



---

# Inteelt onder Sallandse korhoenders

De genetische gevolgen van een kleine populatieomvang

G.A. de Groot, H.A.H. Jansman, J. Bovenschen, I. Laros, Y. Meyer-Lucht en J. Höglund



ALTERRA  
WAGENINGEN UR

---



---

# Inteelt onder Sallandse korhoenders

De genetische gevolgen van een kleine populatieomvang

G.A. de Groot<sup>1</sup>, H.A.H. Jansman<sup>1</sup>, J. Bovenschen<sup>1</sup>, I. Laros<sup>1</sup>, Y. Meyer-Lucht<sup>2</sup> en J. Höglund<sup>2</sup>

1 Alterra-WUR, Dierecologie

2 Uppsala University, Dept of Ecology and Genetics, Population Biology and Conservation Biology

Dit onderzoek is uitgevoerd door Alterra Wageningen UR in opdracht van en gefinancierd door het Ministerie van Economische Zaken, in het kader van het Beleidsondersteunend onderzoekthema 'Biodiversiteit (projectnummer BO-11-011.01-45)

Alterra Wageningen UR  
Wageningen, november 2014

---

Alterra-rapport 2599  
ISSN 1566-7197

---

De Groot, G.A., H.A.H. Jansman, J. Bovenschen, I. Laros, Y. Meyer-Lucht en J. Höglund, 2014. *Inteelt onder Sallandse korhoenders; De genetische gevolgen van een kleine populatieomvang*. Wageningen, Alterra Wageningen UR (University & Research centre), Alterra-rapport 2599. 48 blz.; 10 fig.; 8 tab.; 83 ref.

Referaat:

Recent werd Alterra gevraagd om de resultaten van onderzoek dat de afgelopen jaren door verschillende instituten is uitgevoerd te bundelen en te integreren om een antwoord te krijgen op de vraag of het korhoen duurzaam voor Nederland behouden kan worden en op welke manier behoud mogelijk is (Jansman *et al.* 2014). Het voorliggende rapport is een aanvulling op dit basisrapport, waarin dieper wordt ingegaan op de effecten die de sterke afname in populatieomvang heeft gehad op het verloop van genetische processen van de korhoenpopulatie, en de gevolgen die dit kan hebben voor de algehele vitaliteit van de populatie, en diens reproductievermogen in het bijzonder. In dit onderzoek is duidelijk geworden dat de Nederlandse korhoenpopulatie al in 2010 genetisch zeer sterk was verarmd. In 2013, toen slechts zeven individuen overgebleven waren, bleek de variatie nog verder teruggelopen, ook op genen die van belang zijn voor een goed functionerend immuunsysteem. De recente populatieafname en het gebrek aan variatie heeft geresulteerd in een zodanig hoge inteelt onder potentiële nakomelingen, dat dit zeer waarschijnlijk een negatieve invloed heeft gehad op vitaliteit van de populatie en op het reproductiesucces in het bijzonder. Tevens bleek dat de populatie sinds 2003 steeds verder gedifferentieerd is geraakt van de oorspronkelijke Nederlandse populatie en de overige Europese populaties. De resultaten laten ook zien dat de uitzet van Zweedse korhoenders in 2012 en 2013 ervoor heeft gezorgd dat de genetische variatie in de Sallandse populatie in het najaar van 2013 weer terug was op het niveau van een decennium geleden.

Trefwoorden: Korhoen, Sallandse Heuvelrug, genetische variatie, vitaliteit, duurzame overleving.

Dit rapport is gratis te downloaden van [www.wageningenUR.nl/alterra](http://www.wageningenUR.nl/alterra) (ga naar 'Alterra-rapporten'). Alterra Wageningen UR verstrekt geen gedrukte exemplaren van rapporten. Gedrukte exemplaren zijn verkrijgbaar via een externe leverancier. Kijk hiervoor op [www.rapportbestellen.nl](http://www.rapportbestellen.nl).

© 2014 Alterra (instituut binnen de rechtspersoon Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek), Postbus 47, 6700 AA Wageningen, T 0317 48 07 00, E [info.alterra@wur.nl](mailto:info.alterra@wur.nl), [www.wageningenUR.nl/alterra](http://www.wageningenUR.nl/alterra). Alterra is onderdeel van Wageningen UR (University & Research centre).

- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking van deze uitgave is toegestaan mits met duidelijke bronvermelding.
- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking is niet toegestaan voor commerciële doeleinden en/of geldelijk gewin.
- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking is niet toegestaan voor die gedeelten van deze uitgave waarvan duidelijk is dat de auteursrechten liggen bij derden en/of zijn voorbehouden.

Alterra aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Alterra-rapport 2498 | ISSN 1566-7197

Foto omslag: Baltsende haan van Zweedse herkomst (Hugh Jansman)  
Foto's in het rapport: copyright Hugh Jansman, tenzij anders vermeld.

---

# Inhoud

	<b>Woord vooraf</b>	<b>5</b>
	<b>Samenvatting</b>	<b>7</b>
<b>1</b>	<b>Introductie</b>	<b>9</b>
1.1	Het korhoen ( <i>Tetrao tetrix</i> )	9
1.1.1	Ecologie van het korhoen	9
1.1.2	Ondersoorten en ecotypen	10
1.2	Risico's voor genetische vitaliteit in kleine, geïsoleerde populaties	11
1.2.1	Het belang van variatie	11
1.2.2	Een negatieve spiraal in kleine populaties	12
1.2.3	Inteeltdepressie bij vogels	13
1.2.4	Minimale populatiegrootte en genetische uitwisseling	16
1.3	Genetische risico's bij korhoenders	16
1.3.1	Achteruitgang in aantallen en variatie in Europese populaties	16
1.3.2	Inteelt, inteeltvermijding en inteeltdepressie bij korhoenders	17
1.4	Inteeltdepressie versus uitteeltdepressie	18
1.5	De laatste Nederlandse korhoenpopulatie	18
1.5.1	Sterke afname in populatiegrootte	18
1.5.2	Reproductieproblemen	19
1.5.3	Genetische verarming en genetische differentiatie	20
1.5.4	Bijplaatsing in 2012 en 2013	20
1.6	Vraagstelling	21
<b>2</b>	<b>Materiaal en methoden</b>	<b>22</b>
2.1	Monstername	22
2.2	Genetische analyses	23
2.2.1	DNA-extractie	23
2.2.2	Genetische karakterisering	23
2.2.3	Identificatie en ouderschapsanalyses	24
2.2.4	Genetische variatie en differentiatie binnen en tussen populaties	24
2.2.5	Variatie op het MHC (Major Histocompatibility Complex)	25
<b>3</b>	<b>Resultaten</b>	<b>26</b>
3.1	Genetische variatie	26
3.2	Heterozygositeit	26
3.3	Genetische differentiatie	28
3.4	Genetische karakterisering van ingeïntroduceerde Zweedse korhoenders	30
3.5	Overleving, reproductie en verdere genetische verarming sinds 2010	32
3.5.1	Overleving en reproductie onder de laatste Nederlandse korhoenders	32
3.5.2	Behoud van Zweedse variatie in de Nederlandse populatie	33
3.5.3	Reproductieve bijdrage van de Zweedse korhoenders	34
3.6	Variatie op het MHC	35
<b>4</b>	<b>Conclusies en aanbevelingen</b>	<b>37</b>
4.1	De genetische gevolgen van een kleine populatieomvang	37
4.1.1	Genetische variatie en inteelt	37
4.1.2	Genetische differentiatie	38
4.2	Inteeltdepressie als verklaring voor het gebrek aan broedsucces en kuikenoverleving	38

---

4.3	Zweedse korhoenders	39
4.4	Broedresultaten en populatieontwikkeling 2014	40
4.5	Aanbevelingen	41
	4.5.1 Weg uit de extinctiespiraal	41
	4.5.2 Vorming van een meta-populatie	42
	4.5.3 Monitoring	43
	<b>Literatuur</b>	<b>44</b>

---

# Woord vooraf

In 1974 is het toenmalige Rijks Instituut voor Natuurbeheer (RIN), onderdeel van het huidige Alterra, begonnen met het organiseren van een gestructureerde landelijke telling van het aantal korhoenders in Nederland. De aanleiding daartoe was de sterke afname die de Nederlandse korhoenpopulatie vertoonde. Er werden toen nog ongeveer 450 baltsende hanen geteld, een fractie van wat er in de jaren '50 aanwezig was. Op het moment van schrijven, zo'n 40 jaar later, wordt het korhoen door bijplaatsing voor direct uitsterven behoed. Het voornaamste knelpunt voor de overleving van de Nederlandse populatie lijkt de geringe kuikenoverleving van de afgelopen jaren te zijn, een probleem waaraan meerdere oorzaken ten grondslag kunnen liggen. Recent werd Alterra gevraagd om de resultaten van onderzoek dat de afgelopen jaren door verschillende instituten is uitgevoerd te bundelen en te integreren om een antwoord te krijgen op de vraag of het korhoen duurzaam voor Nederland behouden kan worden en op welke manier behoud mogelijk is (Jansman *et al.* 2014). Het voorliggende rapport is een aanvulling op dit basisrapport, waarin dieper wordt ingegaan op de effecten die de sterke afname in populatieomvang heeft gehad op het verloop van genetische processen van de korhoenpopulatie, en de gevolgen die dit kan hebben voor de algehele vitaliteit van de populatie, en diens reproductievermogen in het bijzonder.

Veel mensen en organisaties zijn nauw betrokken bij het korhoen. We hebben dankbaar van hun deskundigheid gebruik gemaakt; zonder hen hadden we dit rapport dan ook niet kunnen schrijven. Paul ten Den (Ten Den Flora & Fauna) en Freek Niewold (Niewold Wildlife Infocentre) vormen gezamenlijk de grootste ervaringsdeskundigheid op het gebied van korhoenders in Nederland. We zijn hen dan ook zeer dankbaar voor de grote mate van bereidheid om ons te adviseren en mee te denken. Internationaal is er vanuit de IUCN-Grouse Specialist Group belangstelling voor de Nederlandse situatie en veel bereidheid om mee te denken. In het bijzonder willen we Egbert Strauß (Lüneburger Heide), Thorsten Kirchner (Rhön) en Michelle Loneux (Hoge Venen) danken voor hun bijdrage. Zonder Gernot Segelbacher (Universiteit Freiburg, Duitsland) was het niet mogelijk geweest de genetische data van de Nederlandse korhoenpopulatie in het juiste perspectief te zien.

Het ministerie van Economische Zaken, de provincie Overijssel en Nationaal park Sallandse Heuvelrug hebben het onderzoek mogelijk gemaakt middels financiële support en het afgeven van de vereiste vergunningen. Ten slotte willen we Staatsbosbeheer, Vereniging Natuurmonumenten en Vogelbescherming Nederland, de drie organisaties die de afgelopen jaren de schouders nog eens onder het korhoenproject hebben gezet, bedanken. Dit geldt in het bijzonder voor Corné Balemans als stuwende kracht achter het korhoenproject en de beheerders van de Sallandse Heuvelrug voor het specifieke terreinbeheer. We hopen dat het voorliggende rapport hen van inzichten kan voorzien hoe verder te gaan.





---

# Samenvatting

De laatste Nederlandse korhoenpopulatie op Nationaal Park de Sallandse Heuvelrug is sinds begin jaren '90 volledig geïsoleerd. Het aantal hanen schommelde tussen 1974-2006 rond de 15-25 individuen. Na 2006 is er vrijwel geen succesvolle voortplanting meer geweest waardoor de populatie afnam tot 4 hanen in 2011. Tevens nam het aantal uitgekomen eieren sterk af. De wel uitgekomen kuikens in de periode 2011-2013 stierven vrijwel allemaal binnen 10 dagen.

In 2012 en 2013 werd door meerdere instituten onderzoek uitgevoerd om de kansen en bedreigingen voor duurzame overleving van het korhoen in Nederland te verkennen. Alterra werd gevraagd om de verkregen beschikbare kennis te bundelen en te integreren om een antwoord te krijgen op de vraag of het korhoen duurzaam voor Nederland behouden kan worden, en als dat het geval is, aan welke voorwaarden daarvoor moet worden voldaan. Dit heeft geresulteerd in Alterra rapport 2498 (Jansman *et al*, 2014).

Het voornaamste knelpunt voor de overleving van de Nederlandse populatie lijkt de geringe kuikenoverleving van de afgelopen jaren te zijn. De belangrijkste bedreigingen die hier mee samenhangen zijn de afname en versnippering van het habitat, de afname van de kwaliteit van het habitat, een te kleine populatieomvang, predatiedruk, menselijke verstoring, en klimaatverandering. Genetische verarming en inteelt kunnen een belangrijk neveneffect zijn van de kleine populatieomvang, en de populatie nog verder in de problemen brengen. Kortom, er zijn vele factoren van belang en veel van deze factoren zijn aan elkaar gerelateerd. Het voorliggende rapport gaat specifiek in op de genetische situatie van het Sallands korhoen. Het is als zodanig een uitbreiding op Jansman *et al*, 2014.

Doel van het genetische onderzoek was om de genetische variatie van de huidige populatie te vergelijken met referentiepopulaties en het proces van genetische verarming en differentiatie inzichtelijk te maken. Daarnaast is gepoogd aan de hand van de verkregen genetische profielen een aantal demografische vragen te beantwoorden, zoals het aantal aanwezige dieren, de mate van verwantschap, de betrokkenheid van adulten bij broedpogingen, en de overleving. Tevens wordt dieper ingegaan op de relatie tussen genetische vitaliteit en (kuiken)overleving en het effect van genetische versterking via bijplaatsing.

Korhoenders vermijden op natuurlijke wijze inteelt door een verschil in wegtrekgedrag (dispersie) tussen hennen en hanen. Vanwege de geïsoleerde ligging van de huidige populatie op de Sallandse Heuvelrug is dit niet meer mogelijk en is inteelt, gedefinieerd als paring tussen verwanten, op den duur onvermijdelijk. Dit proces wordt versterkt door de geringe populatie omvang, wat willekeurige partnerkeuze beperkt.

Inteelt depressie, of te wel een afgenomen vitaliteit als gevolg van inteelt, manifesteert zich bij vogels veelal in een verminderd reproductiesucces, rechtstreeks via de sterfte van ingeteelde embryo's (niet uitkomende eieren), en/of via een verminderde vitaliteit van kuikens of reproductieve adulten, bijvoorbeeld door een verlaagde weerstand. De beperkingen van inteelt worden met name zichtbaar onder minder gunstige omstandigheden (stress).

In dit onderzoek is duidelijk geworden dat de Nederlandse korhoenpopulatie al in 2010 genetisch zeer sterk was verarmd. In 2013, toen slechts zeven individuen overgebleven waren, bleek de variatie nog verder teruggelopen, tot gemiddeld 2,0 allelen per merker per individu (A). Ook op genen die van belang zijn voor een goed functionerend immuunsysteem bleek dezelfde trend duidelijk zichtbaar. De recente populatieafname en het gebrek aan variatie heeft geresulteerd in een zodanig hoge inteelt onder potentiële nakomelingen, dat dit zeer waarschijnlijk een negatieve invloed heeft gehad op de vitaliteit van de populatie en op het reproductiesucces in het bijzonder. De verminderde kuikenoverleving en het afgenomen percentage uitgekomen eieren zijn daarvoor illustratief. Op basis van de huidige dataset is het echter niet mogelijk om dergelijke relaties tussen inteelt en vitaliteit statistisch te bewijzen. Alle overige beperkende factoren die spelen op de Sallandse Heuvelrug

---

(klimaat, verzuring, etc) resulteren in minder optimale omstandigheden voor korhoenders en door dergelijke stress wordt het effect van inteeltdepressie versterkt.

Al sinds de vorige eeuw is de Nederlandse korhoenpopulatie genetisch gedifferentieerd van de Europese referentiepopulaties, en in 2003 bleek dit proces zich te hebben voortgezet (Jansman *et al.* 2004). De Sallandse populatie bleek destijds aanzienlijk te verschillen met de historische Nederlandse populatie. De gegevens voor 2010 laten zien dat de populatie sinds 2003 steeds verder gedifferentieerd is geraakt van de oorspronkelijke Nederlandse populatie en de overige Europese populaties.

In 2012 en 2013 zijn 29 korhoenders uit Zweden bijgeplaatst om het aantal individuen boven de direct kritische drempel van uitsterven te krijgen en vers bloed in te brengen ter aanvulling van de genetische variatie. Hoewel slechts van een deel van de Zweedse individuen DNA-materiaal kon worden bemachtigd, laat de beschikbare steekproef van genetische profielen van Zweedse korhoenders al een hoge verscheidenheid zien, die de genetische variatie in de populatie in 2013 weer terug heeft gebracht tot het niveau van een decennium geleden. De Zweedse dieren vertonen tot op heden een boven verwachting goede bijdrage aan de populatie en dragen vol op bij aan de balts en voortplanting. Op basis van genetische analyse van ruiveren die in de nazomer van 2013 werden gevonden kon worden vastgesteld dat er meerdere jongen van Zweedse hebben overleefd. In het voorjaar van 2014 zijn ten minste nog een jonge hen en mogelijk twee jonge hanen, geboren in 2013, op en rond de baltsplaats aangetroffen. Dit impliceert dat de omstandigheden voor kuikenoverleving niet volledig ongunstig zijn. Het betreft hier echter jongen van een niet ingeteeld ouderpaar. In 2014 zijn wederom broedpogingen ondernomen; echter zonder succes als gevolg van predatie (2x), een hen die tegen een draad vloog (1x) en één kuiken dat binnen vier dagen stierf (1x). Het is niet uit te sluiten dat er nesten zijn gemist. Geschat wordt dat de populatie in oktober 2014 bestaat uit zes tot acht hennen en drie tot vijf hanen waarvan het merendeel van Zweedse herkomst is.

Aanbevolen wordt om de populatie in aantal spoedig via bijplaatsing te laten groeien tot minimaal 50 individuen. Dit verkleint het risico op uitsterven, zowel doordat de invloed van toevallige sterfte wordt ingeperkt, als doordat de genetische variatie wordt aangevuld en zo de kans op inteeltdepressie wordt beperkt. Uiteindelijk is vergroting, verbetering en verbinding van het leefgebied van belang om een duurzame levensvatbare populatie te realiseren en herbergen. Monitoring op basis van genetische kenmerken is daarbij relevant, zodat kan worden nagegaan welke dieren aanwezig zijn, welke dieren bijdragen aan voortplanting, zodat genetische verarming en inteelt op tijd kan worden gesignaleerd, en om meer zicht te krijgen op de relatie tussen genetische diversiteit en voortplantingssucces.

---

# 1 Introductie

## 1.1 Het korhoen (*Tetrao tetrix*)

### 1.1.1 Ecologie van het korhoen

Korhoenders behoren tot de familie van de ruigpoothoenders *Tetraonidae*. Deze familie staat bekend om zijn specifieke aanpassing aan koude, Palearctische klimaten, zoals een sterk isolerend verenkleed en bevederde poten. De hanen zijn ongeveer 60 cm lang met een gewicht van 1100-1450 gram en de hennen ongeveer 45 cm lang met een gewicht van 750-1100 gram. De volwassen hanen hebben een karakteristiek zwartblauw verenkleed met opvallend witte onderstaartveren en rode rozetten boven de ogen, terwijl de hennen een roestbruin gestreept en gevlekt verenkleed hebben.

Korhoenders leven van nature in en rond niet al te hoge bossen met een open structuur. Vooral open heiden en veengebieden zijn daarbij van betekenis, terwijl daarnaast kapvlaktes en dikwijls aangrenzende extensief bewerkte cultuurgronden eveneens worden bewoond. Ze voeden zich vooral met zaden, bessen, naalden, katjes, stuifmeelkegels en verse takjes en knoppen van planten, bomen en coniferen. Daarnaast staan grassen, kruiden en de bloeiwijzen daarvan op het menu. Het spijsverteringskanaal is bijzonder voor vogels omdat het in staat is houtige gewassen te verteren. Jonge kuikens eten voornamelijk rupsen, larven en andere vertebraten. Het menu wisselt per seizoen en is afhankelijk van de beschikbaarheid. Het korhoen is vooral bekend om zijn spectaculair baltsvertoon.

De hanen verzamelen zich in het voorjaar 's ochtends vroeg op baltsplaatsen of arena's, waar ze met veel vertoon van hun verenpracht en verdragende koer- en kraaigeluiden proberen concurrenten te intimideren en hennen te verleiden tot een paring (Figuur 1). Eind april- begin mei zoekt de hen een geschikte nestplaats op, goed verstopt onder minimaal 30 cm hoge planten.



**Figuur 1** Korhoenbalts op de Sallandse Heuvelrug. Korhanen baltsen op open plekken in het landschap zodat ze goed zichtbaar zijn voor bezoekende hennen. Beide foto's zijn gemaakt vanaf het voor publiek bereikbare 'Pieterpad'. Links een afbeelding uit 2008 toen er nog regelmatig meerdere hanen op dezelfde baltsplaats werden waargenomen (let op de paring!). Rechts een afbeelding uit 2014. Er zijn dit voorjaar slechts vier dominant baltsende hanen waargenomen, alle van Zweedse herkomst (pootringen). Daarnaast zijn twee niet-dominante hanen waargenomen, vrijwel zeker jongen van 2013 (bron: Paul ten Den). De hanen baltsen nu veelal solitair, mogelijk als aanpassing aan de kleine populatieomvang.

De eieren worden om de dag gelegd tot een legsel van gemiddeld ca. acht stuks is bereikt. Indien dit legsel in een vroeg stadium verloren gaat kan een vervollegselsel worden geproduceerd. Na 25-27 dagen broeden komen de kuikens uit. Het zijn nestvlinders, die alleen door de hen worden begeleid en verwarmd. Na 10-14 dagen kunnen de jongen al enigszins vliegen (Cramp & Simmons, 1982, Del Hoyo *et al.*, 1994, Niewold, 2002).

