



Herkomst en migratie van Nederlandse edelherten en wilde zwijnen

Een basiskaart van de genetische patronen in Nederland en omgeving

G. Arjen de Groot, Gerrit-Jan Spek, Jan Bovenschen, Ivo Laros, Tom van Meel, Joost F. de Jong en Hugh A.H. Jansman

Herkomst en migratie van Nederlandse edelherten en wilde zwijnen

Een basiskaart van de genetische patronen in Nederland en omgeving

G. Arjen de Groot¹, Gerrit-Jan Spek², Jan Bovenschen¹, Ivo Laros¹, Tom van Meel¹, Joost F. de Jong³ en Hugh A.H. Jansman¹

1 Dierecologie, Alterra Wageningen UR, Wageningen, Nederland

2 Natuurlijk! Fauna-advies B.V., Hofsemolenweg 8, 8171 PM, Vaassen, Nederland

3 Resource Ecology, Wageningen Universiteit, Wageningen, Nederland

Alterra Wageningen UR
Wageningen, juni 2016

Alterra-rapport 2724

ISSN 1566-7197



De Groot, G.A., G-J. Spek, J. Bovenschen, I. Laros, T. van Meel, J.F. de Jong en H.A.H. Jansman, 2016. *Herkomst en migratie van Nederlandse edelherten en wilde zwijnen; Een basiskaart van de genetische patronen in Nederland en omgeving*. Wageningen, Alterra Wageningen UR (University & Research centre), Alterra-rapport 2724. 72 blz.; 12 fig.; 8 tab.; 45 ref.

De laatste jaren worden in toenemende mate incidentele waarnemingen van edelherten en wilde zwijnen buiten de toegewezen leefgebieden gedaan. De vraag is vervolgens of dit om natuurlijke immigratie vanuit (niet-omrasterde) leefgebieden in binnen- of buitenland gaat en waar ze dan vandaan zijn gekomen, of dat het een ontsnapt of losgelaten dier betreft. Om deze vraag in de toekomst in voorkomende gevallen effectief te kunnen beantwoorden, stelde Alterra in opdracht van BII12 – Faunafonds en Vereniging Het Edelhert een landelijke genetische referentiedatabase op van de zwijnen- en edelhertenpopulaties in Nederland en nabijgelegen populaties in België en Duitsland. In dit rapport worden de mogelijkheden van deze databases voor herkomstbepalingen nader onderzocht. Tevens geeft dit onderzoek, op basis van de verkregen databases, een overzicht van de genetische vitaliteit van de Nederlandse populaties van beide soorten met betrekking tot diversiteit, inteeltrisiko's en uitwisselingsmogelijkheden.

Trefwoorden: *Cervus elaphus*, herkomstbepaling, microsatellieten, migratie, *Sus scrofa*, zwervers

Dit rapport is gratis te downloaden van <http://dx.doi.org/10.18174/383057> of op www.wageningenUR.nl/alterra (ga naar 'Alterra-rapporten' in de grijze balk onderaan). Alterra Wageningen UR verstrekt geen gedrukte exemplaren van rapporten.

© 2016 Alterra (instituut binnen de rechtspersoon Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek), Postbus 47, 6700 AA Wageningen, T 0317 48 07 00, E info.alterra@wur.nl, www.wageningenUR.nl/alterra. Alterra is onderdeel van Wageningen UR (University & Research centre).

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

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

Alterra-rapport 2724 | ISSN 1566-7197

Foto omslag: Edelherten springt over raster op de Veluwe (© Geurt Besselink).

Inhoud

	Woord vooraf	5
	Samenvatting	7
1	Inleiding en achtergronden	10
1.1	Een opmars buiten het officiële leefgebied	10
1.1.1	Officiële leefgebieden in Nederland	10
1.1.2	Nulstandbeleid	10
1.1.3	Zwervers en populatieontwikkeling in nulstandgebied	10
1.1.4	DNA als hulpmiddel voor herkomstbepaling	11
1.2	Genetische variatie en uitwisseling	12
1.2.1	Het nut van variatie	12
1.2.2	Genetische verarming en inteelt in kleine populaties	12
1.2.3	De noodzaak tot uitwisseling	13
1.2.4	De Veluwe: een complexe historie van uitzet en versnippering en ontsnippering van leefgebieden	14
1.3	Vraagstelling	19
1.4	Onderzoeksopzet	19
2	Materiaal en methode	20
2.1	Bemonstering	20
2.1.1	Wijze van bemonstering	20
2.1.2	Onderzochte populaties van edelherten	20
2.1.3	Onderzochte populaties van wilde zwijnen	22
2.2	Genetische analyses	24
2.2.1	DNA-extractie	24
2.2.2	Genetische karakterisering	24
2.3	Data-analyses	25
2.3.1	Genetische variatie	25
2.3.2	Genetische structuur en uitwisseling	26
2.3.3	Herkomstbepaling voor individuele dieren	27
3	Resultaten voor edelherten	28
3.1	Dataset	28
3.2	Genetische patronen in Nederland en omgeving	28
3.2.1	Genetische variatie binnen populaties	28
3.2.2	Genetische verschillen tussen populaties	29
3.3	Potentie voor herkomstbepaling	31
3.3.1	Casestudy 'Zwerf-I'	32
3.3.2	Casestudy 'Zwerf-II'	32
3.4	Genetische patronen binnen de Veluwe	32
4	Resultaten voor wilde zwijnen	36
4.1	Dataset	36
4.2	Genetische patronen in Nederland en omgeving	36
4.2.1	Genetische variatie binnen populaties	36
4.2.2	Genetische verschillen tussen populaties	38
4.3	Potentie voor herkomstbepaling	41
4.3.1	Casestudy 'Zwerf-1'	41
4.4	Genetische patronen binnen de Veluwe	43

5	Algemene discussie	47
5.1	Herkomstbepaling	47
5.2	Genetische vitaliteit	48
5.2.1	Edelherten	48
5.2.2	Wilde zwijnen	49
5.3	Uitwisseling op de Veluwe in verleden en toekomst	50
5.3.1	Edelherten	50
5.3.2	Wilde zwijnen	51
6	Conclusies en aanbevelingen	53
6.1	Belangrijkste conclusies	53
6.2	Relevantie voor beleid en beheer	54
6.3	Aanbevelingen	55
	Literatuur	57
Bijlage 1	Versnippering en ontsnippering van het leefgebied van edelherten op de Veluwe	60
Bijlage 2	Versnippering en ontsnippering van het leefgebied van wilde zwijnen op de Veluwe	63
Bijlage 3	Locatie zwijnenpopulaties	68
Bijlage 4	PCR specificaties Edelhert	69
Bijlage 5	PCR-specificaties Zwijn	71

Woord vooraf

Het voorliggende onderzoek is tot stand gekomen in opdracht van BIJ12 – Unit Faunafonds en Vereniging Het Edelhert. De opdrachtverlening door Vereniging Het Edelhert werd mogelijk gemaakt door een drietal sponsors: het Prins Bernhard Cultuurfonds, de M.A.O.C. Gravin van Bylandt Stichting en de Stichting Elise Mathilde Fonds.

Het onderzoek werd uitgevoerd door Alterra Wageningen UR, in samenwerking met Natuurlijk! Fauna-advies.

Bas Worm en Jozef Linthorst (Vereniging Het Edelhert) zijn, met een deel van hun jachthouders van de vereniging, al in een vroeg stadium betrokken geweest bij de vormgeving van het onderzoek en het verzamelen van DNA-monsters. We willen hen bedanken voor hun inhoudelijk advies in verschillende stadia van het onderzoek en voor de hulp bij het verzamelen van DNA-monsters. Een groot aantal andere vrijwilligers en medewerkers van beheersorganisaties hebben meegeholpen bij het verzamelen van DNA-monsters. Zonder hun bijdrage was dit project niet mogelijk geweest. Het bestuur van NP Hoge Veluwe en Kroondomein Het Loo bedanken wij voor het beschikbaar stellen van monsters uit hun terreinen.

Om een zo compleet mogelijk beeld te krijgen van de patronen in heel Nederland, werden in de analyses voor dit rapport tevens gegevens opgenomen van wilde zwijnen die eerder in afzonderlijke opdrachten voor de provincies Noord-Brabant en Limburg werden verzameld. Dank aan Erik Koffeman en Paul Voskamp voor de toestemming daartoe en het meedenken ten behoeve van het huidige onderzoeksproject. Jaap Spek en Toon Helmink bedanken we voor hun hulp bij het vormgeven van de verschillende kaarten die als figuren in dit rapport zijn opgenomen.

Samenvatting

Edelherten en wilde zwijnen komen van oudsher al voor in Nederland. Als gevolg van menselijk handelen hebben hun aantal en het areaal van hun leefgebied evenwel sterk gefluctueerd in de afgelopen eeuwen. In de vorige eeuw zijn beide soorten teruggedrongen in Nederland tot een beperkt aantal leefgebieden. Voor beide soorten betreft dit in hoofdzaak de Veluwe. Edelherten zijn daarnaast binnen rasters geïntroduceerd in de Oostvaardersplassen en in het Weerterbos. Voor de wilde zwijnen geldt de Meinweg als tweede officieel leefgebied. Buiten deze leefgebieden geldt het zogenaamde nulstandbeleid: zwijnen en herten die daar worden waargenomen, mogen in principe worden afgeschoten.

De laatste jaren worden in toenemende mate incidentele waarnemingen van edelherten en wilde zwijnen buiten de toegewezen leefgebieden gedaan. Ook ten aanzien van edelherten worden soms dergelijke waarnemingen gedaan, zij het minder frequent en veelal in de omgeving van de Veluwe of in het oosten en zuiden van ons land. De vraag is vervolgens of dit om natuurlijke immigratie vanuit leefgebieden in binnen- of buitenland gaat (en zo ja, welk gebied dan?) of dat het een ontsnapt of een losgelaten dier betreft. Een antwoord op deze vraag voor specifieke dieren of nieuw ontstane populaties kan het bevoegd gezag (de provincies) helpen bij het beslissen over het behoud ervan of beleidsvorming rond eventueel beheer ondersteunen.

Herkomstbepaling op basis van DNA

DNA-analyses vormen in potentie een krachtige methode om de herkomst van individuen te bepalen. Bij deze methode wordt van een of meerdere dieren van onbekende oorsprong een individueel genetisch profiel bepaald. Deze kan vervolgens vergeleken worden met referentieprofielen van bekende bronpopulaties om na te gaan met welke populatie de beste match bestaat. Zodoende kan de meest waarschijnlijke herkomst van zo'n (zwervend) dier bepaald worden. Maar toepassing van deze methode vereist dus een referentieset met voldoende profielen van alle mogelijke bronpopulaties. Daarnaast moet voldoende verschil in genetische samenstelling bestaan tussen deze bronpopulaties om het gewenste onderscheid daadwerkelijk te kunnen maken.

In opdracht van BIJ12 – Faunafonds en Vereniging Het Edelhert heeft Alterra voor de bekende populaties van zowel de edelherten als de wilde zwijnen een referentiedatabase ontwikkeld. Met deze databases kunnen de gewenste herkomstanalyses uitgevoerd worden. Beide databases bestaan uit individuele genetische profielen op basis van microsatelliet-merkers, voor in totaal respectievelijk 383 edelherten en 1095 wilde zwijnen. De databases bieden een landelijke dekking voor Nederland, en omvatten daarnaast profielen van nabijgelegen populaties vlak over de grens in België en Duitsland, en enkele verder weg gelegen Duitse populaties. In dit rapport worden deze databases gepresenteerd en wordt nader ingegaan op de aangetroffen verschillen in genetische samenstelling tussen de verschillende populaties en de potentie die dit biedt voor herkomstbepalingen. Voor beide soorten geldt dat veruit de meeste populaties sterk hun eigen genetische signatuur te vertonen. Dit maakt de huidige datasets uitermate bruikbaar voor het bepalen van de herkomst van 'zwervende' herten en zwijnen die in ons land worden aangetroffen. Voor beide soorten is nu een methode beschikbaar die in de toekomst voor dit doeleinde kan worden toegepast.

Als onderdeel van het huidige onderzoek is een aantal casestudy's uitgevoerd die de toepasbaarheid van het genetisch onderzoek inzichtelijk maken. Voor een groepje zwijnen dat in 2014 zwermend werd aangetroffen in de Zuid-Willemsvaart nabij het Noord-Brabantse Weert kon worden vastgesteld dat deze hoogstwaarschijnlijk afkomstig zijn uit de aangrenzende Belgische deelregio, het oosten van Vlaams Limburg. Voor een edelhert dat in 2010 werd geschoten in de Betuwe, nabij Maurik, vonden we de beste match met de populaties in de bosgebieden Üfter Mark en Dämmerwald, die dicht bij elkaar liggen en genetisch niet aantoonbaar van elkaar verschillen. Een tweede hert, dat eveneens in 2010 werd geschoten nabij het Twentse Hoge Hexel, kon met grote zekerheid worden herleid tot de Veluwe.

Bij alle drie casestudy's is natuurlijke migratie zeer wel mogelijk, echter een herkomstbepaling op basis van DNA-onderzoek zal nooit uitsluitend kunnen geven over *de wijze waarop* een dier zich heeft verplaatst.

Genetische diversiteit binnen en tussen (deel)populaties

Dezelfde genetische profielen van individuele herten en zwijnen geven ook meer inzicht in de genetische diversiteit binnen één bepaalde populatie en tussen populaties onderling. Een tweede vraag in het huidige onderzoek was dan ook in hoeverre de verschillende Nederlandse populaties voldoende genetisch divers zijn voor een duurzame instandhouding in de toekomst. Daarbij kon in meer detail worden ingezoomd op de diverse deelgebieden binnen de Veluwe, die lang als afzonderlijke leefgebieden beschouwd zijn. Tegenwoordig kunnen de meeste leefgebieden op de Veluwe met elkaar uitwisselen doordat vele ecoducten gebouwd zijn en wildrasters afgebroken zijn. Voor beide soorten was reeds een groot aantal monsters beschikbaar bij Alterra. Deze zijn in de huidige datasets toegevoegd. Vervolgens kon ook worden nagegaan in hoeverre deze deelgebieden genetisch van elkaar verschillen, en in hoeverre dit te verklaren is door historische verschillen in origine en de versnippering en ontsnippering van het leefgebied op de Veluwe.

Onze resultaten laten zien dat de genetische diversiteit van de edelherten op de Veluwe vrijwel gelijk is aan die in omvangrijke bosgebieden elders in Europa (o.a. de Eifel en Wallonië; op basis van zowel eigen data als vergelijking met elders gepubliceerde data). Onder de herten in de Oostvaardersplassen is de diversiteit zelfs beduidend hoger. Hetzelfde beeld komt naar voren uit de heterozygositeit in deze populaties, deze is eveneens vrijwel gelijk tussen de Veluwe en grote populaties in het buitenland en in de Oostvaardersplassen zelfs hoger. Deze heterozygositeit, ofwel de mate waarin dieren gemiddeld per gen in hun DNA één of twee verschillende varianten bezitten, is een voorzichtige maat voor het risico op schadelijke inteeltrisico's: hoe hoger de heterozygositeit, hoe lager het risico. De genetische vitaliteit op de Veluwe en in de Oostvaardersplassen lijkt dus vooralsnog geen reden tot zorg. Voor de Veluwe moet echter een slag om de arm worden gehouden, omdat binnen de meeste deelpopulaties wel sprake lijkt van een bovenmatige paring tussen verwante dieren: de sociale en/of ruimtelijke dynamiek lijkt een aantal verschillende bloedlijnen in stand te houden. Omdat dit in de toekomst kan leiden tot een stijging in het inteelniveau, is het raadzaam om periodiek de genetische waarden te blijven monitoren.

In het Weerterbos is in vergelijking met de andere Nederlands populaties de variatie iets lager. Dit is zorgwekkend, aangezien het een kleine, geheel geïsoleerde populatie betreft, waarbij zonder zicht op genetische uitwisseling in de nabije toekomst een verdere achteruitgang aannemelijk is. Een nog lagere diversiteit en heterozygositeit werd aangetroffen in de Duitse populaties vlak over de grens (Forst Bad Bentheim, Reichswald, Üfter Mark – Dämmerwald).

De genetische patronen binnen de Veluwe lijken bij de edelherten voornamelijk samen te hangen met verschillen in origine. Zowel op de Hoge Veluwe als binnen het Kroondomein Het Loo is in het verleden een mix van herten uit heel Europa uitgezet. Deze populaties wijken nog altijd af van de rest van de Veluwe. Tussen de rest van de deelgebieden op de Veluwe zijn de onderlinge genetische verschillen echter beperkt. Opvallend is met name dat de genetische samenstelling van de noordwestelijke Veluwe, via de midden-Veluwe tot aan de zuidoostelijke Veluwe, relatief sterk overeenkomt. Door een gebrek aan historische monsters is het lastig te reconstrueren of dit het gevolg is van blijvende uitwisseling gedurende de vorige eeuw of dat inmiddels door vrij recente ontsnipperingsmaatregelen al hernieuwde genetische menging is opgetreden. Waarschijnlijk verschilt dit per deelregio: het midden en de zuidoostelijke Veluwe zijn waarschijnlijk altijd vrij goed verbonden gebleven, maar tussen het midden en de noordelijke Veluwe bestonden sterke barrières.

De zwijnenpopulaties in ons land blijken vrijwel alle genetisch vrij arm vergeleken met populaties in België en Duitsland. Voor de nieuwe populaties in Limburg en Noord-Brabant is dit goed te verklaren aan de hand van de recente oorsprong: de huidige populaties vormen nu nog een beperkte subset van de variatie in de bronpopulaties. Dezelfde zogenaamde 'founder effects', hier en daar in combinatie met een vermoeden van kunstmatige oorsprong, kunnen ook de sterke verschillen in heterozygositeit tussen deze populaties verklaren. Naar verwachting zal zowel de diversiteit als de heterozygositeit in de nabije toekomst nog gaan toenemen door nieuwe (im)migratie.

De lage diversiteit in de diverse deelgebieden op de Veluwe is waarschijnlijk een gevolg van de sterke versnippering gedurende met name de tweede helft van de vorige eeuw. Dit resulteerde in meerdere geïsoleerde populaties van relatief beperkte omvang, waarin relatief snel verarming kan optreden. Ook bij de zwijnen is echter sprake van duidelijke verschillen in genetische samenstelling tussen de deelgebieden, waardoor de totale rijkdom aan genetische varianten op de Veluwe als geheel aanmerkelijk hoger is dan in elk van de afzonderlijke deelgebieden. Dit betekent dat hernieuwde uitwisseling de diversiteit in elk van de deelgebieden weer zou kunnen verhogen. De eerste tekenen daarvan zijn reeds zichtbaar: de diversiteit en heterozygositeit zijn relatief hoog in een aantal populaties waartussen recent uitwisseling lijkt te hebben opgetreden. Dit betreft met name het Kroondomein Het Loo en de midden- en zuidoost-Veluwe. Een opvallend resultaat betrof een duidelijk verschil tussen historische monsters (genomen rond 1990) en meer recente monsters (2011) van Kroondomein Het Loo. Niet alleen zijn de diversiteit en heterozygositeit hier sterk toegenomen, ook is de genetische samenstelling recent veel sterker gaan lijken op de samenstelling op de midden- en zuidoostelijke Veluwe.

Onze resultaten suggereren dat ontsnipperingsmaatregelen in de vorm van wildpassages binnen relatief afzienbare tijd (enkele decennia) kunnen resulteren in een sterk verbeterde genetische menging tussen voorheen geïsoleerde populaties van grote hoefdieren. Onze resultaten geven echter ook inzicht in waar binnen de Veluwe op dit moment nog knelpunten in de effectiviteit van de uitwisseling lijken te bestaan, wat kan helpen om de prioritering van aanvullende ontsnipperingsmaatregelen te onderbouwen. Bij de edelherten lijkt met name de Hoge Veluwe nog altijd sterk anders. Bij de zwijnen bestaat met name nog een duidelijk verschil tussen de noordelijke en zuidelijke Veluwe. De huidige resultaten bieden vervolgens een gedegen nulmeting om in de toekomst te kunnen onderzoeken of meer uitwisselingsmogelijkheden inderdaad hebben geresulteerd in meer genetische samensmelting tussen en hogere diversiteit binnen de diverse deelgebieden.

1 Inleiding en achtergronden

1.1 Een opmars buiten het officiële leefgebied

1.1.1 Officiële leefgebieden in Nederland

Edelherten en wilde zwijnen kwamen van oudsher al voor in Nederland. Met name als gevolg van menselijk handelen hebben hun aantal en het areaal van hun leefgebied sterk gefluctueerd in de afgelopen eeuwen. Ontbossing, in cultuur brengen van natuurgronden, jacht & stroperij en lokale introducties speelden daarbij een belangrijke rol. Hoewel beide soorten ook prima in andere ecosystemen kunnen overleven, zijn ze vanaf medio 20^e eeuw teruggedrongen tot de droge zandgronden van de Veluwe. Daarnaast bestond er een populatie van het wild zwijn in de Meinweg die grensoverschrijdend is met de Duitse Meinweg. In de laatste decennia zijn daarnaast edelherten geïntroduceerd in de Oostvaardersplassen (1992) en in een raster in het Weerterbos (2005). Tezamen vormen deze gebieden het officiële leefgebied voor de soorten. Behalve voorkomend in het wild worden herten en zwijnen als landbouwhuisdieren binnen kleinere rasters gehouden voor onder andere de vleesproductie en als hobby.

1.1.2 Nulstandbeleid

In 1991 verscheen de Nota Jacht en Wildbeheer van het ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij. Hierin werd onder andere vastgelegd dat het edelhert en het wild zwijn niet buiten de in sectie 1.1.1 genoemde gebieden mocht voorkomen. Buiten de aangewezen leefgebieden geldt het zogenaamde nulstandbeleid, oftewel: dieren die zich daar ophouden, zijn ongewenst en dus vogelvrij. Dit beleid vloeide voort uit de toenmalig beleefde risico's met betrekking tot schade aan percelen, verkeersveiligheid en risico op verspreiding van dierziekten. Sinds de inwerkingtreding van de Flora- en faunawet in 2002 zijn de provincies het bevoegd gezag voor faunabeheer. Vanuit verschillende provincies wordt nu bekeken of het nulstandbeleid nog realistisch is dan wel of het uitvoerbaar is het te handhaven. Factoren die daarbij een rol spelen zijn: het (naar schatting) afgenomen risico op verspreiding dierziekten door verbeteringen in de veehouderij, toename van met name wilde zwijnen in Nederland en omliggende landen (zie 1.1.3) en verandering in de maatschappelijke beleving van natuur. Onderzocht wordt nu of er nieuwe leefgebieden zijn aan te wijzen voor edelherten en wilde zwijnen en hoe vervolgens de eventuele overlast beheersbaar kan blijven (maatschappelijk gedragen stand). In Limburg en Noord-Brabant speelt dat vooral voor het wild zwijn, dat daar geleidelijk oprukt en waarbij beheer met de toegestane middelen nog niet heeft geresulteerd in het terugdringen van die opmars. In Drenthe, Noord-Brabant en enkele andere provincies wordt concreet nagedacht over het introduceren van edelherten.

1.1.3 Zwervers en populatieontwikkeling in nulstandgebied

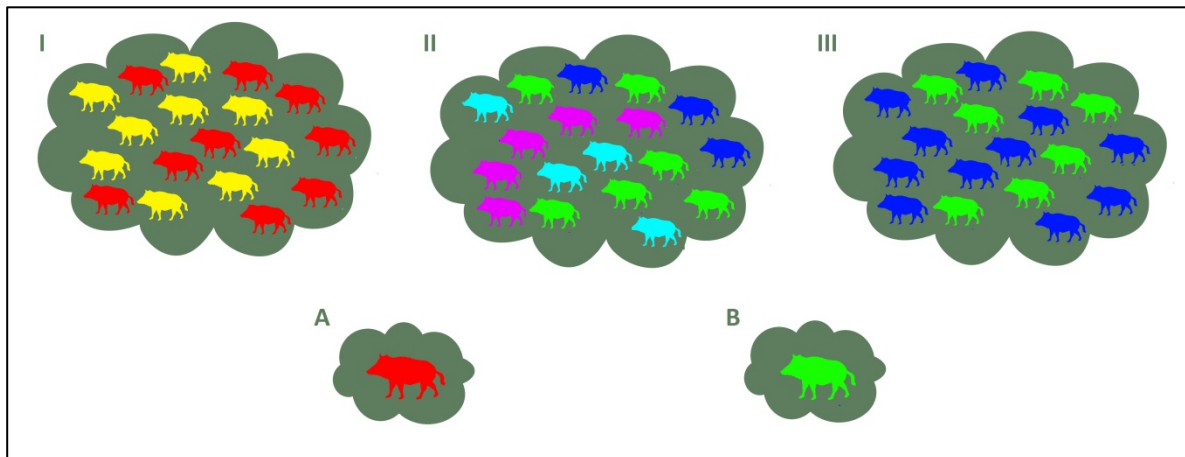
De laatste jaren worden in toenemende mate incidentele waarnemingen van edelherten en wilde zwijnen buiten de toegewezen leefgebieden gedaan. De vraag is vervolgens of dit om natuurlijke immigratie vanuit (niet-omrasterde) leefgebieden in binnen- of buitenland gaat en waar ze dan vandaan zijn gekomen of dat het een ontsnapt of losgelaten dier betreft. Met name voor het wild zwijn is er duidelijk een toename in aantal en verspreidingsgebied te zien in Noordwest-Europa. Dit wordt in belangrijke mate veroorzaakt door een warmer klimaat, hetgeen de overleving en voortplanting van de soort ten goede komt. Daarnaast profiteert de soort van veranderde landbouwteelten, zoals toename in (snij)mais, waarin eenvoudig voedsel en dekking wordt gevonden. Daarnaast zijn rasters zelden 100% kerend, oftewel: incidenteel kan er een (groep) dier(en) ontsnappen en op zwerftocht gaan. Vanuit het nulstandbeleid en/of openbare veiligheid kan zo'n zwerver afgeschoten worden. Ook sneuvelen er dieren in het verkeer. Interessant is vervolgens te achterhalen wat de herkomst van het dier is.

1.1.4 DNA als hulpmiddel voor herkomstbepaling

Met zekerheid bepalen waar een dier dat op een nieuwe locatie wordt waargenomen vandaan komt, is vaak een lastige klus. In sommige gevallen kan afwijkend gedrag of een afwijkend uiterlijk een aanwijzing vormen wat de herkomst is van die dieren op die plek, maar ontbreekt hard bewijs. Wanneer waarschijnlijk sprake is van natuurlijke immigratie is het aanwijzen van een brongebied op basis van uiterlijk kenmerken nog lastiger. In zulke gevallen kunnen genetische methoden uitkomst bieden.

Individuele dieren verschillen in de exacte samenstelling (code) van hun DNA. Populatie-genetici maken gebruik van dit principe om individuele dieren uit elkaar te houden. Op basis van een DNA-monster kan voor elk individu een uniek genetisch profiel worden opgesteld. De gelijkenis tussen zulke profielen is een indicatie voor de verwantschap tussen verschillende dieren. De genetische profielen van familieleden zullen relatief sterk op elkaar lijken. Bij dieren afkomstig uit populaties die weinig met elkaar in contact hebben gestaan, zullen de profielen veel sterker van elkaar verschillen. Dit resulteert vaak in een ruimtelijke genetische structuur, waarbij populaties hun eigen karakteristieke genetische samenstelling vertonen. Op basis van deze 'genetische vingerafdruk' kan geprobeerd worden een onbekend dier te herleiden tot de meest waarschijnlijke bronpopulatie. Daarbij wordt het profiel van het onbekende dier vergeleken met een database van genetische profielen van zo veel mogelijk potentiële bronpopulaties. Met statistische methoden kan worden bepaald bij welke populatie het onbekende profiel het best past.

Toepassing van deze methode vereist echter een voldoende onderscheid tussen de mogelijke bronpopulaties. Wanneer populaties recent zijn ontstaan uit dezelfde bron of als sprake is van regelmatige onderlinge genetische uitwisseling, kan de genetische samenstelling zodanig op elkaar lijken dat het onmogelijk is om te bepalen uit welk van beide populaties een migrant afkomstig was (Figuur 1). Voordat kan worden overgegaan tot toepassing van DNA als methode voor herkomstbepaling van in Nederland waargenomen edelherten en wilde zwijnen, zal daarom per soort 1) een referentiedatabase opgezet moeten worden met genetische profielen van een voldoende grote steekproef van individuen uit alle mogelijke bronpopulaties en 2) onderzocht moeten worden in welke mate deze populaties inderdaad elk een unieke genetische samenstelling vertonen.



Figuur 1 Een schematisch voorbeeld van de mogelijkheden voor herkomstbepaling op basis van DNA voor denkbeeldige zwijnenpopulaties. Verschillende kleuren geven een verschillende genetische variant weer. De zwijnenpopulaties in de bosgebieden I, II en III hebben elk een andere genetische samenstelling. In het nieuw gekoloniseerde gebied A bevindt zich een zwijn met een genetische samenstelling die kenmerkend is voor bosgebied I. Bosgebied I is dus het meest waarschijnlijke herkomstgebied. Voor het zwijn uit gebied B is echter niet met zekerheid te zeggen of het uit bosgebied II of III afkomstig is, omdat de samenstelling van deze twee potentiële brongebieden deels overlapt.

1.2 Genetische variatie en uitwisseling

1.2.1 Het nut van variatie

Biodiversiteit wordt vaak op drie niveaus gedefinieerd: op het niveau van (1) ecosystemen en habitats, (2) op soortsniveau en (3) op populatie- en individu niveau (genetische biodiversiteit). Om genetische diversiteit te analyseren, zijn verschillende technieken ontwikkeld. Indien stukjes van het DNA worden onderzocht die coderen voor een eiwit (functioneel DNA), spreekt men over een *gen* of genen. Indien de onderzochte stukjes DNA geen functie of een onbekende functie hebben, spreekt men van een *merker* of *locus* (meervoud: **loci**). Voor het schatten van de gemiddelde variatie en verwantschap in dierlijke populaties wordt meestal gebruikgemaakt van DNA-fragmenten zonder functie en spreekt men dus van loci. Twee veelgebruikte maten voor het weergeven van genetische diversiteit zijn de allelvariatie en de mate van heterozygositeit.

De *allelvariatie* geeft aan hoeveel varianten (ook wel **allelen** genoemd) er gemiddeld per onderzocht locus aanwezig zijn in de gehele populatie. Dit geeft dus een schatting van de totale variatie op populatieniveau. Het belang van diversiteit tussen individuen in een populatie laat zich het best verklaren door genen als pakketjes informatie te beschouwen. Bij een grote variatie aan allelen is er dus veel informatie aanwezig. Deze informatie hoeft niet direct noodzakelijk te zijn voor de huidige overleving, maar kan bij veranderende omgevingsfactoren de overlevingskansen sterk verbeteren. Is ergens in de populatie de juiste informatie (de juiste genetische eigenschappen) aanwezig die nodig is om de nieuwe omstandigheden te doorstaan, dan zal de populatie zich via natuurlijke selectie kunnen aanpassen: de individuen die over de geschiktste eigenschappen beschikken, zullen overleven. Bij gebrek aan variatie gaat dit aanpassingsvermogen verloren en kan het gebeuren dat alle individuen verloren gaan.

Daarnaast bestaat er ook variatie binnen een individueel dier: voor vertebraten, zoals hoefdieren, geldt dat een individu van elk deel van het DNA twee kopieën bezit (waarvan eentje afkomstig van de vader en eentje van de moeder). Wanneer dit voor een bepaald fragment twee verschillende varianten zijn (ofwel in populatie-genetische termen: twee allelen per locus), wordt het individu **heterozygoot** genoemd voor dit fragment. Indien het twee dezelfde varianten bezit is het **homozygoot**. Vrijwel altijd is een individu voor sommige delen van zijn/haar DNA heterozygoot en voor andere delen homozygoot.

