

Korhoenders op de Sallandse Heuvelrug

Korhoenders op de Sallandse Heuvelrug

Een populatie-genetische analyse van het wel en wee van Nederlands laatste populatie

H.A.H. Jansman

F.J.J. Niewold

J. Bovenschen

H.P. Koelewijn

Alterra-rapport 1122

Alterra, Wageningen, 2004

REFERAAT

Jansman, H.A.H., F.J.J. Niewold, J. Bovenschen & H.P. Koelewijn, 2004. *Korboenders op de Sallandse Heuvelrug. Een populatie-genetische analyse van het wel en wee van Nederlands laatste populatie*. Wageningen, Alterra, Alterra-rapport 1122. 54 blz.; 10 fig.; 11 tab.; 63. ref.

In de afgelopen eeuw is de korhoenpopulatie in Nederland sterk in aantal en verspreiding achteruitgegaan. Op dit moment is alleen nog een kleine populatie op de Sallandse Heuvelrug aanwezig. Dankzij of ondanks vele beheersmaatregelen lijkt de populatie stabiel, maar blijft kwetsbaar. Vanwege de geringe omvang en de volledige isolatie van de populatie werd een onderzoek naar genetische verarming noodzakelijk geacht.

In het verleden was de Nederlandse populatie al gedifferentieerd van de Europese referentiepopulaties. Recent heeft zich dit proces doorgezet, terwijl de genetische variatie is afgenomen. Een afname van de fitness is moeilijk vast te stellen, maar dit is in de nabije toekomst niet uit te sluiten. Herhaling van het hier uitgevoerde onderzoek over 5-10 jaar wordt noodzakelijk geacht.

Trefwoorden: beheer, fitness, genetische differentiatie, genetische variatie, korhoen, *Tetrao tetrix*

ISSN 1566-7197

Dit rapport kunt u bestellen door €20,- over te maken op banknummer 36 70 54 612 ten name van Alterra, Wageningen, onder vermelding van Alterra-rapport 1122. Dit bedrag is inclusief BTW en verzendkosten.

Foto voorpagina: Vliegende korhaan op de Sallandse Heuvelrug, 10-10-'04. Hugh Jansman

© 2004 Alterra

Postbus 47; 6700 AA Wageningen; Nederland

Tel.: (0317) 474700; fax: (0317) 419000; e-mail: info.alterra@wur.nl

Niets uit deze uitgave mag worden veelevoudigd en/of openbaar gemaakt door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke andere wijze ook zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Alterra.

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

Inhoud

Woord vooraf	7
Samenvatting	9
1 Inleiding	11
1.1 Het Korhoen (<i>Tetrao tetrix</i>)	11
1.2 De status van het korhoen in Nederland en West-Europa	12
1.2.1 Nederland	12
1.2.2 West-Europa	14
1.3 De verschillende ondersoorten en typen korhoenders	15
1.4 Genetische processen in geïsoleerde en kleine populaties	18
1.5 Doel en vraagstelling van het onderzoek	21
2 Materiaal en methoden	23
2.1 Monstername	23
2.2 Genetische analyses	24
2.2.1 Microsatelliet analyse	24
2.2.2 Mitochondriële DNA analyse	27
3 Resultaten	29
3.1 Genetische diversiteit	29
3.2 Genetische verwantschap	32
3.2.1 Bayesian cluster analyse	32
3.2.2 Principale Coördinaten Analyse	33
3.2.3 Genetische differentiatie	34
3.3 Mitochondriële DNA analyse	35
4 Discussie, conclusies en aanbevelingen	39
4.1 De genetische diversiteit van de korhoenders op de Sallandse Heuvelrug	39
4.1.1 Genetische variatie	39
4.1.2 Genetische differentiatie	39
4.2 Het beheer van de korhoenpopulatie op de Sallandse Heuvelrug	40
4.2.1 Verlies van genetische variatie en fitness	40
4.2.2 Opties voor beheer	41
4.3 Genetische monitoring van korhoenders	43
Literatuur	45
Bijlagen	
1 Inteelt en fitnessconsequenties bij het Groot prairiehoen en Noordse woelmuis	51
2 Foto overzicht	53

Woord vooraf

In opdracht van het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Voedselkwaliteit is door Alterra onderzoek verricht naar genetische variatie en genetische drift van de korhoenders van de Sallandse Heuvelrug. In het kader van een Europees populatie-genetisch onderzoek aan ruigpoothoenders werd daarbij samengewerkt met Dr. Gernot Segelbacher, Max Planck Instituut voor Ornithologie in Radolfzell, Duitsland en Prof. Jacob Höglund & Jobs Karl Larsson van de Universiteit van Uppsala in Zweden. Voor deze studie werden enkele gegevens en referentiemonsters uitgewisseld, waarbij de analyse van enkele museummonsters in Zweden is uitgevoerd.

Hein van Grouw was zo behulpzaam om de kwetsbare collectie korhoenders in Nationaal Natuurhistorisch Museum Naturalis te Leiden te bemonsteren door eeltkussentjes van de tenen van balgen te verzamelen. Bart Boers heeft namens Nationaal Park De Hoge Veluwe informatie en monsters van het fokprogramma verstrekt. De heer Rupert te Hengevelde verstrekte eieren en een dood kuiken uit zijn fokkerij. Paul ten Den heeft samen met vrijwilligers van de Vogelwerkgroep Midden Overijssel in het kader van het ecologisch onderzoek op de Sallandse Heuvelrug veren en eischalen van korhoenders verzameld, terwijl hij ook opgezette vogels opspoorde en bemonsterde. Ten slotte hebben Marie-Claire Boerwinkel en Maribel Perez Haro een belangrijke bijdrage geleverd aan de genetische analyses op het laboratorium.

Zonder de medewerking en het enthousiasme van al deze personen zou dit rapport op deze manier niet tot stand zijn gekomen

Samenvatting

In de afgelopen eeuw is de korhoenpopulatie in Nederland sterk in aantal en verspreiding achteruitgegaan. Op dit moment overleeft alleen nog een kleine populatie op de Sallandse Heuvelrug. Dankzij of ondanks vele beheersmaatregelen lijkt de populatie stabiel, maar blijft kwetsbaar. Vanwege de geringe omvang en de volledige isolatie van de populatie werd in opdracht van het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Voedselkwaliteit een onderzoek naar mogelijke genetische verarming noodzakelijk geacht.

Van de korhoenders van de Sallandse heuvelrug zijn DNA monsters verzameld in de vorm van eischalen en ruiveren. Daarnaast zijn korhoenders van het museum Naturalis bemonsterd om een indruk te krijgen van de historische variatie. In het kader van een samenwerkingsproject van genetisch onderzoek aan ruigpoothoenders in Europa zijn gegevens van gezonde referentiepopulaties in de Alpen, Scandinavië en Schotland verkregen. Tevens zijn van enkele fokprogramma's in Nederland monsters geanalyseerd. In totaal zijn 296 monsters van 13 populaties geanalyseerd voor 8 microsatteliet loci. Bovendien is een kleine steekproef van monsters geanalyseerd voor een ~1150 baseparen fragment van het mitochondriaal DNA.

De historische genetische variatie bleek nauwelijks minder dan die van grote gezonde Europese korhoenpopulaties. De Nederlandse korhoenpopulatie was al wel in enige mate genetisch gedifferentieerd van de overige Europese populaties. Recent is de genetische variatie afgenomen en heeft het proces van differentiatie zich voortgezet. Genetisch is de korhoenpopulatie op de Sallandse Heuvelrug dan ook verarmd en gedifferentieerd van de Europese referentiepopulaties. Dit is zeer waarschijnlijk het gevolg van de kleine populatieomvang en de sterk geïsoleerde status van de populatie waardoor genetische drift tot verlies van variatie en differentiatie kan leiden. Vanwege de ligging van de Nederlandse populatie aan de rand van het verspreidingsgebied is het niet uitgesloten dat er ook selectie en lokale adaptatie heeft meegespeeld. Dit wordt ondersteund door verschillen in uiterlijke kenmerken en eigrootte en –gewicht tussen Nederlandse- en Zweedse korhoenders. Dit kan erop duiden dat niet elke willekeurige korhoen in Nederland kan overleven omdat die mogelijk niet voldoende is aangepast aan de omstandigheden in het Nederlandse heidellandschap. Vandaar dat zorgvuldigheid is geboden bij de eventuele selectie van korhoenders ter versterking van de Nederlandse populatie.

Op dit moment wordt er nog geen duidelijke fitnessafname bij de Nederlandse korhoenders vastgesteld. De verwachting is echter dat de (genetische) variatie nog verder zal teruglopen vanwege de geringe populatieomvang en de geïsoleerde status, waardoor een verlies aan fitness realiteit kan worden. Het is dan ook aan te bevelen dat de populatie wordt vergroot. Dit kan indirect door middel van verbetering van de leefomgeving of direct door korhoenders bij te plaatsen. Omdat de populaties met waarschijnlijk de meest verwante en geschikte korhoenders ook sterk bedreigd zijn en uitzet met gefokte korhoenders weinig succesvol is gebleken zal versterken van de

populatie met nieuwe korhoenders niet eenvoudig zijn. Om toch de genetische variatie te vergroten wordt aanbevolen de mogelijkheden te verkennen om eieren tussen de geschikte populaties uit te wisselen.

Vooralsnog is de genetische variatie van korhoenders op de Sallandse Heuvelrug voldoende groot om individuen te onderscheiden. Daarnaast worden er vele voor DNA onderzoek geschikte veren en eischalen gevonden om genetische monitoring van de populatie mogelijk te maken. Het wordt dan ook aanbevolen deze monitoring in de toekomst voor te zetten om belangrijke ecologische en populatie-genetische informatie van de laatste Nederlandse korhoenpopulatie te verkrijgen en eventueel tijdig bij te kunnen sturen.

1 Inleiding

1.1 Het Korhoen (*Tetrao tetrix*)

Korhoenders behoren tot de familie van de ruigpoothoenders *Tetraonidae*. Deze familie staat bekend om zijn specifieke aanpassing aan koude, Paelearctische klimaten, zoals een sterk isolerend verenkleed en bevederde poten. De familie bestaat uit 17 soorten waarbij voor Europa de bekendste zijn: Korhoen *Tetrao tetrix*; Auerhoen *Tetrao urogallus*; Hazelhoen *Bonasa bonasia*; Moerassneeuwhoen *Lagopus lagopus* en Alpensneeuwhoen *Lagopus mutus*. De familie is nauw verwant aan de fazanten en patrijzen *Phasianidae*. Kruisingen tussen de verschillende soorten ruigpoothoenders en korhoen met fazant komen voor maar zijn onvruchtbaar. Mannelijke nakomelingen van een korhoen-auerhoen kruising worden in het Duits wel Rackelhahn genoemd.



Foto 1: Baltsende korhaan (links), mei 1986, Sallandse Heuvelrug, Korben (rechts), eind jaren '70, Regte Hei bij Tilburg. Foto's Alterra.

De hanen zijn ongeveer 60 cm lang met een gewicht van 1100-1450 gram en de hennen ongeveer 45 cm lang met een gewicht van 750-1100 gram. De volwassen hanen hebben een karakteristiek zwartblauw verenkleed met opvallend witte onderstaartveren en rode rozetten boven de ogen, terwijl de hennen een roestbruin gestreept en gevlekt verenkleed hebben (foto 1).

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

Het korhoen is vooral bekend om zijn spectaculair baltsvertoon. De hanen verzamelen zich in het voorjaar 's ochtends vroeg op baltsplaatsen of arena's, waar ze met veel vertoon van hun verenpracht en verdragende koer- en kraaigeluiden proberen concurrenten te intimideren en hennen te verleiden tot een paring (bijlage 2).

Eind april-mei zoekt de hen een geschikte nestplaats op, goed verstopt onder minimaal 30 cm hoge planten. De eieren worden om de dag gelegd tot een legsel van gemiddeld ca. acht stuks is bereikt. Indien dit legsel in een vroeg stadium verloren gaat kan een vervolglegsel worden geproduceerd. Na 25-27 dagen broeden komen de kuikens uit. Het zijn nestvlinders, die alleen door de hen worden begeleid en verwarmd. Na 10-14 dagen kunnen de jongen al enigszins vliegen (Cramp & Simmons, 1982, Del Hoyo *et al.*, 1994, Niewold, 2002).

Slechts een klein aantal oudere hanen krijgt de kans op de baltsplaatsen te paren en de hennen te bevruchten. In combinatie met de geringe dispersie, kan dit in gefragmenteerde en geïsoleerde populaties mogelijk na enkele generaties al leiden tot verschillen in morfologie en gedrag van korhoenders tussen verschillende populaties (Höglund *et al.*, 1999). De jonge hanen zijn zeer plaatstrouw en vertonen een geringe mate van dispersie tot maximaal 5 km, terwijl de hennen tot wel 30 km kunnen wegtrekken (Caizergues & Ellison, 2002). Dit geslachtsverschil in dispersie wordt gezien als een mechanisme om inteelt te vermijden (Höglund *et al.*, 1999). Daarnaast zou ook de voorkeur voor hennen om jaarlijks met dezelfde haan te paren op mogelijk inteelt vermijdend gedrag duiden (Höglund *et al.*, 2002). Van uitgezette korhoenders is bekend dat ze meer dan 50 km kunnen wegtrekken (Nappée, 1982) en incidenteel vindt bij korhoenders extreme migratie van >100 km plaats (Cramp & Simmons, 1982).

