



Genetica van wilde zwijnen in Limburg en Noord-Brabant

Verspreiding, herkomst en verwantschap

Alterra-rapport 2404
ISSN 1566-7197

H.A.H. Jansman, T. Hofmeester, G.A. de Groot, I. Laros, J. Bovenschen, M. Spielman,
J. van der Hout, J. Casaer, P. Breyne en H.P. Koelewijn

Genetica van wilde zwijnen in
Limburg en Noord-Brabant

Dit onderzoek is uitgevoerd in opdracht van de provincie Limburg en de provincie Noord-Brabant.
Projectnummer 5238047

Genetica van wilde zwijnen in Limburg en Noord-Brabant

Verspreiding, herkomst en verwantschap

Hugh A.H. Jansman¹, Tim Hofmeester^{1,2}, G. Arjen de Groot¹, Ivo Laros¹, Jan Bovenschen¹, Marinus Speelman^{1,2}, Jasper van der Hout^{1,2}, Jim Casaer³, Peter Breyne³ en Hans Peter Koelewijn¹

- 1 Alterra Wageningen UR, Wageningen, Nederland
- 2 Wageningen University, Wageningen, Nederland
- 3 Instituut voor Bos- en Natuuronderzoek (INBO), Vlaanderen

Alterra-rapport 2404

Alterra Wageningen UR
Wageningen, 2013



Referaat

Jansman, H.A.H., T. Hofmeester, G.A. de Groot, I. Laros, J. Bovenschen, M. Speelman, J. van der Hout, J. Casaer, P. Breyne en H.P. Koelewijn, 2013. *Genetica van wilde zwijnen in Limburg en Noord-Brabant; Verspreiding, herkomst en verwantschap*. Wageningen, Alterra, Alterra-rapport 2404. 62 blz.; 14 fig.; .5 tab.; 16 ref.

In Limburg komen op verschillende plaatsen buiten het officiële leefgebied De Meinweg wilde zwijnen voor. De aantallen in deze zogenaamde nulstandsgebieden nemen toe, en ook in Noord-Brabant worden in toenemende mate wilde zwijnen gesignaleerd. In opdracht van de provincies Limburg en Noord-Brabant voerde Alterra een genetisch onderzoek uit naar de populatiestructuur en herkomst van de wilde zwijnen in Limburg en Noord-Brabant. Het onderzoek laat zien dat sprake is van een aantal afzonderlijke populaties met een unieke genetische samenstelling. Door gunstigere omstandigheden weten de populaties van wilde zwijnen in Noordwest Europa in aantal en verspreidingsgebied toe te nemen. Genetisch kon dan ook vastgesteld worden dat in de meeste gevallen de nieuwe populaties ontstaan zijn uit de naburige bestaande populaties. In enkele gevallen kan sprake zijn geweest van een (gedeeltelijke) onnatuurlijke oorsprong door ontsnappingen uit gevangenschap of illegale herintroducties. De genetische variatie in de populaties is redelijk, maar laag vergeleken met het buitenland. Onder de huidige omstandigheden lijkt de uitwisseling tussen deze jonge populaties echter voldoende om de variatie in de toekomst op z'n minst in stand te houden.

Trefwoorden: genetica, herkomst, Limburg, migratie, Noord-Brabant, nulstand, populatiestructuur, *Sus scrofa*, wild zwijn.

Foto omslag: Hugh Jansman

ISSN 1566-7197

Dit rapport is gratis te downloaden van 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.

© 2013 Alterra (instituut binnen de rechtspersoon Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek)
Postbus 47; 6700 AA Wageningen; info.alterra@wur.nl

- 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 2404

Wageningen, februari 2013

Inhoud

Dankwoord	7
Samenvatting	9
1 Inleiding	13
1.1 Achtergrond	13
1.1.1 Dispersievermogen	13
1.1.2 Populatieontwikkeling	14
1.1.3 Kolonisatieprocessen en genetische structuur analyses	15
1.2 Deelvragen	16
1.3 Plan van aanpak	16
1.4 Populatie-genetische achtergronden	16
2 Materiaal en methode	19
2.1 Bemonsterde gebieden	19
2.1.1 Limburg, Gelderland en Noord-Brabant	19
2.1.2 Duitsland	19
2.1.3 België	19
2.2 Methode van monsternamen	20
2.3 DNA-analyse	20
2.3.1 DNA-isolatie	20
2.3.2 Microsatelliet-analyse	21
2.4 Data-analyse	23
2.4.1 Genetische variatie	23
2.4.2 Genetische structuur	24
3 Resultaten en discussie: hele studiegebied	25
3.1 Monstercollectie en DNA-analyse	25
3.2 Genetische variatie	27
3.3 Genetische structuur	32
3.3.1 Principale Coördinaten Analyse (PCoA)	33
3.3.2 Structuur gevonden met Structure	33
3.3.3 Structuur gevonden met Geneland	36
3.3.4 Verschil tussen de Structure- en Geneland analyse	38
3.3.5 Herkomstbepaling van enkele zwervers	38
4 Resultaten en discussie: deelpopulaties	41
4.1 Kop van Limburg	41
4.2 Maasduinen	42
4.3 Meinweg, Regio Roermond-Venlo	43
4.4 Regio Peel	43
4.5 Roerstreek-zuid	46
4.6 Zuid-Limburg, Vlaanderen en Wallonië	49
4.7 Leenderbos	49

5	Conclusies en aanbevelingen	51
5.1	Genetische structuur en herkomst van nieuwe deelpopulaties	51
5.2	Genetische diversiteit onder wilde zwijnen in Limburg en Noord-Brabant	52
5.3	Kolonisatieroutes en invloed van het landschap op dispersie van zwijnen	53
5.3.1	Routes voor kolonisatie van de Peel	53
5.3.2	Route voor kolonisatie van Zuid-Limburg	53
5.4	Conclusies	54
5.5	Aanbevelingen	55
	Literatuur	57
	Bijlage 1	59

Dankwoord

We willen de opdrachtgevers van de provincies Limburg en Noord-Brabant, in het bijzonder Paul Voskamp en Maurice ten Tije, danken voor de prettige en constructieve samenwerking. Dit onderzoek kwam tot stand op basis van een brede monsternamenlijst, waaraan meerdere personen hebben meegewerkt. Wij danken dhr. G.J. Spek (Wildbeheerseenheid Veluwe), dhr. C. Kouters (verantwoordelijke veterinaire screening, provincie Limburg) en dhr. E. Koffeman (Faunabeheerseenheid Noord-Brabant), voor het aanleveren van monsters uit respectievelijk Gelderland, Limburg en Brabant. Vielen dank gaat uit naar Michael Petrak en Lutz Walburga (Landesbetrieb Wald und Holz, Nordrhein-Westfalen) für das zustellen von Proben aus Deutschland. Ook Daniel Goedbloed (Resource Ecology Group, Wageningen Universiteit) leverde relevante Duitse monsters aan. Nous remercions Alain Licoppe, Sabine Bertouille et Céline Prévot (Service Public de Wallonie) pour la mise à disposition de les échantillons des sangliers de Wallonie.

Samenvatting

Wilde zwijnen (*Sus scrofa*) mogen officieel in Nederland maar in een beperkt aantal leefgebieden voorkomen: alleen op de Veluwe, in het Limburgse natuurgebied 'De Meinweg', en sinds 2012 in een beperkt gebied iets ten noorden van de Meinweg (Meerlebroek). De laatste jaren neemt echter het aantal waarnemingen buiten deze gebieden, de zogenaamde nulstandgebieden, toe. De hoogste dichtheden bevinden zich in de gebieden grenzend aan De Meinweg, maar inmiddels komen op vele plaatsen in Limburg zwijnen voor; in de kop van Limburg, ten westen van de Maas, en in Zuid-Limburg. Ook in Noord-Brabant (De Peel en Leenderbos) zijn inmiddels zwijnen waargenomen. Deels kan het gaan om zwervers, maar in Limburg en Noord-Brabant bestaat het idee dat deze wilde zwijnen, eigen populaties vormen. Door gunstigere omstandigheden weten de populaties van wilde zwijnen in Noordwest-Europa in aantal en verspreidingsgebied toe te nemen. Genetisch kon dan ook vastgesteld worden dan in de meeste gevallen de nieuwe populaties ontstaan zijn uit de naburige bestaande populaties. In enkele gevallen kan sprake zijn geweest van een (gedeeltelijke) onnatuurlijke oorsprong door ontsnappingen uit gevangenschap of illegale herintroducties.

Een beter beeld van de mogelijkheden voor overleving en uitbreiding van zwijnen in Limburg en Noord-Brabant is nodig voor een afgewogen beleid, gericht op ontsnippering en kwaliteitsverbetering van de leefgebieden, maar inperking van de schade. In opdracht van de provincies Limburg en Noord-Brabant voerde Alterra een genetisch onderzoek uit naar de populatiestructuur van de wilde zwijnen in Limburg en Noord-Brabant. Hierbij werd onderzocht in hoeverre de dieren in diverse Limburgse natuurgebieden genetisch verwant zijn of afzonderlijke populaties vormen, en wat de herkomst van deze dieren is. Daarnaast werd de genetische vitaliteit van de diverse 'populaties' onderzocht. Populaties van beperkte omvang vertonen vaak een lage genetische diversiteit, die op termijn hun functioneren negatief kan beïnvloeden. Uitwisseling van genen tussen populaties, door migratie, helpt om de diversiteit op peil te houden. Om die reden werd per veronderstelde populatie de mate van genetische diversiteit bepaald, en werd onderzocht in hoeverre er momenteel sprake is van geografische barrières die uitwisselingsmogelijkheden belemmeren.

Na de eerste signalen van een uitbreidende populatie in Limburg is op verzoek van Alterra gestart met het nemen van DNA monsters voor eventueel toekomstig genetisch onderzoek. Op basis van afschot en verkeersslachtoffers zijn in de periode 2006-2010 ruim 600 monsters verzameld. Het accent lag hierbij op het verkrijgen van een representatief beeld van de genetische status van de Meinweg en daarnaast het zo volledig mogelijk bemonsteren van de overige gebieden en nieuwe uitbreidingen. Aansluitend is op dezelfde manier gestart met het verzamelen van monsters in Noord-Brabant (Peel en Leenderbos). Eveneens werden referentiemonsters gekregen uit Duitse populaties (verspreid over Nordrhein Westfalen en Rheinland-Pfalz, en aanvullende monsters uit de Duitse Meinweg) en Belgische populaties in Vlaanderen en Wallonië. Op basis van hun vindplaats en potentiële geografische barrières werden vooraf zestien deelgebieden gedefinieerd. Via laboratoriumanalyse van de allelsamenstelling op een veertiental locaties in het DNA (microsatelliet-merkers) werd van 719 monsters met succes een genetisch profiel verkregen. Op basis daarvan werd voor elke gedefinieerde populatie de genetische diversiteit en mate van heterozygotie bepaald. Daarnaast werd de genetische verwantschap tussen populaties in beeld gebracht, met behulp van paarsgewijze vergelijkingen, en clusteringsanalyses met gespecialiseerde populatie-genetische computerprogramma's. Deze software verdeelt monsters op een eigen manier over een optimaal aantal populaties, elk bestaande uit individuen die op basis van hun genetische profielen waarschijnlijk onderling voortplanten. Vervolgens kan bekeken worden in hoeverre deze verdeling overeenkomt met de vooraf verwachte populatie-indeling op basis van geografische grenzen.

Op hoofdlijnen tonen de resultaten fraai de kracht van genetische merkers om populatie structuur en processen als kolonisatie inzichtelijk te maken. In de meeste gevallen kon van een nieuw ontstane populatie conform verwachting de meest nabije bestaande populatie als bronpopulatie worden aangewezen. Qua genetische variatie was de nieuw ontstane populatie een subset van de aanwezige variatie in de bronpopulatie. Daarnaast bleek de genetische variatie van een nieuw ontstane populatie zich te verhouden tot de genetische variatie in omliggende populaties in samenhang met de barrière-werking van het tussenliggende landschap: als de bronpopulatie groot en genetisch variabel is, en uitwisseling nauwelijks belemmerd wordt door geografische barrières, dan blijkt ook de genetische variatie in de nieuw ontstane populatie groter. In enkele gevallen bleek dit niet op te gaan en werden er genetische varianten aangetroffen die niet in de aangrenzende en verwachte bronpopulatie werden aangetroffen. In die gevallen is vrijwel zeker sprake van onnatuurlijke processen. Hieronder worden deze bevindingen in meer detail omschreven.

Afzonderlijke populaties van diverse herkomst

De resultaten laten zien dat de wilde zwijnen in Limburg en Noord-Brabant kunnen worden onderverdeeld in zes verschillende populaties met een eigen genetische signatuur, en dus hoogstwaarschijnlijk een onafhankelijke origine (onafhankelijke vestiging na dispersie vanuit een aantal verschillende brongebieden). De meeste nieuwe populaties zijn waarschijnlijk van natuurlijke oorsprong, als gevolg van immigratie vanuit bestaande populaties in De Meinweg, Duitsland en België. In enkele gevallen kan een onnatuurlijke oorsprong niet worden uitgesloten. Hieronder worden de resultaten per populatie kort samengevat.

Meinweg en aangrenzende gebieden

Wilde zwijnen in Nationaal Park 'De Meinweg', evenals in het Duitse deel van De Meinweg, zijn relatief divers vergeleken met andere populaties in Limburg en Noord-Brabant, maar nog altijd vrij arm vergeleken met andere referentie populaties in Duitsland, België en Luxemburg. Een mogelijke verklaring is de ligging aan de rand van het verspreidingsgebied van het wild zwijn in Europa en in combinatie met de relatief geïsoleerde ligging van het boscomplex Meinweg-Elmpterwald en Brachterwald ten opzichte van de rest van Duitsland (omsloten door het Ruhrgebied). De dieren uit de Regio Roermond-Venlo blijken zoals verwacht uit het boscomplex Meinweg-Elmpterwald en Brachterwald afkomstig te zijn. De dieren uit de Roerstreek-Zuid vormen hun eigen deelpopulatie waarvan de oorsprong niet goed te achterhalen is. Het is niet uit te sluiten dat deze dieren vanuit het aangrenzende Meinweg-gebied komen, echter een volledig natuurlijke oorsprong lijkt onwaarschijnlijk. Van complete isolatie ten opzichte van de Meinweg lijkt geen sprake, aangezien de analyses een aantal dieren uit de Meinweg aan het cluster Roerstreek-Zuid toebedeelden en andersom.

Kop van Limburg

De wilde zwijnen uit de Kop van Limburg vormen een eigen, cluster samen met een aantal dieren net over de grens met Duitsland. De genetische diversiteit is hoog. Dit suggereert dat deze populatie niet geïsoleerd is en nog steeds in verbinding staat met de wilde zwijnen van over de grens. Er is te weinig materiaal verzameld in de bronpopulatie in Duitsland om met zekerheid te zeggen dat het hier om volledig natuurlijke kolonisatie vanuit Duitsland gaat. Op basis van overeenkomsten met Reichswald en Veluwe is het waarschijnlijk een gedeeltelijke oorsprong in dieren uit het Reichswald en/of in dieren die zich in het verleden in een raster bij Dekkerswald bevonden.

De Peel

De populatie in de Peel is afkomstig uit De Meinweg. Migratie naar de Peel kan hebben plaatsgevonden vanuit De Nederlandse Meinweg, maar in principe ook via een meer noordelijke route rechtstreeks vanuit De Duitse Meinweg. Het is waarschijnlijk dat de zwijnen in de Peel nog steeds uitwisselen met de zwijnen uit de Regio Roermond-Venlo.

Zuid-Limburg

De populatie in Zuid-Limburg is niet geïsoleerd, maar vormt, zoals blijkt uit clusteringsanalyses, één populatie met de wilde zwijnen uit de Voerstreek en Vlaams-Limburg Oost. Zuid-Limburg is waarschijnlijk in korte tijd gekoloniseerd vanaf verschillende zijden: vanuit Vlaams Limburg en vanuit de Voerstreek. Een blijvende uitwisseling in de toekomst, vooral met het zuidoosten (Voerstreek/Wallonië), is waarschijnlijk. Langs deze route staat de populatie via stapsgewijze uitwisseling in contact met de grotere populaties in de Duitse en Waalse bosgebieden (Ardennen, Eifel). Rechtstreekse migratie vanuit dit achterland naar Zuid-Limburg lijkt echter onwaarschijnlijk. Als gevolg van die indirecte uitwisseling met grote en genetisch diverse populaties is de populatie in Zuid-Limburg ook genetisch divers.

Maasduinen en Leenderbos

Voor de wilde zwijnen uit de Maasduinen en het Leenderbos is een natuurlijke oorsprong in theorie mogelijk, maar onwaarschijnlijk. Dit is onder andere af te leiden uit het grote aantal unieke allelen en de opvallende clustering van deze geografisch ver uit elkaar liggende populaties.

De populatie in Maasduinen heeft een relatief lage variatie maar een zeer hoog heterozygotie-niveau, dit duidt op een complexe oorsprong van de populatie. Een mogelijke bron is een omrasterd particulier jachtveld nabij het vliegveld Weeze, net over de Nederlandse-Duitse grens. Om een onnatuurlijke herkomst hard te maken, moeten er meer monsters verzameld worden net over de grens met Duitsland.

De populatie in het Leenderbos is sterk verwant aan een aantal dieren in Vlaanderen, en deze populaties hebben waarschijnlijk een gezamenlijke oorsprong. Ook hier geven opvallende en unieke allelen aanleiding voor een sterk vermoeden van onnatuurlijke oorsprong.

Genetische diversiteit is relatief laag, maar niet zorgwekkend

De resultaten van dit onderzoek laten zien dat de genetische variatie binnen de deelpopulaties van de Limburgse en Noord-Brabantse wilde zwijnen redelijk is, maar vrij laag ten opzichte van de populaties op de Veluwe in de omliggende landen (België en Duitsland). Dit is goed te verklaren vanuit hun recente oorsprong en beperkte omvang (founder effect: de populatie bestaat uit een beperkte set immigranten en hun nakomelingen, en bezit daardoor alleen de genetische variatie die door deze 'founders' werd meegebracht). De hogere variatie van de populatie in Zuid-Limburg strookt met diens meer diverse herkomst uit en indirecte uitwisseling met grotere populaties in Duitsland en Wallonië.

De beperkte variatie in veel Nederlandse deelpopulaties is op dit moment echter niet zorgwekkend. Er lijkt op zijn minst sprake van (incidentele) uitwisseling tussen de populaties. Op basis daarvan is behoud van variatie in de diverse populaties aannemelijk, en kan wellicht in de toekomst zelfs gaan toenemen. Dit geldt vooral voor de populatie in de Peel, die in goede verbinding lijkt te staan met de Meinweg. Er lijkt geen sprake van landschapselementen die een volledige barrière vormen voor verspreiding van zwijnen. Blijvende influx vanuit de momenteel toegewezen leefgebieden en buitenlandse populaties naar de nieuwe ontstane populaties is aannemelijk, zelfs als daarbij een grote rivier (Maas) of autoweg (A2, A73) overgestoken moet worden. Tegelijkertijd lijkt een rivier als de Roer toch ook een drempel te vormen in de verspreiding van wilde zwijnen. Hoewel in geval van de Roer geen sprake is van een volledige barrière voor genetische uitwisseling, kan een drempelwerking deze uitwisseling beperken.

Toekomst

Het is aan te bevelen om (een steekproef van) DNA monsters te blijven verzamelen van recent gekoloniseerde leefgebieden en daarnaast nieuwe vestigingen om in de toekomst de herkomst van dieren en de genetische vitaliteit van populaties te kunnen monitoren. Dit kan inzicht geven in hoeverre populatiegroei het gevolg is van lokale voortplanting en/of immigratie. De mate van immigratie kan vervolgens weer inzicht geven in het dispersiegedrag van wilde zwijnen.

1 Inleiding

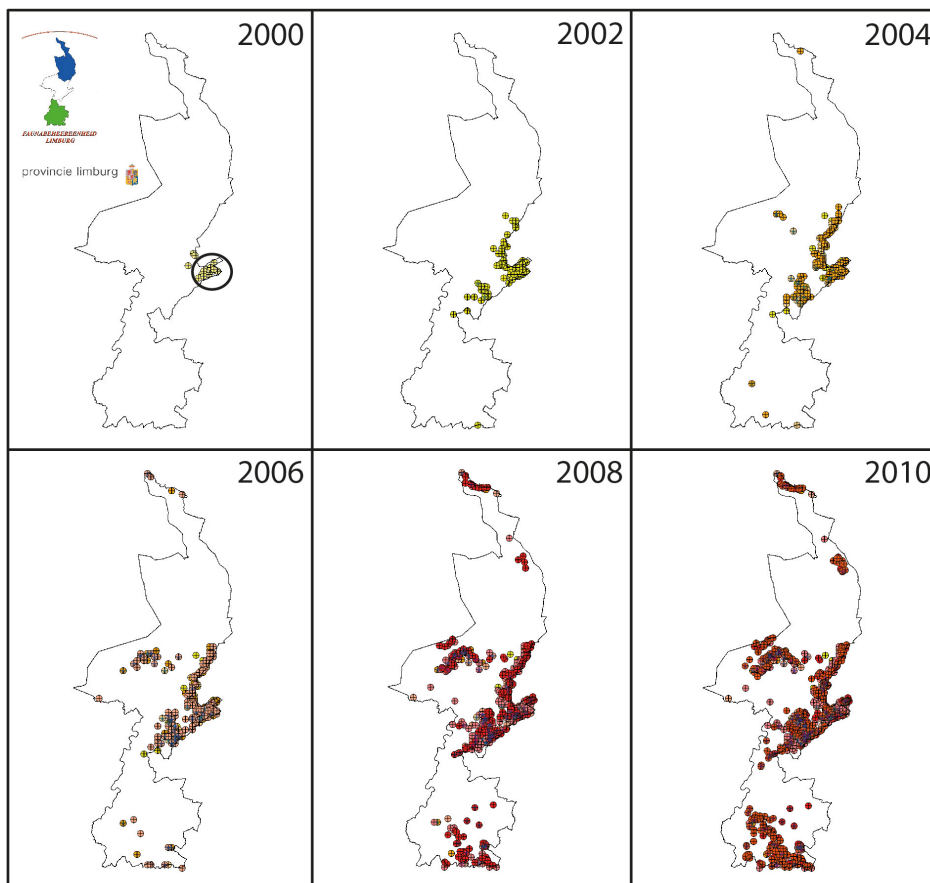
1.1 Achtergrond

Het wild zwijn (*Sus scrofa*) is in Midden- en Zuid-Europa een algemeen voorkomende soort. Officieel mogen in Nederland alleen op de Veluwe en in het Limburgse natuurgebied 'De Meinweg' wilde zwijnen voorkomen, de zogenaamde leefgebieden. Op vele plaatsen buiten deze gebieden, de zogenaamde nulstandgebieden, zijn echter steeds vaker wilde zwijnen aanwezig (figuur 1.1). Dit kunnen zwervers zijn uit de leefgebieden, maar in Limburg en Noord-Brabant bestaat het idee dat deze, in nulstandgebieden levende wilde zwijnen, eigen populaties vormen. Bij deze populaties spelen een aantal vragen over de herkomst, de populatiedynamiek en de uitwisseling tussen de onderlinge populaties. Het beantwoorden van deze vragen is van belang om de uitvoering van het beleid overontsnippering, robuuste verbindingen, duurzame instandhouding en populatie-beheer te kunnen sturen.