Tabel 1

Ondersoorten van het korhoen *Tetrao tetrix* met de globale verspreiding (Del Hoyo *et al.*, 1994).

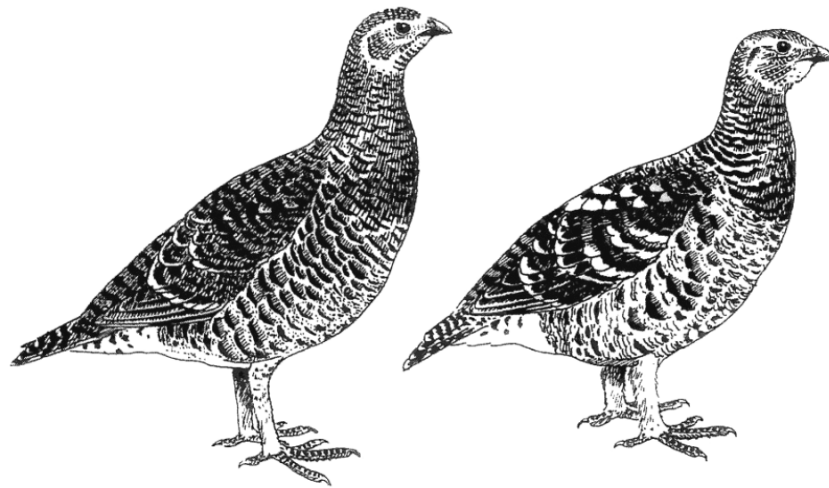
Ondersoort	Verspreidingsgebied
<i>T.t.britannicus</i>	Groot-Brittannië
<i>T.t.tetrix</i>	Scandinavië en Europa tot Oost-Siberië
<i>T.t.viridanus</i>	Zuidoost Rusland en Zuidwest Siberië
<i>T.t.tschussi</i>	Zuid Siberië
<i>T.t.baikalensis</i>	Zuidoost Siberië tot Noord Mongolië
<i>T.t.mongolicus</i>	Mongolië e.o.
<i>T.t.usseriensis</i>	West Azië

### 1.1.2 Ondersoorten en ecotypen

Voor het korhoen worden zeven ondersoorten beschreven (Tabel 1). Daarnaast bestaat er nog het Kaukasische korhoen *Tetrao mlkosiewiczi*, die als een aparte soort wordt beschouwd.

In West- en Midden-Europa leven de korhoenders op dezelfde breedtegraad maar in zeer verschillende biotopen. Door ruimtelijke isolatie zouden daardoor verschillende ecotypen zijn ontstaan (Scherzinger, 1980). Stegemann (1932) beschreef aan de hand van balgen korhoenders uit verschillende Europese populaties. Daaronder waren echter geen balgen van het vasteland van West-Europa. De handboeken namen zijn bevindingen later over en benoemden voor geheel Europa een nominaatvorm *Tetrao tetrix tetrix* en voor Groot-Brittannië de ondersoort *Tetrao tetrix britannicus*. De Deense korhoenders zouden ook tot dit laatste type behoren (Hjort, 1970).

Niewold & Nijland (1987) constateerden uiterlijke verschillen tussen korhoenders van verschillende herkomst. Zij vonden een grote morfologische overeenkomst tussen de populaties in Nederland, België en Groot-Brittannië. Op grond hiervan werd voorgesteld om de korhoenders van de West-Europese heide- en veengebieden als een apart ecotype *britannicus* te beschouwen. Deze wordt wel het West-Europese Heidekorhoen genoemd. Het West-Europese heidekorhoen was zwaarder met langere poten die korter waren bevederd, terwijl er geen verschil was in vleugellengte. Nederlandse korhennen vertoonden vanaf begin maart, twee maanden voor de eilegperiode, een gewichtstoename, terwijl dit bij Zweedse hennen pas medio april plaatsvond. Daarentegen zouden de Zweedse kuikens een snellere groei en ontwikkelingsperiode doormaken. Er konden geen aanwijsbare gedragsverschillen worden aangetoond, maar er bestond wel een duidelijk verschil tussen de koergeluiden (sonogrammen) van de hanen uit Zweden en de rest van Europa. De hennen van het heidekorhoen legden grotere eieren, terwijl er ook duidelijke verschillen in kleur en vlekkenpatroon bestonden met de korhennen van Zweedse afkomst (Figuur 2). De waargenomen verschillen in uiterlijk bleken een duidelijk genetische basis te hebben, aangezien ze tussen korhoenders uit Nederland en die uit Zweden onder identieke omstandigheden standhielden in fokkerijen, terwijl bij onderlinge kruisingen deze kenmerken intermediair overerfd.



Korhen „Nederlands” type

Korhen „Zweeds” type.

**Figuur 2** Verschillen tussen Nederlandse en Zweedse korhennen. Tekening: Ed Hazebroek.

## 1.2 Risico's voor genetische vitaliteit in kleine, geïsoleerde populaties

### 1.2.1 Het belang van variatie

Biodiversiteit wordt vaak op drie niveaus gedefinieerd: op het niveau van (1) ecosystemen en habitats, (2) op soortsniveau en (3) op populatie- en individu niveau (genetische biodiversiteit). Om genetische diversiteit te analyseren, zijn verschillende technieken ontwikkeld. Indien stukjes van het DNA worden onderzocht die coderen voor een eiwit (functioneel DNA) spreekt men over een *gen* of genen. Indien de onderzochte stukjes DNA geen functie, of een onbekende functie hebben spreekt men van een *merker* of *locus* (meervoud: *loci*). Voor het schatten van de algehele variatie en verwantschappen in populatie-genetisch onderzoek wordt meestal gebruik gemaakt van DNA-fragmenten zonder functie, en spreekt men dus van loci.

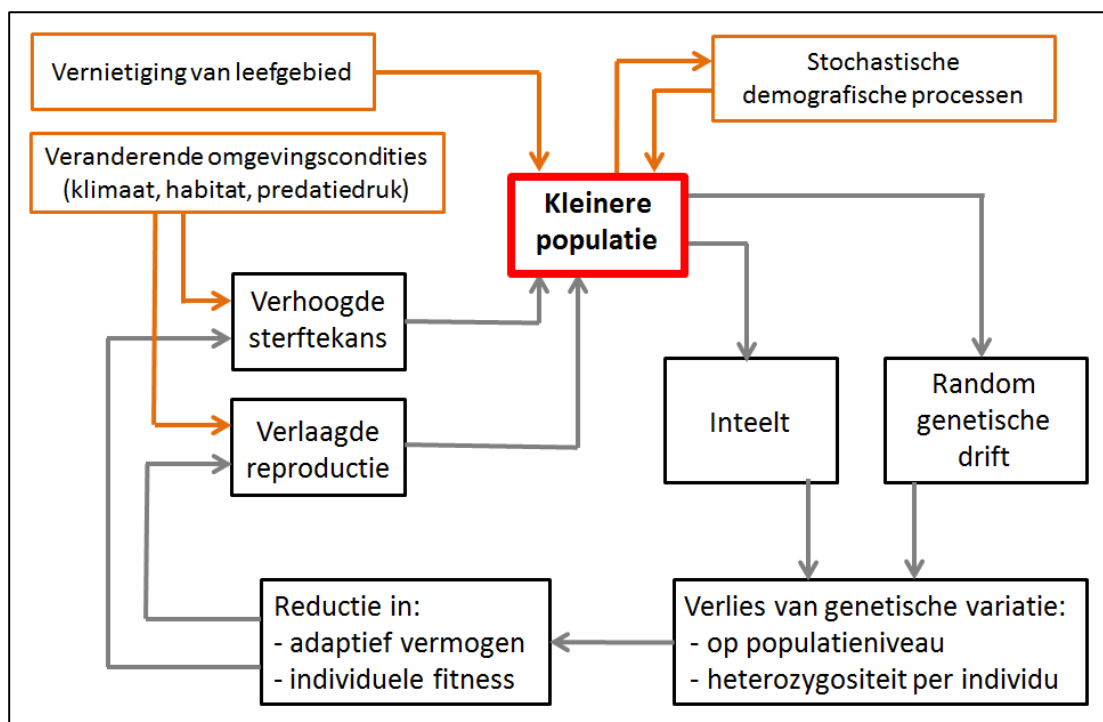
Twee standaardparameters voor het weergeven van genetische diversiteit, zijn de allelvariatie en het percentage heterozygositeit. De *allelvariatie* geeft aan hoeveel varianten of *allelen* er per locus aanwezig zijn in een populatie. Voor vertebreten, zoals het korhoen, geldt dat een individu van elk chromosoom twee kopieën bezit, en dus twee exemplaren van elk locus. Indien een individu van de vader een andere allel heeft meegekregen dan van de moeder, is dit individu *heterozygoot* voor dit locus. Indien het twee dezelfde allelen bezit is het *homozygoot*. Hoe groter het aantal verschillende allelen van een locus binnen een populatie, des te groter de genetische variatie van die populatie. Hoe groter het aantal genen waarvoor een individu heterozygoot is, des te groter is de genetische variatie in dat individu.

Het belang van dergelijke diversiteit laat zich het beste verklaren door genen als pakketjes informatie te beschouwen. Bij een grote variatie aan allelen is er dus veel informatie binnen het individu of populatie aanwezig. Deze informatie hoeft niet direct noodzakelijk te zijn voor de huidige overleving, maar kan bij veranderende omgevingsfactoren de overlevingskansen sterk verbeteren. Is ergens in de populatie de juiste informatie aanwezig die nodig is om de nieuwe omstandigheden te doorstaan, dan zal de populatie zich via natuurlijke selectie kunnen aanpassen. Omdat de genetische variatie per individu niet groot kan zijn, wordt het aanpassingsvermogen van een populatie vooral bepaald door de gezamenlijke genetische variatie van de individuen (Booy, 1998): de individuen die over de allelen beschikken die voor de nieuwe omstandigheden het meest geschikt zijn overleven. Bij gebrek aan variatie gaat dit aanpassingsvermogen verloren en worden alle individuen getroffen door omstandigheden waar ze niet mee om kunnen gaan.

Ook een gebrek aan genetische variatie binnen een individu, oftewel een gebrek aan heterozygositeit, kan resulteren in problemen, door een verminderde *fitness* per individu. Onder *fitness* wordt verstaan de genetische bijdrage van een individu naar de volgende generatie(s). Deze bijdrage wordt vooral bepaald door hoeveel nakomelingen een individu gedurende zijn of haar leven produceert. Een verklaring voor het bestaan voor correlaties tussen heterozygositeit en bepaalde fitnessmaten (heterozygositeit-fitness-correlaties of HFC's) is de aanwezigheid van recessieve schadelijke allelen, die bij heterozygote individuen door dominante allelen kunnen worden onderdrukt (Charlesworth & Charlesworth 1989). Indien een individu homozygoot is voor een dergelijk schadelijk allel kan dit een schadelijk effect hebben, bijvoorbeeld omdat een bepaald eiwit niet langer functioneert.

### 1.2.2 Een negatieve spiraal in kleine populaties

In de huidige, sterk door mensen beïnvloede wereld hebben steeds meer soorten te maken met een verminderde populatieomvang, bijvoorbeeld als gevolg van het verdwijnen en gefragmenteerd raken van leefgebied. Hoe kleiner een populatie, des te kwetsbaarder deze is voor stochastische (toevallige) factoren (Shaffer 1987). Naast een verlies aan genetische variatie kan voor het korhoen specifiek gedacht worden aan een grote heidebrand, waarbij van het ene op het andere moment zijn leefgebied ongeschikt kan worden en de populatie plotseling kan uitsterven. Daarnaast is het mogelijk dat door toeval alleen maar hanen worden geproduceerd (en geen hennen), waardoor er minder nakomelingen worden geproduceerd, of kunnen de klimatologische omstandigheden het ene jaar gunstiger zijn dan het andere (door koude of regenval). Genetische, demografische en omgevingsfactoren werken vaak samen, waarbij een afname in populatieomvang veroorzaakt door de ene factor de kwetsbaarheid van de populatie voor alle drie de factoren verder vergroot. Hierdoor neemt de populatieomvang steeds verder af, en kan de populatie uiteindelijk uitsterven. Deze trend staat bekend als de *extinctiespiraal* (Blomqvist *et al.* 2010).



**Figuur 3** De rol van genetische factoren binnen de extinctiespiraal. Naar Buiteveld en Koelewijn (2006).

Figuur 3 toont de rol die een terugkoppelingsmechanisme van genetische factoren kan spelen in deze extinctiespiraal. Een proces dat bij kleine populaties een belangrijke rol speelt is *genetische drift*. Bij het doorgeven van de genetische variatie van de ene generatie naar de volgende, kunnen de verhoudingen in het voorkomen van verschillende allelen verschuiven. Door willekeurige sterfte van

---

individuen kan dan een verlies van bepaalde allelen optreden. In een kleinere populatie is de kans dat een bepaalde genetische variant door toeval verloren gaat vele malen groter dan in een grote populatie. Een variant die slechts in 10% van de individuen voorkomt zal in een populatie van 100 individuen nog altijd in gemiddeld 10 individuen aanwezig zijn. In een populatie van tien individuen daarentegen, is slechts gemiddeld 1 individu drager van deze variant. Mocht dit individu door toeval sterven (bijvoorbeeld wegens predatie) dan gaat een deel van de variatie verloren. Een sterke mate van genetische drift kan optreden als gevolg van 'bottlenecks' (Nei 2005). Een demografische bottleneck is het proces waarbij een populatie in korte tijd sterk in aantal achteruitgaat. Indien dit een sterke afname van de genetische variatie tot gevolg heeft dan spreekt men van een genetische bottleneck.

Verlies van variatie gaat in kleine populaties vaak hand in hand met een toename van de paring tussen verwanten, oftewel *inteeft* (Frankham *et al.* 2010). Genetische erosie leidt tot een hogere kans op paring van individuen met een overeenkomst in genetische achtergrond. Anderzijds leidt paring tussen dieren met (deels) dezelfde genetische achtergrond tot een lagere variatie binnen individuen, waardoor de kans groot is dat zeldzame allelen verloren gaan en dus verdere genetische erosie optreedt. Veel diersoorten hebben strategieën ontwikkeld om paring met de meest verwante soortgenoten te vermijden. Echter, in een geïsoleerde populatie zal in de loop der generaties de verwantschap tussen individuen altijd geleidelijk toenemen, en daarmee ook de kans op *inteeft* (Frankham *et al.* 2010). In een kleine populatie gaat dit proces sneller, omdat er minder potentiële partners zijn om uit te kiezen.

Paring tussen individuen met een sterke genetische overeenkomst leidt tot een afname in het aantal heterozygoten, en daarmee een verlaagde *fitness*. Als sprake is van een duidelijke negatieve relatie tussen de mate van *inteeft* en de *fitness* van individuen in een populatie, spreekt men van *inteeftdepressie* (Charlesworth & Charlesworth 1987).

### 1.2.3 Inteeftdepressie bij vogels

Het meten van een effect van *inteeft* op *fitness* in een populatie vereist een nauwgezette en uitgebreide studie van demografische en genetische verschillen tussen individuen in een populatie. Om praktische redenen werd het bestaan van *inteeftdepressie* in dierlijke populaties dan ook aanvankelijk vooral aangetoond in gekweekte populaties waarvoor duidelijke stamboekgegevens beschikbaar waren (Ralls en Ballou 1983; Laikre 1999). Inmiddels is echter een aanzienlijke hoeveelheid bewijs geleverd dat vergelijkbare effecten niet alleen in kleine fokgroepen, maar ook in wilde populaties voorkomen (Keller & Waller 2002; Frankham 2010). Crnokrak & Rolf (1999) toonden *inteeftdepressie* aan in 90% van 157 datasets voor wilde populaties van 34 soorten, waaronder naast planten en zoogdieren ook verschillende vogelsoorten. Schadelijke effecten kunnen zich uiten in een breed scala aan factoren gerelateerd aan voortplantingssucces en overlevingskans. Bij extreem ingeteelde nakomelingen uiten de effecten zich vaak al in een vroeg stadium, in de vorm van sterfte van embryo's of pasgeboren juvenielen (Crnokrak & Rolf 1999). Bij vogels grijpen *inteeft*effecten dan ook vaak aan op het broedsucces: het percentage uitgekomen eieren (figuur 4) en/of de overleving van kuikens. In een uitgebreide studie naar *inteeftdepressie* bij vogels toonden Spottiswood & Moller (2004) voor 99 soorten een duidelijk verband aan tussen het uitkomstsucces van eieren en de mate van genetische verwantschap van de ouders. Maar ook dieren die overleven tot volwassenheid kunnen echter negatieve invloed ondervinden van een *inteeft*, bijvoorbeeld bij het voortbrengen van nageslacht. Zo bleek onder zebra-vinken in gevangenschap de heterozygositeit bij mannetjes een positieve correlatie te vertonen met de aantrekkingskracht voor vrouwtjes en het succes van bevruchting van eieren; bij vrouwtjes werd een positieve relatieve gevonden met het aantal gelegde eieren. Tabel 2 geeft een beknopt overzicht van de resultaten van wetenschappelijke studies naar *inteeftdepressie* onder vogels.

Tabel 2: Beknopt (en incompleet) overzicht van resultaten van enkele wetenschappelijke studies naar inteeltdepressie in vogelsoorten.

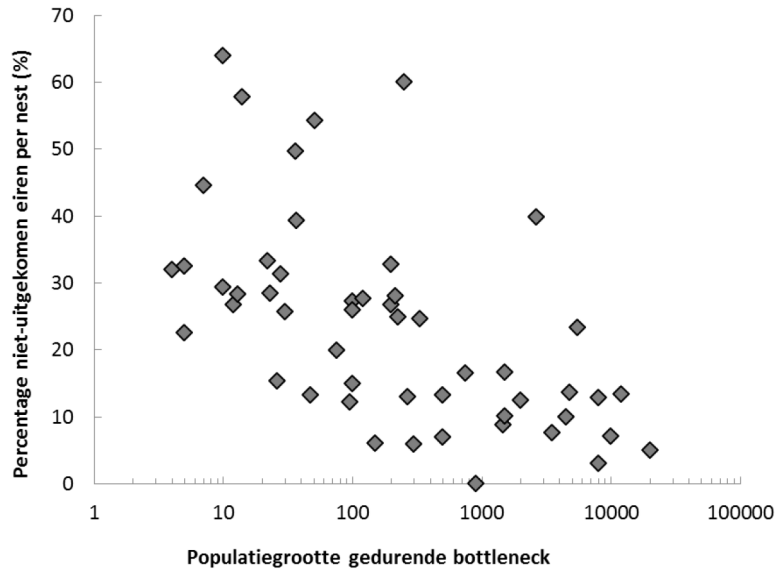
Nederlandse soortsnaam	Latijnse soortsnaam	Type populatie	Getroffen eigenschappen	Referentie
Kokardespecht	<i>Picoides borealis</i>	Wild	Uitkomstsucces eieren Kuikenoverleving	Daniels & Walters 2000
Zanggors	<i>Melospiza melodia</i>	Wild	Uitkomstsucces eieren	Taylor <i>et al.</i> 2010
Zebravinken	<i>Taeniopygia guttata</i>	Fok	Sexuele aantrekkingskracht Aantal geproduceerde eieren Bevruchtingssucces eieren	Forstmeijer <i>et al.</i> 2012
Koolmees	<i>Parus major</i>	Wild	Uitkomstsucces eieren Kuikenoverleving Overleving tot volwassenheid	Van Noordwijk & Scharloo 1981; Szulkin <i>et al.</i> 2007.
Kleine torenvalk	<i>Falco naumanni</i>	Wild	Uitkomstsucces eieren	Ortego <i>et al.</i> 2010
Mauritiusduif	<i>Columba mayeri</i>	Fok + Wild	Bevruchtingssucces eieren Uitkomstsucces eieren Kuikenoverleving Adulte overleving	Swinnerton <i>et al.</i> 2004
Attwater's Prairiehoen	<i>Tympanuchus cupido attwateri</i>	Fok	Kuikenoverleving Adulte overleving	Hammerly <i>et al.</i> 2013
Pimpelmees	<i>Cyanistes caeruleus</i>	Wild	Legselgrootte Bevruchtingssucces eieren Kuikenoverleving	Olando-Marín <i>et al.</i> 2011 Foerster <i>et al.</i> 2003
Hihi	<i>Notiomystis cincta</i>	Wild	Uitkomstsucces eieren Kuikenoverleving	Brekke <i>et al.</i> 2010
Aasgier	<i>Neophron percnopterus</i>	Wild	Meerjarig broedsucces	Agudo <i>et al.</i> 2012



**Figuur 4** Niet uitgekomen korhoennest. Bij vogels is een afgenomen uikomstpercentage van eieren een belangrijke indicatie voor inteelt depressie (zie ook figuur 5).



Hoewel schadelijke effecten het snelst tot uiting komen onder extreme inteeltsituaties, zoals directe paring tussen broers en zussen, hebben verschillende studies aangetoond dat ook bij geleidelijke toename van inteelt in kleine, geïsoleerde populaties individuen inderdaad een verlaagde fitness kunnen vertonen. Heber & Briskie (2010) onderzochten populaties van 51 bedreigde vogelsoorten die recent door een demografische bottleneck waren gegaan, en vonden een duidelijk negatief verband tussen de minimale populatiegrootte en het uitkomstsucces van eieren (Figuur 5).