Een gebrek aan genetische variatie binnen een individu, oftewel een laag percentage heterozygositeit, kan problemen opleveren. Een verklaring daarvoor is het bestaan van schadelijke allelen: gemuteerde versies van een gen (Charlesworth & Charlesworth 1987). Zolang een individu heterozygoot is voor dit gen, is er dus nog een tweede versie van het gen dat wel functioneert, en kan het gen zijn werking blijven uitoefenen. Echter, wanneer een individu homozygoot is voor de schadelijke versie, kan het gen zijn werking verliezen. Dat kan ervoor zorgen dat het dier minder gezond is of minder goed in staat is zich voort te planten.

1.2.2 Genetische verarming en inteelt in kleine populaties

In de huidige, sterk door mensen beïnvloede wereld hebben steeds meer soorten te maken met een kleine populatieomvang. Ook bij de zwijnen en herten in Europa is dit regelmatig aan de orde, vanwege meerdere oorzaken. Voor beide soorten geldt dat een deel van het voormalige leefgebied verloren is gegaan en het overgebleven leefgebied versnipperd is geraakt door bebouwing, wegen en herten- of zwijnenwerende barrières (zoals op de Veluwe, zie sectie 1.3.4). Deze situatie kan resulteren in een opsplitsing van populaties in kleinere deelpopulaties. Daarnaast zijn nieuwe populaties ontstaan: hetzij op kunstmatige wijze, zoals in geval van de introductie van het edelhert in het Weerterbos en de Oostvaardersplassen, hetzij door (tenminste grotendeels) natuurlijke kolonisatie, zoals in geval van de zwijnen in Limburg. Veel van deze nieuwe populaties zijn nog slechts beperkt van omvang.

Hoe kleiner een populatie, des te kwetsbaarder deze is voor toevallige factoren (Shaffer 1987). Een voorbeeld is de zogenaamde **genetische drift**. Bij het doorgeven van de genetische variatie van de ene generatie naar de volgende, kunnen de verhoudingen in het voorkomen van verschillende

genetische varianten verschuiven, en sommige varianten bij toeval zeldzamer worden. Vervolgens kunnen sommige zeldzame genetische varianten verloren gaan doordat per toeval alle dieren verdwijnen die deze variant bezaten. Dit verlies van zeldzame varianten is waarschijnlijker in een kleine populatie (Buiteveld & Koelewijn 2006). Immers, een variant die slechts in 10% van de individuen voorkomt, zal in een populatie van 100 individuen in 10 individuen aanwezig zijn. Wanneer eentje hiervan sterft, zijn er nog negen over, en blijft de variatie behouden. In een populatie van tien individuen daarentegen, is slechts gemiddeld 1 individu drager van deze variant. Mocht dit individu door toeval sterven (bijvoorbeeld als verkeersslachtoffer), dan gaat deze variant blijvend verloren. Belangrijk thema in het natuurbeheer is dan ook de Minimale Levensvatbare Populatieomvang (MVP: Frankham 2010; De Groot *et al.* 2014): hoe groot moet een populatie zijn om levensvatbaar te zijn? Dit is van vele factoren afhankelijk, zoals of de soort monogaam is (alle dieren dragen bij aan voortplanting) of polygaam (alleen een fractie draagt bij aan de voortplanting). Bij polygame soorten kan de genetische verarming sneller optreden en is dus de MVP ook groter. Om hier meer inzicht in te krijgen, is het dan ook wenselijk om van nieuwe populaties DNA-monsters te nemen van de uitgezette dieren, zodat het proces in de tijd gevolgd kan worden. Graadmeter van een MVP is daarbij het aantal dieren waarbij de variatie op peil blijft.

Genetische verarming gaat in kleine populaties vaak hand in hand met een toename van de paring tussen verwanten, oftewel **inteelt** (Frankham *et al.* 2010). Hoe minder variatie, hoe groter de kans op paring van individuen met een overeenkomst in genetische achtergrond. En omgekeerd leidt paring tussen dieren met een overeenkomst in genetische achtergrond tot een afname van de variatie onder het nageslacht. In een kleine, geïsoleerde populatie zal in de loop der generaties de verwantschap tussen individuen altijd geleidelijk toenemen, en daarmee ook de kans op inteelt (Frankham *et al.* 2010). In een kleine populatie gaat dit proces sneller, omdat er minder potentiële partners zijn om uit te kiezen.

Bij paring tussen twee verwante dieren is de kans groter dat beide ouders dezelfde allelen doorgeven aan hun kinderen. Het resultaat is dan dus een lagere heterozygositeit in de volgende generatie. Wanneer sprake is van sterke inteelt, kan de heterozygositeit zo laag worden, dat problemen ontstaan met de overleving en reproductie (zoals beschreven in de vorige sectie). In dit geval spreekt men van **inteeltdepressie** (Charlesworth & Charlesworth 1987). Onderzoek aan vele diersoorten heeft aangetoond dat ook wilde populaties hier gevoelig voor zijn en dat inteeltdepressie de kans op uitsterven sterk kan vergroten (Frankham 2010; De Groot *et al.* 2014).

Naast inteeltdepressie bestaat er uitteeltdepressie. Dit betreft het opheffen van door lokale selectie en adaptatie verworven specifieke genetische variatie in een populatie door het mengen met niet-verwante dieren. Bij (her)introductions is dit een belangrijk aspect (Frankham 2010; De Groot *et al.* 2014). Vanwege de vele kunstgrepen door mensen met de samenstelling van herten en zwijnen in Nederland en Europa en het opportunisme van deze soorten, is het voor deze soorten minder relevant bij introductions in Nederland.

1.2.3 De noodzaak tot uitwisseling

Hoewel de totale aantallen zwijnen en edelherten in ons land aanzienlijk zijn, zijn deze wel verdeeld over een beperkt aantal leefgebieden. Wanneer zich tussen groepen dieren in verschillende gebieden strikte barrières bevinden die migratie van de ene naar de andere groep onmogelijk maakt, is dus in feite sprake van afzonderlijke populaties. Dit tast het herstellend vermogen van de populatie aan, in demografisch opzicht (een aantalsafname door sterfte wordt niet aangevuld via immigratie), maar ook in genetisch opzicht: de lokale genetische variatie wordt niet aangevuld door immigranten die nieuwe variatie met zich meebrengen (Frankham *et al.* 2010), waardoor genetische verarming niet op natuurlijke wijze kan worden geremd of ongedaan gemaakt.

Bij diverse herten- en zwijnenpopulaties in ons land, zoals in het Weerterbos en in de Oostvaardersplassen, is momenteel sprake van totale isolatie. In dergelijke gevallen is het belangrijk om de genetische variatie te monitoren, zodat eventuele genetische verarming en inteelt op tijd worden gesignaleerd. Op de Veluwe is sprake van een complexere historie van versnippering in het verleden door de aanleg van wegen en rasters, en recente ontsnippering door verwijdering van rasters en aanleg van faunapassages. In welke mate het voor zwijnen en herten mogelijk is geweest om te migreren tussen specifieke deelgebieden is tot op zekere hoogte bekend (en wordt in de volgende

sectie verder uitgewerkt). Onduidelijk is echter in hoeverre genetische uitwisseling heeft opgetreden. Met andere woorden: hebben eventuele migranten ook daadwerkelijk via voortplanting bijgedragen aan de genetische samenstelling van de bereikte populatie?

Genetisch onderzoek kan helpen om deze vraag te beantwoorden door te kijken naar verschillen in genetische samenstelling tussen groepen dieren aan weerszijden van veronderstelde barrières. Indien een populatie versnipperd raakt, zal bij gebrek aan uitwisseling na verloop van tijd genetische differentiatie optreden: toevallige veranderingen in genetische samenstelling (genetic drift) stapelen zich op en verschillen per populatie, zodat hun genetische samenstelling gaat afwijken. Bij regelmatige genetische uitwisseling wordt dit voorkomen. Populaties die genetisch van elkaar verschilden (door isolatie in het verleden en/of een verschil in origine), zullen bij regelmatige uitwisseling weer sterker op elkaar gaan lijken. Een juiste interpretatie van dergelijke ruimtelijke patronen in genetische samenstelling vereist echter voldoende kennis van de historie van de populaties.



Foto 1 *Roosters en rasters voorkomen dat hoefdieren buiten de gewenste leefgebieden kunnen komen, maar vormen daarmee wel een barrière voor natuurlijke uitwisseling. (© Hugh Jansman)*

1.2.4 De Veluwe: een complexe historie van uitzet en versnippering en ontsnippering van leefgebieden

De genetische samenstelling van een populatie, en de manier waarop deze zich verhoudt tot de samenstelling van andere naburige populaties, is dus afhankelijk van een combinatie van factoren: 1) de origine van de dieren die de lokale populaties hebben gesticht, 2) de origine van eventuele dieren die later door de mens zijn toegevoegd, 3) de mate van uitwisseling met naburige populatie en 4) de dynamiek van de lokale populatie in termen van voortplantingsgedrag (met name partnerkeuze) en sterfte, mogelijk mede gestuurd vanuit beheer, bijvoorbeeld gericht op gewei vorm. Als gevolg van actief en intensief populatiebeheer zijn bij de wilde zwijnen en edelherten op de Veluwe al deze factoren in hoge mate door de mens beïnvloed. Bij beide soorten is sprake van een complexe populatiehistorie, waarbij regelmatig dieren vanuit diverse gebieden in Europa zijn geïmporteerd en uitgezet, en meermaals dieren zijn getransporteerd binnen de Veluwe. Jacht maakt van oudsher, en ook nu nog, een wezenlijk onderdeel uit van het populatiebeheer, en beïnvloedt daarmee de

populatie dynamiek. Daarnaast is met name in de twintigste eeuw de vrije uitwisseling binnen de Veluwe in hoge mate beperkt door niet alleen een toenemende infrastructuur (waaronder de aanleg van de autosnelwegen A1 en A50), maar ook de plaatsing van een groot aantal zwijnen- en of hertenkerende roosters en rasters (Foto 1). Recentelijk (met name deze eeuw) is een deel van deze versnippering van leefgebied weer ongedaan gemaakt, onder meer door het weghalen van rasters, de plaatsing van in- en uitsprongen in rasters, en de bouw van wildwissels (ecoducten) over de snelwegen.

Een juiste interpretatie van genetische patronen binnen en tussen de (deel)populaties van edelherten en wilde zwijnen op de Veluwe vereist dan ook een goed inzicht in elk van deze factoren. Ten behoeve van het voorliggende onderzoek zijn voor zowel de edelherten als de wilde zwijnen de belangrijkste gebeurtenissen met betrekking tot uitzet, beheer, versnippering en ontsnippering in kaart gebracht. Een gedetailleerde beschrijving is beschikbaar als Bijlage 1 (voor edelherten) en Bijlage 2 (voor wilde zwijnen). Hieronder zullen de belangrijkste elementen kort worden toegelicht.

Historie edelherten

Aan het einde van de negentiende eeuw was sprake van een aantal bosrestanten op de Veluwe waarin nog een beperkt aantal edelherten als standwild voorkwam (Brouwer, 1949). Er waren tot dan toe geen noemenswaardige fysieke barrières op de Veluwe. Dit veranderde in 1896, toen een deel van het huidige Kroondomein Het Loo (hieronder in figuren en tabellen afgekort als KDHL) werd omrasterd (Brouwer 1949). Begin twintigste eeuw werd deze gesloten wildbaan verder uitgebreid en werd tevens gestart met de rasters rond de Hoge Veluwe en het Deelerwoud. Zowel naar Kroondomein Het Loo als op de Hoge Veluwe zijn diverse herten geïmporteerd uit geheel Europa (voornamelijk Duitsland, Schotland en Oost-Europa; Van den Hoorn 1996 en Bak 2009). Ook was in aanzienlijke mate sprake van transport van herten tussen deze drie gesloten wildbanen (kunstmatige uitwisseling). Kort na de Tweede Wereldoorlog was door een flink aantal gaten in de rasters aanzienlijke uitwisseling mogelijk tussen de verschillende vrije en gesloten wildbanen (Foto 2), maar bleek tevens door jacht het aantal herten in de vrije wildbanen aanzienlijk te zijn geslonken tot enkele tientallen; behalve in Kroondomein Het Loo, waar nog zo'n 450 stuks edelherten voorkwamen (Brouwer 1949). Sinds het midden van de twintigste eeuw vond een ingrijpende versnippering plaats als gevolg van de aanleg van de snelwegen A1 en A50 en een groot aantal rasters. De ligging van deze rasters is op kaart weergegeven in Figuur 2. Belangrijke belemmeringen tussen het noorden, zuidwesten en zuidoosten van de Veluwe werden gevormd door de aanleg van de A1 (1971) en het Hoog Buurlo- en Bloemersraster (Hoenderloo-Assel-Stroe) omstreeks 1960. Meer details over de periode waarin de verschillende rasters werden geplaatst, zijn in tabelvorm beschikbaar in Bijlage 1.

De afbakening van de negen leefgebieden die momenteel worden onderscheiden op de Veluwe komt globaal overeen met de ligging van de barrières. De ligging van deze gebieden, aangeduid met de codering EH1-9, is schematisch weergegeven in Figuur 2.

In de afgelopen 25 jaar is een deel van de rasters verwijderd of verlaagd om uitwisseling van herten mogelijk te maken, beginnend met de verwijdering van het Hoog Buurlo-raster in 1989. Ook is een aantal gesloten wildbanen opgeheven. Tevens is de versnipperende werking van de snelwegen deels opgegeven door de aanleg van diverse ecoducten.

Historie wilde zwijnen

In de negentiende eeuw waren wilde zwijnen nog maar sporadisch aanwezig op de Veluwe. Van totale afwezigheid was geen sprake, maar slechts van de regio onder Loenen en in de Onzalige Bossen (Zuidoost-Veluwe) is bekend dat nog kleine aantallen zwijnen voorkwamen (Litjens 1987). De rasters van de gesloten wildbanen die aan het begin van de twintigste eeuw werden aangelegd (zoals hierboven beschreven), golden – behalve voor edelherten – eveneens als barrières voor wilde zwijnen. Onbekend is of in het Deelerwoud zwijnen voorkwamen. Zeker is echter dat in deze periode zwijnen afkomstig uit Duitsland en Oost-Europa werden uitgezet in Kroondomein Het Loo. Tijdens de Tweede Wereldoorlog werden door de Duitse bezetters wilde zwijnen vanuit Kroondomein Het Loo overgebracht naar de Hoge Veluwe en later vanuit daar naar de Onzalige Bossen (Litjens 1987). Tegen het einde van de veertiger jaren en het begin van de vijftiger jaren werd in verschillende grotere jachtvelden, zoals de Onzalige Bossen op de Zuidoost-Veluwe en Welna en omgeving op de Noordoost-Veluwe, een schoorvoetend begin gemaakt met gericht jachtbeheer. In de vijftiger jaren werd gestart met de aanleg van een flink aantal rasters ter voorkoming van edelhertenschade. Ook ontstonden er nieuwe gesloten wildbanen, zoals het Vierhouterbos. Als gevolg daarvan kon in een

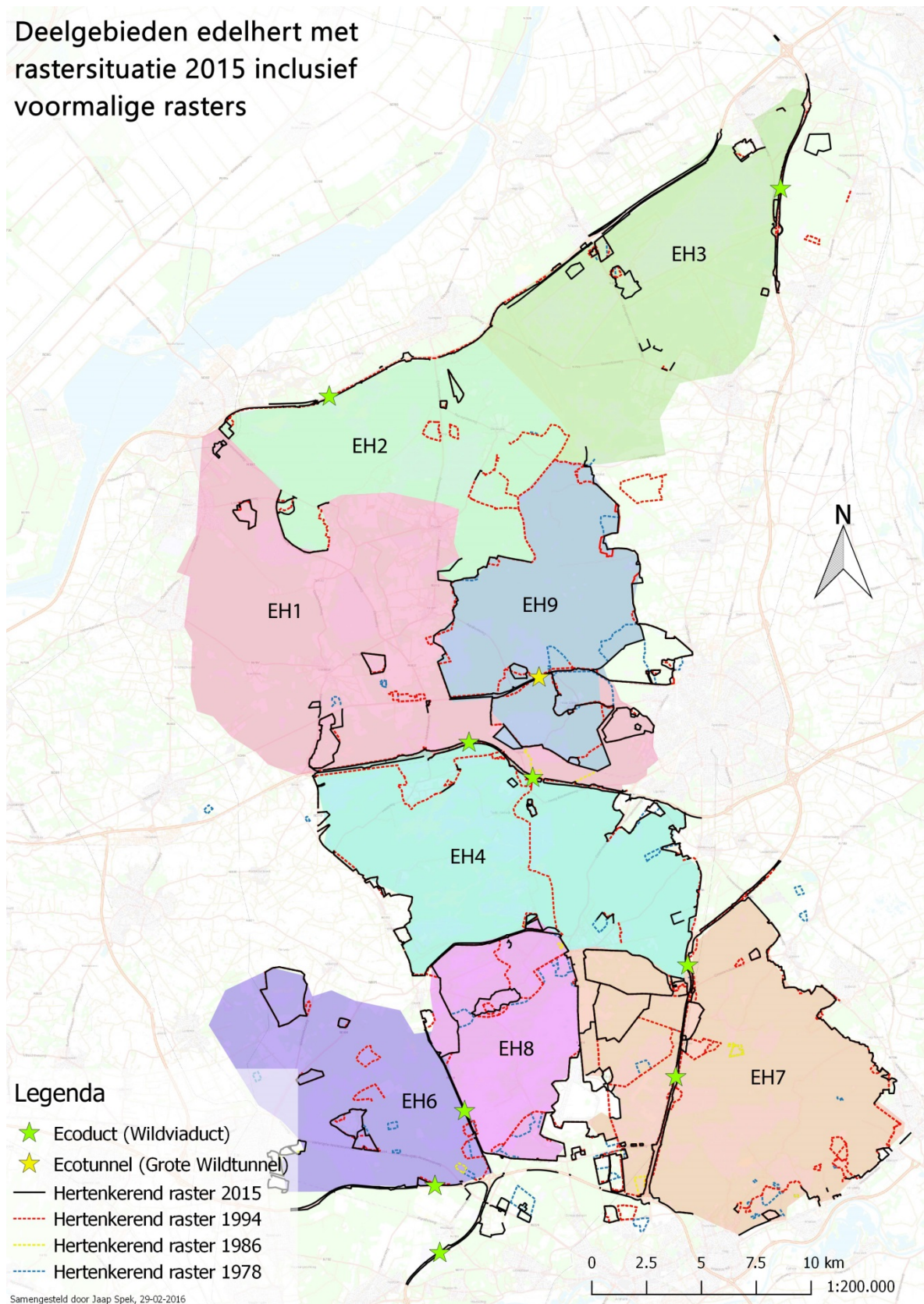
aantal gebieden in de vrije wildbaan de aantallen zwijnen toenemen. In de jaren zeventig namen door toegenomen bescherming de aantallen zwijnen toe. Doordat ook de landbouw intensiverde, nam de schade toe. Vanaf 1978 werden daarom aanvullende rasters geplaatst en beter onderhouden. In Figuur 3, waarin de belangrijkste huidige en voormalige zwijnenkerende rasters op kaart zijn weergegeven, is zichtbaar dat hiermee het leefgebied op de Veluwe voor zwijnen aanzienlijk sterker versnipperd raakte dan voor edelherten het geval was. Ook hier geldt echter dat vanaf eind jaren tachtig een start is gemaakt met ontsnippering. Hoewel in de afgelopen jaren ook nog op diverse plaatsen nieuwe rasters zijn geplaatst (zie Bijlage 2), is er inmiddels sprake van een samenhangende populatie wilde zwijnen op de Veluwe.

De huidige Veluwe wordt opgedeeld in een negental beheersgebieden voor wilde zwijnen (aangeduid met de codering WZ1-9), die eveneens in Figuur 3 schematisch op kaart zijn weergegeven. De afbakening van deze gebieden komt globaal overeen met de ligging van de belangrijkste voormalige en huidige barrières, die eveneens op de kaart zijn aangegeven.



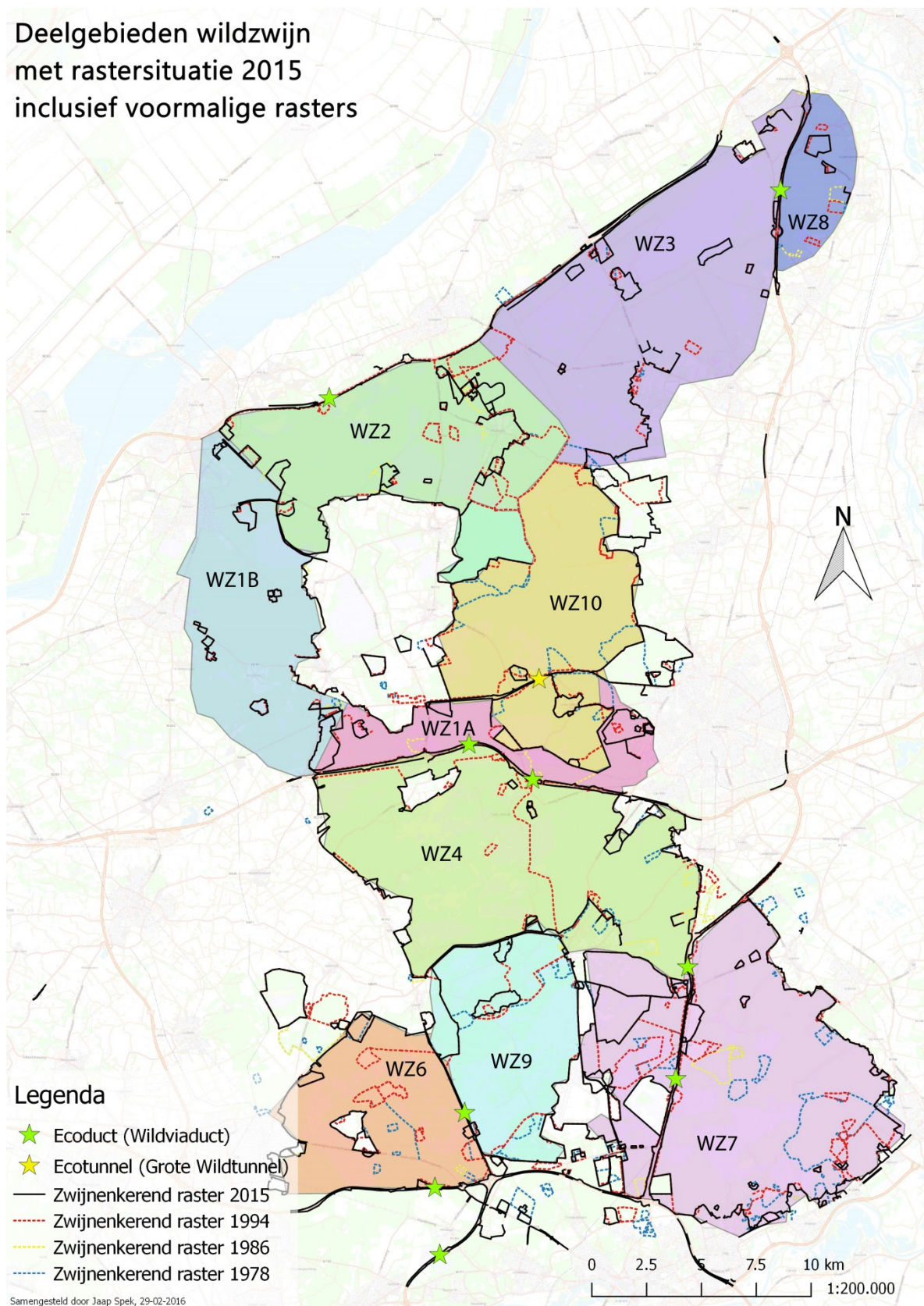
Foto 2 Rasters kunnen door omvallende bomen of vandalisme hun wildkerende werking tijdelijk verliezen waardoor hoefdieren zich kunnen verspreiden. (© Hugh Jansman)

Deelgebieden edelhert met rastersituatie 2015 inclusief voormalige rasters



Figuur 2 Geografische ligging van de leef-/beheersgebieden van edelherten op de Veluwe (EH1-9) en de ligging van de diverse hertenkerende rasters. Voor de aanwezigheid van de rasters zijn vier peiljaren aangehouden, die met verschillende kleuren zijn weergegeven (zie legenda). Een rode stippellijn betreft dus bijvoorbeeld een raster dat in 1994 nog aanwezig was, maar in 2015 niet meer. De ligging van wildwissels (ecoducten en een wildtunnel) is weergegeven met een ster.

Deelgebieden wildzwijn
met rastersituatie 2015
inclusief voormalige rasters



Figuur 3 Geografische ligging van de leef-/beheersgebieden van wilde zwijnen op de Veluwe (WZ1-10) en de ligging van de diverse zwijnenkerende rasters. Voor de aanwezigheid van de rasters zijn vier peiljaren aangehouden, die met verschillende kleuren zijn weergegeven (zie legenda). Een rode stippellijn betreft dus bijvoorbeeld een raster dat in 1994 nog aanwezig was, maar in 2015 niet meer. De ligging van wildwissels (ecoducten en een wildtunnel) is weergegeven met een ster.

1.3 Vraagstelling

In overleg met de opdrachtgevers, BIJ12 – Unit Faunafonds en Vereniging Het Edelhert, werd een drietal onderzoeksvragen vastgesteld die in dit onderzoek elk werden onderzocht voor zowel de edelherten als de wilde zwijnen:

1) In hoeverre kan de meest waarschijnlijke herkomstpopulatie van een individueel dier worden achterhaald op basis van diens DNA?

2) In hoeverre zijn de Nederlandse populaties voldoende genetisch divers?

3) In welke mate bestaan er binnen de Veluwe ruimtelijke verschillen in genetische samenstelling en in hoeverre zijn deze te verklaren door verschillen in origine en de versnippering en ontsnippering van het leefgebied?

1.4 Onderzoeksopzet

De kern van het huidige onderzoek wordt gevormd door een dataset bestaande uit individuele genetische profielen van ruim 380 edelherten en ruim 1000 wilde zwijnen, uit alle leefgebieden in Nederland, aangevuld met de meest relevante Belgische en Duitse populaties nabij de grens met Nederland, en enkele referentiepopulatie op grotere afstand. Deze dataset werd binnen dit onderzoek gegenereerd, op basis van DNA-monsters die op verzoek van Alterra door een groot aantal monsternemers werden verzameld, aangevuld met profielen verkregen van collega-onderzoekers (zie hoofdstuk 2 voor een volledige beschrijving van de totstandkoming van de monstercollectie en genetische profielen).

Van alle waarschijnlijke bronpopulaties van edelherten en wilde zwijnen die in Nederland worden gesignaleerd, omvat deze dataset een voldoende grote steekproef om een beeld te krijgen van de genetische samenstelling. Met behulp van specifieke statistische software is vervolgens bekeken in hoeverre deze genetische samenstelling voldoende verschilt tussen deze populaties om een onbekend individu op basis van diens genetische profiel aan de meest waarschijnlijke bron toe te wijzen (onderzoeksvraag 1). Indien dat het geval is, kan de gegenereerde dataset in de toekomst dienen als een referentiesysteem om zulke herkomstbepalingen uit te voeren. Als proef op de som is ook voor enkele edelherten en wilde zwijnen die recentelijk in nulstandgebied (buiten de officiële leefgebieden) werden aangetroffen een genetisch profiel gegenereerd en is geprobeerd de bron te achterhalen. Dezelfde genetische dataset biedt ook de mogelijkheid om voor elk van de opgenomen populaties in meer detail de genetische samenstelling te bekijken. Op deze manier is de genetische variatie in beeld gebracht en vergeleken met de variatie in naburige populaties en referentiepopulaties in het buitenland, om zo een antwoord te geven op onderzoeksvraag 2. Ook kon op basis van dezelfde profielen worden bekeken in hoeverre binnen de populatie verschillende bloedlijnen te onderscheiden zijn (oftewel 'genetische substructuur'). Voor de Veluwe werd dit meer in detail uitgewerkt, om te kijken in hoeverre genetische verschillen bestaan tussen de deelpopulaties in de diverse beheersgebieden. Geprobeerd is vervolgens om de gevonden verschillen te verklaren aan de hand van bekende informatie (deels verkregen van experts en deels uit de literatuur) over de origine van de lokale populatie, en de huidige of voormalige aanwezigheid van wildkerende rasters (onderzoeksvraag 3).

2 Materiaal en methode

2.1 Bemonstering

2.1.1 Wijze van bemonstering

Al ruim tien jaar geleden werd op initiatief van Alterra gestart met het verzamelen van DNA-monsters van edelherten en wilde zwijnen uit de verschillende Nederlandse leefgebieden, ten behoeve van toekomstig onderzoek. Daarvoor werd gebruikgemaakt van dieren die tijdens de reguliere jacht werden geschoten, aangevuld met verkeersslachtoffers (valwild). Door Alterra werden onder andere via de Vereniging Wildbeheer Veluwe, maar ook rechtstreeks aan Natuurmonumenten en Staatsbosbeheer, monstermaterialen verstrekt. Per dier werd een stukje weefsel afgenomen, in de meeste gevallen van de tong of het oor, in een potje met 96% ethanol opgeslagen en teruggestuurd naar Alterra, waar de monsters werden gearhiveerd en ingevroren op -18 graden Celsius. Alle monsterpotjes waren reeds voorzien van een unieke monstercode. Op een meegeleverd monsterformulier werden naast deze code ook de datum en plaats van bemonstering genoteerd, evenals het geslacht en een leeftijdsschatting. In het geval van regulier geschoten dieren worden door jagers deze gegevens al standaard bijgehouden.

Per populatie, en per deelpopulatie op de Veluwe, is zo getracht minimaal 25 monsters te verzamelen. Indien veel grotere aantallen monsters beschikbaar waren, is een selectie gemaakt op basis van locatie, datum, geslacht en leeftijd, om zo te komen tot een degelijke steekproef van de lokale populatie.

2.1.2 Onderzochte populaties van edelherten

Tabel 1 geeft een overzicht van de diverse bemonsterde (deel)populaties van edelherten. De ligging van deze populaties is zichtbaar in Figuur 4.

Tabel 1

Overzicht van de bemonsterde (deel)populaties van edelherten en de periode van bemonstering. Deelpopulaties op de Veluwe werden grofweg gedefinieerd aan de hand van de beheersgebieden voor edelherten (onderscheiden met een EH-code).

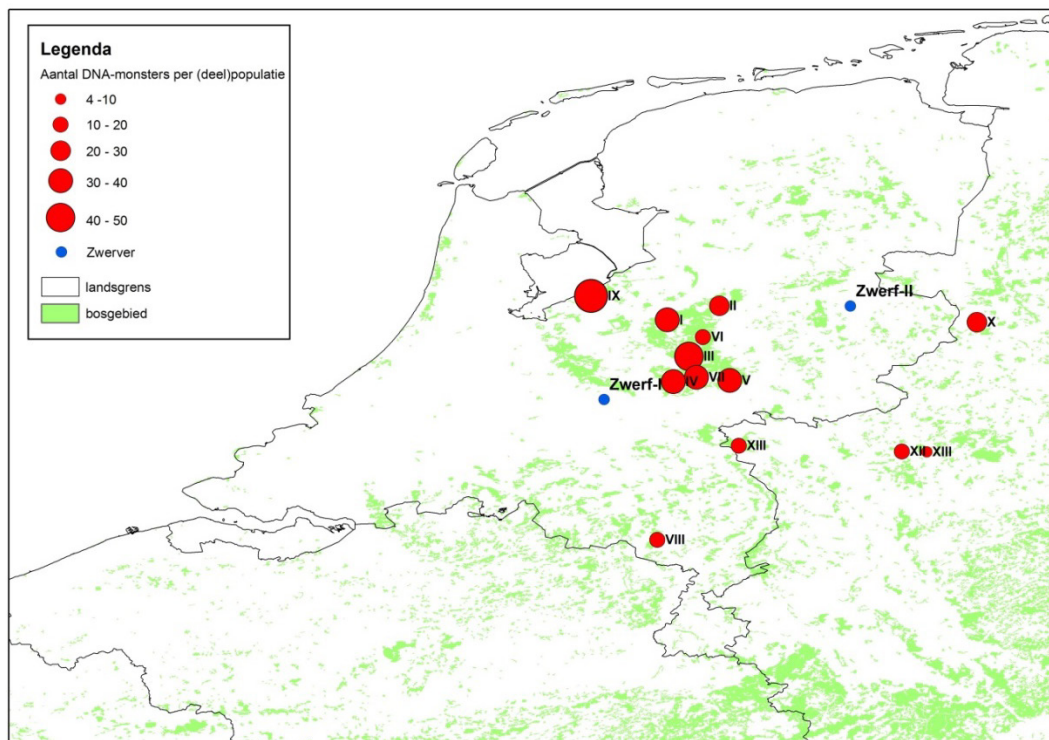
Code	Naam	Beheersgebied	Periode
Veluwe			
I	Veluwe Noordwest (EH1+2)	EH1 + EH2	2007
II	Veluwe Noordoost (EH3)	EH3	2007
III	Veluwe Midden (EH4)	EH4	2007
IV	Veluwe Zuidwest (EH6)	EH6	2005-2006
V	Veluwe Zuidoost (EH7)	EH7	2005-2007
VI	Veluwe KDHL	EH9	2011
VII	NP Hoge Veluwe	EH8	2007-2009
Nederland overig			
VIII	Weerterbos		2006
IX	Oostvaardersplassen		2007
Duitsland			
X	Bentheim		2010
XI	Dämmerwald		2010
XII	Üfter Mark		2010
XIII	Reichswald		2012
XIV	Eifel		2014

Sinds 2005 is gestart met monsternamen op de Veluwe. Daarbij werd een aantal deelpopulaties onderscheiden, grotendeels op basis van de diverse beheersgebieden voor edelherten op de Veluwe, die in veel gevallen door hertenkerende rasters van elkaar gescheiden zijn, of zijn geweest. Omdat tussen de twee beheersgebieden in het noordwesten van de Veluwe (EH1 en EH2) een blijvende uitwisseling mogelijk was, zijn de herten uit deze twee gebieden als één deelpopulatie beschouwd. De meeste monsters zijn afkomstig uit de diverse terreinen van Staatsbosbeheer en Natuurmonumenten en zijn verzameld in de periode 2005–2007. Kort daarna zijn tevens monsters verkregen uit Kroondomein Het Loo en het Nationaal Park De Hoge Veluwe. Gelijktijdig zijn ook monsters verkregen uit de twee andere leefgebieden in Nederland: het Weerterbos en de Oostvaardersplassen.