Van de populaties wilde zwijnen in de nulstandgebieden van Limburg en Noord-Brabant is onbekend of deze afkomstig zijn van instroom van individuen uit Duitse en Belgische grenspopulaties of het leefgebied De Meinweg. Daarnaast bestaat bij enkele deelpopulaties het vermoeden dat het om (clandestiene) herintroducties gaat. Vervolgens speelt de vraag of de nieuwe populaties zichzelf in stand kunnen houden of afhankelijk zijn van immigratie uit buurpopulaties. Dit hangt samen met de onderlinge relaties tussen de deelpopulaties van waaruit indicaties van uitwisseling en verwantschap te herleiden zijn. Door gebruik te maken van genetische technieken kan een antwoord op bovengenoemde vragen worden verkregen. Dit geeft ook inzicht in de vitaliteit van de huidige populaties. Als de genetische variatie in de Nederlandse deelpopulaties inzichtelijk wordt gemaakt kan worden vastgesteld of deze populaties in voldoende mate genetisch vitaal zijn c.q. of er op basis van de genetische variatie inzicht gekregen kan worden in de mate en duur van isolatie. Door de genetische variatie nu vast te leggen kan ook een nulmeting worden verkregen, waarmee op termijn de effecten van natuurbeleid en ontsnipperingsbeleid kunnen worden gemeten. De populatie-genetische processen die hierbij een rol spelen zijn in paragraaf 1.4 nader toegelicht.

1.1.1 Dispersievermogen

Wilde zwijnen kunnen tijdens dispersie, het wegtrekken uit het ouderlijk leefgebied op zoek naar nieuw leefgebied, afstanden van tientallen km's afleggen. Dispersie en migratie kan plaatsvinden door een individu maar soms ook door hele groepen tegelijk. De aanleiding voor het wegtrekken kan naast inteelt-vermijdend gedrag ook te maken hebben met een afnemende voedselbeschikbaarheid, onderlinge competitie (overbevolking), maar ook menselijke verstoring. Gevestigde individuen in populaties blijven erg plaatstrouw en dispergeren vaak niet verder dan 20 km (Groot Bruinderink et al., 2000; Truvé en Lemel, 2003). Zwijnen blijken erg opportunistisch als het gaat om het vinden van migratieroutes en het slechten van geografische barrières als rivieren, kanalen en snelwegen. Daarnaast geven Groot Bruinderink et al. (2000) ook aan dat enkele gebieden in Limburg en Noord-Brabant wel geschikt zijn voor wilde zwijnen, maar dat ze er toen nog niet voorkwamen. Het is dus mogelijk dat de wilde zwijnen de nulstandgebieden van Limburg op natuurlijke wijze hebben gekoloniseerd.



Figuur 1.1

Waarnemingen van wilde zwijnen in Limburg in de periode 2000-2010 (bron: FBE Limburg).

Het enige leefgebied waar officieel zwijnen worden toegestaan (NP De Meinweg) is de deelfiguur voor het jaartal 2000 zwart omcirkeld. Te zien is dat in het jaar 2000 nog amper zwijnen buiten De Meinweg werden waargenomen; tien jaar later werden in grote delen van Limburg zwijnen gesignaleerd.

1.1.2 Populatieontwikkeling

Het wilde zwijn heeft in de afgelopen eeuw vrijwel altijd voorgekomen in het Meinweggebied. Dit gebied is momenteel, samen met het iets noordelijker gelegen Meerlebroek (200 ha), het enige toegewezen leefgebied in Limburg. Vanaf eind jaren negentig is het wilde zwijn echter aan een opmars begonnen, waarbij ook buiten het leefgebied voortplanting is vastgesteld (Akkermans, 2010). Momenteel komt het wilde zwijn in grote delen van de provincie Limburg voor, waaronder ook ten westen van de Maas en in Zuid-Limburg (figuur 1.1). Ook in Noord-Brabant neemt het aantal waarnemingen toe. Waarschijnlijk is dit voornamelijk te wijten aan een groei van de populatie in de oude leefgebieden in Nederland, België en Duitsland, waardoor dieren gedwongen werden om te vertrekken. Deze populatiegroei is mogelijk gerelateerd aan het opwarmende klimaat dat zorgt voor een beter voedselaanbod, een langere voortplantingsperiode (meer worpen per jaar) en minder wintersterfte. Wilde zwijnen zijn namelijk voor een groot deel afhankelijk van mast (de zaden van o.a. eik en beuk) in het najaar en dankzij de klimaatsverandering is het aantal mastjaren (jaren waarin o.a. eiken en beuken veel zaden produceren) toegenomen. Daarnaast is in de onderzochte periode het aantal strenge winters afgenomen, waardoor er meer zwijnen overleven, en dit leidt ook tot groei van de populatie. Een tweede mogelijke oorzaak van aanwezigheid in de nulstandgebieden is de introductie van dieren door particulieren.

1.1.3 Kolonisatieprocessen en genetische structuur analyses

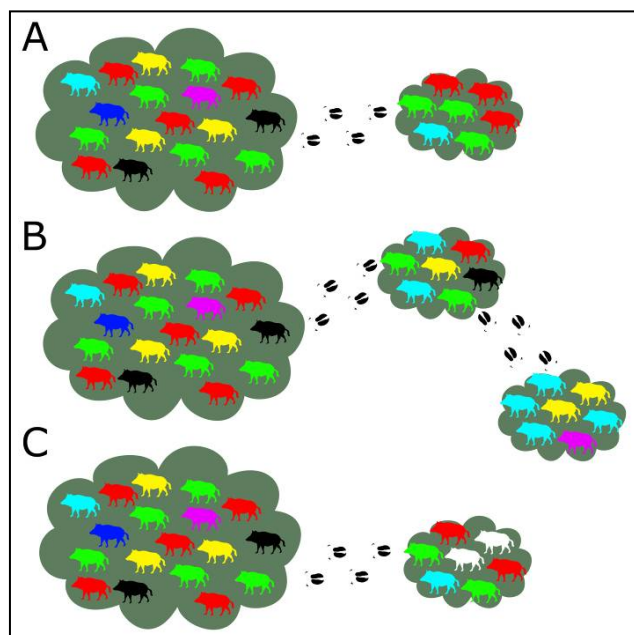
Moleculaire technieken zijn één in staat om verwantschappen tussen populaties en individuen inzichtelijk te maken. Dit aspect is voor dit rapport van groot belang. Als vanuit een populatie één of enkele individuen wegtrekken naar nieuwe gebieden, dan vormt de genetische variatie in het nieuwe gebied een subset van de aanwezige variatie in de grote bronpopulatie. Dit proces wordt ook wel een *founder effect* genoemd.

In figuur 1.2 is schematisch weergegeven hoe genetica inzicht kan geven in kolonisatieroutes en verwantschappen. Het scenario A is de meest gangbare. Hierbij zijn vanuit de grote populatie enkele individuen naar een nieuw gebied getrokken. In de grote populatie komen de genetische varianten groen en rood het meest voor. Het is dan ook te verwachten dat die ook in de steekproef voorkomen. In de grote populatie komen ook enkele minder algemene kleuren cq genetische varianten voor. Het is een kansspel of deze varianten ook op een toevallige manier weer opduiken in de kleine populatie. In het weergegeven voorbeeld is de lichtblauwe variant meegetrokken naar het nieuwe leefgebied.

Scenario B is al iets complexer. Alle kleurvarianten in de middelste populatie komen ook voor in de grote buurpopulatie, echter de verhouding is niet echt logisch. Zeldzame varianten in de grote populatie, zoals lichtblauw, komen relatief vaak voor in de kleine populatie. Dit is door toeval mogelijk, maar minder waarschijnlijk. Het kan wel logisch worden verklaard als er ook inloop plaatsvindt vanuit de tweede kleine populatie (rechts-midden in de figuur). In die populatie is lichtblauw algemeen en dus ook waarschijnlijker als bronpopulatie ter verklaring voor de hoge frequentie van lichtblauw in de middelste populatie.

Scenario C is vrijwel niet op een natuurlijke manier te verklaren. In de kleine populatie bevindt zich een genetische variant (wit) die niet in de grote vermeende bronpopulatie voorkomt. Theoretisch is het mogelijk dat er door mutaties in het DNA een nieuwe variant is ontstaan, maar dat is vanwege de zeer lage frequentie van mutaties niet erg waarschijnlijk. Een betere verklaring voor het opduiken van unieke genetische varianten is onnatuurlijke kolonisatie als gevolg van menselijk handelen.

Voor de vraagstelling in dit rapport worden programma's gebruikt die de genetische data analyseren op basis van bovenstaande principes. Er wordt dus gekeken naar unieke genen, maar ook naar de frequenties van voorkomen.



Figuur 1.2

Symbolische weergave van genetische variatie tussen buurpopulaties waarbij elke kleur een genetische variant weergeeft. Er zijn van boven naar beneden drie scenario's weergegeven waarin verschillende situaties zijn uitgebeeld (A, B en C).

1.2 Deelvragen

Om een antwoord te geven op de vraag 'Wat is de verspreiding en onderlinge relatie tussen wilde zwijnen populaties in Limburg en Noord-Brabant?' zijn een aantal deelvragen geformuleerd:

- 1 Wat is de genetische status van de wilde zwijnen in Limburg en Noord-Brabant?
 - a. Wat zijn de genetische kenmerken voor de verschillende deelpopulaties en hoe is hun onderlinge verwantschap?
 - b. Wat zijn de bronpopulaties van de wilde zwijnen in de nulstandgebieden?
 - c. Vormen deze zwijnen eigen geïsoleerde populaties of worden ze (nog) gevoed uit andere populaties?
 - d. Is er een indicatie voor onnatuurlijke kolonisatie in sommige deelgebieden?
- 2 Welke landschappelijke elementen vormen genetische barrières voor het wild zwijn?
 - a. Zijn er op basis van genetische kenmerken geografische barrières aan te wijzen die wilde zwijnen niet blijken te overbruggen?

1.3 Plan van aanpak

Van geschoten en/of anderszins verkregen wilde zwijnen (o.a. valwild) in het studiegebied zijn DNA-monsters verzameld.

Primair gebeurt dit in Limburg. Daarnaast zijn er monsters verzameld in de omliggende regio's (Eiffel, Vlaanderen, Ardennen en Noord-Brabant) en zijn er monsters van de Veluwe meegenomen. Voor Limburg waren al vele monsters uit de afgelopen jaren beschikbaar. Op basis van de beschikbare monsters is een selectie gemaakt op basis van locatie, datum en kenmerken van het dier, zodanig dat een goede steekproef van het gehele studiegebied werd verkregen. De variatie in de DNA-monsters is geanalyseerd met microsatellieten en vervolgens zijn populatie-genetische parameters bepaald met specifieke software.

1.4 Populatie-genetische achtergronden

Biodiversiteit wordt vaak op drie niveaus gedefinieerd: op het niveau van ecosystemen en habitats, op soortniveau en op populatie- en individu niveau (genetische biodiversiteit). Om genetische diversiteit te analyseren zijn verschillende technieken ontwikkeld (Bijlsma, 1995). DNA bevat de genetische informatie die nodig is om een organisme te maken. DNA is opgebouwd uit een lange keten van vier zogeheten *baseparen* (A, T, G en C) die in verschillende volgorden voorkomen. Door de volgorde van de baseparen tussen individuen te vergelijken, kan gekeken worden of er variatie is en wat de frequentie van de verschillende varianten binnen een populatie is. Als stukjes van het DNA worden onderzocht die coderen voor een eiwit (functioneel DNA) spreekt men over een *gen* of genen. Als de onderzochte stukjes DNA geen functie, of een onbekende functie hebben spreekt men van een *locus* of *merker*. De twee standaard parameters voor het weergeven van genetische diversiteit, zijn de mate van polymorfisme en het percentage heterozygositeit. *Polymorfisme* betekent dat er meerdere varianten of *allelen* (nucleair DNA) van een gen of merker aanwezig zijn in een populatie. Als een individu van de vader een andere allel heeft meegekregen dan van de moeder, is dit individu *heterozygoot* voor het gen/merker. Als het twee dezelfde allelen bezit is het *homozygoot*. Hoe groter het aantal verschillende allelen van een gen/merker 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 genetische 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.

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, kan verlies van variatie optreden. Dit effect zal sterker zijn naarmate de populatie omvang kleiner is. Genetische drift kan optreden als gevolg van willekeurige sterfte van individuen, maar ook als gevolg van migratie of 'bottlenecks' (Nei, 2005). Een demografische bottleneck is het proces waarbij een populatie in korte tijd sterk in aantal achteruitgaat. Als dit een sterke afname van de genetische variatie tot gevolg heeft (als deze bottleneck niet snel door populatiegroei wordt gevolgd) dan spreekt men van een genetische bottleneck.

Naast genetische drift kan verlies van variatie ook het resultaat zijn selectie, of van paring tussen verwanten, dusl *in-teelt* (Frankham et al., 2010). Organismen beschikken dan ook over verschillende mechanismen om in-teelt te voorkomen. Bij veel zoogdieren is een veel voorkomend mechanisme geslachtsafhankelijke dispersie, waarbij de mannetjes verder wegtrekken dan de vrouwtjes of juist andersom. Bij kleine, geïsoleerde populaties kan aan een belangrijke voorwaarde voor het behoud van genetische variatie, het min of meer willekeurig kiezen van een partner niet worden voldaan, omdat er daarvoor te weinig potentiële partners zijn. Op basis van populatie-genetische data kan worden nagegaan in hoeverre een populatie willekeurige paring plaatsvindt, door te kijken naar de verhouding tussen het theoretisch verwachte aantal heterozygote individuen in geval van willekeurige paring en het daadwerkelijke aantal heterozygoten. Als deze waarden ongeveer gelijk liggen dan is sprake van een zogenaamd 'Hardy-Weinberg evenwicht' (Frankham et al., 2010). In het geval van sterke paring tussen verwanten (met deels dezelfde allelen) wordt vaak een afwijking van dit evenwicht waargenomen, als gevolg van een gebrek aan heterozygoten.

Afname van de genetische variatie en een gebrek aan heterozygotie kan leiden tot een verlaagde *fitness*. Onder fitness wordt verstaan het reproductieve succes gedurende het leven van een individu. Hoewel dit niet eenvoudig te analyseren is, wordt het vaak gemeten aan de grootte en groei van individuen, vruchtbaarheid, levensverwachting, groeisnelheid en eventueel de metabolische efficiëntie van stoffen.

2 Materiaal en methode

2.1 Bemonsterde gebieden

2.1.1 Limburg, Gelderland en Noord-Brabant

Na de eerste signalen van een uitbreidende populatie in Limburg is op verzoek van Alterra gestart met het nemen van DNA-monsters voor eventueel toekomstig genetisch onderzoek. Hierbij zijn in de periode 2006-2010 ruim 600 monsters verzameld. Het accent lag hierbij op het verkrijgen van een representatief beeld van de genetische status van de Meinweg en daarnaast het zo volledig mogelijk bemonsteren van de overige gebieden en nieuwe uitbreidingen. Aansluitend is op dezelfde manier gestart met het verzamelen van monsters in Noord-Brabant. Hier concentreerde de zwijnenactiviteit zich tot de regio Peel en de regio Leenderbos.

2.1.2 Duitsland

Duitsland is als buurpopulatie van belang om inzicht te krijgen in mogelijke herkomsten van zwijnen in Nederland en ook als indicatie van genetische variatie in grote en ogenschijnlijk vitale populaties. Vandaar dat Duitse DNA-monsters betrokken zijn in dit onderzoek. Hierbij kon gebruik worden gemaakt van het lopende promotieonderzoek van Daniel Goedbloed (Wageningen UR) over verspreiding van dierziekten. Via Daniel zijn ruim 50 bloedmonsters verkregen vanuit het verspreidingsgebied Rheinland Pfalz en Nordrhein Westfalen. Deze zijn samengenomen als Duitse referentiepopulatie, met uitzondering van Botrop. Uit de regio Botrop zijn vijftien monsters verzameld, dit is een voldoende groot aantal om als populatie apart te houden. Omdat de monsters voornamelijk op grote afstand van de Nederlandse grens zijn verzameld is gepoogd aanvullend monsters uit de grensregio te verkrijgen. Michael Petrak en Lutz Walburga (Landesbetrieb Wald und Holz, Nordrhein-Westfalen) hebben hun achterban bereid gevonden om van valwild of afschot een DNA-weefselmonster te verzamelen. Dit heeft geresulteerd in 27 extra monsters die afkomstig zijn uit de regio rondom de Meinweg. Het boscomplex waar de Nederlandse Meinweg deel van uitmaakt loopt in Duitsland langs de grensstreek door tot de hoogte van Venlo en bestaat onder andere uit het Elmpter Schwalmbruch en het Brachterwald. Dit grensoverschrijdende boscomplex is aan Duitse zijde in meer of mindere mate geïsoleerd van de andere wilde zwijnen-populaties door het omliggende Ruhrgebied. Helaas zijn maar enkele monsters beschikbaar gekomen uit de regio Reichswald.

2.1.3 België

In België is het wilde zwijn ook met een opmars begonnen. Vandaar dat ook daar is gestart met het verzamelen van DNA-monsters en ook de analyse daarvan. Aangezien de monsters en resultaten van wederzijds belang zijn is samenwerking gezocht, en zijn de methoden onderling afgestemd zodat uitwisseling van data mogelijk werd. Via deze samenwerking is een dataset beschikbaar gekomen met daarin de genetische en geografische data inclusief het jaar van verzamelen. Vanuit *Wallonië* zijn data verkregen van de meest Noord-oostelijke regio van het oorspronkelijke verspreidingsgebied: een bolwerk van zwijnen in de Ardennen en daarmee ook een goede referentie voor genetische variatie in een vermeende grote en vitale populatie. Tevens is dit mogelijk de bron van waaruit in de afgelopen jaren uitbreiding van het verspreidingsgebied richting Vlaanderen en Limburg heeft plaatsgevonden. De *Vlaamse* monsters zijn afkomstig uit de regio ten westen van Zuid-Limburg (Vlaams Limburg), en ten zuiden van Maastricht (Vlaams Voeren).

De partners in België zijn:

*Instituut voor Natuur- en Bosbeheer (INBO)
Onderzoeksgroep Genetische Diversiteit & Onderzoeksgroep Faunabeheer
Peter Breyne, Jim Casaer & Joachim Mergeay*

*Service Public de Wallonie
DGO3- Département de l'étude du milieu naturel et agricole
Direction de la Nature et de l'eau
Laboratoire Faune sauvage et cynégétique
Alain Licoppe, Sabine Bertouille, Céline Prévot*

*Université Catholique de Louvain
Institut des Sciences de la Vie
Groupe de Physiologie Moléculaire
Marie-Christine Flamand*

2.2 Methode van monstername

Groot voordeel bij dit onderzoek aan wilde zwijnen is dat gebruik gemaakt kon worden van dieren die tijdens reguliere jacht werden geschoten, aangevuld met aangereden dieren (valwild). Van een regulier geschoten dier worden standaard al een aantal gegevens bijgehouden waarvan vooral nauwkeurige GPS-coördinaten zeer nuttige data vormen voor dit onderzoek. Daarnaast werd specifiek voor dit onderzoek een stukje weefsel van het dier genomen dat in alcohol werd geconserveerd zodat hier later DNA uit geëxtraheerd kon worden. In totaal werd voor deze studie van 773 individuen een monster in het lab geanalyseerd.

2.3 DNA-analyse

2.3.1 DNA-isolatie

Om in een korte tijd veel monsters te kunnen analyseren is de DNA-isolatie uitgevoerd met de 'Genomic DNA from tissue' kit van Machery-Nagel. Hiervoor is van het bemonsterde weefsel een stukje van ca. 20 mg genomen waarvan vervolgens de ethanol is verwijderd met een stuk filterpapier. Hierna is de extractie in 96-well formaat uitgevoerd volgens het protocol van de kit. Het uiteindelijke resultaat van deze isolatie was het in een buffer opgeloste DNA van de verschillende monsters.

Met een 'NanoDrop 2000 Spectrophotometer' is vervolgens de gemiddelde DNA-concentratie vastgesteld en op basis hiervan is vastgesteld welke hoeveelheid benodigd DNA-extract in de vervolganalyses is.

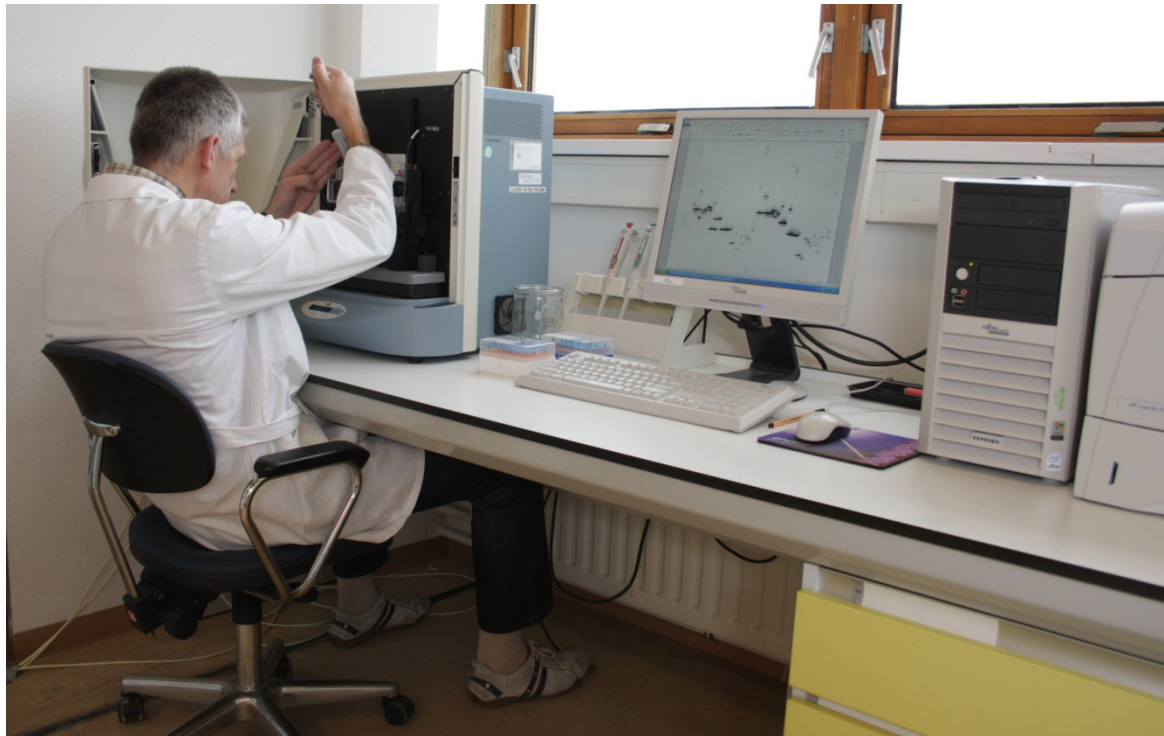


Foto 2.1

DNA gel-elektroforese apparatuur op het Alterra laboratorium (foto Ivo Laros). Gel-elektroforese is een techniek waarbij afzonderlijke allelen zichtbaar worden gemaakt door ze op lengte van elkaar te scheiden in een elektrisch geladen agarose-gel.

2.3.2 Microsatelliet-analyse

In dit onderzoek zijn veertien microsatelliet-loci gebruikt, S0002, S0005, S0026, S0090, S0097, S0155, S0226, Sw122, Sw240, Sw632, Sw857, Sw911, Sw936 en Sw951, die eerder ook gebruikt zijn voor onderzoek naar wilde zwijnen in Luxemburg (Frantz et al., 2009). De primerparen voor deze loci zijn verdeeld in twee multiplexen, namelijk multiplex 1 en 2 (zie tabel 2.1). Een multiplex is een Polymerase-kettingreactie (PCR) die meerdere primerparen bevat en waarmee zodoende meerdere microsatelliet loci worden geanalyseerd.

Tabel 2.1

Beschrijving van de twee multiplexen en de veertien gebruikte primerparen. De primerparen staan genoteerd in de 5' naar de 3' richting met hun nucleotide repeat, de toegepaste annealing temperatuur (T_a °C) en fragmentlengte.