**Figuur 5** Relatie tussen de populatiegrootte gedurende een 'bottleneck' (kleinst waargenomen aantal individuen in de populatie) en het percentage niet-uitgekomen eieren per nest (gecorrigeerd voor nestverlating en predatie), voor populaties van 51 verschillende vogelsoorten. Figuur op basis van een dataset gepresenteerd in Heber & Briskie (2010).

Of inteelt daadwerkelijk resulteert in inteeltdepressie, en in welke mate dit ook daadwerkelijk het functioneren van de populatie beïnvloedt, hangt af van een complex van factoren, waaronder de sterkte van de inteelt-fitness-correlatie, de betrokken eigenschappen, de populatiestructuur, en de omgevings-omstandigheden. Verschillende soorten, zoals de Mauritiaanse torenvalk en de Seychellenzanger, weten in kleine eilandpopulaties te overleven, ondanks een hoge mate van inteelt en lage genetische variatie (Richardson *et al.* 2004; Groombridge 2007). Waarschijnlijk zijn door een sterke of langdurige selectiedruk de meest schadelijke recessieve allelen in deze soorten reeds uit de populaties verdwenen (een proces dat wordt aangeduid als *purging*; Höglund 2009). Daarnaast is het belangrijk om te realiseren dat de mate van inteeltdepressie sterk kan afhangen van omgevingscondities, zoals klimaat, voedselbeschikbaarheid en concurrentie of predatiedruk (Richardson *et al.* 2004; Marr *et al.* 2006; Figuur 3). Het tot uiting komen van schadelijke allelen of een gebrek aan samenwerkende allelen in een homozygoot (ingeteeld) individu hoeft niet direct dodelijk te zijn, maar zal vaak resulteren in enige vorm van verzwakt functioneren. Hoewel de kans op overleving dus afneemt, hangt de daadwerkelijke overleving af van de mate waarin het individu wordt blootgesteld aan ongunstige condities (Bijlsma *et al.* 2000). De samenhang tussen omgevingscondities en inteeltdepressie kan sterk maar complex zijn. Keller *et al.* (2002) vonden een verlaagde overleving bij zowel juveniele als adulte Cactusvinken. In juvenielen was dit effect echter uitsluitend aanwezig in jaren waarin voedselstress ontstond door lage voedselbeschikbaarheid en hoge concurrentie met soortgenoten. Bij adulten was het effect van inteeltdepressie vijfmaal sterker bij verminderde voedselbeschikbaarheid. Voor Zanggorzen toonden Marr *et al.* (2006) aan dat eieren van ingeteelde vrouwtjes een relatief laag uitkomstsucces vertoonden, maar dat dit effect voornamelijk zichtbaar was wanneer het broedseizoen samenviel met een periode van regen. Ingeteelde vrouwtjes legden tevens vertraagd hun eieren, maar dit effect werd juist minder in stressvolle, koude jaren.

---

Een van de bekende mechanismen achter de relatie tussen inteelt en verminderde overlevingskans loop via het *major histocompatibility complex (MHC)*, dat codeert voor een groep van eiwitten die onderdeel uitmaken van het immuunsysteem en een belangrijke rol spelen bij herkennen van niet-lichaamseigen cellen. Een individu met weinig verschillende MHC-allelen zal een verminderde immunrespons vertonen, en daardoor vatbaarder zijn voor ziekten (zie bijvoorbeeld Wang *et al.* 2012). Verschillende studies hebben dan ook een verband aangetoond tussen de MHC-variantie per individu en de overlevingskans bij vogelsoorten (o.a. Brouwer *et al.* 2010; Worley *et al.* 2010).

#### 1.2.4 Minimale populatiegrootte en genetische uitwisseling

Op basis van theoretische modelstudies en monitoringsonderzoek hebben populatiegenetici inmiddels een behoorlijk goed beeld van de werking van de twee belangrijke genetische 'drivers' achter de extinctiespiraal, genetische drift en inteelt, bij verschillende populatiegroottes. De impact van deze processen hangt in hoge mate af van toevalsfactoren, en er kan dan ook nooit met zekerheid worden gesteld onder welke condities een populatie wel of niet zal uitsterven. Op basis van een aantal algemene wetmatigheden is echter wel een ruwe schatting te geven van het risico op uitsterven. Shaffer (1981) introduceerde op basis daarvan het concept 'minimale levensvatbare populatiegrootte' (MVP), dat hij definieerde als de kleinste omvang van een geïsoleerde populatie, waarbij de kans dat de populatie in de eerstvolgende duizend jaar overleeft tenminste 99% bedraagt, rekening houdend met de invloed van toevallige processen als genetische drift, klimaatsfluctuaties en natuurlijke catastrofes.

Verschillende studies hebben geprobeerd deze MVP vanuit genetisch oogpunt nader in te vullen, en algemene vuistregels op te stellen voor de minimale populatiegrootte die nodig is om te voorkomen dat een populatie in een extinctiespiraal belandt. Franklin (1980) introduceerde hiervoor de 50/500-regel. Deze stelt dat een ideale populatie, waarin alle individuen even sterk betrokken zijn bij reproductie en willekeurig met elkaar paren, minstens 50 individuen moet omvatten om te voorkomen dat inteelt en genetische verarming een onaanvaardbaar hoog niveau bereiken. Pas bij een populatiegrootte boven de 500 wordt verondersteld dat zelfs op de lange termijn geen variatie verloren gaat. Deze vuistregels staan sterk ter discussie. Lande (1995) en Traill *et al.* (2007) stellen dat bij een geïsoleerde ideale populatie minstens 5000 individuen nodig zijn om alle variatie te behouden. Daarnaast zal vrijwel nooit sprake zijn van een ideale populatie. Echter, wanneer polygamie, selectieve partnerkeuze en scheve geslachtsverhoudingen in beschouwing worden genomen, zijn aanzienlijk hogere populatiegroottes nodig.

Het is duidelijk dat de omvang van de huidige gefragmenteerde natuurgebieden in West-Europa in veel gevallen onvoldoende draagkracht biedt voor dierlijke populaties van een dergelijke omvang. Een oplossing zit in het voorkomen of opheffen van isolatie. Wanneer meerdere populaties aaneengeschaakeld zijn tot een grotere meta-populatie, kan de variatie die in een deelpopulatie verloren gaat weer worden hersteld door immigratie vanuit een andere deelpopulatie (Frankham *et al.* 2010). Genetische uitwisseling kan tevens voorkomen dat genetische differentiatie optreedt tussen populaties (zie ook sectie 1.5).

### 1.3 Genetische risico's bij korhoenders

#### 1.3.1 Achteruitgang in aantallen en variatie in Europese populaties

Als gevolg van een aanzienlijk verlies aan geschikt leefgebied, heeft het korhoen gedurende de afgelopen eeuw bijna overal in West-Europa een grote teruggang in aantallen doorgemaakt, die heeft geleid tot fragmentatie en isolatie van populaties (Storch 2000) en het uitsterven van veel kleine populaties. Op dit moment kan een globale driedeling worden gemaakt in de vitaliteit van de overgebleven Europese populaties (Höglund *et al.* 2007; Strand *et al.* 2012). In Scandinavië bestaan nog altijd relatief aaneengesloten populaties met duizenden individuen (vitaal). In Schotland, in de Alpen (o.a. Tauern, Vorarlberg, Tessin) komen nog gefragmenteerde populaties van enkele honderden individuen voor, die het beste kunnen worden beschouwd als meta-populaties (redelijk vitaal; Höglund *et al.* 2007). In het West-Europese continentale en Engelse laagland bestaan nog slechts enkele matig

---

vitale populaties: kleine groepen individuen in kleine geïsoleerde habitatsfragmenten, waaronder de Hoge Venen (België) de Sallandse Heuvelrug (Nederland) en de Rhön (Duitsland). De Duitse populatie op de Lüneburger Heide is in de afgelopen jaren weer in omvang toegenomen tot circa 200 hanen in piekjaren. In België worden op de Hoge Venen nog zo'n 10 hanen geteld (Loneux, 2000). 2010 bleek een goed voortplantingsjaar voor de daar aanwezige, eveneens kleine en geïsoleerde populatie. Het aantal hanen bleek het jaar daarop (2011) te zijn opgelopen tot 21 (Persoonlijke mededeling M. Loneux).

Genetische studies laten zien dat de afname van omvang en connectiviteit met name in de laaglandpopulaties heeft geleid tot genetische verarming (Höglund *et al.* 2007). Hierbij speelt het bottleneck-principe een rol: variatie die tijdens periodes met lage aantallen verloren gaat keert zonder mogelijkheid tot natuurlijke immigratie niet meer terug.

### 1.3.2 Inteelt, inteeltvermijding en inteeltdepressie bij korhoenders

Korhoenders kennen een complex paringsgedrag, waarbij hanen op een baltsplaats of arena (Engels: *lek*) strijden om de gunst van de hennen. Dit gedrag werkt op meerdere manieren inteelt in de hand (Lebigre *et al.* 2010). Hennen paren bijna altijd slechts met één haan per seizoen (Höglund *et al.* 2007). Deze paring vindt in 90% van de gevallen plaats op de baltsplaats, waar meestal sprake is van één dominante haan, waarmee het merendeel van de daar aanwezige hennen zal paren. Het merendeel van de legsels uit een seizoen zal dus bevrucht zijn door enkele op dat moment dominante hanen (Alatalo *et al.* 1991). Hennen hebben een voorkeur voor een oudere, dominante haan als paringspartner, en de partnerkeuze lijkt onafhankelijk te zijn van de verwantschap van de beschikbare hanen (Soulsbury *et al.* 2012). Hoewel dus geen sprake is van directe vermijding van inteelt (actieve keuze voor de minst verwante partner), is wel sprake van indirecte inteeltvermijding als gevolg van geslachtsafhankelijke dispersie: de jonge hanen zijn zeer plaatstrouw en vertonen een geringe mate van dispersie tot maximaal 5 km, terwijl jonge hennen verder wegtrekken van de plaats waar ze uit het ei kwamen. Van korhennen is bekend dat ze meer dan 30-50 km kunnen wegtrekken (Nappée, 1982, (Höglund *et al.* 1999; Caizergues & Ellison, 2002).) en incidenteel vindt zelfs extreme migratie van >100 km plaats (Cramp & Simmons, 1982). Dit systeem voorkomt op efficiënte wijze paring tussen broers en zussen. De kans op inteelt onder legsels van oudere hennen blijkt echter aanzienlijk, als gevolg van het feit dat hun zonen uit eerdere jaren niet wegtrekken en op een gegeven moment de rol van hun vader als dominante haan overnemen (Soulsbury *et al.* 2011). Verder is inteeltvermijding via geslachtsafhankelijke dispersie met name effectief in grote populaties of duidelijke metapopulaties, waar hennen kunnen wegtrekken naar een flink aantal alternatieve baltsplaatsen. In kleine, geïsoleerde populaties, waar voortdurend uitwisseling plaatsvindt tussen een beperkt aantal baltsplaatsen, kan de verwantschap tussen dieren op verschillende baltsplaatsen snel oplopen, en daarmee ook de kans op ingeteelde legsels (Höglund *et al.* 1999).

Relaties tussen inteeltniveau of individuele heterozygositeit en fitness-relevante eigenschappen kunnen zich bij korhoenders op verschillende manieren uiten. In een Finse korhoenpopulatie kon op basis van jarenlange veldmonitoring een positieve correlatie tussen het paringssucces van de hanen en hun individuele heterozygositeit worden vastgesteld (Höglund *et al.*, 2002). Hanen die er gedurende hun hele leven niet in slaagden een territorium op de baltsplaats te veroveren beschikten over een lager percentage heterozygositeit dan hanen die daar tenminste gedurende één paringsseizoen wel in slaagden. Genetisch verarmde korhoenders zouden dus ook over afgenomen competitieve capaciteiten kunnen beschikken. In een andere studie toonden Soulsbury *et al.* (2011) een duidelijk verlaagd gewicht aan onder kuikens van verwante ouders. Dit zou een direct gevolg kunnen zijn van een verminderde vitaliteit onder ingeteelde kuikens, of een bewust verminderde investering door ouders in kuikens ontstaan uit paring met een verwante (Arct *et al.* 2010). In beide gevallen resulteert een toegenomen verwantschap onder potentiële paringspartners tot een lagere kans op de overlevingskans van het nageslacht (Ludwig *et al.* 2010).

Een van de bekendste voorbeelden van de mogelijke gevolgen van een verminderde populatieomvang bij vogels heeft betrekking op een andere verwante hoendersoort: de Prariehoen. Op basis van 35 jaar onderzoek aan een relictpopulatie in Illinois (VS), toonden Westemeier *et al.* (1998) aan dat een afname in populatiegrootte gepaard ging met een sterke afname in genetische diversiteit, evenals een sterke afname in het succes van bevruchting en uitkomst van eieren. De afname in reproductiesucces kon met hoge waarschijnlijkheid worden gerelateerd aan een gebrek aan heterozygositeit (Westemeier

---

*et al.* 1998). Dit vermoeden werd gesterkt door het feit dat na bijplaatsing van genetisch diverse soortgenoten uit andere populaties het reproductiesucces in korte tijd weer herstelde. Ook onderzoek aan de nauwverwante Attwater's Prairiehoen toonde een duidelijke relatie aan tussen zowel inteelniveau als heterozygositeit en de overlevingskans van zowel juveniele als adulte dieren (Hammerly *et al.* 2013).

## 1.4 Inteeltdepressie versus uitteeltdepressie

Als gevolg van genetische drift zullen in verschillende populaties verschillende allelen verloren gaan. Hierdoor zal de genetische samenstelling van gefragmenteerde populaties in de loop der tijd gaan verschillen. Verdere differentiatie kan optreden als gevolg van aanpassing aan de lokale omstandigheden via natuurlijke selectie. De mate waarin deze lokale adaptatie plaatsvindt is gerelateerd aan de populatieomvang, de duur van de isolatie en de mate waarin het nieuwe leefmilieu verschilt van het oorspronkelijke. Genen met voordelige eigenschappen voor het speciale leefmilieu zullen op den duur frequenter voorkomen dan de minder gunstige genen. Genetisch bepaalde eigenschappen, zowel in uiterlijk als gedrag, zullen op deze wijze gaan verschillen ten opzichte van andere populaties (Lande 1976).

Indien een lokaal aangepaste populatie weer in contact wordt gebracht met soortgenoten uit een andere populatie, hetzij natuurlijk door het opheffen van een migratiebarrière, hetzij kunstmatig door het uitwisselen van individuen, kan dit leiden tot het omgekeerde effect van inteeltdepressie: uitteeltdepressie. Hiermee wordt bedoeld dat kruising tussen lokale dieren en dieren uit een genetisch andere populatie kan resulteren in nakomelingen die minder goed functioneren, vanwege het opheffen van de lokale adaptatie (Fenster & Galloway 2000; Vergeer *et al.* 2008). Het introduceren van soortgenoten uit een andere populatie (translocatie) is een efficiënte, en steeds frequenter toegepaste maatregel om zowel de populatiegrootte als de genetische variatie in een bedreigde populatie weer op een hoger peil te brengen. Echter, wanneer een dergelijke poging tot '*genetic rescue*' resulteert in uitteeltdepressie (doordat de lokale dieren kruisen met dieren met genen die onder de lokale omstandigheden minder gunstig zijn), kan het onbedoeld de overlevingskans van een reeds bedreigde populatie verder verkleinen.

Strategieën voor translocatie dienen er dus op gericht te zijn om zowel de risico's op inteelt als uitteelt te beperken (Hedrick 1995). De verhouding tussen beide risico's verschilt van soort tot soort, en een translocatiestrategie dient dan ook te worden afgestemd op de eigenschappen van de doelsoort (Vergeer *et al.* 2008). Het risico op inteelt is met name hoog in soorten die van nature voorkomen in uitgestrekte habitats waarbinnen veel uitwisseling plaatsvindt; het risico op uitteelt is met name aanwezig in soorten die van nature verspreid over kleinschalige populaties met gespecialiseerde habitats voorkomen, waarin lokale adaptatie mogelijk op relatief sterke en/of langdurige wijze heeft plaatsgevonden (Vergeer *et al.* 2008).

In het algemeen wordt geprobeerd om translocaties zoveel mogelijk uit te voeren met materiaal uit populaties die een zo groot mogelijke overeenkomst in genetische samenstelling en fenotypische eigenschappen vertonen, en zoveel mogelijk leven onder overeenkomstige habitatcondities.

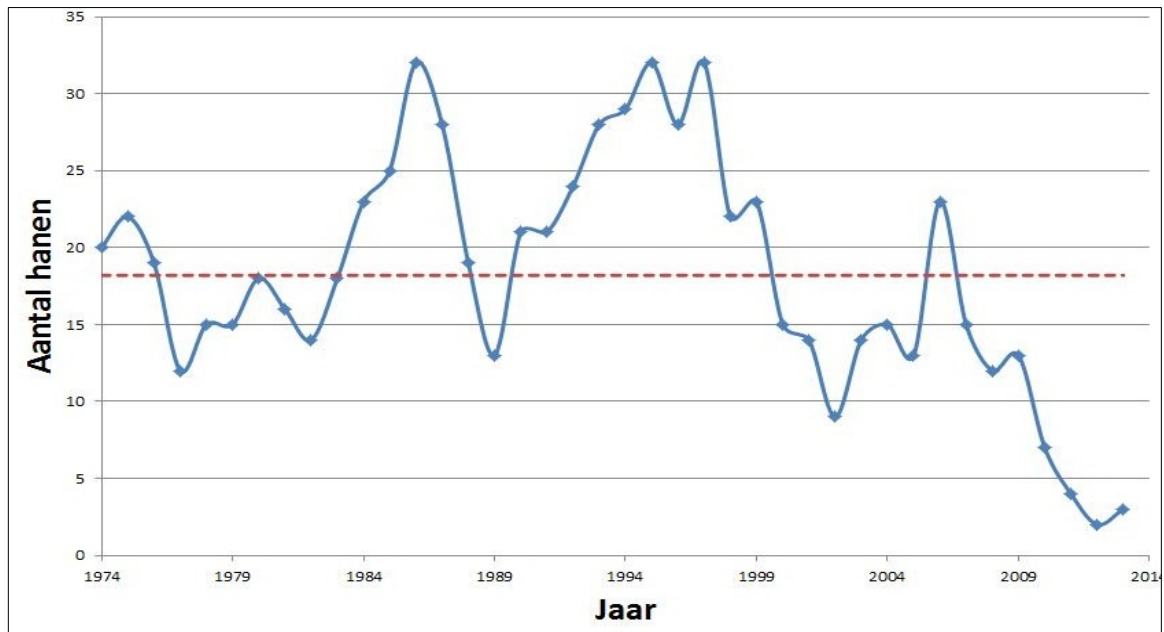
## 1.5 De laatste Nederlandse korhoenpopulatie

### 1.5.1 Sterke afname in populatiegrootte

Het korhoen komt waarschijnlijk al vanaf het Mesolithicum (10.000 tot 5.000 jaar voor Christus) in Nederland voor, waarbij het onduidelijk is wat de historische status van de populatie is geweest. Vanaf het einde van de 19e eeuw vergroot het korhoen zijn verspreidingsgebied aanmerkelijk, vooral als gevolg van het in cultuur brengen van de heide en veengebieden. Toen echter grote delen van de heidevegetaties verdwenen namen de aantallen al snel weer af. Rond 1940 zouden er verspreid over bijna alle heide- en hoogveen gebieden van ons land nog ruim 5000 hanen aanwezig zijn geweest. Vervolgens zette een daling in waarbij rond 1950-1960 het aantal korhoenders nog op ca. 3000 werd geschat en in 1976 werden er nog maar 456 baltsende hanen in het voorjaar geteld in ca. 150

atlasblokken (Teixeira 1979). Twee jaar later was de stand al teruggelopen tot ongeveer 225 hanen. Vanaf 1947 gold een algemeen jachtverbod op het korhoen, maar pas in 1974 werd de laatste afschotonthefving afgegeven. Vervolgens verdwenen de korhoenders in snel tempo van bijna alle Nederlandse heidevelden.

Sinds begin jaren '90 de laatste korhoenders van het nabijgelegen Wierdense Veld zijn verdwenen, houdt de laatste Nederlandse populatie stand op de centrale heide van de Sallandse Heuvelrug in Overijssel. (Niewold *et al.* 1987, Niewold 2002, Ten Den & Niewold, 2000). Daar schommelde het aantal korhanen rond de 15-25 om in de laatste vijf jaar een afname te doormaken tot het historische dieptepunt van twee hanen in 2012 (figuur 6). De dichtstbijzijnde, eveneens sterk geïsoleerde populaties op de Lüneburger Heide en de Hoge Venen bevinden zich op een grote afstand van meer dan 200 km. Natuurlijke immigratie is dus niet waarschijnlijk. De Nederlandse korhoenpopulatie op de Sallandse Heuvelrug is daarmee zowel volledig geïsoleerd als qua omvang kritisch klein.



**Figuur 6** Jaarlijks aantal getelde korhanen op de Sallandse Heuvelrug (Jansman *et al.* 2014).

### 1.5.2 Reproductieproblemen

In 2011 - 2013 is, onder andere met zenders, gericht onderzoek naar het reproductiesucces verricht. Daaruit bleek dat in die jaren het aantal uitgekomen eieren van voltijds bebroede legfels afnam van 90-95% tot ca. 50%; zie tabel 3. In 2013 werd maar één voltijds bebroede legfels waargenomen, hoogstwaarschijnlijk van Zweedse ouders (zie paragraaf 3.5.3.). Dit legfels kwamen wel volledig uit. De kuikens stierven echter korte tijd later, en bleken bij sectie mager en sterk door teken geparasiteerd te zijn (Kuiken, 2013). Een ander legsel resulteerde wel in vliegvlugge jongen maar werd pas in de late jongenfase vastgesteld.