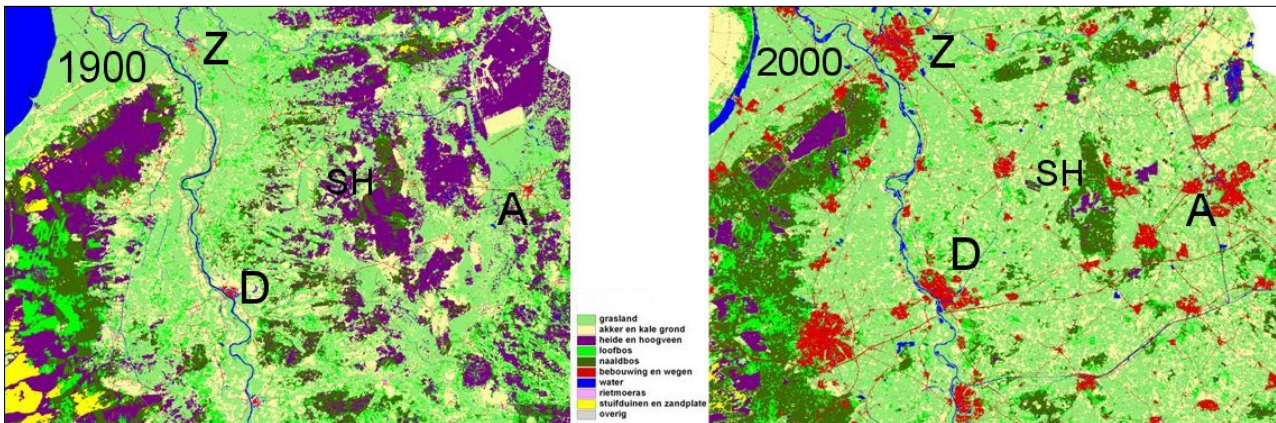
1.2 De status van het korhoen in Nederland en West-Europa

1.2.1 Nederland

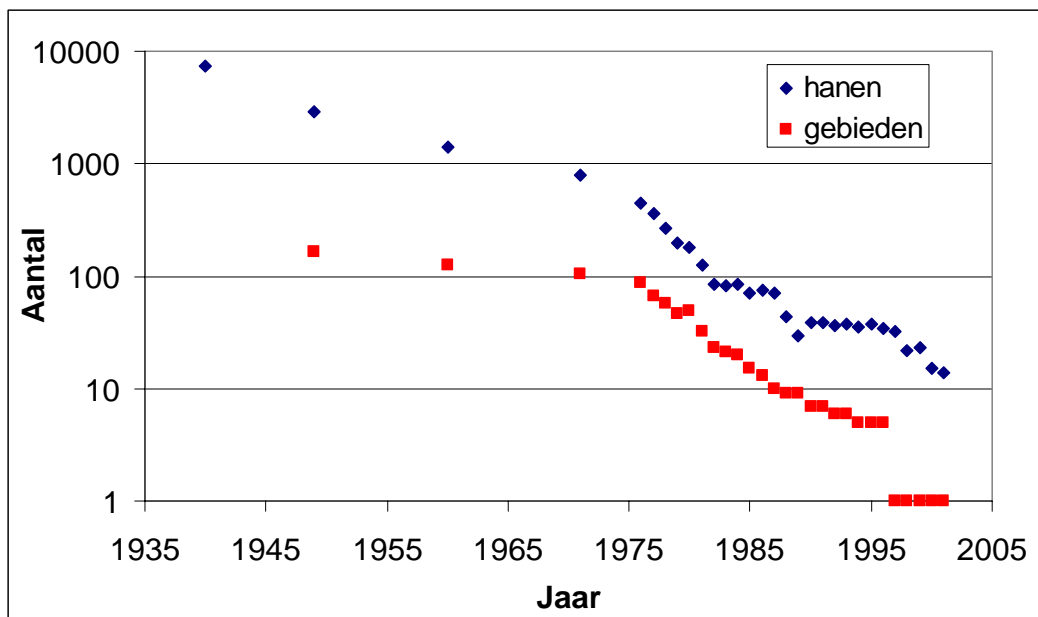
Het korhoen komt waarschijnlijk al vanaf het Mesolithicum (10.000 tot 5.000 jaar voor Christus) in Nederland voor, waarbij het onduidelijk is wat de historische status van de populatie is geweest. Dat het korhoen niet alleen recent maar ook in het verleden niet even talrijk was, bewijst wel het door Prins Willem V uitgevaardigde verbod in de jaren 1750, 1767 en 1770 om op korhoenders te jagen.

Vanaf het einde van de 19^e eeuw vergroot het korhoen zijn verspreidingsgebied aanmerkelijk, vooral als gevolg van het in cultuur brengen van de heide en veengebieden. Toen echter grote delen van de heidevegetaties waren verdwenen namen de aantallen al snel weer af (figuur 1). Rond 1940 zouden er verspreid over bijna alle heide- en hoogveen gebieden van ons land nog ruim 5000 hanen aanwezig zijn geweest (figuur 2). Vervolgens zette een daling in waarbij rond 1950-1960 het aantal korhoenders nog op ca. 3000 werd geschat en in 1976 werden er nog maar 456 baltsende hanen in het voorjaar geteld in ca. 150 atlasblokken. Twee jaar later was de

stand al teruggelopen tot ongeveer 225 hanen. Vanaf 1947 gold een algemeen jachtverbod op het korhoen, maar pas in 1974 werd de laatste afschotonthefving afgegeven. Vervolgens verdwenen de korhoenders in snel tempo van bijna alle Nederlandse heidevelden. Sinds ongeveer 10 jaar geleden de laatste korhoenders van het nabijgelegen Wierdense Veld zijn verdwenen, is de populatie van de Sallandse Heuvelrug volledig geïsoleerd geraakt. Deze laatste Nederlandse populatie houdt stand op de centrale heide van de Sallandse Heuvelrug in Overijssel. (Niewold, 1987, 2002, Ten Den & Niewold, 2000).



Figuur 1: Vegetatiekaart van Salland en de Noord-Veluwe in 1900 (links) en 2000 (rechts). Heide en hoogveen in paars; bebouwing in rood. Z = Zwolle, D = Deventer, A = Almelo en SH = Sallandse Heuvelrug (kaarten: Wim Knol, Alterra).



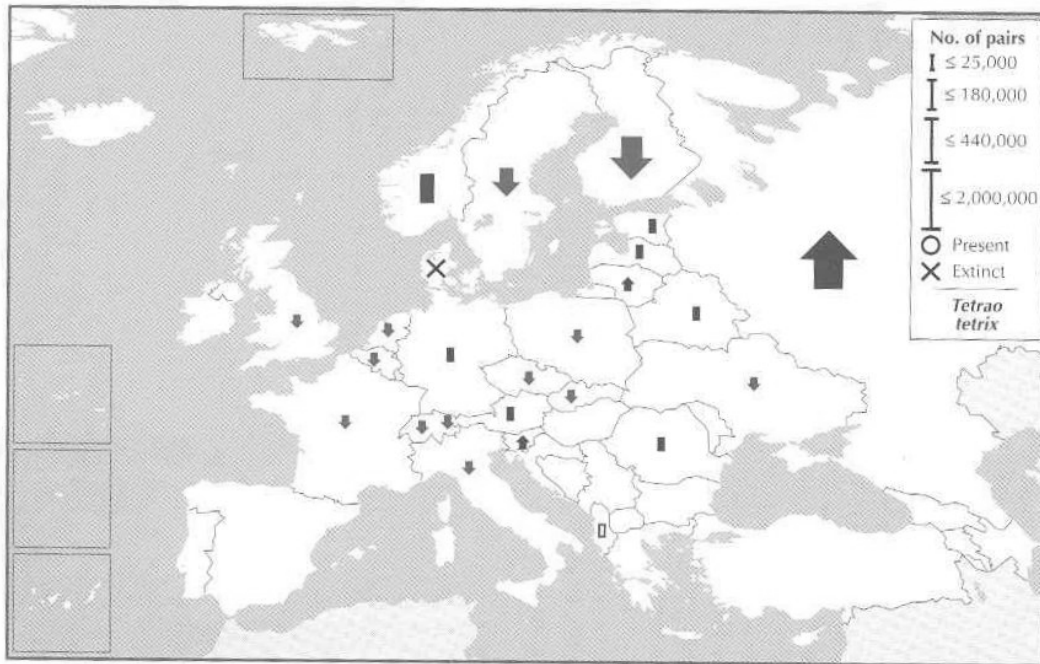
Figuur 2. Ontwikkeling van de aantallen Korhoenders (hanen) en het aantal populaties (gebieden) in Nederland gedurende de periode 1940-2000. Uit Groot Bruinderink et al. (2002).

1.2.2 West-Europa

Vanaf de tweede helft van de vorige eeuw zijn evenals in Nederland de korhoenpopulaties in West- en Centraal-Europa sterk achteruit gegaan (figuur 3). In Denemarken, Hongarije, en Luxemburg is het korhoen uitgestorven, terwijl vele lokale populaties in Groot-Brittannië, België, Duitsland, Polen, Tsjechië, Slowakije en voormalig Joegoslavië zijn verdwenen. Alleen in Fenno-Scandinavië en de Alpen worden nog relatief grote en vitale populaties aangetroffen.

De Deense korhoenpopulatie omvatte in 1940 ca. 2500 paren. In 1992 was dat gereduceerd tot ongeveer negen paren en eind jaren negentig is de populatie uitgestorven verklaard. Dit alles ondanks 18 jaar van intensieve bescherming en maatregelen als predatorcontrole (eliminatie van vossen, haviken en kraaien) en habitatbeheer (Holst-Jorgenson, 2000). In Groot-Brittannië is in de laatste 50 jaar de populatie hard achteruit gegaan. In 1990 werden nog ongeveer 25.000 baltsende hanen geteld, maar in 1996 waren dit er nog slechts 6.500. Mozaïekbeheer van de terreinen, een extensivering van de begrazing en intensieve predatorcontrole lijken noodzakelijk om de soort voor Groot-Brittannië te behouden (Warren & Baines, 2004). Ook in Duitsland (met uitzondering van de Alpen) zijn de aantallen korhoenders hard achteruitgegaan en zijn veel lokale populaties uitgestorven. Alleen op en rond de Lüneburger heide komt nog een metapopulatie voor van ca. 100 hanen in piekjaren. In België worden op de Hoge Venen nog zo'n 20-25 hanen geteld (Loneux, 2000, Van Turnhout, 2003, Segelbacher persoonlijke mededeling).

De voor de Sallandse Heuvelrug meest nabije maar eveneens geïsoleerde populaties van de Hoge Venen en de Lüneburger Heide bevinden zich op meer dan 200 km afstand. Het korhoen staat in het West-Europese deel van zijn verspreidingsgebied mogelijk op de rand van uitsterven (Storch, 2000). Korhoenders staan op de rode lijsten van verschillende landen, waaronder Nederland, maar zijn internationaal gezien geen bedreigde soort (IUCN-lower risk, least concern). Zij staan voor de Europese Vogelrichtlijn als Annex I, Annex II/2 en Annex III/2 genoemd (Storch, 2000).



Figuur 3. De landen in Europa met korhoenders en de trends van deze populaties. Bron: Birdlife International 2004.

1.3 De verschillende ondersoorten en typen korhoenders

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

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

Niewold & Nijland (1987) constateerden uiterlijke verschillen tussen korhoenders van verschillende herkomst. Zij vonden een grote morfologische overeenkomst tussen de populaties in Nederland, België en Groot-Brittannië. Op grond hiervan werd voorgesteld om de korhoenders van de West-Europese heide- en veengebieden als een apart ecotype *britannicus* te beschouwen. Deze wordt wel het West-Europese Heidekorhoen genoemd.

Het West-Europese heidekorhoen was zwaarder met langere poten die korter waren bevederd, terwijl er geen verschil was in vleugellengte (tabel 2, figuur 4). De hennen van het heidekorhoen legden grotere eieren, terwijl er ook duidelijke verschillen in kleur en vlekkenpatroon bestonden met de korthennen van Zweedse afkomst (figuur 5, bijlage 2). Aan de flanken waren de Zweedse hennen grauwer van tint met grovere

bandering en een sterkere zwart-wit tekening van de veerpunten. De rugveren vertoonden langs de schouderveren dikwijls een opvallend wit vlekkenpatroon, dat bij het heidekorhoen niet aanwezig of meer okerkleurig was. De Zweedse hanen hadden vaak donker tot zwart gekleurde rugveren, terwijl deze veren bij het heidekorhoen een meer roestbruine glans bezaten. Dit was vooral bij de éénjarige hanen een opvallend kenmerk. De waargenomen verschillen in uiterlijk tussen de korhoenders uit Nederland en die uit Zweden bleken onder identieke omstandigheden stand te houden in fokkerijen, terwijl bij onderlinge kruisingen deze kenmerken intermediair overerfden.