Multi-plex	T_a (°C)	Locus	Primer sequentie (5' - 3')	Nucleotide repeat	Label	Fragment Range (bp)
1	55	S0026	AACCTTCCCTTCCCAATCAC CACAGACTGCTTTTTACTCC	(CA) ₂₀	700	92-106
		Sw951	TTTCACAACCTCTGGCACCAG GATCGTGCCCAAATGGAC	(TG) ₁₂	700	125-133
		Sw857	TGAGAGGTCAGTTACAGAAGACC GATCCTCCTCCAAATCCCAT	(GT) ₁₉	700	144-160
		S0002	GAAGCCAAAGAGACAACCTGC GTTCTTTACCCACTGAGCCA	(CA) ₂₇	700	190-216
		Sw122	CAAAAAAGGCAAAAGATTGACA TTGTCTTTTATTTTGCTTTTGG	(TG) ₁₉	800	110-122
		Sw911	CTCAGTTCTTTGGGACTGAACC CATCTGTGGAAAAAAAAGCC	(AC) ₁₄	800	153-177
		S0097	GACCTATCTAATGTCATTATAGT TTCCTCCTAGAGTTGACAAACTT	(CT) ₂ (GT) ₁₀	800	208-244
2	55	Sw240	AGAAATTAGTGCCTCAAATTGG AAACCATTAAGTCCCTAGCAAA	(TA) ₂ (CA) ₁₂ (TA) ₃	700	96-115
		Sw632	TGGGTTGAAAGATTTCCCAA GGAGTCAGTACTTTGGCTTGA	(GT) ₁₆	700	159-180
		S0005	TCCTTCCCTCCTGGTAACTA GCACTTCTGATTCTGGGTA	(AC) ₂₉	700	205-248
		Sw936	TCTGGAGCTAGCATAAGTGCC GTGCAAGTACACATGCAGGG	(CA) ₂₂ (CT) ₂	800	80-117
		S0155	TGTTCTCTGTTTCTCCTCTGTTG AAAGTGGAAAGAGTCAATGGCTAT	(CA) ₃ CT(CA) ₅ TA(CA) ₃ AA(CA) ₁₈	800	150-166
		S0226	GCACTTTTAACCTTCATGATACTCC GGTTAAACTTTTNCCTCAATACA	(TG) ₁₂ CA(TG) ₄ TA(TG) ₄ (TA) ₃ TGTA	800	181-205
		S0090	CCAAGACTGCCTTGTAGGTGAATA GCTATCAAGTATTGTACCATTAGG	(CA) ₂₃	800	244-251

De microsatellieten zijn met een PCR vermenigvuldigd zodat ze zichtbaar gemaakt kunnen worden. De PCRs werden uitgevoerd met 2µl DNA-extract en 8µl PCR-mix in een Biometra T3000 Thermocycler. De PCR-mixen werden gemaakt met de 'Qiagen Multiplex PCR Kit', waarbij gewerkt is volgens het standaard protocol van deze kit. Om het resultaat zo goed mogelijk te krijgen is bij multiplex 1 geen Q-solution toegevoegd en bij multiplex 2 wel. Daardoor bestond de PCR-mix voor multiplex 1 uit 2µl demi-water, 5µl Qiagen Multiplex Buffer en 1µl 10x primer mix en de PCR-mix voor multiplex 2 uit 1µl demi-water, 5µl Qiagen Multiplex Buffer, 1µl Q-solution en 1µl 10x primer mix.

De PCR bestond uit een initiële denaturatie van 15 minuten bij 95°C om de polymerase in de Qiagen Multiplex Buffer te 'activeren'. Hierna werd een cyclus gestart van 30 seconden denatureren bij 94°C, gevolgd door 90 seconden bij de annealingtemperatuur van 55°C en een extensie stap van 60 seconden bij 72°C. Deze cyclus werd 30 keer herhaald. Hierna volgde een laatste extensie stap van 30 minuten bij 60°C waarna de reactie werd gekoeld tot 10°C. Het 5'-eind van elke Forward-primer is gesynthetiseerd met een IRD 700 of een IRD 800nm label (zie tabel 2.1).

Voor beide multiplexen werd 1µl van het amplicon na denaturatie met 29µl loading buffer (Formamide, Na₂EDTA en Broomphenol blauw) samengevoegd. Vervolgens werd het mengsel voor vier minuten bij 95°C opgekookt, waarna het voor minimaal tien minuten in de vriezer werd gezet. Dit werd vervolgens geanalyseerd op een 25 cm lange sequencing gel (6,5% polyacrylamide premix gel en 0.8xTBE) met de LICOR 4300 DNA-

analyser. Tijdens de electroforese werden consequent referentiemonsters gebruikt om de relatieve allellengtes van de monsters te kunnen bepalen. Bovendien zijn, om integratie van microsatelliet data van het INBO laboratorium mogelijk te maken, monsters die in dat laboratorium al een keer geanalyseerd zijn, op vergelijkbare manier nog een keer geanalyseerd. Op die manier konden de verschillende datasets beter met elkaar worden vergeleken.

2.4 Data-analyse

Om de origine van geschoten zwerende dieren te achterhalen en om de algehele genetische structuur van de wilde zwijnen populaties te bepalen zijn verschillende analyses uitgevoerd op de verkregen genetische profielen. Vier microsatelliet loci (namelijk S0002, Sw911, Sw240 en S0005) zijn niet meegenomen in de uiteindelijke data analyse omdat er voor die loci óf geen eenduidige score was, of omdat er voor die loci te veel uitvallende allelen waren.

2.4.1 Genetische variatie

De genetische variatie van de verschillende populaties is gekarakteriseerd door het gemiddelde aantal allelen (A), het percentage verwachte heterozygoten (H_e), het percentage waargenomen heterozygoten (H_o), de fixatie index (F) en het percentage polymorfe loci in de verschillende deelpopulaties te bepalen (programma *GenAlEx*, Peakall en Smouse, 2001). Naast het daadwerkelijke aantal allelen werd ook een tweede maat berekend (A_r) die corrigeert voor het verschil in aantal monsters per populatie (programma *Fstat*, Goudet, 1995). Deze maat is beter geschikt om de hoeveelheid variatie te vergelijken tussen populaties. Het waargenomen percentage heterozygoten (H_o) geeft een indruk van de mate waarin individuen in de populatie over twee verschillende varianten van een gen beschikken. Hoe hoger dit percentage is, hoe kleiner de kans op schadelijke effecten door inteelt. Het verwachte percentage heterozygoten (H_e) is het percentage dat je zou verwachten onder een Hardy-Weinberg evenwicht (willekeurige paring, zie paragraaf 1.4). Dit percentage wordt berekend op basis van het aantal allelen per locus en hun frequentie in de populatie, en geeft in die zin ook een goed beeld van de genetische variatie (als er veel allelen zijn, maar slechts eentje een hoge frequentie heeft, kan men dit zien als een lagere variabiliteit dan wanneer alle allelen even vaak zouden voorkomen). Daarnaast wordt de verwachte heterozygositeit gebruikt om de fixatie index te berekenen ($F=1- H_o/H_e$). Deze index vormt een indicator voor de afwijking van Hardy-Weinberg evenwicht. Een $F>0$ geeft aan dat er meer homozygoten zijn dan verwacht, dit kan bijvoorbeeld komen door inteelt. Een $F<0$ geeft aan dat er een overschot is aan heterozygoten.

Het percentage polymorfe loci is het percentage van het aantal loci dat meerdere verschillende varianten kent in één populatie (tegen een monomorf locus wat dus maar een variant kent). Voor de dataset is ook de mate van genetische differentiatie (F_{st}) tussen populaties berekend. De F_{st} varieert tussen 0 en 1. De populaties zijn identiek, i.e. de allelfrequenties voor de verschillende allelen zijn hetzelfde bij een F_{st} van 0 en populaties zijn maximale verschillend, i.e. de populaties zijn gefixeerd voor verschillende allelen bij een F_{st} van 1. Hartl en Clark (1997) hanteren de volgende vuistregel voor interpretatie van F_{st} waarden: F_{st} van 0-0.05 geringe differentiatie; 0.05-0.15 redelijke differentiatie; 0.15-0.25 grote differentiatie en >0.25 zeer grote differentiatie.

2.4.2 Genetische structuur

Zowel op de gehele dataset als op een aantal subsets zijn Principale Coördinaten Analyses (PCoA) uitgevoerd. Voor de PCoAs is gebruik gemaakt van het programma *GenAlEx* (Peakall en Smouse, 2001). Hierbij wordt eerst de onderlinge genetische afstand tussen alle individuen bepaald en vervolgens wordt daar met de PCoA structuur in aangebracht op basis van de herkomstlocatie. De PCoA is een multivariate analyse die probeert de variatie in een dataset zo te combineren en te groeperen dat een inzichtelijker patroon ontstaat. Vaak wordt een PCoA grafisch weergegeven door de score van de individuele monsters op de eerste en tweede coördinaten-as weer te geven. Deze analyse geeft vooral inzicht in de variatie in allel-combinaties tussen individuen.

Om een beter beeld te krijgen in hoeverre de verschillende op voorhand veronderstelde deelpopulaties ook genetisch van elkaar te onderscheiden zijn, werden twee Bayesiaanse clusteringsprocedures toegepast. Dit geeft inzicht in de mate van uitwisseling tussen deelpopulaties, en maakt het mogelijk om de herkomst van individuen te achterhalen. Beide analyse-methoden zijn naast elkaar gebruikt omdat de Bayesiaanse cluster-procedures gedeeltelijk afhankelijk zijn van willekeurige startwaarden, waardoor af en toe fouten kunnen ontstaan. Daarnaast gebruiken ze gedeeltelijk andere informatie als uitgangspunt: één analyse (*Structure*) maakt alleen gebruik van genetische data (genetische structuur analyse), de andere (*Geneland*) maakt gebruik van zowel genetische als geografische data (landschap genetische analyse). Door twee verschillende methoden te gebruiken en beide methoden meerdere malen toe te passen wordt een betrouwbaarder resultaat verkregen. De uitgebreidere beschrijving van beide programmas, en een overzicht van de gebruikte parameterwaarden en ruwe uitkomsten zijn bijgevoegd als bijlage 1.

Structure

Als eerste is er een genetische structuuranalyse uitgevoerd met het programma *Structure* (Pritchard et al., 2000). *Structure* veronderstelt een onbekend aantal populaties (K), die gekarakteriseerd worden door de allelfrequenties van een set van onafhankelijke merkers. Het resultaat is een onderverdeling van de totale dataset in een optimaal aantal clusters, waarbij deze clusters moeten voldoen aan een aantal voorwaarden. Zo moet ieder cluster voldoen aan de wet van Hardy-Weinberg (dit houdt in dat de gemiddelde heterozygositeit overeen moet komen met de theoretische waarde voor een situatie waarin alle individuen random met elkaar paren) en mogen de gevonden allelen voor verschillende merkers niet met elkaar correleren. Vervolgens wordt per individu met een percentage aangegeven hoe dat individu binnen elk cluster past. Hierna wordt het individu ingedeeld in het cluster met het hoogste percentage. Op deze manier worden de verschillende genetische populaties inzichtelijk gemaakt op basis van alleen genetische informatie.

Geneland

De landschapgenetische analyse is uitgevoerd met het software pakket *Geneland* (Guillot et al., 2005) voor het statistische programma R (R Development Core team, 2011). Dit programma gebruikt zowel het genetische profiel van de verschillende individuen als de coördinaten van hun vindplaats om de dataset in te delen in een optimaal aantal genetische clusters. Vervolgens wordt wederom elk individu aan een genetisch cluster toegewezen. Hierbij geeft *Geneland* ook weer waar in het landschap harde grenzen tussen genetische groepen liggen (genetische barrières). Door deze barrières op een kaart te plotten kunnen ze aan verschillende landschapselementen gekoppeld worden, en kan inzichtelijk worden gemaakt welke elementen in het landschap invloed hebben op de genetische structuur van de geanalyseerde populaties.

3 Resultaten en discussie: hele studiegebied

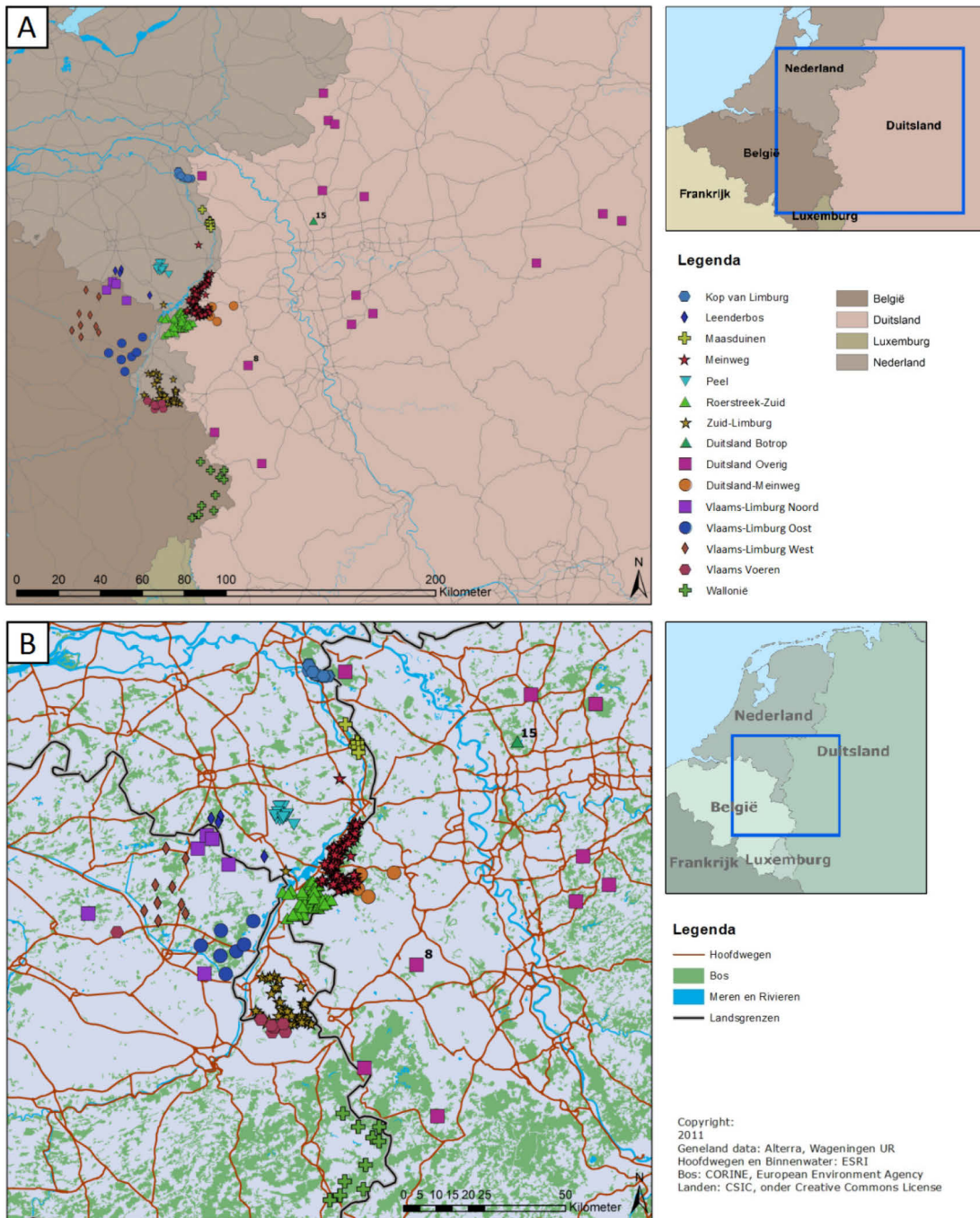
3.1 Monstercollectie en DNA-analyse

Voor dit onderzoek zijn 773 monsters beschikbaar gekomen inclusief gegevens over de herkomstlocaties. Voor een aantal individuen werd niet voor alle merkers een eenduidige allel-score verkregen in het lab. In de uiteindelijke analyse zijn alleen de genetische profielen gebruikt zonder missende waarden. Hierdoor zijn er uiteindelijk 719 van de 773 geëxtraheerde monsters overgebleven in de geanalyseerde dataset. Deze dataset omvatte monsters uit Gelderland, Noord-Brabant, Limburg, Vlaanderen, Wallonië en Duitsland. De locatie van herkomst van alle verzamelde monsters is weergegeven in figuur 3.1. Weergegeven locaties zijn gebaseerd op informatie verstrekt door de vinders, en kan hierdoor in een enkel geval iets afwijken van de daadwerkelijke plek waar het dier is aangetroffen. Uit de geografische verdeling van de geschoten of aangereden individuen bleek een duidelijke groepering in enkele gebieden waar grotere aantallen dieren voorkwamen. Daarnaast had de provincie Limburg bij de start van het onderzoek aangegeven welke geografische barrières als (water)wegen en infrastructuur zij voor zwijnen verwachten. In overleg met de provincie werden de Limburgse gebieden met zwijnen opgedeeld in een aantal deelregio's, waarbij de bemonsterde zwijnen per deelregio in een populatie werden ingedeeld. Door INBO werd op vergelijkbare manier een indeling gemaakt voor de Vlaamse populaties. Uiteindelijk werden voorafgaand aan de genetische analyse zestien deelpopulaties gedefinieerd. De verdeling van de monsters over deze populaties, en de ligging van de Limburgse deelregio's, is zichtbaar in de figuren 3.1 en 3.2. Een overzicht van het uiteindelijke aantal monsters per deelpopulatie is te vinden in tabel 3.2.

De deelpopulatie Peel omvat zowel monsters uit de Limburgse Peel als de Brabantse 'Groote Peel'. De deelpopulatie Meinweg omvat ook dieren die geschoten zijn rondom Beesel, Swalmen en Venlo. De Duitse Meinweg werd als aparte deelpopulatie opgenomen. De groep Vlaanderen-Noord bevat ook enkele individuen waarvoor de geografische locatie van de vindplaats niet geheel duidelijk was.

Een aantal in Nederland aangetroffen dieren werden als zwerver aangewezen, omdat deze ver van andere zwijnen aangetroffen zijn (zie figuur 3.2). Hierdoor is het interessant om deze zwervers apart te analyseren, omdat ze mogelijk aanwijzingen kunnen geven voor de verschillende door zwijnen gebruikte kolonisatieroutes. Deze zwervers (zes in totaal) zijn alleen uit de dataset gehaald voor de berekening van de genetische variatie van de verschillende deelpopulaties, omdat ze van te voren nog niet aan een bepaalde deelpopulatie konden worden toebedeeld. Voor de analyse in Structure zijn alle 719 dieren gebruikt, zodat voor de zwervers kon worden bepaald wat hun afkomst was.

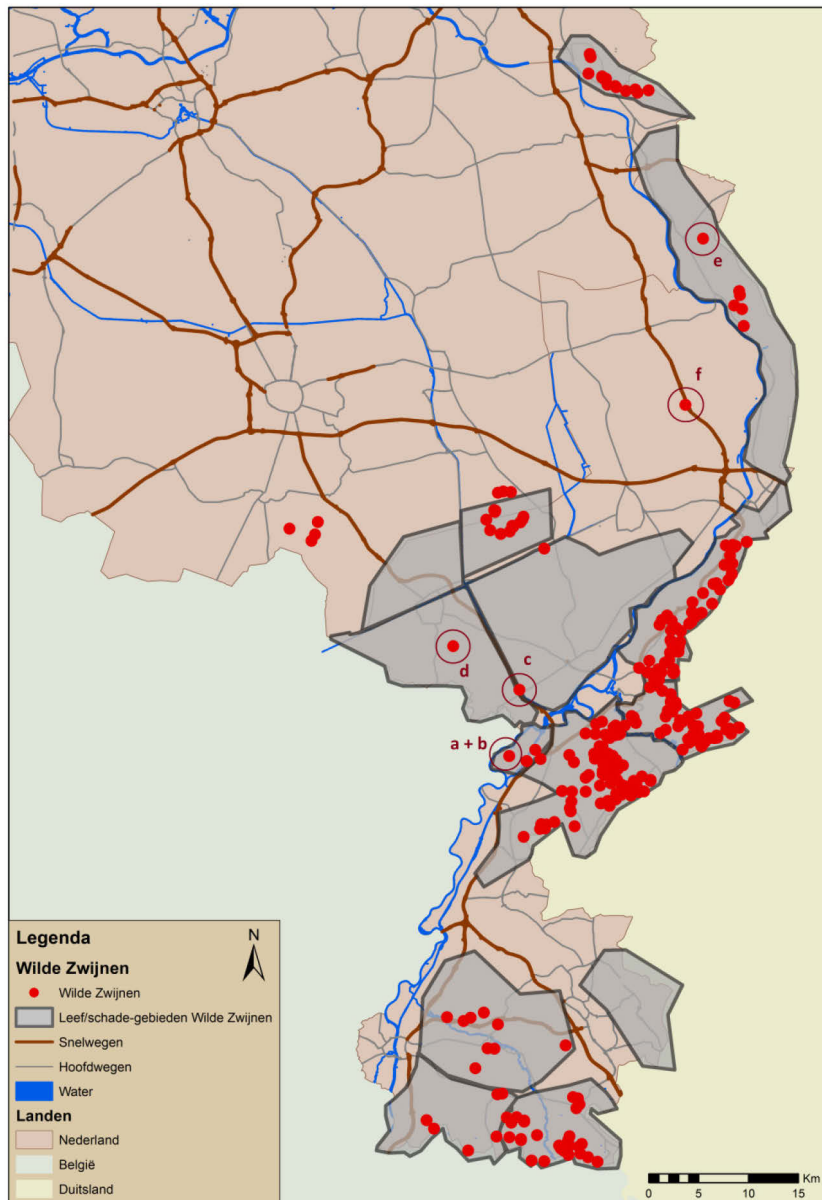
Voor de landschaps-genetische analyse (Geneland) werden de genetische profielen van 47 individuen, geschoten op de Noord-Veluwe, verwijderd uit de dataset (672 individuen gebruikt). Dit is gedaan omdat de Veluwe-monsters alleen in de Structure analyse zijn meegenomen als externe referentie- populatie en deze monsters dus niet interessant waren voor de landschapsgenetische analyse.



Figuur 3.1

Verdeling van de monsters over de verschillende deelpopulaties. Deelpopulaties zijn te onderscheiden aan de hand van gekleurde symbolen (gelijk in figuur A en B). Figuur A geeft locatie weer ten opzichte van landsgrenzen, Figuur B geeft voor een uitsnede rond Limburg de locatie weer van de monsters ten opzichte van bosgebieden en infrastructuur. Sommige stippen vertegenwoordigen meerdere monsters; bij meer dan vijf stuks is dat met een cijfer naast het symbool weergegeven.

NB: Enkele van de monsters van de Vlaamse populaties zijn in een later stadium herverdeeld, waardoor ze in de figuur nog een afwijkende kleur en symbolen hebben. Dit heeft geen verdere consequenties voor de gevonden resultaten.



Figuur 3.2

Detailkaart van de wilde zwijnen in Limburg en Noord-Brabant. De in samenspraak met de provincie gedefinieerde deelregio's (leef-/schadegebieden) op basis van geografische barrières zijn in grijs weergegeven. Zwervers zijn aangegeven met een rode omlijning en een letter.

3.2 Genetische variatie

De allel-diversiteit was hoog in deze studie met een minimaal aantal allelen voor locus Sw951 (4) en een maximaal aantal allelen voor locus S0097 (15; tabel 3.1). In de dataset als geheel is het polymorfisme (P) 100%, dit wil zeggen dat voor alle 10 loci variatie aanwezig is. Echter, binnen Nederland is één locus, SW951, onvariabel, ondanks dat er vier allelen gevonden zijn in de totale dataset. Verder is er in de Maasduinen-populatie ook maar één variant gevonden van het locus S0155, waardoor het percentage polymorfisme daar maar 80% is.