Van acht wel uitgekomen legfels in de periode 2011-2013 kon worden vastgesteld dat alle of enkele van de eieren waren uitgekomen. Hiervan konden zes tomen met kuikens worden gevolgd (Ten Den en Niewold, 2011 en 2013 en 2014 in voorbereiding). Deze kuikens bleken allen binnen twaalf dagen te sterven. Pathologisch onderzoek aan enkele van deze kuikens toonde aan dat deze sterfte het gevolg was van ondervoeding en/of bloedarmoede (Kuiken, 2013).

Tabel 3

Broedresultaten Sallandse Heuvelrug periode 1981-heden (bron: Ten Den en Niewold, 2014 in voorbereiding).

Jaar	2013	2011-2012	2007-2010	2002-2006	1981-1985
Aantal legsels	5	10	26	23	28
Uitgekomen legsels	20%	70%	96%	65%	50%
Nestverlies door nestpredatie	40%		4%	30%	7%
Nestverlies door henpredatie	40%				14%
Nestverlies overig		30%		4%	29%
Uitgekomen voltijds bebroedde eieren	100%	51%	94%	95%	91%
Legselgrootte (1e legsels)	6 (n=1)	7,9	7,3	7,3	7,3
Omvang ei (=l*b <sup>2</sup> , in cm)	60,0	68,6	69,1	68,6	70,4
Gem. uitkomstdatum	18 juni	14 juni	8 juni	12 juni	13 juni

### 1.5.3 Genetische verarming en genetische differentiatie

In 2004 is een populatie-genetische studie verricht naar de status van het Nederlandse korhoen waarin monsters uit de populatie op de Sallandse Heuvelrug, verzameld in 2003, zijn vergeleken met de historische Nederlandse situatie en enkele buitenlandse referentiepopulaties (Jansman et al, 2004). De historische genetische variatie in Nederland bleek nauwelijks minder dan die van grote gezonde Europese korhoenpopulaties. Jansman et al. (2004) lieten echter zien dat in 2003 de genetische variatie op de Sallandse Heuvelrug wel was afgenomen, en de populatie reeds duidelijk genetisch armer was dan Europese referentiepopulaties. Dit is zeer waarschijnlijk het gevolg van de kleine populatieomvang en de sterk geïsoleerde status van de populatie.

In de studie van Jansman et al. (2004) bleek de historische Nederlandse populatie al in enige mate genetisch gedifferentieerd van de Europese referentiepopulaties, en in 2003 bleek die differentiatie verder toegenomen te zijn. De Nederlandse populatie is waarschijnlijk vanaf de jaren '40 gescheiden geraakt van de populaties in Centraal Europa. De omstandigheden in de leefgebieden in de laaglanden van Noordwest- en Centraal Europa zijn niet zeer verschillend. Het is daarom niet waarschijnlijk dat lokale adaptatie de belangrijkste rol speelt bij de aangetoonde differentiatie. Waarschijnlijker is het dat genetische drift als gevolg van de langdurig kleine populatieomvang op dit moment een stuwende kracht vormt op de selectie voor onder andere grootte (Höglund, 2009).

### 1.5.4 Bijplaatsing in 2012 en 2013

Om de kans op acuut uitsterven door te lage aantallen te verkleinen en mogelijk spelende inteelteffecten te verminderen, besloten de diverse betrokken instanties in 2012 om korhoenders uit een wilde populatie te vangen en uit te zetten op de Sallandse Heuvelrug (Ten Den & Niewold 2013). Gekozen werd voor dieren uit een Zweedse populatie, aangezien dit een van de meest nabijge populaties was met voldoende omvang om zonder problemen een flink aantal dieren weg te vangen (Jansman & Lammertsma 2012). Ook bij een vergelijkbare translocatie in de Rhön-populatie werd gebruikt gemaakt van Zweedse korhoenders. Aanbevolen werd om dieren in het voorjaar, voor de baltsperiode, los te laten (Jansman & Lammertsma 2012).

In 2012 werd een proefproject uitgevoerd. In begin mei van dat jaar werden vier wildvang korhoenders uit Zweden (drie hanen en één hen) vrijgelaten op de Heuvelrug. In 2013 werd hieraan een vervolg gegeven door uitzet van een groter aantal Zweedse dieren: tien hanen in de eerste week van april 2013 en nog eens zes hanen en negen hennen in de eerste week van mei 2013 (Ten Den & Niewold 2014).

Een deel van de korhoenders werd voor uitzet gezenderd. De overleving, locatie en het baltsgedrag van met name deze zenderhoenders kon nauwgezet worden gemonitord (Ten Den & Niewold 2013; Ten Den & Niewold 2014). De sterfte was hoog in de eerste maand na bijplaatsing, maar laag in de 10 maanden daarna. In maart 2014 waren van de zeven gezenderde hanen nog twee, in leven; van de zes gezenderde hennen waren er nog drie in leven (Ten Den, pers. comm.).

---

## 1.6 Vraagstelling

Sinds 2003, het jaar waarin Jansman *et al.* (2004) de Sallandse korhoenpopulatie genetisch onderzochten, is deze populatie sterk in aantal achteruitgegaan, wat een verdere afname van de genetische vitaliteit aannemelijk maakt. Ervaringen uit eerdere studies naar inteeltdepressie bij korhoenders en andere vogelsoorten (paragraaf 1.3 en 1.4) suggereren dat een verdere genetische verarming zou kunnen bijdragen aan een verminderde reproductie en overleving onder de Sallandse korhoenders. Hoewel het aantal en de informatie over reproductiepogingen in recente jaren te beperkt was om te proberen een concreet verband tussen reproductiesucces en inteelniveau aan te tonen, levert een nieuwe kwantificatie van de genetische status van de populatie essentiële informatie voor een gedegen inschatting van de huidige overlevingskansen van de Sallandse populatie. Daarnaast en geeft dit meer inzicht in de noodzaak en mogelijkheden voor beheermaatregelen ter behoud van het korhoen in Nederland.

Een impuls voor de lokale genetische variatie was, naast het vergroten van de populatieomvang *an sich*, een belangrijk nevendoeel van het introduceren van Zweedse korhoenders in 2012 en 2013. De genetische variatie onder deze Zweedse individuen was waarschijnlijk hoog maar niet nader onderzocht, waardoor onduidelijk bleef in hoeverre deze beheersmaatregel de variatie in de populatie heeft verhoogd. Daarnaast is op basis van veldwaarnemingen niet met zekerheid vast te stellen welke dieren betrokken waren bij pogingen tot reproductie. Om meer inzicht te krijgen in de vraag of genetische factoren (herkomst en variatie) een rol spelen bij het reproductiesucces, is het van belang om voor specifieke legsels en/of kuikens na te gaan in hoeverre zij het resultaat zijn van paring van Nederlandse of Zweedse korhoenders, of een combinatie daarvan.

Succesvolle paringen, resulterend in nakomelingen, tussen Zweedse en Nederlandse hoenders leiden tot een vermenging van de nieuw ingebrachtte genetische variatie met de overgebleven variatie onder Nederlandse korhoenders. Dit zou een belangrijke stap zijn voor het behoud van variatie in de komende jaren. Onduidelijk is echter in hoeverre verschillen in uiterlijk en gedrag tussen de twee groepen korhoenders een belemmering vormen voor onderlinge paring.

In opdracht van het ministerie van Economische Zaken is door Alterra onderzoek verricht naar de genetische variatie in de volwassen populatie korhoenders op de Sallandse Heuvelrug, inclusief de bijgeplaatste Zweedse dieren, en de differentiatie ten opzichte van andere Europese populaties. Ter ondersteuning van de ecologische monitoring werd tevens geprobeerd individuele korhoenders aan de hand van hun genetische profiel te identificeren, en na te gaan welke ouders betrokken waren bij (al dan niet succesvolle) broedpogingen.

Voor dit onderzoek werden de volgende onderzoeksvragen geformuleerd:

- In welke mate is genetische diversiteit onder de korhoenders op de Sallandse Heuvelrug gedurende het afgelopen decennium verder afgenomen?
- Is de huidige genetische variatie en verwantschap onder de korhoenders op de Sallandse Heuvelrug van zodanig laag niveau dat een aannemelijke kans bestaat op schadelijke inteeltdepressie?
- In welke mate is de genetische samenstelling van de korhoenders op de Sallandse Heuvelrug gedurende het afgelopen decennium verder gaan afwijken ten opzichte van de historische Nederlandse populatie en overige Europese populaties?
- Wat is de genetische variatie onder de in 2012 en 2013 geïntroduceerde Zweedse korhoenders?
- Wat is de genetische achtergrond van de in recente jaren geproduceerde legsels en kuikens?
- Wat zijn vanuit genetisch oogpunt de beste beheersmaatregelen ter behoud van het korhoen op de Sallandse Heuvelrug op de korte en langere termijn?

---

## 2 Materiaal en methoden

### 2.1 Monstername

Voor genetisch onderzoek wordt over het algemeen gebruik gemaakt van bloed- of weefselmonsters. Deze bevatten een hoge kwaliteit DNA, wat de laboratoriumanalyse vergemakkelijkt. Het bemachtigen van dergelijke monsters is echter niet altijd eenvoudig, aangezien de monstername veel stress kan opleveren bij zowel de bemonsterde dieren als de rest van de populatie. Met name in het geval van kwetsbare populaties is dit zeer ongewenst. In toenemende mate wordt daarom gebruik gemaakt van alternatieve bronnen van DNA, die door de dieren worden achtergelaten in het veld en vervolgens gemakkelijk kunnen worden verzameld. Voorbeelden van dergelijke zogenaamde non-invasieve monsters zijn, haren, veren, eischalen of zelfs uitwerpselen (Jansman *et al.* 2004; Domingo-Roura *et al.* 2006; Koelewijn *et al.* 2010).

Op de Sallandse Heuvelrug zijn sinds 2003 jaarlijks in het veld non-invasieve monsters verzameld in de vorm van rui- of predatieveren, eischalen en niet uitgekomen eieren. Jaarlijks vinden tijdens het baltsseizoen tellingen plaats van de dieren die zich op de baltsplaatsen vertonen, waarbij ook losse veren worden verzameld op de baltsplaatsen. Tevens worden nesten bezocht om resten van uitgekomen eieren, of eventuele niet-uitgekomen eieren te verzamelen. Daarnaast worden weefselmonsters genomen van doodgevonden hanen, hennen en kuikens. Op deze manier is een aanzienlijke monstercollectie opgebouwd, waaruit geput kan worden voor genetische analyses. Per monster is zo nauwkeurig mogelijk genoteerd van welk in het veld waargenomen individu het materiaal hoogstwaarschijnlijk afkomstig is.

Voor de genetische analyses uitgevoerd gedurende het huidige onderzoek werden monsters verzameld in de jaren 2010 – 2013. Daarnaast werden op verzoek van Alterra veermonsters verzameld van de uitgezette Zweedse korhoenders door veren te verzamelen die het dier bij vangst en transport verliest. Voor 22 van de 25 bijgeplaatste dieren is dat gelukt, maar niet voor allemaal. Bij het loslaten van dieren in 2012 was Alterra niet betrokken, en is helaas geen materiaal verzameld. In totaal werden 118 monsters geanalyseerd, waaronder 49 veermonsters, 37 eischalen, 8 monsters van volledige eieren, en 23 weefselmonsters. Deze werden zodanig geselecteerd uit de totale monsterset dat een zo groot mogelijk aandeel van de volwassen hoenders en broedpogingen in deze periode genetisch kon worden gekarakteriseerd.

Voor vergelijking met de eerdere genetische samenstelling van de Sallandse populatie, de historische Nederlandse populatie, en Europese referentiepopulaties, werd gebruik gemaakt van de genetische profielen die reeds beschikbaar waren uit de eerdere genetische studie aan het Sallandse korhoen door Jansman *et al.* (2004). Een volledig overzicht van de herkomst van de verschillende collecties is beschikbaar in Tabel 4.

Voor een karakterisering van de Sallandse populatie ten tijde van de vorige genetische studie werden de genetische profielen geselecteerd van monsters verzameld gedurende het jaar 2003.

De monsterset van de historische Nederlandse populatie was opgebouwd uit 33 balgen van korhoenders uit de periode 1893-1968, beschikbaar in de collectie van het Nationaal Natuurhistorisch Museum Naturalis te Leiden, aangevuld met monsters van enkele opgezette korhoenders uit particulier eigendom afkomstig van de Sallandse Heuvelrug.

Voor het verkrijgen van profielen van Europese referentiepopulaties werd nauw samengewerkt met Dr. Gernot Segelbacher (Max Planck Instituut voor Ornithologie in Radolfzell, Duitsland) en Prof. Jacob Höglund en Jobs Karl Larsson van de Universiteit van Uppsala in Zweden. Segelbacher verstreekte de genetische gegevens van korhoenders uit Nedere Tauern (Oostenrijk) en Rhön (Duitsland); van Larsson en Höglund werden genetische data van korhoenders uit Noorwegen en Schotland verkregen.



Tabel 4

*Herkomst, aantal geslaagde genetische profielen (N), monsterperiode en status van populaties van geanalyseerde korhoendermonsters.*

Populatie	N	Periode	Status
<i>Nederland</i>			
Zweedse uitzet	22	2012-2013	Afkomstig uit grote, stabiele populatie
Salland 2010-2013	81	2010-2013	Zeer kwetsbaar, klein en geïsoleerd
Salland 2003	31	2003	Zeer kwetsbaar, klein en geïsoleerd
NL museum	33	1893-1994	Tot ±1940 groot en stabiel, daarna afnemend
<i>Europese referentiepopulaties</i>			
Rhön (Duitsland)	7	1992-2003	Beperkte omvang, kwetsbaar
Niedere Tauern (Oostenrijk)	26	1998-2001	Metapopulatie, stabiel
Schotland (3 baltsplaatsen)	16	2002	Schommelend, nog niet kwetsbaar
Noorwegen, Östfold	25	Jaren '90	Groot, stabiel

## 2.2 Genetische analyses

### 2.2.1 DNA-extractie

DNA-extractie werd uitgevoerd met behulp van de DNeasy Tissue kit (Qiagen). Van dode kuikens is een weefselmonster gebruikt en van de eierschalen ongeveer 2 cm<sup>2</sup> waarvan het vlies met een bloedvat duidelijk aanwezig was. Van veren (veldmonsters) werd alleen het topje gebruikt dat zich in de huid bevindt (~3mm). Op dode korhoenders is sectie verricht waarbij een stukje spierweefsel is verzameld. Van opgezette korhoenders is een stukje van een eeltkussen van een teen afgesneden (bijlage 2).

### 2.2.2 Genetische karakterisering

Voor het vaststellen van genetische profielen werd gebruik gemaakt van microsatelliet merkers: afzonderlijke fragmenten in het DNA die variatie in de lengte van hun code vertonen. Deze lengtevarianten kunnen als allelen worden gescoord (Freeland *et al.* 2011). In totaal werd per monster een genetisch profiel opgesteld op basis van de aangetroffen allelen op 11 fragmenten (of *loci*). Vier primerparen van de loci TUT1, TUT2, TUT3 en TUT4, ontwikkeld voor het Auerhoen *Tetrao urogallus* (Segelbacher *et al.*, 2000), en zeven primerparen van de loci G10, BG12, BG15, BG16, BG18, BG19 en BG20, ontwikkeld voor het korhoen *Tetrao tetrix* (Piertney & Höglund, 2001), zijn in dit onderzoek gebruikt. Meer informatie over de exacte fragmentlengtes en primerparen per locus is beschikbaar in Tabel 4 in Jansman *et al.* (2004).

Stukjes van het DNA zijn met behulp van de Polymerase Ketting Reactie (PCR) vermenigvuldigd zodat ze zichtbaar konden worden gemaakt. De PCR-reacties werden uitgevoerd met 10 maal verdund DNA-isolaat in een totaal volume van 10 µl. Alle loci werden in PCR gezet met 1 µl 10x PCR buffer (200 mM Tris-HCl, pH = 8,4, 500 mM KCl), 4,25 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTP's-cocktail, 0,13 µM van elke primer, 0,16 µl W-1%, 0,16 µl BSA (20 mg/ml) en 0,3 U Taq-DNA polymerase (Invitrogen). De PCR condities bestonden uit een initiële denaturatie van 5 minuten bij 94 °C gevolgd door 35 cycli van 30 seconden van 95 °C, 30 seconden bij een bepaalde annealingtemperatuur (Ta) afhankelijk van het locus (tabel 4), 60 seconden bij 72 °C en een *final elongation* van 7 minuten bij 72 °C. De 5' -end van elke Forward-primer is gesynthetiseerd met een IRD 800 nm label. 5 µl van het amplicon werd na denaturatie in 5 µl *loading buffer* (99,6% Formamide, 10 mM EDTA en 0,1% Broomphenol blauw) voor 2 minuten bij 95 °C, geanalyseerd op een 25 cm lange sequencing gel (6,5% polyacrylamide, 7 M Urea en 1xTBE) met behulp van de LICOR 4200 DNA analyser. Tijdens de elektroforese werden referentiemonsters meegenomen om de allellengtes van de monsters te kunnen bepalen.

---

### 2.2.3 Identificatie en ouderschapsanalyses

Ten behoeve van identificatie en ouderschapsanalyses op basis van de nieuw verkregen genetische profielen van monsters uit de jaren 2010-2013, werd gebruik gemaakt van de volledige profielen, gebaseerd op 11 loci. De profielen werden met behulp van Excel gesorteerd op basis van verschillen in allelensamenstelling. Identieke profielen werden samengevoegd, en met behulp van de beschikbare monsterinformatie werd vervolgens elk uniek profiel aan een individu toegewezen.

De *probability of identity* (PI) geeft de kans weer dat twee verschillende individuen in de dataset hetzelfde genetische profiel hebben. PIsib (de kans dat twee volle broers of zussen hetzelfde genetische profiel hebben), wordt wel toegepast als een conservatievere maat voor de kans dat een individu over het hoofd wordt gezien. Voor de dataset met Nederlandse korhoenders uit 2010 had PI een waarde van  $1.1 \cdot 10^{-3}$  (=0,11%) en PIsib een waarde van  $4.0 \cdot 10^{-2}$  (= 4%). Waits *et al.* (2001) houden een PI-waarde van 1% aan als minimum voor een set genetische merkers om individuele toewijzing mogelijk te maken. De minst conservatieve waarde zit hier ruim onder, maar de meest conservatieve waarde erboven. Voorzichtigheid was dus zeker geboden bij het toewijzen van individuen in de huidige dataset, omdat, als direct gevolg van de lage genetische diversiteit, er een niet verwaarloosbare kans bestond dat individuen hetzelfde profiel vertonen. In alle gevallen waar meerdere monsters hetzelfde profiel vertoonden werden de monsternemers (Paul ten Den of Freek Niewold) geconsulteerd om na te gaan in hoeverre de monsters vrijwel zeker van een verschillend individu afkomstig moesten zijn. Voor monsters die na een eerste identificatieronde waren toegewezen aan een reeds bekend individu, werd een tweede en derde onafhankelijke genetische karakterisering uitgevoerd, om het verkregen profiel te verifiëren. Dit leverde voor enkele monsters een bijstelling op in de exacte allelensamenstelling, en gewijzigde identificatie van één monster. Profielen met een onzekere score op meer dan twee loci werden in principe niet meegenomen in de analyse, met uitzondering van een zestal veermonsters van mogelijke nieuwe kuikens uit 2013 (zie sectie 3.4.2).

Indien profielen afkomstig waren van een bevrucht ei of een doodgevonden kuiken, werd geprobeerd om op basis van de aangetroffen allelcombinaties een ouderpaar aan deze broedpoging toe te wijzen. Hiertoe werden de profielen handmatig vergeleken met de geïdentificeerde profielen van potentiële ouders. Vanwege de zeer geringe verschillen tussen profielen van verschillende individuen, bleek een unieke toewijzing slechts mogelijk indien tenminste één van beide ouders met zekerheid bekend was uit de monitoringsgegevens. Hierdoor kon geen enkele broedpoging uit 2010 met zekerheid aan een uniek ouderpaar worden gerelateerd; aan achtereenvolgens 4, 8 en 7 eieren of doodgevonden kuikens uit de jaren 2011, 2012 en 2013 kon met zekerheid een ouderpaar worden toegekend.

### 2.2.4 Genetische variatie en differentiatie binnen en tussen populaties

Op basis van een combinatie van de genetische data en veldwaarnemingen kon worden vastgesteld dat in 2010 de Sallandse populatie naar alle waarschijnlijkheid nog bestond uit tien hanen en minimaal zeven hennen. Voor de hier beschreven analyses van trends in genetische verarming en differentiatie is deze set van 17 profielen uit 2010 gebruikt als referentie voor de recente genetische status van de populatie. Na 2010 heeft op de Sallandse Heuvelrug voor zover bekend geen succesvolle reproductie meer plaatsgevonden. Veranderingen in de genetische samenstelling nadien betreffen dus slechts het verlies van variatie door het wegvallen van individuen uit hier gebruikte set 'Salland-2010'. Omdat de profielen van de buitenlandse referentiepopulaties niet op exact dezelfde set merkers was gebaseerd, moest voor een vergelijking van de genetische variatie en samenstelling van de verschillende populaties een dataset worden gebruikt met 8 van de 11 loci (TUT4, BG16 en BG20 werden overgeslagen) Voor enkele loci bestonden tussen laboratoria verschillen in de naamgeving van allelen. Om de datasets samen te kunnen voegen zijn deze verschillen gecorrigeerd met behulp van referentiemonsters. Uiteindelijk bleef een dataset over met profielen van 178 individuen op basis van 8 loci.