Voorafgaand aan het huidige onderzoek is, in samenwerking met Vereniging Het Edelhert, getracht om monsters te verkrijgen van edelherten in een aantal bosgebieden in Duitsland, nabij de grens met Nederland, die als mogelijke bron van zwervende edelherten in Nederland zou kunnen dienen: Forst Bad Bentheim, de nabij elkaar gelegen Revieren van het Dämmerwald en Üfter Mark, en het Reichswald. Ook werden monsters verkregen uit een verder weg gelegen populatie, de Eifel, die in dit onderzoek is opgenomen om een referentiebeeld te krijgen van de genetische diversiteit en samenstelling buiten het directe onderzoeksgebied. De populatie in het Reichswald bevindt zich binnen een raster; voor de overige bemonsterde Duitse populaties is dat niet het geval, hoewel overal wel sprake is van actief populatiebeheer en de herten zich niet eenvoudig buiten het aangewezen leefgebied kunnen begeven.

Ten slotte zijn in het huidige onderzoek DNA-monsters opgenomen van twee zwervende herten die buiten de officiële leefgebieden werden aangetroffen. Het betrof een dier aangetroffen nabij Maurik (Betuwe; Zwerf-I in Figuur 4) en een dier aangetroffen bij Hoge Hexel (Twente; Zwerf-II in Figuur 4). De oorsprong van deze dieren was onduidelijk. Deze monsters zijn daarom als casestudy opgenomen, om aan de hand van de ontwikkelde referentiedata de meest waarschijnlijk bronpopulatie te bepalen.

In totaal is voor monsters van 400 edelherten een DNA-analyse uitgevoerd.



Figuur 4 Geografische ligging van de (deel)populaties van edelherten en van de twee aangetroffen zwervers, waarvan in deze studie monsters werden meegenomen. De grootte van de rode stippen geeft een indicatie van het aantal individuen waarvan in de definitieve dataset genetische profielen beschikbaar waren (zie sectie 3.1 voor details). De populatiecodes komen overeen met Tabel 1. De verder weg gelegen referentiepopulatie Eifel (XIV) valt buiten de kaart.

2.1.3 Onderzochte populaties van wilde zwijnen

Tabel 2 geeft een overzicht van de diverse (deel)populaties van wilde zwijnen waarvan in dit onderzoek monsters zijn opgenomen. De ligging van deze populaties is zichtbaar in Figuur 5. Net als bij de edelherten werden ook voor de wilde zwijnen diverse deelpopulaties binnen de Veluwe onderscheiden, die grotendeels werden gedefinieerd op basis van de voor zwijnen vastgestelde beheersgebieden en die in de meeste gevallen grotendeels van elkaar gescheiden zijn met zwijnenkerende rasters. In enkele gevallen werd van deze indeling afgeweken vanwege de aanwezigheid van rasters binnen een beheersgebied (onderscheid tussen WZ1A en WZ1B) of de afwezigheid van duidelijke afscheidingen tussen twee beheersgebieden (WZ3 en WZ8). Monsternamen vond plaats tussen 2005 en 2009. Tussen 2007 en 2009 werden ook voor de wilde zwijnen monsters verkregen uit Nationaal Park De Hoge Veluwe en Kroondomein Het Loo. Tevens waren oudere monsters beschikbaar uit zowel Kroondomein Het Loo als het voormalige Staatswildreservaat, genomen tussen 1989 en 1994.

Tabel 2

Overzicht van het aantal genetische profielen (N) per populatie in de uiteindelijke dataset voor wilde zwijnen.

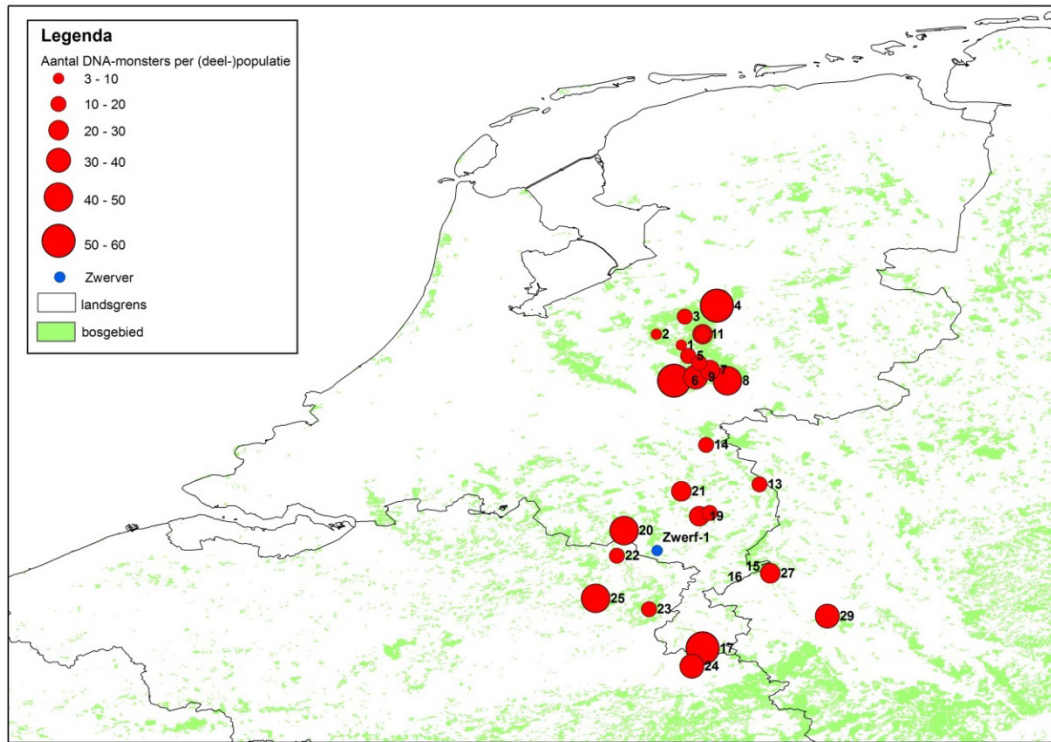
Code	Naam	Beheersgebied	Periode bemonstering
Veluwe			
1	Noordwest A	WZ1A	2006-2007
2	Noordwest B	WZ1B	2007
3	Vale Ouwe	WZ2	2006-2007
4	Noordoost	WZ3 + WZ8	2007-2008
5	Midden	WZ4	2007-2008
6	Zuidwest	WZ6	2005-2006
7	Hoog Deelen		2005
8	Zuidoost	WZ7	2005
9	NP Hoge Veluwe	WZ9	2007-2009
10	KDHL Recent	WZ10	2011
11	KDHL Historisch	WZ10	1989-1994
12	Staatswildreservaat Historisch		1989-1994
Nederland overig			
13	Maasduinen		2006-2010
14	KopvanLimburg		2006-2010
15	Nederlandse Meinweg		2006-2010
16	Roerstreek Zuid		2006-2010
17	Zuid-Limburg		2006-2010
18	Limburgse Peel		2006-2010
19	Brabantse Peel		2010-2014
20	Leenderbos		2010-2014
21	Stippelberg		2012-2014
België			
22	Vlaams Limburg-Noord		onbekend
23	Vlaams Limburg-Oost		onbekend
24	Vlaams Voeren		onbekend
25	Vlaams Limburg-West		onbekend
26	Wallonië		onbekend
Duitsland			
27	Meinweg		2008-2010
28	Nordrhein-Westfalen		2008-2010
29	Rheinland-Pfaltz		2008-2010
30	Bayerischen wald		2013
31	Vorpommern		2013
32	Mönchberg		2013

Een groot aantal genetische profielen van de verschillende gebieden in Noord-Brabant en Limburg waar wilde zwijnen voorkomen, was reeds beschikbaar uit eerdere onderzoeksopdrachten. Binnen een onderzoek in opdracht van zowel de Provincie Limburg als de Provincie Noord-Brabant (Jansman *et al.* 2013) werden ruim 700 monsters geanalyseerd, afkomstig uit diverse gebieden in Limburg, België en Duitsland. Daarbij werden acht populaties onderscheiden in Limburg en Noord-Brabant (nummer 13 tot 20 in Tabel 2). De zwijnen in het westelijke (Noord-Brabantse) en oostelijke (Limburgse) deel van de Peel-regio werden destijds in de analyse in verschillende genetische groepen ingedeeld, en zijn daarom ook nu als afzonderlijke populaties opgenomen. In een later onderzoek voor de Provincie Noord-Brabant (Jansman *et al.* 2014) zijn aanvullende monsters geanalyseerd uit het Leenderbos, de Brabantse Peel, en van een extra gebied waar recent zwijnen werden waargenomen: de regio Gemert-Bakel (natuurgebied Stippelberg; populatie 21 in Tabel 2), die ook in de huidige analyses zijn opgenomen.

Vanuit het onderzoek van Jansman *et al.* (2013) zijn al een groot aantal genetische profielen beschikbaar van zwijnen uit diverse regio's in Vlaanderen en Wallonië (populatie 22-26), en West-Duitsland (populatie 27-29) die als brongebied zouden kunnen dienen van zwijnen die ons land bereiken. Dit betrof zowel monsters die destijds door Alterra werden geanalyseerd, als genetische profielen die via collega-onderzoekers werden verkregen (voor meer details, zie Jansman *et al.* 2013). Deze collectie profielen werd in het voorliggende onderzoek opnieuw meegenomen en aangevuld met nieuw gegenereerde profielen voor individuen uit drie verder weg gelegen gebieden in Duitsland: het Bayerischen wald (zuidoost Duitsland), Vorpommern (noordoost Duitsland) en Mönchberg (centraal Duitsland). Monsters van deze drie gebieden werden verkregen via Joost de Jong (Resource Ecology, Wageningen Universiteit) en dienen in de huidige studie als referentie van de genetische samenstelling en diversiteit buiten het studiegebied.

Ten slotte zijn DNA-monsters geanalyseerd van een zestal zwijnen dat in september 2014 zwemmend in de Zuid-Willemsvaart nabij Weert werd aangetroffen (Zwerf-01 in Figuur 5). Dit groepje zwervers diende als casestudy, om aan de hand van de ontwikkelde referentiedata de meest waarschijnlijk bronpopulatie te bepalen.

In totaal zijn binnen het huidige onderzoek voor 393 nieuwe monsters laboratoriumonderzoek uitgevoerd om een genetisch profiel te genereren. De uiteindelijke aantallen profielen die per populatie in de data-analyses werden meegenomen, worden verder besproken in sectie 4.1.



Figuur 5 Geografische ligging van de (deel)populaties van wilde zwijnen en het groepje zwervers, waarvan in deze studie monsters werden meegenomen. De grootte van de rode stippen geeft een indicatie van het aantal individuen waarvan in de definitieve dataset genetische profielen beschikbaar waren (zie sectie 4.1 voor details). De populatiecodes komen overeen met Tabel 2. Vier verder weg gelegen referentiepopulaties in Duitsland (30, 31 en 32) en België (26) vallen buiten de kaart (zie Bijlage 3 voor exacte locaties).

2.2 Genetische analyses

2.2.1 DNA-extractie

Om in een korte tijd veel monsters te kunnen analyseren, zijn DNA-extracties uitgevoerd met de 'NucleoSpin 96 Tissue' kit (Machery-Nagel 2014). Hiervoor is van het bemonsterde weefsel een stukje van ca. 20 mg afgesneden, waarvan de ethanol is verwijderd met een stuk filtreerpapier. Vervolgens kan de extractie in partijen van 96 monsters worden uitgevoerd, volgens het protocol aangeleverd door de fabrikant (Machery-Nagel 2014). Uiteindelijk resulteert deze procedure voor elk monster in gezuiverd DNA, opgelost in een buffervloeistof. Dit DNA-extract dient als uitgangspunt voor de verdere analyses.

Met een 'NanoDrop 2000 Spectrophotometer' is vervolgens steekproefsgewijs de DNA-concentratie bepaald, en op basis daarvan is bepaald hoeveel extract in de verdere analyse moet worden toegevoegd.

2.2.2 Genetische karakterisering

Voor het opstellen van genetische profielen per individueel edelhert of wild zwijn is voor beide soorten gebruikgemaakt van microsatellietmerkers: fragmenten in het DNA die variatie in de lengte van hun code vertonen. Deze lengtevarianten kunnen als allelen worden gescoord (Freeland *et al.* 2011). Per fragment (locus) kan ofwel één allel (in geval van een homozygoot) of kunnen twee allelen (in geval van een heterozygoot) worden waargenomen. Een genetisch profiel wordt gevormd door de waargenomen allelen van meerdere loci gezamenlijk.

De laboratoriumanalyse bestaat uit twee stappen: in de eerste stap wordt per locus het betreffende stukje DNA vermenigvuldigd met behulp van een Polymerase Ketting Reactie (PCR), zodat het stukje

in voldoende hoeveelheid aanwezig is om gedetecteerd te worden. Dit gebeurt vervolgens door het PCR-product onder spanning over een gel te laten lopen (gelelektroforese), waarbij het product als een bandje zichtbaar wordt. De weerstand van de gelmatrix zorgt ervoor dat kleinere fragmenten zich sneller over de gel verplaatsen, zodat allelen met verschillende lengte op verschillende plaatsen op de gel een bandje vormen. Door referentiemonsters met bekende allellengtes mee te laten lopen, wordt voor de onbekende monsters de lengte van de aangetroffen allelen bepaald.

PCR-condities voor analyse van edelherten

Voor edelherten is in dit onderzoek een set van negen microsatelliet loci geanalyseerd. Dit betrof de loci *CSSM16*, *CSSM19*, *CSSM66*, *Haut14*, *CSPS115*, *ETH225*, *Cer14*, *BM1818* en *ILST06* (oorspronkelijk ontwikkeld voor runderen of schapen; voor het eerst getest op edelherten door Kuehn *et al.* (1996; 2003)). Het 5'-eind van elke Forward-primer is gesynthetiseerd met een IRD 700 of een IRD 800nm fluorescent label om de banden zichtbaar te maken op de elektroforesegel. Analyse vond plaats in vier multiplexreacties. De PCRs werden uitgevoerd met 2µl DNA-extract en 8µl PCR-mix in een thermal cyclor. De PCR-mixen werden gemaakt op basis van de 'Qiagen Multiplex PCR Kit' (Qiagen, Hilden, Duitsland) volgens het protocol beschreven in Dellicour *et al.* (2011). De PCR-mix bestond uit 5µl Qiagen Multiplex Buffer, 1µl demi-water, 1µl d Q-solution (Qiagen), en 1µl 10x primermix.

Exacte primerspecificaties, de range in allellengtes per locus, de verdeling van loci over multiplexreacties en het temperatuurverloop van de PCR, zijn terug te vinden in Bijlage 4.

PCR-condities voor analyse van wilde zwijnen

Voor wilde zwijnen analyseerden we in dit onderzoek een set van veertien microsatelliet loci. Dit betrof de loci *S0002*, *S0005*, *S0026*, *S0090*, *S0097*, *S0155*, *S0226*, *Sw122*, *Sw240*, *Sw632*, *Sw857*, *SW911*, *Sw936* en *Sw951*, alle ontwikkeld door Hampton *et al.* (2004). Dezelfde set microsatellietmerkers is ook gebruikt in de analyses van Jansman *et al.* (2013). Het 5'-eind van elke Forward-primer is gesynthetiseerd met een IRD 700 of een IRD 800nm fluorescent label om de banden zichtbaar te maken op gel.

Analyse vond plaats in twee multiplexreacties. De PCR's werden uitgevoerd met 2µl DNA-extract en 8µl PCR-mix in een thermal cyclor. De PCR-mixen werden gemaakt met de 'Qiagen Multiplex PCR-Kit' (Qiagen, Hilden, Duitsland). Om het resultaat zo goed mogelijk te krijgen, is bij multiplex 1 geen Q-solution toegevoegd en bij multiplex 2 wel (Jansman *et al.* 2014). Daardoor bestond de PCR-mix voor multiplex 1 uit 2µl demi-water, 5µl Qiagen Multiplex Buffer en 1µl 10x primermix en de PCR-mix voor multiplex 2 uit 1µl demi-water, 5µl Qiagen Multiplex Buffer, 1µl Qsolution en 1µl 10x primermix. Exacte primerspecificaties, de range in allellengtes per locus, de verdeling van loci over multiplexreacties en het temperatuurverloop van de PCR, zijn beschikbaar in Bijlage 5.

Gelelektroforese

Ten behoeve van de gelelektroforese is eerst 5 µl van het PCR product gedenuatureerd in *loading buffer* (99,6% Formamide, 10 mM EDTA en 0,1% Broomphenol blauw) voor 2 minuten bij 95 °C.

Elektroforese vond vervolgens plaats op een 25 cm lange verticale polyacrylamide gel (6,5% polyacrylamide, 7 M Urea en 1xTBE) met behulp van een LICOR 4300 DNA analyser. Allelscores zijn handmatig vastgesteld.

2.3 Data-analyses

Om de genetische samenstelling van de diverse onderzochte populaties te onderzoeken, de verschillen in samenstelling tussen populaties in beeld te brengen en te bepalen of deze verschillen bruikbaar zijn om de origine van zwerfende dieren te achterhalen, zijn verschillende analyses uitgevoerd op de verkregen genetische profielen. De onderstaande analyses zijn op gelijke wijze uitgevoerd voor de datasets van zowel de edelherten als de zwijnen.

2.3.1 Genetische variatie

De genetische variatie is voor elk van de (deel)populaties afzonderlijk gekarakteriseerd via een aantal verschillende maten. Het gemiddeld aantal allelen per locus is op twee manieren berekend: het

daadwerkelijke totaal aantal allelen in de populatie (A) en het aantal allelen wanneer gecorrigeerd wordt voor verschillen in steekproefgrootte tussen populaties (de allelic richness; A_r). Deze laatste maat is beter vergelijkbaar tussen populaties, maar de eerste maat geeft een beter beeld van de totale variatie die nog in de populatie aanwezig is. Daarnaast werden de verwachte heterozygositeit en de waargenomen heterozygositeit berekend. De verwachte heterozygositeit (H_e) beschrijft het gemiddeld aantal heterozygote individuen per locus dat je zou verwachten indien sprake is van willekeurige paring in de gehele populatie. Het wordt voornamelijk gebruikt als een alternatieve maat voor de genetische variatie in de populatie, die iets beter rekening houdt met de relatieve verhoudingen tussen allelen. Bij een gelijk aantal allelen (A), is H_e lager als één allel heel algemeen is en relatief veel allelen relatief zeldzaam zijn (wat men kan beschouwen als een lagere variatie in de populatie dan als alle allelen even algemeen zijn). De waargenomen heterozygositeit (H_o) is het percentage heterozygote individuen per locus dat daadwerkelijk is waargenomen, en zegt dus iets over de gemiddelde diversiteit binnen individuen in de populatie. Een lage waarde voor H_o is een indicatie dat sprake is van inteelt en geeft aan dat er een hogere kans is op problemen door inteeltdepressie (zie sectie 1.2.2).

Op basis van de verhouding tussen H_e en H_o kan de zogenaamde fixatie-index F_{is} worden berekend ($F_{is}=1-H_o/H_e$). Een waarde van $F_{is}>0$ geeft aan dat de heterozygositeit in de populatie lager is dan je zou verwachten onder willekeurige paring van alle individuen. Dit is een indicatie dat er binnen de populatie sprake is van een substructuur van groepjes relatief verwante dieren die vaker met elkaar paren dan met andere dieren. Vaak is sprake van een ruimtelijke substructuur, maar dat hoeft niet. Ook binnen een gemengde populatie is het mogelijk dat dieren een voorkeur hebben voor meer verwante dieren (bijvoorbeeld als sprake is van verschillen in origine). Een waarde van $F_{is}<0$ geeft aan dat er meer heterozygote dieren zijn dan je bij willekeurige paring zou verwachten. Dit geeft aan dat sprake is van uitkruising: een voorkeur voor genetisch verschillende partners.

De waarden voor A , A_r , H_e , H_o en F_{is} zijn alle bepaald via het computerprogramma *Fstat* (Goudet 1995).

2.3.2 Genetische structuur en uitwisseling

Voor de dataset is ook de mate van paarsgewijze genetische differentiatie (F_{st}) tussen elke combinatie van twee populaties berekend. De F_{st} varieert tussen 0 en 1. Een F_{st} van 0 geeft aan dat de genetische samenstelling van de twee populaties identiek is. Dat wil zeggen dat de allelfrequenties voor de verschillende allelen hetzelfde zijn. Bij een F_{st} van 1 zijn de populaties maximaal verschillend, wat wil zeggen dat er geen overlap is in aanwezige allelen. 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.

Een andere manier om de verschillen tussen populaties in beeld te brengen, is door middel van Bayesiaanse clusteringstechnieken. Binnen dit onderzoek is hiervoor gebruikgemaakt van het programma *STRUCTURE* (Pritchard *et al.* 2000). *STRUCTURE* laat in eerste instantie de veronderstelde populatie-indeling van de onderzochte individuen even los. In plaats daarvan veronderstelt het programma dat sprake is van een bepaald aantal genetische clusters (K), en gebruikt vervolgens de genetische profielen om individuen toe te wijzen aan deze clusters. Per individu wordt met percentages aangegeven in hoeverre deze aan elk van de K -clusters wordt toegewezen. (Voor de exacte methode en criteria voor toewijzing, verwijzen we naar Pritchard *et al.* (2000).) Vervolgens sorteert de software de individuen weer volgens de vooraf opgegeven populatie-indeling, en kan gemakkelijk worden gekeken in hoeverre de indeling in genetische clusters overeenkomt met de vooraf opgegeven verdeling. De *STRUCTURE*-analyse wordt herhaald voor verschillende waarden voor K , waarna bepaald kan worden welk aantal clusters (en bijbehorende toewijzingen van individuen) optimaal is.

Voor de definitieve resultaten zoals gepresenteerd in dit rapport werden (zowel voor wilde zwijnen als voor edelherten) *STRUCTURE*-simulaties uitgevoerd voor K -waarden van 1 t/m 15, met drie replicate simulaties voor elke K -waarde. Elke simulatie bestaat uit een groot aantal stappen (iteraties) waarbij het programma telkens een nieuwe verdeling van individuen uitprobeert, en zo stapsgewijs dichter bij een optimale oplossing komt. Daarbij wordt een onderscheid gemaakt in een 'burn-in'-periode van 50.000 stappen waarin de grootste veranderingen optreden, gevolgd door een analyseperiode van nogmaals 50.000 stappen. Op basis van deze laatste 50.000 stappen wordt een gemiddelde verdeling

berekend. Voor de definitieve analyses werd gekozen voor een model met ongecorreleerde allelfrequenties tussen de uitgangspopulaties (vanwege de bekende verschillen in oorsprong tussen gebieden). Berekening van de optimale K-waarde vond plaats via de methode beschreven in Evanno *et al.* (2005) via Structureharvester (Earl en Vonholdt 2012). Visualisatie van de resultaten vond plaats met behulp van de softwarepakketten CLUMPP (Jakobsson en Rosenberg 2007) en DISTRUCT (Rosenberg 2004).

De STRUCTURE-analyse geeft aanvullende informatie ten opzichte van de Fst-waarde, omdat nu een toewijzing op individueel niveau wordt uitgevoerd in plaats van op populatieniveau. Op deze manier zal ook een eventuele substructuur (opsplitsing in meerdere genetisch verschillende subgroepen) binnen een populatie zichtbaar worden, evenals een eventuele overeenkomst tussen enkele individuen uit meerdere populaties.

2.3.3 Herkomstbepaling voor individuele dieren

Wanneer ook individuen van onbekende herkomst in STRUCTURE-analyse worden meegenomen, kan voor deze individuen een inschatting worden gemaakt van de meest waarschijnlijke bronpopulatie, op basis van de overeenkomst in toewijzing aan een bepaald genetisch cluster. Binnen het programma STRUCTURE kan deze analyse op formele wijze worden uitgevoerd door middel van een aanvullende simulatie. Daarbij worden eerst de individuen uit de mogelijke bronpopulaties opnieuw ingedeeld op basis van hun toewijzing aan genetische clusters, op basis van de uitkomsten van de eerste analyse (zoals beschreven onder 2.3.2). Deze informatie wordt dan gebruikt als referentie ('learning set') in een tweede analyse (simulatiemodel USEPOPINFO; zie Pritchard *et al.* 2000), waarbij de onbekende individuen worden toegewezen aan een van deze vooraf opgegeven clusters.

De haalbaarheid van de herkomstbepaling is afhankelijk van de genetische verschillen tussen de potentiële bronpopulaties. Indien deze populaties elk duidelijk verschillende genetische clusters herbergden, is op basis van de clustertoewijzing voor de onbekende individuen een duidelijke match met een bepaalde bronpopulatie aan te wijzen. Indien echter meer overlap in clusters bestaat tussen meerdere bronpopulaties, zijn er meerdere populaties een mogelijke bron. Een tweede punt van aandacht is het feit dat in deze methodiek altijd een toewijzing aan een bepaald cluster wordt gegeven, ook als de werkelijke bron niet in de referentie-dataset aanwezig is. Het is dus zaak referentieprofielen van zo veel mogelijk potentiële bronnen in de analyse mee te nemen.

3 Resultaten voor edelherten

3.1 Dataset

Voor 383 van de 400 monsters (96%) waarvoor een laboratoriumanalyse is uitgevoerd, is uiteindelijk een bruikbaar genetisch profiel verkregen. Monsters waarbij missende waarden aanwezig waren voor meer dan twee loci zijn niet meegenomen in de uiteindelijke data-analyses. Van de 383 monsters in de uiteindelijke dataset, waren er 221 afkomstig van de Veluwe, verdeeld over zeven deelpopulaties (Tabel 3). De overige monsters waren verdeeld over de overige Nederlandse en Duitse populaties (zie Tabel 3 voor exacte aantallen per populatie). Voor het Reichswald kwamen uiteindelijk slechts negen monsters beschikbaar. Waar relevant, is bij de interpretatie van de resultaten (en de discussie daarvan in dit rapport) rekening gehouden met dit relatief lage aantal monsters op basis waarvan de berekende genetische parameters berekend zijn.

De resultaten voor de loci *CSPS115* en *ILST06* zijn niet meegenomen in de uiteindelijke dataset, omdat voor deze loci de allelen niet betrouwbaar konden worden gescoord wegens een gebrekkige amplificatie in de PCR. De gebruikte profielen zijn gebaseerd op data voor de overige zeven loci.

3.2 Genetische patronen in Nederland en omgeving

3.2.1 Genetische variatie binnen populaties

In de totale dataset werd een grote variatie waargenomen voor alle gebruikte microsatelliet loci, waarbij het totaal aantal allelen varieerde tussen de 9 (CSSM16) en 16 (CSSM19 en ETH225), resulterend in een totale gemiddelde allelvariatie (A) van 13.3. De gemiddelde variatie per populatie verschilde aanzienlijk tussen verschillende gebieden (Tabel 3). De hoogste waarde werd aangetroffen in de Oostvaardersplassen ($A=9.0$). Een aanzienlijk lagere variatie werd aangetroffen in het Weerterbos ($A=5.7$). De variatie op de Veluwe lag hier tussenin, waarbij opvalt dat de mate van variatie relatief dicht bijeen ligt voor de verschillende deelpopulaties (variërend van $A=6.8-7.3$). Een aanzienlijke lagere allelvariatie is aangetroffen in elk van de Duitse populaties nabij de grens met Nederland (Tabel 3). Wanneer de allelvariatie wordt bekeken op basis van de maat A_r , die gecorrigeerd wordt voor verschillen in steekproefgrootte, blijven de verhoudingen tussen de populaties bij benadering gelijk. Wel komt de populatie in Kroondomein Het Loo nu als meest divers naar voren (kortom, relatief veel variatie voor het beperkte aantal monsters). De derde diversiteitsmaat, de verwachte heterozygositeit (H_e), bevestigde hetzelfde beeld (Tabel 3). De H_e -waarde voor de Oostvaardersplassen is echter relatief laag in vergelijking met het hoge aantal allelen, wat aangeeft dat een deel van de allelen slechts zeldzaam aanwezig is.

Wanneer wordt gekeken naar de daadwerkelijke heterozygositeit (variatie binnen individuen), geldt wederom dat de laagste waarden werden gevonden in de Duitse populaties nabij de grens, met uitzondering van het Dämmerwald (Tabel 3). De diverse deelpopulaties op de Veluwe worden gekenmerkt door een relatief hoge heterozygositeit (ten opzichte van de overige hier onderzochte populaties), die gemiddeld uitkwam op $H_o=0.68$. De variatie tussen de deelpopulaties op de Veluwe is echter relatief groot, met als hoogste waarde een H_o van 0.79 op de noordwestelijke Veluwe. Op de zuidwestelijke Veluwe (Planken Wambuis e.o.) is de heterozygositeit juist betrekkelijk laag (0.62), maar vergelijkbaar met de waarden voor het Weerterbos, de Oostvaardersplassen en de Eifel, en nog altijd duidelijk hoger dan in de meeste andere Duitse populaties.

De waarden voor F_{is} lopen uiteen van -0.03 (Dämmerwald) tot 0.20 (Kroondomein Het Loo). Alleen voor de zuidwestelijke Veluwe en Kroondomein Het Loo was de F_{is} -waarde significant hoger dan 0, wat aangeeft dat hier duidelijk sprake is van relatief veel paring tussen de meer verwante herten in de populatie, wat resulteert in interne substructuur. Ook voor de oostelijke Veluwe lijkt dit echter het geval, met $F_{is} > 0.10$, net als in de Oostvaardersplassen, de Üfter Mark en de Eifel.

Tabel 3

Populatiegenetische parameters voor de verschillende onderzochte populaties van edelherten. N = aantal genetische profielen waarop de waarden gebaseerd zijn. A = gemiddelde allelvariatie per locus, Ar = gemiddelde allelvariatie gecorrigeerd voor steekproefgrootte (=allelic richness), He = verwachte heterozygositeit, Ho = waargenomen heterozygositeit, Fis = fixatie-index. Per parameter zijn de verschillen tussen populaties weergegeven met een kleurengradiënt, lopend van groen (laagste waarde) via wit naar rood (hoogste waarde). Een Fis -waarde die significant afweek van 0 is aangeduid met een asterisk (*).

