen te worden. Dit voorkomt ook dat er voor het onderzoek ontheffingen in het kader van de Wet op het Dieronderzoek (WOD) nodig zijn.

Herintroducties en bijplaatsingen

Eén van de prangende vragen bij herintroducties is: waar moeten we de dieren of planten vandaan halen? Welke populaties zijn geschikt als donor (Groot Bruinderink et al., 2007)? Dit is typisch een vraag uit de Categorie I: beschrijf eerst de huidige toestand en probeer daaruit af te leiden wat de onderlinge verbanden zijn tussen populaties (Mergeay & De Meester, 2010). In figuur 2 is dit weergegeven voor drie aandachtsoorten van het huidige Nederlandse natuurbeleid: de Otter (*Lutra lutra*) (geherintroduceerd in 2002); de Hamster (*Cricetus cricetus*) (herintroductie gestart in 2002 met dieren uit een fokprogramma) en het Korhoen (*Lyrurus tetrix*) (waarvan in Nederland slechts nog één marginale populatie resteert met ca 20 individuen). De Otter blijkt in heel Europa geen grote genetische verschillen te vertonen. De historische Nederlandse otterpopulatie had weliswaar een geringere variatie, maar maakte duidelijk onderdeel uit van het Europese genetische cluster. Vanwege het ontbreken van een sterk genetisch onderscheid tussen populaties, konden alle Europese otterpopulaties als donor fungeren. Toch is uiteindelijk gekozen voor een herintroductie met Otters uit Oost-Europa, omdat daar in tegenstelling tot bijvoorbeeld Spanje, in ieder geval een klimaat met strenge winters heerst. Bij de Hamster zijn daarentegen op Europese schaal genetisch sterk gescheiden populaties gevonden; de populaties hebben allemaal hun eigen genetische signatuur. Daarom wordt voor bijplaatsing en het fokprogramma alleen gebruik gemaakt van naburige populaties. Het Korhoen neemt een intermediaire positie in: weliswaar een eigen genetische signatuur, maar toch ook

overlap met de huidige Europese populaties. De drie voorbeelden geven aan hoe genetica gebruikt kan worden om tot een verantwoorde beslissing te komen, maar laten ook zien dat de uiteindelijke keuze per soort kan verschillen.

Afname van genetische diversiteit als 'early warning' signaal

Grote, vitale populaties hebben meestal een grote genetische diversiteit (Honnay & Jacquemin, 2010; Vergeer & Ouborg, dit nummer). In het huidige versnipperde landschap van België (Vlaanderen 5 km weg per km²) en Nederland (3 km weg per km²) zijn grote ongefragmenteerde populaties echter steeds zeldzamer. Populaties van planten en dieren komen steeds meer onder druk te staan. Vaak zijn er signalen dat het niet goed gaat met een populatie, ook al komt dat nog niet direct tot uiting in een afname van de aantallen individuen. De afname van de vitaliteit kan echter wel zichtbaar gemaakt worden met genetische diversiteit, mits er een goede referentie of startsituatie (de t=0) bekend is. Vaak is die er niet, maar met behulp van museummateriaal kan getracht worden een beeld van het verleden te krijgen.

Figuur 2 laat voor Otter, Hamster en Korhoen zien dat er een sterke tot zeer sterke reductie van de genetische diversiteit heeft plaatsgevonden in de huidige populaties ten opzichte van de historische populatie (categorie II.b in fig. 1). Genetische drift en inteelt (Vergeer & Ouborg, dit nummer) hebben hun tol geëist. Wat overbleef waren genetisch verarmde populaties met weinig aanpassingsvermogen.

Om te voorkomen dat andere soorten eenzelfde lot beschoren is, kan systematische genetische monitoring van soorten die een Rode-lijst status dreigen te krijgen een

hulpmiddel zijn. Daardoor kunnen zowel nog vitale populaties van deze soorten als populaties met een sterk gereduceerde genetische diversiteit opgespoord worden. De populaties met een gereduceerde genetische diversiteit kunnen dan versterkt worden met dieren of planten uit de nog vitale populaties, of er kan getracht worden deze verarmde populaties te verbinden met de nog vitale populaties. Genetica kan zo informatie leveren bij de inrichting van het landschap en duidelijk maken voor welke populaties op korte termijn maatregelen genomen moeten worden.