Per populatie werd de genetische variatie gekarakteriseerd door middel van het aantal allelen ( $A$ ; gemiddeld over de 8 loci) en het aantal allelen gecorrigeerd voor de steekproefgrootte per populatie ( $A_r$ ; gemiddeld over 8 loci), en de verwachte heterozygositeit ( $H_e$ ).  $H_e$  wordt berekend als het aandeel heterozygote individuen dat per locus kan worden verwacht gegeven de relatieve frequenties van de

---

aangetroffen allelen. Is sprake van een sterke dominantie van enkele allelen, dan is de verwachte heterozygositeit lager. Hiermee geeft He een iets genuanceerder beeld van de effectieve variatie. De daadwerkelijk aangetroffen heterozygositeit werd bepaald op populatieniveau ( $H_o$ ; gemiddeld aantal heterozygote individuen per locus) en per individu (MLH; percentage heterozygote loci in een profiel). Per populatie werd de verhouding bepaald tussen de verwachte en aangetroffen heterozygositeit ( $F_{is}$ ). Wijkt de heterozygositeit  $H_o$  af van de waarde die op basis van de allelendiversiteit kon worden verwacht, dan wijst dit erop dat niet elk individu van het andere geslacht een even waarschijnlijke paringspartner is (*'non-random mating'*). Een tekort aan heterozygoten (positieve  $F_{is}$ ) kan ontstaan door een ruimtelijke populatiestructuur, waarbij genetische varianten uit verschillende gebieden relatief weinig met elkaar in contact komen. Waarden voor  $A$ ,  $A_r$ ,  $H_o$ ,  $H_e$  en  $F_{is}$  werden per populatie berekend met behulp het programma Fstat (v 2.9.3; Goudet 1995); MLH werd berekend met behulp van het programma *Rhh* (Alho *et al.* 2010).

Om meer inzicht te krijgen in de overeenkomst in genetische samenstelling tussen populaties, werd gebruik gemaakt van een PCA (Principale Coördinaten Analyse) in het computerprogramma PcORD (McCune & Mefford 1999). Een PCA is een multivariate clusteringsanalyse, die probeert om de verschillen tussen individuen in een groot aantal eigenschappen (aan- of afwezigheid van elk mogelijk aan te treffen allel dat voorkomt in de dataset) zodanig te hergroeperen dat de belangrijkste verschillen in slechts enkele variabelen weer te geven zijn. De variatie tussen individuen voor deze variabelen is dan te plotten in een assenstelsel, waarin individuen die meer op elkaar lijken dichter bij elkaar komen te staan. Tevens werd via Fstat een paarsgewijze waarde ( $F_{st}$ ) voor de genetische afstand tussen populaties bepaald.

### 2.2.5 Variatie op het MHC (Major Histocompatibility Complex)

Microsatellieten zijn in principe zogenaamde 'neutrale' merkers: ze bevinden zich in delen van het DNA die niet voor een specifiek gen coderen. Deze markers geven een goed beeld van het algehele niveau van genetische variatie en heterozygositeit in de populatie, en daardoor ook van het niveau van inteelt. De zogenaamde adaptieve variatie, oftewel de allelvariatie voor DNA-fragmenten die coderen voor genen die een duidelijke rol spelen bij de overleving of reproductie, kan echter waardevolle informatie verschaffen over de kans dat inteelt ook daadwerkelijk schadelijke gevolgen oplevert voor een populatie (Hedrick 2001). Vanwege hun aangetoonde effect op ziekteresistentie en overlevingskans (zie paragraaf 1.1.3), vormen de MHC-genen bij vogels een goede genetische merker voor adaptieve variatie (Piertney & Oliver 2006). Als in een vogelpopulatie naast de neutrale variatie ook de variatie op het MHC afneemt, is dit een belangrijke aanwijzing voor een verhoogde kans op ziekte en een verlaagde overlevingskans.

In dit onderzoek werd de MHC-variantie bepaald voor een representatieve subset van de monsters, die zoveel mogelijk van de geïdentificeerde individuen omvatte (inclusief niet-succesvolle broedpogingen (ei of gestorven kuiken)). Hiertoe werden DNA-extracten opgestuurd naar Uppsala, Zweden, waar per monster het aantal allelen werd bepaald voor twee verschillende MHC-genen (BLB-1 en BLB-2; zie Wang *et al.* 2012 en Strand *et al.* 2012). Hieruit werd per individu en voor de hele populatie het totale aantal MHC-allelen berekend. Voor een klein aantal individuen kon geen MHC-profiel worden bepaald, of slechts een profiel gebaseerd op één van de twee genen. Dit kan in beperkte mate tot een onderschatting van de diversiteit hebben geleid.

## 3 Resultaten

### 3.1 Genetische variatie

Sinds de vorige genetisch studie voor de korhoenders op de Sallandse Heuvelrug, gebaseerd op monsters uit 2003, is de genetische variatie in de populatie aanzienlijk verder teruggelopen. Het absolute aantal allelen per locus (A) bleek in 2010 ongeveer te zijn gehalveerd ten opzichte van de populatie in 2003 (Tabel 5; in 2010 was 59% van de variatie uit 2003 nog aanwezig) en de historische museumpopulatie (Tabel 5; in 2010 was 49% van de variatie in de historische populatie nog aanwezig). In Tabel 6 is per locus met zwarte balken aangegeven welke allelen per populatie voorkwamen. Een vergelijking tussen de populaties NL museum, Salland-2003 en Salland-2010 laat duidelijk zien hoe in de loop der jaren gaten in het aanwezige spectrum van allelen zijn ontstaan, wat het verlies aan variatie illustreert.

Gemiddeld waren in de populatie van 2010 slechts 2,75 allelen aanwezig per locus. Bij een dergelijke lage diversiteit is het aantal verschillende allelcombinaties zeer beperkt, wat resulteerde in een hoge mate van gelijkenis tussen de genetische profielen van verschillende individuen.

In 2003 sloot de aangetroffen variatie ( $A=4,63$  en  $He=0,57$ ) nog redelijk aan bij de range die werd gevonden in de vier referentiepopulaties elders in Europa ( $4,25 \leq A \leq 6,63$ ;  $0,60 \leq He \leq 0,73$ ). De allelvariatie was echter duidelijk lager dan in de vrij stabiele populaties in Scandinavië (Noorwegen) en de Alpen (Niedere Tauern), en lag dicht in de buurt van de waarden die werden gevonden in de geïsoleerde, kleine populatie in de Rhön en de iets grotere, maar tevens geïsoleerde Schotse populatie. De allelvariatie in 2010 bedroeg echter zelfs maar ongeveer tweederde van de variatie in de Rhön-populaties, die eveneens in een kritieke situatie verkeerde. De He bedroeg iets meer dan de helft van de elders in Europa aangetroffen waarden.

Tabel 5

Overzicht van populatie-genetische parameters voor de acht geanalyseerde populaties korhoenders. A = gemiddeld aantal allen per locus, Au = gemiddeld aantal private allelen per locus (allelen die slechts in één populatie werden waargenomen), He = verwachte heterozygositeit, Ho = waargenomen heterozygositeit, MLH = gemiddelde heterozygositeit per individu, Fis =  $He-Ho/He$ . Een significant positieve Fis (aangegeven met een asterisk) duidt op een ruimtelijk verschil in genetische samenstelling.

Populatie	N	A	Au	He	Ho	MLH	Fis
Zweedse uitzet	23	6,50	0,38	0,69	0,61	0,68	0,08
Salland 2010	17	2,75	0,00	0,38	0,34	0,33	0,07
Salland 2003	31	4,63	0,13	0,57	0,44	0,50	0,12
NL museum	33	5,63	0,00	0,66	0,49	0,55	0,17*
Rhön	7	4,25	0,25	0,73	0,59	0,63	0,14
Niedere Tauern	26	6,63	0,63	0,68	0,70	0,70	-0,02
Schotland	16	4,38	0,13	0,60	0,69	0,66	-0,09
Noorwegen	25	5,75	0,63	0,69	0,69	0,69	0,00

### 3.2 Heterozygositeit

Ook de verwachte heterozygositeit He was in de populatie uit 2010 aanmerkelijk lager dan in de populatie van 2003 en in de historische Nederlandse populatie, al was het verschil minder groot dan voor de absolute allelvariatie, wat wijst op een relatief laag aantal zeldzame allelen in de populatie van 2010. Dit klopt met de verwachte allelverhoudingen in een populatie die kortgeleden een drastische afname in omvang heeft doorgemaakt (een bottleneck). Worden de waargenomen allelfrequenties in een histogram weergegeven, dan resulteert dit in een stabiele populatie vaak in een L-vormige

distributie, waarbij een relatief groot aantal allelen in lage frequentie voorkomt (Luikart *et al.* 1998). Een statistische test voor de historische Nederlandse en de Sallandse populatie in 2003 en 2010, via het computerprogramma Bottleneck (Piry *et al.* 1999), toonde alleen voor de Sallandse populatie uit 2010 een significante afwijking van deze L-vormige distributie.

De daadwerkelijk waargenomen heterozygositeit in de Sallandse populatie was in 2010 eveneens sterk lager dan in het verleden, en bedroeg slechts ongeveer de helft van de andere populaties in Europa ( $H_o=0,34$ ). Hierbij moet worden aangemerkt dat ook de aangetroffen waarde in de historische Nederlandse populatie al relatief laag was, en zelfs lager dan in de zeer kleine populatie in de Rhön (Respectievelijk  $H_o = 0,49$  en  $H_o=0,59$ ). Wanneer de heterozygositeit wordt uitgedrukt per individu, vertoonden de korhoenders in 2010 gemiddeld slechts heterozygotie op een derde van de geanalyseerde locaties in hun genoom (MLH = 0,33; zie ook Tabel 5: in 2003 bedroeg de MLH van de Sallandse populatie nog 0,50, de overige populaties kenden een MLH tussen de 0,55 en 0,70).

Tabel 6

*Aangetroffen allelen per populatie. Allelen zijn aangegeven middels een driecijferige code, die de lengte van het fragment in het DNA aangeeft. Aangetroffen allelen zijn zwart gekleurd.*

<b>TUT1</b>	197	201	205	209	213	217	221	225	229	
Zweedse uitzet										
Salland-2010										
Salland-2003										
NL museum										
Rhön										
Niedere Tauern										
Schotland										
Noorwegen										
<b>TUT2</b>	132	136	140	148						
Zweedse uitzet										
Salland-2010										
Salland-2003										
NL museum										
Rhön										
Niedere Tauern										
Schotland										
Noorwegen										
<b>TUT3</b>	146	150	154	158	162	166	170	174	178	182
Zweedse uitzet										
Salland-2010										
Salland-2003										
NL museum										
Rhön										
Niedere Tauern										
Schotland										
Noorwegen										
<b>BG10</b>	213	217	221	225	229	233	237	241	249	
Zweedse uitzet										
Salland-2010										
Salland-2003										
NL museum										
Rhön										
Niedere Tauern										
Schotland										
Noorwegen										

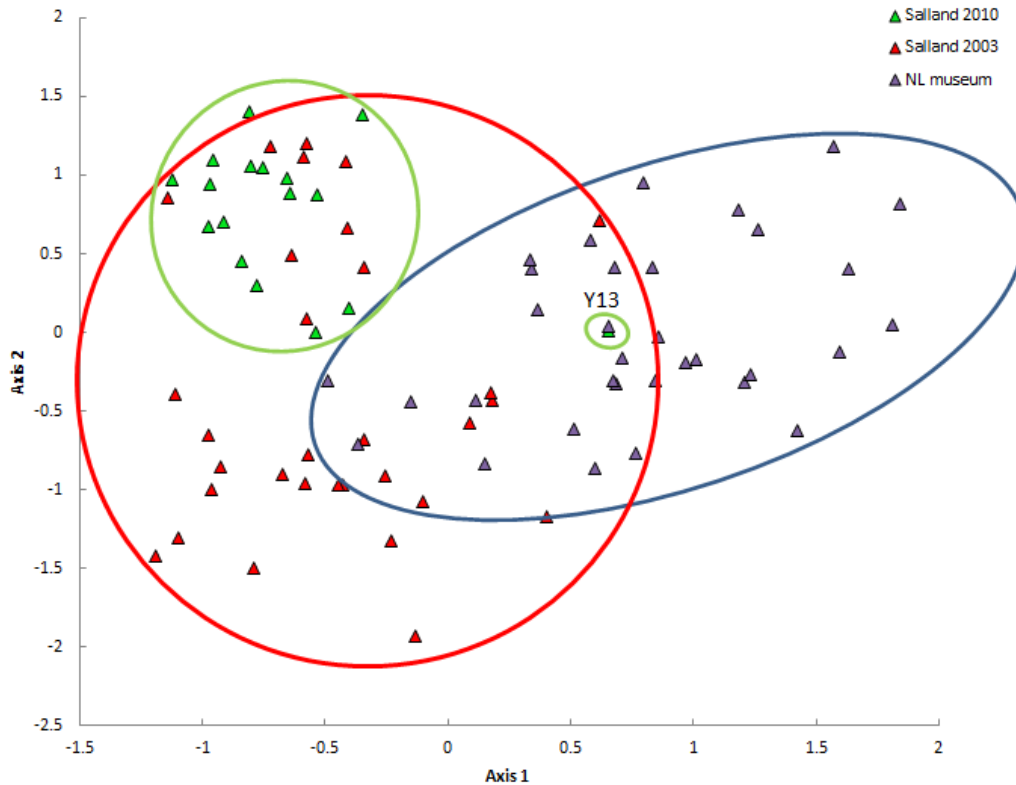
<b>BG15</b>	169	173	177	181	185	189	193	197	201	205	213
Zweedse uitzet											
Salland-2010											
Salland-2003											
NL museum											
Rhön											
Niedere Tauern											
Schotland											
Noorwegen											
<b>BG16</b>	153	157	161	165	169	173	177	181	185		
Zweedse uitzet											
Salland-2010											
Salland-2003											
NL museum											
Rhön											
Niedere Tauern											
Schotland											
Noorwegen											
<b>BG18</b>	140	148	152	156	160	164	168	172	176	180	184
Zweedse uitzet											
Salland-2010											
Salland-2003											
NL museum											
Rhön											
Niedere Tauern											
Schotland											
Noorwegen											
<b>BG19</b>	166	170	174	178	182	186	190	194			
Zweedse uitzet											
Salland-2010											
Salland-2003											
NL museum											
Rhön											
Niedere Tauern											
Schotland											
Noorwegen											

### 3.3 Genetische differentiatie

Figuur 7 toont de resultaten van clusteringsanalyse (PCA) waarin individuen met een genetisch meer overeenkomstige samenstelling dichterbij worden geplot. In de figuur zijn de twee assen weergegeven die het beste de variatie in de dataset verklaren. Echter, gezamenlijk verklaren zij nog altijd slechts 21,6% van de variatie, en het is mogelijk dat twee punten die in de figuur dicht bij elkaar liggen wel degelijk verschillen op een derde variatie-as. Op basis van de eerste twee assen in figuur 7 is echter reeds zichtbaar dat de Salland-populatie in 2003 al aanzienlijk verschilde van de historische populatie op basis van de museumcollectie, overeenkomstig met de eerdere resultaten van Jansman *et al.* (2004). De geringe overlap tussen de Salland-populatie en de historische populatie bleek in 2010 echter vrijwel geheel verdwenen. Slechts 1 individu leek genetisch sterk op de oorspronkelijke populatie (haan Y13 in Figuur 7). Deze haan was in 2010 de enige die nog een aantal allelen in zich meedroeg die in de historische populatie algemeen waren. Na 2010 werd haan Y13 echter niet meer waargenomen en verdwenen deze allelen dus uit de populatie.

Naast de PCA-analyse werd ook een paarsgewijze maat voor verwantschap berekend. Deze Fst-waarde kan variëren tussen 0 en 1. Hartl & Clark (1997) hanteren de volgende vuistregel voor interpretatie van Fst-waarden: Fst van 0,00-0,05 = geringe differentiatie; 0,05-0,15 = matige differentiatie; 0,15-0,25 = grote differentiatie en >0,25 = zeer grote differentiatie. Tabel 7 laat zien dat de differentiatie tussen het de museumcollectie en de Sallandse populatie tussen 2003 en 2010 sterk is toegenomen, van matig tot groot.

Wanneer ook de Europese referentiepopulaties in de analyses worden opgenomen wordt zichtbaar dat ook de differentiatie ten opzichte van alle andere Europese korhoenders verder is toegenomen. De PCA-plot in Figuur 8 laat zien dat de genetische samenstelling van de populaties in de Rhön, Nedere Tauern, Schotland en Noorwegen een grote mate van overlap vertoont. De historische Nederlandse populatie vertoonde al een enigszins afwijkende samenstelling, maar in recente jaren is de overlap volledig verdwenen (op wederom haan Y13 na). Tabel 6 laat zien dat de  $F_{st}$ -waarden ten opzichte van alle buitenlandse populaties zijn toegenomen van een 'grote' naar een 'zeer grote' differentiatie.

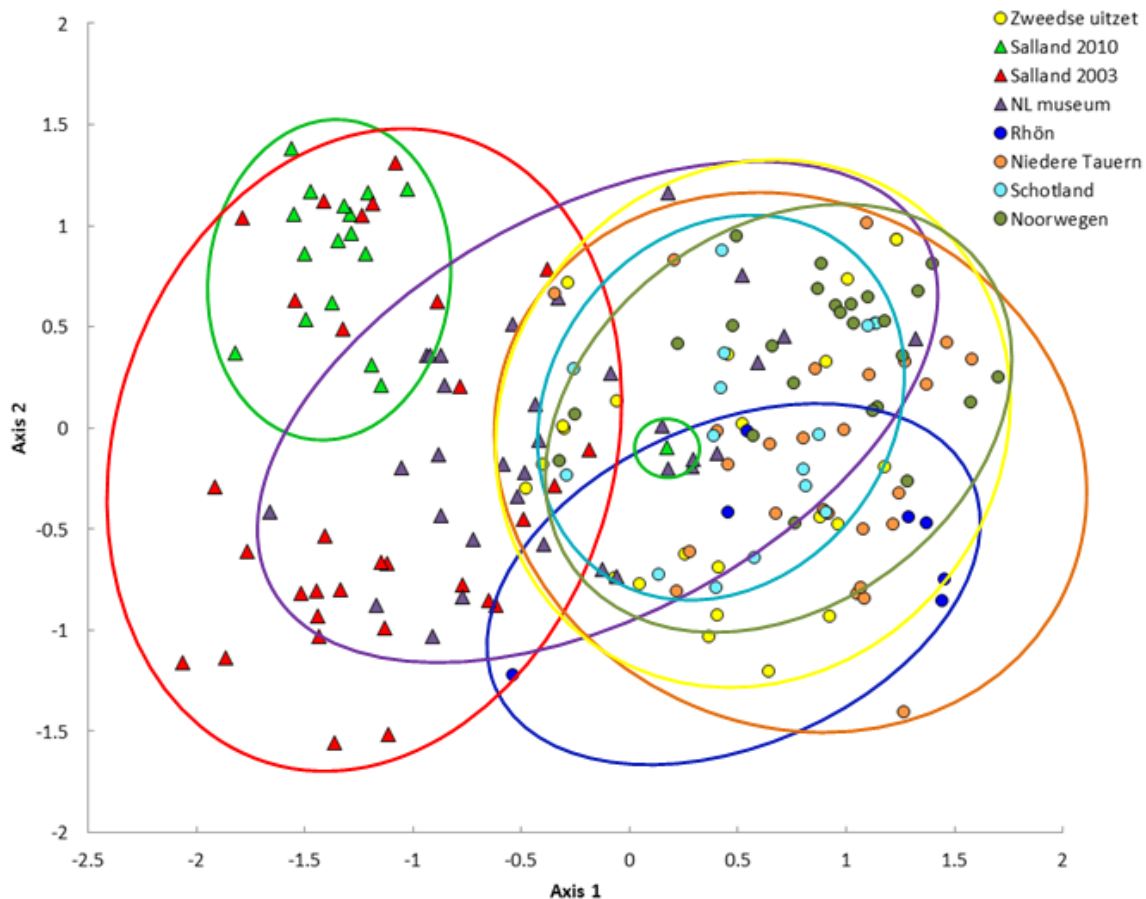


**Figuur 7** Scores van individuele korhoender genotypes van de Sallandse populatie in 2003 en 2010 en de historische museumcollectie (NL museum), op de eerste twee assen van een Principale Coördinaten Analyse (PCA). Deze twee assen verklaren 21,6% van de totale variatie. Elk punt in de grafiek vertegenwoordigt één individu.

**Tabel 7**

Genetische differentiatie ( $F_{st}$ ) van korhoenpopulaties. Vetgedrukte waarden vertegenwoordigen een zeer grote onderlinge genetische differentiatie ( $F_{st} > 0,25$ ).