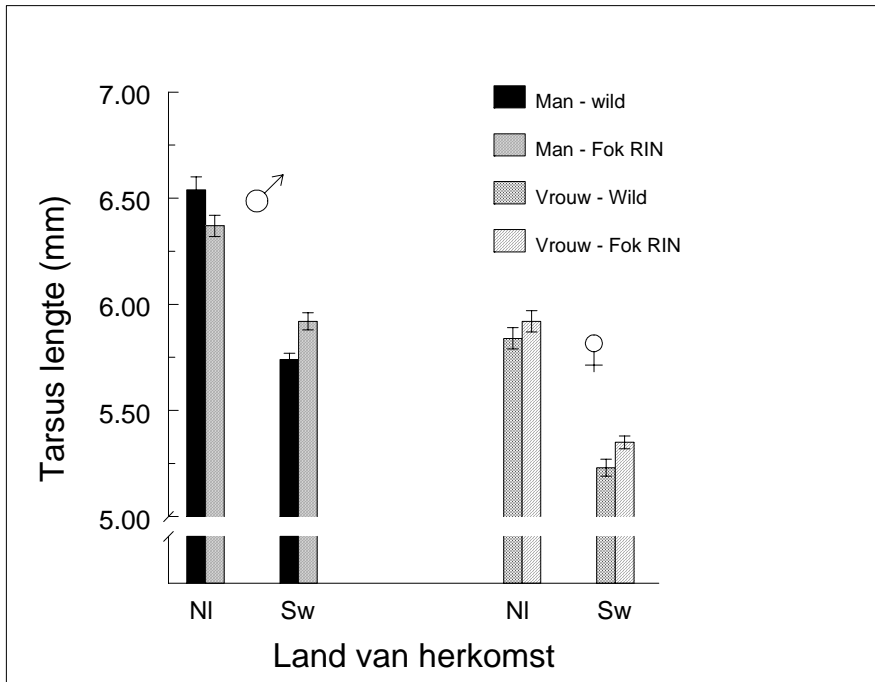
Nederlandse korhennen vertoonden vanaf begin maart, twee maanden voor de eilegperiode, een gewichtstoename, terwijl dit bij Zweedse hennen pas medio april plaatsvond. Daarentegen zouden de Zweedse kuikens een snellere groei en ontwikkelingsperiode doormaken. Er konden geen aanwijsbare gedragsverschillen worden aangetoond, maar er bestond wel een duidelijk verschil tussen de koergeluiden (sonogrammen) van de hanen uit Zweden en de rest van Europa.

Er wordt verondersteld dat korhoenders van Nedersaksen en Sleeswijk-Holstein meer op de Scandinavische korhoenders gelijkten als gevolg van herintroducties aan het eind van de negentiende eeuw met mogelijk Scandinavische vogels. Overigens hebben er ook herintroducties plaats gevonden in Denemarken en indertijd zijn er geregeld korhoenders vanuit Nederland naar Groot-Brittannië verscheept.

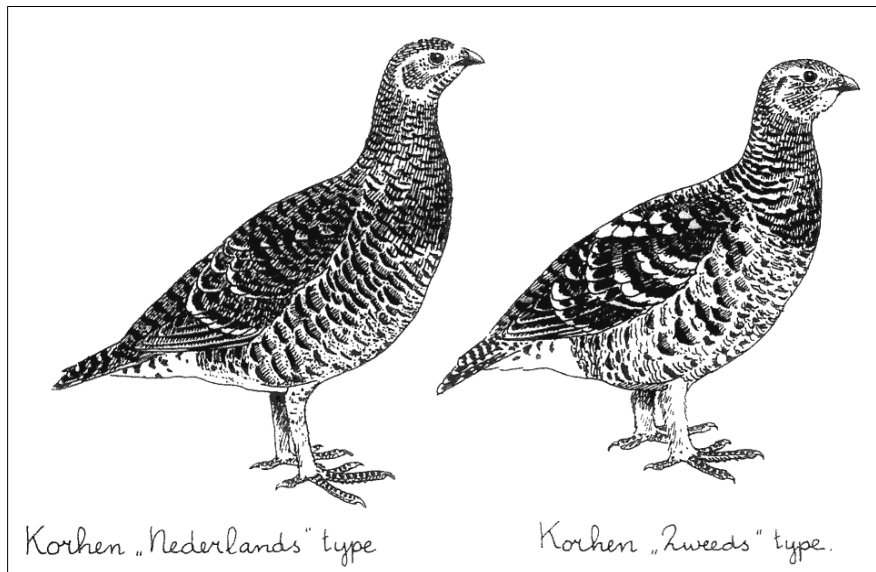
Later onderzochten Schreiber *et al.* (1998) de genetische variatie van korhoenders met behulp van allozyme (eiwit) analyse. De meeste vogels, gehouden in fokkerijen, waren afkomstig van drie korhoenpopulaties uit Nederland, Zweden en Beieren. Zij vonden weinig verschillen tussen de korhoenders van diverse afkomst voor drie polymorfe enzymen. Opvallend was dat er bij kruisingen heterosis effecten optraden voor gewicht en eimassa, i.e. nakomelingen van een kruising tussen populaties waren zwaarder dan nakomelingen van een kruising binnen een populatie. Bovendien waren de verschillen voor eigewicht en gewicht tussen de vogels van verschillende herkomst van dezelfde orde als die genoemd in tabel 2.

Tabel 1: Ondersoorten van het korhoen *Tetrao tetrix* met de globale verspreiding (Del Hoyo *et al.*, 1994).

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



Figuur 4. Tarsuslengte (loopbeen-) van Nederlandse- (NI) en Zweedse (Sw) korhoenders (Hazebroek, 1986). Zowel voor mannetjes als voor vrouwtjes was er een significant verschil tussen Zweedse- en Nederlandse korhoenders (variantie analyse, $F_{(1,79)} = 280.9$, $P < 0.001$)



Figuur 5. Verschillen tussen Nederlandse en Zweedse korhennen in plumage (Tekening: Ed Hazebroek, zie ook bijlage 2).

Tabel 2. Maten van korboenders uit verschillende streken (naar Nienold & Nijland, 1987, Nienold, 1995, Schreiber et al., 1998). Tussen haakjes aantallen. *= aantal legsels. **= berekend.

Herkomst	Gewicht g		Vleugel cm		Tarsus mm		Ei mm lxb ²
	♂	- ♀	♂	- ♀	♂	- ♀	
Nederland							
Voorjaar	1378(13)	-1120(21)	25.3(71)	-22.5(53)	64.9(14)	-57.7(15)	70.41(28)*
Winter	1379(54)	-1012(46)					
België							72.24(120)
Schotland							
Voorjaar	1346(31)	-1048(61)	26.1(31)	-23.1(61)			70,42(19)
Bentheim			25.4(9)	-22.4(1)			
Midden-Europa							64.83(18)
Alpen							
Voorjaar	1233(453)	-	26.6(39)	-23.4(28)			64.44(36)
Winter	1280(84)	-960(271)					
Scandinavië							
Voorjaar	1142(111)	-900(52)	25.8(34)	-23.1(41)	58.1(22)	-52.2(10)	65.80(188)
Winter	1121(12)	-780(2)					
Finland							
Voorjaar	1243(10)	-					65.72(26)
Winter	1297(?)	-980(?)					63.59(12)*
U.S.S.R.							
Hele jaar	1317(52)	-937(55)	27.6(53)	-24.0(44)			66.25(300)
<i>Kweek</i>							
RIN '85							
Nederland							
Voorjaar		-1075(2)	25.1(3)	-22.9(7)	66.4(4)	-59.5(12)	70.15(8)*
Winter	1218(6)	-894(11)					
België	1200(1)	-	26.3(1)	-	64.8(1)	-	
Zweden							
Herfst/Winter	1106(4)	-783(12)	26.1(2)	-23.2(10)	60,7(4)	-53.8(11)	58.87(12)*
Ned-Zweed							
Herfst/Winter		-840(4)		-22.6(3)		-55.6(3)	
Kweker Duitsl. '84							62.53(27)
Kwekers (3) '95							63.80(34)
Kweker '95 Ned.	1205 (3)	-844(3)	26.0(3)	-23.5(1)	66.5(3)	-57.1(3)	
type							
Kweker '04							59.42(4)
<i>Schreiber et al.</i>							
Nederland winter	1197(20)	-893(19)					68.6(73)**
Zweden winter	1125(57)	-840(101)					57.9(242)
Beieren winter	1189(40)	-933(9)					63.8(63)
Kruisingen winter	1280(7)	-877(18)					69.8(59)

1.4 Genetische processen in geïsoleerde en kleine populaties

Biodiversiteit wordt vaak op drie niveau's gedefinieerd: op het niveau van ecosystemen en habitats, op soortsniveau en op populatie- en individu niveau (genetische biodiversiteit). Om genetische diversiteit te analyseren zijn verschillende technieken ontwikkeld (Bijlsma, 1995). Cellen bevatten nucleair- en mitochondriaal DNA. DNA bevat de genetische informatie die nodig is om een organisme te maken.

DNA is opgebouwd uit vier zogeheten *baseparen* (A,T,G en C) die in verschillende volgorden voorkomen. Het DNA is dan een lange keten van baseparen. Door de volgorde van de baseparen tussen individuen te vergelijken, kan gekeken worden of er variatie is en wat de frequentie van de verschillende varianten binnen een populatie is. 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 *locus* of *merker*. De mate waarin de verschillende onderdelen van het DNA onderhevig zijn aan mutaties en selectie maakt dat er variabele en conservatieve delen in het genoom te vinden zijn. Afhankelijk van de vraagstelling wordt de meest geschikte techniek toegepast waarbij ook rekening moet worden gehouden met de kwaliteit en kwantiteit van de te verkrijgen DNA monsters.

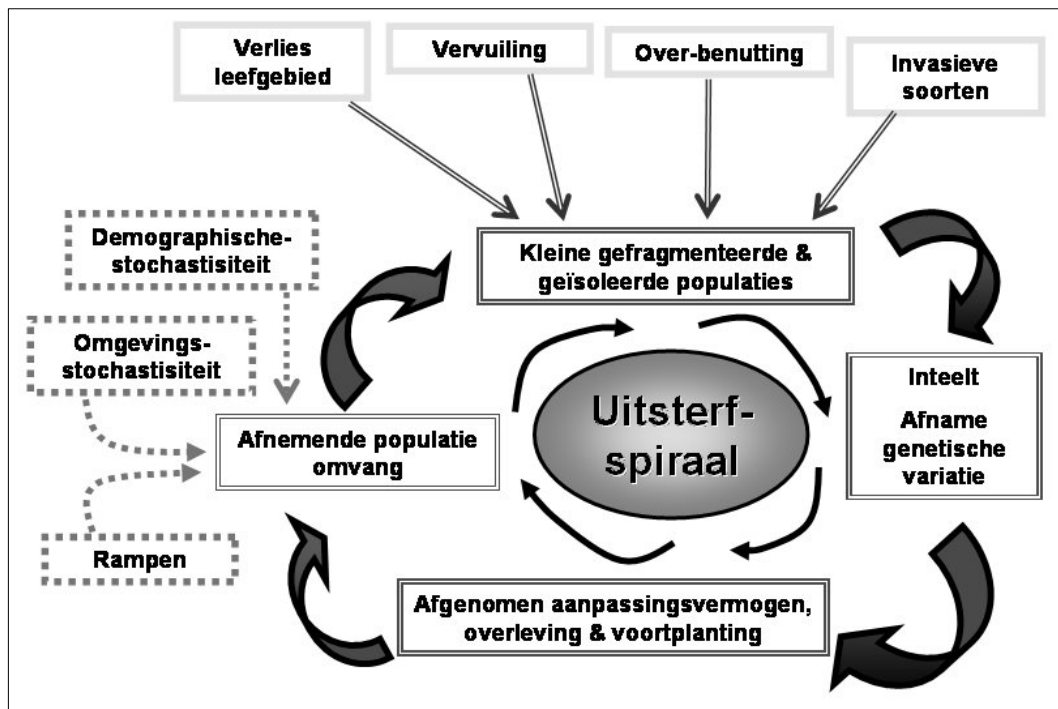
De twee standaard parameters voor het weergeven van genetische diversiteit zijn de mate van polymorfisme en het percentage heterozygositeit. *Polymorfisme* betekent dat er meerdere varianten of *allelen* (nucleair DNA) of *haplotypen* (mitochondriaal DNA) van een gen of merker aanwezig zijn in een populatie. Indien een individu van de vader een andere allel heeft meegekregen dan van de moeder, is dit individu *heterozygoot* voor het gen/merker. Indien het twee dezelfde allelen bezit is het *homozygoot*. Hoe groter het aantal verschillende allelen van een gen/merker binnen een populatie, des te groter de genetische variatie van die populatie. Hoe groter het aantal genen waarvoor een individu heterozygoot is, des te groter is de genetische variatie in dat individu. Het belang van genetische diversiteit laat zich het beste verklaren door genen als pakketjes informatie te beschouwen. Bij een grote variatie aan allelen is er dus veel informatie binnen het individu of populatie aanwezig. Deze informatie hoeft niet direct noodzakelijk te zijn voor de huidige overleving maar kan bij veranderende omgevingsfactoren de overlevingskansen wel beïnvloeden.