Genetische kennis leidt tot bijstelling herintroductie van de Otter

Bij de herintroductie van de Otter in 2002 in het Nationaal Park Wieden-Weerribben (Lammertsma et al., 2006) is weloverwogen gekozen voor niet-invasieve genetische monitoring om de populatie te kunnen volgen. Dit is besloten omdat het telemetrisch onderzoek van de gezenderde, uitgezette Otters na ca één jaar zou stoppen vanwege de beperkte levensduur van de batterijen in de zenders.

Om ook na die periode nog waarnemingen aan de Otters te kunnen doen, zonder de

Fig. 2. Genetische variatie in Europese (doorgetrokken lijn) en Nederlandse populaties (historisch – gestippelde lijn; huidig – blauwe ovaal) van (a) Otter, (b) Hamster en (c) Korhoen.

Weergegeven zijn de resultaten van een Principale Coördinaten Analyse (1e en 2e as) op de genetische profielen van de onderzochte individuen. De ovaal zijn getrokken rondom de individuele scores. De grootte van de ovaal is representatief voor de grootte van de genetische variatie.

In alle drie de figuren wordt genetische variatie gebruikt om

- 1) de ruimtelijke genetische structuur in Europees verband in kaart te brengen (eenmalig; Categorie I in fig. 1) en
- 2) om een verandering in de tijd aan te geven voor de Nederlandse populatie (monitoren; Categorie II.b in fig. 1).

(a) Otter (Koelewijn, niet gepubliceerd). De Europese populatie omvat Oost-Duitsland, Wit-Rusland, Zweden, Finland, Tsjechië en Polen.

Huidig = de dieren die dood gevonden zijn in de periode 1980-1988.

Historisch = museumdieren uit de periode 1900-1975;

(b) Hamster (La Haye et al., aangeboden). De twee Europese clusters zijn Oost-Duitsland en Elzas-Lotharingen.

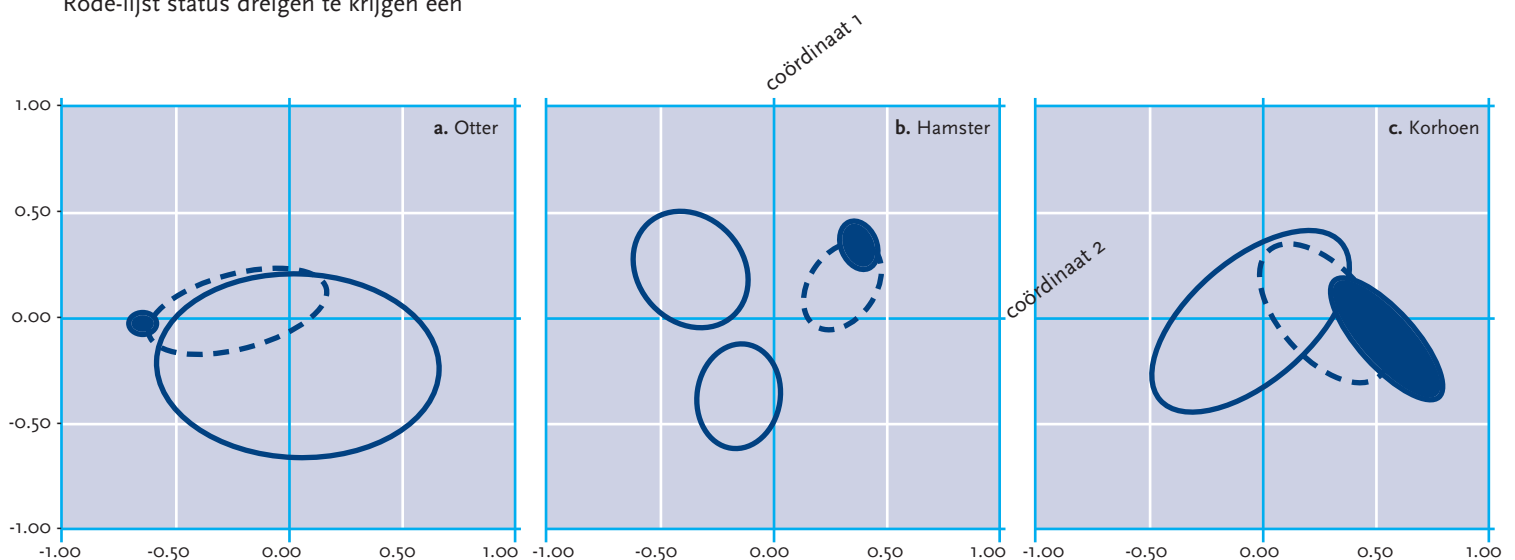
Huidig = gebaseerd op de dieren die gebruikt zijn voor het fokprogramma.