Code	Naam	N	A	Ar	He	Ho	Fis
Veluwe		221	7.2	5.5	0.78	0.68	0.10
I	Veluwe Noordwest (EH1+2)	38	7.2	5.2	0.78	0.79	-0.01
II	Veluwe Noordoost (EH3)	22	6.8	5.5	0.78	0.64	0.14
III	Veluwe Midden (EH4)	44	7.3	5.3	0.77	0.68	0.09
IV	Veluwe Zuidwest (EH6)	33	7.0	5.2	0.75	0.62	0.13*
V	Veluwe Zuidoost (EH7)	35	7.3	5.2	0.76	0.65	0.11
VI	Veluwe KDHL	14	7.3	6.5	0.85	0.65	0.20*
VII	NP Hoge Veluwe	35	7.3	5.6	0.76	0.70	0.06
Nederland overig							
VIII	Weerterbos	17	5.7	4.9	0.71	0.63	0.08
IX	Oostvaardersplassen	57	9.0	5.7	0.75	0.64	0.11
Duitsland							
X	Bentheim	27	4.0	3.1	0.48	0.50	-0.02
XI	Dämmerwald	11	4.3	4.1	0.67	0.70	-0.03
XII	Üfter Mark	12	4.5	4.1	0.67	0.48	0.18
XIII	Reichswald	9	3.2	3.1	0.54	0.54	0.00
XIV	Eifel	27	7.5	5.4	0.76	0.65	0.11

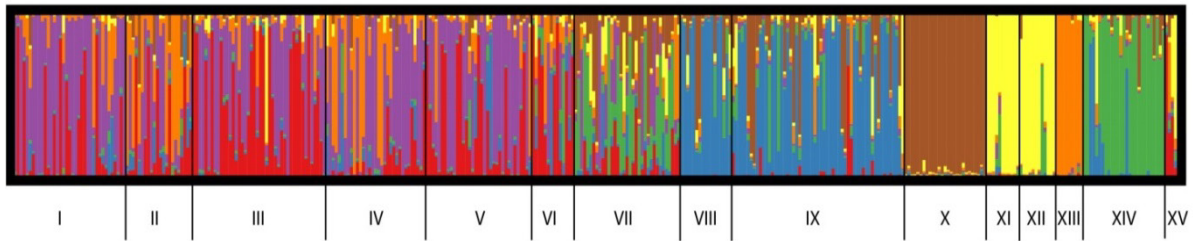
3.2.2 Genetische verschillen tussen populaties

Om de genetische structuur in de dataset voor edelherten te bepalen, zijn twee methoden gebruikt. De paarsgewijze genetische differentiatie (Fst) geeft een simpele maat voor het verschil in genetische samenstelling op populatieniveau. Daarnaast werd een clusteranalyse uitgevoerd met behulp van het programma STRUCTURE. De genetische differentiatie tussen de populaties is weergegeven in Tabel 4. Duidelijk zichtbaar is dat de meeste deelpopulaties op de Veluwe (populatie I-VI) relatief weinig van elkaar verschillen. Alleen de populatie binnen de rasters van het Nationaal Park De Hoge Veluwe (VII) wijkt duidelijk af van de overige populaties op de Veluwe, en de populaties in het midden en zuidwesten van de Veluwe wijken iets sterker van elkaar af. In hoofdstuk 3.4 zal op deze patronen dieper in worden gegaan. Tabel 4 laat verder zien dat alle overige populaties (VIII t/m XIV) duidelijk afwijken van de Veluwe, en in vrijwel alle gevallen ook van elkaar. Opvallend is de relatief lage differentiatie tussen het Weerterbos (VIII) en de Oostvaardersplassen (IX). Ook de herten in de Üfter Mark en het Dämmerwald vertonen relatief weinig verschil. Het afwijkendst zijn de populatie in het Forst Bad Bentheim (X) en in het Reichswald (XIII), die gemiddeld ten opzichte van andere populaties een Fst vertonen van respectievelijk 0.230 en 0.221. De hoogste paarsgewijze Fst -waarde werd dan ook aangetroffen tussen deze twee populaties ($Fst=0.425$).

Tabel 4

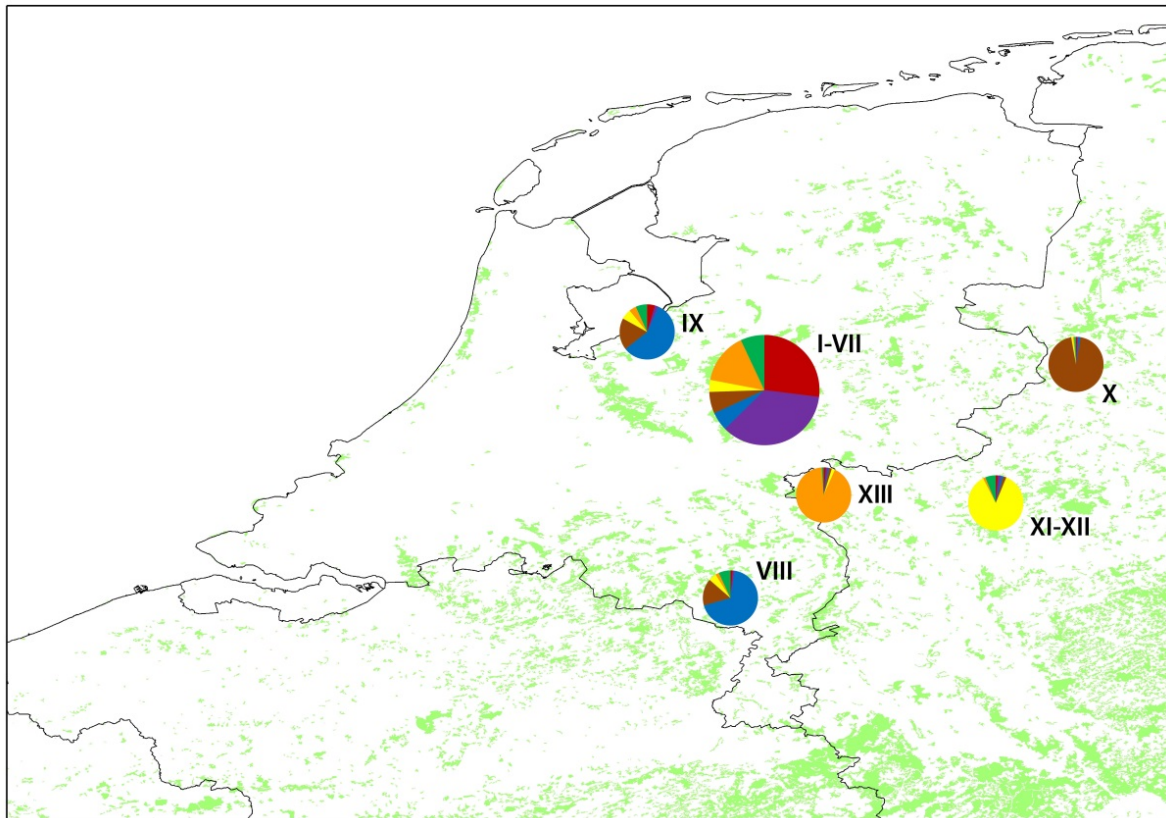
De mate van paarsgewijze genetische differentiatie (F_{st}) tussen de verschillende (deel)populaties van edelherten. Populatiecodes komen overeen met Tabel 1 en 3. F_{st} -waarden lager dan 0.05 (geringe differentiatie) zijn geel gekleurd, waarden tussen 0.05 en 0.15 (duidelijke differentiatie) zijn oranje gekleurd, waarden boven 0.15 (grote differentiatie) zijn donker oranje gekleurd.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
I														
II	0.035													
III	0.031	0.050												
IV	0.035	0.039	0.059											
V	0.008	0.036	0.012	0.039										
VI	0.048	0.035	0.040	0.049	0.044									
VII	0.089	0.084	0.065	0.098	0.074	0.057								
VIII	0.151	0.107	0.149	0.143	0.147	0.098	0.097							
IX	0.119	0.088	0.108	0.120	0.106	0.070	0.065	0.023						
X	0.241	0.219	0.210	0.239	0.208	0.238	0.118	0.153	0.114					
XI	0.127	0.136	0.126	0.130	0.134	0.127	0.136	0.201	0.149	0.319				
XII	0.159	0.165	0.145	0.171	0.163	0.135	0.149	0.200	0.154	0.317	0.044			
XIII	0.185	0.164	0.183	0.154	0.193	0.173	0.220	0.301	0.246	0.425	0.164	0.229		
XIV	0.134	0.115	0.126	0.144	0.126	0.088	0.060	0.122	0.081	0.187	0.155	0.148	0.231	



Figuur 6 Resultaten van een clusteranalyse via het programma STRUCTURE, voor alle onderzochte individuen uit elk van de vijftien edelhertenpopulaties (populatiecodes in overeenstemming met Tabel 1 en 3). Elk van de zeven door het programma herkende genetische clusters kent zijn eigen kleur. Elk individu is weergegeven als een smalle verticale balk die met één of meerdere kleuren is ingekleurd, afhankelijk van de verhouding waarin het individu door het programma is toegewezen aan één of meer verschillende clusters.

De analyse in STRUCTURE resulteerde in een optimale K-waarde van 7, wat wil zeggen dat een opdeling in zeven genetische clusters het beste resultaat gaf voor de gebruikte data. Figuur 6 geeft weer hoe elk onderzocht individu werd toegewezen aan deze verschillende clusters, waarbij elk cluster een eigen kleur heeft gekregen. Zichtbaar is dat veel clusters slechts in één of twee populaties dominant zijn. De meeste deelpopulaties op de Veluwe worden gekenmerkt door het rode en paarse cluster, dat in de overige populaties zeer zelden voorkomt. Het Weerterbos en de Oostvaardersplassen worden beide gedomineerd door hetzelfde blauwe cluster. De Duitse populaties vormen ook elk zeer duidelijk een eigen genetische groep, op de Üfter Mark en Dämmerwald na, die beide vrijwel geheel worden toegekend aan hetzelfde gele cluster. De verschillen tussen populaties komen daarmee op hoofdlijnen overeen met de verschillen zoals waargenomen op basis van F_{st} -waarden. Opvallend is wel dat bij de Nederlandse populaties veel duidelijker sprake is van verschillen in toewijzing tussen individuen binnen een populatie. Hoewel de meeste individuen in het Weerterbos en de Oostvaardersplassen worden toegewezen aan het blauwe cluster, komen ook de andere kleuren in beperkte mate terug. Kortom, er zijn in deze populaties ook enkele individuen die qua genetische samenstelling meer lijken op de herten op de Veluwe en met name in Duitsland. Binnen de Veluwe-populatie is nog sterker sprake van een mix van clusters (zie sectie 3.4).



Figuur 7 Weergave van de genetische samenstelling op populatieniveau en de geografische ligging, voor de verschillende onderzochte populaties edelherten in Nederland en nabije omgeving (zie Tabel 1 of Tabel 3 voor populatiecodes). Per populatie is in een taartdiagram de gemiddelde toewijzing weergegeven voor de zeven genetische clusters zoals bepaald via STRUCTURE.

3.3 Potentie voor herkomstbepaling

Uit zowel de F_{st} -waarden als de STRUCTURE-analyse blijkt dus dat de meeste populaties sterk van elkaar verschillen in genetische samenstelling, met uitzondering van de combinaties Weerterbos-Oostvaardersplassen en Üfter Mark-Dämmerwald. Hoewel enige overlap bestaat, vormen populaties op hoofdlijnen een unieke, herkenbare genetische groep. Dit beeld wordt nog duidelijker zichtbaar op basis van de gemiddelde clustertoewijzing per populatie, zoals grafisch weergegeven op een kaart in Figuur 7 en in percentages weergegeven in Tabel 5. Dit biedt duidelijke potentie om onbekende herten te herleiden tot een meest waarschijnlijke bron, op basis van de genetische groep waaraan zij worden toegewezen.

Clustertoewijzing gebeurt primair op basis van verschillen in de relatieve verhoudingen tussen allelen. Aanvullende, nog directere informatie echter kan worden verkregen op basis van allelen die slechts in één populatie voorkomen, zogenaamde private allelen (Ap in Tabel 5). Op basis van de hier onderzochte dataset werden voor de Veluwe zeven van dergelijke private allelen aangetroffen, vier in de Oostvaardersplassen, en elk één privaat allel in de populaties Üfter Mark, Dämmerwald en Eifel (Tabel 5). Wanneer een onbekend individu één van deze allelen meedraagt, maakt dit dus een herkomst uit de populatie waarin dit allel voorkomt waarschijnlijk. Belangrijk is daarbij wel om rekening te houden met de steekproefgrootte. Omdat niet alle individuen per populatie zijn onderzocht, kunnen bepaalde allelen over het hoofd zijn gezien die wel degelijk af en toe in de populatie voorkomen.

Als proef op de som beschrijven we hieronder de herkomstbepaling voor twee herten van onbekende oorsprong in de dataset.

Tabel 5

Gemiddelde toewijzing op populatieniveau aan de zeven genetische clusters zoals vastgesteld voor de edelherten-dataset via STRUCTURE. De tussen haakjes genoemde kleuren komen overeen met de kleuren in Figuur 6 en 7. De gegeven waarden geven per populatie het percentage toewijzing weer aan elk van de zeven clusters. Om dit duidelijker te visualiseren, zijn de percentages omgezet in een kleurengradiënt van geel (weinig aanwezig) tot donker oranje (veel aanwezig). Voor de twee edelherten van onbekende oorsprong (schuingedrukt) is de clustertoewijzing op overeenkomstige wijze weergegeven. Ap = aantal private allelen in de populatie, op basis van zeven microsatelliet loci.

Code	Populatie	Ap	Cluster 1 (rood)	Cluster 2 (paars)	Cluster 3 (blauw)	Cluster 4 (bruin)	Cluster 5 (geel)	Cluster 6 (oranje)	Cluster 7 (groen)
I – VII	Veluwe	7	27.0%	35.6%	5.5%	6.3%	3.5%	15.0%	7.0%
VIII	Weerterbos	0	1.3%	1.1%	68.3%	15.7%	4.6%	2.1%	6.9%
IX	Oostvaardersplassen	4	4.6%	1.9%	57.9%	18.6%	6.0%	4.2%	6.7%
X	Bentheim	0	0.7%	0.7%	1.3%	94.5%	1.1%	0.7%	1.0%
XI	Dämmerwald	1	1.4%	2.6%	1.6%	1.2%	87.7%	1.6%	4.1%
XII	Üfter Mark	1	1.1%	1.0%	1.2%	2.5%	84.7%	1.2%	8.3%
XIII	Reichswald	0	1.4%	1.3%	0.6%	1.5%	1.9%	92.2%	1.1%
XIV	Eifel	1	1.2%	1.1%	12.1%	6.2%	4.0%	2.4%	73.0%
Zwerf-I	Maurik		1.4%	0.8%	16.3%	19.8%	52.7%	0.7%	8.3%
Zwerf-II	Hoge Hexel		50.4%	16.6%	4.6%	6.7%	5.2%	5.7%	10.7%

3.3.1 Casestudy 'Zwerf-I'

Individueel zwerf-I werd in 2010 geschoten nabij Maurik (Betuwe). Alle waargenomen allelen komen zowel op de Veluwe als in meerdere Duitse populaties voor. Wel bevat het één allel (allel 210 op locus Cer14) dat niet werd waargenomen in het Weerterbos en de Oostvaarderplassen, wat een oorsprong uit deze populaties onwaarschijnlijker maakt. Helaas vertoont het genetische profiel van dit individu dus geen van de private allelen voor een bepaalde populatie. Een toewijzing moet dus vooral gebaseerd worden op basis van de mate en combinatie waarin de bij dit individu aangetroffen allelen voorkomen in de diverse populaties. Dit is de informatie die door STRUCTURE gebruikt wordt voor de clustertoewijzing. Zoals zichtbaar in Tabel 5, wijst STRUCTURE dit individu voornamelijk (voor 52%) toe aan het gele cluster 5, dat kenmerkend is voor Üfter Mark/Dämmerwald. Het wordt slechts voor 2.2% toegewezen aan de twee clusters die kenmerkend zijn voor de Veluwe (rood en paars, Tabel 5), maar wel voor 19.8% aan het bruine cluster uit Bentheim, en voor 16.3% aan het blauwe cluster uit het Weerterbos en de Oostvaardersplassen.

Op basis van de beschikbare informatie lijkt een West-Duitse oorsprong voor dit individu dus veruit het waarschijnlijk. Binnen onze referentieset wordt de beste match gevonden met de regio Üfter Mark/Dämmerwald. Een oorsprong uit de Veluwe is beduidend minder waarschijnlijk, maar niet geheel uitgesloten.

3.3.2 Casestudy 'Zwerf-II'

Individueel zwerf-II werd, eveneens in 2010, geschoten nabij Hoge Hexel (Twente). Ook dit individu vertoonde geen allelen die kenmerkend zijn voor een specifieke populatie. Alle waargenomen allelen zijn algemeen in alle Nederlandse populaties en meerdere Duitse populaties. De STRUCTURE-toewijzing suggereert echter een duidelijke match met de genetische clusters die kenmerkend zijn voor de Veluwe (70% totaal, Tabel 5). Dit maakt een herkomst uit de Veluwe zeer waarschijnlijk. Vanwege de hoge verwantschap tussen de diverse deelpopulaties op de Veluwe is niet geprobeerd om het individu nog verder te traceren tot één bepaald deelgebied op de Veluwe.

3.4 Genetische patronen binnen de Veluwe

Zoals al besproken in sectie 3.2, tonen de resultaten van de STRUCTURE-analyse twee genetische clusters die kenmerkend zijn voor de Veluwe, in dit rapport weergegeven met de kleuren rood en paars (Figuur 6 en 7). Wanneer verder wordt ingezoomd op de patronen binnen de Veluwe (Figuur 8),

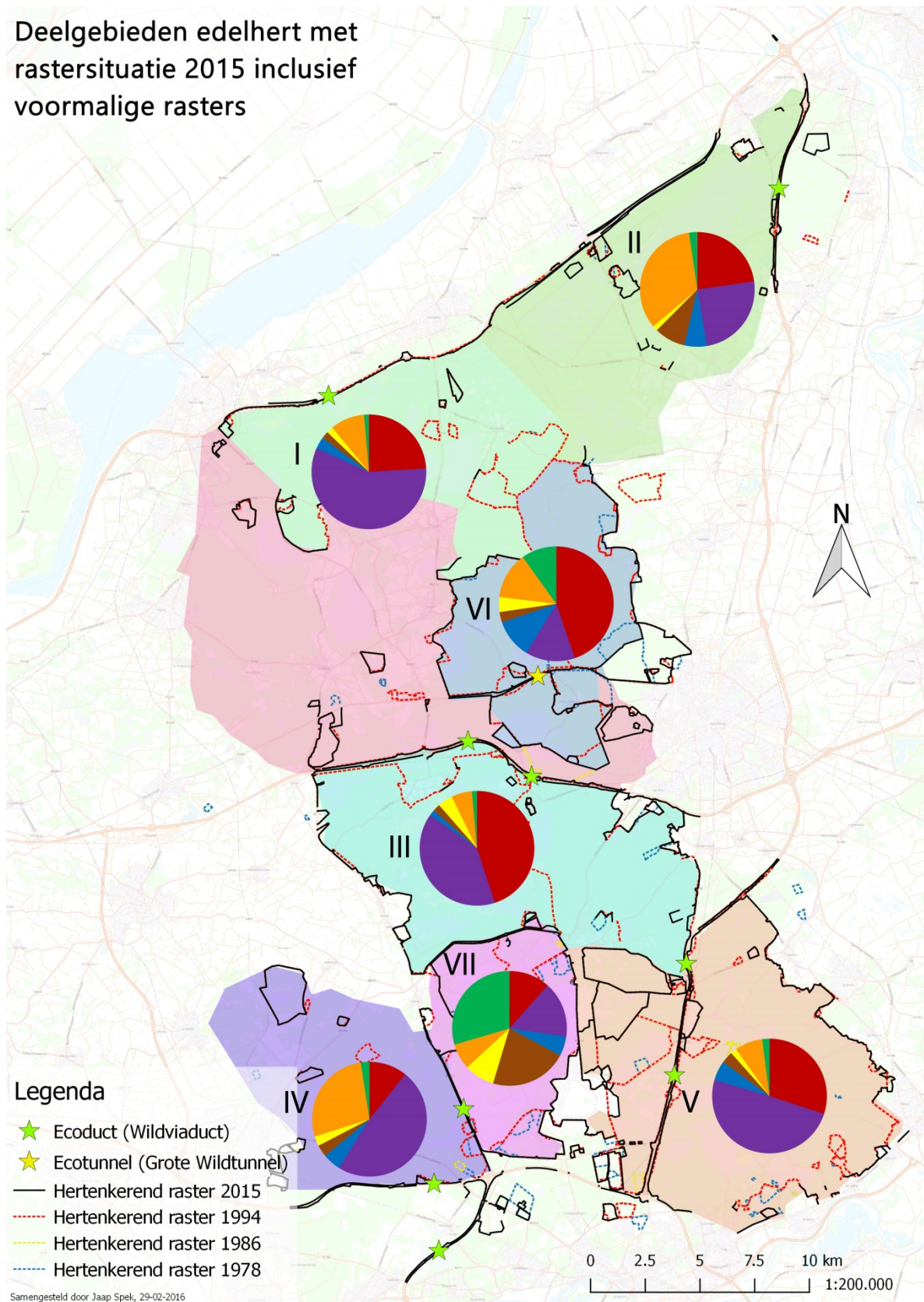
wordt zichtbaar dat vrijwel overal op de Veluwe deze beide clusters vrij algemeen voorkomen. Het is waarschijnlijk dat deze clusters de genen vertegenwoordigen die van oudsher voorkomen bij edelherten op de Veluwe.

De opsplitsing in twee groepen is opvallend en niet gemakkelijk te verklaren. Een mogelijkheid is dat hier een historische uitwisseling met andere populaties aan ten grondslag ligt. Nog opvallender is echter dat sprake lijkt van twee verschillende 'bloedlijnen' die slechts matig met elkaar mengen: zoals zichtbaar in Figuur 6, worden individuen veelal grotendeels aan een van beide clusters toegekend, en is een gemengde herkomst relatief zeldzaam. Deze bevinding lijkt dus het bestaan van genetische substructuur te bevestigen, die eerder al gesuggereerd werd door de vondst van sterk positieve Fis-waarden op de Veluwe (Tabel 3).

Opvallend is verder de sterke verwantschap tussen de herten in het noordwesten (Vale Ouwe e.o.), midden (Kootwijk/Harskamp/Hoenderloo) en zuidoosten (Deelerwoud/Veluwezoo), die zowel blijkt uit de STRUCTURE-resultaten (Figuur 8), als de lage genetische differentiatie tussen deze deelgebieden (Tabel 4). Hoewel waarschijnlijk sprake is van een grotendeels gelijke herkomst (d.w.z. een herkomst uit dezelfde bronnen binnen de Veluwe, die echter wel degelijk een gemengde oorsprong kennen), zou een geleidelijke genetische differentiatie tussen de noordelijke en zuidelijke Veluwe niet verwonderlijk geweest zijn, gezien het aantal barrières dat in de loop van de 20^e eeuw in het tussenliggende gebied is opgeworpen, zoals de A1 en rasters van Stroe naar Assel en van Hoenderloo naar Assel (Figuur 8 en Bijlage 1). Het is op dit moment lastig te bepalen of differentiatie is voorkomen doordat altijd enige uitwisseling mogelijk is geweest, doordat een aantal rasters relatief snel weer werd verwijderd (zoals tussen Assel en Stroe, na 13 jaar; zie Bijlage 1) of dat wel degelijk sprake is geweest van enige differentiatie, die echter door diverse, vrij recente ontsnipperingsmaatregelen (waaronder de aanleg van een wildviaduct over de A1; Figuur 8) weer ongedaan is gemaakt.

Zoals blijkt uit de Fst-waarden in Tabel 4, wijken binnen de Veluwe de herten in het Nationaal Park De Hoge Veluwe relatief sterk af van de andere deelpopulaties. In iets mindere mate geldt dit ook voor de populatie in Kroondomein Het Loo. Zoals zichtbaar in Figuur 8, is in deze populaties, naast het voor de Veluwe kenmerkende rode en paarse cluster, een aantal andere genetische clusters relatief sterk vertegenwoordigd. Dit betreft bijvoorbeeld de oranje, gele en groene clusters die ook in Duitsland werden aangetroffen.

Deelgebieden edelhert met rastersituatie 2015 inclusief voormalige rasters



Figuur 8 Weergave van de genetische verschillen tussen de deelpopulaties van edelherten binnen de Veluwe en hun ligging ten opzichte van de verschillende beheersgebieden (zie Tabel 1 of 3 voor codes van de populaties en beheersgebieden). Per populatie is in een taartdiagram de gemiddelde toewijzing aan de vijf door STRUCTURE onderscheiden genetische clusters weergegeven.

Dit is niet verwonderlijk, aangezien al in de eerste helft van de 20^e eeuw edelherten vanuit geheel Europa naar deze twee gebieden zijn geïmporteerd. In Kroondomein Het Loo betrof dit vooral dieren uit Noordwest- en Oost-Duitsland, en daarnaast een aantal exemplaren vanuit de Hoge Veluwe (Van den Hoorn 1996). De herten op de Hoge Veluwe werden geïmporteerd vanuit Schotland en Oost-Europa (Bak 2009). Mogelijk berust het feit dat een deel van de dieren op de Hoge Veluwe en in Kroondomein Het Loo aan hetzelfde cluster wordt toegewezen als de herten in de Eifel op een artefact, ontstaan doordat de ware bron niet in de huidige dataset aanwezig is. Toekomstige opname van profielen uit Schotland en Tsjechië zou hier meer zicht op kunnen bieden. Dat enige verwantschap bestaat tussen de populaties in Kroondomein Het Loo en de Oostvaardersplassen, zoals gesuggereerd wordt door de aanwezigheid van het blauwe cluster in de Kroondomeinen, kan worden verklaard doordat de populatie in de Oostvaardersplassen deels afkomstig is uit Kroondomein Het Loo (Van den Hoorn 1992).

De sporadische aanwezigheid van dezelfde 'afwijkende bloedlijnen' in andere deelpopulaties op de Veluwe is vooral te verklaren door het feit dat er tijdens en na de Tweede Wereldoorlog de nodige gaten zaten in rasters van het Nationaal Park en Kroondomein Het Loo en dus uitwisseling heeft kunnen optreden met de rest van de Veluwe (Bijlage 1), en doordat vrij recent de rasters van Kroondomein Het Loo op diverse plaatsen werden verlaagd (Foto 3). Van volledige genetische menging van de herten in Kroondomein Het Loo en de rest van de Veluwe is echter nog zeker geen sprake.

Ook de herten op de zuidwestelijke Veluwe (Planken Wambuis e.o.) wijken enigszins af van de herten op de Noordwest-, Midden- en Zuidoost-Veluwe. Waarschijnlijk speelt hier vooral langdurige isolatie een rol, voornamelijk veroorzaakt door de rasters van De Hoge Veluwe en de bebouwing ten noordwesten en zuiden daarvan. Iets vergelijkbaars geldt voor de herten op de Noordoostelijke Veluwe. Het feit dat deze beide populaties deels worden toegewezen aan hetzelfde oranje cluster, dat verder ook in het Reichswald voorkomt, is hoogstwaarschijnlijk een artefact. Op basis van de Fst-waarden, en de exacte allelensamenstelling, zijn deze drie populaties toch aanzienlijk verschillend.



Foto 3 *Edelhert springend over een laag (zwijnenwerend) raster op de Veluwe.*
(© Ton Hekelaar)

4 Resultaten voor wilde zwijnen

4.1 Dataset

Van de 393 monsters die binnen dit onderzoek nieuw werden verwerkt in het laboratorium, werd voor 332 monsters een genetisch profiel van voldoende kwaliteit verkregen. Dit betreft 307 profielen voor zwijnen van de Veluwe, verdeeld over elf deelgebieden (Tabel 6), en daarnaast een beperkt aantal profielen voor drie Duitse referentiepopulaties (30-32 in Tabel 6), en zes profielen van zwijnen van onbekende oorsprong waargenomen nabij Weert.

Deze dataset werd aangevuld met reeds beschikbare profielen van 405 individuen uit Limburg, 100 individuen uit Noord-Brabant, 180 individuen uit België en 78 individuen uit Duitse populaties nabij de grens met Nederland (27-29 in Tabel 6). Om de verschillende datasets op elkaar te laten aansluiten, werden vier loci genegeerd waarvoor in een of meerdere datasets gegevens ontbraken. Uiteindelijk resulteerde dit in een definitieve dataset met genetische profielen voor in totaal 1095 zwijnen, gebaseerd op 10 verschillende microsatelliet-loci.

4.2 Genetische patronen in Nederland en omgeving

4.2.1 Genetische variatie binnen populaties

In de totale dataset werd een grote variatie waargenomen voor alle gebruikte microsatelliet loci, waarbij het totaal aantal allelen varieerde tussen de 6 (*Sw951*) en 18 (*S0097*), resulterend in een gemiddelde totale variatie van $A=10.3$. De variatie binnen een populatie was echter aanzienlijk lager en liep uiteen van $A=2.2$ in de Limburgse Peel tot $A=5.1$ in het Leenderbos (Tabel 6). Vanwege flinke verschillen in het aantal profielen per populatie, kan voor vergelijking van de variatie tussen populaties het best worden gekeken naar de gecorrigeerde schatting A_r . Vrijwel alle Nederlandse populaties blijken dan een duidelijk lagere variatie te vertonen dan de meeste populaties in België en Duitsland (Tabel 6). De waarden voor de verwachte heterozygositeit (H_e) laten hetzelfde patroon zien. Een van de uitzonderingen daarop is de populatie in Kroondomein Het Loo zoals die recentelijk bemonsterd werd (populatie 10). Opvallend is daarbij dat deze zelfde populatie in de jaren negentig juist nog vrij weinig diversiteit vertoonde. Blijkbaar zijn in de tussenliggende periode zwijnen met aanvullende allelen de populatie binnengekomen. In sectie 4.4 zal hier verder op in worden gegaan. Opvallend is verder de relatief hoge variatie in het Leenderbos. Jansman *et al.* (2013) rapporteerden voor deze populatie ook al een vrij hoge diversiteit, die echter nog overtroffen werd door de diversiteit in Zuid-Limburg. Echter, destijds was slechts een viertal profielen beschikbaar uit het Leenderbos, waardoor de diversiteit mogelijk is onderschat. De huidige dataset voor deze populatie geeft een veel betrouwbaarder schatting. Een verklaring voor de hoge diversiteit in deze populatie is een mogelijke oorsprong vanuit de zwijnenpopulatie in het noorden van Vlaams Limburg. Jansman *et al.* (2013) beschreven reeds een duidelijke verwantschap tussen deze twee populaties, en een vermoeden van illegale uitzet in het Leenderbos.

Zowel in het Duitse als het Nederlandse deel van de Meinweg is de diversiteit vrij laag. De zwijnen die verspreid over de deelstaten Nordrhein-Westfalen en Rheinland-Pfalz en in het Bayerischen Wald werden bemonsterd, vertoonden een veel hogere diversiteit.

De waargenomen heterozygositeit verschilt tussen populaties op duidelijk andere wijze dan de genetische diversiteit. Zowel op de Veluwe als in Limburg, Brabant, België en Duitsland komen zowel populaties met opvallend hoge als opvallend lage heterozygositeit voor. Op de Veluwe zijn vooral de zwijnen in het raster van Hoog Deelen, in het midden van de Veluwe (WZ4) en in de recente populatie van Kroondomein Het Loo relatief heterozygoot. Deze populaties hadden tevens een iets hogere variatie. Opvallend is echter het vrij hoge aandeel heterozygote individuen in de populatie Noordwest B (gelegen ten westen van de agrarische enclave), die een vrij lage variatie vertoonde, resulterend in

een behoorlijk negatieve Fis-waarde. Een vergelijkbare situatie gold voor het Brabantse deel van de Peel-regio.