In de referentiepopulaties Wallonië en Duitsland-overig werd een gemiddeld aantal aangetroffen allelen per marker gevonden van $A=4,80$. Voor de Nederlandse deelpopulaties lag deze waarde tussen de $A=3,80$ voor Zuid-Limburg en $A=2,50$ voor Maasduinen (tabel 3.2). De genetische variatie van de Nederlandse populaties blijkt dus gering te zijn. Als werd gecorrigeerd voor populatiegrootte, bedroeg het aantal allelen per populatie (A_r) gemiddeld 2,6 voor Duitsland en 2,69 voor België. Voor Nederland lag deze waarde wederom iets lager, met een gemiddelde van $A_r=2,50$. Het verschil is echter niet erg groot, en de hoogste diversiteit werd aangetroffen in de Nederlandse populatie in Zuid-Limburg ($A_r=3,55$).

De waargenomen heterozygositeit per Nederlandse populatie varieerde tussen $H_o=0,39$ en $H_o=0,55$, met een gemiddelde waarde van $H_e=0,44$. In Duitsland en België was dit gemiddelde respectievelijk $H_e=0,49$ en $0,55$, met de hoogste waarde voor Vlaams-Limburg Noord ($H_o=0,62$). In verhouding met het buitenland was de heterozygositeit in Nederland dus vrij laag. Opvallend is de hoge heterozygositeit van de vier geschoten dieren in het Leenderbos ($H_o=0,55$).

De verwachte heterozygositeit in de Nederlandse populaties varieerde tussen $H_o=0,39$ en $H_o=0,55$. Voor de meeste populaties was dit gelijk, of slechts net iets lager dan de daadwerkelijk waargenomen heterozygositeit. Dit resulteert in een fixatie-index die niet sterk afwijkt van $F=0$, dit geeft aan dat de populaties in Hardy-Weinberg evenwicht zijn. Opvallend is echter de wat sterker negatieve F -waarde van de populatie in de Maasduinen. Ook vallen de positieve F -waarden voor de Noord-Veluwe populatie en de populaties in Vlaams Voeren en Vlaams-Limburg Oost op (minder heterozygoten dan verwacht).

In figuur 3.3 zijn de allelfrequenties per verzamelpopulatie uitgezet. Hieruit blijkt dat de populatie in het Leenderbos unieke allelen heeft voor de loci S0097 en Sw936, dat de populatie in de Maasduinen een uniek allel heeft voor locus Sw122, dat de populatie op de Noord-Veluwe een uniek allel heeft voor het locus Sw122 en dat de Nederlandse Meinweg-populatie een uniek allel heeft voor locus S0026. Daarnaast heeft de populatie Duitsland overigens een uniek allel voor locus Sw951 en heeft de Duitse populatie bij Botrop unieke allelen voor de loci Sw122, S0155 en S0226. In België heeft de populatie in Vlaams-Limburg West een uniek allel voor locus S0097, heeft de populatie in Wallonië unieke allelen voor de loci Sw122, S0097, S0226 en S0090 en heeft de populatie Vlaams-Limburg Noord unieke allelen voor de loci S0026 en S0097. Verder valt op dat er een aantal allelen gevonden zijn die uniek zijn voor de combinatie van de Leenderbos- en Vlaams-Limburg Noord-populaties voor de loci Sw857, Sw122, S0097 en S0155.

Deze unieke allelen kunnen twee verschillende oorzaken hebben. In de grote referentiepopulaties geeft een uniek allel aan, dat de genetische diversiteit in die populaties groter is dan in de Nederlandse populatie. In de Nederlandse populatie ontbreekt namelijk dat allel, dat te verklaren is door het feit dat bij de kolonisatie van een nieuw gebied meestal niet alle allelen uit de bronpopulatie in de nieuwe populatie terecht komen (figuur 1.2, scenario A: een *founder effect*). Een uniek allel in een kleine populatie kan door toeval zijn ontstaan, maar kan ook betekenen dat deze populatie niet volledig op natuurlijke wijze is gekoloniseerd (figuur 1.2, scenario C).

Het bovenstaande laat zien dat zowel de variatie (zowel uitgedrukt in aantal allelen (A_r) als in verwachte heterozygositeit (H_e) in de Limburgse en Noord-Brabantse populaties vrij laag is vergeleken met de in deze studie gebruikte referentiepopulaties. Dit is wederom te verklaren door een *founder effect*, waarbij in de nieuw gekoloniseerde gebieden een kleinere genetische variatie overblijft dan in de bronpopulaties. Hetzelfde beeld komt naar voren bij vergelijking met een populatie in Luxemburg, bestudeerd door Franz et al. (2009).

De verwachte heterozygositeit in de Luxemburgse populatie bedroeg $H_e=0,62$. Dit is beduidend hoger dan in de Nederlandse populaties (gemiddelde $H_e=0,44$).

Het gemiddelde aantal allelen is onvergelykbaar tussen de studies, door het gebruik van verschillende set markers.

Tabel 3.1

Genetische variatie in de wild zwijn-populaties gebaseerd op tien microsatelliet loci. *n*, aantal individuen; *A*, gemiddeld aantal allelen per locus; *A_r*, effectieve aantal allelen per locus; *He*, verwachte heterozygositeit; *Ho*, waargenomen heterozygositeit; *F*, Fixatie-index; %*P*, percentage polymorfe loci. Per land wordt een totaalwaarde gegeven voor het aantal individuen (*n*) en het aantal polymorfe loci (*P*). Voor het aantal allelen (*A* of *A_r*), de heterozygositeit (*He* en *Ho*) en de fixatie-index (*F*) wordt een gemiddelde waarde gegeven over de bemonsterde populaties.

Populatie	<i>n</i>	<i>A</i>	<i>A_r</i>	<i>He</i>	<i>Ho</i>	<i>F</i>	% <i>P</i>
Nederland							
Kop van Limburg	18	3,40	2,60	0,47	0,43	0,07	90
Leenderbos	4	2,80	2,80	0,51	0,55	-0,07	90
Maasduinen	8	2,50	2,24	0,39	0,45	-0,11	80
Nederlandse Meinweg	162	3,70	2,43	0,47	0,46	0,01	90
Peel	22	2,80	2,20	0,39	0,39	-0,03	90
Roerstreek-Zuid	143	3,30	2,19	0,40	0,41	-0,02	90
Veluwe	47	3,50	2,21	0,40	0,39	0,09	90
Zuid-Limburg	55	3,80	3,55	0,49	0,49	-0,03	90
Totaal/gemiddeld	459	3,20	2,53	0,44	0,45	-0,01	90
Duitsland							
Botrop	15	3,10	2,49	0,46	0,54	-0,17	90
Duitse Meinweg	27	2,90	2,31	0,45	0,44	0,02	90
Overig	33	4,80	3,01	0,55	0,49	0,10	100
Totaal/gemiddeld	75	3,60	2,60	0,49	0,49	-0,01	100
België							
Vlaams-Limburg Noord	12	4,70	2,39	0,65	0,62	0,06	100
Vlaams-Limburg Oost	12	2,80	2,67	0,43	0,43	0,04	90
Vlaams-Limburg West	49	4,10	2,90	0,58	0,48	0,17	100
Vlaams Voeren	38	3,80	2,87	0,53	0,45	0,15	100
Wallonië	69	4,80	2,50	0,53	0,53	-0,01	90
Totaal/gemiddeld	180	4,04	2,67	0,55	0,50	0,08	100
Totaal/gemiddeld	714	7,70	2,59	0,48	0,47	0,02	100

Tabel 3.2

Allel-diversiteit van de tien verschillende microsatelliet loci voor de 713 individuen. Zie ook figuur 3.3.

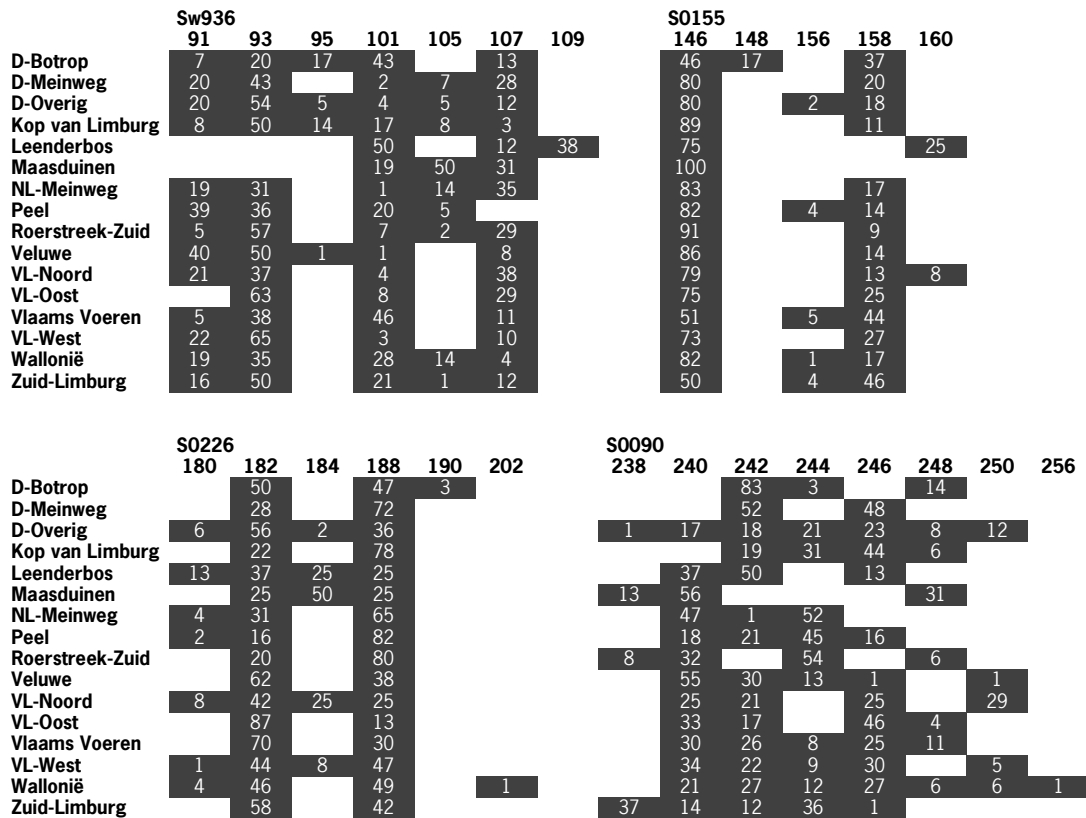
Locus	Allelen aantal	Range (min-max) per populatie	Fragment range (bp)
S0026	6	1-4	94-104
Sw951	4	1-3	116-124
Sw857	7	2-6	144-158
Sw632	9	2-7	157-177
Sw122	10	2-5	107-129
S0097	15	2-8	205-245
Sw936	7	3-6	91-109
S0155	5	1-3	146-160
S0226	6	2-4	180-202
S0090	8	2-7	238-256

Populatie	S0026					Sw951				
	94	96	98	100	102	104	116	120	122	124
D-Botrop	63	37							100	
D-Meinweg	80	20							100	
D-Overig	70	29		1			2		98	
Kop van Limburg	75	19		6					100	
Leenderbos	63			37					100	
Maasduinen	94			6					100	
NL-Meinweg	64	29			6	1			100	
Peel	73	25			2				100	
Roerstreek-Zuid	53	46			1				100	
Veluwe	97	1			2				100	
VL-Noord	71		4	4	21				100	
VL-Oost	100						13	54	33	
Vlaams Voeren	83	16			1		47	53		
VL-West	46	18			36		50	44	6	
Wallonië	79	17		2	2			100		
Zuid-Limburg	86	12			2			100		

Populatie	Sw857						Sw632									
	144	148	150	152	154	156	158	157	159	161	163	165	167	169	175	177
D-Botrop		80		17	3							10	70		20	
D-Meinweg		55	15	13	17					63			33			4
D-Overig		27	23	36	6		8		1	18	6		64	8		3
Kop van Limburg		11	6	22	61					8			47	17		28
Leenderbos	25					25	50							13	62	
Maasduinen		6					94	19	25						6	44
NL-Meinweg		65	14	5	14	2							31			7
Peel		93					7						27			
Roerstreek-Zuid		36	4	59		1							32			
Veluwe		16	1	82	1								65	3		2
VL-Noord	8	21	13	4		12	42						7		32	49
VL-Oost		38	8	17	4		33	4					25		17	8
Vlaams Voeren		47	25	20	5		3						83			
VL-West		17	38	3		22	20						80		1	
Wallonië		36	19	24	7	4	10						66	1	33	
Zuid-Limburg		36	18	32	4		10						61	1	5	
													57			1

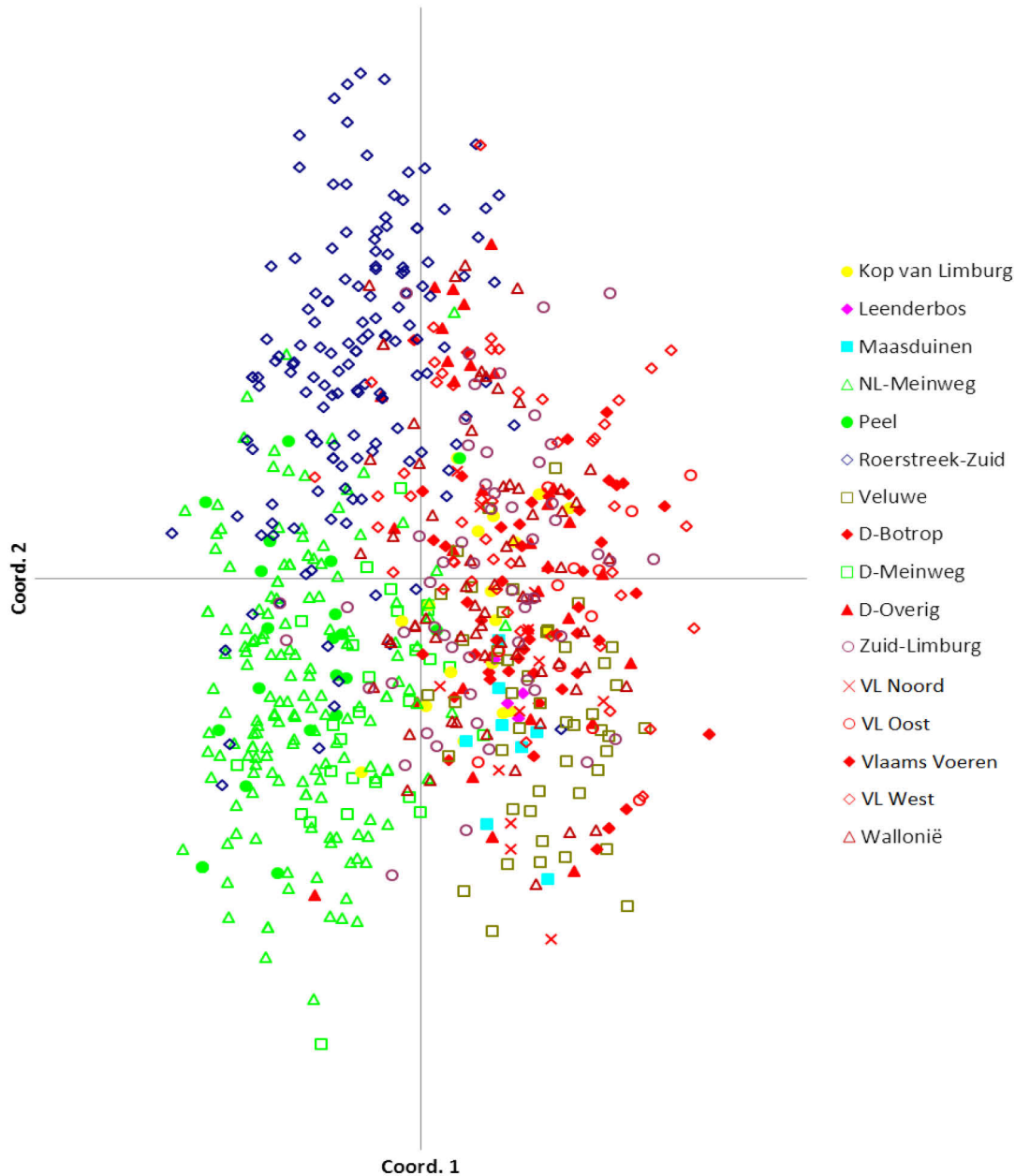
Populatie	Sw122									
	107	109	111	113	115	117	119	121	127	129
D-Botrop		30	70							
D-Meinweg			44	52		4				
D-Overig			56	5		20	18			1
Kop van Limburg			17	6		58	19			
Leenderbos	25		63				12			
Maasduinen		25			25	6	44			
NL-Meinweg			57	36		7				
Peel			77	23						
Roerstreek-Zuid			97	2			1			
Veluwe			17			76			7	
VL-Noord	12		46	4		17	21			
VL-Oost			63			25	12			
Vlaams Voeren			65			13	22			
VL-West			70	14		4	12			
Wallonië			67	4			28	1		
Zuid-Limburg			80	1		5	14			

Populatie	S0097														
	205	217	219	221	223	225	229	231	233	235	237	239	241	243	245
D-Botrop				10			20	3	13		30		24		
D-Meinweg		50		28				15			2	5			
D-Overig		15		9			4	14	32		21	5			
Kop van Limburg		3	11		28						58				
Leenderbos											12		50	13	25
Maasduinen											50		50		
NL-Meinweg		53		16			8	1			6	9	7		
Peel		45		39			5	11							
Roerstreek-Zuid		35		20			11	16							
Veluwe					1		27	17				18			
VL-Noord		12					17	13		4	10	45			
VL-Oost				12			25	42			37		4	13	
Vlaams Voeren		8		15			55	9			21		1	5	
VL-West	4	28		12			8	36			7	1	9		
Wallonië		6		23		2	21	28			2	13	5		
Zuid-Limburg		5		4			36	41			9	3	2		



Figuur 3.3

Aan- of afwezigheid van allelen voor tien microsatelliet-loci in zestien populaties. Grijs blokjes duiden op aanwezigheid van een allel en de getallen in de blokken geven de frequentie aan van dat allel in de populatie. Zie tabel 3.2 voor specifieke informatie.



Figuur 3.4
 Principale Coördinaten Analyse (PCoA) van de volledige dataset.

3.3 Genetische structuur

Om de genetische structuur van de wilde zwijnen-populaties in Limburg en Noord-Brabant te bepalen zijn drie verschillende methoden gebruikt. Een Principale Coördinaten Analyse (PCoA) die op een hele globale manier de genetische structuur inzichtelijk maakt en daarnaast twee Bayesiaanse cluster-procedures waarmee de specifieke genetische (sub)structuur van de populaties is onderzocht (Structure en Geneland). Deze methoden resulteerden allemaal in clusters die voor het grootste deel gelijk zijn, maar soms op kleine details verschillen. Daarom zullen ze hier apart besproken worden.

3.3.1 Principale Coördinaten Analyse (PCoA)

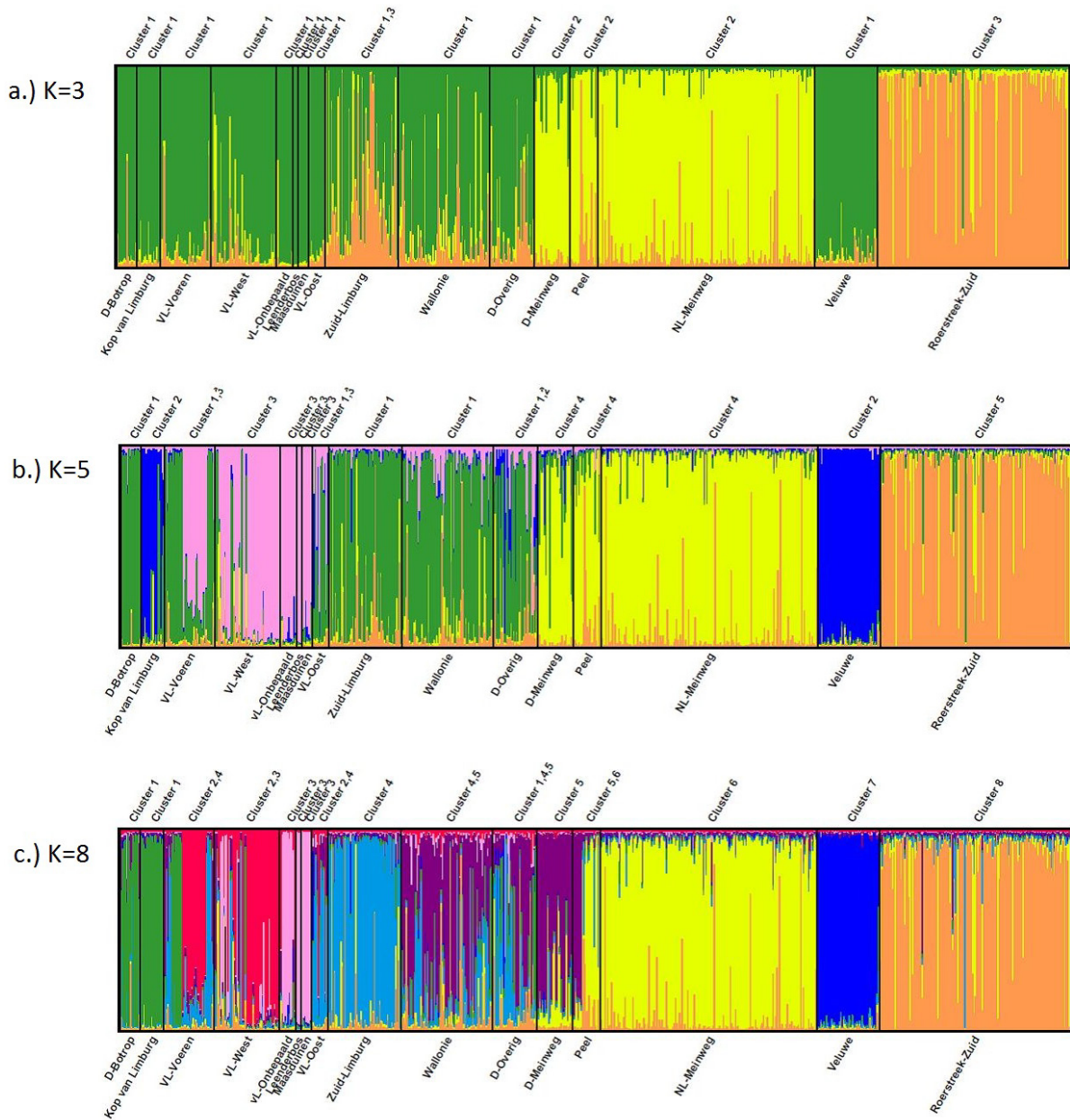
In de PCoA is de eerste structuur in de dataset zichtbaar (figuur 3.4). Hieruit wordt duidelijk dat er grote genetische verschillen zijn. Er kan echter wel onderscheid gemaakt worden tussen clusters met enige overlap, namelijk de populatie Roerstreek-Zuid (linksboven), een cluster met de populaties Nederlandse Meinweg, Duitse Meinweg en de Peel (linksonder), en een cluster met de rest van de verzamelpopulaties (rechts). Dit duidt op marginale genetische verschillen tussen de populaties.