Historisch = museumdieren uit de periode 1930-1980;

(c) Korhoen (Larsson et al., 2008). De Europese populatie omvat Noorwegen, Finland, Oostenrijk.

Huidig = veren en eischalen van de in 2003 aanwezige dieren op de Sallandse heuvelrug.

Historisch = museumdieren uit de periode 1930-1980.



		MANNETJE									nakomelingen
		M-Ao4	M-Ao5	M-Ao6	M-Ao8	M-A12	M-A15	M-A18	M-NB11	M-NB15	
VROUWTJE	F-Ao0	2									2
	F-Ao1		1		1						2
	F-Ao2			1	4	1					6
	F-Ao3					3					3
	F-A17						1				1
	F-A19				2			1			3
	F-A20				3						3
	F-A22				3						3
	F-NB02				4				1		5
	F-NB04				2	3				3	8
	F-NB07				4					3	7
	F-NB16									2	2
	F-NB17									1	1
	F-NB19				2						2
	F-NB22									2	2
	F-NB32								2		2
nakomelingen		2	1	1	25	7	1	1	3	11	52

Tabel 1.

Geïdentificeerde jongen en daaruit afgeleide paringen gedurende de periode 2002-2007 in de geherintroduceerde otterpopulatie (Koelewijn et al., 2010). Individuen met een A zijn oorspronkelijk uitgezette dieren, terwijl individuen met NB (nieuw geboren) nakomelingen zijn van de uitgezette dieren.

inteeft (kader 1), en het schatten van de effectieve populatiegrootte (categorie II.b in fig. 1). De op deze manier verzamelde demografische gegevens werden gebruikt voor een MLP (Minimum Levensvatbare Populatiegrootte) analyse.

Tevens bleek dat de doodgevonden dieren buiten het uitzetgebied (merendeels verkeersslachtoffers) voornamelijk juveniele en subadulte mannetjes betrof die via hun DNA profiel te herleiden waren tot dieren binnen het uitzetgebied.

Op basis hiervan werd de uitzetstrategie gewijzigd: er werd besloten om alleen nog maar vrouwtjes in de nabijgelegen gebieden rond het primaire uitzetgebied uit te zetten, omdat de mannetjes vanzelf wel zouden komen en daar dan zouden blijven hangen. Deze informatie kon alleen verkregen worden door een nauwkeurige genetische analyse, waarbij de genetische diversiteit zowel doel als middel was.

Eenzelfde strategie kan ook heel goed toegepast worden voor onderzoek aan de laatste Nederlandse korhoenpopulatie, aanwezig op de Sallandse heuvelrug. Er is vaak gesuggereerd dat er te weinig kuikens overleven, waardoor de populatie, ondanks verbetering van het leefgebied, nog steeds niet groeit. Er is echter niets bekend van de voortplanting en de jaarlijkse aanwas! Een oplossing kan zijn om ieder jaar de populatie te karakteriseren, monitoren, door DNA uit eischalen en veren te verzamelen. Vervolgens kan gekeken worden of de genetische profielen van de eischalen in de loop der jaren matchen met profielen uit de veren van adulte dieren. Hierdoor kan enig zicht worden verkregen op de mate van instroom van jonge vogels in de populatie. Zo bleek een profiel van een

eischaal uit 2003 te matchen met een profiel van een bolderende haan uit 2005. Deze incidentele waarneming geeft in ieder geval aan dat er dus af en toe een kuiken overleeft. Of het een uitzondering is of de regel, kan gericht genetisch onderzoek snel uitwijzen.