Andersom werd een onverwacht laag aantal heterozygoten aangetroffen in de Maasduinen, het Leenderbos en diverse Vlaamse populaties (sterk positieve Fis-waarde). Hier lijkt sprake van substructuur: verschillende groepen genetisch verschillende dieren die (nog) niet zijn gaan mengen. In een aantal andere populaties, met name op de Veluwe (Noordwest A, Noordoost, Nationaal Park de Hoge Veluwe) strookt de lage heterozygositeit met de eveneens lage alleldiversiteit in de populatie.

Tabel 6

Populatiegenetische parameters voor de verschillende onderzochte populaties van wilde zwijnen. N = aantal genetische profielen waarop de waarden gebaseerd zijn. A = gemiddelde allelvariatie per locus, Ar = gemiddelde allelvariatie gecorrigeerd voor steekproefgrootte (=allelic richness), He = verwachte heterozygositeit, Ho = waargenomen heterozygositeit, Fis = fixatie-index. Per parameter zijn de verschillen tussen populaties weergegeven met een kleurengradiënt, lopend van groen (laagste waarde) via wit naar rood (hoogste waarde). Een Fis-waarde die significant afweek van 0 is aangeduid met een asterisk ().*

Code	Naam	N	A	Ar	He	Ho	Fis
Veluwe		307	3.0	2.2	0.43	0.43	0.00
1	Noordwest A	6	2.7	2.2	0.44	0.36	0.08
2	Noordwest B	8	2.3	1.8	0.31	0.45	-0.14
3	Vale Ouwe	15	2.8	2.0	0.35	0.43	-0.08
4	Noordoost	56	3.5	2.0	0.37	0.26	0.11
5	Midden	16	3.3	2.4	0.50	0.51	0.00
6	Zuidwest	54	2.8	2.1	0.42	0.41	0.01
7	Hoog Deelen	25	3.6	2.4	0.47	0.54	-0.07
8	Zuidoost	46	3.3	2.3	0.48	0.47	0.01
9	NP Hoge Veluwe	31	2.7	2.0	0.40	0.37	0.03
10	KDHL Recent	21	3.8	2.5	0.54	0.49	0.04
11	KDHL Historisch	15	2.7	2.0	0.37	0.43	-0.07
12	Staatswildreservaat Historisch	14	2.9	2.3	0.51	0.45	0.06
Nederland overig							
13	Maasduinen	11	3.6	2.4	0.47	0.16	0.31
14	KopvanLimburg	18	3.4	2.4	0.49	0.33	0.15
15	Nederlandse Meinweg	160	3.7	2.1	0.45	0.43	0.02
16	Roerstreek Zuid	145	3.5	1.9	0.37	0.33	0.04
17	Zuid-Limburg	57	4.2	2.3	0.47	0.48	-0.01
18	Limburgse Peel	14	2.2	1.8	0.36	0.40	-0.04
19	Brabantse Peel	28	2.8	1.9	0.36	0.47	-0.11
20	Leenderbos	49	5.1	2.6	0.55	0.28	0.27*
21	Stippelberg	23	3.8	2.3	0.48	0.49	-0.01
België							
22	Vlaams Limburg Noord	12	4.7	3.1	0.66	0.53	0.13
23	Vlaams Limburg Oost	12	2.8	2.2	0.44	0.32	0.11
24	Vlaams Voeren	38	3.8	2.4	0.54	0.38	0.16*
25	Vlaams Limburg West	49	4.1	2.5	0.57	0.38	0.19*
26	Wallonië	69	4.8	2.5	0.50	0.50	-0.01
Duitsland							
27	Duitse Meinweg	27	2.9	2.1	0.44	0.41	0.04
28	NordRheinWestfalen	17	4.1	2.5	0.48	0.41	0.07
29	RheinlandPfaltz	34	4.9	2.5	0.52	0.50	0.02
30	BayerischenWald	9	4.3	2.9	0.62	0.53	0.09
31	Vorpommern	7	3.6	2.5	0.50	0.24	0.26
32	Monchberg	3	3.0	2.8	0.57	0.61	-0.03

4.2.2 Genetische verschillen tussen populaties

Tabel 7 geeft de paarsgewijze genetische differentiatie weer tussen alle onderzochte (deel)populaties. Over het algemeen zijn deze differentiatiewaarden vrij hoog, met name in vergelijking met de resultaten voor edelherten. Tussen de overgrote meerderheid van populaties bestaat duidelijke tot grote differentiatie. Binnen de Veluwe valt op dat de zwijnen in het midden van de Veluwe (WZ4, populatie 5) relatief weinig verschillen van de zwijnen ten zuiden daarvan, inclusief het Nationaal Park De Hoge Veluwe. Relatief afwijkend zijn de zwijnen in het raster van Hoog Deelen en de historische populatie in Kroondomein Het Loo. Op grotere schaal bestaat veelal grote differentiatie tussen de diverse populaties in Nederland, Duitsland en België. Opvallend is een relatief klein verschil tussen de zwijnen in Nordrhein Westfalen en twee deelpopulaties op de Veluwe: Noordwest A en het recente Kroondomein Het Loo. Verder is er een relatief klein verschil tussen de populaties in het oosten van Vlaams Limburg, in Wallonië en in de aangrenzende delen van Duitsland (populaties 23,26,28 en 29). De populaties in de Peel-regio weken het meest af van andere populaties, met een gemiddelde Fst-waarde van 0.25.

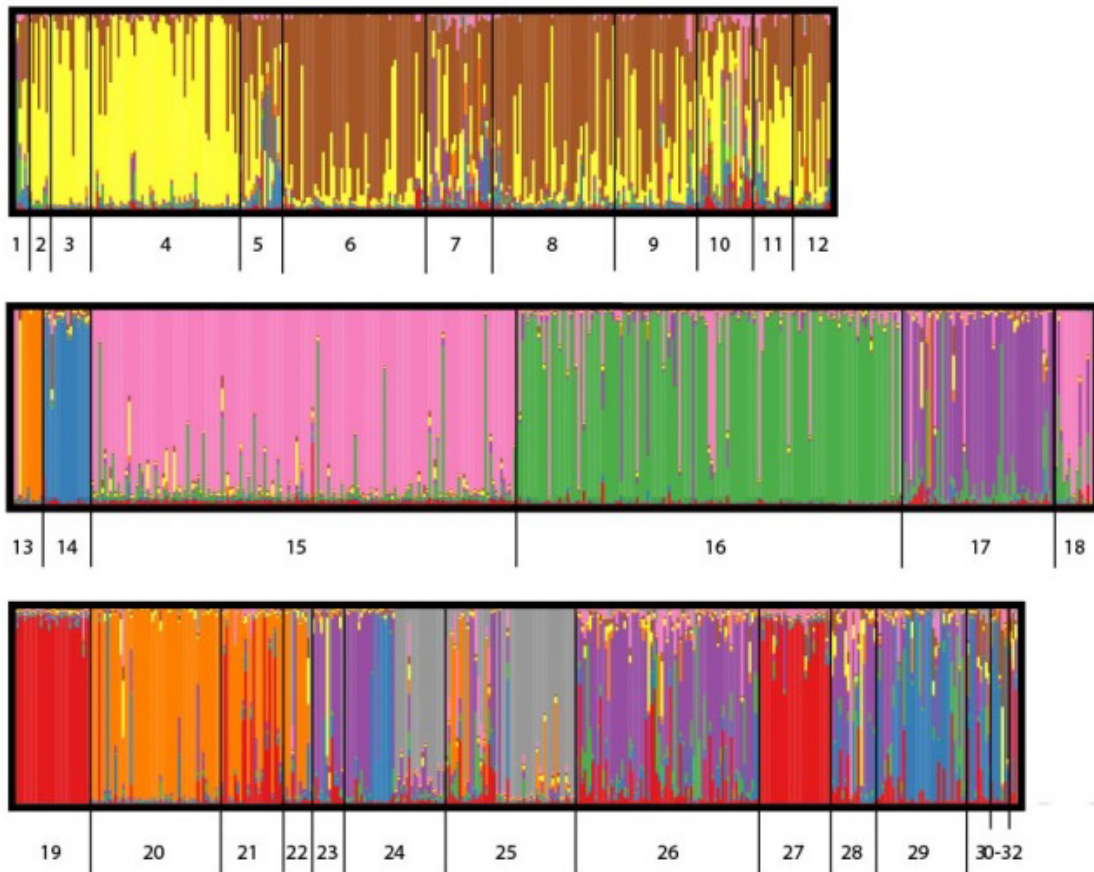
Tabel 7

De mate van paarsgewijze genetische differentiatie (Fst) tussen de verschillende (deel)populaties van wilde zwijnen. Populatiecodes komen overeen met Tabel 2 en 6. Fst-waarden lager dan 0.05 (geringe differentiatie) zijn geel gekleurd, waarden tussen 0.05 en 0.15 (duidelijke differentiatie) zijn oranje gekleurd, waarden boven 0.15 (grote differentiatie) zijn donker oranje gekleurd.

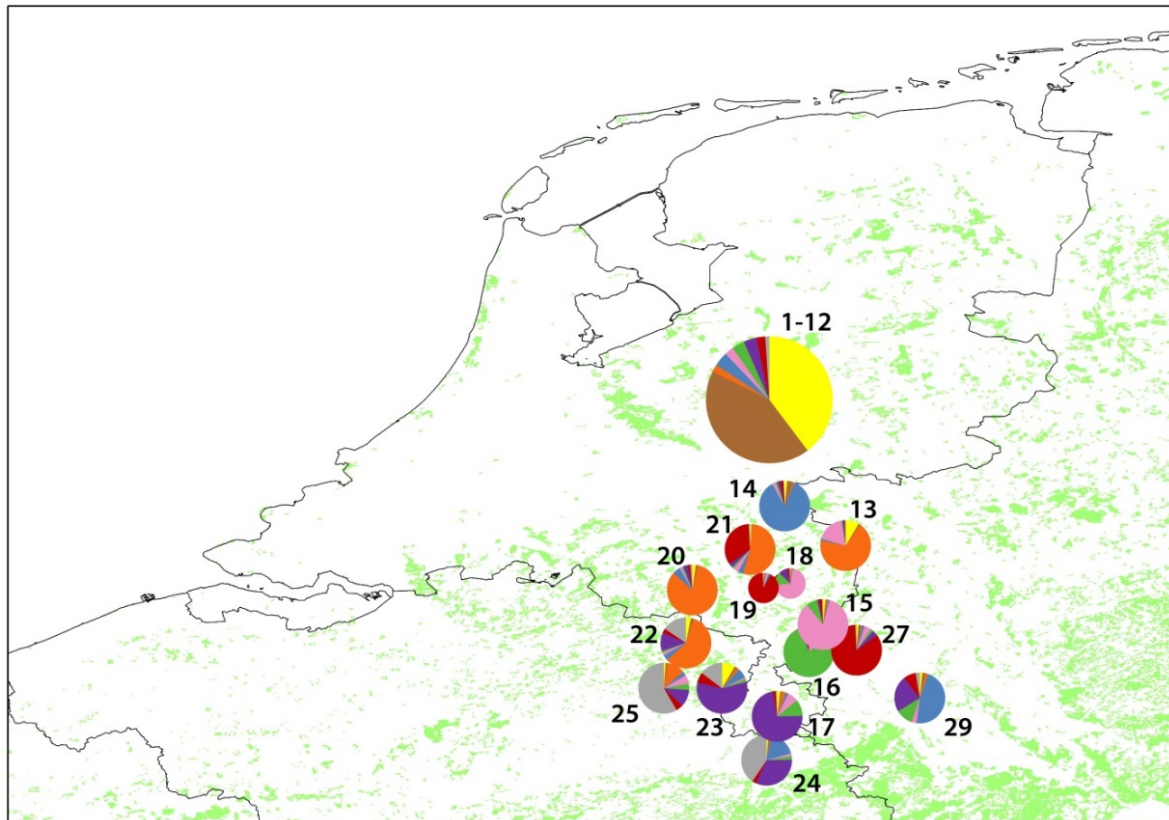
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1												
2	0.14											
3	0.08	0.03										
4	0.10	0.05	0.00									
5	0.09	0.11	0.06	0.08								
6	0.12	0.14	0.07	0.10	0.04							
7	0.13	0.18	0.16	0.20	0.08	0.12						
8	0.09	0.16	0.11	0.12	0.05	0.07	0.12					
9	0.13	0.14	0.10	0.14	0.04	0.05	0.11	0.08				
10	0.08	0.15	0.13	0.13	0.04	0.11	0.09	0.09	0.12			
11	0.12	0.29	0.16	0.17	0.11	0.13	0.18	0.12	0.11	0.14		
12	0.12	0.13	0.10	0.12	0.01	0.05	0.08	0.03	0.07	0.08	0.15	
13	0.18	0.28	0.25	0.24	0.20	0.30	0.24	0.26	0.31	0.17	0.28	0.27
14	0.06	0.22	0.19	0.22	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.14	0.19	0.19
15	0.21	0.29	0.28	0.28	0.22	0.30	0.21	0.27	0.27	0.12	0.25	0.28
16	0.22	0.31	0.34	0.31	0.30	0.35	0.32	0.30	0.33	0.18	0.36	0.36
17	0.16	0.28	0.27	0.26	0.18	0.24	0.17	0.20	0.23	0.08	0.25	0.22
18	0.29	0.42	0.39	0.36	0.27	0.35	0.26	0.30	0.32	0.17	0.29	0.33
19	0.34	0.46	0.41	0.38	0.28	0.33	0.28	0.29	0.36	0.15	0.34	0.35
20	0.18	0.23	0.23	0.24	0.16	0.26	0.24	0.22	0.27	0.13	0.28	0.22
21	0.23	0.38	0.34	0.33	0.24	0.32	0.30	0.26	0.34	0.14	0.30	0.31
22	0.13	0.22	0.21	0.23	0.13	0.23	0.18	0.20	0.24	0.08	0.23	0.19
23	0.12	0.29	0.27	0.27	0.17	0.24	0.16	0.19	0.26	0.09	0.28	0.23
24	0.16	0.30	0.28	0.29	0.19	0.26	0.18	0.20	0.27	0.12	0.26	0.22
25	0.18	0.28	0.28	0.30	0.21	0.28	0.24	0.24	0.29	0.15	0.30	0.24
26	0.12	0.25	0.23	0.23	0.16	0.22	0.18	0.18	0.23	0.08	0.21	0.23
27	0.23	0.35	0.30	0.29	0.20	0.23	0.21	0.23	0.28	0.10	0.26	0.26
28	0.02	0.20	0.15	0.16	0.10	0.15	0.11	0.11	0.14	0.05	0.12	0.15
29	0.16	0.29	0.27	0.27	0.17	0.23	0.21	0.18	0.24	0.08	0.24	0.21
30	0.14	0.27	0.26	0.26	0.11	0.19	0.17	0.11	0.21	0.07	0.23	0.14
31	0.19	0.30	0.27	0.28	0.10	0.21	0.16	0.16	0.17	0.08	0.16	0.15
32	0.21	0.36	0.27	0.26	0.13	0.19	0.14	0.17	0.24	0.07	0.23	0.16

	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
14	0.21																		
15	0.20	0.24																	
16	0.31	0.28	0.14																
17	0.23	0.20	0.14	0.12															
18	0.28	0.29	0.05	0.18	0.14														
19	0.32	0.30	0.17	0.26	0.16	0.18													
20	0.11	0.20	0.23	0.28	0.20	0.25	0.26												
21	0.15	0.21	0.19	0.25	0.20	0.25	0.19	0.11											
22	0.11	0.16	0.19	0.26	0.16	0.23	0.22	0.08	0.10										
23	0.19	0.15	0.20	0.20	0.11	0.25	0.19	0.16	0.16	0.08									
24	0.24	0.19	0.22	0.22	0.11	0.21	0.20	0.20	0.20	0.13	0.06								
25	0.24	0.21	0.24	0.24	0.18	0.25	0.24	0.15	0.18	0.09	0.11	0.09							
26	0.16	0.13	0.14	0.13	0.07	0.14	0.13	0.13	0.10	0.10	0.06	0.08	0.13						
27	0.25	0.19	0.13	0.25	0.16	0.18	0.09	0.22	0.15	0.16	0.15	0.18	0.20	0.11					
28	0.14	0.10	0.15	0.17	0.08	0.18	0.20	0.16	0.14	0.09	0.04	0.11	0.15	0.04	0.12				
29	0.24	0.16	0.17	0.13	0.10	0.17	0.14	0.17	0.13	0.14	0.11	0.09	0.14	0.05	0.13	0.10			
30	0.20	0.13	0.18	0.19	0.09	0.20	0.14	0.14	0.12	0.09	0.10	0.11	0.12	0.06	0.11	0.08	0.04		
31	0.24	0.18	0.20	0.33	0.23	0.24	0.27	0.19	0.18	0.14	0.21	0.22	0.24	0.20	0.20	0.14	0.16	0.13	
32	0.19	0.15	0.17	0.33	0.17	0.27	0.21	0.16	0.16	0.09	0.21	0.17	0.18	0.12	0.07	0.12	0.12	0.05	0.12

De STRUCTURE-analyse resulteerde in een optimale opdeling van de dataset in negen verschillende clusters. De verdeling van deze negen clusters over elk van de onderzochte zwijnen is grafisch weergegeven in Figuur 9, waarbij elk cluster een eigen kleur toegekend heeft gekregen. Net als bij de edelherten is ook hier duidelijk zichtbaar dat in het overgrote deel van de gevallen de grenzen tussen populaties samenvallen met grenzen tussen genetische clusters. Kortom, in de meeste gevallen vormen de populaties een genetisch duidelijk herkenbare groep. De deelpopulaties op de Veluwe worden alle toegewezen aan twee clusters (geel en bruin) die vrijwel uitsluitend op de Veluwe voorkomen. De zwijnen op de Veluwe zijn daarmee dus duidelijk te onderscheiden van de andere zwijnenpopulaties. Dit geldt ook voor de meeste andere populaties, hoewel een aantal populaties samenvalt in hetzelfde cluster, een indicatie dat deze relatief sterk verwant zijn aan elkaar. Dit geldt voor de populaties Maasduinen, Leenderbos en Vlaams Limburg-Noord (toegewezen aan het oranje cluster), voor de populaties Zuid-Limburg, Vlaams Limburg-Oost, Wallonië, en in zekere mate Nordrhein-Westfalen (toegewezen aan het paarse cluster) en de populaties in de Nederlandse Meinweg en de Limburgse Peel (die samen het roze cluster vormen). Zoals zichtbaar in Figuur 10, waar de gemiddelde toewijzing per populatie op een kaart is geplot, liggen de populaties die hoofdzakelijk worden toegewezen aan hetzelfde cluster in veel gevallen ook geografisch vrij dicht bij elkaar. Voor een uitgebreidere beschrijving van de relaties tussen de diverse populaties in Limburg, Brabant, België en Duitsland verwijzen we naar Jansman *et al.* (2013), die hier uitgebreid op ingaan op basis van dezelfde dataset. Nieuw voor de huidige analyse is de beschikbaarheid van een flink groter aantal profielen voor de Brabantse Peel. Dit resulteerde echter niet in nieuwe inzichten: in overeenstemming met Jansman *et al.* (2013) clusteren de profielen uit deze regio samen met de profielen in de Duitse Meinweg. Ook nieuw in de huidige dataset is de populatie in het Brabantse deel van natuurgebied Stippelberg. Op basis van de STRUCTURE-analyse lijkt deze populatie een mix van individuen die verwant is aan de zwijnen in het Leenderbos en individuen die verwant zijn aan de zwijnen in de Brabantse Peel.



Figuur 9 Resultaten van een clusteranalyse via het programma STRUCTURE, voor alle onderzochte individuen uit elk van de 32 zwijnenpopulaties (populatiecodes in overeenstemming met Tabel 2 en 6). Elk van de negen door het programma herkende genetische clusters kent zijn eigen kleur. Elk individu is weergegeven als een smalle verticale balk die met een of meerdere kleuren is ingekleurd, afhankelijk van de verhouding waarin het individu door het programma is toegewezen aan een of meer verschillende clusters.



Figuur 10 Weergave van de genetische verschillen tussen de mogelijke bronpopulaties van zwervende wilde zwijnen in Nederland en hun geografische ligging (zie Tabel 2 of 6 voor populatiecodes). Per populatie is in een taartdiagram de gemiddelde toewijzing aan de negen genetische clusters weergegeven, zoals bepaald via STRUCTURE.

4.3 Potentie voor herkomstbepaling

De zwijnenpopulatie op de Veluwe herbergt negen allelen die in geen enkele andere onderzochte populatie voorkomen. Wanneer een of meer van deze allelen in een zwijn van onbekende oorsprong wordt aangetroffen, is deze dus zeer waarschijnlijk afkomstig van de Veluwe. De andere potentiële bronpopulaties herbergen beduidend minder van zulke unieke allelen (Tabel 8): drie werden er aangetroffen in het Leenderbos, één in de Maasduinen, één in het noorden van Vlaams Limburg, en één in Wallonië, en enkele in de grotere Duitse regionen. Wanneer een onbekend zwijn of onbekende groep zwijnen geen van deze allelen bevat die typisch zijn voor een bepaald brongebied, moet dus gekeken worden welke populatie de meest gelijkende combinatie van allelen herbergt, op basis van F_{st} -waarden of een clusteranalyse. Zoals beschreven in sectie 4.2, zijn de meeste onderzochte zwijnenpopulaties duidelijk van elkaar te onderscheiden op basis van zulke analyses. De huidige dataset is daarmee goed bruikbaar voor herkomstbepaling. Een voorbeeld wordt hieronder gegeven voor één specifieke groep zwijnen van onbekende oorsprong.

4.3.1 Casestudy 'Zwerf-1'

In september 2014 werd een groep van acht zwijnen zwemmend aangetroffen in de Zuid-Willemsvaart nabij Weert. Nadat de dieren uiteindelijk werden geschoten, werd van zes exemplaren DNA afgenomen voor een herkomstanalyse. Voor alle zes dieren, hier gezamenlijk aangeduid als groep 'Zwerf-1', kon een goed genetisch profiel worden opgesteld. Op basis van deze profielen zijn de dieren sterk verwant, maar niet allemaal afkomstig uit hetzelfde nest.

Alle in de groep 'Zwerf-1' aangetroffen allelen zijn zeer algemeen en komen in een groot aantal populaties voor. De aanwezigheid van bijzondere allelen biedt dus geen uitkomst. De STRUCTURE-analyse wijst deze groep zeer duidelijk toe aan het parse cluster (Tabel 8), waartoe ook de populaties

Vlaams-Limburg Oost, Zuid-Limburg, Vlaams Voeren, Wallonië behoren, evenals enkele Duitse zwijnen. De genetische differentiatie is ten opzichte van de meeste potentiële bronpopulaties hoog (gemiddeld 0.250). De populatie Vlaams-Limburg Oost lijkt echter duidelijk sterker verwant ($F_{st}=0.055$). Een herkomst uit deze populatie is niet onlogisch, aangezien de Zuid-Willemsvaart een rechtstreekse verbinding vormt tussen Weert en deze Vlaamse regio. Een F_{st} -waarde van 0.055 suggereert echter nog altijd wel een behoorlijk verschil, en inderdaad werden twee allelen van de groep 'Zwerf-1' niet in deze populatie aangetroffen (maar wel in de andere populaties behorende tot hetzelfde cluster). Een mogelijke oorzaak is het relatief kleine aantal monsters in de referentieset uit het oosten van Vlaams Limburg. Een andere mogelijkheid is dat het dieren betreft met een gemixte oorsprong. Op basis van onze analyse lijkt het echter vrijwel zeker dat deze groep zwijnen afkomstig is uit de Belgische regio ten zuiden van waar ze werden aangetroffen en dus natuurlijke kolonisatie van dieren die van oorsprong vanuit de Ardennen deze kant op zijn gekomen.

Tabel 8

Gemiddelde toewijzing op populatieniveau aan de negen genetische clusters zoals vastgesteld voor de wilde zwijnen-dataset via STRUCTURE. De tussen haakjes genoemde kleuren komen overeen met de kleuren in de taartdiagrammen in Figuur 10. De waarden geven per populatie het percentage toewijzing weer aan elk van de negen clusters. Om dit duidelijker te visualiseren, zijn de percentages omgezet in een kleurengradiënt van geel (weinig aanwezig) tot donker oranje (veel aanwezig). Voor een groep van zes zwijnen van onbekende oorsprong (Zwerf-1) is de clustertoewijzing op overeenkomstige wijze weergegeven. Ap = aantal private allelen in de populatie, op basis van 10 microsatelliet loci.

Code	Populatie	Ap	Cluster 1 (geel)	Cluster 2 (bruin)	Cluster 3 (oranje)	Cluster 4 (blauw)	Cluster 5 (roze)	Cluster 6 (groen)	Cluster 7 (paars)	Cluster 8 (rood)	Cluster 9 (grijs)
1 - 12	Veluwe	9	0.397	0.426	0.019	0.036	0.023	0.033	0.033	0.023	0.010
13	Maasduinen	1	0.086	0.010	0.687	0.011	0.178	0.008	0.010	0.006	0.004
14	KopvanLimburg	0	0.017	0.040	0.007	0.855	0.021	0.013	0.019	0.021	0.007
15	Nederlandse Meinweg	0	0.017	0.010	0.006	0.009	0.849	0.070	0.012	0.020	0.006
16	Roerstreek Zuid	0	0.008	0.006	0.005	0.007	0.115	0.802	0.038	0.012	0.006
17	Zuid-Limburg	0	0.020	0.013	0.023	0.016	0.068	0.107	0.723	0.020	0.010
18	Limburgse Peel	0	0.007	0.005	0.006	0.011	0.701	0.141	0.091	0.029	0.010
19	Brabantse Peel	0	0.006	0.006	0.008	0.009	0.025	0.013	0.019	0.907	0.007
20	Leenderbos	3	0.023	0.012	0.831	0.050	0.014	0.011	0.029	0.017	0.013
21	Stippelberg	0	0.010	0.007	0.529	0.032	0.035	0.014	0.027	0.337	0.009
22	Vlaams Limburg-Noord	1	0.033	0.018	0.582	0.036	0.019	0.011	0.117	0.029	0.155
23	Vlaams Limburg-Oost	0	0.085	0.016	0.017	0.062	0.011	0.019	0.576	0.066	0.148
24	Vlaams Voeren	0	0.012	0.009	0.007	0.179	0.016	0.024	0.322	0.025	0.405
25	Vlaams Limburg-West	0	0.012	0.011	0.116	0.026	0.056	0.041	0.109	0.046	0.584
26	Wallonië	1	0.030	0.019	0.030	0.068	0.049	0.105	0.549	0.124	0.027
27	Meinweg	0	0.012	0.020	0.004	0.017	0.042	0.018	0.038	0.841	0.008
28	Nordrhein-Westfalen	1	0.112	0.045	0.021	0.154	0.108	0.058	0.404	0.083	0.015
29	Rheinland-Pfaltz	2	0.017	0.022	0.014	0.467	0.031	0.111	0.232	0.079	0.027
30	Bayerischen wald	4	0.033	0.094	0.064	0.370	0.022	0.037	0.199	0.120	0.061
31	Vorpommern	1	0.067	0.222	0.039	0.535	0.041	0.021	0.024	0.044	0.008
32	Mönchberg	1	0.089	0.074	0.015	0.091	0.031	0.009	0.207	0.453	0.031
Zwerf-1	Kanaal Weert		0.013	0.008	0.015	0.012	0.014	0.018	0.881	0.012	0.027

4.4 Genetische patronen binnen de Veluwe

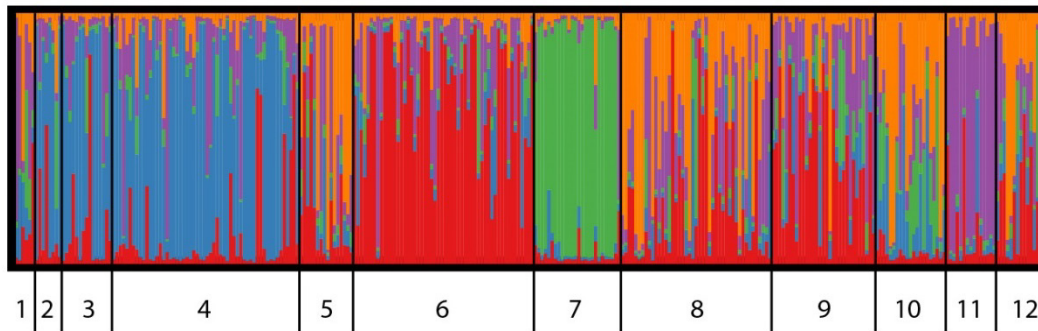
In de STRUCTURE-analyse op basis van de totale dataset vallen de profielen van de Veluwe uiteen in twee genetische clusters (Figuur 9; daar aangeduid met geel en bruin). Wanneer deze analyse wordt herhaald op basis van een dataset die enkel bestaat uit Veluwe-profielen, is hetzelfde onderscheid nog steeds zichtbaar: de deelpopulaties Noordwest B, Vale Ouwe en Noordoost worden nog steeds grotendeels toegekend aan een apart cluster (Figuur 11 en 12; in deze nieuwe analyse aangeduid met een blauwe kleur). Binnen de andere deelpopulaties wordt in deze analyse echter een onderliggende substructuur zichtbaar: deze groep valt uiteen in vier genetische clusters (Figuur 11 en 12; kleuren rood, oranje, groen en paars).

Uitzet van zwijnen vond aan het begin van de twintigste eeuw plaats in Kroondomein Het Loo (zie Bijlage 2). Van daaruit werden in de Tweede Wereldoorlog zwijnen overgebracht naar de Hoge Veluwe. De zwijnen op de zuidoostelijke Veluwe kwamen deels uit deze populatie van de Hoge Veluwe, en deels uit Kroondomein Het Loo (Bijlage 2). Tevens konden, als gevolg van slecht onderhouden rasters, tijdens de oorlog zwijnen zich vanuit de Hoge Veluwe en Kroondomein Het Loo verspreiden over de Veluwe. Hoewel dus minder dan bij de edelherten sprake lijkt van een verschil in origine, zijn bij de zwijnen de genetische verschillen tussen de diverse deelgebieden op de Veluwe echter wel groter. Hier lijkt dus vooral de versnippering van leefgebied in de tweede helft van de twintigste eeuw een rol te hebben gespeeld. Dit is niet onlogisch, gezien het aanzienlijk grotere aantal zwijnenkerende rasters in vergelijking met het aantal hertenkerende rasters, zoals meteen zichtbaar is bij een vergelijking van Figuur 8 en 12.

Het afwijkendst zijn de zwijnen binnen het raster van landgoed Hoog Deelen (populatie 7), die duidelijk een eigen cluster vormen (groene cluster in Figuur 11 en 12). Dit landgoed is tot 2003 een gesloten wildbaan geweest met een eigen, zelfstandige populatie. Vanaf 2003 is er uitwisseling mogelijk via een beperkte opening. Onduidelijk blijft vanuit welke bronnen deze populatie is opgebouwd (Bijlage 2).

Daarnaast wijken ook de historische monsters van Kroondomein Het Loo relatief sterk af, wat zichtbaar wordt door het dominerende paarse genetisch cluster in Figuur 11 en 12. Dit is niet verwonderlijk, aangezien al aan het eind van de negentiende eeuw een groot deel van het huidige Kroondomein Het Loo werd omrasterd en deze isolatie, afgezien van de eerder besproken gaten in de rasters in de Tweede Wereldoorlog, lang in stand bleef. Pas in 1999 (na de bemonstering in de periode 1989-1994) werd gestart met de aanleg van in- en uitsprongen in de rasters van het noordelijke Kroondomein en een wildtunnel onder de Amersfoortseweg, gevolgd door een geleidelijke opening en verwijdering van meer rasters rond Kroondomein Het Loo (Bijlage 2).

Des te opvallender is dan ook het feit dat al bij herbemonstering in 2011 de genetische samenstelling in Kroondomein Het Loo een sterke gelijkenis vertoonde met de omringende deelgebieden (Figuur 12). Dit toont aan dat binnen één decennium het geleidelijk opheffen van de geografische isolatie van het Kroondomein al heeft geresulteerd in aanzienlijke genetische menging. Op basis van *Fst*-waarden (Tabel 7) verschillen de zwijnen in Kroondomein Het Loo genetisch gezien inmiddels zelfs niet sterker van andere deelgebieden op de Veluwe als dat die deelgebieden onderling van elkaar verschillen.