3.3.2 Structuur gevonden met Structure

De analyse in Structure (Pritchard et al., 2000) gaf aan dat een K-waarde van 8, dat wil zeggen een indeling in acht clusters (zie paragraaf 2.4.2), het beste resultaat gaf voor de gebruikte data (bijlage 1). De toewijzing per individu is zichtbaar gemaakt in figuur 3.5a-c. Gekozen is om niet alleen K=8 weer te geven, maar ook K=3 en K=5. Zodoende wordt beter inzichtelijk welke populaties het meest van de rest verschillen. Clusters die al bij K=3 apart worden gezet verschillen onderling sterker dan clusters die pas bij K=8 afgesplitst worden. Per figuur wordt ieder individu weergegeven als een smalle verticale lijn. De kleur geeft voor ieder individu aan voor hoeveel procent dat individu in een bepaald cluster past. Elk cluster kent weer zijn eigen kleur. Omdat dit niet altijd even duidelijk leesbaar is zijn de gegevens voor de K=8 situatie ook in percentages weergegeven in tabel 3.3, echter niet per individu, maar per herkomstpopulatie.

Net als in de PCoA-analyse, is in de Structure output bij K=3 duidelijk te zien dat de dataset wordt onderverdeeld in een cluster met dieren uit de Meinweg (Nederland en Duitsland) en de Peel (Cluster 2), een cluster met dieren uit de Roerstreek-Zuid (Cluster 3) en een cluster met dieren uit de andere populaties (Cluster 1). Bij K=5 worden de Meinweg (Cluster 4) en Roerstreek-Zuid (Cluster 5) clusters nog steeds onderscheiden, maar wordt de rest van de data opgedeeld in een cluster met dieren uit de Veluwe en Kop van Limburg (Cluster 2), een cluster met dieren uit onder andere Wallonië, Zuid-Limburg en Botrop (Cluster 1) en een cluster met dieren uit het Leenderbos, Maasduinen, en een deel van Vlaanderen (Cluster 3).

Bij de optimale verdeling in acht clusters wordt duidelijk dat de verschillende eerste clusters nog verder onderverdeeld worden. Zo worden de dieren uit Botrop, de Kop van Limburg en een deel van Duitsland overig samen ingedeeld (Cluster 1), vormen de meeste dieren uit Vlaams-Limburg een cluster (Cluster 2), maar clusteren de dieren uit Vlaams-Limburg Noord samen met Leenderbos, Maasduinen en een deel van de dieren uit Vlaams-Limburg West (Cluster 3). Daarnaast vormen de dieren uit Zuid-Limburg een cluster samen met een deel van de dieren uit Duitsland Overig, Wallonië, Vlaams-Limburg Oost en Vlaams Voeren (Cluster 4). Het grote cluster Meinweg uit de K=3 en K=5 analyses wordt nu gesplitst in een cluster met dieren uit het Duitse deel van de Meinweg, dieren uit het Noord-Brabantse deel van de Peel en een aantal dieren uit Duitsland overig en Wallonië (Cluster 5) en een cluster met dieren uit de Nederlandse Meinweg en het Limburgse deel van de Peel (Cluster 6). Verder blijven de clusters Veluwe (Cluster 7) en Roerstreek-Zuid (Cluster 8) intact.



Figuur 3.5

Resultaten van de Structure analyse met van boven naar beneden de verdeling in respectievelijk drie, vijf of acht clusters. Elk cluster kent zijn eigen kleur. Elke grafiek bestaat uit verticale lijnen die allen onderzochte monsters voorstellen, onderverdeeld naar herkomstpopulatie. Die verticale lijnen bestaan uit één of meerdere kleuren, afhankelijk van de mate waarin een individu verwant is tot een bepaald cluster.

Tabel 3.3

Samenvatting van de resultaten van een Bayesian clusteranalyse met het programma Structure voor $K=8$ genetische clusters. Per deelpopulatie is voor de clusters 1-8 het percentage toewijzing weergegeven. Daarnaast zijn de zes zwervers in deze tabel opgenomen (a-f). Grijs en Vet gemarkeerde cellen zijn cluster(s) waarvoor de deelpopulatie karakteristiek is. De percentages zijn voor iedere populatie en voor de zwervers zo genomen dat de som van alle clusters groter is dan 0,60 (60%).

Populatie	Genetisch cluster								Consensus cluster
	1	2	3	4	5	6	7	8	
D-Botrop	0.695	0.012	0.026	0.135	0.072	0.009	0.014	0.037	1
D-Meinweg	0.035	0.013	0.005	0.040	0.707	0.165	0.019	0.016	5
D-Overig	0.156	0.023	0.049	0.219	0.313	0.070	0.068	0.102	1,4,5
Kop van Limburg	0.909	0.006	0.007	0.009	0.026	0.016	0.017	0.010	1
Leenderbos	0.009	0.010	0.953	0.007	0.007	0.004	0.006	0.004	3
Maasduinen	0.009	0.004	0.951	0.007	0.006	0.006	0.011	0.006	3
NL-Meinweg	0.011	0.007	0.006	0.014	0.018	0.858	0.015	0.071	6
Peel	0.014	0.009	0.006	0.097	0.299	0.479	0.006	0.091	5,6
Roerstreek-Zuid	0.007	0.006	0.004	0.031	0.019	0.111	0.008	0.814	8
Veluwe	0.016	0.006	0.006	0.016	0.011	0.011	0.920	0.014	7
VL Noord	0.026	0.142	0.642	0.090	0.038	0.016	0.035	0.010	3
VL Oost	0.104	0.155	0.023	0.493	0.113	0.010	0.082	0.020	2,4
VL West	0.029	0.588	0.129	0.088	0.072	0.045	0.009	0.039	2,3
Vlaams Voeren	0.203	0.392	0.007	0.259	0.089	0.014	0.013	0.022	2,4
Wallonië	0.075	0.028	0.032	0.183	0.527	0.036	0.029	0.089	4,5
Zuid-Limburg	0.016	0.009	0.007	0.785	0.029	0.059	0.016	0.079	4
Zwerver a	0.082	0.011	0.153	0.374	0.108	0.118	0.010	0.145	3,4,8
Zwerver b	0.129	0.017	0.133	0.357	0.048	0.077	0.011	0.228	3,4,8
Zwerver c	0.009	0.034	0.012	0.426	0.026	0.101	0.005	0.388	4,8
Zwerver d	0.012	0.004	0.944	0.014	0.005	0.007	0.006	0.008	3
Zwerver e	0.009	0.003	0.011	0.019	0.005	0.003	0.941	0.009	7
Zwerver f	0.000	0.000	0.039	0.000	0.018	0.931	0.007	0.003	6

Genetische differentiatie

De genetische differentiatie tussen de bemonsterde populaties is terug te vinden in tabel 3.4. Hieruit blijkt dat een aantal verzamelpopulaties nauw verwant zijn (lage F_{st} waarden) zoals de Duitse en Nederlandse Meinweg ($F_{st}=0,05$), de Nederlandse Meinweg en de Peel ($F_{st}=0,04$), en de Duitse Meinweg en de Peel ($F_{st}=0,05$) maar ook Duitsland Overig met Wallonië ($F_{st}=0,01$), Zuid-Limburg ($F_{st}=0,03$) en Vlaams-Limburg Oost ($F_{st}=0,05$), Zuid-Limburg en Wallonië onderling ($F_{st}=0,04$) en Vlaams-Limburg Oost met Vlaams Voeren ($F_{st}=0,05$). Daarnaast is de grootste genetische differentiatie gevonden tussen de verzamelpopulaties Maasduinen en Peel ($F_{st}=0,25$). Ook valt op dat de populaties Veluwe, Leenderbos en Maasduinen elk ten opzichte van een groot aantal populaties sterk verschillen ($F_{st} \geq 0,15$). Deze populaties zijn dus genetisch gezien erg verschillend van de rest. Het tegenovergestelde vinden we terug in de verzamelpopulaties Vlaams-Limburg Noord, Duitsland-Overig en Wallonië, welke alle drie geen enkele F_{st} waarde hebben van $\geq 0,15$.

Tabel 3.4

Paarsgewijze genetische differentiatie (F_{st}) van de verschillende verzamelpopulaties (F_{st} waarden staan onder de diagonaal). Achter de populatienamen (eerste kolom) staat tussen haken het aantal keer dat een populatie een grote genetische differentiatie kent ten opzichte van de andere populaties ($F_{st} \geq 0,15$).

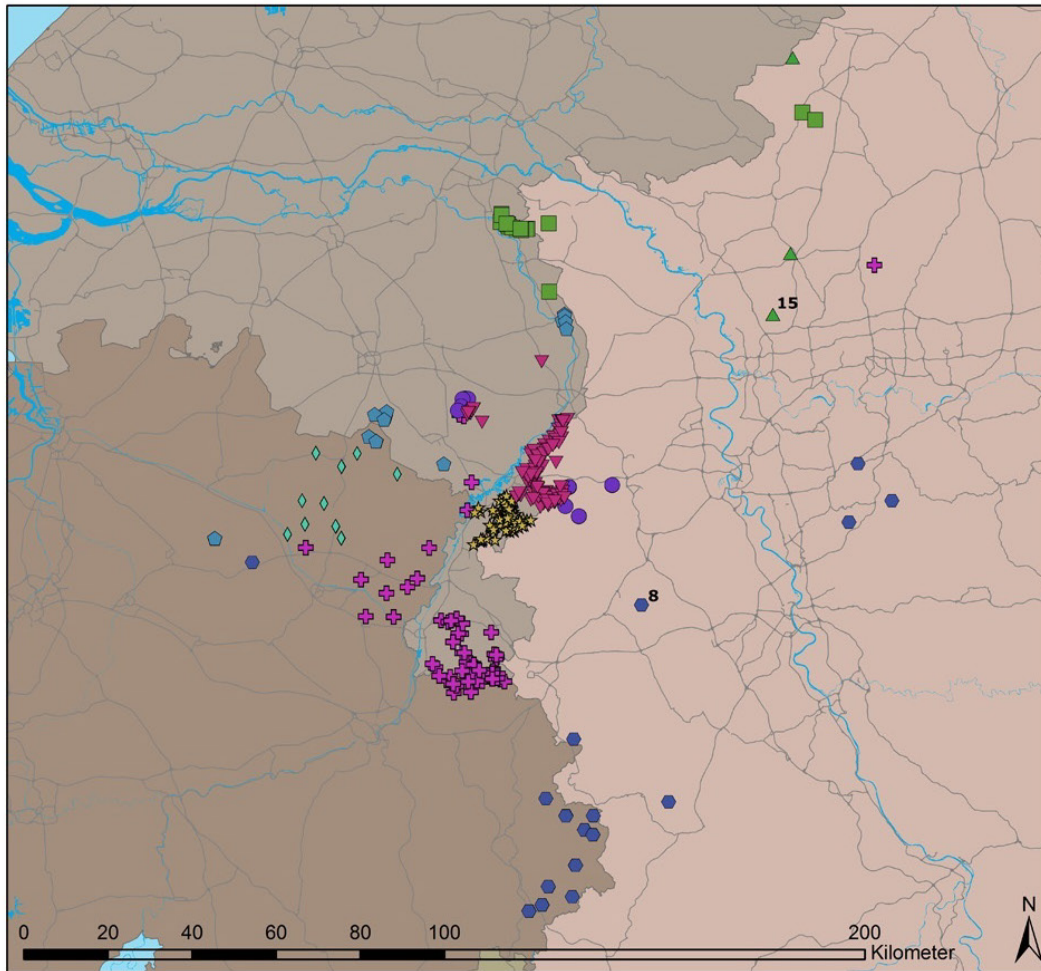
$F_{st} \leq 0.05$	Geringe differentiatie
$0.05 < F_{st} \leq 0.15$	Duidelijke differentiatie
$0.15 < F_{st} \leq 0.25$	Grote differentiatie

	D-Botrop	D-Meinweg	D-Overig	Kop van Limburg	Leenderbos	Maasduinen	NL-Meinweg	Peel	Roerstreek-Zuid	Veluwe	VL Noord	VL Oost	Vlaams Voeren	VL West	Wallonië	Zuid-Limburg
D-Botrop (2)																
D-Meinweg (3)	0.12															
D-Overig (0)	0.07	0.06														
Kop van Limburg (2)	0.15	0.1	0.06													
Leenderbos (9)	0.15	0.17	0.12	0.17												
Maasduinen (11)	0.24	0.21	0.14	0.17	0.14											
NL-Meinweg (3)	0.13	0.05	0.06	0.12	0.17	0.19										
Peel (4)	0.12	0.05	0.08	0.15	0.19	0.25	0.04									
Roerstreek-Zuid (3)	0.14	0.11	0.06	0.13	0.19	0.23	0.07	0.09								
Veluwe (9)	0.2	0.16	0.09	0.12	0.18	0.2	0.16	0.21	0.18							
VL Noord (0)	0.12	0.1	0.06	0.1	0.09	0.11	0.1	0.13	0.13	0.12						
VL Oost (3)	0.13	0.13	0.05	0.14	0.17	0.17	0.14	0.17	0.15	0.13	0.08					
Vlaams Voeren (3)	0.09	0.12	0.06	0.15	0.16	0.2	0.13	0.15	0.14	0.16	0.08	0.05				
VL West (2)	0.12	0.11	0.06	0.13	0.13	0.19	0.11	0.13	0.11	0.16	0.06	0.09	0.06			
Wallonië (0)	0.07	0.06	0.01	0.08	0.11	0.14	0.07	0.08	0.07	0.11	0.07	0.06	0.06	0.07		
Zuid-Limburg (2)	0.09	0.1	0.03	0.13	0.16	0.19	0.09	0.1	0.08	0.13	0.09	0.07	0.06	0.09	0.04	

3.3.3 Structuur gevonden met Geneland

De ruwe uitkomsten van het programma Geneland (Guillot et al., 2005) zijn te vinden in bijlage 1. Hieruit blijkt dat de analyse in Geneland resulteert in een optimaal aantal clusters van $K=9$, al is de betrouwbaarheidsscore voor een model met acht clusters niet veel minder hoog. Geografisch is het voornaamste verschil dat bij $K=8$ de gehele Meinweg en Peel samengevoegd worden in één genetisch cluster, terwijl bij $K=9$ dit cluster wordt opgesplitst. Een deel van de dieren uit de Peel clusterd dan samen met de dieren in Nationaal Park de Meinweg, een ander deel clusterd samen met de Duitse Meinweg (op grond van een aantal extra gedeelde allelen). De verdeling van de verschillende monsters over deze negen clusters is te zien in figuur 3.6. Er zijn een aantal clusters duidelijk terug te vinden zoals bijvoorbeeld het cluster Roerstreek-Zuid, het cluster Maasduinen/Leenderbos/Vlaams-Limburg Noord en het cluster Vlaams Voeren/Zuid-Limburg/Vlaams-Limburg Oost. Daarnaast is duidelijk te zien dat verscheidene Nederlandse populaties verwant zijn aan Duitse populaties zoals de populatie in de Kop van Limburg (geclusterd samen met dieren uit Kleve en Stadtlohn) en de populatie in Zuid-Limburg (geclusterd samen met dieren uit Paderborn en Willebadesse). Verder is het opvallend dat de monsters uit Wallonië, Zuid-Limburg en Vlaams-Limburg West apart clusteren ondanks dat de onderlinge F_{st} -waarden relatief laag zijn.

Overzichtskaart Geneland clusters wilde zwijnen



Legenda

Geneland clusters

- ▲ Botrop
- D-Meinweg - Brabantse Peel
- Kop van Limburg
- ◆ Leenderbos - Vlaams-Limburg Noord - Maasduinen
- ▼ Meinweg - Limburgse Peel
- ★ Roerstreek-Zuid
- ◇ Vlaams-Limburg West
- Wallonie
- ✚ Zuid-Limburg - Vlaams-Limburg Oost - Vlaams Voeren

- | | | |
|---------------|-------------|-------------|
| — Hoofdwegen | ■ België | ■ Luxemburg |
| ■ Binnenwater | ■ Duitsland | ■ Nederland |

Copyright: 2011
 Geneland data: Alterra, Wageningen UR
 Hoofdwegen en Binnenwater: ESRI
 Landen: CSIC, onder Creative Commons License



Figuur 3.6

De verdeling van de verschillende monsters over de negen clusters die zijn gevonden met Geneland. Iedere stip stelt één of meerdere monsters voor. De nummers geven het aantal monsters voor één stip weer, als dit meer dan vijf monsters zijn.

3.3.4 Verschil tussen de Structure- en Geneland analyse

Hoewel de algoritmen achter Structure en Geneland veel op elkaar lijken geven beide programma's toch andere resultaten. Dit is voornamelijk te wijten aan het feit dat Geneland een extra factor meeneemt voor het afbakenen van clusters: de coördinaten van de vindplaats van de monsters. Het is niet ongebruikelijk dat Geneland daarom regelmatig meer genetische (sub)structuur vindt dan Structure (Coulon et al., 2006). Ook in deze studie is er met Geneland één cluster meer gevonden dan met Structure, ondanks dat de Veluwe-populatie niet meegenomen is (in feite zijn er dus twee extra clusters gevonden). Daarnaast zijn de clusters duidelijker geografisch geclusterd. De resultaten van Geneland zijn daardoor waarschijnlijk geschikter voor ecologische interpretatie (Guillot et al., 2005).

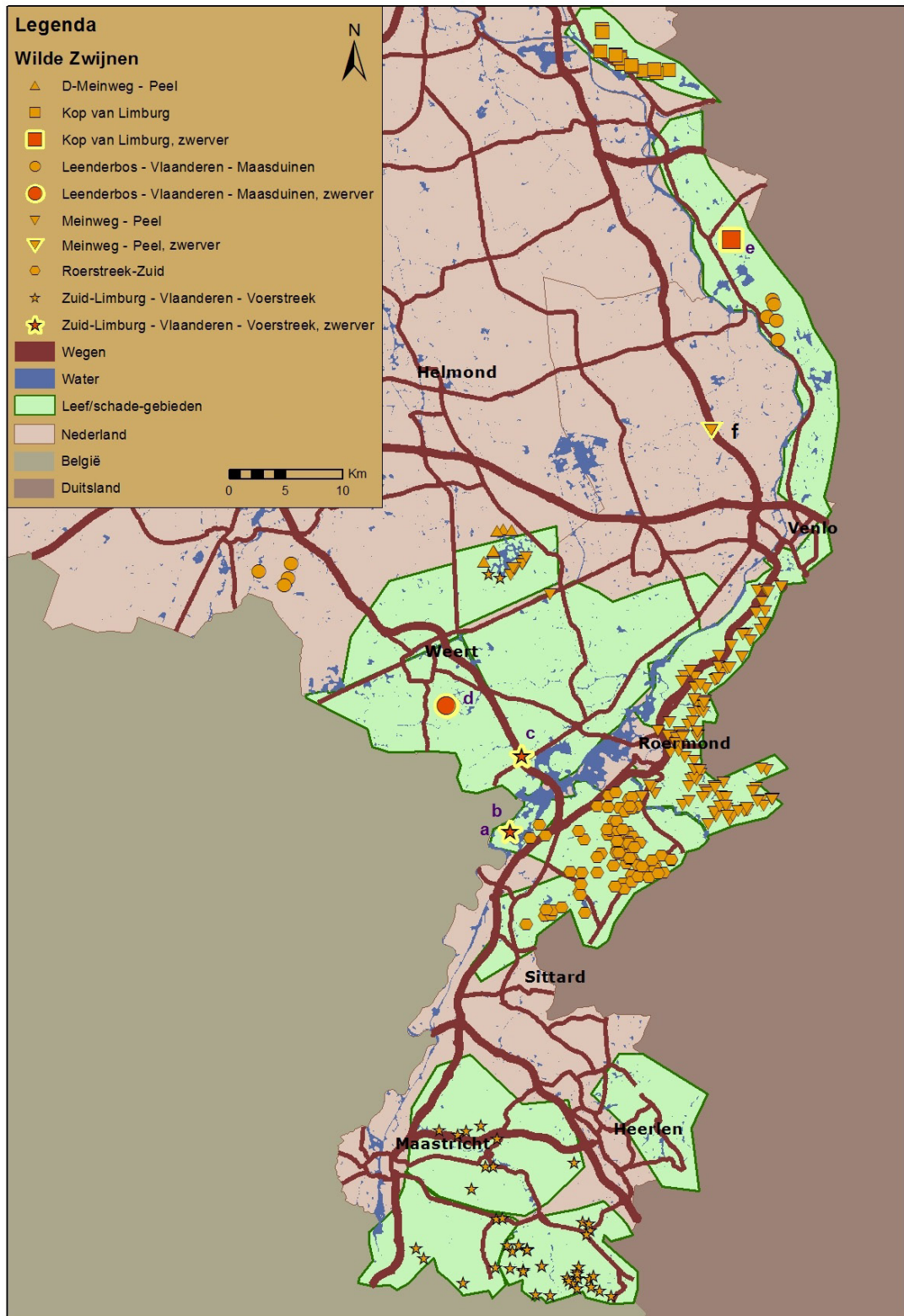
3.3.5 Herkomstbepaling van enkele zwervers

Door hun vindplaats buiten één van de deelpopulaties werden zes zwervers (*a* t/m *f*; zie figuur 3.2) niet aan een deelpopulatie toegewezen, maar apart geanalyseerd. Met clusteranalyse kan inzicht in hun mogelijke herkomstpopulatie worden verkregen. In tabel 3.3 zijn de resultaten van Structure weergegeven, voor zowel de deelpopulaties als de zes losse individuen (*a* t/m *f*). De resultaten van Geneland zijn zichtbaar in figuur 3.7. Zwervers *a*, *b* en *c* kunnen volgens Structure niet eenduidig aan één cluster worden toegewezen, maar behoren ofwel tot het cluster Roerstreek-Zuid, ofwel tot het cluster Zuid-Limburg/Voerstreek/Vlaams-Limburg. Beide opties zijn goed mogelijk. De populatie Roerstreek-Zuid ligt direct ten oosten van de vindplaats van de zwervers, maar direct ten westen van de zwervers ligt de populatie Vlaams-Limburg Oost. Kortom, we kunnen hier te maken hebben met dieren die vanuit Roerstreek-Zuid afkomstig zijn, maar mogelijk ook met voorbeelden van migratie vanuit Vlaams-Limburg naar ons land (zie ook paragraaf 4.6 en 5.3). Geneland suggereert voor alle drie zwervers een afkomst uit Vlaams-Limburg (zie figuur 3.7).

Zwerver *d* lijkt afkomstig uit het Leenderbos. Zwerver *e* is volgens Structure verwant aan zwijnen op de Veluwe, en volgens Geneland (waar de Veluwe niet in is meegenomen) met zwijnen uit de Kop van Limburg. De populatie in de Kop van Limburg is echter mogelijk (deels) van Veluwse origine (zie paragraaf 4.1). Een herkomst van zwerver *e* uit de Kop van Limburg is dus waarschijnlijk.

Zwerver *f* wordt toebedeeld aan het nabij gelegen cluster Meinweg/Limburgse Peel en is dus naar alle waarschijnlijkheid afkomstig uit die populatie.

In alle gevallen lijkt sprake van dispersie vanuit een nabij gelegen populatie.



Figuur 3.7

De verdeling van de vijf zwervers over de diverse genetische clusters zoals vastgesteld via Geneland. Clusters zijn aangegeven door middel van verschillende symbolen. Symbolen van zwervers hebben een gele omlijning en zijn voorzien van een letter (a-f).