Verbindingszones en ecoducten

Een andere toepassing van genetische methodieken ligt in het evalueren van de effectiviteit van ecoducten en verbindingszones. Verbinden is het adagium in een sterk versnipperd landschap, maar is het voldoende? Verhogen ecoducten inderdaad op effectieve wijze de uitwisseling van individuen binnen populaties die door aanleg van een weg gefragmenteerd zijn geraakt (foto 1). Zo worden op ecoducten op de Veluwe met enige regelmaat Edelherten (*Cervus elaphus*) en Reeën (*Capreolus capreolus*) waargenomen, maar de cruciale vraag is of de migratie van een beperkt aantal dieren over het ecoduct ook een positief effect heeft op het onderling verbinden van de deelpopulaties aan beide zijden van de weg? Uiteindelijk gaat het erom dat de gescheiden populaties hun vitaliteit weten te verhogen. Het tellen van soorten en individuen op ecoducten levert nog geen bewijs voor effectieve migratie (Honnay, 2010).

Effectieve migratie kan enkel en alleen bepaald worden als de (genetische) kenmerken van beide populaties aan weerszijden van de weg bekend zijn (de zogeheten $t=0$ startsituatie). Tellen van dieren op ecoducten heeft alleen zin, indien ook de genetische diversiteit van de door autowegen gefragmenteerde populaties bekend is.

Door een tijdreeks op te bouwen kan worden gekeken in hoeverre er veranderingen optreden in de genetische variatie binnen de deelpopulaties ten opzichte van de startsituatie en in hoeverre migrerende individuen zich ook succesvol voortplanten in de ontvangende populatie (categorie II.b in fig. 1). Als de gefragmenteerde populaties genetisch van elkaar verschilden dan zal bij effectieve migratie dit onderling verschil in de loop der tijd verdwijnen. Veluwe 2010, het aanleggen van nieuwe ecoducten Veluwe wijd (onderdeel van het Provinciaal Meer Jaren Programma Vitaal Gelderland), biedt in dit opzicht een unieke kans, maar dan moet er wel snel actie worden ondernomen door de landelijke en provinciale overheden. Op deze wijze kan de effectiviteit van het ontsnipperingsbeleid voor specifieke (ruimte-eisende) soorten worden geëvalueerd.

Winter periode	Aanwezige nakomelingen		
	$f=0$	$f>0$	Totaal
2003/04	6	0	6
2004/05	7	0	7
2005/06	12	0	12
2006/07	18	0	18
2007/08	25	11	36
2008/09	31	16	47
2009/10	29	24	53

Tabel 2. Het aantal aanwezige nakomelingen in de populatie opgedeeld naar niet ($f=0$) en wel ingeteeld ($f>0$). In 2007 zijn de eerste nakomelingen van Ao8 ook aan de reproductie gaan deelnemen.



De herintroductie van de Hamster (*Cricetus cricetus*) werd gestart in 2002 (foto: Fons Aelberts).

Conclusie

Dankzij de voortschrijdende technieken in genetisch onderzoek zijn er prima mogelijkheden voor integratie van genetica en genetische monitoring in het toegepast ecologisch onderzoek. De behandelde voorbeelden dienen slechts om de gedachten hierover vorm te geven. Wij hebben het hier uitsluitend over dieren gehad, maar voor planten speelt dezelfde problematiek en zijn dezelfde denklijnen mogelijk. Het potentieel van genetische variatie is nog lang niet volledig benut door het huidige ecologische onderzoek. Ook de overheid zou voor evaluatie van haar infrastructuurele projecten (EHS, Veluwe 2010) of beleidsdoelstellingen (Conventie over Biodiversiteit) veel meer gebruik moeten en kunnen maken van gerichte genetische monitoring.

Literatuur

Carroll, S.B., 2006. The making of the fittest: DNA and the ultimate forensic record of evolution. W.W. Norton & Company, New York.