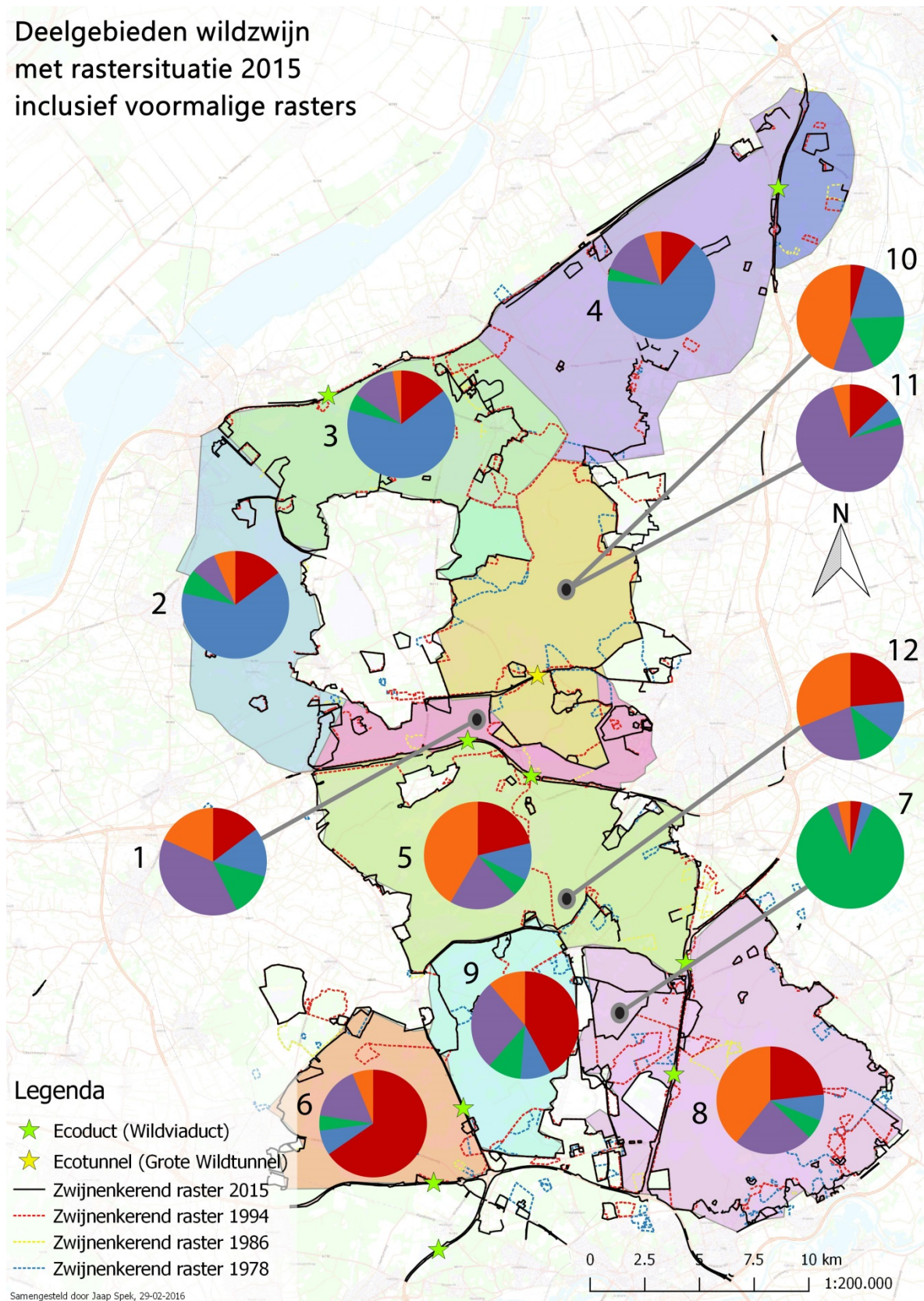


Figuur 11 Resultaten van een clusteranalyse via het programma STRUCTURE, voor alle onderzochte individuen uit de deelpopulaties binnen de Veluwe (populatiecodes in overeenstemming met Tabel 8). Elk van de vijf door het programma herkende genetische clusters kent zijn eigen kleur. NB Deze kleurenverdeling is onafhankelijk van die in Figuur 9 en 10 en Tabel 8. Elk individu is weergegeven als een smalle verticale balk die met een of meerdere kleuren is ingekleurd, afhankelijk van de verhouding waarin het individu door het programma is toegewezen aan een of meer verschillende clusters.

Binnen de rest van de Veluwe lijken sommige populaties meer uitwisseling te hebben gekend dan andere. De relatief sterke isolatie van de zuidwestelijke Veluwe, die van de rest van de Veluwe wordt gescheiden door de rasters van de Hoge Veluwe, heeft geresulteerd in een relatief sterke genetische differentiatie. Er lijkt wel sprake van enige verwantschap met de Hoge Veluwe, wat zowel historisch als recent dan ook de meest waarschijnlijk bron van immigrerende zwijnen is. De minste differentiatie vertoont het midden van de Veluwe (populatie 5), die qua genetische samenstelling vooral relatief sterke gelijkenissen vertoont met de zuidoostelijke Veluwe en de huidige populatie in Kroondomein Het Loo. Dit lijkt een weerspiegeling van de opgeheven isolerende werking van onder meer de A1 en A50 via ecodeucten (Bijlage 2 en Figuur 12).

Opvallend is de relatief sterk afwijkende genetische samenstelling van de gehele noordelijke Veluwe (populaties 2, 3 en 4). Ook hier blijft het onduidelijk welke bronnen zijn gebruikt. Tussen de noordelijke deelpopulaties onderling lijkt daarentegen wel sprake van een duidelijke genetische uitwisseling, overeenkomstig het bestaan van verschillende corridors voor zwijnen (Figuur 12).

Deelgebieden wildzwijn met rastersituatie 2015 inclusief voormalige rasters



Figuur 12 Weergave van de genetische verschillen tussen de deelpopulaties van wilde zwijnen binnen de Veluwe en hun ligging ten opzichte van de verschillende beheersgebieden (zie Tabel 2 of 6 voor codes van de populaties en beheersgebieden). Per populatie is in een taartdiagram de gemiddelde toewijzing aan de vijf door STRUCTURE onderscheiden genetische clusters weergegeven. NB: De kleurenverdeling is gelijk aan die in Figuur 11, maar onafhankelijk van die in Figuur 9 en 10 en Tabel 8.

Wanneer wordt gekeken naar de verdeling van de verschillende genetische clusters binnen en tussen individuen in de diverse deelpopulaties op de Veluwe, blijkt dat relatief vaak sprake is van individuen met een gemengde toewijzing (Figuur 11; binnen afzonderlijke horizontale balkjes, die elk een individu vertegenwoordigen, zijn vaak meerdere kleuren zichtbaar). Anders dan bij de edelherten, waar binnen deelpopulaties sprake leek van een genetische substructuur (groepjes dieren die vaker met elkaar dat met genetisch afwijkende dieren paren), lijkt bij de zwijnen veel duidelijker sprake van menging van verschillende bloedgroepen. Dit is in overeenstemming met de minder hoge Fis-waarden voor de deelpopulaties op de Veluwe.



Foto 4 Foeragerende zwijnen in voormalig landbouwperceel. (© Hugh Jansman)

5 Algemene discussie

5.1 Herkomstbepaling

Het onderzoek dat in dit rapport wordt besproken, heeft geresulteerd in een tweetal grote databases (elk bestaande uit genetische profielen van vele honderden individuen), die een degelijk beeld geven van de genetische samenstelling van alle Nederlandse populaties van wilde zwijnen en edelherten, en van de belangrijkste grens populaties in België en Duitsland van waaruit zwijnen ons land zouden kunnen bereiken. Statistische analyse van deze profielen op basis van verschillende methoden (unieke allelen, Fst-waarden en Bayesiaanse clusteringstechnieken) toont voor beide soorten aan dat de meeste populaties heel duidelijk een eigen, karakteristieke genetische samenstelling vertonen. Op basis van deze duidelijke verschillen kan worden gesteld dat het in de meeste gevallen uitstekend mogelijk zal zijn de verkregen databases te gebruiken als referentie voor het bepalen van de meest waarschijnlijke herkomst van zwijnen en herten die in ons land worden aangetroffen.

Deze bevindingen sluiten aan bij eerdere ervaringen in het buitenland voor beide doelsoorten. Dellecour *et al.* (2011) vonden eveneens zeer duidelijke verschillen tussen edelhertpopulaties in Noord-Frankrijk, op basis van Bayesiaanse clusteringsmethoden, en waren op basis daarvan in staat om individuen met grote zekerheid toe te wijzen aan de juiste herkomstpopulatie. Eerder lieten Harl *et al.* (2003) al vergelijkbare genetische verschillen zien tussen Franse populaties. Spencer & Hampton (2005) en Choi *et al.* (2014) vonden vergelijkbare resultaten voor wilde zwijnen in respectievelijk West-Australië en Zuidoost-Azië. Goedbloed *et al.* (2013) lieten zien dat ook de zwijnen in Noordwest-Europa duidelijke ruimtelijke verschillen in genetische samenstelling vertonen, maar analyseerden slechts een beperkt aantal Nederlandse dieren (afkomstig van de Veluwe). Vooral menselijke invloeden lijken verantwoordelijk voor deze sterke geografische verschillen (Šprem *et al.* 2013): fragmentatie van leefgebied, resulterend in een gebrek aan uitwisseling met andere populaties, speelt een duidelijke rol (Zachos & Hartl 2011), maar ook re-introducties en translocaties hebben in sterke mate de genetische patronen vormgegeven van Europese populaties van zowel wilde zwijnen (Goedbloed *et al.* 2013) als edelherten (Hartl *et al.* 2013).

Niet alle populaties binnen onze datasets zijn echter geheel van elkaar te onderscheiden. Bij de edelherten werden de populaties in de Oostvaardersplassen en het Weerterbos aan hetzelfde genetische cluster toebedeeld. Deze overeenkomst is opmerkelijk, aangezien de herten in het Weerterbos afkomstig zijn van een Belgische hertenhouder (Middeljans 2008), terwijl de herten in de Oostvaardersplassen afkomstig zijn uit Groot-Brittannië, Oost-Europa en van de Veluwe (Van den Hoorn 1992). Mogelijk zijn de herten van de betreffende Belgische hertenhouder oorspronkelijk van dezelfde bronnen afkomstig als de herten in de Oostvaardersplassen, maar voor ons is dit vooralsnog onduidelijk. De overeenkomst in genetische samenstelling maakt het lastig om potentiële ontsnapte herten uit een van beide populaties te onderscheiden, hoewel dit vooralsnog in de praktijk zelden aan de orde zal zijn. Onder de herten uit de Oostvaardersplassen werd wel een viertal unieke allelen aangetroffen, die in het Weerterbos niet voorkomen. Indien een onbekend hert een van deze allelen bezit, kan het dus wel degelijk tot de Oostvaardersplassen worden herleid.

Bij de wilde zwijnen is een aantal populaties in Limburg en Noord-Brabant recent ontstaan vanuit – naar alle waarschijnlijkheid – dezelfde brongebieden in ofwel Duitsland of België (Jansman *et al.* 2013) en kennen daardoor een zeer vergelijkbare genetische samenstelling. Een voorbeeld zijn de zwijnen in Zuid-Limburg, die in genetisch opzicht één populatie vormen met de zwijnen in de aangrenzende regio's in Wallonië en het oosten van Vlaams Limburg. In voorkomende gevallen, zoals voor de zwijnen die werden aangetroffen in een kanaal nabij Weert (casestudy Zwerf-1), kan op basis van de genetische methodiek slechts met zekerheid worden gezegd dat de zwijnen afkomstig zijn uit deze uitgestrekte populatie. Op basis van de geografische ligging kan echter wel aannemelijk worden gemaakt dat de zwijnen vanuit Vlaams Limburg het betreffende kanaal hebben gevolgd. De resolutie waarmee individuele dieren tot een bepaald brongebied kunnen worden herleid, zal dus van geval tot geval verschillen.

Belangrijk in dit verband is ook dat de middels dit onderzoek verkregen databases zich beperken tot populaties in Nederland en de direct aangrenzende gebieden in België en Duitsland. Dit betekent dat vooral uitspraken kunnen worden gedaan over de kans dat dieren afkomstig zijn uit een van deze populaties. Bayesiaanse clusteringsmethoden, zoals STRUCTURE, zullen een onbekend individu of groepje individuen bijna altijd aan een bepaald cluster binnen de beschikbare dataset toewijzen, ook als de werkelijke bron niet in de dataset is opgenomen. Wanneer een dier qua samenstelling geheel overeenkomt met een van de referentiepopulaties is een herkomst uit deze populatie zeer aannemelijk. Echter, er bestaat een kleine mogelijkheid dat het een dier betreft uit een niet-bemonsterde populatie die per toeval dezelfde samenstelling kent.

In dergelijke gevallen kan de exacte allelensamenstelling uitkomst bieden. Indien bij het onbekende dier, of de onbekende groep dieren, allelen worden waargenomen die nergens in de referentieset aanwezig zijn, is aannemelijk dat de dieren afkomstig zijn van een grotere afstand. Op deze manier kan de huidige dataset dus ook worden ingezet om een vermoeden van illegale uitzet te toetsen, of binnen een grotere populatie te testen welke individuen mogelijk kunstmatig zijn binnengekomen. Voor wilde zwijnen in Noord-Brabant werd de DNA-methode door Jansman *et al.* (2013) en Jansman & De Groot (2015) al met succes voor dit doeleinde gebruikt. In het buitenland wisten Spencer & Hampton (2005) een onnatuurlijke herkomst aannemelijk te maken voor wilde zwijnen in Australië. Franz *et al.* (2006) vonden duidelijke aanwijzingen voor menselijke verspreiding van edelherten naar een jachtgebied in Luxemburg. Op basis van afwijkende allelen, die niet voorkwamen in een set van 412 referentieprofielen uit België, Luxemburg en Duitsland, wisten zij aannemelijk te maken dat drie individuen op kunstmatige wijze in dit jachtgebied terecht moesten zijn gekomen. Dellicour *et al.* (2011) vonden enkele individuen waarvan de meest waarschijnlijke bron zodanig ver weg lag, dat transport door de mens aannemelijk was.

5.2 Genetische vitaliteit

Gemeten waarden voor genetische variatie en mate van heterozygositeit kunnen aanzienlijk verschillen tussen studies, afhankelijk van de gebruikte merkers, maar ook tussen diersoorten en habitattypen, afhankelijk van hun ecologie. Een mate van variatie die voor de ene soort laag is, kan voor een andere soort juist hoog zijn. Om die reden is het helaas niet mogelijk om generieke vuistregels te hanteren voor bijvoorbeeld de minimale benodigde variatie in een populatie. Interpretatie van de gevonden genetische waarden dient dus te gebeuren op basis van vergelijking met andere populaties, waarvan bekend is dat ze in een duurzame staat verkeren.

5.2.1 Edelherten

Voor de edelherten bleek binnen onze dataset de genetische variatie (zowel de allelenrijkdom A_r als de verwachte heterozygositeit H_e en aangetroffen heterozygositeit H_o) in de diverse deelpopulaties op de Veluwe, en met name ook in de Oostvaarderplassen, behoorlijk hoog te zijn in vergelijking met de meeste onderzochte Duitse populaties. Het aantal onderzochte buitenlandse referentiepopulaties was echter beperkt en de vraag is daarom wat deze resultaten betekenen met betrekking tot de vitaliteit en duurzaamheid van de Nederlandse populaties: is hun variatie daadwerkelijk relatief hoog, of is de variatie in de onderzochte Duitse populaties vooral erg laag? Relevant daarbij is dat onder de herten uit de Eifel een zeer vergelijkbare diversiteit en heterozygositeit werden aangetroffen als op de Veluwe en in de Oostvaardersplassen. Het leefgebied in de Eifel kent veel minder versnippering en het bosgebied staat in redelijke verbinding met de Hunsrück en via de Hoge Venen met Wallonië (o.a. Kinser *et al.* 2010; Groot Bruinderink *et al.* 2002). Op basis van eerder wetenschappelijk onderzoek door Frantz *et al.* (2012) is ook een vergelijking te maken met de hertenpopulatie in Wallonië, waar naar schatting tussen de 11000 en 25000 herten leven in een bosgebied van circa 5000 km² (vijf keer zo groot als de Veluwe). Een directe vergelijking van waarden uit verschillende studies is gevaarlijk wanneer verschillende genetische merkersystemen zijn gebruikt. Echter, alle door ons gebruikte merkers werden eveneens toegepast door Frantz *et al.* (2012). Een herberekening van de door hen gevonden diversiteit op basis van de overlappende merkers, levert waarden op die goed te vergelijken zijn met onze resultaten. Op basis daarvan blijkt de verwachte heterozygositeit (H_e) in Wallonië

nagenoeg gelijk aan die op de Veluwe (0.76 aldaar tegen gemiddeld 0.78 op de Veluwe). De heterozygositeit is iets lager (gemiddeld 0.68 op de Veluwe tegen 0.73 in Wallonië).

Al met al ontstaat hieruit de indruk dat in de Oostvaardersplassen en in diverse deelpopulaties op de Veluwe de diversiteit en heterozygositeit niet wezenlijk afwijken van de situatie in uitgestrekte hertenpopulaties in onze buurlanden, die naar alle waarschijnlijkheid in een duurzame staat verkeren. Dit suggereert dat in de Oostvaardersplassen en op de Veluwe momenteel sprake is van genetisch vitale hertenpopulaties.

Met betrekking tot de Veluwe is enige slag om de arm echter op zijn plaats, omdat aanvullend onderzoek op dit moment nog wordt uitgevoerd door promovendus Joost de Jong (Resource Ecology, Wageningen Universiteit). De Jong analyseerde een kleiner aantal individuen uit een gedeeltelijk overlappende set deelgebieden, maar screent van deze individuen een veel groter deel van het genoom met behulp van een ander merkersysteem (Single Nucleotide Polymorphisms, ofwel SNP's). Dit geeft een beter vermogen om signalen voor inteelt te detecteren in deze individuen. Zijn voorlopige resultaten suggereren dat bij met name een paar individuen op de zuidwestelijke en zuidoostelijke Veluwe (Planken Wambuis en Veluwezoom) het genoom opvallend grote gedeelten bevat die vrijwel geheel homozygoot zijn (De Jong *et al.* in prep.), wat als sterke aanwijzing wordt beschouwd dat in vorige generaties inteelt is opgetreden (Bosse *et al.* 2012; Curik *et al.* 2014). Deze resultaten worden op moment van schrijven van dit rapport nog in meer detail uitgewerkt (pers. comm. De Jong, maart 2016). Wanneer alle huidige resultaten worden samengenomen, lijkt het er dus op dat weliswaar de deelpopulaties op de Veluwe momenteel een gezonde hoeveelheid genetische variatie en heterozygositeit vertonen (waarschijnlijk ten minste deels als gevolg van een zeer diverse herkomst), maar dat ondertussen wel enige mate van inteelt heeft plaatsgevonden. De vraag is in hoeverre de recente ontsnippering dit proces een halt toe heeft geroepen, of dat deze inteelt ook nu nog voortduurt en dan op termijn alsnog een risico kan gaan vormen. De beste manier om hier meer zicht op te krijgen (en te houden), is door periodiek een steekproef van nieuwe hertenmonsters te analyseren, idealiter met beide merkersystemen.

Met betrekking tot de herten in de Oostvaarderplassen lijkt er vooralsnog geen reden tot zorg: deze populatie kent momenteel een relatief hoge variatie en vertoont geen tekenen van inteelt. Deze populatie werd gesticht op basis van 57 herten met een diverse genetische oorsprong (Cornelissen *et al.* 2015; Van den Hoorn, 1992), en het lijkt erop dat een flink deel van deze variatie nog altijd behouden is gebleven. De exacte variatie onder de uitgezette dieren is echter helaas onbekend, wat het onmogelijk maakt om vast te stellen welk deel mettertijd verloren is gegaan. Dat een geïntroduceerde edelhertenpopulatie, zelfs indien gesticht vanuit enkele tientallen individuen, over langere tijd een hoge variatie kan behouden, werd eerder beschreven door Pérez *et al.* (1998) voor enkele Spaanse populaties.

Voor de herten in het Weerterbos is de situatie lastiger te beoordelen. De genetische variatie is daar weliswaar nog hoger dan in de Duitse populaties nabij de grens, maar wel lager dan elders in Nederland, in de Eifel en in Wallonië. De huidige isolatie en kleine populatieomvang maken deze populatie kwetsbaar voor een verder verlies van variatie in de nabije toekomst.

Veel zorgelijker lijkt echter de genetische status van de Duitse populaties bij Bentheim, in het Reichswald en in Üfter Mark en Dämmerwald. Bij Bentheim en Reichswald is eveneens sprake van een kleine populatie met een sterk geïsoleerde ligging (Kinser *et al.* 2010), die de lage diversiteit en heterozygositeit kan verklaren. De aantallen in Üfter Mark en Dämmerwald zijn hoger (Kinser *et al.* 2010), maar ook deze regio kent een vrij geïsoleerde ligging. Eerder Duits onderzoek heeft reeds aangetoond dat fragmentatie heeft geresulteerd in genetische verarming bij edelherten in de deelstaat Nordrhein-Westfalen (Eylert 2014; Welte 2014). Ook hier wordt ingezet op ontsnippering, via het 'Bundesprogramm Wiedervernetzung' (Van Dornick 2013).

5.2.2 Wilde zwijnen

Zoals reeds gerapporteerd door Jansman *et al.* (2013), is de genetische variatie binnen de Limburgse en Noord-Brabantse zwijnenpopulaties relatief laag ten opzichte van de bemonsterde populaties in de omringende landen (Duitsland, Wallonië). Ook voor de zwijnen was een rechtstreekse vergelijking

mogelijk met de resultaten van Frantz *et al.* (2009) voor Wallonië, wat liet zien dat de diversiteit daar veel hoger lag dan in Limburg en Brabant ($He=0.68$ tegen gemiddeld $He=0.48$ in Limburg en Brabant). 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 recentelijk via stapsgewijze uitbreiding van het verspreidingsgebied zijn ontstaan uit oudere, grotere populaties in Duitsland en Wallonië (zogenaamde *founder effects*; zie Jansman *et al.* 2013). De immigratie van nieuwe zwijnen vanuit België en Duitsland naar de nieuwe populaties in Zuid-Nederland en de waargenomen uitwisseling tussen deze populaties, zullen naar verwachting de genetische diversiteit in deze gebieden in de toekomst gaan versterken (Jansman *et al.* 2013).

Wanneer echter de huidige resultaten voor de Veluwe worden opgenomen in de dataset, blijkt ook daar de diversiteit van een vergelijkbaar laag niveau. Dat is opvallend, aangezien net als bij de herten sprake is van een sterk diverse oorsprong van de Veluwse zwijnen, met inmiddels een grote totale populatieomvang. De meest aannemelijke verklaring is hier dan ook dat ten tijde van de sterke versnippering van het leefgebied in de vorige eeuw in veel van de geïsoleerde en relatief kleine deelpopulaties een genetische verarming is opgetreden. Dit vermoeden wordt ondersteund door het feit dat de variatie relatief laag was onder de oude monsters van Kroondomein Het Loo (waar de zwijnen destijds nog door rasters van de rest van de Veluwe werden gescheiden, ook al waren deze niet volledig ondoorlatend), en juist relatief hoog in de recente monsters van Kroondomein Het Loo en midden-Veluwe, waar recent meer menging lijkt te zijn opgetreden. Ook de heterozygositeit is in deze laatstgenoemde populaties relatief hoog. Hoewel ook bij de edelherten sprake was van een diverse oorsprong en ten minste tijdens een flink deel van de vorige eeuw een aanzienlijke versnippering van het Veluwse leefgebied, lijkt bij de zwijnen het proces van genetische verarming dus harder te hebben toegeslagen. Naast het grotere aantal zwijnenkerende rasters, wat heeft gezorgd voor een opsplitsing in kleinere groepen, kan ook een verschil in ecologie aan dit verschil ten grondslag liggen: zwijnen kennen gemiddeld een minder lange levensduur en hogere voortplantingssnelheid (grotere worpen), waardoor het proces van genetic drift (zie inleiding, sectie 1.2.2) binnen kortere tijd tot een groter verlies van allelen kan leiden.

5.3 Uitwisseling op de Veluwe in verleden en toekomst

5.3.1 Edelherten

De resultaten van het huidige genetisch onderzoek wijzen op een opvallend sterke verwantschap tussen de edelherten op de noordwestelijke, midden en zuidoostelijke Veluwe. De aangetroffen patronen suggereren dat regelmatige genetische uitwisseling mogelijk is geweest tussen deze gebieden. Onzeker blijft in hoeverre dit tot op zekere hoogte gedurende de hele afgelopen eeuw heeft plaatsgevonden, of dat met name de recente ontsnipperingsmaatregelen tot een toename in uitwisseling hebben geleid. Genetische onderzoek van Frantz *et al.* (2012) aan weerszijden van een autosnelweg liet zien dat grotere snelwegen een duidelijke genetische barrière kunnen vormen voor edelherten. Dit suggereert dat de genetische uitwisseling tussen edelherten in de noordelijke en zuidelijke Veluwe pas na 1998, bij de opening van ecoduct 'Harm van Veen', weer op gang is gekomen. Nu ook in de rasters van de Hoge Veluwe uitwisselingsmogelijkheden voor herten zijn gecreëerd, is te verwachten dat in de nabije toekomst ook de herten op de Hoge Veluwe weer meer in samenstelling zullen gaan lijken op de herten elders op de Veluwe. Op dit moment is dat echter nog duidelijk niet het geval en toekomstig onderzoek zal moeten uitwijzen of de genetische verschillen inderdaad zullen afnemen.

De STRUCTURE-analyses laten zien dat momenteel onder de edelherten op de Veluwe verschillende 'bloedgroepen' voorkomen, die elk in alle deelpopulaties in meer of mindere mate aanwezig zijn. De huidige mate van uitwisseling zal naar alle waarschijnlijkheid voldoende zijn om deze variatie binnen alle populaties in stand te houden. Een potentieel gevaar komt echter voort uit de waargenomen substructuur binnen de diverse deelgebieden. Met andere woorden: binnen een deelgebied lijken herten vaker met genetische verwante te paren dan met herten die minder verwant zijn. Op deze manier blijven de verschillende bloedlijnen sterker in stand dan het geval is bij de wilde zwijnen. Deze bevindingen sluiten aan bij anekdotische verhalen van hertenkenners op de Veluwe en in de Oostvaardersplassen, die aangeven bepaalde eigenschappen (zoals lichaamsbouw of vorm van het

gewei) van specifieke voorouders nog lang te hebben teruggezien in bepaalde herten van latere generaties. Mannelijke edelherten paren met meerdere vrouwen en onder mannen heerst sterke competitie om vrouwen voor zich te winnen. Seksuele selectie, o.a. op uiterlijke eigenschappen zoals geweilengte, vechtcapaciteit en brulintensiteit is sterk aanwezig (Clutton-Brock *et al.*, 1982). Deze selectie, en het proces van haremvorming, kunnen verklaringen vormen voor de waargenomen genetische substructuur in de populaties. Interessant zou zijn om in meer detail in een populatie te onderzoeken in hoeverre sprake is van geografische substructuur (ruimtelijk gescheiden subgroepen) of juist vooral gerichte selectie van paringspartners op dezelfde locatie. Een combinatie met onderzoek op basis van gezenderde dieren (Foto 5) kan dan waardevol zijn. Of paringspatronen inderdaad resulteren in instandhouding van karakteristieke eigenschappen zou getoetst kunnen worden aan de hand van bestaande collecties afgeworpen stangen.

Deze niet-willekeurige paringspatronen zijn een vorm van inteelt en kunnen een van de verklaringen vormen voor de inteeltkenmerken beschreven in sectie 5.2.1. Wanneer ook in de toekomst deze patronen standhouden, kan dit de genetische variatie binnen elk van de bloedlijnen uithollen en de kans op schadelijke effecten van een te lage heterozygositeit tot een zorgelijk niveau doen toenemen. Ondanks aantoonbare uitwisseling tussen deelgebieden is een blijvende monitoring van de inteelttrisico's binnen deze gebieden dus toch sterk aan te raden.

5.3.2 Wilde zwijnen

Met name de sterk hogere genetische differentiatie tussen deelpopulaties suggereert, in combinatie met de lagere diversiteit, dat de uitwisselingsmogelijkheden voor zwijnen in de vorige eeuw aanmerkelijk beperkter zijn geweest dan voor de edelherten. Met name de noordelijke Veluwe en de zuidwestelijke Veluwe vertonen ook momenteel nog zeer duidelijke genetische verschillen ten opzichte van de midden en oostelijke Veluwe, wat aangeeft dat de uitwisselingsmogelijkheden tussen deze gebieden te recent zijn ontstaan om genetische menging te laten plaatsvinden. Frantz *et al.* (2012) kwamen tot de opvallende conclusie dat wilde zwijnen wel degelijk in staat kunnen zijn om grotere snelwegen voldoende vaak over te steken om genetische differentiatie aan weerszijden te voorkomen. Dit sluit ook aan bij de bevinding van Jansman *et al.* (2013), dat zwijnen in Limburg met enige regelmaat in staat moeten zijn geweest om grotere wegen, zoals de A2 en A73, over te steken. Het volledig uitrasteren van een snelweg, zoals het geval is bij de A1 op de Veluwe, maakt dit echter onmogelijk.

De vergelijking van historische en recente zwijnenmonsters van Kroondomein Het Loo laat echter zien dat bij herstel van uitwisselingsmogelijkheden de genetische verschillen tussen aangrenzende zwijnenpopulaties in een tiental jaren grotendeels ongedaan kunnen worden gemaakt. Een mogelijke rol daarbij spelen niet alleen, wederom, de kortere generatieduur en hogere voortplantingssnelheid van de zwijnen, maar ook de hogere mate waarin zwijnen met verschillende genetische achtergrond zich lijken te mengen. Van veel dieren is bekend dat ze kiezen voor een onverwante partner indien ze die keus hebben. Kortom, indien door uitwisseling zich een onverwante partner meldt, kan die theoretisch bovengemiddeld snel aan genenverspreiding bijdragen. Van een substructuur als bij de herten is geen sprake. Dit geeft de hoop dat, wanneer wordt voorzien in corridors voor migratie tussen elk van de deelgebieden op de Veluwe, de genetische varianten die momenteel nog in verschillende delen van de Veluwe aanwezig zijn, zich weer over een groter gebied verspreiden, en zowel de genetische variatie als de heterozygositeit in elk van de deelgebieden weer kan toenemen tot een niveau dat geen reden is tot acute zorg. Ook hier is het echter zeer relevant om in de komende decennia periodiek te blijven monitoren of genetische verschillen inderdaad afnemen en de variatie en heterozygositeit inderdaad toenemen. Ook voor de zwijnen is een subset van de in onze analyses meegenomen monsters gedeeld met Joost de Jong ten behoeve van vergelijkbare genomische analyses met SNP-merkers als eerder beschreven voor edelherten. De resultaten daarvan zullen op vergelijkbare wijze meer inzicht geven in de vraag of recentelijk nog sprake is geweest van inteelt. Helaas waren deze resultaten echter op het moment van schrijven van dit rapport nog niet beschikbaar.



Foto 5 *Edelhert met GPS halsbandzender tijdens de bronst. De locatiegegevens van de zender geven inzicht in het terreingebruik van het hert alsmede de barrières die het daarbij ondervindt.*
(© Hugh Jansman)

6 Conclusies en aanbevelingen

6.1 Belangrijkste conclusies

In de inleiding werd een drietal concrete onderzoeksvragen geformuleerd waarop we in dit onderzoek een antwoord hebben proberen te vinden. Voor elk van deze vragen worden hieronder op basis van de voorgaande resultaten en discussie de voornaamste conclusies kort samengevat:

1) In hoeverre kan de meest waarschijnlijke herkomstpopulatie van een individueel dier worden achterhaald op basis van diens DNA?