4 Resultaten en discussie: deelpopulaties

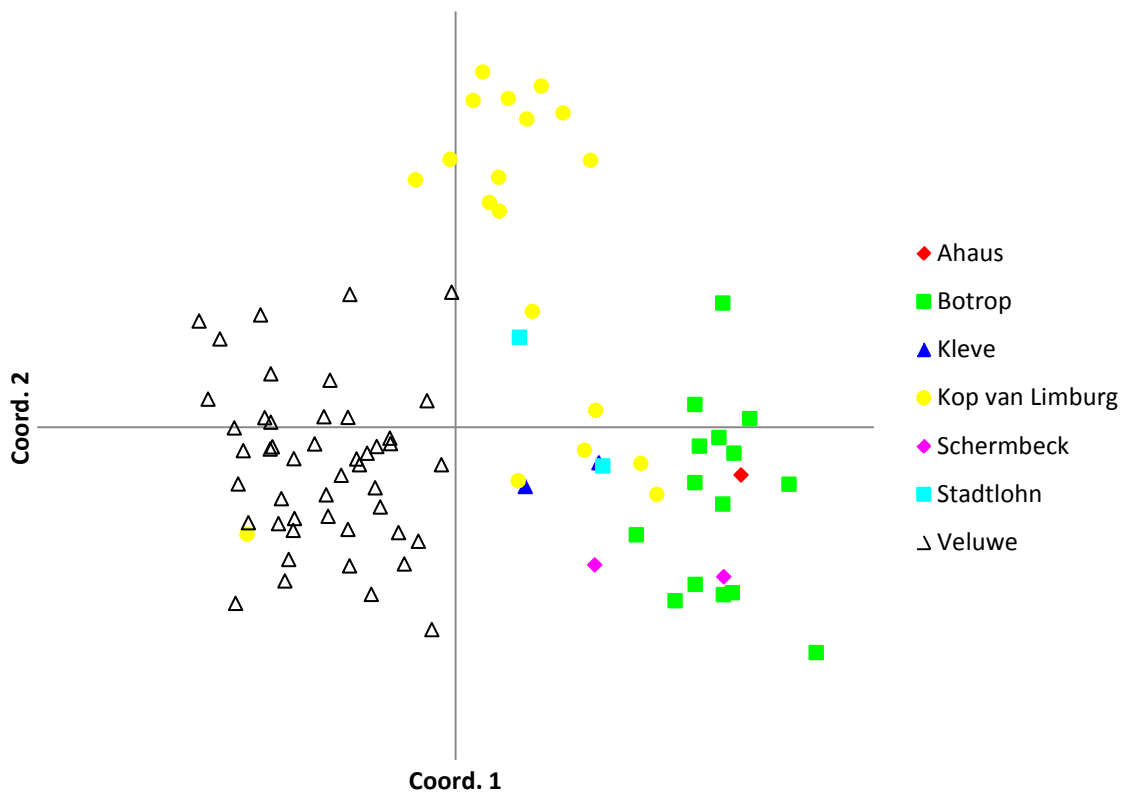
Om de invloed van het landschap op de genetische structuur van de wilde zwijnen populatie te analyseren en om een beeld te krijgen van de onderlinge verhoudingen tussen de verschillende populaties is het noodzakelijk om naar de genetische structuur te kijken op een lokaal niveau. In figuur 3.1 wordt duidelijk dat de zwijnen meestal geconcentreerd in bepaalde gebieden geschoten zijn. Veel van deze groepjes worden apart geclusterd door de clusteranalyses, dat betekent dat deze groepjes in Hardy-Weinberg evenwicht zijn en dus een zelfstandige populatie vormen. Dit geldt voor dieren uit de Roerstreek-Zuid, dieren uit de Meinweg met aangrenzend het gebied bij Beesel/Venlo en dieren uit de Maasduinen. Andere populaties lijken echter nog steeds met anderen in contact te staan. Om de details per deelgebied te kunnen analyseren en bespreken worden ze hier apart besproken in dezelfde volgorde als in 2.1.1. Op basis van Akkermans (2010), het Faunabeheerplan 2010-2015 en enkele toelichtingen van betrokkenen is in enkele gevallen een reconstructie opgesteld op basis waarvan, samen met de genetische data, een mogelijke afkomst kan worden verklaard. Hierbij is bij de analyse aangenomen dat er geen fouten zijn gemaakt bij de administratie van de herkomstlocatie van de monsters.

4.1 Kop van Limburg

Qua paarsgewijze F_{st} waarden is de populatie het meest verwant aan Duitsland-overig en Wallonië (respectievelijke $F_{st}=0,06$ en $0,08$; tabel 3.4). Zowel in de Structure als in de Geneland analyse wordt de populatie geclusterd met dieren uit Duitsland. In Geneland worden ze geclusterd met zowel de dieren uit Kleve als de dieren uit Stadtlohn en door Structure worden ze daarnaast ook samen geclusterd met de dieren uit Botrop, Ahaus en Schermbeck. Er lijkt echter toch ook een verband te zijn met de populatie op de Veluwe. De populatie uit de Kop van Limburg heeft een uniek allel voor locus S0097 (figuur 3.3), maar daarnaast voor datzelfde locus ook een allel dat uniek is voor de combinatie Kop van Limburg-Veluwe. Verder clusteren de twee populaties gezamenlijk in de Structure analyse voor $K=5$ (figuur 3.5).

Samen met de hoge genetische variatie ($H_e=0,47$; tabel 3.2) suggereert dit patroon een gemengde herkomst voor de zwijnen in de Kop van Limburg. De overeenkomsten met Duitse dieren is te verklaren door natuurlijke immigratie vanuit Duitsland. Een Duitse afkomst werd ook vermoed door de beheerders. Incidenteel weten zwijnen vanuit het Duitse Reichswald Nederland binnen te komen. De relatief hoge genetische variatie in de kop van Limburg ($H_e=0,47$; tabel 3.2) duidt erop dat er waarschijnlijk nog regelmatig genetische uitwisseling plaatsvindt tussen de wilde zwijnen in de Kop van Limburg en de dieren net over de grens met Duitsland. De overeenkomst met de Veluwse zwijnen is te verklaren door het feit dat in het gebied lange tijd dieren van Veluwse origine werden gehouden binnen een wildkerend raster (bij zorgcentrum Dekkerswald, Nijmegen). Dit wildraster is later opgeheven, en mogelijk zijn daarna gehouden dieren richting de Kop van Limburg getrokken (persoonlijke communicatie, dhr. C. Kouters, in opdracht van de provincie Limburg verantwoordelijke voor monsternamen voor de veterinaire screening van wilde zwijnen in Limburg).

Om de onderlinge relaties verder te onderzoeken is een aparte PCoA uitgevoerd met alleen de dieren uit de bovengenoemde Duitse verzamelplaatsen en de dieren uit de Kop van Limburg en de Veluwe (figuur 4.1). In deze PCoA valt op dat er nauwelijks overlap blijkt te zijn tussen de Kop van Limburg en dieren uit Botrop, Ahaus en Schermbeck en maar minimale overlap met de monsters uit Kleve en Stadtlohn. Er is echter ook nauwelijks overlap tussen de Kop van Limburg en de Veluwe. Het lijkt er dan ook op dat deze populatie zich zelfstandig ontwikkelt, maar een oorsprong kent in zowel Reichswald als Dekkerswald.



Figuur 4.1

Principale coördinaten-analyse (PCoA) van de monsters uit de Kop van Limburg en de aangrenzende Duitse populaties. Hierbij valt op dat er wel wat overlap is tussen de populaties, maar ook dat een deel van de Kop van Limburg populatie apart clustert van de rest.

4.2 Maasduinen

De populatie uit de Maasduinen heeft een relatief lage genetische variatie ($H_e=0,39$; tabel 3.2), maar een sterk negatieve fixatie index ($F = -0,11$, tabel 3.2). Dit kan optreden als dieren van verschillende oorsprong (verschillende genetische achtergrond) samenkomen en nakomelingen produceren.

Ook werd een uniek allel gevonden voor locus Sw122 (figuur 3.3), en een allel dat uniek is voor de combinatie Maasduinen/Vlaams-Limburg Noord (Locus Sw632). Dit is opvallend, aangezien slechts weinig (acht) monsters verzameld zijn. Verder valt op dat de Maasduinen-populatie een grote tot zeer grote differentiatie heeft ($F_{st} \geq 0,15$) met elf andere deelpopulaties, waaronder de hoogste F_{st} waarde van deze studie (Maasduinen-Peel; $F_{st}=0,25$; tabel 3.4). In de Structure- en Geneland-analyses worden de zwijnen uit de Maasduinen samengevoegd met de dieren uit het Leenderbos en Vlaams-Limburg Noord (figuren 3.5 en 3.6), terwijl deze geografisch gezien relatief ver van elkaar verwijderd liggen. Ook valt op dat de paarsgewijze F_{st} -waarde met de dieren uit de dichtstbijzijnde populatie (Kop van Limburg) hoog is ($F_{st}=0,17$; tabel 3.4).

Dit alles duidt erop dat de populatie wilde zwijnen in de Maasduinen waarschijnlijk niet op natuurlijke wijze is gekoloniseerd (scenario c, figuur 1.2). Een mogelijke bron is een omrasterd particulier jachtveld nabij het vliegveld Weeze, net over de Nederlands-Duitse grens. Dit raster is ten minste in één geval niet zwijnenwerend geweest waarbij dieren hebben kunnen ontsnappen (persoonlijke communicatie, dhr. C. Kouters). Kort daarop

werden enkele zwijnen 4 km verderop in Nederland (Wellerlooi) geschoten. De dieren bleken niet schuw, kleiner qua omvang en qua vachtkleur vooral bruin in tegenstelling tot zwart bij de wilde zwijnen van De Meinweg. Om een onnatuurlijke herkomst hard te maken, zullen er meer monsters verzameld moeten worden net over de grens met Duitsland, aangezien die populatie nu minimaal bemonsterd is.

4.3 Meinweg, Regio Roermond-Venlo

Het boscomplex aan de Duitse zijde van de grens waar de Nederlandse Meinweg deel van uitmaakt loopt door tot de hoogte van Venlo en bestaat onder andere uit het Elmpter Schwalmbruch en het Brachterwald. Rond 2000 werden er zwijnenprenten waargenomen langs de Maas in Beesel en in de velden en akkers tussen Swalmen en Reuver. Deze zwijnen kwamen waarschijnlijk uit het Duitse gedeelte van de Meinweg, aangezien de A73 toen nog niet gerealiseerd was. Van hieruit trokken de zwijnen naar Beesel waarna ze de Maas moesten overzwemmen. Zoals beschreven in hoofdstuk 3, zijn alle wilde zwijnen die zijn geschoten tussen de Meinweg en Venlo gegroepeerd tot één deelpopulatie, genaamd Nederlandse Meinweg. Deze deelpopulatie heeft een relatief hoge genetische variatie ($H_e=0,47$; tabel 3.2) en één uniek allel voor locus S0026 (figuur 3.3). Dit unieke allel heeft echter een hele lage frequentie (1%). Hieruit kan worden geconcludeerd dat de Regio Roermond-Venlo inderdaad gekoloniseerd is vanuit de Meinweg. In figuur 4.2 te zien dat sommige individuen net over de grens met Duitsland aan het cluster van de Nederlandse Meinweg worden toebedeeld. Het is waarschijnlijk dat de populatie in de regio Roermond-Venlo nog steeds uitwisseling kent met zowel de Nederlandse Meinweg als, direct of indirect, met de Duitse Meinweg.

De Nederlandse Meinweg-populatie is duidelijk verwant aan de Duitse Meinweg-populatie ($F_{st}=0,05$). Toch clusteren de beide groepen niet samen in Geneland. Reden hiervoor is de aanwezigheid van een aantal allelen bij de Nederlandse monsters die niet voorkwamen bij de Duitse monsters, en andersom. Het steekproef van het aantal monsters uit de Duitse Meinweg was laag, en daardoor is het goed mogelijk dat een aantal allelen die in het Nederlandse gedeelte zijn aangetroffen zijn gemist. Het Nederlandse gedeelte is echter zeer ruim bemonsterd, en het lijkt dan ook waarschijnlijk dat in het Nederlandse gedeelte daadwerkelijk een aantal allelen ontbreken die wel in het Duitse deel voorkomen. Dit suggereert dat de onderlinge uitwisseling niet geheel optimaal is of dat er toch sprake is van enige differentiatie van Wilde zwijnen in de grensstreek in vergelijking met zwijnen iets verder van de grens in Duitsland.

De paarsgewijze F_{st} -waarde met de Peel is laag ($F_{st}=0,04$). Dit komt terug in de Structure- en Geneland-analyses, waar de dieren uit de Nederlandse Meinweg-populatie een eigen cluster vormen samen met dieren uit de Peel. De paarsgewijze F_{st} waarde met de populatie uit de Maasduinen is opvallend hoog ($F_{st}=0,19$).

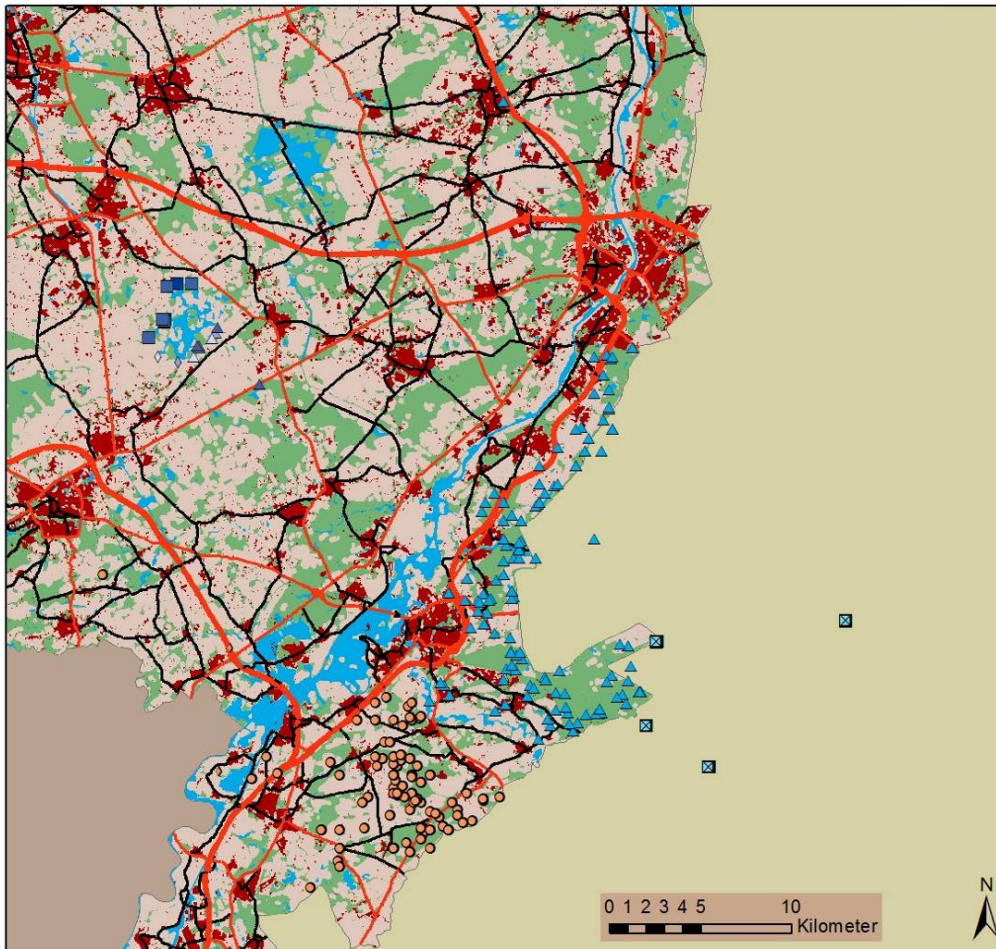
4.4 Regio Peel

De wilde zwijnen uit de Peel hebben geen enkel uniek allel (figuur 3.3), en relatief lage paarsgewijze F_{st} -waarden met de populatie Duitse Meinweg ($F_{st}=0,05$) en de Nederlandse Meinweg ($F_{st}=0,04$). Dit komt terug in de Structure en Geneland analyses, waarbij de dieren in de Peel worden geclusterd met de Nederlandse en/of het Duitse deel van de Meinweg. Het is dan ook zeer aannemelijk dat de oorsprong van de Peel-populatie ligt in het Meinweg-gebied. Het recente ontstaan door migratie vanuit een andere populatie verklaart ook de relatief lage genetische variatie ($H_e=0,39$; tabel 3.2) van de Peel-populatie, via het mechanisme van een founder effect (zoals beschreven in figuur 1.2). De Duitse Meinweg-populatie kent een aantal allelen die in de Nederlandse Meinweg niet voorkomen, maar wel opduiken bij een aantal dieren in de Brabantse Peel. Waarschijnlijk is dus tenminste één individu met dit unieke allel vanuit de Duitse Meinweg naar de Peel gemigreerd. Dit individu kan door toeval, of doordat het Limburgse deel (de Groote Peel) al bezet was, zijn gevestigd in de Brabantse Peel. Lokale voortplanting verklaart vervolgens de aanwezigheid van allelen uit de Duitse Meinweg in meerdere individuen.

In de Geneland analyse worden twee dieren in de Peel toebedeeld aan het cluster van Zuid-Limburg/Voerstreek (figuur 4.2), maar een daadwerkelijke herkomst uit Zuid-Limburg is zeer onzeker. De toewijzing berust niet op een gezamenlijk bezit van duidelijk afwijkende allelen die verder slechts in Vlaams-Limburg Oost of Zuid-Limburg voorkomen. Dat wil zeggen, de toewijzing aan het Zuid-Limburgse cluster is simpelweg te danken aan een aantal allelen dat in hoge frequentie in Zuid-Limburg voorkomt (bijvoorbeeld allel 233 op locus S0097), doch in lagere frequenties ook in andere populaties aanwezig is, waaronder de Meinweg. Een herkomst uit de Meinweg is dan ook even goed mogelijk, en wordt ook ondersteund door de resultaten van Structure. Een immigratie vanuit de Nederlandse en Duitse Meinweg zou overeenstemmen met historische verspreidingsgegevens. Niet lang nadat er zwijnen zijn waargenomen bij de Maas te Beesel zijn er zwijnen waargenomen in de Heldense bossen recht tegenover de oversteekplaats bij Beeselsbroek en de velden richting Heibloem en Nederweert. Ook vanuit geografisch oogpunt is deze kolonisatieroute logisch. De afstand van de Duitse grens tot Nederweert is ongeveer 16 km. In 2003 werd het eerste zwijn bij Nederweert geschoten. Vanaf Nederweert (landgoed Het Kruis) is vervolgens kanaal De Noordervaart overgestoken. Dit kanaal is niet erg breed en kent geen steile beschoeiing zodat het goed overbrugbaar is. Eenmaal aan de overkant is het nog ongeveer 5 km naar de Grootte Peel.

Het is niet ondenkbaar dat de zwijnen in het Limburgse deel van de Peel nog steeds in verbinding staan met de zwijnen uit de Regio Roermond-Venlo, aangezien deze samen worden geclusterd in de verschillende analyses. Hieruit blijkt ook dat de verschillende snelwegen, rivieren en kanalen tussen de Regio Roermond-Venlo en de Peel geen volledige barrière zijn voor wilde zwijnen. De deelpopulatie Peel zou in de toekomst een indirecte verbinding kunnen vormen tussen de populaties in Vlaanderen en Zuid-Limburg enerzijds, en de populatie in de Meinweg-regio anderzijds. In hoofdstuk 5 wordt verder op deze mogelijke kolonisatieroutes ingegaan.

Detailkaart Peel en Meinweg Geneland clusters wilde zwijnen



Legenda

Wilde zwijnen

Meinweg

- ▲ Meinweg, Meinweg - Limburgse Peel

Peel

- Peel, D-Meinweg - Brabantse Peel, 2010
- Peel, D-Meinweg - Brabantse Peel, 2011
- ⊗ D-Meinweg - Brabantse Peel, jaartal onbekend
- ▲ Peel, Meinweg - Limburgse Peel, 2007
- ▲ Peel, Meinweg - Limburgse Peel, 2008
- ▲ Peel, Meinweg - Limburgse Peel, 2009
- ◇ Peel, Zuid-Limburg - Voerstreek, 2007
- ◇ Peel, Zuid-Limburg - Voerstreek, 2008

Overige

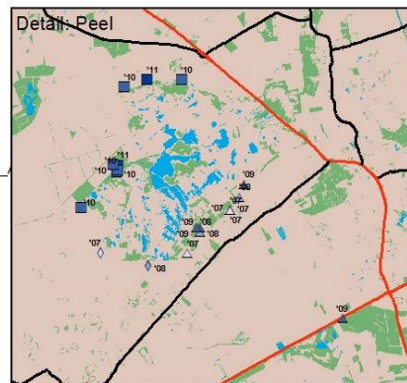
- Roerstreek-Zuid, Roerstreek-Zuid
- Leenderbos, Leenderbos - Vlaanderen - Maasduinen
- ◇ Roerstreek-Zuid, Zuid-Limburg - Voerstreek, 2007
- ◇ Zuid-Limburg, Zuid-Limburg - Voerstreek, 2007

Wegen

- Autosnelweg
- Hoofdweg
- Regionale weg
- BL_GBW_V_Clip_

Land

- Water
- Bos
- België
- Duitsland
- Nederland



Copyright:
2011
Geneland data: Alterra, Wageningen UR
Top10: Provincie Limburg en Provincie Noord-Brabant
Landen: ESRI

Figuur 4.2

Detailkaart van de Geneland clusters D-Meinweg - Grootse Peel en Meinweg - Limburgse Peel, met daarbij verschillende typen landgebruik.

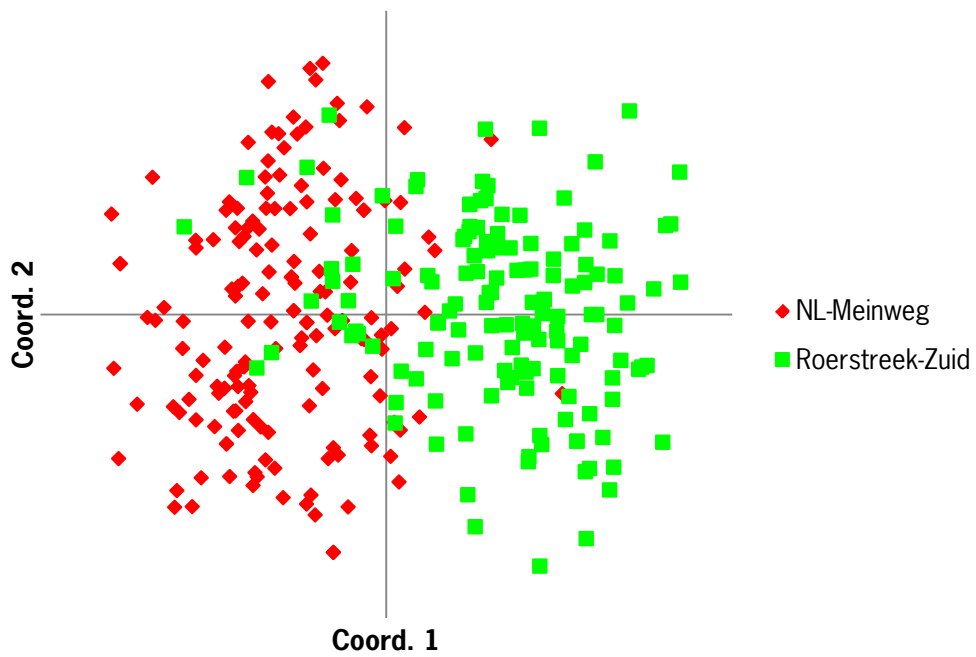
4.5 Roerstreek-zuid

Binnen de kerkdorpen Maria Hoop, Koningsbosch, Montfort en Posterholt ligt een groot bosgebied dat voor het grootste gedeelte in particuliere handen is. In dit bosgebied zijn enkele tientallen hectaren afgezet met een stroomraster. De afgelopen tien jaar heeft zich geleidelijk in dit gebied een populatie zwijnen ontwikkeld, die zich elk jaar meer in de omliggende gebieden wist uit te breiden. De herkomst van deze populatie was onduidelijk. Genoemde opties zijn zowel natuurlijke immigratie, als het kunstmatig inbrengen van dieren. Het vermoeden van een kunstmatige oorsprong is gebaseerd op de bevindingen dat tot zo'n 10 tot 15 jaar geleden in hetzelfde raster veel wilde zwijnen gehouden werden (persoonlijke communicatie, dhr. C. Kouters), die na afkondiging van de 5000 ha regeling zouden zijn verplaatst naar de Veluwe.