Groot Bruinderink, G.W.T.A., M.J.M. Smulders & H.P. Koelewijn, 2007. Een ecologisch en populatie-genetisch afwegingskader voor herintroducties De Levende Natuur 108 (5): 199-203.

Haye, M. La , K. Neumann & H.P. Koelewijn, aangeboden. Strong decline of genetic diversity in local populations of the highly endangered Common hamster (*Cricetus cricetus*) in the western part of its European range.

Hewitt, G.M., 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405: 907-913.

Honnay, O., 2010. Ecoducten: wondermiddel of pleister op een houten been. *Natuur.focus* 9: 71-75.

Honnay, O. & H. Jacquemin, 2010. Hoe groot is groot genoeg? *Natuur.focus* 9: 117-123.

Koelewijn, H.P., M. Pérez-Haro, H.A.H. Jansman, M.C. Boerwinkel, J. Bovenschen, D.R. Lammertsma, F.J.J. Niewold & A.T. Kuiters, 2010.

The reintroduction of the otter (*Lutra lutra*) into the Netherlands: hidden life revealed by non-invasive genetic monitoring. *Conservation Genetics* 11: 601-614.

Kohn, M.H. & R.K. Wayne, 1997. Facts from feces revisited. *Trends in Ecology and Evolution* 12: 223-227.

Lammertsma, D.R., F.J.J. Niewold, H.A.H. Jansman, L. Kuiters, H.P. Koelewijn, M.I. Perez Haro, M.H.C. van Adrichem, M.C. Boerwinkel & J. Bovenschen, 2006. Herintroductie van de otter: een succesverhaal? *De Levende Natuur* 107 (2): 42-46.

Larsson, J.K., H.A.H. Jansman, G. Segelbacher, J. Höglund & H.P. Koelewijn, 2008. Genetic impoverishment of the last black grouse (*Tetrao tetrix*) population in the Netherlands: detectable only with a reference from the past. *Molecular Ecology* 17: 1897-1904.

Leroi, A.M., 2004. Mutants. On the form, varieties and errors of the human body. Harper Perennial, London.

Mergeay, J. & L. De Meester, 2010. (Her)introductions en rationaliteit in het natuurbeheer. *Natuur.focus* 9: 124-127.

Schwartz, M.K., G. Luikart & R.S. Waples, 2006. Genetic monitoring as a promising tool for conservation and management. *Trends in Ecology and Evolution* 22: 25-33.

Sykes, B., 2001. The seven daughters of Eve. Bantam Press, London.

Summary

Genetics in nature management: an undervalued tool

Genetic diversity is the base of our existence. Without genetic diversity a population or species cannot adapt to changing conditions. Current changes in land use, fragmentation of the

landscape and increasing traffic intensity pose threats to the existence of plant and animal populations and cause a decline in genetic diversity. Researchers have therefore emphasized, amongst others, the relationships between population size and genetic diversity. Genetic diversity is used in these cases as an indicator of the state of a population. Genetic diversity can also be used as a diagnostic marker, since all individuals are unique. This uniqueness is reflected in the DNA molecules, our ultimate forensic record. In this sense genetic diversity can be used as a tool for identifying individuals and processes in small populations. In this article we explore the possibilities that genetic diversity studies offer for ecological research. By embedding genetic techniques in ecological research, a much more detailed picture of the whereabouts of a population can be obtained. This is illustrated by examples from research on Otter, Common hamster and Black grouse in The Netherlands. We also argue that a decline in genetic diversity can be used as an early warning signal: changes at the level of genetic diversity already occur before it is even visible at the population level. Finally, we indicate how genetic research can help to support the evaluation of the effectiveness of faunal corridors. All in all we think that advanced genetic techniques, including non-invasive genetic monitoring, can have a distinct added value in ecological research for nature conservation purposes.

Dr. H.P. Koelewijn & Dr. A.T. Kuiters
 Alterra Wageningen UR
 Centrum Ecosystemen
 Postbus 47
 6700 AA Wageningen
 Nederland
 hanspeter.koelewijn@wur.nl
 loek.kuiters@wur.nl