	Zweedse uitzet	Salland 2010	Salland 2003	NL museum	Rhön	Nedere Tauern	Schotland
Zweedse uitzet							
Salland-2010	0,243						
Salland-2003	0,147	0,083					
NL museum	0,055	0,156	0,086				
Rhön	0,097	0,364	0,210	0,154			
Nedere Tauern	0,038	0,290	0,194	0,091	0,084		
Schotland	0,098	0,312	0,207	0,127	0,144	0,067	
Noorwegen	0,081	0,280	0,207	0,114	0,118	0,057	0,132



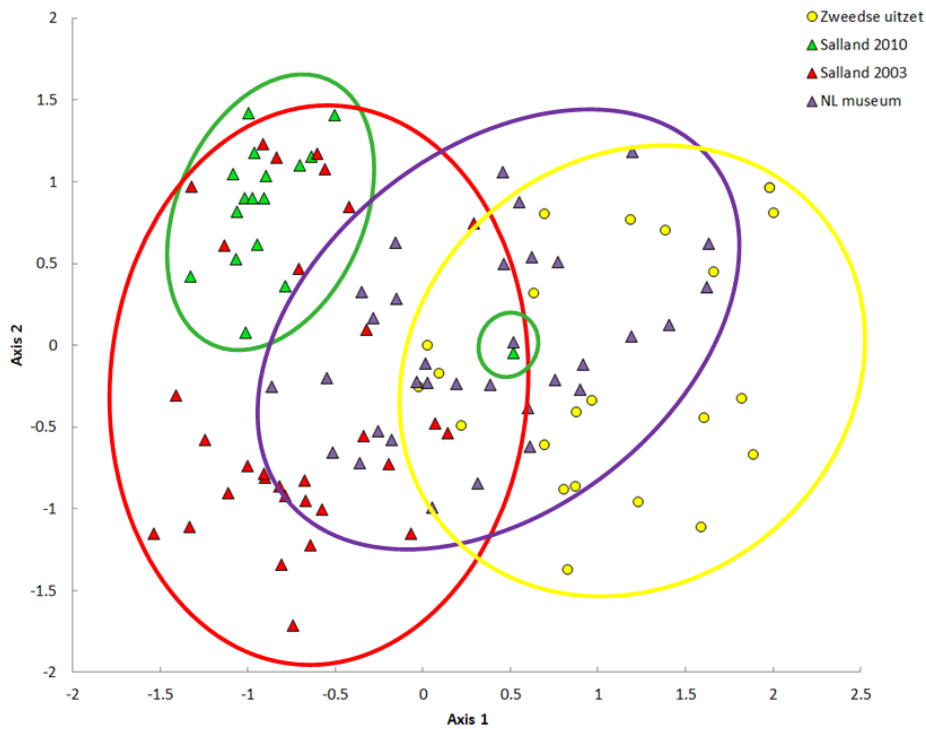
**Figuur 8** Scores van individuele korhoender genotypes van de Sallandse populatie in 2003 en 2010, de historische museumcollectie, en de Europese referentiepopulaties, op de eerste twee assen van een Principale Coördinaten Analyse (PCA). Deze twee assen verklaren 18,3% van de totale variatie. Elk punt in de grafiek vertegenwoordigt één individu.

### 3.4 Genetische karakterisering van ingeïntroduceerde Zweedse korhoenders

In het voorjaar van 2012 werden in totaal vier Zweedse korhoenders losgelaten op de Sallandse Heuvelrug ter versterking van de lokale populatie. Een jaar later waren daarvan tenminste één, en mogelijk twee hanen nog in leven (Ten Den & Niewold 2014). Helaas kon van deze individuen echter geen genetisch profiel worden bemachtigd (zie paragraaf 2.1).

De korhoenders die in het voorjaar van 2013 werden gevangen in Zweden en overgebracht naar de Sallandse Heuvelrug vertegenwoordigen gezamenlijk een aanzienlijke genetische variatie. Van 23 van de 25 Zweedse dieren konden genetische profielen worden vastgesteld, die samen een allelvariatie A van 6,50 vertoonden. Alleen voor de populatie in de Nedere Tauern werd een iets hogere variatie gevonden (Tabel 4). De variatie onder de Zweedse dieren overlapte in sterke mate met de algehele variatie in Europese populaties (Figuur 8) en eveneens in sterke mate met de historische Nederlandse variatie (Figuur 9). Paarsgewijze analyse van de onderlinge genetische differentiatie liet zien dat de Zweedse korhoenders een sterkere verwantschap vertoonden met de historische Nederlandse populatie ( $F_{st} = 0,055$ ; Tabel 6) dan de overige Europese populaties ( $0,091 \leq F_{st} \leq 0,154$ ). Als gevolg van de recente verandering in de genetische samenstelling in Nederland, waren de Zweedse dieren slechts beperkt verwant aan de huidige Sallandse korhoenders waarbij ze werden losgelaten ( $F_{st}=0,243$ ).





**Figuur 9** Scores van individuele korhoender genotypes van de Sallandse populatie in 2003 en 2010, de historische museumcollectie en de Zweedse korhoenders, op de eerste twee assen van een Principale Coördinaten Analyse (PCA). Deze twee assen verklaren 21,4% van de totale variatie. Elk punt in de grafiek vertegenwoordigt één individu.

---

## 3.5 Overleving, reproductie en verdere genetische verarming sinds 2010

Op basis van de genetische data werd voor het jaar 2010 een groter aantal individuen aangetroffen dan op basis van veldwaarnemingen was vastgesteld (10 in plaats van 8 hanen). Dit is niet onwaarschijnlijk, aangezien bij veldtellingen slechts de hanen worden waargenomen die zich binnen een bepaald tijdsinterval op de baltsplaatsen begeven. Minder dominante hanen kunnen daardoor aan het oog ontsnappen. De veermonsters voor genetische analyse werden echter eveneens op de baltsplaats verzameld. Waarschijnlijk is dus sprake van enkele ondergeschikte hanen die over het hoofd worden gezien tijdens tellingen, maar zich sporadisch toch op de baltsplaats vertonen en daar veren achterlaten.

In de periode van 2010 tot en met 2013 was de sterfte onder de Sallandse korhanen hoog. Onder de hennen was de sterfte lager, tot het voorjaar van 2013 toen opeens meerdere hennen verdwenen. Er was sprake van diverse reproductiepogingen, die echter allen onsuccesvol waren. In het najaar van 2013 werden voor het eerst sinds 2008 enkele juveniele korhoenders waargenomen; het resultaat van reproductie in 2013. Van deze juvenielen was DNA beschikbaar.

In het najaar van 2013 werden opnieuw enkele juveniele korhoenders waargenomen, waarschijnlijk het resultaat van reproductie in 2013. Van deze juvenielen was wel DNA beschikbaar. In de onderstaande paragrafen worden de veranderingen in genetische samenstelling sinds 2010 verder toegelicht, en wordt dieper ingegaan op het beeld dat op basis van de genetische profielen kon worden verkregen over de reproductiepogingen door diverse individuen.

### 3.5.1 Overleving en reproductie onder de laatste Nederlandse korhoenders

In 2010 vertegenwoordigde één haan, individu Y13, een aanzienlijk deel van de historische genetische variatie die nog resteerde op de Sallandse Heuvelrug. Na 2010 was deze haan overleden (zie Tabel 8 en paragraaf 3.4). Aangezien de overige, overlevende individuen allen relatief sterk verwant aan elkaar waren, werd met het overlijden van Y13 tevens de kans op heterozygote, niet-ingeteelde nakomelingen aanzienlijk ingeperkt. Ook vijf andere hanen werden na 2010 niet langer gezien. Van de overige 4 hanen vertoonden er drie een zeer beperkte heterozygositeit (MLH; Tabel 8). De overleving onder de hennen was hoger, en ook de heterozygositeit onder de overlevende hennen was aanzienlijk hoger. In het voorjaar van 2013 waren nog slechts twee Nederlandse hanen en vijf Nederlandse hennen in leven. Van twee Nederlandse hennen was de identiteit onzeker. De overige drie Nederlandse hennen vertegenwoordigden samen met de twee hanen een allelvariatie van 1 tot 3 allelen per locus ( $A = 2.00$ ; zie figuur 10).

In 2010 werden verschillende eischalen verzameld van legsels (waarvan de kuikens slechts kort overleefden). Welke hennen deze legsels produceerden kon echter niet met zekerheid worden vastgesteld. Vanwege de sterke gelijkens in de genetische profielen uit 2010 (door de geringe variatie), kon hierdoor ook niet met zekerheid een specifiek ouderpaar worden vastgesteld. Per legsel waren meerdere combinaties van haan en hen mogelijk.

Na 2010 waren het onder andere de gezenderde hennen A01 en A02 die legsels produceerden. In 2011 was haan Y9 met zekerheid de vader van een legsel van hen A02, de vader van het andere legsel (van A01) was ofwel haan Y1 ofwel haan Y3. Na 2010 waren alle overlevende hanen bij de paring betrokken, en vader van één of meer legsels.

Voor twee in 2012 doodgevonden kuikens uit verschillende nesten (verschillende moeders, A02 en A04, maar dezelfde vader, Y9), werd een identiek profiel gevonden. Dit illustreert de vergevorderde genetische armoede in de populatie.

**Tabel 8**

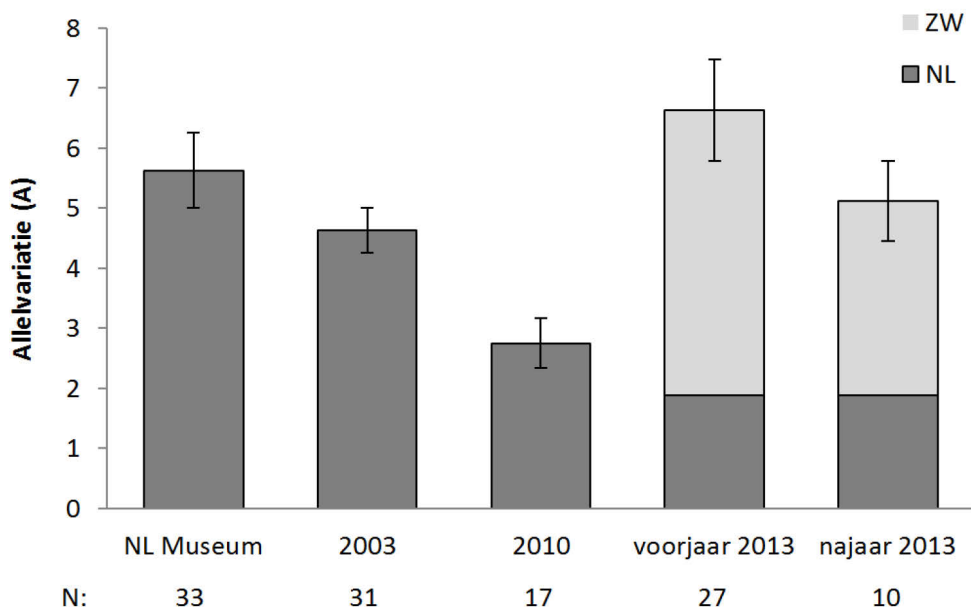
Overzicht van aangetoonde overleving en reproductiepogingen (ouderschap van legsels) door Nederlandse korhoenders in de periode 2010 – 2013, gebaseerd op de verkregen genetische profielen. Per individu is tevens diens individuele heterozygositeit (MLH, percentage heterozygote loci) weergegeven als indicatie voor de genetische vitaliteit. O = overleving, R = overleving en betrokken bij broedpoging.

Geslacht	Individu	MLH	2010	2011	2012	2013
hen	X1	0,18	O			
	X2	0,09	O			
	A01	0,45	O	R	R	
	A02	0,36	O	R	R	R
	A03	0,45	O	O	O	
	A04	0,30	O	O	R	O
	A07	0,45	O	O	O	O
	# aanwezige hennen*		≥10	≥9	≥7	5
	# profielen beschikbaar		7	5	5	3
	haan	Y1	0,18	O	R?	R
Y3		0,00	O	R?		
Y5		0,55	O	O		
Y7		0,45	O			
Y8		0,45	O			
Y9		0,27	O	R	R	O
Y10		0,36	O			
Y11		0,55	O			
Y12		0,18	O			
Y13		0,38	O			
# aanwezige hanen*			7	4	2	2
# profielen beschikbaar			10	4	2	2

\* geschatte voorjaarsstand op basis van tellingen (Ten Den & Niewold 2014)

### 3.5.2 Behoud van Zweedse variatie in de Nederlandse populatie

Figuur 10 geeft een overzicht van de afgenomen diversiteit in de Sallandse populatie in het afgelopen decennium, ten opzichte van de historische Nederlandse populatie. De bijplaatsing van genetisch zeer diverse Zweedse korhoenders (zie sectie 3.4) gaf in het voorjaar van 2013 een belangrijke impuls aan de destijds zeer lage genetische variatie in de Sallandse populatie. De allelvariatie werd ruim 3,5 maal zo hoog, en bereikte tijdelijk een hogere waarde dan in de historische museumcollectie (Figuur 10). In het najaar van 2013 was nog slechts een derde van de Zweedse dieren in leven (Ten Den & Niewold 2014). Desondanks bleek een aanzienlijk deel van de nieuw ingebrachte allelen behouden, en bevindt de alleldiversiteit zich momenteel weer minimaal op een gelijkwaardig niveau ten opzichte van 2003 en de historische populatie (Zie figuur 10). Hetzelfde geldt voor de heterozygositeit (0,45 in het najaar 2013, tegen 0,44 in 2010 en 0,49 in de historische populatie).



**Figuur 10** Minimale genetische variatie (Gemiddelde allelvariatie A per locus, met standaarddeviatie) in de historische Nederlandse populatie (NL Museum) en in de Sallandse populatie in 2003, 2010, direct na de uitzet van Zweedse korhoenders in het voorjaar van 2013 (mei) en in het najaar van 2013 (oktober). Waarden zijn gebaseerd op de genetisch gekarakteriseerde individuen (aantal profielen N is weergegeven onder de grafiek), en geven dus mogelijk een onderschatting van de werkelijke variatie. De bijdrage van de overlevende Nederlandse en Zweedse korhoenders aan de totale variatie is weergegeven in achtereenvolgens donkergrijs en lichtgrijs.

### 3.5.3 Reproductieve bijdrage van de Zweedse korhoenders

Ondanks aanvankelijk zwerfgedrag werden in het voorjaar van 2013 al snel baltsactiviteiten waargenomen van de bijgeplaatste dieren uit Zweden, zowel van de overlevende haan van 2012 als van hanen van het eerste en tweede cohort van 2013 (Ten Den & Niewold 2014). Hoewel nog geen vaste baltsterritoria werden gevestigd, en baltsgedrag veelal vanuit bomen werd uitgevoerd, melden Ten Den & Niewold (2014) dat het goed mogelijk is dat paringen hebben plaatsgevonden tussen Nederlandse en Zweedse korhoenders. Op basis van de uitkomsten van de genetische analyse kon dit echter niet met zekerheid worden vastgesteld.

Op 23 juni 2013 werden vijf dode kuikens dood in hun nest aangetroffen, vermoedelijk wegens ondervoeding, zware tekeninfectie of een combinatie daarvan (Kuiken 2013). Het betrof kuikens uit een nest met zes eieren van de Zweedse hen C03. Op basis van de aangetroffen allelen in de genetische profielen van deze kuikens en hun eischalen kon worden vastgesteld dat de vader een Zweedse haan moest zijn. Aangezien het afgeleide profiel niet een bekend profiel was van een uitgezette haan is het aannemelijk dat ze al in Zweden is bevrucht.



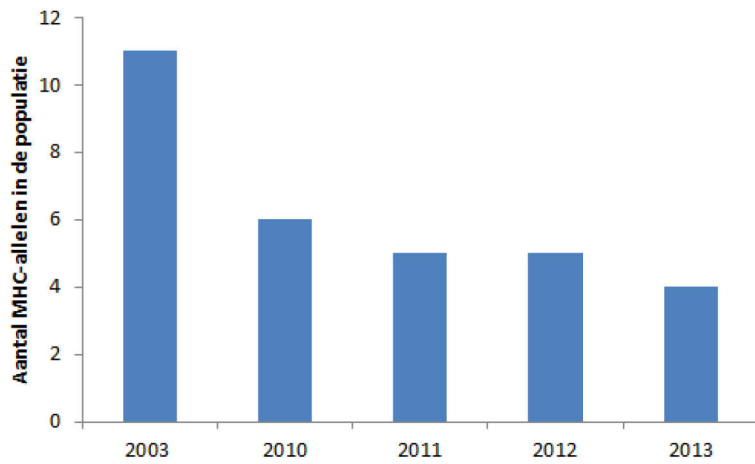
**Figuur 11** Fotocompilatie van een jonge hen (zonder ringen) die vrijwel zeker is geboren in 2013 en die op 5 mei 2014 rondom de baltsplaats van de dominante haan werd waargenomen (haan op foto voorzijde rapport). Ook hennen kennen een rangorde waarbij de oudere hennen domineren rond de hanen. Pas als deze hennen zijn bevrucht en een nestlocatie zoeken komen de jongere hennen naar de hanen. Foto links: de hen maakt contactgeluiden richting de baltsende haan die op 50 meter in de hei aan het bolderen is. Foto midden: de hen goed gecamoufleerd in het landschap. Foto rechts: foerageren op jong eikenblad.

In het najaar van 2013 werd een groepje van 5-6 (vrijwel) volgroeide korhoenders gesignaleerd, waaronder naar alle waarschijnlijkheid jonge exemplaren (Figuur 11). Uit een viertal in elkaars nabijheid gelegen stofbaden werden vervolgens donsveertjes verzameld voor genetische analyse. Helaas bleek het geëxtraheerde DNA van dusdanig lage kwaliteit dat slechts incomplete genetische profielen konden worden verkregen. Wel kon worden vastgesteld dat het ging om tenminste twee verschillende profielen, dat voor enkele merkers één of beide allelen van Zweedse afkomst waren, en dat de profielen niet overeenkwamen met die van de uitgezette Zweedse hanen en hennen die in het najaar van 2013 nog in leven waren. Op basis hiervan kan worden geconcludeerd dat het gaat om lokale nakomelingen waarvan tenminste één en zeer waarschijnlijk beide ouders van Zweedse afkomst zijn. Dit bevestigt het vermoeden van Ten Den & Niewold (2014) dat in 2013 toch sprake is geweest van enige mate van succesvolle reproductie. Het bleek echter niet mogelijk om met zekerheid een specifiek ouderpaar vast te stellen. Vrijwel zeker gaat het om een hen die in 2013 is bijgeplaatst, maar ongezonderd was, en dus niet nauwkeurig kon worden gevolgd in het veld. Het is goed mogelijk dat zij reeds in Zweden was bevrucht, waarna ze na translocatie haar nest op de Sallandse Heuvelrug heeft gemaakt.

### 3.6 Variatie op het MHC

In een onderzoek naar de genetische variatie in 11 Europese korhoenpopulaties lieten Strand *et al.* (2012) al zien dat de populatiebrede diversiteit in MHC-allelen (totaal aantal varianten gedeeld door populatiegrootte) in de Sallandse populatie het laagste was van alle bemonsterde populaties (0,32 op een schaal van 0,32-117, gemiddelde = 0,61). De gemiddelde allelvariatie per individu was in Salland juist vrij hoog (2,53 op een schaal van 1,36-2,97, gemiddelde = 2,03). Echter, de nieuwe gegevens laten zien dat de populatiebrede MHC-variatie in 2010 vrijwel gehalveerd was ten opzichte van 2003 (van 11 naar 6 allelen; Figuur 12). Onder de Nederlandse korhoenders die in 2013 nog leefden was deze variatie tot ongeveer een derde teruggedrongen (4 allelen over). Hierbij moet wel in aanmerking worden genomen dat niet in alle jaren van alle individuen een MHC-profiel beschikbaar was, en dus allelen over het hoofd kunnen zijn gezien. Zeker is echter dat sprake is van een sterke afname van de MHC-variatie.

Figuur 13 toont per jaar het gemiddeld aantal allelen per individu, voor twee verschillende groepen: de adulte dieren en de 'broedpogingen', oftewel de in het betreffende jaar nieuw aangetroffen eieren en kuikens (waarvan vrijwel geen enkele nakomeling uiteindelijk overleefde). De gemiddelde variatie per adult individu bleef tot in 2013 min of meer stabiel. Na 2011 nam de gemiddelde variatie per individu onder 'broedpogingen' plotseling af (Figuur 13).



**Figuur 12** Het aantal allelen op het major histocompatibility complex (MHC) aangetroffen in verschillende jaren bemonsterde inheemse individuen uit de populatie te Salland.



**Figuur 13** Het gemiddeld aantal MHC-allelen per individu aangetroffen in verschillende jaren bemonsterde inheemse adulten en broedpogingen (nieuwe eieren en kuikens) van de populatie te Salland.

---

## 4 Conclusies en aanbevelingen

### 4.1 De genetische gevolgen van een kleine populatieomvang

Genetisch onderzoek aan vele wilde dierpopulaties wereldwijd heeft laten zien dat wanneer de populatiegrootte afneemt tot een kleine omvang, dit vaak resulteert in een verlies van genetische variatie door genetische drift. Dit leidt op den duur tot een verlies van heterozygositeit en een toename van inteelt, wat vervolgens resulteert in een verder verlies van genetische variatie (Höglund 2009; Frankham *et al.* 2010). De waargenomen veranderingen in de Sallandse korhoenpopulatie vormen in veel opzichten een schoolvoorbeeld van de populatiegenetische gevolgen van een kleine populatieomvang: een verlies van allelvariatie, minder heterozygote dieren, paring tussen genetisch verwante individuen (inteelt) en genetische differentiatie ten opzichte van andere populaties.

#### 4.1.1 Genetische variatie en inteelt

Jansman *et al.* (2004) troffen in 2003 een genetische variatie aan die relatief laag was ten opzichte van andere Europese populaties. De variatie was echter slechts licht lager dan in een steekproef van de historische Nederlandse populatie (zie ook Tabel 5), waarbij het geografische gebied van bemonstering van deze historische populatie ook nog eens veel groter was. Het kon daarom niet worden uitgesloten dat de relatief lage variatie simpelweg samenhangt met het kleine geografische gebied dat de Nederlandse populatie bestreek (Jansman *et al.* 2004; Larsson *et al.* 2008). Wanneer binnen de Sallandse populatie echter de gegevens voor 2003 en 2010 worden vergeleken, is de genetische variatie sindsdien echter met ruim 41% afgenomen, van gemiddeld 4,63 tot 2,75 allelen (A). Dit hangt zo goed als zeker samen met de grote terugval in populatieomvang. Höglund *et al.* (2007) onderzochten 14 korhoenpopulaties in Europa en lieten zien dat kleine populaties over het algemeen een kleinere genetische diversiteit herbergden. De situatie in 2010 op de Sallandse Heuvelrug past in de door hen waargenomen patroon, en is een voortzetting van de trend van verarming die door Jansman *et al.* (2004) en Larsson *et al.* (2008) al werd waargenomen.