De populatie uit de Roerstreek-Zuid heeft een lage genetische variatie ($He=0,40$; tabel 3.2) en heeft geen enkel uniek allel (figuur 3.3). Verder heeft de Roerstreek-Zuid geen opvallend hoge of lage paarsgewijze F_{st} -waarden met andere populaties. Toch wordt de Roerstreek-Zuid al bij $K=3$ apart geclusterd in de Structure-analyse, en blijft dat zo bij $K=8$, en ook in de Geneland-analyse wordt de Roerstreek-Zuid populatie apart geclusterd (figuur 4.4). Deze clustering gebeurt dus op allel frequenties en niet op unieke allelen. Hierdoor is er voor de Roerstreek-Zuid geen duidelijke bronpopulatie aan te wijzen. Omdat het te verwachten is dat de zwijnen uit de Roerstreek-Zuid afkomstig zijn uit de Meinweg, aangezien deze twee gebieden tegen elkaar aan liggen, is er een PCoA uitgevoerd voor deze twee populaties (figuur 4.3). Hierin is een duidelijke scheiding te zien, die aangeeft dat er wel veel verschil is tussen de populaties in allelen-samenstelling. Blijkbaar fungeren beide populaties grotendeels als zelfstandige eenheden, en zijn allel-frequenties daardoor sterk gaan verschillen. Dit is mogelijk te verklaren doordat de rivier De Roer een barrière vormt voor uitwisseling. Er zijn echter waarnemingen dat wilde zwijnen de Roer oversteken (persoonlijke communicatie, dhr. C. Kouters). De Geneland-analyse laat zien dat de twee populaties aan weerszijden van de Roer genetisch geheel van elkaar te onderscheiden zijn (figuur 4.4). Toch lijkt het in de Structure-analyse wel zo te zijn dat er enige uitwisseling is geweest van zwijnen tussen de Meinweg en de Roerstreek-Zuid (figuur 3.5) al komt dat in de Geneland-analyse niet naar voren (figuur 4.4).

Behalve een verschil in allelcombinaties, zijn er in de Roerstreek-Zuid twee allelen gevonden die niet voorkomen in de monsters uit de Nederlandse en Duitse Meinweg (allel 169 op locus Sw632 en allel 119 op locus Sw122; zie figuur 3.3). Een verklaring voor dit verschil zou kunnen zijn dat er ooit enkele dieren vanuit de Meinweg zich in de Roerstreek hebben gevestigd, en dat deze dieren door toeval over enkele allelen beschikken die, wederom door toeval, niet zijn waargenomen in de steekproef van bemonsterde dieren uit de Meinweg. Dit is een mogelijk, maar een onwaarschijnlijk scenario, aangezien er een groot aantal dieren uit de Meinweg bemonsterd is (162 uit de Nederlandse en 27 uit de Duitse Meinweg). Op deze steekproefgrootte zou men verwachten dat zelfs zeldzame allelen gedetecteerd zouden worden. Een andere optie is immigratie vanuit populaties elders in Duitsland, waar de twee in de Meinweg ontbrekende allelen wel algemener voorkomen (zie figuur 3.3; populatie Duitsland-Overig). Ook dit is echter niet erg waarschijnlijk, aangezien de bosachtige regio van Roerstreek en Meinweg aan de oostzijde omsloten wordt door een brede strook ongeschikte habitat, dat grotendeels dicht bebouwd is (Ruhrgebied; zie figuur 3.1B).

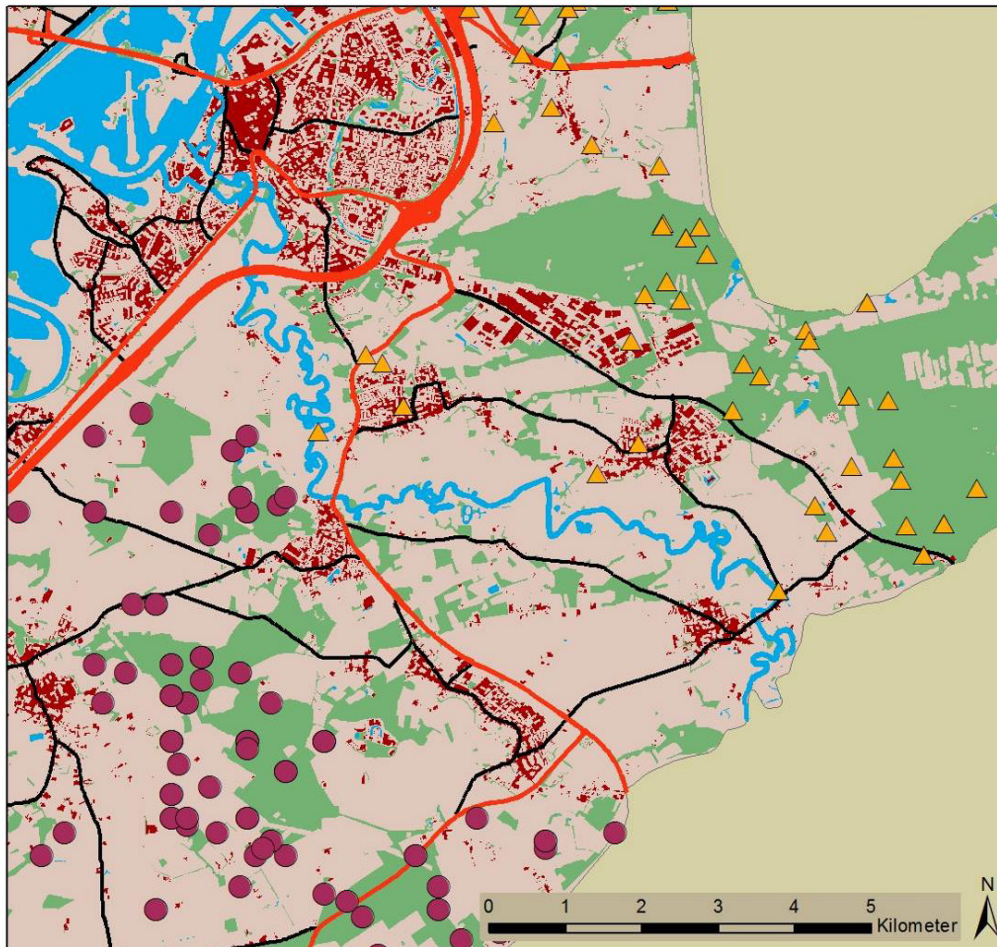
Al met al lijkt het weinig aannemelijk dat de twee afwijkende allelen in Roerstreek-Zuid door een natuurlijk oorzaak zijn ingebracht. Een (deels) kunstmatige inbreng van wilde zwijnen in deze populatie is dan ook niet uit te sluiten.



Figuur 4.3

Principale coördinaten-analyse (PCoA) van de monsters uit het Nederlandse deel van de Meinweg en uit de Roerstreek-Zuid. Duidelijk is te zien dat er nauwelijks overlap bestaat tussen de twee buurpopulaties.

Detailkaart grens Roerstreek-zuid en Meinweg Geneland clusters



Legenda

Wilde zwijnen

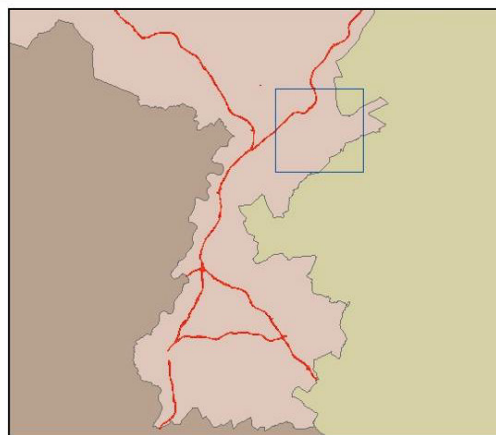
- ▲ Meinweg - Limburgse Peel
- Roerstreek-Zuid

Wegen

- Autosnelweg
- Hoofdweg
- Regionale weg
- Bos
- Water
- Bebouwing

Land

- België
- Duitsland
- Nederland



Copyright:
2011
Geneland data: Alterra, Wageningen UR
Top10: Provincie Limburg en Provincie Noord-Brabant
Landen: ESRI

Figuur 4.4

Detailkaart van de Geneland clusters Roerstreek-Zuid en Meinweg - Limburgse Peel, met daarbij verschillende typen landgebruik.

4.6 Zuid-Limburg, Vlaanderen en Wallonië

Zuid-Limburg is waarschijnlijk in korte tijd gekoloniseerd. Hoewel pas in 2003 het eerste wilde zwijn werd geschoten vlak bij het drielanden punt, lijkt de vestigingsfase inmiddels zelfs te zijn afgesloten en lijkt in veel delen van Zuid-Limburg al sprake van standwild (Groot Bruinderink et al., 2011).

Waarnemingen duiden erop dat de meest waarschijnlijke oorsprong van de zwijnen in Zuid-Limburg ligt in Vlaams Voeren en Wallonië. Langs de hele zuidgrens van Zuid-Limburg vindt instroom van Wilde zwijnen plaats. De bos- en natuurgebieden tussen het Geul- en Gulpdal lijken de hoofdadere te zijn, evenals de bos- en natuurgebieden bij Sint Geertruid. Vooral de eerste voedt het gehele gebied vanaf Gulpen - Valkenburg - Meersen. Bos- en natuur is totaal verweven met landbouwkundig grondgebruik. Landbouwgronden zijn alom aanwezig en overal benutbaar. In het uiterste zuiden liggen rond Vaals de grotere boscomplexen. Vanuit de Akense bossen zwermen ze naar bossen bij Vijlen en Voeren, om vervolgens omhoog de provincie in te lopen, van Vaals tot Maastricht.

De genetische data bevestigen deze immigratieroute. De populatie heeft relatief lage paarsgewijze Fst-waarden met de populaties Duitsland-overig en Wallonië (tabel 3.4). Dit komt terug in de Structure-analyse waarbij de dieren uit Zuid-Limburg samen worden geclusterd met een deel van de dieren uit de Voerstreek, een deel van de dieren uit Vlaams-Limburg Oost, een deel van de dieren uit Wallonië en een deel van de dieren uit Duitsland overig (figuur 3.5). In de Geneland-analyse valt Zuid-Limburg samen met de zwijnen uit de Voerstreek en Vlaams-Limburg Oost (figuur 3.6). Het lijkt er dus op dat de Zuid-Limburgse zwijnen via de Voerstreek en via Vlaams Limburg ons land zijn binnengekomen (Akkermans, 2010), en dat de zwijnen in deze regio's zelfs één populatie vormen.

Zuid-Limburg staat dus in verbinding met Wallonië en Duitsland, maar waarschijnlijk vooral via zogenaamde stepping-stone migratie (figuur 1.2B) in plaats van lange-afstandsmigratie rechtstreeks vanuit Wallonië. Dit verklaart waarom Wallonië en Zuid-Limburg in de beide structuuranalyses niet duidelijk samen clusteren. Zowel Structure als Geneland kan namelijk niet goed omgaan met een patroon waarbij met toenemende geografische afstand de genetische verschillen geleidelijk verder oplopen (isolation by distance; Frantz et al., 2009). In dergelijke gevallen trekt de software een kunstmatige grens in deze gradiënt, zonder dat een duidelijke barrière aanwezig is. Frantz et al. (2009) vonden hetzelfde effect bij een wilde zwijnenpopulatie in Luxemburg en de aangrenzende delen van Wallonië en Duitsland, die door zowel Structure als Geneland werd opgesplitst in deelpopulaties zonder dat daarvoor een natuurlijke grondslag aanwijsbaar was.

De populatie uit Zuid-Limburg heeft een relatief hoge genetische variatie ($Ar=3,55$; $He=0,49$; tabel 3.2) en geen unieke allelen (figuur 3.3). Dit is goed te verklaren door de herkomst uit een breed achterland met grote, genetische diverse populaties. Dit geeft goede hoop voor de genetische status van de Zuid-Limburgse zwijnen in de toekomst.

4.7 Leenderbos

Van de één op de andere dag werden in februari 2008 in het Leenderbos ongeveer 40 zwijnen waargenomen. Het waren deels jonge, opvallend tamme dieren. Hoewel gewinning van zwijnen aan mensen vaker voorkomt, meldden betrokken handhavers in dit geval te vermoeden dat het gaat om gehouden dieren die nabij de grens zijn losgelaten, (persoonlijke communicatie, dhr. H. Leijssen, Politie Brabant-Zuidoost).

De genetische data bevestigen het vermoeden van een link tussen de populatie in Leenderbos en in het noorden van Vlaams-Limburg. De populatie heeft vier allelen die uniek zijn voor de combinatie Leenderbos - Vlaams-Limburg Noord (figuur 3.3). Ook wordt in beide clusteranalyses de Leenderbos-populatie geclusterd samen met Vlaams-Limburg Noord. Hieruit kan geconcludeerd worden dat de populatie in het Leenderbos en de populatie Vlaanderen onbepaald, net over de grens in Vlaanderen, een gezamenlijke herkomstpopulatie hebben.

Ook een onnatuurlijke oorsprong lijkt aannemelijk op basis van de genetische data. De Leenderbos-populatie heeft twee unieke allelen, en samen met Vlaams-Limburg Noord nog eens vier unieke allelen ten opzichte van de rest van de dataset. Dit is uitzonderlijk hoog. Eén van deze unieke allelen, het allel 243 van locus S0097, werd in een studie van Frantz et al. (2009) gevonden in een populatie waarvan werd vermoed dat er tien jaar eerder illegale uitzet had plaatsgevonden.

Hoewel de genetische data zowel het genoemde vermoeden van illegale uitzet als een link met zwijnen net over de grens in België bevestigen, is er niet uit op te maken of de dieren in Nederland of België zijn losgelaten.

5 Conclusies en aanbevelingen

Het wild zwijn is momenteel bezig met een opmars in Limburg en Noord-Brabant, waarbij vragen ontstaan over de verspreiding, herkomst en verwantschap.

Om hierop antwoorden te krijgen werden de volgende deelvragen opgesteld:

Genetische structuur en herkomst

- Wat zijn de genetische kenmerken voor de verschillende deelpopulaties en hoe is hun onderlinge verwantschap?
- Vormen deze zwijnen eigen geïsoleerde populaties of worden ze (nog) gevoed uit andere populaties?
- Wat zijn de bronpopulaties van de wilde zwijnen in de nulstandgebieden?
- Is er een indicatie voor onnatuurlijke kolonisatie in sommige deelgebieden?

Genetische status

- Hoe is het gesteld met de genetische diversiteit van de wilde zwijnen in de Limburg en Noord-Brabant deelpopulaties?

Invloed van het landschap op het dispersievermogen

- Welke landschappelijke elementen vormen genetische barrières voor het wild zwijn?
- Zijn er op basis van genetische kenmerken geografische barrières aan te wijzen die zwijnen niet blijken te overbruggen?

In dit hoofdstuk worden de gevonden antwoorden op deze deelvragen op hoofdlijnen samengevat, en worden aanbevelingen gedaan voor de toekomst.

Op hoofdlijnen tonen de resultaten fraai de kracht van genetische merkers om populatie-structuur en processen als kolonisatie inzichtelijk te maken. In de meeste gevallen kon van een nieuw ontstane populatie conform verwachting de meest nabije bestaande populatie als bronpopulatie worden aangewezen. Qua genetische variatie was de nieuw ontstane populatie een subset van de aanwezige variatie in de bronpopulatie. Daarnaast bleek de genetische variatie van een nieuw ontstane populatie zich te verhouden tot de genetische variatie in omliggende populaties in samenhang met de barrière-werking van het tussenliggende landschap: als de bronpopulatie groot en genetisch variabel is, en uitwisseling nauwelijks belemmerd wordt door geografische barrières, dan blijkt ook de genetische variatie in de nieuw ontstane populatie groter. In enkele gevallen bleek dit niet op te gaan en werden er genetische varianten aangetroffen die niet in de aangrenzende en verwachte bronpopulatie werden aangetroffen. In die gevallen is vrijwel zeker sprake van onnatuurlijke processen.

5.1 Genetische structuur en herkomst van nieuwe deelpopulaties

De verschillende clusteringsanalyses laten zien dat de Limburgse en Noord-Brabantse wilde zwijnen kunnen worden onderverdeeld in zes genetisch duidelijk herkenbare deelpopulaties (figuur 3.6). Dit vormt een duidelijke indicatie dat sprake is van herhaaldelijke dispersie-gebeurtenissen resulterend in min of meer op zichzelf staande populaties.

De dieren in de Regio Roermond-Venlo en in de Peel komen zoals verwacht uit het Nederlands-Duitse Meinweg-gebied. Voor de regio Roermond-Venlo is het uitbreiden van het leefgebied in de Meinweg, en af en toe blijken dieren vanuit dit leefgebied ook de Peel te bereiken. Er is waarschijnlijk nog steeds uitwisseling tussen zwijnen in deze gebieden, aangezien ze in de verschillende analyses samen worden geclusterd. De clustering van een

deel van de zwijnen in de Peel (de dieren in het Brabantse deel) wijst erop dat naast dieren uit de Nederlandse Meinweg, incidenteel ook dieren vanuit het Duitse gedeelte de Peel kunnen bereiken.

De wilde zwijnen uit de Kop van Limburg vormen een eigen cluster samen met een aantal dieren net over de grens met Duitsland. Hieruit blijkt dat deze populatie niet geïsoleerd is en in verbinding staat met de wilde zwijnen van over de grens. Er is echter te weinig materiaal verzameld in de bronpopulatie in Duitsland om met zekerheid te zeggen dat het hier om volledig natuurlijke kolonisatie gaat. Dit wordt versterkt door het clusteren van de dieren uit de Kop van Limburg met dieren uit de Veluwe dat een relict zou kunnen zijn van de populatie zwijnen binnen een inmiddels opgeheven raster bij Dekkerswald.

De deelpopulatie in Zuid-Limburg vormt, zoals blijkt uit de Structure- en Geneland-analyses, één populatie met de wilde zwijnen uit de Voerstreek en Vlaams Limburg. Deze populatie is gekoloniseerd vanuit Wallonië en Duitsland en staat aan de zuidoostkant indirect in verbinding met de grote zwijnenpopulaties in dit achterland. De dieren uit de Roerstreek-Zuid vormen hun eigen deelpopulatie waarvan de oorsprong niet goed te achterhalen is. Het is niet uit te sluiten dat deze dieren vanuit het aangrenzende Meinweg gebied komen, echter een volledig natuurlijke oorsprong lijkt onwaarschijnlijk. Van complete isolatie ten opzichte van de Meinweg lijkt geen sprake, aangezien de analyses een aantal dieren uit de Meinweg aan het cluster Roerstreek-Zuid toebedeelden en andersom. Deze uitwisseling van dieren werd ook al vermoed door de beheerders.

Voor de wilde zwijnen uit de Maasduinen en het Leenderbos is een natuurlijke oorsprong in theorie mogelijk, maar onwaarschijnlijk. Dit is onder andere af te leiden uit het grote aantal unieke allelen en de clustering van deze geografisch ver uit elkaar liggende populaties.

5.2 Genetische diversiteit onder wilde zwijnen in Limburg en Noord-Brabant

De genetische variatie binnen de deelpopulaties van de Limburgse en Noord-Brabantse wilde zwijnen (gemiddeld: $He=0,48$) is relatief laag ten opzichte van de bemonsterde populaties in de omringende landen (tabel 3.2) en in vergelijking met de variatie zoals gevonden in eerder onderzoek voor de Luxemburgse wilde zwijnenpopulatie (gemiddelde $He=0,62$; Frantz et al., 2009). Dit resultaat is in overeenstemming met wat men zou verwachten op basis van het feit dat de meeste Nederlandse deelpopulaties nog slechts klein zijn, en pas recent via stapsgewijze uitbreiding van het verspreidingsgebied zijn ontstaan uit oudere, grotere populaties in Duitsland en Wallonië. Hier is sprake van een *founder effect* (zie ook figuur 1.2), waarbij de migranten die een nieuwe populatie starten slechts een beperkt deel van de variatie van de bronpopulaties vertegenwoordigden. Ook het feit dat de Nederlandse populaties aan de rand van het Europese verspreidingsgebied van het wild zwijn liggen, maakt dat de toestroom van nieuwe genetische varianten relatief beperkt is vergeleken met het Duitse, Waalse en Luxemburgse achterland. Dit verklaart ook de nog altijd relatief lage variatie in de oudere Meinweg-populatie.

De genetische diversiteit van de verschillende deelpopulaties binnen Limburg en Noord-Brabant verschilt aanzienlijk. De Zuid-Limburgse populatie, die in verbinding staat met grotere populaties in België en Duitsland, is inderdaad het meest divers. De Meinweg-populatie is weliswaar ten opzichte van nog oudere buitenlandse populaties relatief arm aan variatie, maar is relatief divers vergeleken met de overige, meer recente deelpopulaties in ons land. De eerdere besproken founder effects verklaren de vrij beperkte variatie in deze nieuwe populaties. Een dergelijke beperkte variatie klinkt zorgelijk. Echter, hoewel de populaties grotendeels als afzonderlijke eenheden lijken te functioneren, vind nog steeds uitwisseling plaats, zowel onderling als met de grotere populaties in het buitenland. Dit blijkt uit de verschillende paarsgewijze F_{st} waarden (tabel 3.4) en de uitkomsten van Structure en Geneland (respectievelijk figuren 3.5 en 3.6). Deze gene flow zal naar verwachting in de toekomst de diversiteit van de nieuwe deelpopulaties versterken, en komt zo de genetische vitaliteit van deze populaties ten goede.

De wilde zwijnen uit de Maasduinen en het Leenderbos kennen relatief een grote genetische variatie. Dit kan worden verklaard omdat ze niet door een founder effect zijn ontstaan, maar vrijwel zeker het resultaat zijn van menselijk handelen. De afwijkende genetische variatie van deze populaties zal naar verwachting geen

bedreiging vormen voor de vitaliteit van deze populaties en ook niet voor bestaande populaties indien daarmee in de toekomst uitwisseling geschiedt. Selectie zal ertoe leiden dat alleen de vitale dieren zich succesvol uitbreiden. Daarnaast bestaat er vrijwel nergens nog een oorspronkelijk wild zwijn aangezien er met deze soort veel is uitgewisseld, gefokt, uitgezet en bijgeplaatst (Goedbloed et al., 2012).

5.3 Koloniseroutes en invloed van het landschap op dispersie van zwijnen

Uit de analyses blijkt dat er maar weinig barrières zijn voor wilde zwijnen. Tegelijkertijd lijkt het erop dat een rivier als de Roer toch een zekere drempel kan vormen voor verspreiding van wilde zwijnen. Weliswaar is hier mogelijk sprake van een onnatuurlijke oorsprong van het verschil aan weerszijden van de rivier, de rivier lijkt wel een drempelwerking te veroorzaken die een aanwezig patroon langer in stand kan houden. Hieronder wordt voor een aantal deelpopulaties beschreven wat de mogelijke koloniseroutes zijn, inclusief mogelijke genetische barrières.