Kleine populaties lopen, als gevolg van een toevallige combinatie van negatieve demografische- en omgevingsfactoren, een groter risico uit te sterven dan grotere populaties (figuur 6). Naast het numerieke aspect spelen ook populatiegenetische processen een belangrijke rol bij het voortbestaan van de populaties (Keller & Waller, 2002). Omdat de genetische variatie per individu niet groot kan zijn en daarmee ook het aanpassingsvermogen aan veranderende milieuomstandigheden beperkt is, wordt het adaptatievermogen van een populatie vooral bepaald door de gezamenlijke genetische variatie van de individuen (Booy, 1998). Binnen grote populaties is er over het algemeen een grotere genetische variatie dan binnen kleine populaties.

Een proces dat daarbij een belangrijke rol speelt is de *genetische drift*. Bij het doorgeven van de genetische variatie van de ene generatie naar de volgende kan verlies van variatie optreden. Dit effect zal sterker zijn naarmate de populatie omvang kleiner is. De meest extreme vorm van genetische drift treedt op bij paring tussen verwanten. Organismen beschikken dan ook over verschillende mechanismen om *inteelt* te voorkomen. Eén zo'n mechanisme is bijvoorbeeld geslachtsafhankelijke dispersie, waarbij de mannetjes verder wegtrekken dan de vrouwtjes of juist andersom. Bij korhoenders trekken vooral de hennen in hun eerste jaar weg, terwijl de hanen zeer plaatstrouw zijn. Daarnaast lijken hennen bij het selecteren van een partner een

voorkeur te hebben voor dezelfde haan waar ze het voorgaande jaar mee gepaard hebben. Dit worden beide als inteelt vermijdend gedrag gezien (Höglund *et al.*, 1999). Bij kleine, geïsoleerde populaties kan aan een belangrijke voorwaarde voor het behoud van genetische variatie, het min of meer willekeurig kiezen van een partner ('random mating'), niet worden voldaan, omdat er daarvoor te weinig potentiële partners zijn.

Behalve als gevolg van genetische drift kan de genetische variatie afnemen door selectie, migratie, inteelt en bottlenecks. Een demografische bottleneck is het proces waarbij een populatie in korte tijd sterk in aantal achteruitgaat. Indien dit een sterke afname van de genetische variatie tot gevolg heeft (als deze bottleneck niet snel door populatiegroei wordt gevolgd) dan spreekt men van een genetische bottleneck.



Figuur 6. De uitsterfspiraal of extinctie curve (naar Frankham, 2002)

Afname van de genetische variatie kan leiden tot een verlaagde *fitness*. Onder fitness wordt verstaan het reproductieve succes gedurende het leven van een individu. Hoewel dit niet eenvoudig te analyseren is wordt het vaak gemeten aan de grootte en groei van individuen, vruchtbaarheid, levensverwachting, groeisnelheid en eventueel de metabolische efficiëntie van stoffen (bijlage 1).

Van populaties die geïsoleerd raken kunnen als gevolg van selectie en genetische drift de genetische eigenschappen zich wijzigen. De mate waarin deze lokale adaptatie plaats heeft is enigszins gerelateerd aan de populatieomvang, de duur van de isolatie en de mate waarin het nieuwe leefmilieu verschilt van het oorspronkelijke. Genen met voordelige eigenschappen voor het speciale leefmilieu gaan frequenter voorkomen dan de minder gunstige genen.

Daarnaast kan co-adaptatie plaatsvinden. Dit betekent dat bepaalde genen elkaars werking kunnen verbeteren indien zij in hetzelfde individu aanwezig zijn en dus tegelijkertijd tot expressie kunnen komen. Indien een lokaal geadapteerde populatie weer in contact wordt gebracht met soortgenoten uit een andere populatie, hetzij natuurlijk door het opheffen van een migratiebarrière, hetzij kunstmatig door het uitwisselen van individuen, kan dit leiden tot uitteelt of outbreeding depression. Hiermee wordt bedoeld het opheffen van de lokale adaptatie en co-adaptatie wat resulteert in een afnemende fitness (zie Frankham *et al.*, 2002).

1.5 Doel en vraagstelling van het onderzoek

De dramatische achteruitgang van de korhoenpopulatie in Nederland (figuur 2) leidde in 1991 tot een soortbeschermingsplan (Min. LNV, 1991). Volgens dit plan is op de Sallandse Heuvelrug ongeveer 300 ha bos gekapt om een aaneengesloten heideterrein van ca. 1000 ha te creëren. Daarnaast is o.a. de begrazing met schapen gestopt, zijn wegen en paden (periodiek) afgesloten, bosranden opener gemaakt en wordt er kleinschalig geplagd en gemaaid (Heringa, 2001, Van der Lans *et al.*, 2001). Tot op heden heeft dit niet tot een echte toename van de korhoenpopulatie geleid, maar mogelijk wel tot een zekere stabilisatie van de aantallen (Niewold *et al.*, 2003).

Mogelijk zijn er nog andere factoren, die de aantallen bepalen. Voorbeelden daarvan zijn het gewijzigde klimaat (Loneux, 2000), waardoor de milde winters tot ziekten kunnen leiden. Bovendien zou er in de kuikenperiode meer neerslag vallen. De kuikens moeten daardoor een langere tijd onder de hen opwarmen en kunnen dus minder vaak foerageren. Daarnaast worden recreatie, predatie en inteelt genoemd. Heringa (2001) beschrijft verder dat de vermisting enorm is toegenomen van 5-10 kg/ha/jaar nitraat in 1900 naar nu zo'n 40 kg/ha/jaar. Ook vermeldt hij dat er jaarlijks ca. een miljoen bezoekers op de Sallandse Heuvelrug komen en dat de havikpopulatie er relatief laag is, mogelijk als gevolg van illegale vervolging. Een antwoord op deze en andere vragen zal mogelijk af te leiden zijn van het ecologische onderzoek dat van 2003-2004 aan de populatie van de Sallandse Heuvelrug is verricht (Niewold *et al.*, 2003, 2005 in voorbereiding)

Een langdurig kleine populatieomvang heeft vrijwel altijd een afname van de genetische variatie tot gevolg. Genetische variatie is van belang voor overleving en aanpassingsvermogen van individuen en populaties (1.4). Voor de korhoenders van de Sallandse Heuvelrug mag dus worden verondersteld dat de isolatie en kleine populatieomvang tot een afname van de genetische diversiteit heeft geleid. Onduidelijk is in hoeverre dit ook het voortplantingsvermogen en de overleving nadelig heeft beïnvloed (Niewold *et al.*, 2005 in voorbereiding).

Ook is het niet uitgesloten dat vanwege de geïsoleerde ligging van de Nederlandse korhoenpopulatie aan de rand van het verspreidingsgebied, in samenhang met mogelijk andere leefomstandigheden (habitat, klimaat, etc.), er selectie en adaptatie heeft plaatsgevonden, waardoor de Nederlandse populatie is gedifferentieerd van andere populaties. Dit is van belang indien geschikte korhoenders moeten worden

geselecteerd in geval uitzet ter versterking van de populatie wordt overwogen. Dat verschil in selectie en adaptatie bij de korhoenders een rol kan spelen, wordt ondersteund door de aangetoonde morfologische en andere verschillen tussen de hoenders van diverse populaties (1.3: tabel 2).

In opdracht van het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Voedselkwaliteit is door Alterra onderzoek verricht naar genetische variatie en drift van de korhoenders van de Sallandse Heuvelrug. Daarnaast zijn de genetische profielen van verschillende populaties onderzocht. Tevens is gekeken in hoeverre het mogelijk is om aan de hand van moleculaire analyses van veren en eischalen individuele korhoenders te traceren, als ondersteuning bij monitoring.

Het doel van dit onderzoek is om mogelijke nadelige gevolgen van genetische verarming op te sporen en om maatregelen hiertegen te kunnen treffen.

Op basis van de bovenstaande problematiek werden de volgende onderzoeksvragen geformuleerd:

- Hoe staat het met de huidige genetische diversiteit van de korhoenpopulatie op de Sallandse Heuvelrug en hoe verhoudt die zich tot de historische diversiteit van de Nederlandse populatie en buitenlandse referentiepopulaties?
- Hoe kan vanuit genetisch perspectief de korhoenpopulatie op de Sallandse Heuvelrug het best worden beheerd?
- Is een genetische monitoring van de korhoenders aan de hand van veren en eischalen mogelijk?

2 Materiaal en methoden

2.1 Monstername

Voor genetisch onderzoek wordt over het algemeen gebruik gemaakt van bloed- of weefselmonsters. Deze zijn niet altijd eenvoudig verkrijgbaar zodat ook steeds vaker andere bronnen van DNA worden gebruikt, zoals haren, veren, eischalen en zelfs uitwerpselen.

Op de Sallandse Heuvelrug zijn van 2003-2004 in het veld monsters verzameld in de vorm van ruiveren, eischalen, niet uitgekomen eieren en dood aangetroffen vogels (tabel 3).

In het Nationaal Natuurhistorisch Museum Naturalis te Leiden zijn van 33 gebalgde korhoenders uit de periode 1893-1968 stukjes van de teenkussens afgesneden (bijlage 2). Ook zijn monsters genomen van enkele opgezette korhoenders afkomstig van de Sallandse Heuvelrug, die in particulier eigendom waren.

Tevens zijn monsters van dode korhoenders, waaronder veel kuikens, van het fokprogramma van het toenmalige Rijksinstituut voor Natuurbeheer (RIN, later opgegaan in Alterra) uit 1983-1985 geanalyseerd. In dit fokprogramma werd gebruik gemaakt van korhoenders verkregen uit eieren van verstoorde nesten van de Sallandse Heuvelrug, en via kwekers van illegaal geraapte nesten van de Oirschotse Hei. Er zijn ook vogels van Zweedse afkomst betrokken van professionele kwekers uit Duitsland. Tevens is een enkel Belgische korhoen ingebracht. Er hebben ook kruisingen tussen Nederlandse korhoenders en Zweedse hoenders plaatsgevonden, zodat dit een heterogene groep betrof.

Van de korhoenders in het fokprogramma van Nationaal Park De Hoge Veluwe is in het kader van een mogelijke herintroductie een groot aantal DNA monsters geanalyseerd. Het betrof vooral eischalen, enkele dode kuikens en een adulte hen. Deze fokpopulatie bestond uit ca. 20 hennen en 10 hanen en zou oorspronkelijke Nederlandse korhoenders bevatten, aangevuld met buitenlandse dieren. Van der Ziel & van der Lans (2004) vermelden dat er Zweeds en Duits 'bloed' in deze fokgroep was ingebracht. Er werden jaarlijks ca. 100 kuikens grootgebracht (Jansman *et al.*, 2004).

Daarnaast zijn enkele eischalen en dode kuikens verkregen van een particuliere fokker uit Hengevelde. Hier werden een volwassen haan en 3 hennen bij de fok ingezet.

In het kader van Europese samenwerking bij het vergelijken van de verschillende korhoenpopulaties in Europa werd nauw samengewerkt met Dr. Gernot Segelbacher, Max Planck Instituut voor Ornithologie in Radolfzell, Duitsland, Prof. Jacob Höglund en Jobs Karl Larsson van de Universiteit van Uppsala in Zweden. Op deze instituten loopt al enkele jaren onderzoek aan Tetraonidae, waaronder genetisch

onderzoek aan het korhoen. Segelbacher verstrekte de genetische gegevens van korhoenders uit het Ammergebirge (Duitsland), Allgäu (Duitsland), Vorarlberg (Oostenrijk), Nedere Tauern (Oostenrijk) & Tessin (Zwitserland) en van Larsson en Höglund zijn de genetische data van korhoenders uit Noorwegen, Finland en Schotland verkregen.

Tabel 3. *Herkomst, aantal (n), monsterperiode en status van de populaties van de geanalyseerde korhoenmonsters.*

Populatie	n	Periode	Status
<i>Alpen</i>			
• Ammergebirge (Duitsland)	9	1998-2001	Stabiel / lichte afname
• Allgäu (Duitsland)	14	1998-2001	Stabiel / lichte afname
• Vorarlberg (Oostenrijk)	15	1998-2001	Stabiel / lichte afname
• Nedere Tauern (Oostenrijk)	20	1998-2001	Stabiel
• Tessin (Zwitserland)	10	1980-1984	Stabiel / lichte afname
<i>Scandinavië</i>			
• Noorwegen, Östfold	23	Jaren '90	Stabiel
• Finland, Jyväskylä	32	Jaren '90	Stabiel
Schotland (3 leks / baltsplaatsen)	10	2002	Schommelend; nog niet kwetsbaar
<i>Nederland</i>			
• Museum	31	1893-1994	Stabiel
• Salland	39	1995-2004	Zeer kwetsbaar, klein en geïsoleerd
• Fok – Hoge Veluwe	43	2004	ca. 10 hanen en 20 hennen
• Fok - Hengevelde	24	2004	1 haan en 3 hennen
• Fok – RIN	26	1980-1986	Opgeheven

2.2 Genetische analyses

DNA-isolatie werd uitgevoerd met behulp van de DNeasy Tissue kit (Qiagen). Van de kuikens is een teenkootje gebruikt en van de eierschalen ongeveer 2 cm² waarvan het vlies met een bloedvat duidelijk aanwezig was. Van veren (veldmonsters) werd alleen het topje gebruikt wat zich in de huid bevindt (~3mm). Op dode korhoenders is sectie verricht waarbij een stukje spierweefsel is verzameld. Van opgezette korhoenders is een stukje van een eeltkussen van een teen afgesneden (bijlage 2).