In 2013 was het gemiddelde aantal allelen (A) onder de overgebleven Nederlandse korhoenders slechts 2,00. Dit is een zeer lage waarde, die echter niet heel verrassend lijkt: een viertal individuen kan slechts een zeer beperkt aantal genetische varianten herbergen. Toch herbergt een willekeurige steekproef van vier individuen uit de groep bijgeplaatste Zweedse korhoenders gemiddeld een variatie van  $A=3,33$  (*rarefaction test* in het computerprogramma Fstat). Dit suggereert dat de genetische variatie verder ingeperkt is geraakt als gevolg van inteelt.

Inteelt is gedefinieerd als de paring tussen twee genetisch verwante individuen. Het inteeltniveau per individu wordt dan ook idealiter berekend op basis van een stamboom van de populatie, zodat kan worden bepaald in welke mate de twee ouders afkomstig zijn van dezelfde voorouders. De extreme gelijkheid tussen de genetische profielen maakte het opstellen van een dergelijke stamboom voor de Sallandse populatie echter onmogelijk. Deze grote gelijkheid geeft echter *an sich* al aan dat het inteeltniveau hoogstwaarschijnlijk zeer hoog is. Van een flink aantal nieuwe eieren en kuikens uit 2011, 2012 en 2013 kon het ouderpaar worden achterhaald. De verschillen tussen deze ouderprofielen waren steevast zeer beperkt, en in een enkel geval werd voor twee kuikens uit hetzelfde nest zelfs exact hetzelfde profiel gevonden.

Een snelle verlaging van de genetische variatie en toename van het inteeltniveau sinds 2003 is goed te verklaren vanuit de ecologie van het korhoen. Hennen paren bijna altijd slechts met één haan per seizoen (Höglund *et al.* 2007) en de meeste hennen paren met één dominante haan op de baltsplaats (Alatalo *et al.* 1991). Inteelt wordt vooral vermeden door geslachtsafhankelijke dispersie, waarbij vrouwtjes wegtrekken naar een andere baltsplaats (o.a. Soulsbury *et al.* 2012). In grote populaties is dit afdoende, en is actieve selectie van niet-verwante partners overbodig (Lebigre *et al.* 2010). In

---

kleine, geïsoleerde populaties, zoals op de Sallandse Heuvelrug, is de mogelijkheid tot dispersie echter sterk beperkt en stort het systeem als het ware in. Paring met telkens dezelfde partners resulteert dan in een snelle toename van het inteelniveau en een verlaagde genetische variatie onder de nakomelingen. Door sterfte van adulte dieren die hun genen niet wisten door te geven, gaat vervolgens genetische variatie verloren.

Ook de heterozygositeit in de populatie nam tussen 2003 en 2010 aanzienlijk af, maar niet zo sterk als de genetische variatie. Dit is een bekend fenomeen, waaraan populaties te herkennen zijn die recent een zeer sterke aantalsreductie (bottleneck) hebben doorgemaakt. Het verlies aan allelvariatie zal uiteindelijk ook leiden tot een lagere heterozygositeit, maar dit gebeurt pas na herverdeling van de allelen in volgende generaties. Dit betekent dat, zelfs als de populatieomvang na 2010 stabiel was gebleven en voldoende reproductie had plaatsgevonden, de heterozygositeit in de populatie zeer waarschijnlijk nog flink zou zijn gaan dalen als gevolg van de lagere variatie onder de mogelijke paringspartners. In werkelijkheid vond na 2010 geen reproductie plaats van Nederlandse dieren, zodat veranderingen in de heterozygositeit slechts werden bepaald door de sterfte van adulte dieren. Door bijplaatsing van Zweedse korhoenders met een relatief hoge heterozygositeit nam de totale heterozygositeit in de populatie in 2013 weer toe.

#### 4.1.2 Genetische differentiatie

Al sinds de vorige eeuw is de Nederlandse korhoenpopulatie genetisch gedifferentieerd van de Europese referentiepopulaties, en in 2003 bleek dit proces zich te hebben voortgezet (Jansman *et al.* 2004). De Sallandse populatie bleek in 2003 aanzienlijk te verschillen met de historische Nederlandse populatie. Er was echter wel sprake van een zekere overlap in samenstelling. De gegevens voor 2010 laten zien dat de populatie sindsdien steeds verder gedifferentieerd is geraakt van de oorspronkelijke Nederlandse populatie en de overige Europese populaties.

De Nederlandse populatie heeft geografisch gezien altijd al aan de rand van het verspreidingsgebied gelegen waardoor niet met alle andere Europese populaties uitwisseling kon plaatsvinden. Dit kan ertoe hebben geleid dat de genetische diversiteit zich ook anders kan hebben ontwikkeld dan in het centrum van het verspreidingsgebied (Jansman *et al.* 2004). Mogelijk heeft ook selectie en lokale adaptatie plaatsgevonden aan de verschillende leefomstandigheden. De recente sterke verschuiving in samenstelling is echter vrijwel zeker het gevolg van genetische drift: toevallige veranderingen in de aantalsverhoudingen tussen genetische varianten, als het gevolg van sterfte en reproductie.

## 4.2 Inteeltdepressie als verklaring voor het gebrek aan broedsucces en kuikenoverleving

Relaties tussen inteelniveau of individuele heterozygositeit en fitness-relevante eigenschappen kunnen zich bij korhoenders op verschillende manieren uiten en het gehele reproductieproces van paring tot kuikenoverleving beïnvloeden. Studies aan diverse populaties van hoenderachtigen hebben verbanden aangetoond tussen inteelt en/of heterozygositeit en onder andere het paringssucces van hanen (Höglund *et al.*, 2002), het bevruchtingssucces en de uitkomst van eieren (Westemeijer *et al.* 1998), en het gewicht (Soulsbury *et al.* 2011) en de overlevingskans (Hammerly *et al.* 2013) van kuikens. Over het algemeen uiten schadelijke effecten van extreme inteelt zich bij vogels met name via sterfte van het embryo (lagere uitkomst eieren) of het jonge kuiken (verminderde groei en overleving, afgenomen weerstand; zie paragraaf 1.2.3). Ook in de laatste jaren van de korhoenpopulatie in het Fochtelooveen en van de geïsoleerde Deense populatie werd een toename van niet uitgekomen eieren vastgesteld (persoonlijke mededeling Freek Niewold). Tevens manifesteert inteelt depressie zich met name onder verminderde omstandigheden (stress als gevolg van bijvoorbeeld een afgenomen voedselaanbod of slecht weer).

Dit doet de vraag rijzen of aan het lage uitkomstsucces van eieren en het gebrek aan overleving van kuikens die de korhoenpopulatie op de Sallandse Heuvelrug de afgelopen jaren heeft gekenmerkt wellicht een genetisch oorzaak ten grondslag kan liggen.



---

Voor het aantonen van inteeltdepressie in wilde populaties wordt door onderzoekers gezocht naar correlaties tussen het niveau van inteelt of heterozygositeit en een bepaalde fitness-gerelateerde eigenschap. Het aantonen van dergelijke verbanden vereist zowel genetische als fitness-gerelateerde data voor een groot aantal individuen, en een zekere onderlinge variatie in inteelniveau en fitness. Het geringe aantal (bemonsterde) eieren en kuikens, en het feit dat zij allen sterk ingeteeld waren, maakt het onmogelijk om een direct verband aan te tonen tussen inteelt en een specifieke fitness-parameter (zoals overlevingskans of uitkomst van legsels) voor de Sallandse populatie. In vergelijking met de beschikbare literatuur voor (kor)hoenders, en vogels in het algemeen, was het niveau van variatie en heterozygositeit dat op basis van neutrale microsatelliet markers werd aangetroffen in de afgelopen jaren echter zodanig laag, dat de kans zeer groot is dat het inteelniveau van de in de afgelopen jaren geproduceerde nakomelingen op een of andere wijze een negatieve invloed op hun vitaliteit heeft gehad. Dit beeld wordt versterkt door de resultaten die werden gevonden voor een tweede merkersysteem: de functionele variatie op het *major histocompatibility complex* (MHC). De genen van het MHC coderen voor diverse antigen families, en de hoeveelheid variatie op het MHC is dan ook van direct belang voor de opbouw van immuunreacties. Verschillende studies hebben laten zien dat een reductie in het aantal MHC-allelen per individu verband houdt met een verlaagde ziekteresistentie, en zelfs overlevingskans. Niet alleen bleek de totale MHC-variantie onder Sallandse korhoenders recent sterk teruggelopen, dit bleek met name ook het geval te zijn voor de bemonsterde eieren en doodgevonden kuikens uit 2012 en 2013. Indien de afgenomen variatie op een functioneel gen als het MHC illustratief is voor een afgenomen variatie op vele andere genen die van belang zijn voor de vitaliteit dan is dat een teken aan de wand. Een in dit verband belangrijke realisatie is dat inteelt zelden de enige oorzaak is van een afgenomen reproductie of overleving. Inteelt zal vaak simpelweg resulteren in enige vorm van verzwakt functioneren. Hoewel de kans op overleving dus afneemt, hangt de daadwerkelijke overleving af van de mate waarin het verzwakte individu wordt blootgesteld aan ongunstige condities. Bij vogels bekende voorbeelden hiervan zijn een geringe voedselbeschikbaarheid (Keller *et al.* 2002) en slechte weerscondities tijdens het broedseizoen (Marr *et al.* 2006). Beide factoren zijn door meerdere onderzoekers geopperd als oorzaken voor de recente reproductieproblemen te Salland (zie Jansman *et al.* 2014 voor een overzicht).

Samenvattend heeft waarschijnlijk een complex van factoren een rol gespeeld bij het recente lage reproductiesucces onder de Sallandse korhoenders. Op basis van de in deze genetische studie verkregen resultaten is duidelijk dat de recente populatieafname heeft geresulteerd in een zodanig hoge inteelt onder potentiële nakomelingen, dat dit zeer waarschijnlijk een negatieve invloed heeft gehad op de reproductie: rechtstreeks via de sterfte van ingeteelde embryo's (met een lage ei-uitkomst als resultaat), en/of door te resulteren in minder vitale kuikens, die suboptimale habitat- en klimaatcondities op de Sallandse Heuvelrug niet konden doorstaan. Op basis van de huidige dataset is het echter niet mogelijk om dergelijke relaties tussen inteelt en fitness-maten statistisch te bewijzen.

### 4.3 Zweedse korhoenders

De huidige genetische studie had mede tot doel om de genetische variatie onder de bijgeplaatste Zweedse korhoenders te schatten, in hoeverre hun aanwezigheid de genetische status van de populatie heeft verbeterd, en of zij reeds hebben bijgedragen aan de reproductie. Hoewel slechts van een deel van de Zweedse individuen DNA-materiaal kon worden bemachtigd, laat de beschikbare steekproef van profielen van Zweedse korhoenders al een hoge verscheidenheid zien, die de genetische variatie in de populatie in 2013 weer terug heeft gebracht tot het niveau van een decennium geleden. Waarschijnlijk was de werkelijke variatie in het najaar van 2013 nog wat hoger. De toekomstige genetische vitaliteit van de populatie zal nu in hoge mate afhangen van de mate waarin de bijgeplaatste Zweden weten te overleven en nakomelingen weten groot te brengen. Via DNA-analyse van in het veld verzamelde veren (figuur 14) konden we in deze studie vaststellen dat de aanwezigheid van Zweedse korhoenders in 2013 heeft geresulteerd in tenminste een aantal nakomelingen: een aantal waargenomen juvenielen bleek tenminste één, en hoogstwaarschijnlijk twee Zweedse ouders te hebben. In mei 2014 was tenminste één juveniele hen nog in leven (persoonlijke mededeling Paul ten Den). Deze resultaten laten niet alleen zien hoe DNA-onderzoek kan bijdragen aan de ecologische monitoring van bedreigde populaties, maar geeft voor de Sallandse korhoenders

ook enige hoop dat het broedsucces zich weer kan gaan herstellen.

Voor een bedreigde populatie Prairiehoenders te Illinois, die eveneens te kampen had met een dramatische terugval in het broedsucces, bleek de bijplaatsing van genetisch diverse dieren uit andere populaties uiterst succesvol: van het een op het andere jaar nam het broedsucces weer sterk toe (Westemeier *et al.*, 1998). De bijplaatsing van 'vers bloed', zoals in 2012 en 2013 met de komst van de Zweedse korhoenders heeft plaatsgevonden, kan dus op korte termijn effect sorteren. Veel hangt hierbij echter af van de vraag of de nieuw ingebrachte genetische variatie behouden zal blijven.



**Figuur 14** Buiten de baltsperiode om zijn korhoenders moeilijk waar te nemen, zeker de hennen met hun schutkleuren, doordat ze zich drukken in de hoge vegetatie. Wel zijn dan stofbaden te vinden waarin vrijwel altijd veertjes achterblijven (foto rechts). Deze veren bevatten DNA, waardoor met genetische technieken te achterhalen is welke dieren aanwezig zijn, wat hun herkomst is en wie de ouders zijn. In de herfst van 2013 is op deze manier genetisch bewijs verkregen voor de waarneming van een hen met een toom volgroeide kuikens (zie 3.5).

## 4.4 Broedresultaten en populatieontwikkeling 2014

Dit jaar is door Paul ten Den en Freek Niewold nog een basale monitoring verricht. De resultaten op hoofdlijnen worden hieronder weergegeven. In het voorjaar van 2014 werden ten minste zes tot acht hennen en bij de baltstelling vijf à zes hanen waargenomen. Bij vier van de zes hanen konden ringen worden waargenomen. Deze waren zeker van Zweedse herkomst. De overige betroffen waarschijnlijk de aanwas van 2013 en waren dus ook van Zweedse afkomst. Oude Nederlandse hanen werden niet meer gezien, maar wel minimaal twee tot drie Nederlandse hennen. Twee hennen sneuvelen tijdens de legfase (havikpredatie en een draadslachtoffer; zie figuur 15). Een derde legsel werd gepredeerd door waarschijnlijk een boommarter. Dat nest telde acht eieren die op basis van omvang van Nederlandse origine waren (Nederlandse hennen produceren iets grotere eieren dan Zweedse hennen). Van een vierde hen (Zweedse hen met zender) kwamen alle acht eieren uit. Op de vierde dag na uitkomst werd het laatste kuiken dood gevonden. Het was mager en zat vol met teken. Met regelmaat wordt er melding gemaakt van een hen en een haan op het Wierdenseveld. Mogelijk dat één op de Sallandse Heuvelrug bevruchte hen daar een nest heeft gehad.

In oktober 2014 is de status volgens Paul ten Den onduidelijk. Minimaal zijn er van de voorjaarspopulatie nog één haan en twee hennen over, maar vermoedelijk enkele meer. Aanwas is niet geconstateerd, maar een geringe aanwas wordt niet uitgesloten. Het totaal aantal dieren wordt momenteel geschat op vier tot zes hennen en twee tot vijf hanen. Het merendeel van de aanwezige korhoenders is Zweeds; een enkele hen is nog van Nederlandse origine. Op basis van normale wintersterfte zou de voorjaarstand dan ongeveer één tot drie hanen en twee tot vier hennen bedragen.



**Figuur 15** Secties op dode korhoenders om informatie te krijgen over doodsoorzaak, leeftijd, conditie, voortplantingsstatus, voedsel (maaginhoud) en om monsters te verzamelen voor eventueel aanvullend genetisch, veterinaire en ecotoxicologisch onderzoek. Foto midden: op 27-4-2014 gepredeerde hen met zender van Zweedse herkomst met vollop eifollikels in ontwikkeling (gele "bollen" boven liniaal). Foto rechts: op 08-05-2014 dood langs de Haarlerbergweg gevonden hen. Het betrof een oude Nederlandse hen die tegen een draad is gevlogen. Deze hen was in zeer goede conditie en in de legfase. Op de foto is een compleet ei in de ovaria zichtbaar en daarnaast enkele eifollikels in ontwikkeling.

## 4.5 Aanbevelingen

### 4.5.1 Weg uit de extinctiespiraal

Eind 2013 omvatte de Sallandse korhoenpopulatie nog maximaal 12 tot 15 individuen (waaronder zes hanen). In oktober 2014 is de geschatte populatie omvang afgenomen tot 9-13 dieren. De meerderheid is van Zweedse origine. Er zijn nog ca. drie Nederlandse hennen gezien, maar geen enkele Nederlandse haan (persoonlijke mededeling Paul ten Den; oktober 2014). Echter, weliswaar is de genetische variatie onder deze Zweedse korhoenders hoog, en ligt de variatie in de totale populatie daarmee op dit moment op een minder kritiek niveau, daarmee is de huidige situatie nog absoluut niet duurzaam. Het voorbeeld van de dood van haan Y13 in 2010, waarbij in één klap een flink aantal allelen tegelijk verloren ging (zie paragraaf 3.4), geeft aan hoe sterk het behoud van de variatie in een populatie van enkele tientallen individuen afhankelijk is van toevalsfactoren. Een veelgebruikte vuistregel voor de minimale levensvatbare populatiegrootte (MVP) van geïsoleerde populaties stelt een minimum van 50 individuen om te voorkomen dat genetische verarming en inteelt op korte termijn tot op een schadelijk niveau kan stijgen (o.a. Franklin 1980). Deze schatting gaat echter uit van het optimale scenario dat alle dieren in een populatie evenredig bijdragen aan de voortplanting. Bij het korhoen, waarbij alleen enkele dominante hanen het merendeel van de bevruchtingen voor hun rekening nemen, zal dit minimum hoger liggen. Zolang niet aan deze voorwaarde wordt voldaan is de kans aanzienlijk dat de populatie in de negatieve spiraal blijft hangen of er opnieuw in terecht komt, waarbij inteelt, verminderde fitness en een krimpende populatieomvang elkaar zodanig versterken dat de populatie uiteindelijk alsnog kan uitsterven (zie figuur 3 in hoofdstuk 1). Of deze situatie daadwerkelijk optreedt is in hoge mate van een samenspel van toevalsfactoren afhankelijk. Indien de komende jaren succesvol reproductie plaatsvindt kan de populatie op natuurlijke wijze weer in omvang groeien. Echter, een samenloop van omstandigheden, zoals een periode met ongunstig weer tijdens het broedseizoen of een havik die juist een paar vruchtbare hennen slaat, kan de populatie voortijdig de das om doen. Het aantal korhoenders lijkt op dit moment nog te gering om ontsnapping aan de extinctiespiraal kansrijk te achten.

---

De meest effectieve manier om deze 'numbers game' op positieve wijze te beïnvloeden is door de populatieomvang kunstmatig te verhogen via aanvullende bijplaatsing uit andere populaties. In dit scenario worden idealiter direct veel dieren bijgeplaatst om de populatieomvang terug te brengen op de minimale levensvatbare populatie-omvang (MVP-niveau). Uit praktische en ethische overwegingen is het denkbaar om nu of wanneer de populatie opnieuw dreigt te krimpen, over te gaan tot beperkte bijplaatsing (10-20 dieren per jaar), en op deze wijze de populatieomvang net zo lang boven een drempelwaarde te houden tot deze op natuurlijke wijze weer gaat stijgen. Jansman *et al.* 2014 noemen hiervoor een lokale ondergrens van 10 hanen en 10 hennen. Daarbij moet wel rekening worden gehouden met een initieel verhoogde kans op sterfte in de eerste maand na uitzet en de kans dat de populatie door een catastrofe (zoals een heidebrand) alsnog verloren gaat.

Het risico van uitteeltdepressie, de situatie waarbij kruising van inheemse met uitheemse individuen kan resulteren in nakomelingen die minder goed functioneren vanwege het opheffen van de lokale adaptatie (Fenster & Galloway 2000; Vergeer *et al.* 2008), was in het verleden een argument tegen bijplaatsing van buitenlandse korhoenders op de Sallandse Heuvelrug. Een tweede argument betrof het feit dat bij vermenging met uitheemse genen een in genetisch en morfologisch opzicht unieke populatie verloren zou gaan. Bij het overwegen van translocatie-maatregelen dienen deze tweede overwegingen zeer zeker meegenomen te worden, en kunnen aanleiding zijn om af te zien van bijplaatsing of alleen bijplaatsing toe te laten uit bepaalde, verwante populaties. De uiteindelijke beslissing zal echter ook afhangen van de ernst van de dreiging op uitsterven en de beschikbaarheid van alternatieven. Onze huidige resultaten tonen aan dat de genetische variatie onder de Nederlandse korhoenders die begin 2013 nog overgebleven waren extreem laag was, onder meer in delen van het genoom die cruciaal zijn voor een gezond immuunsysteem. Op basis hiervan kan worden gesteld dat de kans dat de Nederlandse populatie op eigen kracht zou hebben kunnen voortbestaan zeer gering was.

Overigens leidt vermenging van inheemse en uitheemse genen niet per definitie tot nadelige resultaten. Vermenging van dieren uit genetische verschillende populaties kan ook juist zorgen voor extra sterke nakomelingen doordat een combinatie van eigenschappen ontstaat die elkaars werking positief beïnvloeden (een fenomeen dat bekend staat als 'hybrid vigour' ofwel heterosis). Voor gehouden korhoenders afkomstig van drie korhoenpopulaties uit Nederland, Zweden en Beieren, lieten Schreiber *et al.* (1998) zien dat nakomelingen van een kruising tussen populaties zwaarder waren dan nakomelingen van een kruising binnen een populatie.