Op basis van de binnen dit onderzoek verzamelde genetische profielen kan worden vastgesteld dat, bij zowel de edelherten als de wilde zwijnen, populaties in Nederland en de aangrenzende gebieden in België en Duitsland over het algemeen elk een sterk eigen genetische samenstelling vertonen. Dit maakt de huidige datasets uitermate bruikbaar voor het bepalen van de herkomst van herten en zwijnen die in ons land worden aangetroffen. Voor beide soorten is nu een referentiedatabase beschikbaar die in de toekomst voor dit doeleinde kan worden toegepast.

Belangrijk is om te bedenken dat de mogelijkheid bestaat dat dieren worden aangetroffen die afkomstig zijn uit een gebied dat niet in de huidige referentiedatabase is opgenomen, maar waar de dieren in genetische samenstelling sterk lijken op een van de populaties in de database. Toewijzing op basis van clusteringstechnieken zal dan toch, per abuis, resulteren in een match met de meest overeenkomende populatie in de database. Het is daarom belangrijk om ook te kijken naar de exacte allelen (genetische varianten) waaruit het DNA-profiel is opgebouwd. Wanneer in het profiel allelen worden aangetroffen die niet in de huidige omvangrijke databases aanwezig zijn, is dit een sterke indicatie dat het betreffende individu uit een verder weg gelegen populatie afkomstig is. In dat geval is een kunstmatige oorsprong waarschijnlijk. Naast migratie vanuit bekende bronpopulaties, kan de huidige database dus ook gebruikt worden om een vermoeden van kunstmatige immigratie (illegale uitzet) te bevestigen of in een grotere groep dieren te speuren naar mogelijke kunstmatige immigranten.

2) In hoeverre zijn de Nederlandse populaties voldoende genetisch divers?

Vergeleken met omvangrijke edelhertenpopulaties in omvangrijke bosgebieden elders in West-Europa, lijken de genetische diversiteit en heterozygositeit onder edelherten op de Veluwe vrijwel gelijkwaardig te zijn, en in de Oostvaardersplassen zelfs relatief hoog te zijn. Van een zorgwekkend niveau van genetische verarming of inteelt in de populaties lijkt hier op dit moment geen sprake. Wel moet voor de Veluwe nog enige slag om de arm worden gehouden, omdat voor een beperkt deel van de monsters momenteel nog een verwant onderzoek loopt waarbij in meer detail wordt ingezoomd op de vraag of in afgelopen generaties inteelt is opgetreden. In het Weerterbos is in vergelijking met de andere Nederlands populaties de variatie iets lager. Dit is een punt van zorg, aangezien het een kleine, geheel geïsoleerde populatie betreft waarbij een verdere achteruitgang aannemelijk is. Een nog lagere diversiteit en heterozygositeit werd echter aangetroffen in de Duitse populaties vlak over de grens (Bentheim, Reichswald, Üfter Mark – Dämmerwald). Deze populaties zijn tamelijk geïsoleerd, hoewel er wel af en toe dieren zouden zijn bijgeplaatst ter genenverspreiding.

De zwijnenpopulaties in zowel Limburg en Noord-Brabant als op de Veluwe zijn genetisch relatief arm vergeleken met populaties in België en Duitsland. De heterozygositeit van de populaties in Limburg en Noord-Brabant loopt erg uiteen, waarschijnlijk als gevolg van een recente kolonisatie en soms vermoedelijk kunstmatige oorsprong. Naar verwachting zullen deze variatie en heterozygositeit door aanvullende migratie in de nabije toekomst nog gaan toenemen. Op de Veluwe is de heterozygositeit hoog in een aantal populaties waar recent uitwisseling lijkt te hebben opgetreden (Kroondomein Het Loo, midden en zuidoost Veluwe; zie punt 3), maar is deze betrekkelijk laag in andere populaties (o.a. op de Hoge Veluwe).

3) In welke mate bestaan er binnen de Veluwe ruimtelijke verschillen in genetische samenstelling, en in hoeverre zijn deze te verklaren door verschillen in origine en de versnippering en ontsnippering van het leefgebied?

Zowel bij de edelherten als bij de wilde zwijnen bestaan verschillen in genetische samenstelling tussen de verschillende deelgebieden op de Veluwe. De ruimtelijke patronen en de sterkte van de verschillen zijn voor beide soorten anders.

Bij de edelherten lijken de genetische patronen met name samen te hangen met een verschil in origine. Met name de genetische samenstelling van de dieren op De Hoge Veluwe, en in mindere mate ook van Kroondomein Het Loo, wijkt af van de rest van de Veluwe. Binnen de rasters van deze twee gebieden zijn in het verleden dan ook herten vanuit heel Europa uitgezet. De afwijkende genetische varianten in deze twee gebieden komen in lage aantallen ook in andere populaties voor, door ontsnaptingen in het verleden of doordat recent meer uitwisseling op gang is gekomen. Van een goede genetische menging met de rest van de Veluwe is echter tot nu toe geen sprake. Tussen de rest van de deelgebieden op de Veluwe zijn de onderlinge genetische verschillen echter relatief beperkt. Opvallend is met name de sterke overeenkomst in samenstelling tussen de noordwestelijke, midden en zuidoostelijke Veluwe. Dit suggereert dat in de afgelopen decennia de nodige uitwisseling mogelijk is geweest. Echter, bij gebrek aan historische monsters is lastig te bepalen of dit voortdurend het geval is geweest of dat in het verleden sprake was van grotere verschillen die recent door ontsnipperingsmaatregelen zijn vervaagd. Feit is dat de verschillende 'bloedlijnen' die op de Veluwe te herkennen zijn, op dit moment in alle deelgebieden aanwezig zijn, wat resulteert in een geringe differentiatie op het niveau van deelgebieden. Echter, belangrijk is dat binnen gebieden deze bloedlijnen onderling maar matig lijken te mengen. Deze paring met relatief verwante dieren werkt een toename van het inteelniveau in de hand.

Bij de wilde zwijnen is in veel sterkere mate sprake van verschillen in genetische samenstelling tussen elk van de deelgebieden. Waarschijnlijk heeft hier met name de hogere rasterdichtheid een belangrijke rol gespeeld. Opvallend is dat, waar bij de edelherten de Hoge Veluwe duidelijk het afwijkendst was, dit bij de zwijnen op moment van monsteren niet het geval was. Met name met de midden en zuidwestelijke Veluwe bestaat een relatief sterke verwantschap, waarschijnlijk als gevolg van zowel historische (gaten in rasters) als recente (nieuwe wildpassages) uitwisselingsmogelijkheden. Dat verbetering in de uitwisselingsmogelijkheden voor zwijnen op sommige plaatsen relatief snel kan resulteren in een betere genetische menging, is mooi zichtbaar op basis van een vergelijking van historische monsters (uit de periode 1989–1994) en recente monsters (2011) van Kroondomein Het Loo. Waar in het verleden de zwijnen in Kroondomein Het Loo nog zeer sterk verschilden van de rest van de Veluwe, was hier in 2011 niet veel meer van terug te zien. De genetische samenstelling van Kroondomein Het Loo lijkt nu relatief sterk op die op de midden-Veluwe. Een sterke differentiatie is echter zichtbaar tussen de noordelijke Veluwe (beheersgebieden ZW1, 2, 3 en 8) en het midden en zuiden van de Veluwe. Ondanks de duidelijke mogelijkheden tot uitwisseling via Kroondomein Het Loo, lijkt hier tot nu toe nog relatief weinig menging te hebben opgetreden.

6.2 Relevantie voor beleid en beheer

Het voornaamste resultaat van dit onderzoek betreft de beschikking over uitgebreide referentiedatabases die een vrij compleet beeld geven van de huidige genetische samenstelling van edelherten en wilde zwijnen in Nederland en directe omgeving. Voor beide soorten laat dit onderzoek zien dat deze databases efficiënt kunnen worden ingezet als hulpmiddel om de herkomst van in ons land waargenomen wilde zwijnen en edelherten te achterhalen. De methode kan worden toegepast op individuele dieren van onbekende herkomst, maar is beleidsmatig waarschijnlijk vooral relevant als middel om na te gaan of nieuwe kolonisaties dan wel opvallende populatie-uitbreidingen in het huidige nulstandgebied moeten worden toegeschreven aan natuurlijke uitbreiding vanuit nabijgelegen populaties, natuurlijke immigratie vanuit nabijgelegen buitenlandse brongebieden of (illegale) kunstmatige toevoer betreft. Dergelijke kennis kan de besluitvorming ondersteunen rond het al dan niet behouden van een specifieke groep dieren, maar kan ook in bredere zin bijdragen aan het debat over het behoud en beheer van wilde zwijnen en/of edelherten in het huidige nulstandgebied en over het nulstandbeleid an sich. Overigens is vermenging door kunstmatig handelen met soortgenoten van grotere afstand voor edelhert en wild zwijn vrijwel zeker geen risico voor de vitaliteit en genetische autochtoniteit, aangezien er al eeuwen uitgebreid met deze soorten is beheerd.

Door Jansman *et al.* (2013) werd voor enkele zwijnenpopulaties in Limburg en Noord-Brabant op basis van de genetische profielen al aannemelijk gemaakt dat sprake was van een onnatuurlijke oorsprong. Met de binnen dit onderzoek opgezette databases zijn dergelijke duidingen voor zwijnen nog beter mogelijk, en nu voor het eerst ook voor edelherten in de praktijk toepasbaar.

De genetische profielen die voor deze databases zijn verzameld, geven tevens inzicht in de genetische vitaliteit (diversiteit en inteeltrisiko's) van de huidige Nederlandse populaties, zowel binnen de officiële leefgebieden als (in geval van wilde zwijnen) daarbuiten.

Bij de edelherten in de Oostvaarderplassen lijkt er op dit moment weinig reden tot zorg. Bij de populatie in het Weerterbos is de variatie echter aan de lage kant, wat gevolgen kan hebben voor de duurzaamheid op langere termijn, indien de huidige beperkte populatieomvang en isolatie in stand blijven. Op de Veluwe is vooralsnog sprake van een genetisch vitale populatie, maar hoe duurzaam deze situatie is, hangt af van de mate waarin de genetische menging binnen en tussen deelgebieden zich in de toekomst gaat ontwikkelen. De huidige patronen suggereren dat uitwisseling tussen deelgebieden succesvol op gang komt, maar laat ook zien op welke plaatsen dit nog niet meetbaar het geval is. Met name de herten in Kroondomein het Loo en De Hoge Veluwe lijken op dit moment genetisch nog relatief sterk afwijkend van de herten elders op de Veluwe.

De Nederlandse populaties van wilde zwijnen zijn op dit moment minder divers dan op basis van een vergelijking met buitenlandse referentiepopulaties wenselijk zou zijn voor een duurzaam behoud op de lange termijn. Onze resultaten voor de wilde zwijnen op de Veluwe geven hoop dat de recentelijk verbeterde uitwisselingsmogelijkheden kunnen resulteren in een aanzienlijke verbetering van de genetische menging tussen deelgebieden, en daarmee in een toename in de genetische variatie en heterozygositeit. Wanneer in de nabije toekomst alle deelgebieden in deze uitwisseling worden betrokken, kan één genetisch vitale populatie ontstaan. Onze resultaten brengen echter ook potentiële knelpunten in de huidige uitwisselingsmogelijkheden aan het licht: met name uitwisselingen tussen zwijnen ten noorden en ten zuiden van de agrarische enclave Uddel-Elspeet lijken tot nu toe beperkt te zijn geweest.

In algemene zin kan worden gesteld dat een scenario zonder rasters op de Veluwe het ideaalst zou zijn om een optimale genetische menging te garanderen, en daarmee de kans op genetische verarming zo klein mogelijk te maken. De vraag is echter of dit scenario vanuit beleidsperspectief realistisch is. Onze resultaten suggereren dat ook openingen in rasters wel degelijk binnen afzienbare tijd tot effectieve (genetische) uitwisseling kunnen leiden. Het succes zal echter afhankelijk zijn van gerichte plaatsing op locaties waar nu nog knelpunten in de uitwisseling bestaan, en een keuze voor een type passage dat optimaal is voor de betreffende doelsoort (zwijn en/of hert). Daarnaast geldt dat voor een duurzaam behoud op de lange termijn wel een minimale populatiegrootte vereist is. Wanneer voldoende interne uitwisseling kan worden gegarandeerd kan, bij de hoefdieren op de Veluwe en op basis van onze resultaten ook bij de edelherten in de Oostvaardersplassen, waarschijnlijk de diversiteit tot op zekere hoogte behouden blijven. In een veel kleinere populatie, zoals de edelherten in het Weerterbos, is dit veel minder haalbaar en zal op termijn een aanvoer van 'vers bloed' nodig zijn, ofwel door natuurlijke immigratie mogelijk te maken ofwel door kunstmatige toevoeging. Bij het eventueel starten van nieuwe edelhertenpopulaties elders in het land is het belangrijk hier vooraf rekening mee te houden.

6.3 Aanbevelingen

Met betrekking tot herkomstbepalingen:

- De genetische samenstelling van populaties kan door de tijd heen sterk veranderen als gevolg van toevallige processen of menselijke invloeden in een populatie, of door veranderde uitwisselingspatronen tussen populaties. Om de ontwikkelde genetische databases te kunnen blijven toepassen voor herkomstbepalingen, is het daarom zaak om deze periodiek te updaten met profielen van nieuw verzamelde monsters. Het is daarnaast ook aan te bevelen om van hoefdieren die opduiken in nieuwe leefgebieden DNA-monsters te blijven verzamelen voor eventueel toekomstig onderzoek.
- Voor een verdere optimalisering van toekomstige herkomstbepalingsanalyses zou het goed zijn om een steekproef van monsters te verwerven van gehouden herten en zwijnen.

Met betrekking tot genetische vitaliteit in populaties:

- Het is aan te bevelen om bij nieuw te starten populaties (bijvoorbeeld edelherten in het Drents-Friese woud) van alle individuen een DNA-monster te nemen om op termijn de ontwikkeling in genetische variatie te kunnen volgen. Dit kan inzicht geven in thema's als effectieve populatieomvang, minimale levensvatbare populatieomvang (MVP) et cetera.
- Vervolgens is gerichte monitoring aan te bevelen om eventuele genetische verarming of inteelt op tijd te signaleren. Van de edelherten uit het Weerterbos is voor uitzet een DNA-monster genomen voor dit doeleinde en onderzocht binnen dit onderzoek. Het is aan te raden in de komende jaren opnieuw een analyse te maken hoe de variatie zich heeft ontwikkeld, mede om inzicht te krijgen in de minimale levensvatbare populatieomvang.
- Hoewel zowel bij de herten als bij de zwijnen op de Veluwe in meer of mindere mate sprake lijkt van recente uitwisseling tussen deelgebieden, is het voor beide soorten relevant om periodiek (bijvoorbeeld eens per tien jaar) te blijven monitoren hoe de genetische variatie binnen en tussen deze gebieden zich ontwikkelt. Voor de edelherten is de variatie op peil, maar is het van belang om te controleren of dit het geval blijft. Voor de zwijnen is de huidige situatie minder duurzaam en is het van belang om te controleren of recente en/of toekomstige ontsnipperingsmaatregelen deze situatie weten te verbeteren. De huidige databases bieden een nulmeting voor dergelijke monitoring in de toekomst.

Literatuur

- Anoniem (1991). Nota Jacht en Wildbeheer. Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer & Visserij.
- Bak, J. (2005). De Hoge Veluwe: natuur en kunst. Stichting NP De Hoge Veluwe, Otterlo.
- Bosse, M., Megens, M.-J., Madsen, O., Paudel, Y., Frantz, L.A.F. *et al.* (2012). Regions of homozygosity in the porcine genome: consequences of demography and the recombination landscape. *PLoS Genetics* 8: e1003100.
- Brouwer, G.A. (1949). Enige historische bijzonderheden over het Edelhert in Nederland en een beschouwing over de Veluwe Herten als natuurbeschermingsobject. In: Tinbergen, N. & J. Wilcke (red.). In het voetspoor van Thijssen, Een reeks bijdragen over veldbiologie, natuurbescherming en landschap. H. Veenman & Zonen, Wageningen.
- Buiteveld, J. & H.P. Koelewijn (2006). *Klein, en dan? Wat kan een beheerder doen met kleine en kwijnende populaties*. Wageningen, Alterra, Alterra-rapport 1250.
- Charlesworth, D. & B. Charlesworth (1987). Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 237-268.
- Choi, S.K., Lee, J.-E., Kim, Y.-J., Min, M.-S., Volosina, I., Myslenkov, A., *et al.* (2014). Genetic structure of wild boar (*Sus scrofa*) populations from East Asia based on microsatellite loci analyses. *BMC Genetics* 15:85.
- Clutton-Brock, T.H., F.E. Guinness & S.D. Albon, 1982: Red Deer, Behavior and Ecology of Two Sexes. The University of Chicago Press. 378p.
- Cornelissen, P., Dekker, J., Beemster, N., Breeveld, H. (2015). Vegetatie, vogels, grote herbivoren en recreatie in de Oostvaardersplassen. Staatsbosbeheer.
- Curik, I., Ferencaković, M. & J. Sölkner (2014). Inbreeding and runs of homozygosity: a possible solution to an old problem. *Livestock Science* 166: 26-34.
- De Groot, G.A., H.A.H. Jansman, J. Bovenschen, I. Laros, Y. Meyer-Lucht en J. Höglund, 2014. *Inteelt onder Sallandse korhoenders; De genetische gevolgen van een kleine populatieomvang*. Wageningen, Alterra Wageningen UR (University & Research centre), Alterra-rapport 2599.
- Dellicour, S., Frantz, A.C., Colyn, M., Bertouille, S., Chaumont, F. & M.C. Flamand (2011). Population structure and genetic diversity of red deer (*Cervus elaphus*) in forest fragments in north-western Europe. *Conservation Genetics* 12: 1287-1297.
- Earl, Dent A. and vonHoldt, Bridgett M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* vol. 4 (2) pp. 359-361.
- Eylert, J. (2014). Lebensraumverbund in NRW. *Natur in NRW* 4: 24-26.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611-2620.
- Frankham, R. (2010). Inbreeding in the wild really does matter. *Heredity* 104: 124.

-
- Frankham, R., J.D. Ballou en D.A. Briscoe (2010). *Introduction to conservation genetics*. Tweede editie. Cambridge University Press, Cambridge.
- Goudet, J. (1995). FSTAT (vers. 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*, 86, pag. 485-486.
- Frantz, A.C., Pourtois, T., Heuertz, M., Schley, L., Flamand, M.C., Krier, A., Bertouille, S., Chaumont, F. & T. Burke (2006). Genetic structure and assignment tests demonstrate illegal translocation of red deer (*Cervus elaphus*) into a continuous population. *Molecular Ecology* 15: 3191-3203.
- Frantz, A.C., Bertouille, S., Eloy, M.C., Licoppe, A., Chaumont, F., & M.C. Flamand (2012). Comparative landscape genetic analyses show a Belgian motorway to be a gene flow barrier for red deer (*Cervus elatus*), but not wild boars (*Sus scrofa*). *Molecular Ecology* 21: 3345-3457.
- Goedbloed, D.J., Van Hooft, P., Megens, H-J., Langenbeck, K., Walburga, L., Crooijmans, R.P.M.A., *et al.* (2013). Reintroductions and genetic introgression from domestic pigs have shaped the genetic population structure of Northwest European wild boar. *BMC Genetics* 14:43.
- Groot Bruinderink, G.W.T.A., Van der Sluis, T., Pouwels, R., & D.R. Lammertsma (2002). Perspectives for an ecological network for red deer (*Cervus elaphus*) in the Belgian-Dutch-German border area *Lutra* 45: 19-28.
- Hampton, J.O., Spencer, P.B.S., Alpers, D.L., Twigg, L.E., Woolnough, A.P., Doust, J., Higgs, T. & Pluske, J. (2004). Molecular techniques, wildlife management and the importance of genetic population structure and dispersal: a case study with feral pigs. *Journal of Applied Ecology* 41: 735-743.
- Hartl, D.L. & A.G. Clark (1997). *Principles of population genetics*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Hartl, G.B., Zachos, F. & K. Nadlinger (2003). Genetic diversity in European red deer (*Cervus elaphus* L.): anthropogenic influences on natural populations. *Comptes Rendus Biologies* 326: 37-42.
- Jakobsson, M., Rosenberg, N.A. (2007). CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics* 23:1801-1806.
- Jansman, H.A.H., T. Hofmeester, G.A. de Groot, I. Laros, J. Bovenschen, M. Speelman, J. van der Hout, J. Casaer, P. Breyne & H.P. Koelewijn (2013). *Genetica van wilde zwijnen in Limburg en Noord-Brabant; Verspreiding, herkomst en verwantschap*. Wageningen, Alterra, Alterra-rapport 2404.
- Jansman, H.A.H. & G.A. de Groot (2015). *Herkomstbepaling Wilde zwijnen in de Provincie Noord-Brabant*. Alterra-notitie. Alterra Wageningen UR, Wageningen.
- Kinser, A., Koop, K. & H. Freiherr von Münchhausen (2010). Die Rotwildverbreitung in Deutschland. *AFZ-Der Wald* 5: 32-34.
- Kuehn, R., Anastassiadis, C., & F. Pirchner (1996). Transfer of bovine microsatellites to the cervine (*Cervus elaphus*). *Animal Genetics* 27: 199-201.
- Kuehn, R., Schroeder, W., Pirchner, F. & O. Rottmann (2003). Genetic diversity, gene flow and drift in Bavarian red deer populations (*Cervus elaphus*). *Conservation Genetics* 4: 157-166.
- Litjens, B.E.J. (1987). *Het zwartwild in de vrije wildbaan van de Veluwe*. Vereniging Wildbeheer Veluwe, Arnhem.

-
- Machery-Nagel (2014). Genomic DNA from tissue. User manual NucleoSpin 96 Tissue. Revision 7. Machery-Nagel, Düren, Duitsland.
- Middeljans, E. (2008). Het Weerterbos en de edelherten. Ark Natuurontwikkeling.
- Pérez, T., Albornoz, J., Nores, C. & A. Domínguez (1998). Evaluation of genetic variability in introduced populations of red deer (*Cervus elaphus*) using DNA fingerprinting. *Hereditas* 129: 85-89.
- Pritchard, J.K., M. Stephens en P. Donnelly (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. Volume 155, pag. 945-959.
- Rosenberg, N.A. (2004). DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes* 4: 137-138.
- Shaffer, M. (1987). Minimum viable populations: coping with uncertainty. In: Soule, M.E. (Ed.), *Viable Populations for Conservation*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 69-86.
- Spencer, P.B.S. & J.O. Hampton (2005). Illegal translocation and genetic structure of feral pigs in Western Australia. *Journal of Wildlife Management* 69: 377-384.
- Šprem, N., Frantz, A.C., Cubric-Curik, V., Safner, T. & I. Curik (2013). Influence of habitat fragmentation on population structure of red deer in Croatia. *Mammalian Biology* 78: 290-295.
- Van den Hoorn, D.A.C. (1992). Edelherten in de Oostvaardersplassen. *Het Edelhert*, 27 (1), 6-8.
- Van den Hoorn, D.A.C. (1996). Een koning in ballingschap, Het edelhert in de twintigste eeuw, Bosch & Keuning, De Bilt.
- Van Dornick, B. (2013). Nachweis der Wirksamkeit von Wiedervernetzungsmaßnahmen. *Natur in NRW* 4: 24-28.
- Welte, J. (2014). Untersuchungen zur genetischen Diversität beim Rotwild (*Cervus elaphus*, L.) mit Hilfe von Knochen-DNA-Analysen. Proefschrift. VVB Laufersweiler Verlag, Giessen, Duitsland.
- Zachos, F.E. & G.B. Hartl (2011). Phylogeography, population genetics and conservation of the European red deer *Cervus elaphus*. *Mammal Review* 41:138-150.

Bijlage 1 Versnippering en ontsnippering van het leefgebied van edelherten op de Veluwe

Inleiding

Zowel de versnippering van de Veluwe als de ontsnippering is chronologisch weergegeven. Daar waar sprake is van isolatie of van herstel van verbindingen tussen populaties is dit specifiek aangegeven.

Eind negentiende eeuw

Aan het eind van de negentiende eeuw waren er geen fysieke barrières op de Veluwe. Als standwildgebieden golden de bosrestanten op de Veluwe. Eind negentiende eeuw komen de eerste plannen voor het plaatsen van rasters. In 1896 wordt om een deel van het huidige Kroondomein Het Loo raster geplaatst (rond de bossen van Hoog Soeren en Wiesel), de wildbaan die ontstond had een grootte van 3.100 ha (1).

Ook op de Zuid-Veluwe ontstonden in deze tijd (1895–1897) de gesloten wildbanen Deelerwoud (1.450 ha) en Varena (1). Ondanks bovengenoemde rasters, die natuurlijk delen leefgebied onbenutbaar maakten, was vrije wisseling op de Veluwe gewaarborgd.

Begin twintigste eeuw (1900–1940)

In deze periode tot aan de Tweede Wereldoorlog zijn de volgende zaken relevant.

Rond circa 1930 is gestart met de rasters rond de Hoge Veluwe, eerst het noordelijk (1.200 ha) en middengedeelte (3.000 ha), enkele jaren hierna uitgebreid met het zuidelijke gedeelte tot aan de Koningsweg, tezamen circa 5.700 ha groot (1). Ook de wildbaan van Kroondomein Het Loo is in deze periode verder uitgebreid tot een oppervlak van circa 10.000 ha (1).

De belangrijkste standwildgebieden in deze periode waren het Planken Wambuis (A), Imbosch-Hagenau (B) en het Vierhousterbos (C) (1). De rest van Veluwe wordt bestempeld als wisselwildgebied. Uitwisseling tussen de standwildgebieden is nog steeds mogelijk. O.a. via de zuidzijde van de Hoge Veluwe (A-B), ten noordwesten van de Hoge Veluwe (A-C) en ten noordoosten van het Deelerwoud (B-C). Opvallend is dat er niets vermeld wordt over de huidige Midden-Veluwe, bestaande uit de boswachterijen Ugchelen/Hoenderloo en Kootwijk/Loobos van Staatsbosbeheer.

Niet uitgesloten is dat er nog wisseling plaatsvond met populaties uit Duitsland. Ook wisseling richting de Utrechtse Heuvelrug vond nog plaats (1).

Zowel op het Kroondomein als op de Hoge Veluwe zijn er diverse herten geïmporteerd uit geheel Europa. Ook werden tussen de drie gesloten wildbanen edelherten uitgewisseld. Ook bekend is dat er Kroondomeinherten zijn uitgezet in het Staatswildreservaat. Ook zijn er verschillende waarnemingen van herten die vice versa wisselden tijdens de bronst tussen de vrije wildbaan en de diverse gesloten wildbanen.

De Tweede Wereldoorlog en net daarna

In deze periode en kort hierna is er door gaten in de verschillende buitenrasters een intensieve uitwisseling geweest tussen de edelherten in en buiten de gesloten wildbanen.

De populaties net na de Tweede Wereldoorlog worden geschat op: Kroondomein (450 stuks), Hoge Veluwe 12-15 stuks, Planken Wambuis 70 stuks, Imbosch circa 35 stuks en ruim 45 stuks omgeving Elspeet (1).

Periode 1950 tot heden

In de jaren vijftig startten de ingrijpendste activiteiten binnen het nog vrij intacte leefgebied in de vrije wildbaan. Deze zijn hieronder chronologisch weergegeven met hierna de consequenties op de uitwisseling binnen de vrije wildbaan.

Tabel B1

Chronologisch overzicht rasterplaatsing en rasterverwijdering na WOII.

1946- 1947	Aanleg A12 gedeelte Arnhem – Veenendaal (4)
circa 1950	Aanleg raster rond belangrijk deel Planken Wambuis(2)
circa 1955	Wildbaan Kroondomein wordt in tweeën gedeeld door het uitrasteren van de Amersfoortseweg (mond. Med. J. Spek)
1956	Plaatsing Hoog Buurloraster van Hoenderloo naar Assel
eind jaren 50	Raster rond Vierhouterbos en ?? Noorderheide
circa 1960	Plaatsing Bloemersraster van Elspeet tot aan de Ullerberg
1971	Aanleg A1 gedeelte Stroe-Apeldoorn(4)
1977	Aanleg A50 gedeelte Apeldoorn – Zwolle(4)
1985	Plaatsing buitenraster Assel – Stroe – Otterlo(5)
1989	Aanleg A50 gedeelte Arnhem – Apeldoorn inclusief aanleg wildviaducten Woeste Hoeve en Terlet(4)
1989	Verwijdering Hoog Buurloraster (5)
1990	Rasterverlagingen rond de landbouwenclaves Hindekamp/Ginkel, Nieuw Reemst en de Mossel (5)
1990	Opheffen gesloten wildbaan Deelerwoud / Natuurmonumenten(5)
1990	Opheffen gesloten wildbaan Vierhouterbos / Noorderheide(5)
1993	Rasterverlagingen zuidzijde Noorderheide (5)
1993	Rasterplaatsing zuidoostzijde Zuidwest-Veluwe
1992-97	Gefaseerde rasterverlagingen Bloemersraster (5)
1996	Rasterverlagingen zuidzijde leefgebied Zuid Oost Veluwe(5)
1998	Verwijdering raster Assel – Stroe ten zuiden van de spoorlijn Apeldoorn – Amersfoort(5)
1998	Opening wildviaduct Harm van de Veen over de A1(5)
1999	In -en uitsprongen in raster Kroondomein Het Loo

Verbinding Zuid West Veluwe – Zuid Oost Veluwe ten zuiden van de Hoge Veluwe

Deze oude verbinding is onder meer door de aanleg van de A12 steeds smaller geworden. In de resterende corridor tussen de A12 en de rasters van de Hoge Veluwe is in de loop der jaren de nodige bebouwing gekomen. Tot in de midden jaren negentig probeerden herten gebruik te maken van de route. Deze liepen echter klem bij Camping de Hoge Veluwe en de Brandweeracademie gelegen in driehoek Kemperbergerweg en Koningsweg. In 1993 is deze toch al niet meer functionerende verbinding aan de zuidoostzijde van het Planken Wambuis van een grofwild-kerend raster voorzien. Niet duidelijk is tot wanneer deze verbinding heeft gefunctioneerd.

Verbinding Zuid West Veluwe – Midden en Noord Veluwe

Zowel ten westen als ten oosten van Otterlo was er wisseling van herten naar de Midden- en de Noord-Veluwe. Ook nadat het raster aan de noordzijde van het Planken Wambuis werd geplaatst (circa 1950), was dit mogelijk. De mogelijkheden werden natuurlijk wel beperkt. In de loop der jaren is de wisselingsmogelijkheid ten noordwesten van Otterlo door een intensievere bebouwing verloren gegaan, ook de wisselingsmogelijkheid tussen Otterlo en de rasters rond de Hoge Veluwe verslechterde steeds verder, door een intensievere menselijke aanwezigheid.

Wisseling met de Midden en Zuid Oost Veluwe

De plaatsing van het Hoog Buurloraster rond 1960 maakte de uitwisseling richting Staatswildreservaat en van hieruit richting de Zuidoost-Veluwe onmogelijk.

Wisseling richting de Noord-Veluwe bleef ondanks de aanwezigheid van het Hoog Buurloraster nog wel mogelijk, de belangrijkste barrière die hier verscheen, was de A1 die in 1971 is aangelegd. Of na aanleg nog wisseling optrad, is onduidelijk; elke vorm van uitwisseling werd onmogelijk door het grofwild-kerende raster van Otterlo – Stroe naar Assel, dat in 1985 is geplaatst.

Door het verwijderen van het Hoog Buurloraster in 1989 werd het gebied ISK en Kootwijk-Loobos weer aan het leefgebied van het edelhert toegevoegd. De enige verbinding die nog reesterde, was die tussen Otterlo en de Hoge Veluwe. Inmiddels is deze in 1999 enigszins verbeterd, echter voor edelherten blijft het een uiterst marginale verbinding, waarvan het gebruik niet kan worden bevestigd.

Verbinding Zuidoost- en Midden-Veluwe en de Noord-Veluwe

Deze verbinding is door de aanleg van het Hoog Buurloraster rond 1960 verbroken. De verbinding tussen de populatie op de Midden- en Zuidoost-Veluwe is nooit verbroken geweest, dit mede omdat versnipperende werking van de A50 gelijk werd opgeheven met de bouw van het wildviaduct A50.