2.2.1 Microsatelliet analyse

Vier primerparen van de loci TUT1, TUT2, TUT3 en TUT4, ontwikkeld voor het Auerhoen *Tetrao urogallus* (Segelbacher *et al.*, 2000), en zeven primerparen van de loci BG10, BG12, BG15, BG16, BG18, BG19 en BG20, ontwikkeld voor het korhoen *Tetrao tetrix* (Piertney & Höglund, 2001), zijn in dit onderzoek gebruikt (tabel 4).

Stukjes van het DNA zijn met behulp van de Polymerase Ketting Reactie (PCR) vermenigvuldigd zodat ze zichtbaar konden worden gemaakt. De PCR-reacties werden uitgevoerd met 10 maal verdund DNA-isolaat in een totaal volume van 10 µl

met een MJ Research DNA-engine. Alle loci werden in PCR gezet met 1 μ l 10x PCR buffer (200 mM Tris-HCl, pH = 8,4, 500 mM KCl), 4,25 mM MgCl₂, 200 μ M dNTP's-cocktail, 0,13 μ M van elke primer, 0,16 μ l W-1%, 0,16 μ l BSA (20 mg/ml) en 0,3 U Taq-DNA polymerase (Invitrogen). De PCR condities bestonden uit een initiële denaturatie van 5 minuten bij 94 °C gevolgd door 35 cycli van 30 seconden van 95 °C, 30 seconden bij een bepaalde annealingtemperatuur (T_a) afhankelijk van het locus (tabel 4), 60 seconden bij 72 °C en een final elongation van 7 minuten bij 72 °C. De 5' -end van elke Forward-primer is gesynthetiseerd met een IRD 800 nm label. 5 μ l van het amplicon werd na denaturatie in 5 μ l loading buffer (99,6 % Formamide, 10 mM EDTA en 0,1 % Broomphenol blauw) voor 2 minuten bij 95 °C, geanalyseerd op een 25 cm lange sequencing gel (6,5 % polyacrylamide, 7 M Urea en 1xTBE) met behulp van de LICOR 4200 DNA analyser. Tijdens de electroforese werden ook positieve controles gebruikt om de allellengtes van de monsters te kunnen bepalen (foto 2).

Voor de analyses zijn de monsters verwijderd welke voor meer dan twee loci niet gescoord konden worden. Daarnaast zijn de loci TUT4, BG16 en BG20 niet gebruikt omdat de referentiepopulaties niet voor deze loci waren geanalyseerd. Voor enkele loci was de score op de individuele laboratoria verschillend uitgevoerd waardoor er een verschil in basepaarlengte van ± 1 of ± 2 bases was ontstaan. Voor de data analyse zijn deze verschillen gecorrigeerd met behulp van referentiemonsters. De totale dataset omvatte 296 monsters uit 13 populaties en is voor 8 loci geanalyseerd.

Ook zijn in Zweden enkele veren en museum monsters geanalyseerd vanwege de grotere ervaring met DNA-isolatie uit deze toch wat moeilijkere type monsters.

Genetische variatie is gekarakteriseerd door het gemiddelde aantal allelen (N_a), het aantal effectieve allelen (N_e), en het percentage heterozygoten (H_e) in de verschillende populaties te bepalen (programma's GenAlEx, Peakall & Smouse, 2001; Genepop, Raymond & Rousset, 1995). Het aantal allelen per microsatelliet is een maat voor het aantal varianten dat van een gen aanwezig is. N_e is in vergelijking met N_a een maat voor het aantal allelen onafhankelijk van monster grootte en is daardoor beter geschikt voor onderlinge vergelijking. Het percentage heterozygoten geeft een indruk van het aantal individuen in de populatie dat over twee verschillende varianten van een gen beschikt (tegenover de individuen die voor een gen twee dezelfde varianten bezitten: homozygoten).

Daarnaast is voor de verwantschapsanalyse een clusteranalyse toegepast. Als eerste is het programma STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000) gebruikt. Het model dat ten grondslag ligt aan dit programma veronderstelt K (een onbekend aantal) populaties, welke gekarakteriseerd worden door de allel frequenties van een set van onafhankelijke merkers. Het resultaat is een onderverdeling van de totale dataset in een optimaal aantal populaties, waarbij vervolgens wordt aangegeven welk percentage van de oorspronkelijke monsters uit een populatie aan een bepaald cluster worden toegewezen. Naast deze Bayesiaanse cluster procedure is op de dataset een PCO analyse uitgevoerd. Voor de Principale Coördinaten Analyse (PCO) is gebruik gemaakt van het programma GENAIEX (Peakall & Smouse, 2001). Hierbij wordt

eerst de onderlinge genetische afstand tussen alle 296 individuen bepaald en vervolgens is daar met behulp van de PCO structuur in aangebracht. De PCO is een multivariate analyse die probeert de variatie in een dataset zo te combineren en te groeperen dat een inzichtelijker patroon ontstaat. Vaak wordt een PCO analyse grafisch weergegeven door de score van de individuele monsters op de eerste en tweede PCO as weer te geven.

Tabel 4. Beschrijving van de elf gebruikte primerparen. De primerparen staan genoteerd in de 5' naar de 3' richting met hun respectievelijke nucleotide repeat, de toegepaste annealing temperatuur (T_a °C) en fragmentlengte.

Locus	Primer sequentie (5' – 3')	Nucleotide repeat	T_a (°C)	Fragment-lengte (bp)
TUT 1	GGTCTACATTTGGCTCTGACC ATATGGCATCCCAGCTATGG	(CTAT)12	59,0	217
TUT 2	CCGTGTCAAGTTCTCCAAAC TTCAAAGCTGTGTTTCATTAGTTG	(GATA)12	59,0	160
TUT 3	CAGGAGGCCTCAACTAATCACC CGATGCTGGACAGAAGTGAC	(TATC)11	59,0	154
TUT 4	GAGCATCTCCCAGAGTCAGC TGTGAACCAGCAATCTGAGC	(TATC)8	59,0	179
BG10	ATGTTTCATGTCTTCTGGAATAG ATTTGGTTAGTAACGCATAAGC	(GATA)17	53,0	225
BG12	TCTCCTTCTAAACCAGTCATTC TAGTTTCCACAGAGCACATTG	(GATA)29	59,0	232
BG15	AAATATGTTTGCTAGGGCTTAC TACATTTTTCATTGTGGACTTC	(CTAT)16	53,0	181
BG16	GTCATTAGTGCTGTCTGTCTATCT TGCTAGGTAGGGTAAAAATGG	(CTAT)15	53,0	161
BG18	CCATAACTTAACTTGCACTTTC CTGATACAAAGATGCCTACAA	(CTAT)17	59,0	168
BG19	CAAGGCGCAACATTAAGATTC TGTATTTTGGAACTCTGTGTGC	(GATA)13	57,0	178
BG20	AAGCACTTACAATGGTGAGGAC TATGTTTTCTTTTCAGTGGTATG	(GATA)17	59,0	147

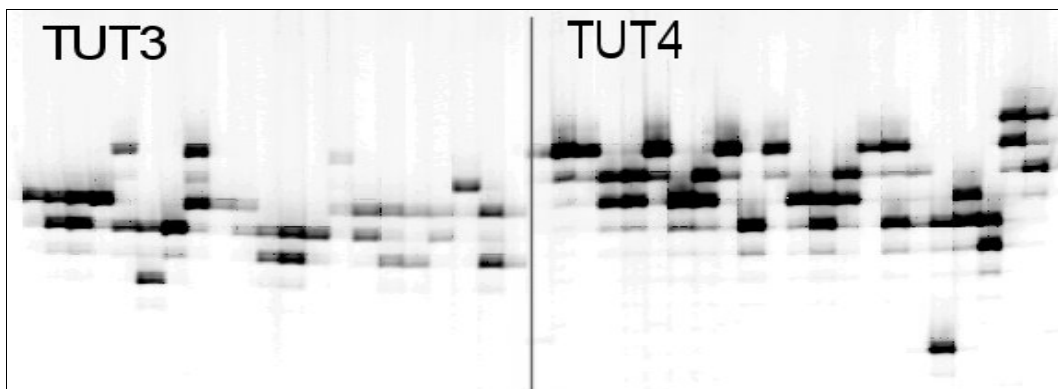


Foto 2. Microsatellietanalyse van 21 korhoenmonsters voor de loci TUT3 en TUT4. De monsters zijn naast elkaar in verschillende lanen opgebracht. De donkere bandjes zijn de verschillende allelen voor die merker. De vage bandjes zijn de zogenaamde stotterbanden als artefact van de microsatellietanalyse.

2.2.2 Mitochondriële DNA analyse

De PCR-reactie werd uitgevoerd met 1 µl DNA-isolaat in een totaal volume van 25 µl met een MJ Research DNA-engine. De mtDNA D-loop werd geamplificeerd met gebruikmaking van de primerset PHDL (5' AGG ACT ACG GCT TGA AAA GC 3') en PHDH (5' CAT CTT GGC ATC TTC AGT GCC 3') (Fumihito *et al.*, 1995) waarbij een amplicon van 1155 ± 2 baseparen ontstaat.

De PCR-mix bestond uit 2,5 µl 10x PCR buffer (200 mM Tris-HCl, pH = 8,4, 500 mM KCl), 3,5 mM MgCl₂, 250 µM dNTP's-cocktail, 0,40 µM van elke primer en 0,75 U Taq-DNA polymerase (Invitrogen). De PCR-conditie wordt gekenmerkt als een Touchdown PCR, met een initiële denaturatie van 3 minuten bij 94 °C gevolgd door 33 cycli van 15 seconden van 94 °C, 15 seconden van 61 °C, Δ -/- 0,3 °C na iedere cyclus, 60 seconden bij 72 °C en een final elongation van 10 minuten bij 72 °C. 5 µl van het amplicon werd gemengd met 5 µl loading buffer (40% sucrose en 0,25 % Broomphenol blauw) en geanalyseerd op een 2% agarosegel in 1x TBE elektrolyt. Nadat de agarosegel 20 minuten in contact is gebracht met een ethidiumbromide oplossing (1 mg/l) werd de gel blootgesteld aan UV-licht waardoor de resultaten zichtbaar werden. Van de monsters die succesvol zijn geamplificeerd is een selectie van 20 monsters gemaakt uit de beschikbare populaties welke zijn opgestuurd naar BaseClear Labservices om de sequenties te bepalen (tabel 7). De nucleotide sequenties zijn bewerkt met behulp van het programma Chromas v 2.3 (<http://www.technehsium.com.au/chromas.html>). Als referentie sequentie voor *Tetrao tetrix* is AF 532459 gebruikt (NCBI data base). Voor elk monster is de uiteindelijke alignment uitgewerkt met behulp van het programma Bioedit v 7.0 (Hall, 1999) (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). Nucleotide diversiteit en haplotype diversiteit zijn berekend met behulp van het programma DnaSP V 4.0.5. (<http://www.ub.es/dnasp>). De fylogenetische boom is berekend op basis van neighbour-joining (NJ, Tamura-Nei distance; Saitou and Nei, 1987) voor de totale mitochondriale control region met het programma MEGA (Kumar *et al.*, 1993). De sequentie van een Kaukasische korhoen *Tetrao mlokosiewiczii* (AJ 2971731) is gebruikt als outgroup voor het maken van de fylogenetische boom.

3 Resultaten

3.1 Genetische diversiteit

De korhoenders uit de grote populaties in de Alpen en Scandinavië hadden gemiddeld $\geq 3,5$ effectieve allelen per locus (N_e) en een heterozygositeit H_e van $\geq 0,64$ (tabel 5). De korhoenders van de geïsoleerde en kleine populaties van de Sallandse Heuvelrug (Nederland) en Schotland vertoonden een geringere genetische diversiteit.

De toen nog veel uitgebreidere, vroegere Nederlandse populatie vertoonde in genetisch opzicht ook een grotere diversiteit.

Bij de fokprogramma's leek de genetische diversiteit mede afhankelijk van de omvang van de fokgroep. De genetische diversiteit van de fokgroep uit Hengevelde met weinig fokdieren was met 2,1 effectieve allelen en een heterozygositeit van 0,46 de laagste in deze studie. De andere twee grotere fokgroepen (Hoge Veluwe en RIN) vertoonden een grotere diversiteit, maar deze was lager dan in de wilde populaties

Er was een grote variatie in het aantal allelen per microsatelliet locus en de range per populatie (tabel 6, figuur 7). Zo is goed te zien dat locus TUT2 weinig variabel was, met slechts 4 allelen. Het kleinste allel (links) en het grootste allel (rechts) kwamen daarnaast alleen in respectievelijk de Sallandse populatie en in de Alpen voor (figuur 7). Daarnaast was voor locus BG15 een allel (de meest rechtse) aanwezig welke alleen in de Nederlandse populaties en de fokpopulaties werden aangetroffen.