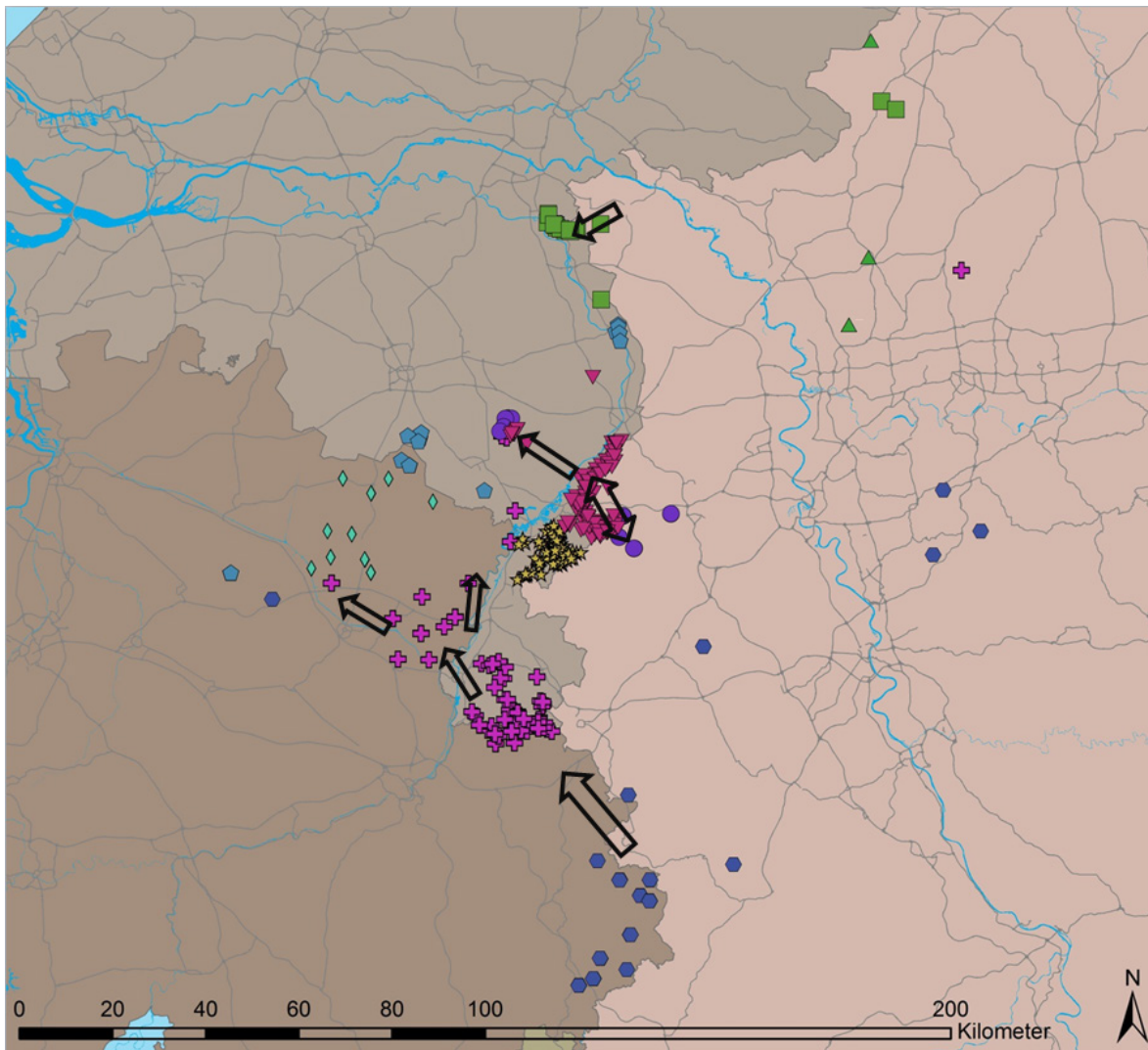
5.3.1 Routes voor kolonisatie van de Peel

Om te achterhalen hoe de Peel vanuit twee verschillende populaties gekoloniseerd is, is er specifiek gekeken naar de verschillende kolonisatie-routes die de wilde zwijnen gebruikt zouden kunnen hebben (figuur 5.1). Hierbij is vooral rekening gehouden met de beschikbaarheid van dekking voor de wilde zwijnen tijdens de kolonisatie, in dit geval vooral aanwezig in de vorm van bos maar in enkele maanden van het jaar ook landbouwgewassen als mais. Een hoofdroute loopt vanuit Nationaal Park de Meinweg rechtstreeks westwaarts naar de Peel. De genetische data suggereren ook migratie vanuit Duitsland. Naast migratie via de Nederlandse Meinweg kunnen zwijnen uit de Duitse Meinweg ook met een omtrekkende beweging ten noorden van Venlo ons land binnentrekken.

In beide gevallen valt het op dat de zwijnen minimaal één snelweg moeten passeren en in veel gevallen ook de Maas. Daarnaast moeten verschillende provinciale wegen en kanalen met steile walbeschoeiing worden overgestoken. Het feit dat het wild zwijn de Peel heeft gekoloniseerd geeft aan dat deze infrastructuur geen volledige barrière vormt voor migrerende zwijnen. Dit maakt het waarschijnlijk dat er een influx zal blijven optreden vanuit de Meinweg.

5.3.2 Route voor kolonisatie van Zuid-Limburg

In overeenkomst met lokale waarnemingen, suggereert de sterke onderlinge genetische overeenkomst dat kolonisatie van Zuid-Limburg primair plaatsvindt vanuit de Voerstreek. De Voerstreek staat weer in verbinding met populaties in Duitsland en Wallonië. Het is een min of meer doorlopende aaneenschakeling van bosgebieden, met een gering aantal obstakels. Het is dan ook waarschijnlijk dat er geregeld stapsgewijs uitwisseling plaatsvindt tussen de verschillende populaties. Vanuit de Voerstreek trekken ook dieren naar Vlaams Limburg. De sterke genetische overeenkomsten maken het waarschijnlijk dat vervolgens ook rechtstreeks tussen Zuid-Limburg en Vlaams-Limburg weer uitwisseling optreedt. Een tweede koloniseroute van Zuid-Limburg loopt dus vanuit de Voerstreek via Vlaams Limburg naar Zuid-Limburg. Ook hierbij moet één of zelfs twee keer de Maas en de A2 worden overgestoken. Dit bevestigt het vermoeden dat zowel een rivier als de Maas als een grote autoweg maar weinig beperkingen oplevert voor de dispersie van zwijnen.



Figuur 5.1

Detailkaart met de mogelijke kolonisatieroutes voor wilde zwijnen. De pijlen geven de waarschijnlijke dispersieroutes weer.

5.4 Conclusies

- Op basis van landschaps-genetische analyses met verschillende clusteringstechnieken en een maat voor onderlinge genetische differentiatie (F_{st}), lijken de diverse veronderstelde populaties in Limburgs- en Noord-Brabants-nulstandsgebied afzonderlijke genetische eenheden te vormen. Dit suggereert een onafhankelijke oorsprong, ofwel uit verschillende brongebieden ofwel vanuit genetische verschillende migranten uit dezelfde bronpopulatie.
- Als gevolg van een recent ontstaan uit een beperkt aantal migranten (een zogenaamd founder effect) is de genetische variatie in de nieuwe Limburgse en Noord-Brabantse populaties op dit moment laag vergeleken met referentiepopulaties op de Veluwe en in België en Duitsland. Echter, de waarden zijn op dit moment niet zorgwekkend.
- Er lijkt in de meeste gevallen nog wel sprake van (incidentele) uitwisseling tussen de populaties. Op basis daarvan is behoud van variatie in de diverse populaties aannemelijk.

- Een aantal nieuwe populaties zijn vrijwel zeker van natuurlijke oorsprong, als gevolg van immigratie vanuit oudere populaties in De Meinweg, Duitsland en België.
- Uitzonderingen zijn naar alle waarschijnlijkheid de populaties in Maasduinen en Leenderbos. Voor deze populaties is een onnatuurlijke oorsprong waarschijnlijk, al is in geval van de Maasduinen uitgebreidere bemonstering van mogelijke bronpopulaties nodig om een natuurlijke oorsprong volledig uit te sluiten. Verder is de origine van de populatie in de zuidelijke Roerstreek onduidelijk. Deze kan zijn ontstaan vanuit de Meinweg, maar mogelijk is er tevens sprake van kunstmatige inmenging van dieren uit een andere bron.
- Er lijkt geen sprake van landschapselementen die een volledige barrière vormen voor verspreiding van zwijnen. Blijvende influx vanuit de oudere leefgebieden naar de nieuwe populaties in nulstandsgebied is aannemelijk.

5.5 Aanbevelingen

Het is aan te bevelen om (een steekproef van) DNA monsters te blijven verzamelen van recent gekoloniseerde leefgebieden en daarnaast nieuwe vestigingen om in de toekomst de herkomst van dieren en de genetische vitaliteit van populaties te kunnen monitoren. Dit kan inzicht geven in hoeverre populatiegroei het gevolg is van lokale voortplanting en/of immigratie. De mate van immigratie kan vervolgens weer inzicht geven in het dispersiegedrag van zwijnen.

Literatuur

Coulon, A., G. Guillot, J-F. Cosson, J.M.A. Angibault, S. Aulagnier, B. Cargnelutti, M. Galan en A.J.M. Hewison, 2006. Genetic structure is influenced by landscape features: empirical evidence from a roe deer population. *Molecular Ecology*. Volume 15, pag. 1669-1679.

Deurhof, L., 2007. Een studie naar de populatie-genetische structuur van Nederlandse Edelherten en Wilde Zwijnen. Studentverslag Wageningen Universiteit and Research Centre, Alterra, Centrum Ecosystemen, Wageningen.

Frankham R., J.D. Ballou en D.A. Briscoe 2010. Introduction to conservation genetics. Tweede editie. Cambridge University Press, Cambridge.

Frantz, A.C., S. Cellina, A. Krier, L. Schley en T. Burke. 2009. Using spatial Bayesian methods to determine the genetic structure of a continuously distributed population: clusters or isolation by distance? *Journal of Applied Ecology*. Volume 46, pag. 493-505.

Goedbloed, D.J., H.J. Megens, P. van Hooft, J.M. Herrero-Medrano, W. Lutz, P. Alexandri, R.P. Crooijmans, M. Groenen, S.E. van Wieren, R.C. Ydenberg en H.H. Prins 2012. Genome-wide silge nucleotide polymorphism analysis reveals recent genetic introgression from domestic pigs into Northwest European wild boar populations. *Molecular Ecology*, DOI: 10.1111/j.1365-294X.2012.05670.x.

Goudet, J., 1995. FSTAT (vers. 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*, 86, pag. 485-486.

Groot Bruinderink, G.W.T.A., D.R. Lammertsma en R. Pouwels, 2000. De geschiktheid van natuurgebieden in Noord-Brabant en Limburg als leefgebied voor edelhert en wild zwijn. Wageningen, Alterra, Research instituut voor de Groene Ruimte. Alterra-rapport 086.

Groot Bruinderink, G.W.T.A., D.R. Lammertsma, R. Pouwels, M. van Eupen, G.J. Spek en J.G. Oord, 2011. Wilde zwijnen in Limburg. Wat zijn de consequenties van meer leefgebieden voor Wilde zwijnen in Limburg? Alterra-rapport 2207.

Guillot, G., F. Mortier en A. Estoup. 2005. GENELAND: A computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes*. Volume 5, pag. 712-715.

Hartl, D.L. en A.G. Clark, 1997 *Principles of population genetics*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.

Mulder, J.L., 2007. Met fotoval en schroevendraaier op zoek naar de wilde kat in Zuid-Limburg. Rapport Bureau Mulder-natuurlijk nr 2007-01.

Nei M., 2005. Bottlenecks, Genetic polymorphism and Speciation. *Genetics*, Volume 170, pag. 1-4.

Peakall, R. en P.E. Smouse, 2001. GenAEx V5: *Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research*. Australian National University, Canberra, Australia.

Pritchard, J.K., M. Stephens en P. Donnelly, 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. Volume 155, pag. 945-959.

Development Core Team, 2011| R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Truvé, J. en J. Lemel, 2003. Timing and distance of natal dispersal for wild boar *Sus scrofa* in Sweden. *Wildlife Biology*. Volume 9 (Supplement 1), pag. 51-57.

Bijlage 1

Genetische structuuranalyse

Om een schatting te maken van het optimale aantal clusters in de dataset met Structure (Pritchard et al., 2000) zijn verschillende simulaties gedaan. In Structure wordt een bepaald aantal clusters (K) ingesteld, waarna het programma met een simulatie berekend hoe goed de data op dat aantal clusters aansluit. Dit wordt berekend met de parameter LnPD (Ln posterior density). Daarom zijn 20 simulaties uitgevoerd voor iedere waarde van K, variërende tussen 1 en 15. Deze simulaties bestonden uit een 'burn-in' periode van 70.000 stappen, waarna nogmaals 630.000 stappen volgden. Deze 'burn-in' periode wordt gebruikt om de schommelingen van de eerste paar stappen (vanwege het beginnen met een willekeurige verdeling) niet mee te rekenen bij het bepalen van de LnPD. Voor deze simulaties zijn het admixture en het uncorrelated allele frequency model gebruikt.

Uiteindelijk is voor iedere simulatie de LnPD berekend en zijn de gemiddelde LnPD waarden per K geplot in figuur B1. Hieruit blijkt dat de LnPD nog steeds steeg bij een waarde van 15. Het is echter aangetoond dat dit vaker gebeurt, en daarom is er een afgeleide variabele ΔK berekend. De waarde met de hoogste ΔK is een betere schatting voor het daadwerkelijke aantal populaties dan de hoogste K (Evanno et al., 2005). Hieruit blijkt dat de $K=8$ de hoogste waarde voor ΔK heeft (figuur B1).

Daarom zijn voor $K=8$ en alle lagere waarden van K de beste vijf simulaties geselecteerd. Voor iedere K zijn voor ieder individu de gemiddelde individuele lidmaatschap coëfficiënten (q_i) berekend met behulp van het programma CLUMPP (Jakobsson en Rosenberg, 2007). Hierna zijn deze q_i waarden gevisualiseerd met behulp van het programma DISTRUCT (Rosenberg, 2004) om de distributie van de verschillende populaties over de verschillende clusters zichtbaar te maken.

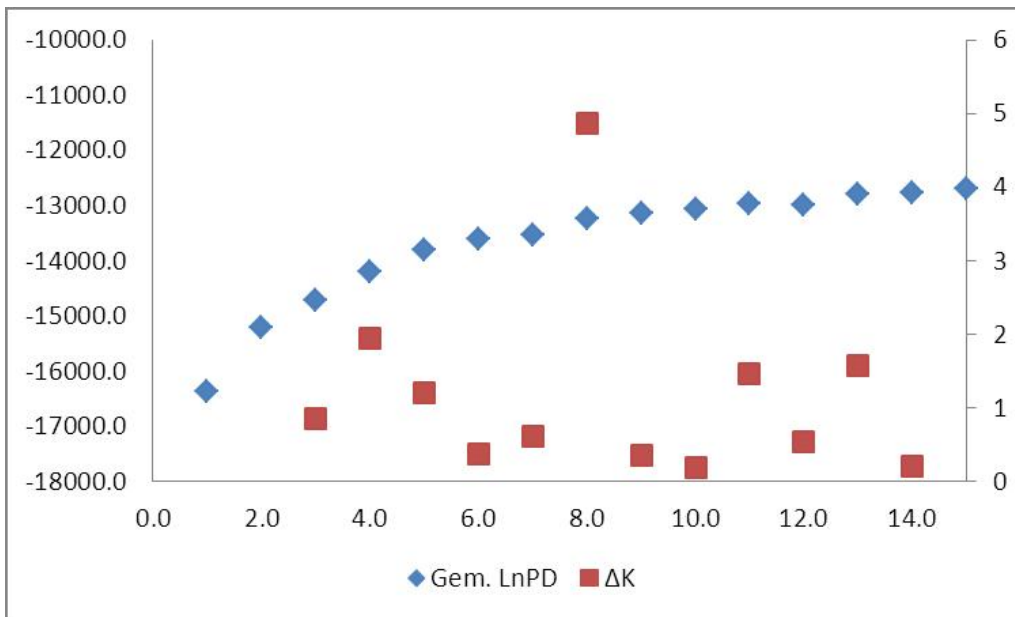
Landschap genetische analyse

Om de invloed van het landschap op de genetische structuur te bepalen is het software pakket Geneland (Guillot et al. 2005) van het statistische programma R (R Development Core Team 2011) gebruikt. Dit programma werkt met een soortgelijk algoritme als Structure, maar het algoritme van Geneland gebruikt buiten genetische data ook de geografische data van de gebruikte monsters. Op deze manier worden dus niet alleen het aantal clusters en de verdeling van de individuen over die clusters berekend, maar worden ook de genetische barrières tussen die clusters inzichtelijk gemaakt.

Een ander verschil tussen Structure en Geneland is dat in Geneland geen vast aantal clusters (K) wordt aangegeven maar een variërend aantal clusters. Ook is de parameter die berekend wordt net anders, namelijk ALPP (Average Log Posterior Probability). Daarom zijn in eerste instantie 20 simulaties met een K variërend tussen 1 en 15 uitgevoerd. Deze simulaties bestonden uit een groot aantal stappen (iteraties) waarin telkens op basis van de voorgaande stappen opnieuw een verdeling wordt geschat. Hierbij werd een 'burn-in' periode van 70.000 stappen toegepast, waarna nogmaals 630.000 stappen volgden op basis waarvan een gemiddelde verdeling wordt geschat. Voor deze simulaties zijn werd het spatiale model in Geneland gebruikt, werd rekening gehouden met null alleles, en werd het uncorrelated allele frequency model gebruikt. Daarnaast is de onzekerheid van het coördinaat op één kilometer gezet om het verschil tussen plaats van overlijden en leefgebied in te calculeren. De resultaten van deze simulaties zijn te vinden in tabel B1. Hieruit blijkt dat $K=9$ de grootste ALPP heeft. Daarom zijn er nogmaals 20 simulaties uitgevoerd met dezelfde instellingen, maar dan met het aantal clusters gefixeerd op 9. Dit is gedaan omdat op die manier de individuen het beste over de verschillende clusters verdeeld worden (Guillot et al., 2005).

Van deze simulaties zijn de 5 met de hoogste ALPP geselecteerd en hiervan is voor ieder individu de gemiddelde individuele lidmaatschap coëfficiënten (q_i) berekend met behulp van het programma CLUMPP (Jakobsson Rosenberg, 2007). Daarna is voor ieder individu het cluster met de hoogste q_i bepaald en deze

zijn zichtbaar gemaakt door de individuen en clusters op een kaart te projecteren met de ArcGIS software. Op deze manier konden ook de verschillende barrières tussen de clusters inzichtelijk gemaakt worden door verschillende landschapselementen op de kaart te projecteren zoals snelwegen, waterwegen en steden.



Figuur B1

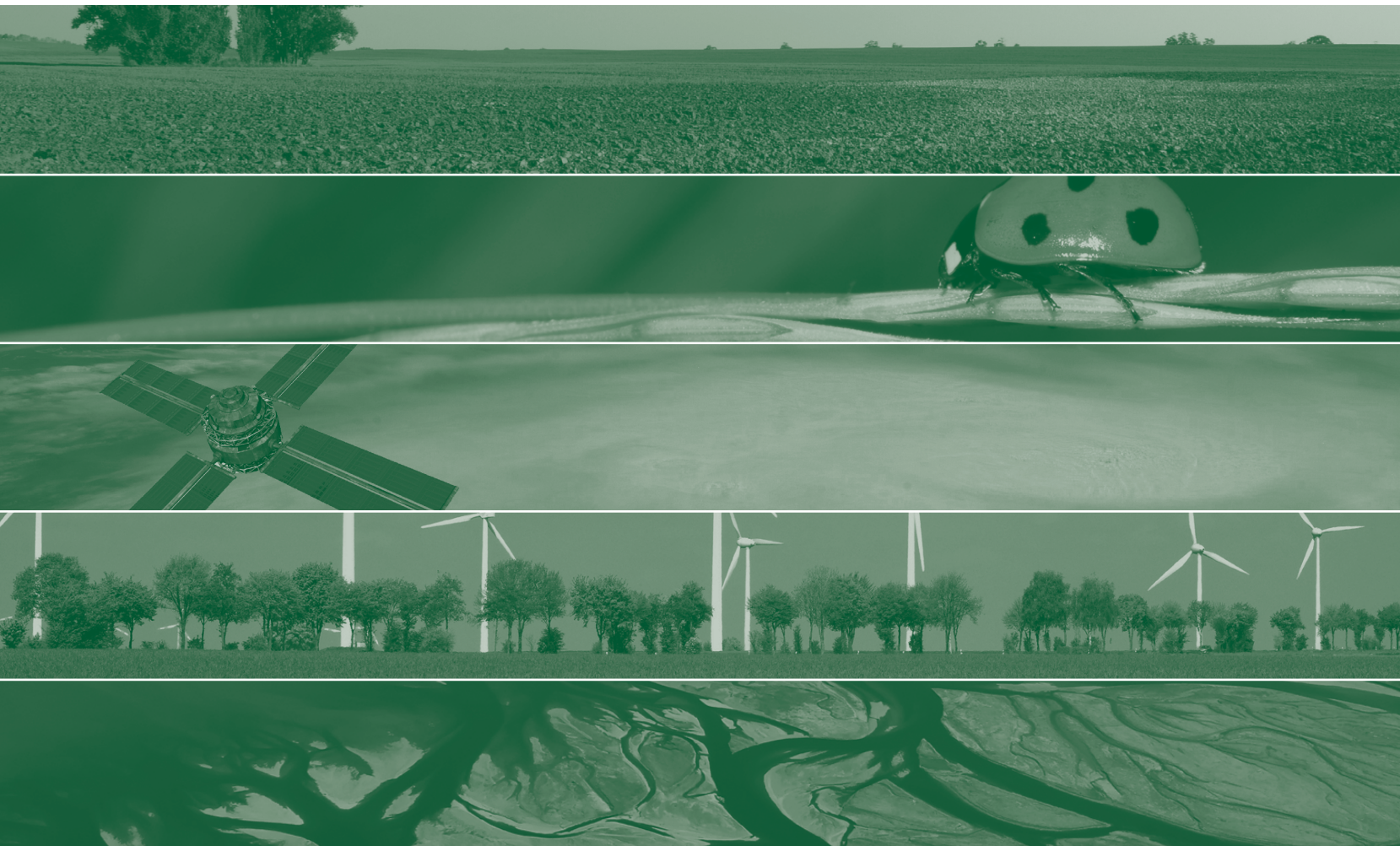
De gemiddelde LnPD en ΔK waarden van de simulaties voor de verschillende waarden van K in Structure.

Hier is duidelijk te zien dat de gemiddelde LnPD bleef stijgen tot K=15, terwijl ΔK een duidelijk maximum heeft bij K=8.

Tabel B1

De verschillende simulaties in Geneland gerangschikt op ALPP waarde. Duidelijk is te zien dat het aantal clusters acht of negen is, maar aangezien de beste vier simulaties een K van 9 aangeven is deze waarde aangehouden voor de rest van de analyse.

Simulatie nr.	K	Average log posterior probability (ALPP)
9	9	-22387.39
4	9	-22465.50
8	9	-22491.52
7	9	-22493.00
1	8	-22678.58
3	8	-22698.53
20	8	-22700.58
5	8	-22707.43
12	8	-22724.32
19	8	-22732.97
2	8	-22739.38
18	9	-22749.98
14	8	-22750.46
17	8	-22752.23
11	8	-22762.31
13	8	-22779.77
16	8	-22793.87417
15	8	-22904.89997
10	8	-22941.9295
6	8	-23412.33157



Alterra is onderdeel van de internationale kennisorganisatie Wageningen UR (University & Research centre). De missie is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen negen gespecialiseerde en meer toegepaste onderzoeksinstituten, Wageningen University en hogeschool Van Hall Larenstein hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 40 vestigingen (in Nederland, Brazilië en China), 6.500 medewerkers en 10.000 studenten behoort Wageningen UR wereldwijd tot de vooraanstaande kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen natuurwetenschappelijke, technologische en maatschappijwetenschappelijke disciplines vormen het hart van de Wageningen Aanpak.

Alterra Wageningen UR is het 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.

Meer informatie: www.wageningenUR.nl/alterra