Verbinding Noord-Veluwe en Zuid-Veluwe

Zoals al eerder vermeld, heeft de aanleg van de A1 in 1971 de bestaande wisseling geblokkeerd. Een volledige blokkade is er vanaf 1985, toen het raster tussen Assel en Stroe werd geplaatst.

Inmiddels is de barrièrewerking van de A50 opgeheven middels de aanleg van het wildviaduct Harm van de Veen in 1998. Ook de overige rasters die wisseling onmogelijk maakten, zijn verwijderd.

Interne Wisseling Noord-Veluwe

Door de aanleg van Bloemersraster rond 1960 en de aanleg van de gesloten wildbanen Vierhouterbos en Noorderheide in de jaren vijftig, werden de onderlinge uitwisselingsmogelijkheden tussen de edelherten op de Noord-Veluwe sterk beperkt echter niet volledig verhinderd. Uitwisseling tussen de Noordwest- en de Noordoost-Veluwe bleef mogelijk via het gebied tussen Vierhouten en Nunspeet.

Inmiddels zijn door rasterverwijderingen (Vierhouterbos 1990) en rasterverlagingen (Noorderheide 1993 / Bloemersraster 1992-1997) de vroegere uitwisselingsmogelijkheden hersteld.

Kroondomein Het Loo

De gesloten wildbaan van het Kroondomein is rond 1955 opgedeeld in een noordelijke en een zuidelijke wildbaan vanwege het intensievere verkeer op de Amersfoortseweg.

In 1999 zijn er zowel in de noordelijke als in de zuidelijke wildbaan in- en uitsprongen gemaakt, die inmiddels redelijk intensief worden gebruikt. Door deze openingen behoort het Kroondomein formeel tot de vrije wildbaan.

Ook is in 1999 een tunnel aangelegd die beide wildbanen met elkaar verbindt. Tot op heden zijn er geen waarnemingen van edelherten die deze verbinding gebruiken.

Bronnen

1. Brouwer, G.A., 1949. Enige historische bijzonderheden over het Edelhert in Nederland en een beschouwing over de Veluwe Herten als natuurbeschermingsobject, Uit : In het voetspoor van Thijssse, Een reeks bijdragen over veldbiologie, natuurbescherming en landschap, H. Veenman & Zonen, Wageningen.
2. Ministerie van LNV, 1961. Hertenbeheer, Vervolg-rapport van de Adviescommissie Hertenreservaten behandelende het Hertenvraagstuk op de West en de Noord Veluwe.
3. Van den Hoorn, D.A.C., 1996. Een koning in ballingschap, Het edelhert in de twintigste eeuw, D.A.C. van den Hoorn, Bosch & Keuning, De Bilt.
4. F. Hollander. 2015. Aanleg autosnelwegen. Website: www.autosnelwegen.nl
5. Divers, Archief Vereniging Wildbeheer Veluwe.

Bijlage 2 Versnippering en ontsnippering van het leefgebied van wilde zwijnen op de Veluwe

Inleiding

Zowel de versnippering van de Veluwe als de ontsnippering is chronologisch weer gegeven. Daar waar sprake is van isolatie of van herstel van verbindingen tussen populaties is dit specifiek aangegeven.

Tot eind 19^e eeuw

Aan het einde van de achttiende eeuw was de wilde zwijnenstand in Nederland behoorlijk afgenomen ten gevolge van de zware jachtdruk (drijfjachten) in de landbouwgebieden van oostelijk en zuidelijk Nederland.

Alleen in praktisch onbewoonde streken, zoals grote delen van de Veluwe, kon het wilde zwijn nog stand houden, hoewel ook hier de populatiedichtheid laag zal zijn geweest.

In de negentiende eeuw is het zwijn zeldzaam geweest in Nederland. In de oudere literatuur werd aangegeven dat het als wisselwild nog in de grensgebieden van ons land werd gesignaleerd, terwijl op de Veluwe het laatste wilde zwijn in 1826 zou zijn geschoten. Dit laatste is echter niet juist, daar onder Loenen op de Veluwe (1861), evenals overigens in de Onzalige Bossen en directe omgeving, nog wilde varkens – zij het in kleinere aantallen – voorkwamen.

Aan het einde van de negentiende eeuw waren er geen fysieke barrières op de Veluwe. Als standwildgebieden golden de bosrestanten op de Veluwe (6).

Eind negentiende eeuw komen de eerste plannen voor het plaatsen van rasters. In 1896 wordt om een deel van het huidige Kroondomein Het Loo raster geplaatst (rond de bossen van Hoog Soeren en Wiesel); de wildbaan die ontstond had een grootte van 3.100 ha (1).

Ook op de Zuid-Veluwe ontstonden in deze tijd (1895-1897) de gesloten wildbanen Deelerwoud (1.450 ha) en Varena (1). Onduidelijk is of binnen deze rasters wilde zwijnen voorkwamen.

Begin 20^{ste} eeuw: 1900–1940

In deze periode tot aan de Tweede Wereldoorlog zijn de volgende zaken relevant.

Vanaf het begin van de twintigste eeuw werd op de Veluwe zwartwild ten behoeve van jachtdoeleinden uitgezet in omrasterde gebieden, zoals Kroondomein Het Loo (1904) en onder Hoenderloo (1917) in de zogenaamde 'Varkensbaan' van de Familie Kröller, die vlak ten noorden van het huidige nationale park 'De Hoge Veluwe' was gelokaliseerd. De uitgezette varkens waren afkomstig uit Duitsland en Oost-Europa. Mogelijk is aan het einde van de twintiger jaren een eerste poging ondernomen om weer zwartwild in de vrije wildbaan te introduceren. Naar verluidt zijn door tussenkomst van Prins Hendrik enige stuks zwartwild uit de gesloten wildbaan van Kroondomein Het Loo ter beschikking gesteld aan de Van Pallandts, die ze loslieten op de zuidoostelijke Veluwe.

Van 1917-1940 hebben in de varkensbaan van de familie Kröller wilde zwijnen geleefd. De grootste omvang van het bestand is ca. 60 dieren geweest. Genoodzaakt door verslechterde financiële omstandigheden werd deze varkensbaan omstreeks 1940 opgeheven, nadat nagenoeg alle hierin voorkomende zwijnen waren afgeschoten (6).

De Tweede Wereldoorlog en net hierna

Voor en tijdens de Tweede Wereldoorlog werd het uit omrasterde wildbanen ontsnapte zwartwild fel bejaagd om schade te voorkomen. In 1942 werden door de Duitse bezetters wilde varkens op het omrasterde terrein van de 'Hoge Veluwe' uitgezet, die van de Kroondomeinen afkomstig waren. In een later stadium van de oorlogsjaren werden enkele exemplaren uit deze nieuwe gevormde 'Hoge Veluwe'-populatie weggevangen. Deze zijn door de Duitsers uitgezet in de Onzalige Bossen, met de bedoeling ook daar een zwartwildbestand op te bouwen.

In het laatste oorlogsjaar liet het onderhoud van de rasters van Kroondomein Het Loo en de Hoge Veluwe te wensen over. Dit had tot gevolg dat het zwartwild, meer dan voorheen het geval was, ontsnapte en zich over de Veluwe verspreidde. Na afloop van de oorlog bleek het zwartwild over grote delen van de Veluwe voor te komen, zij het in uiterst lage dichtheden. De lage jachtdruk in België en

Duitsland gedurende de oorlogsjaren zorgde in de periode van 1946–1950 voor een invasie van wilde zwijnen in de Nederlandse grensstreken.

Daar de vrees gerechtvaardigd was dat een verdere verspreiding van het wilde zwijn de landbouw sterk zou schaden, werd eind 1947 bij jachtwetswijziging het wilde zwijn ondergebracht in de categorie 'schadelijk wild' (6).

Periode 1945 tot heden

Tegen het einde van de veertiger jaren en het begin van de vijftiger jaren werd in verschillende grotere jachtvelden, zoals de Onzalige Bossen op de Zuidoost-Veluwe en Welna en omgeving op de noordoost Veluwe, schoorvoetend een begin gemaakt met een jachttechnisch gericht zwijnenbeheer. Rond de Onzalige Bossen bleek de uitzwerming naar de landbouwgronden echter te hoog te blijven, waardoor een deel van het bosgebied ter grootte van ca. 700 ha in de periode 1952–1954 werd ingerasterd. In 1952 werd eveneens het Vierhousterbos ingerasterd.

Gelijktijdig met het van kracht worden van de Jachtwet werd het Jachtfonds ingesteld. Een van haar doelstellingen was het bevorderen van maatregelen tot voorkoming van schade door wild. Voor de Veluwe hield dit in dat nu de mogelijkheid aanwezig was tot een tegemoetkoming in de kosten van aanleg en onderhoud van rasters om landbouwgronden te beschermen tegen edelherten.

Door de aanleg van hertenkerende rasters werden nu landbouwgronden ook meer gevrijwaard voor schade door zwartwild. Een en andere resulteerde dan ook in een wat voorzichtiger afschotbeleid in een toenemend aantal jachtvelden. Dit had een geleidelijke toename van zwartwild tot gevolg.

Op basis van een Benelux-overeenkomst uit 1970 om de jachtwetgeving in de Benelux-landen meer op elkaar af te stemmen, kwam in 1972 een voorstel tot jachtwetswijziging tot stand, waarbij het wild werd ingedeeld in vier categorieën. Het zwartwild viel onder het grofwild, terwijl het begrip schadewild uit de Jachtwet zou verdwijnen. Na een overgangsregeling werd de jacht op deze diersoort gesloten. Evenals bij de overige onder het grofwild ressorterende diersoorten werd nu afschot op vergunning toegestaan.

De toenemende bescherming droeg bij tot een verdere groei in de stand. In 1974 werd de voorjaarsstand geschat op ca. 570 stuks. De intensivering van de landbouw en de toenemende zwartwildpopulatie maakten dat de landbouwschade in de eerste helft van de zeventiger jaren enorm toenam.

De toenemende landbouwschade was aanleiding een werkgroep in te stellen. Dit leidde tot de volgende maatregelen:

- onderverdeling van de Veluwe in een zevental leefgebieden;
- per leefgebied een beheeradviescommissie de zogenaamd leefgebiedscommissies;
- net zoals voor het overige grofwild de invoering van een merkenregeling;
- instellen van de Zwartwildbeheeradviescommissie (ingesteld op 1-2-1976 en op 6-2-1976 geïnstalleerd);
- oprichting van de Vereniging Wildbeheer Veluwe (6-10-1975).

Vanaf 1978 werden door het Jachtfonds extra financiële middelen aangewend om nieuwe rasters en roosters te plaatsen om grotere aaneengesloten landbouwgebieden te vrijwaren van zwartwildschade. Ook in slechte staat verkerende zwartwildrasters werden nu hersteld. Door aanleg en herstel hiervan, maar ook door een beter populatiebeheer van het zwartwild, is de landbouwschade vanaf 1977 tot nu toe behoorlijk afgenomen.

Vanaf 1988 hebben ook de leefgebieden 4 en 8 een volwaardige plaats in het reguliere zwartwildbeheer op de Veluwe.

Eind jaren tachtig wordt in de beleidsvisie voor het grofwild op de Veluwe het streven uitgesproken naar het afstemmen van het zwartwildbeheer in de huidige gesloten wildbanen op die van de vrije wildbaan. De zwartwildrasters zullen waar mogelijk verdwijnen, om zo de uitwisselingsmogelijkheden te vergroten. In deze tijd is er sprake van 17 deelpopulaties, waarvan 9 populaties binnen een raster (gesloten wildbaan).

Tabel B2

Indeling leefgebieden in 1988.

Nr	Gebieden	Status	Nagestreefde stand
1	Leefgebied 1	Vrije wildbaan	55
2	Leefgebied 2	Vrije wildbaan	50
3	Leefgebied 3	Vrije wildbaan	175
4	Leefgebied 4	Vrije wildbaan	40
5	Leefgebied 5	Vrije wildbaan	100
6	Leefgebied 6	Vrije wildbaan	50
7	Leefgebied 7	Vrije wildbaan	120
8	Leefgebied 8	Vrije wildbaan	25
9	NP De Hoge Veluwe	Gesloten wildbaan	45
10	Landgoed Middachten	Gesloten wildbaan	30
11	Landgoed Deelerwoud	Gesloten wildbaan	??
12	Landgoed Hoog Deelen	Gesloten wildbaan	??
13	Elspeterstruiken-Elspeterbosch	Gesloten wildbaan	80
14	Noorderheide	Gesloten wildbaan	??
15	Vierhouterbos	Gesloten wildbaan	90
16	Kroondomein Het Loo Noord	Gesloten wildbaan	325
17	Kroondomein Het Loo Zuid	Gesloten wildbaan	25

Tabel B3

Chronologisch overzicht rasterplaatsing en rasterverwijdering na WOII.

1896	Rasters Kroondomein Het Loo bossen Hoog Soeren en Wiesel, circa 3.100 ha (1)
1895-1897	Raster Deelerwoud (1.450 ha) en Varena
1917	Raster Hoenderloo 'Varkensbaan' van de Familie Kroller
1942	Duitse bezetters zetten wilde varkens uit binnen de rasters van de 'Hoge Veluwe'
1946- 1947	Aanleg A12 gedeelte Arnhem – Veenendaal (4)
circa1950.	Aanleg raster rond belangrijk deel Planken Wambuis(2)
1952	Raster Vierhouterbos ca. 600 ha (oppervlakte checken)
1952-1954	Raster Onzalige Bossen ca. 700 ha
circa 1955	Wildbaan Kroondomein Het Loo wordt in tweeën gedeeld door het uitrasteren van de Amersfoortseweg (mond. Med. J. Spek)
1956	Plaatsing Hoog Buurloraster van Hoenderloo naar Assel
eind jaren 50	Raster rond Noorderheide
circa 1960	Plaatsing Bloemersraster van Elspeet tot aan de Ullerberg
1971	Aanleg A1 gedeelte Stroe-Apeldoorn(4)
1977	Aanleg A50 gedeelte Apeldoorn – Zwolle(4)
1978	Raster landgoed Middachten ca. ... ha
1981	Plaatsing elektrisch wilde zwijnenkerend raster van Tongeren tot aan Gortelse Heide
1982	Plaatsing resterende elektrische raster langs Gortelse Heide
1985	Plaatsing buitenraster Assel – Stroe – Otterlo(5)
1986	Plaatsing elektrisch raster langs de Leuvenumseweg N796
1989	Aanleg A50 gedeelte Arnhem – Apeldoorn inclusief aanleg wildviaducten Woeste Hoeve en Terlet(4)
1989	Verwijdering Hoog Buurloraster (5)
1990	Rasterverlagingen rond de landbouwenclaves Hindekamp/Ginkel, Nieuw Reemst en de Mossel (5)
1990	Opheffen gesloten wildbaan Deelerwoud / Natuurmonumenten(5)
1990	Opheffen gesloten wildbaan Vierhouterbos / Noorderheide(5)
1990	Plaatsing wilde zwijnenkerend raster rond deel Vierhouten
1992	Gefaseerde rasterverlagingen Bloemersraster (5)
1992	Plaatsing wilde zwijnenraster langs westzijde en zuidzijde Agrarische Enclave
1992	Uitbreiding leefgebied I met het bos-en natuurgebied tussen de Amersfoortseweg en de A1 aan het leefgebied van het zwartwijd (voorjaarsstand verhoogd van 60 naar 85 stuks).
1993	Plaatsing wilde zwijnenraster rond Hoog Soeren
1993	Rasterverlagingen zuidzijde Noorderheide (5)
1993	Rasterplaatsing zuid oostzijde Zuid West Veluwe

1896	Rasters Kroondomein Het Loo bossen Hoog Soeren en Wiesel, circa 3.100 ha (1)
1993	Plaatsing wilde zwijnenkerend raster zuid westzijde Zuid Oost Veluwe
1994	Rasterverwijdering rasters Noorderheide (5)
1996	Rasterverlagingen zuidzijde leefgebied Zuid Oost Veluwe(5)
<1994	Verwijdering elektrisch raster langs de Leuvenumseweg N796
1996	Verwijdering raster Middachten
1998	Verwijdering raster Assel – Stroe ten zuiden van de spoorlijn Apeldoorn- Amersfoort(5)
divers	Plaatsing ontbrekende zwijnenrasters langs zuidzijde van de Zuid Oost Veluwe
1998	Opening wildviaduct Harm van de Veen over de A1(5)
1999	Opening wildcorridor Otterlo, de corridor heeft waarschijnlijk altijd als corridor voor zwijnen gefunctioneerd
1999	Plaatsing wilde zwijnenraster tussen Ede en Otterlo, leefgebied verkleind van 7500 ha naar 5100 ha.
1999	In –en uitsprongen in raster Kroondomein Het Loo
1999	Aanleg wildtunnel onder de Amersfoortseweg verbinding noordelijke en zuidelijke wildbaan
2000-2015	Geleidelijke opening en verwijdering delen wildbaan rasters Kroondomein Het Loo.
2003	Opheffen gesloten wildbaan status Landgoed Hoog Deelen
2004	Opening wildcorridor via Landgoed Deelerwoud van de heer Repelaer
2011	Opening wildviaduct Hoog Buurlo over de A1
2012	Opening wildviaduct Tolhuis over de A50
2013	Sluiting wildcorridor Otterlo
2013	Opening wildpassages in NP De Hoge Veluwe, hierdoor verbinding met Zuid West en Zuid Oost Veluwe.
2015	Sluiting wildcorridor via Landgoed Deelerwoud van de heer Repelaer
2014-2015	Plaatsing wilde zwijnenkerende raster rond de Hertenkamp door Kroondomein Het Loo
2016	Plaatsing wilde zwijnenkerend raster oostzijde Kroondomein Het Loo (ontbrekende schakel tussen de Hanendorperweg en WisselseVeen)
2016	Rasterverwijdering zwijnen rasters Gortelse Heide

Situatie van 1988 naar 2016

Noord-Veluwe

Vanaf 1988 is er veel veranderd. Het benuttingsgebied was al redelijk vergelijkbaar met het huidige. Tussen de Amersfoortseweg en de A1 lag nog wel een groot stuk nulstandgebied. Dit is door de rasterplaatsing rond de Agrarische Enclave in 1992 toegevoegd aan het reguliere leefgebied. Op de Noord-Veluwe zijn de gesloten wildbanen Vierhousterbos, Noorderheide en de Elspeterstruiken en Elspeterbosch in de periode van 1990 tot 1994 opgeheven. Deze rasters gecombineerd met het raster rond het Zandenbos en een aantal particuliere eigendommen zorgde voor een vrijwel aaneengesloten rasterbarrière in de lijn Elspeet – Vierhouten – Nunspeet. Door het opheffen en verwijderen van rasters is er nu vrije uitwisseling van wilde zwijnen mogelijk tussen de Noordoost- en de Noordwest-Veluwe.

Door de verandering in de rasters rond het Kroondomein Het Loo is hier inmiddels ook sprake van een samenhangende populatie. Door de aanleg van het ecoduct Tolhuis in 2012 zijn de zwijnen aan weerszijde van de A50 weer met elkaar verbonden.

Door aanleg van een nieuw buitenraster langs de oostzijde van het Kroondomein Het Loo kan ook hier binnenkort een groot nulstandgebied worden toegevoegd aan het reguliere leefgebied. Zodra dit raster is gerealiseerd, kan weer een aantal niet meer noodzakelijke rasters binnen het leefgebied van het grofwild worden verwijderd.

De A1 kent inmiddels twee operationele wildviaducten en een derde staat gepland in 2017. Hierdoor staan de wilde zwijnen op de Noord-Veluwe en de Zuid-Veluwe inmiddels met elkaar in contact.

Barrières Noord-Veluwe

De Noord-Veluwe kent nog wel een aantal barrières die door een combinatie van rasters wordt veroorzaakt.

Barrière Stroe – Garderen – Nieuw Milligen – Apeldoorn

Op het zuidelijke deel van de Noord-Veluwe ligt nog wel een belangrijke barrière. Deze wordt gevormd door een lint van rasters in de lijn Stroe, Garderen, Nieuw-Milligen en Apeldoorn. Hierdoor zijn er voor

zwijnen vrijwel geen uitwisselingsmogelijkheden met de zwijnen elders op de Noord-Veluwe. De feitelijk openingen beperken zich tot de corridor ten zuiden van Garderen en de faunatunnel in de Amersfoortseweg ten westen van de kruising met de Kampsteeg.

Barrière Garderen – Stroe

Tussen het raster rond de Agrarische enclave en de rasters langs de A1, staat een raster rond het Kazernecomplex De Generaal Kootkazerne. Deze combinatie van rasters blokkeert nagenoeg geheel de vrije uitwisseling van wilde zwijnen tussen enerzijds het Caitwickerzand en het Stroese Zand. Via Hoeve Oud-Milligen is een corridor voor wilde zwijnen aanwezig die grotendeels via landbouwgronden loopt.

Dit is ook vrijwel de enige verbinding voor wilde zwijnen om van de Zuid-Veluwe naar het westelijke deel van de Noord-Veluwe te kunnen wisselen.

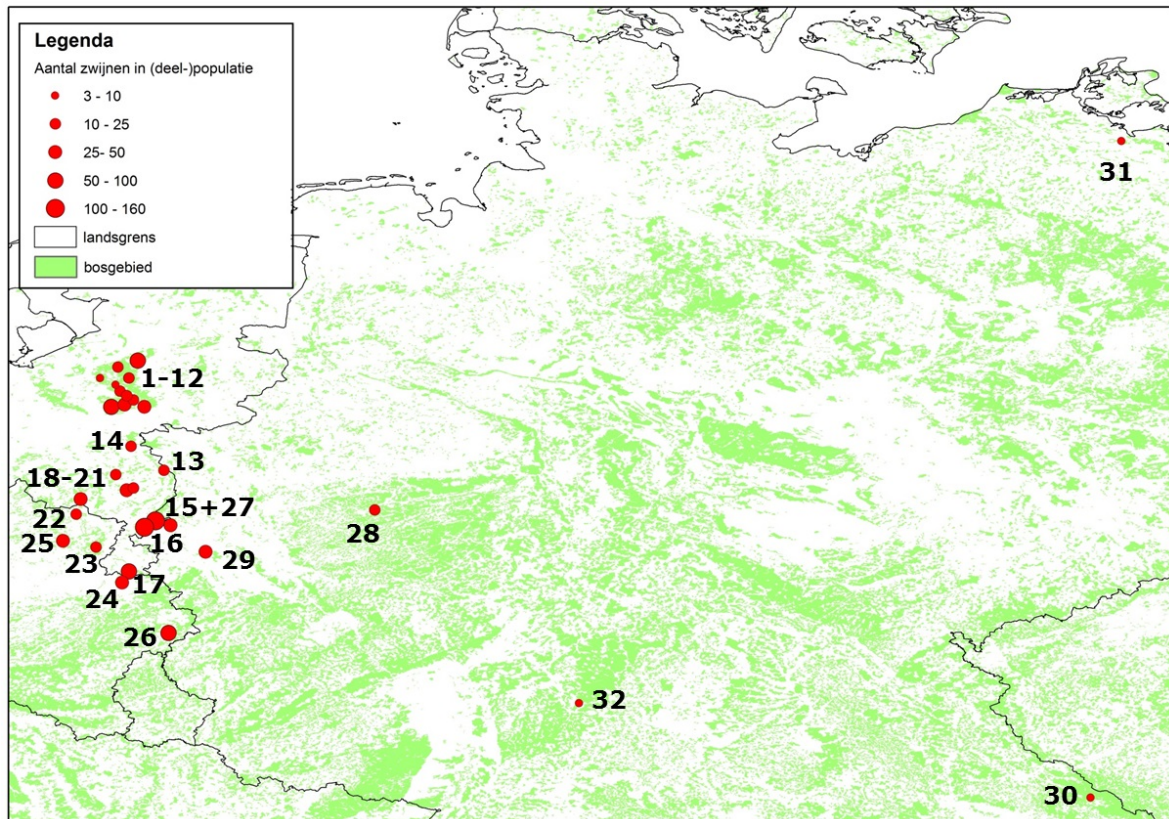
Zuid Veluwe

De belangrijkste ontsnipperende maatregelen op de Zuid-Veluwe die hebben plaatsgevonden, zijn: Het verwijderen van het Hoog Buurlo-raster in 1989 waardoor leefgebied 4 en leefgebied 5 één leefgebied werd. De gesloten wildbanen zijn in de loop der jaren opgeheven. De corridor Otterlo is wel opgeheven, maar hiervoor in de plaatst is een rechtstreekse verbinding gemaakt tussen de Zuidwest-Veluwe – NP de Hoge Veluwe en de Zuidoost-Veluwe. Hierdoor is er inmiddels sprake van een samenhangende wilde-zwijnpopulatie op de Zuid-Veluwe.

Bronnen

1. G.A. Brouwer, Enige historische bijzonderheden over het Edelhert in Nederland en een beschouwing over de Veluwe Herten als natuurbeschermingsobject, Uit : In het voetspoor van Thijssen, Een reeks bijdragen over veldbiologie, natuurbescherming en landschap, H. Veenman & Zonen, 1949 Wageningen.
2. Hertenbeheer, Vervolg-rapport van de Adviescommissie Hertenreservaten behandelende het Hertenvraagstuk op de West en de Noord Veluwe, Min LNV 1961.
3. Een koning in ballingschap, Het edelhert in de twintigste eeuw, D.A.C. van den Hoorn, Bosch & Keuning, De Bilt, 1996.
4. Aanleg autosnelwegen bron F. Hollander, Rijkswaterstaat.
5. Divers Vereniging Wildbeheer Veluwe.
6. Het zwartwild in de vrije wildbaan van de Veluwe, B.E.J. Litjens uitgave Ver. Wildbeheer Veluwe. Arnhem 4-5-1987.

Bijlage 3 Locatie zwijnenpopulaties



Figuur B1 Geografische ligging van alle in deze studie opgenomen populaties van wilde zwijnen, inclusief de referentiepopulaties in Midden- en Oost-Duitsland en Wallonië. Zie Tabel 2 in de hoofdstuk voor details per populatie.

Bijlage 4 PCR specificaties Edelhert

De negen microsatelliet loci voor edelhertenmonsters werden verdeeld over een viertal multiplexreacties. De verdeling van loci over deze reacties is hieronder weergegeven, inclusief verdere specificaties van de primers en de range in fragmentlengte voor deze loci.

Tabel B4

Verdeling van loci over multiplexreacties, primersequenties, IRD-labels bevestigd aan de forward-primer en de range in fragmentlengte.

Multiplex	Locus	Primer sequentie (5' – 3')	Label	Fragment Range (bp)
1	Cer14	TCTCTTGGCTCTCTGCATTGAC	800	212-238
		AATGGCACCCACTCCAGTATTCTTC		
	CSSM16	AGAGCCACTTGTTACACCCCAAAG	700	151-165
2	Haut14	GATGCAGTCTCCACTTGATTCAA	800	104-136
		CCAGGGAAGATGAAGTGACC		
	CSPS115	TGACCTTCACTCATGTTATTAA	700	241-257
3	CSSM19	AAAGTGACACAACAGCTTCTCCAG	700	133-169
		AACGAGTGTCTAGTTGGCTGTG		
	ETH225	TTGTCAGCAACTTCTGTATCTTT	800	135-169
4	BM1818	TGTTTTAAGCCACCCAATTATTG	800	233-255
		ACATGACAGCCAGCTGCTACT		
	ILST 06	GATGACCTTGCCACTATTTTCCT	700	273-299
4	CSSM66	AGTGCTTTCAAGTCCATGC	700	163-189
		AGCTGGGAATATAACCAAAGG		
		TGTCTGTATTTCTGCTGTGG		
		ACACGGAAGCGATCTAAACG		
		AATTTAATGCACTGAGGAGCTTGG		
		ACACAAATCCTTTCTGCCAGCTTGA		

Het temperatuurverloop van de PCR verschilde tussen de verschillende multiplexreacties (Dellicour *et al.* 2011), en staat hieronder gedefinieerd:

Multiplex 1

- Stap1) 94.0°C 10 min.
- Stap2) 94.0°C 30 s
- Stap3) 56.0°C 90 s
- Stap4) 72.0°C 60 s
- Stap5) ga naar stap 2, 36x
- Stap6) 70.0°C 30 min.
- Stap7) Koelen naar 10°C

Multiplex 2 en 3

- Stap1) 94.0°C 10 min.
- Stap2) 94.0°C 30 s
- Stap3) 53.0°C 90 s
- Stap4) 72.0°C 60 s
- Stap5) ga naar stap 2, 41x
- Stap6) 70.0°C 30 min.
- Stap7) Koelen naar 10°C

Multiplex 4

Stap1) 95.0°C 15 min.

Stap2) 94.0°C 30 s

Stap3) 57.0°C 90 s

Stap4) 72.0°C 60 s

Stap5) ga naar stap 2, 39x

Stap6) 60.0°C 30 min.

Stap7) Koelen naar 10°C

Bijlage 5 PCR-specificaties Zwijn

De veertien microsatelliet loci voor wilde zwijnenmonsters werden verdeeld over twee multiplexreacties. De verdeling van loci over deze reacties is hieronder weergegeven, inclusief verdere specificaties van voor de primers en range in fragmentlengte voor deze loci.

Tabel B5

Verdeling van loci over multiplexreacties, primersequenties, IRD-labels bevestigd aan de forward-primer en de range in fragmentlengte.

Multiplex	Locus	Primer sequentie (5' – 3')	Label	Fragment Range (bp)
1	S0026	AACCTTCCCTTCCCAATCAC	700	92-106
		CACAGACTGCTTTTACTCC		
	Sw951	TTTCAACTCTGGCACCAG	700	125-133
		GATCGTGCCCAAATGGAC		
	Sw857	TGAGAGGTACAGTACAGAAGACC	700	144-160
		GATCCTCCTCAAATCCCAT		
	S0002	GAAGCCAAAGAGACAAGTGC	700	190-216
		GTTCTTTACCCACTGAGCCA		
	Sw122	CAAAAAGGCAAAAGATTGACA	800	110-122
		TTGTCTTTTATTTTGCTTTTGG		
	Sw911	CTCAGTTCTTTGGACTGAACC	800	153-177
		CATCTGTGGAAGAAAAAGCC		
	S0097	GACCTATCTAATGTCATTATAGT	800	208-244
		TTCTCCTAGAGTTGACAACTT		
2	Sw240	AGAAATTAGTGCCTCAAATTGG	700	96-115
		AAACCATTAAGTCCCTAGCAAA		
	Sw632	TGGGTTGAAAGATTCCCAA	700	159-180
		GGAGTCAGTACTTTGGCTTGA		
	S0005	TCCTTCCCTCCTGGTAACTA	700	205-248
		GCACTTCCCTGATTCTGGGTA		
	Sw936	TCTGGAGCTAGCATAAGTGCC	800	80-117
		GTGCAAGTACACATGCAGGG		
	S0155	TGTTCTCTGTTTCTCCTCTGTTTG	800	150-166
		AAAGTGGAAAGAGTCAATGGCTAT		
	S0226	GCACTTTTAACTTTCATGATACTCC	800	181-205
		GGTTAAACTTTTNCCTCAATACA		
	S0090	CCAAGACTGCCTTGAGGTGAATA	800	244-251
		GCTATCAAGTATTGTACCATTAGG		

Het temperatuurverloop van de PCR was voor beide multiplexreacties gelijk (Jansman *et al.* 2014) en staat hieronder gedefinieerd:

Multiplex 1 en 2

Stap1) 95.0°C 15 min.

Stap2) 94.0°C 30 s

Stap3) 55.0°C 90 s

Stap4) 72.0°C 60 s

Stap5) ga naar stap 2, 39x

Stap6) 70.0°C 30 min.

Stap7) Koelen naar 10°C

Alterra Wageningen UR
Postbus 47
6700 AA Wageningen
T 0317 48 07 00
www.wageningenUR.nl/alterra

Alterra-rapport 2724
ISSN 1566-7197



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

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

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



Alterra Wageningen UR
Postbus 47
6700 AA Wageningen
T 317 48 07 00
www.wageningenUR.nl/alterra

Alterra-rapport 2724
ISSN 1566-7197

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

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