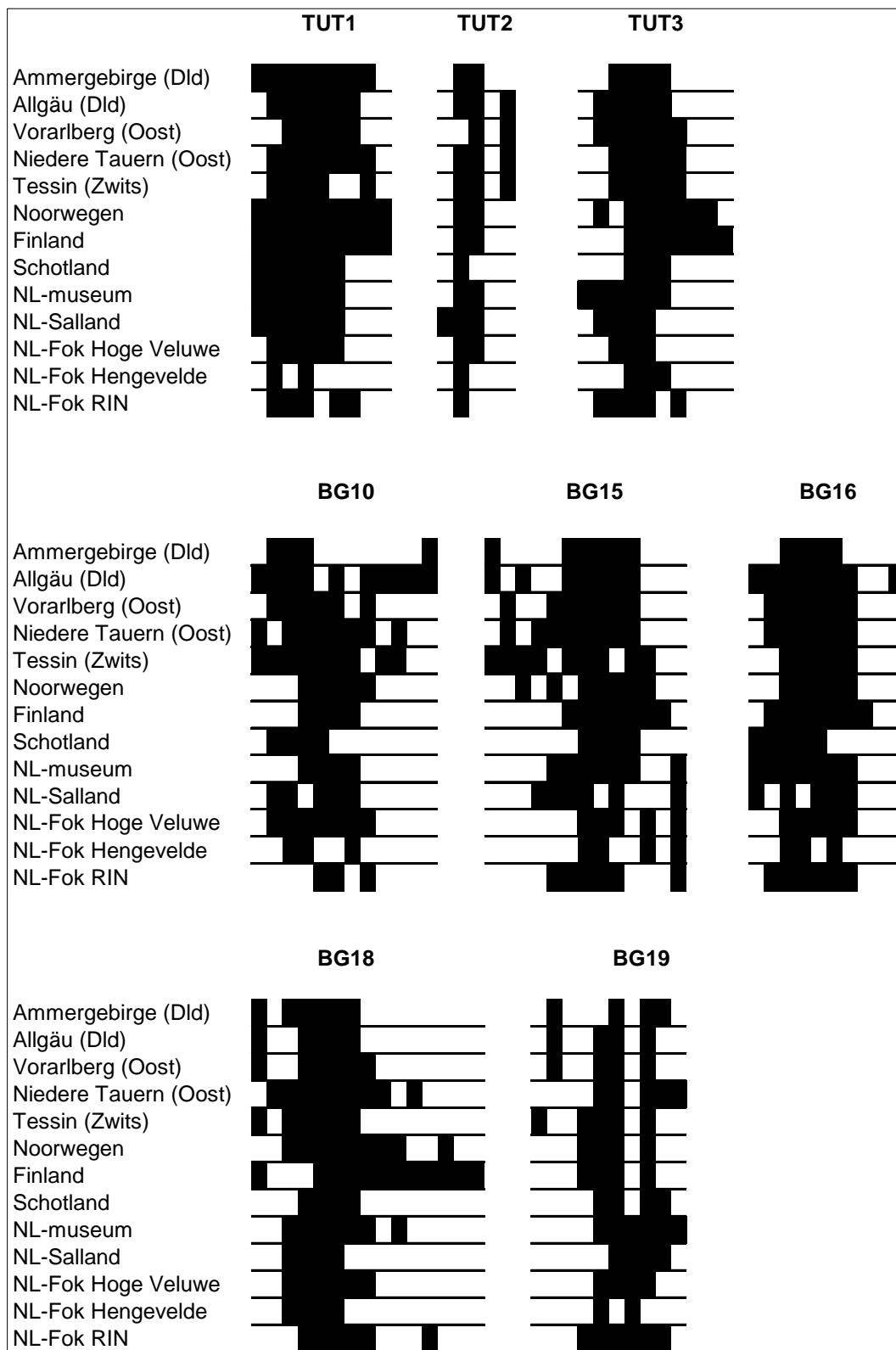
Deze wijze van datapresentatie maakt het eenvoudig om snel te zien welke populaties 'gaten' vertonen in hun allel verdeling. Zo is bijvoorbeeld voor locus BG10 te zien dat in de 'zwarte balk' zich 'witte gaten' voordoen. Waarschijnlijk zijn deze allelen verloren gegaan als gevolg van genetische drift. Voor BG18 zijn er bijvoorbeeld in de museumpopulatie drie allelen meer aangetroffen dan nu nog in de populatie van Salland zijn vastgesteld.

Tabel 5. Analyse van genetische variatie in korboen populaties gebaseerd op acht microsatelliet loci. *n*, aantal individuen; *N_a*, gemiddeld aantal allelen per locus; *N_e*, effectieve aantal allelen per locus; *H_e*, heterozygositeit.

Populatie	<i>n</i>	<i>N_a</i>	<i>N_e</i>	<i>H_e</i>
<i>Alpen</i>				
• Ammergebirge (Duitsland)	9	4.9	3.7	0.67
• Allgäu (Duitsland)	14	6.1	3.8	0.68
• Vorarlberg (Oostenrijk)	15	5.5	3.5	0.64
• Nedere Tauern (Oostenrijk)	20	6.3	3.5	0.66
• Tessin (Zwitserland)	10	5.9	3.7	0.68
<i>Scandinavië</i>				
• Noorwegen	23	6.4	3.8	0.66
• Finland	32	6.4	3.9	0.65
Schotland	10	4.0	2.6	0.55
<i>Nederland</i>				
• Museum	31	5.6	3.6	0.62
• Salland	39	4.6	2.4	0.52
• Fok – Hoge Veluwe	43	4.6	2.7	0.59
• Fok - Hengevelde	24	2.8	2.1	0.46
• Fok – RIN	26	4.8	2.8	0.57

Tabel 6. Allel diversiteit van acht microsatelliet loci gebaseerd op 296 individuen. Zie ook figuur 7 & tabel 4.

Locus	allelen aantal	Range (min – max) per populatie	Range (baseparen)
TUT1	9	2 – 9	197 – 229
TUT2	4	1 – 3	132 – 148
TUT3	11	3 – 7	146 – 186
BG10	12	3 – 10	213 – 257
BG12	13	4 – 9	165 – 213
BG15	9	3 – 8	149 – 185
BG18	16	4 - 13	144 – 204
BG19	9	2 - 6	158 – 194



Figuur 7. Aan of afwezigheid van allelen van acht microsatelliet loci in 13 populaties. Zwarte blokjes duiden op aanwezigheid van een allel en witte blokjes op afwezigheid. Zie tabel 6 voor specifieke informatie.

3.2 Genetische verwantschap

Voor nadere populatiegenetische analyse van de dataset is verondersteld dat alle individuen tot één grote populatie behoren. Binnen deze populatie is structuur gebracht door genetisch verwante dieren te groeperen in clusters. Hiervoor zijn twee methoden gebruikt.

3.2.1 Bayesian cluster analyse

De Bayesian cluster analyse geeft aan dat een indeling in vijf clusters (genetisch identieke groepen) het meest optimaal is (tabel 7). De Nederlandse museum populatie valt voornamelijk in cluster 3. De huidige Sallandpopulatie valt voor 45% in hetzelfde cluster en voor 52% in cluster 4. Naast Nederland zijn ook de Alpen, Scandinavië en de fokgroepen in aparte clusters geplaatst. In deze clusteranalyse wordt Schotland tot het Alpen cluster gerekend (86%).

De RIN fokgroep is aanwezig in de clusters 1 (fokprogramma) en het cluster 4 (Sallandse Heuvelrug). Deze populatie was samengesteld uit dieren afkomstig uit buitenlandse fokprogramma's en van autochtone Nederlandse afkomst, vooral van de Sallandse Heuvelrug.

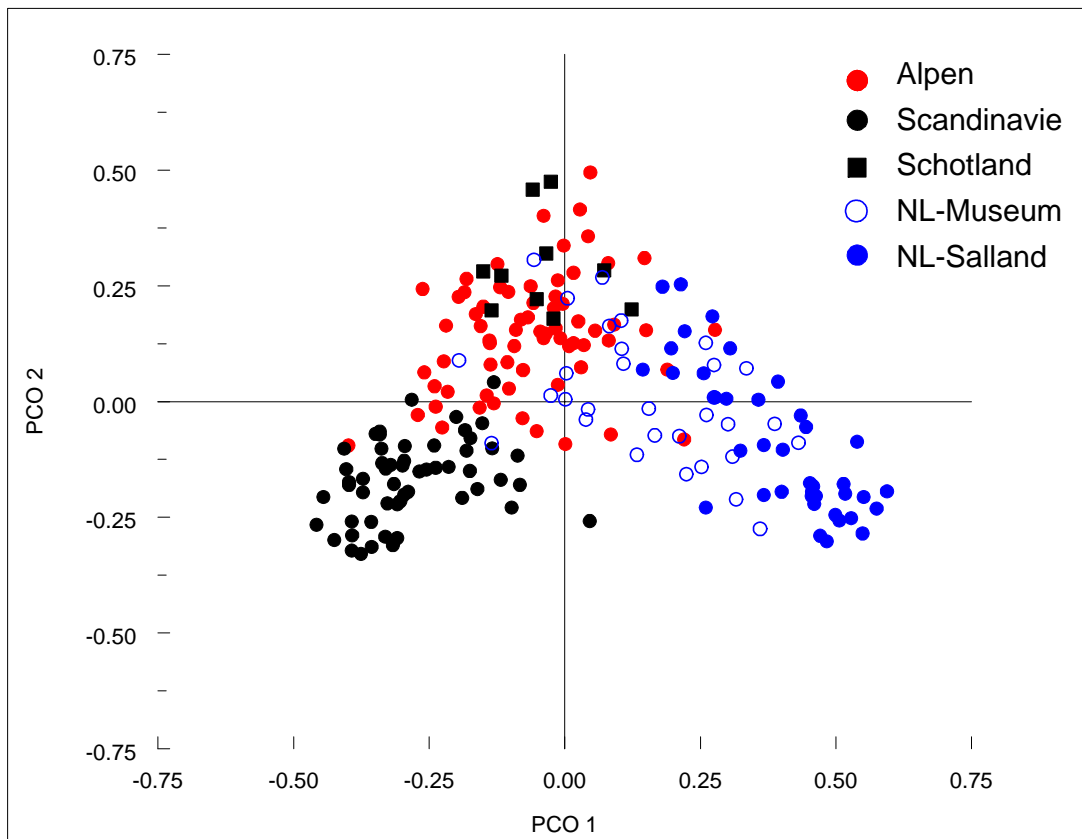
Tabel 7. Samenvatting van de resultaten van een Bayesian cluster analyse met behulp van het programma *Structure Vet* = karakteristiek voor een cluster.

Populatie	Genetisch cluster				
	1	2	3	4	5
<i>Alpen</i>					
• Ammergebirge (Duitsland)	0.01	0.80	0.16	0.01	0.02
• Allgäu (Duitsland)	0.03	0.89	0.06	0.01	0.01
• Vorarlberg (Oostenrijk)	0.02	0.76	0.17	0.04	0.03
• Nedere Tauern (Oostenrijk)	0.03	0.82	0.03	0.02	0.09
• Tessin (Zwitserland)	0.03	0.93	0.02	0.01	0.02
<i>Scandinavië</i>					
• Noorwegen	0.10	0.24	0.04	0.02	0.59
• Finland	0.01	0.01	0.01	0.01	0.97
Schotland	0.05	0.86	0.06	0.02	0.01
<i>Nederland</i>					
• Museum	0.03	0.13	0.74	0.07	0.02
• Salland	0.01	0.02	0.45	0.52	0.00
• Fok – Hoge Veluwe	0.91	0.03	0.03	0.03	0.01
• Fok - Hengevelde	0.97	0.01	0.01	0.01	0.01
• Fok – RIN	0.39	0.04	0.09	0.46	0.03