#### 4.5.2 Vorming van een meta-populatie

Zelfs in een populatie met >50 individuen, die in genetisch opzicht geen direct gevaar loopt, zal op termijn alsnog variatie verloren zal gaan als gevolg van *genetic drift*. In een geïsoleerde populatie zal hierdoor de variatie langzaam afnemen, en bestaat het risico dat op de lange termijn de populatie alsnog in een extinctionspiraal terechtkomt. Franklin (1980) stelt dat in een geïsoleerde populatie pas bij een populatiegrootte boven de 500 kan worden verondersteld dat zelfs op de lange termijn geen variatie verloren gaat.

Het is duidelijk dat dit aantal de huidige draagkracht van het korhoenhabitat op de Sallandse Heuvelrug te boven gaat. Vanuit genetisch oogpunt vereist een duurzaam behoud van het korhoen in Nederland dan ook een uitbreiding van het areaal van geschikt korhoenhabitat. Dit hoeft niet noodzakelijkerwijs te bestaan uit één aaneengesloten gebied, maar kan ook gerealiseerd worden in de vorm van een aaneenschakeling van habitats van beperkte omvang, op zodanige onderlinge afstand dat uitwisseling mogelijk is (een zogenaamde meta-populatie). Op deze manier wordt niet alleen draagkracht gecreëerd voor een populatie van grotere omvang, maar wordt tevens een cruciaal onderdeel hersteld van de natuurlijke strategie van korhoenders om inteelt tegen te gaan: sexe-afhankelijke dispersie, waarbij juveniele hennen wegtrekken naar baltsplaatsen met dominante hanen die genetisch verschillen van hun eigen vader.

Naast de populatieomvang en mate van genetische isolatie spelen tal van andere factoren een rol bij het succes van het Sallands korhoen. In het basisrapport van Jansman *et al.* (2014), waarop dit genetische rapport een aanvulling vormt, worden al deze factoren samengebracht, en wordt in meer detail ingegaan op mogelijke maatregelen ter behoud van het korhoen voor Nederland. Onderdeel van dat rapport is een stappenplan, bestaande uit het op korte termijn in stand houden van een populatie van een zekere minimale omvang, in combinatie met een streven naar habitatverbetering en –

---

vergroting, teneinde voldoende draagkracht te creëren voor een meta-populatie die een duurzame toekomst van het korhoen zekerstelt. Het is daarbij aan te bevelen om vanuit bijvoorbeeld het kader van Natura 2000 grensoverschrijdende samenwerking te zoeken, om zo voldoende draagvlak te creëren en om uitwisseling van kennis en/of dieren met andere laaglandpopulaties mogelijk te maken.

#### 4.5.3 Monitoring

Monitoring van de omvang, het functioneren en de vitaliteit van de populatie levert essentiële informatie voor beslissingen voorafgaand, tijdens en na afloop van mogelijke mitigerende maatregelen. Ecologisch en genetische monitoring gaan hierbij hand in hand. Periodieke veldtellingen van het aantal adulte hanen en hennen, nesten, eieren en juvenielen geven een beeld van de demografische vitaliteit van de populatie: neemt de populatie toe of af, en speelt hierbij vooral sterfte of reproductie de grootste rol? Genetisch onderzoek kan niet alleen waardevolle informatie verschaffen over het inteelniveau en de mogelijke gevolgen daarvan, maar kan ook de veldtellingen ondersteunen en zo de demografische gegevens van meer detail voorzien. Op basis van non-invasieve monsters (veren) verzameld op de baltsplaatsen werd in het huidige onderzoek bewijs gevonden voor een aantal hanen die in het veld nooit worden waargenomen. Waarschijnlijk gaat het om niet-dominante individuen die zich meestentijds verschuilen buiten de baltsplaatsen, maar zich daar incidenteel toch vertonen. Genetische identificatie helpt zo een nauwkeuriger schatting te geven van de populatieomvang. In veel gevallen bleek het daarnaast mogelijk om de ouders vast te stellen van een bepaald nest of kuiken. Op deze wijze kan het paringsgedrag in meer detail worden bestudeerd en kunnen mogelijke problemen in het paringssucces beter worden opgespoord.

---

# Literatuur

- Agudo R., M. Carrete, M. Alcaide, C. Rico, F. Hiraldo & J.A. Donázar (2012) Genetic diversity at neutral and adaptive loci determines individual fitness in a long-lived territorial bird. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 279: 3241-3249.
- Alho J.S., K. Välimäki & J. Merilä (2010) R<sub>hh</sub>: an R extension for estimating multilocus heterozygosity and heterozygosity-heterozygosity correlation. *Molecular Ecology Resources* 10: 720-722.
- Alatalo, R.V., J. Höglund & A. Lundberg (1991) Lekking in the black grouse: a test of male viability. *Nature* 352: 155-156.
- Arct A, Rutkowska J, Martyka R, Drobniak SM, Cichon M (2010) Kin recognition and adjustment of reproductive effort in zebra finches. *Biology Letters* 6:762-764.
- Bijlsma R., J. Bundgaard & A.C. Boerema (2000) Does inbreeding affect the extinction risk of small populations?: predictions from *Drosophila*. *Journal of Evolutionary Biology* 13: 502-514.
- Blomqvist, D., A. Pauliny, M. Larsson & L.A. Flodin (2010) Trapped in the extinction vortex? Strong genetic effects in a declining vertebrate population. *BMC Evolutionary Biology* 10: 33.
- Booy, G. (1988) *Het belang van genetische diversiteit voor de overleving van populaties.*, literatuurstudie: 1-101. Rapport Centrum voor Plantenveredelings- en Reproductieonderzoek. CPRO-DLO, Wageningen.
- Brekke P., P.M. Bennett, J. Wang, N. Pettoelli & J.G. Ewen (2010) Sensitive males: inbreeding depression in an endangered bird. *Proc. R. Soc. London B.* 277: 3677-3684.
- Brouwer L., I. Barr, M. Van de Pol, T. Burke, J.A.N. Komdeur & D.S. Richardson (2010) MHC-dependent survival in a wild population: evidence for hidden genetic benefits gained through extra-pair fertilizations. *Molecular Ecology* 19: 3444-3455.
- Buiteveld J. & H.P. Koelewijn (2006) *Klein, en dan? Wat kan een beheerder doen met kleine en kwijnende populaties.* Wageningen, Alterra, Alterra-rapport 1250.
- Caizergues, A. & L.N. Ellison (2002) Natal dispersal and its consequences in Black Grouse *Tetrao tetrix*. *Ibis* 144: 478-487.
- Charlesworth, D. & B. Charlesworth (1987) Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 237-268.
- Cramp, S., & K.E.L. Simmons (1982) *Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa. Vol. 2: Hawks to bustards.* Oxford University Press.
- Crnokrak P. & D.A. Rolf (1999) Inbreeding depression in the wild. *Heredity* 83: 260-270.
- Daniels, S.J. & J.R. Walters (2000) Inbreeding depression and its effects on natal dispersal in red-cockaded woodpeckers. *The Condor* 102: 482-491.
- Del Hoyo, J., A. Elliott & J. Sargatal (eds.), 1994 : *Handbook of the Birds of the World. Vol. 2. New World Vultures to Guinifowl. (Family Tetraonidae / Grouse).* Lynx Edicions, Barcelona.
- Domingo-Roura, X., J. Marmi, A. Ferrando, F. López-Giráldez, D.W. Macdonald & H.A.H. Jansman (2006) Badger hair in shaving brushes comes from protected Eurasian badgers. *Biological Conservation* 128: 425-430.
- Fenster C.B. & L.F. Galloway (2000) Inbreeding and outbreeding depression in natural populations of *Chamaecrista fasciculata* (Fabaceae). *Conservation Biology* 14: 1406-1412.
- Foerster K., K. Delhey, A. Johnsen, J.R. Lifjeld & B. Kempnaers (2003) Females increase offspring heterozygosity and fitness through extra-pair matings. *Nature* 425: 714-717.
- Forstmeijer W., H. Schielzeth, J.C. Mueller, H. Ellegren & B. Kempnaers (2012) Heterozygosity-fitness correlations in zebra finches: microsatellite markers can be better than their reputation. *Molecular Ecology* 21: 3237-3249.
- Frankham R. (2010) Inbreeding in the wild really does matter. *Heredity* 104: 124.
- Frankham R., J.D. Ballou en D.A. Briscoe (2010) *Introduction to conservation genetics.* Tweede editie. Cambridge University Press, Cambridge.
- Franklin, I.R. (1980) Evolutionary change in small populations. In: M.E. Souleand & B.A. Wilcox (eds.) *Conservation Biology: An Evolutionary Ecological Perspective.* Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. Page 135-140.

- 
- Goudet J. (1995) FSTAT (vers. 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*, 86, 485-486.
- Groombridge J. (2007) Genetics and extinction of island endemics: the importance of historical perspectives. *Animal Conservation* 10, 147-148.
- Hammerly S.C., M.E. Morrows & J.A. Johnson (2013) A comparison of pedigree- and DNA-based measures for identifying inbreeding depression in the critically endangered Attwater's Prairie-chicken. *Molecular Ecology* 22: 5313-5328.
- Hartl, D.L. & A.G. Clark (1997) *Principles of population genetics*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Heber S. & J.V. Briskie (2010) Population bottlenecks and increased hatching failure in endangered birds. *Conservation Biology* 24:1674-1678.
- Hedrick P. (1995) 'Genetic restoration': a more comprehensive perspective than 'genetic rescue'. *Trends in Ecology and Evolution* 20: 109.
- Hedrick P.W. (2001) Conservation genetics: where are we now? *Trends in Ecology and Evolution* 16: 629-636.
- Höglund, J., R.V. Alatalo, A. Lundberg, P.T. Rintamäki & J. Lindell (1999) Microsatellite markers reveal the potential for kin selection on black grouse leks. *Proc. R. Soc. Lond. B* 266: 813-816.
- Höglund, J., S.B. Pieltney, R.V. Alatalo, J. Lindell, A. Lundberg en P.T. Rintamäki (2002) Inbreeding depression and male fitness in black grouse. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 269, 711-715.
- Höglund et al. 2007;
- Höglund, J. (2009) *Evolutionary conservation genetics*. Oxford: Oxford University Press.
- Hjort, L. (1970) Reproductive behaviour in tetraonidae with special reference to males. *Viltrevy* 7: 183-588.
- Jansman, H.A.H., F.J.J. Niewold, J. Bovenschen & H.P. Koelewijn (2004) *Korhoenders op de Sallandse Heuvelrug. Een populatie-genetische analyse van het wel en wee van Nederlands laatste populatie*. Wageningen, Alterra, Alterra-rapport 1122
- Jansman, H.A.H. & D.L. Lammertsma (2012) *Mogelijkheden voor versterking van de korhoenpopulatie op de Sallandse Heuvelrug*. Alterra-adviesrapport.
- Jansman, H.A.H., R. Buij, G.A. de Groot en M. Hammers (2014) *Doorstart van het Nederlandse Korhoen?; Oorzaken van achteruitgang en mogelijkheden voor behoud*. Wageningen, Alterra Wageningen UR (University & Research centre), Alterra-rapport 2498.
- Keller L.K. & D.M. Waller (2002) Inbreeding effects in wild populations. *Trend in Ecology and Evolution* 17: 230-241.
- Keller, L.F., P.R. Grant, B.R. Grant en K. Petren (2002) Environmental conditions affect the magnitude of inbreeding depression in survival of darwin's finches. *Evolution* 56: 1229-1239.
- Koelewijn HP, Pérez-Haro M, Jansman HAH et al. (2010) The reintroduction of the Eurasian otter (*Lutra lutra*) into the Netherlands: hidden life revealed by noninvasive genetic monitoring. *Conservation Genetics* 11: 601-614.
- Kuiken, T. (2013) *Interpretatie van het pathologisch onderzoek van korhoenkuikens doodgevonden op 23 juni 2013*. Conceptverslag 26-09-'13, Erasmus MC Rotterdam
- Laikre L (1999) Conservation genetics of Nordic carnivores: lessons from zoos. *Hereditas* 130: 203-216.
- Lande R (1976) Natural Selection and Random Genetic Drift in Phenotypic Evolution. *Evolution* 30: 314-334.
- Lande, R. (1995) Mutation and conservation. *Conservation Biology* 9: 782-791.
- 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.
- Lebigre, C., R.V. Alatalo & H. Siitari (2010) Female-biased dispersal alone can reduce the occurrence of inbreeding in black grouse (*Tetrao tetrix*). *Molecular Ecology* 19: 1929-1939.
- Loneux, M. (2000) Modélisation de l'influence du climat sur les fluctuations de population de Tétrás lyre *Tetrao tetrix* en Europe. *Cahiers d'éthologie* 20: 191-216.
- Ludwig G. X., Alatalo R. V., Helle P. & Siitari H. (2010) Individual and environmental determinants of early brood survival in black grouse *Tetrao tetrix*. *Wildlife Biology* 16: 367-378.
- Marr, A.B., P. Arcese, W.M. Hochachka, J.M. Reid en L.F. Keller (2006) Interactive effects of environmental stress and inbreeding on reproductive traits in a wild bird population. *Journal of Animal Ecology* 75: 1406-1415.

- McCune B. & M.J. Mefford (1999) PC-ORD. *Multivariate analysis of ecological data*. Versie 5.0. Oregon: MjM Software.
- Nappée, C. (1982) Capercaillie and black grouse breeding in the Parc National des Cévennes and first release results. In: Lovel, T.W.I. (ed.). *Proceedings of the 2nd international grouse symposium*. Bonyrigg, Edinburgh. 218-228.
- Niewold, F.J.J. (2002) Het Korhoen *Tetrao tetrix*. In: SOVON Vogelonderzoek Nederland, *Atlas van de Nederlandse Broedvogels 1998-2000*. Nederlandse Fauna 5.
- Niewold, F.J.J. & H. Nijland (1987) Die Chancen des westeuropäischen Moor- und Heidebirkhuhns. *Z. Jagdwiss* 33: 227-241.
- Nei M. (2005) Bottlenecks, Genetic polymorphism and Speciation. *Genetics* 170: 1-4.
- Olano-Marin J., J.C. Mueller & B. Kempnaers (2011) Correlations between heterozygosity and reproductive success in the blue tit (*Cyanistes caeruleus*): an analysis of inbreeding and single locus effects. *Evolution* 65: 3175-3194.
- Ortego J., P. J. Cordero, J.M. Aparicio & G. Calabuig (2010) Parental genetic characteristics and hatching success in a recovering population of Lesser Kestrels. *Journal of Ornithology* 151: 155-162.
- Piertney, S.B. & J. Høglund (2001) Polymorphic microsatellite DNA makers in black grouse (*Tetrao tetrix*). *Molecular Ecology Notes* 1: 303-304.
- Piertney S.B. & M.K. Oliver (2006) The evolutionary ecology of the major histocompatibility complex. *Heredity* 96: 7-21.
- Ralls, K. & J. Ballou (1983). Extinction: lessons from zoos. In: Schonewald-Cox, C. M., S.M. Chambers, B. MacBryde & W.L. Thomas (eds) *Genetics and Conservation: a Reference for Managing Wild Animal and Plant Populations*. pp. 164-184. Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA.
- Richardson, D.S., J. Komdeur & T.A. Burke (2004) Inbreeding in the Seychelles warbler: environment-dependent maternal effects. *Evolution* 58: 2037-2048.
- Scherzinger, W. (1980) Chancen der Zucht und Auswilderung von Birkhühnern. Baden Württemberg. Beih. Veröff. *Naturschutz Landschaftspflege* 16 : 179-189.
- Schreiber, A., T. Weitzel & E. Strauß (1998) Allozyme variability in Black Grouse (*Tetrao tetrix*), a tetraonid with lek behaviour. *Journal of Ornithology* 139: 55-66.
- Segelbacher G., R. Paxton, G. Steinbruck, P. Trontelj & I. Storch (2000) Characterization of microsatellites in capercaillie *Tetrao urogallus* (Aves). *Molecular Ecology* 9: 1934-1935.
- Shaffer, M. (1987) Minimum viable populations: coping with uncertainty. In: Soule, M.E. (Ed.), *Viable Populations for Conservation*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 69-86.
- Soulsbury, C.D., R.V. Alatalo, C. Lebigre & H. Siitari (2012) Restrictive mate choice criteria cause age specific inbreeding in female black grouse, *Tetrao tetrix*. *Animal Behaviour* 83: 1497-1503.
- Soulsbury, C.D., R.V. Alatalo, C. Lebigre, K. Rokka & H. Siitari (2011) Age-dependent inbreeding risk and offspring fitness cost in female black grouse. *Biology Letters* 7: 853-855.
- Spottiswoode, C. & A.P. Møller (2004) Genetic similarity and hatching success in birds. *Proc. R. Soc. Lond. B*. 271: 267-272.
- Stegemann, B., 1932. Die geographischen Formen des Birkhuhns (*Lyrurus tetrix* L.). *Journal für Ornithologie* 80: 342-354.
- Storch, I., 2000. An overview to population status and conservation of black grouse worldwide. *Cahiers d'ethologie* 20: 153-164.
- Strand, T.M., G. Segelbacher, M. Quintela, L. Xiao, T. Axelsson & J Höglund (2012) Can balancing selection on MHC loci counteract genetic drift in small fragmented populations of black grouse. *Ecology and Evolution* 2: 341-353.
- Swinnerton K.J., J.J. Groombridge, C.G. Jones, R.W. Burn & Y. Mungroo (2004) Inbreeding depression and founder diversity among captive and free-living populations of the endangered pink pigeon *Columba mayeri*. *Animal Conservation* 7: 535-364.
- Szulkin, M., D. Garant, R.H. McCleery & B.C. Sheldon (2007) Inbreeding depression along a life-history continuum in the great tit. *Journal of Evolutionary Biology* 20: 1531-1543.
- Taylor, S.S., R.J. Sardell, J.M. Reid, T. Bucher, N.G. Taylor, P. Arcese & L.F. Keller (2010) Inbreeding coefficient and heterozygosity-fitness correlations in unhatched and hatched song sparrow nestmates. *Molecular Ecology* 19: 4454-4461.
- Teixeira R.M. (1979) *Atlas van de Nederlandse broedvogels*. Natuurmonumenten, 's Gravenland.
- Ten Den, P, & F.J.J. Niewold, 2000. The black grouse in the Netherlands: monitoring the last (?) surviving population. *Cahiers d'ethologie* 20: 299-310.



- 
- Ten Den, P.G.A & F. Niewold (2013) *De Korhoenpopulatie van de Sallandse Heuvelrug in 2012. Rapportage tweede jaar van onderzoek*. Rapport Korhoen 2012 TDFF/ NWI. Niewold Wildlife Infocentre, Ten Den Flora & Fauna, Haarle.
- Ten Den, P.G.A. & F. Niewold (2014) *Korhoen Sallandse Heuvelrug 2011-2013*. In prep.
- Traill, L.W., C.J.A. Bradshaw & B.W. Brook (2007) Minimum viable population size: a meta-analysis of 30 years of published estimates. *Biological Conservation* 139: 159-166.
- Van Noordwijk, A.J. & W. Scharloo (1981) Inbreeding in an island population of the great tit. *Evolution* 35: 674-688.
- Vergeer, P., A. Hendry & N.J. Ouborg (2008) Genetic considerations of introduction efforts. In: *Conservation Biology: Evolution in Action*. Carroll, S.P. & Fox, C.W. (editors). Pp. 117-130.
- Waits, L.P., G. Luikart & P. Taberlet (2001) Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines. *Molecular Ecology* 10: 249-256.
- Wang B Strand T Portelo-Bens S Ekblom R Höglund J 2012 The minimal essential MHC of Black Grouse (*Tetrao tetrix*): gene organization, expression and evolution. *BMC Genomics*, 13: 53.
- Westemeier, R.L., J.D. Brawn, S. A. Simpson, T.L. Esker, R.W. Jansen, J.W. Walk, E.L. Kershner, J.L. Bouzat & K.N. Paige (1998) Tracking the Long-Term Decline and Recovery of an Isolated Population. *Science* 282: 1695-1698.
- Worley, K., J. Collet, L.G. Spurgin, C. Cornwallis, T. Pizzari & D.S. Richardson (2010) MHC heterozygosity and survival in red junglefowl. *Molecular Ecology* 19: 2064-3075.

---

Alterra Wageningen UR  
Postbus 47  
6700 AA Wageningen  
T 0317 48 07 00  
[www.wageningenUR.nl/alterra](http://www.wageningenUR.nl/alterra)  
Alterra-rapport 2599  
ISSN 1566-7197



---

Alterra Wageningen UR is hét kennisinstituut voor de groene leefomgeving en bundelt een grote hoeveelheid expertise op het gebied van de groene ruimte en het duurzaam maatschappelijk gebruik ervan: kennis van water, natuur, bos, milieu, bodem, landschap, klimaat, landgebruik, recreatie etc. De missie van Wageningen UR (University & Research centre) is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van stichting DLO en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.000 medewerkers en 9.000 studenten behoort Wageningen UR wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

---



To explore  
the potential  
of nature to  
improve the  
quality of life



---

Alterra Wageningen UR  
Postbus 47  
6700 AB Wageningen  
T 317 48 07 00  
[www.wageningenUR.nl/alterra](http://www.wageningenUR.nl/alterra)

Alterra-rapport 2599  
ISSN 1566-7197

Alterra Wageningen UR is hét kennisinstituut voor de groene leefomgeving en bundelt een grote hoeveelheid expertise op het gebied van de groene ruimte en het duurzaam maatschappelijk gebruik ervan: kennis van water, natuur, bos, milieu, bodem, landschap, klimaat, landgebruik, recreatie etc.

De missie van Wageningen UR (University & Research centre) is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van stichting DLO en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.000 medewerkers en 9.000 studenten behoort Wageningen UR wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