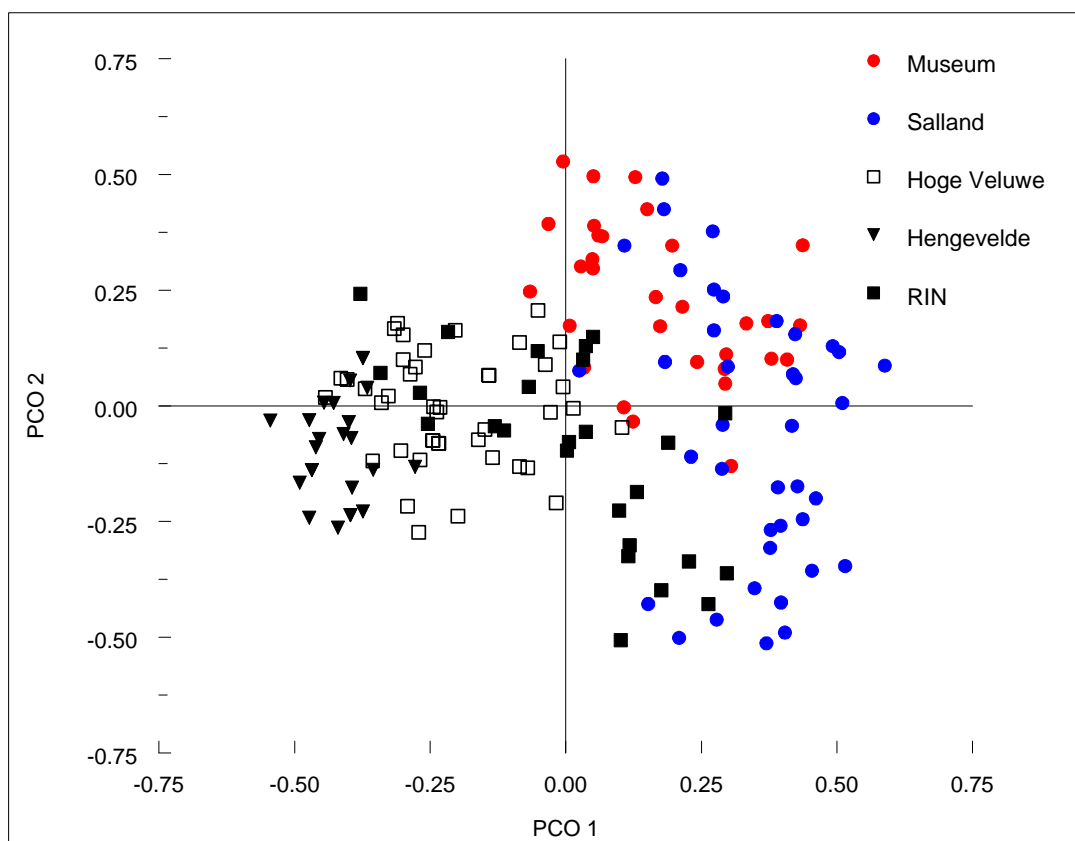
3.2.2 Principale Coördinaten Analyse

Bij de Principale Coördinaten Analyse wordt een weergave voorgesteld in twee dimensies (figuren 8 & 9). Deze twee assen verklaren de meeste variatie. Het is echter mogelijk dat individuen (punten) die dicht bij elkaar worden geplott in deze X-Y grafiek in werkelijkheid op de niet weergegeven Z-as (3^e dimensie) uit elkaar liggen. Drie van de vier belangrijkste clusters (Alpen, Scandinavië en Nederland) kunnen ook weer als groep worden weergegeven. Schotland valt binnen het Alpen cluster en het Nederlandse cluster valt enigszins in tweeën te delen: de museumgroep en Salland.

De fokgroepen onderscheiden zich van het Nederlandse museum materiaal en Salland (figuur 9). De fokgroep van de RIN vertoont overlap met de andere fokgroepen en de Nederlandse populaties.



Figuur 8. Scores van individuele korboender genotypes van Nederlandse en buitenlandse referentiepopulaties op de eerste twee assen van een Principale Coördinaten Analyse. De assen verklaren 22,3 % van de totale variatie.



Figuur 9. Scores van individuele korboender genotypes van de verschillende fokpopulaties en Nederland museum en Salland op de eerste twee assen van een Principale Coördinaten Analyse. De assen verklaren 27,0 % van de totale variatie.

3.2.3 Genetische differentiatie

Naast clusteranalyses is voor de dataset ook de mate van genetische differentiatie (F_{st}) tussen populaties berekend. De F_{st} varieert tussen 0 en 1: de populaties zijn identiek, i.e. de allelfrequenties voor de verschillende allelen zijn hetzelfde ($F_{st} = 0$) en maximale differentiatie, i.e. de populaties zijn gefixeerd voor verschillende allelen ($F_{st} = 1$).

Hartl & Clark (1997) hanteren de volgende vuistregel voor interpretatie van F_{st} waarden: F_{st} van 0-0,05 geringe differentiatie; 0,05-0,15 matige differentiatie; 0,15-0,25 grote differentiatie en $>0,25$ zeer grote differentiatie.

De grote referentiepopulaties beschikken over veel genetische variatie (tabel 5), terwijl deze variatie onderling maar in geringe mate van elkaar verschilt (F_{st} 0,091). Indien de museum populatie van Nederland wordt toegevoegd stijgt de F_{st} naar 0,103. Deze verschilt dus van de buitenlandse referentiepopulaties, maar bij de onderlinge F_{st} waarden is alleen het verschil met Finland groot ($F_{st} = 0,180$). Bij toevoeging van de populatie van de Sallandse Heuvelrug neemt de F_{st} toe tot 0,139. De onderlinge F_{st} waarden met de andere populaties zijn $>0,15$ met uitzondering van de F_{st} met de Nederlandse museumpopulatie ($F_{st} = 0,105$).

Wanneer de fokpopulaties in de analyse worden betrokken stijgt de Fst waarde tot 0,189. De toegenomen differentiatie blijkt ook uit de onderlinge Fst waarden van met name de Hoge Veluwe en Hengevelde die ten opzichte van alle andere populaties een grote genetische differentiatie vertonen. De fokgroep van de RIN wijkt daar enigszins vanaf. Er is verder een geringe genetische differentiatie tussen het fokprogramma van de Hoge Veluwe en de RIN (0,079).

Nederland blijkt historisch het meest verwant te zijn geweest aan de referentie populaties uit de Alpen (Fst 0,075-0,114) en minder aan Scandinavië (Fst 0,139-0,180). De verwantschappen onderling tussen de korhoenpopulaties van het vaste land van Europa waren dus sterker dan die met de korhoenders van Scandinavië. Dit geldt ook voor Schotland, waar Nederland historisch al redelijk van afweek (Fst = 0,141) en recent sterk van is gedifferentieerd (Fst = 0,238).

Tabel 8. Genetische differentiatie (Fst) van korhoenpopulaties. *Vet* = Fst >0,15 redelijke tot grote onderlinge genetische differentiatie.

	Ammeregebirge	Allgäu	Vorarlberg	Niedere Tauern	Tessin	Noorwegen	Finland	Schotland	NL-Museum	NL-Salland	NL-Hoge Veluwe	NL-Hengevelde
Allgäu	0.026											
Vorarlberg	0.035	0.024										
Niedere Tauern	0.047	0.024	0.054									
Tessin	0.057	0.036	0.037	0.032								
Noorwegen	0.099	0.081	0.108	0.048	0.112							
Finland	0.134	0.139	0.150	0.099	0.156	0.058						
Schotland	0.076	0.052	0.044	0.074	0.060	0.162	0.195					
NL-Museum	0.090	0.100	0.075	0.095	0.114	0.139	0.180	0.141				
NL-Salland	0.183	0.169	0.151	0.209	0.215	0.245	0.287	0.238	0.105			
NL-Hoge Veluwe	0.167	0.134	0.163	0.155	0.169	0.158	0.227	0.170	0.157	0.213		
NL-Hengevelde	0.257	0.230	0.247	0.195	0.260	0.182	0.233	0.277	0.265	0.325	0.163	
NL-RIN	0.150	0.121	0.156	0.155	0.179	0.183	0.226	0.169	0.112	0.125	0.079	0.201

3.3 Mitochondriële DNA analyse

Twintig monsters zijn geselecteerd voor de mtDNA analyses. Zes daarvan leverden helaas geen bruikbare sequentie gegevens op (tabel 9).

Op basis van variatie in de sequentievolverde van de control region van de D-loop op het mtDNA zijn er 8 haplotypen vastgesteld (tabel 9 & 10; figuur 10). Binnen de vijf onderzochte Hoge Veluwe monsters zijn drie verschillende haplotypen vastgesteld. Haplotype BG1 en BG2 zijn specifiek voor het fokprogramma. Haplotype BG3 groepeer samen met sequentie BG8 van de Sallandse Heuvelrug. De overige Nederlandse en Scandinavische monsters liggen ook dicht bij elkaar en

verschillen onderling niet veel. Een uitzondering is haplotype BG6 uit Groot-Brittannië, dat een aantal opvallende mutaties vertoont.

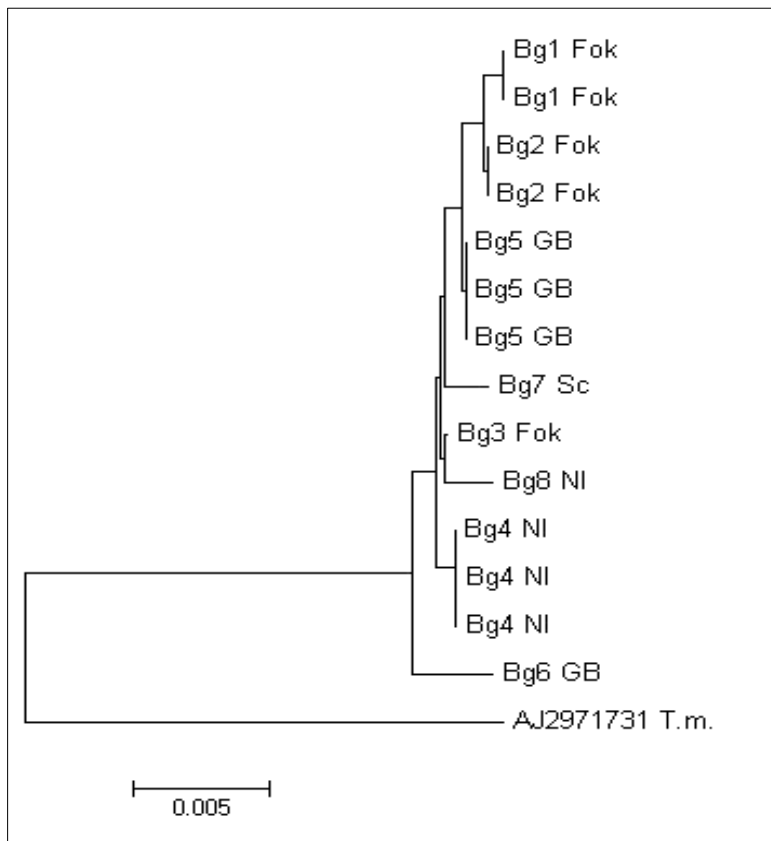
De genetische verschillen zijn gering in combinatie met het kleine monster en de herkomst van de monsters. Indien er werkelijk een structurele differentiatie zou zijn opgetreden dan zou de variatie groter zijn geweest. De verschillen tussen de aangetroffen haplotypen uit Groot-Brittannië (*T.t.britannicus*) en West-Europa (*T.t.tetrix*) zijn verwaarloosbaar klein en ondersteunen de verdeling in ondersoorten niet.

Tabel 9: mtDNA monsters met hun code, herkomst en haplotype.

NR	Code NR	Herkomst	Haplotype
1	24923	Fokpopulatie Hoge Veluwe	Bg1
2	24926	Fokpopulatie Hoge Veluwe	Bg3
3	24929	Fokpopulatie Hoge Veluwe	Bg1
4	24944	Fokpopulatie Hoge Veluwe	Bg2
5	24955	Fokpopulatie Hoge Veluwe	Bg2
6	1	Groot-Brittannië	Bg5
7	8	Groot-Brittannië	Bg5
8	9	Groot-Brittannië	Bg6
9	10	Groot-Brittannië	Bg5
10	3a	Sallandse Heuvelrug	Bg4
11	4a	Sallandse Heuvelrug	Bg4
12	6	Sallandse Heuvelrug	Mislukt
13	8a	Sallandse Heuvelrug	Mislukt
14	12	Sallandse Heuvelrug	Bg8
15	D688	Scandinavië	Bg7
16	D649	Scandinavië	Mislukt
17	796	Alpen	Mislukt
18	806	Alpen	Mislukt
19	897	Alpen	Mislukt
20	231505	Sallandse Heuvelrug	Bg4

Tabel 10 Locatie van de mutaties voor de verschillende haplotypes. Haplotype frequentie, nucleotide diversiteit (π), haplotype diversiteit (δ) en aantal geanalyseerde monsters (N) van de onderzochte populaties. Alleen de variabele posities zijn weergegeven. Verticale nummering geeft de positie van de veranderde nucleotide weer ten opzichte van haplotype Bg1.

Haplo- type	11122223378 69901786909 50890086137	Fok	Scandinavië & Groot-Brittannië	Salland
Bg1	CTGCCATTAAA	2		
Bg2G.	2		
Bg3	.C. . .G. . .G.	1		
Bg4	.C. . .G. . .GT			3
Bg5	.C. . .G.		3	
Bg6	TC. .TGCC. . .		1	
Bg7	.CA.G.		1	
Bg8	.C.T.G. .TG.			1
N		5	5	4
π		0.0013	0.0025	0.0014
δ		0.80	0.70	0.50



Figuur 10. Fylogenetische verwantschap op basis van de mtDNA sequentie analyse. Fok = Fokpopulatie Hoge Veluwe; Sc = Scandinavië; GB = Groot-Brittannië; NI = Sallandse Heuvelrug. Als externe referentie is AJ2971731 T.m. meegenomen. Dit betreft een sequentie analyse van het verwante Kaukasisch korboen *Tetraodon mlokosiewiczii*.

4 Discussie, conclusies en aanbevelingen

4.1 De genetische diversiteit van de korhoenders op de Sallandse Heuvelrug

4.1.1 Genetische variatie

De korhoenders van de Sallandse Heuvelrug hadden de laagste genetische variatie van de onderzochte Europese populaties. In de afgelopen eeuw was op basis van Nederlands museum materiaal nauwelijks sprake van een afname van de genetische variatie. Deze vergelijking kan slechts indicatief zijn, aangezien de historische variatie in Nederland wordt vergeleken met de huidige variatie in de Sallandse- en Europese populaties. Bovendien zijn de monsters uit de museumpopulatie over een veel groter tijdsbestek verzameld en deze stammen ook uit een groter geografisch gebied.

Caizergues *et al.* (2003) onderzochten de genetische structuur van korhoenders uit een gefragmenteerde Alpenpopulatie en een aanéengesloten populatie uit Finland. Hierbij werden ca. 500 monsters geanalyseerd met 14 microsatellietprimers. Beide populaties hadden een hogere heterozygositeit, respectievelijk H_e 74% en 76%, dan de populaties in deze studie.

Het is dus niet geheel uit te sluiten dat de lagere genetische variatie van de korhoenders van de Sallandse Heuvelrug voor een deel is veroorzaakt door het beperkte geografische gebied. Toch lijkt er sprake van een lichte trend tot vermindering.

Er was een behoorlijke variatie van het mitochondriaal DNA bij de onderzochte korhoenders, ondanks de geringe steekproef. De Nederlandse haplotypen weken maar één tot enkele baseparen af van andere onderzochte korhoenders uit Finland, Groot-Brittannië en de fokgroep van De Hoge Veluwe. Door de geringe onderlinge verschillen werden geen aanwijzingen gevonden voor een structurele differentiatie tussen de verschillende populaties.

4.1.2 Genetische differentiatie

Al sinds de vorige eeuw is de Nederlandse korhoenpopulatie genetisch gedifferentieerd van de Europese referentiepopulaties (figuur 8, tabel 7 & 8). Recent heeft dat proces zich voortgezet en zelfs zodanig dat in de clusteranalyse (tabel 7) de huidige populatie voor een deel in het museumcluster valt, maar daarnaast voor een deel een eigen cluster vormt. De historische Nederlandse populatie ligt vanuit genetisch oogpunt dicht bij de overige Europese populaties dan de huidige Salland populatie (figuur 8).

De Nederlandse populatie heeft geografisch gezien altijd al aan de rand van het verspreidingsgebied gelegen waardoor niet met alle andere Europese populaties uitwisseling kon plaatsvinden. Dit kan ertoe hebben geleid dat de genetische diversiteit zich ook anders kan hebben ontwikkeld dan in het centrum van het verspreidingsgebied. Mogelijk dat er ook selectie en lokale adaptatie heeft plaatsgevonden aan de verschillende leefomstandigheden. De Nederlandse populaties zijn dan ook aan de rand van de clustering gesitueerd, terwijl Scandinavië en de Alpen meer genetische overlap vertoonden (figuur 8).

Mogelijk hebben deze processen ook geleid tot de morfologische en andere verschillen tussen Nederlandse korhoenders en de korhoenders van enkele andere Europese populaties. Deze leken genetisch bepaald aangezien ze ook in gevangenschap onder identieke omstandigheden tot expressie kwamen (figuur 4) en bij kruisingen intermediair bleken over te erven (1.3, tabel 2).

De verschillen op het mitochondriaal DNA tussen de aangetroffen haplotypen uit Groot-Brittannië (*T.t.britannicus*) en West-Europa (*T.t.tetrix*) zijn verwaarloosbaar klein en ondersteunen de verdeling in ondersoorten niet.

4.2 Het beheer van de korhoenpopulatie op de Sallandse Heuvelrug

De vraag doet zich voor of de trend van vermindering van de genetische variatie en toename van differentiatie aanleiding is voor een ingrijpen in de populatie.

4.2.1 Verlies van genetische variatie en fitness

De populatiegenetica van bedreigde populaties kan met microsatellieten worden geanalyseerd. Dit zijn sterk variabele deeltjes DNA waarvan wordt verondersteld dat ze niet functioneel en niet aan selectie onderhevig zijn. Ze worden als neutraal beschouwd, waardoor ze geschikt zijn voor het bestuderen en vergelijken van populatie genetische processen van populaties die mogelijk aan verschillende selectiemechanismen blootstaan. Er wordt aangenomen dat er een relatie is tussen microsatelliet variatie en variatie van functionele genen. Daarnaast is genetische variatie dikwijls positief gecorreleerd aan fitness; genetische variatie beïnvloedt bijvoorbeeld de groei, voortplanting, overleving, aanpassingsvermogen etc. van individuen en populaties (1.4).

Er bestond in een Finse korhoenpopulatie een positieve correlatie tussen het paringssucces van de hanen en hun genetische variatie. Hanen die er ten minste één maal in hun leven in slaagden een territorium op de baltsplaats te veroveren beschikten over een hoger percentage heterozygositeit dan hanen die daar nooit in slaagden. Dit is een voorbeeld van een verlaagde fitness in relatie tot heterozygositeit voor individuen binnen een populatie (Höglund *et al.*, 2002). Genetisch verarmde korhoenders zouden dan ook over afgenomen competitieve capaciteiten kunnen beschikken.

Een aantal gedragsmechanismen, zoals het verschil in dispersie tussen de beide seksen en hennen die voor de jaarlijkse paring voor dezelfde haan kiezen, zorgen voor handhaving van een zo groot mogelijke genetische diversiteit of het vermijden van inteelt (1.1, 1.4).

Grote, aaneengesloten hoenderpopulaties lijken een grotere genetische variatie te hebben (He 0,62-0,71) dan gefragmenteerde en geïsoleerde kleine populaties (He 0,35-0,57; tabel 11). De gegevens zijn indicatief omdat in de verschillende bronnen verschillende methoden zijn gebruikt waardoor de gegevens niet altijd met elkaar vergeleken mogen worden. Voor de korhoenders van de kleine, geïsoleerde Rhön populatie in Centraal-Duitsland werd het laagste percentage heterozygositeit aangetroffen van 0,35%. Het aantal monsters was echter zeer beperkt.

Bij het Groot prairiehoen *Tympanuchus cupido* in de Verenigde Staten zijn aanwijzingen gevonden voor een verminderd broedsucces in relatie tot een afgenomen genetische variatie (bijlage 1). Het recente ecologische onderzoek op de Sallandse Heuvelrug heeft geen aanwijzingen opgeleverd voor een verminderde fitness van de korhoenders. Legselgrootte en nestsucces lijken niet gewijzigd sinds de jaren tachtig van de vorige eeuw (Niewold *et al.*, 2003, 2005 in voorbereiding).

Geconcludeerd kan worden dat de trend in afname van de genetische variatie bij de korhoenders van de Sallandse Heuvelrug niet in verband kan worden gebracht met een mogelijke vermindering van fitness. Waakzaamheid blijft echter geboden en het verdient aanbeveling om zowel het ecologisch als genetisch onderzoek over 5-10 jaar te herhalen.

Tabel 11: Genetische variatie in verschillende populaties hoenderachtigen. n = aantal individuen; N_a = aantal allelen; N_e = aantal effectieve allelen; He = heterozygositeit; NL = Nederland; D = Duitsland; Fr = Frankrijk.

Soort	Populatie	status	n	N_a	N_e	He	Bron
Korhoen	Noorwegen	stabiel	25	7,5	-	0,68	Höglund et al., 2002
Korhoen	Noorwegen	stabiel	23	6,4	3,8	0,66	Dit rapport
Korhoen	Finland	stabiel	141	8,8	-	0,70	Höglund et al., 2002
Korhoen	Finland	stabiel	32	6,4	3,9	0,65	Dit rapport
Korhoen	NL verleden	stabiel	31	5,6	3,6	0,62	Dit rapport
Korhoen	Salland heden	geïsoleerd	39	4,6	2,4	0,52	Dit rapport
Korhoen	Rhön, D.	geïsoleerd	5	2,6	2,1	0,35	Jansman et al., 2004
Auerhoen	Noorwegen	stabiel	18	4,9	2,5	0,62	Segelbacher et al., 2003
Auerhoen	Vogezes, Fr	gefragmenteerd	52	4,6	2,2	0,56	Segelbacher et al., 2003
Groot prairiehoen	Wisconsin, 1951	stabiel	~43	9,2	-	0,71	Bellinger et al., 2003
Groot prairiehoen	Wisconsin '96-'99	geïsoleerd	87	7,0	-	0,56	Bellinger et al., 2003
Chinees korhoen	Lianhuashan, China	gefragmenteerd	22	4,2	3,6	0,57	Larsson et al., 2003

4.2.2 Opties voor beheer

Het lijkt waarschijnlijk dat de genetische variatie van de korhoenders op de Sallandse Heuvelrug geleidelijk zal afnemen vanwege de kleine populatieomvang in combinatie met de geïsoleerde ligging ten opzichte van andere populaties. Dit kan op termijn tot een verminderde fitness en aanpassingsvermogen aanleiding zijn met als gevolg een

verminderde kans op overleving (1.4, 4.2.1). Er zijn een aantal mogelijkheden om deze neerwaartse spiraal te doorbreken.

Verbetering leefgebied

Verbetering en vergroting van het huidige leefgebied wordt al nagestreefd, maar het verdient in dit kader evenzeer de aandacht (o.a. Niewold *et al.*, 2003). Naast vergroting van de stochastische overlevingskansen zijn grote populaties ook beter in staat de genetische diversiteit in stand te houden. De mogelijkheden hiertoe zullen in het rapport over de resultaten van het ecologisch onderzoek nog eens op een rijtje worden gezet (Niewold *et al.*, 2005 in voorbereiding)

Toevoeging korhoenders

Versterking van kleine geïsoleerde populaties door middel van translocatie zou als beheersmaatregel overwogen moeten worden totdat er weer voldoende verbindingsmogelijkheden zijn gerealiseerd voor natuurlijke dispersie (Höglund *et al.*, 2003, Warren & Bains, 2004). Het is echter maar de vraag of het West-Europese korhoen zal weten te overleven en of dit dus wel een realistisch toekomstperspectief is (Storch, 2000). De genetische diversiteit kan worden vergroot door andere dieren aan de populatie toe te voegen. Daarvoor zijn een aantal scenario's denkbaar. Zo kan worden gekozen voor korhoenders uit wilde populaties of voor relatief eenvoudig verkrijgbare gefokte korhoenders. Volgens de richtlijnen voor herintroducties van de IUCN (1996) dienen uit te zetten dieren bij voorkeur genetisch van dezelfde ondersoort of ras te zijn, uit het wild afkomstig te zijn en vergelijkbare ecologische kenmerken te vertonen (uiterlijk, fysiologie, gedrag, etc). Indien toch voor dieren uit gevangenschap wordt gekozen, dienen die dieren zo natuurlijk mogelijk gehouden te worden.

Er lijken genetisch geen grote verschillen tussen *T.t.britannicus* en West-Europese populaties van de *T.t.tetrix*. Desondanks zijn er aanzienlijke verschillen in uiterlijk en gedrag binnen West-Europese korhoenpopulaties (1.3). Bij de selectie van donorpopulaties is het van belang daar rekening mee te houden vanwege het risico op uitteelt en de kans om het unieke karakter van de Nederlandse populatie te verliezen. De dichtstbijzijnde populaties op de Lüneburger heide en de Hoge Venen zijn waarschijnlijk genetisch en ecologisch het meest vergelijkbaar met de Sallandse populatie en dus het meest geschikt als donorpopulatie. Deze populaties zijn ook kwetsbaar en conform de IUCN richtlijnen zou het niet verantwoord zijn daar dieren van te betrekken. Versterking met korhoenders vanuit vitale Europese populaties is niet wenselijk vanwege de verschillende leefomstandigheden, de verschillende morfologische kenmerken en het risico op uitteelt.

Voor rechtstreekse translocatie zijn er dus niet zoveel opties om op een verantwoorde manier de Nederlandse populatie te versterken, nog afgezien van de praktische problemen van de vangst en transport. Het verdient in deze aanbeveling om van meer korhoenders uit Groot-Brittannië de genetische variatie te onderzoeken.

Een optie, die in de praktijk nog niet nader is getest, is om eieren (en dus genen) van korhoenders uit te wisselen tussen bijvoorbeeld populaties van de Sallandse Heuvelrug, de Lüneburger heide en de Hoge Venen. Op deze manier groeien de kuikens toch op een natuurlijke wijze op en kan de overleving relatief gunstig zijn.

De in deze studie onderzochte gefokte korhoenders waren genetisch en mogelijk ook ecologisch aangepast aan overleving in gevangenschap. Tot op heden zijn alle herintroductieprojecten in Europa, waarbij duizenden gefokte korhoenders werden gebruikt, mislukt o.a. vanwege een lage overleving en voortplanting. Daarbij ging het om goed gedocumenteerde en onderzochte projecten (Van Vessem *et al.*, 1990, Van Boxstaele, 1990, Robertson & Dowell, 1990, Seiler *et al.*, 2000). Herintroductie en bijplaatsing met korhoenders uit de onderzochte fokgroepen lijkt dus geen realistische optie.

Geconcludeerd kan worden dat er op dit moment nog geen redenen zijn om korhoenders bij te plaatsen. Bovendien zouden daarbij de praktische methoden en diverse potentiële bronpopulaties voor veel problemen kunnen zorgen. De hoogste prioriteit bij het beheer heeft daarom de vergroting en verbetering van het bestaande leefgebied.

4.3 Genetische monitoring van korhoenders

Voorwaarde voor toepassing van genetische, non-invasieve monitoring is de aanwezigheid van voldoende genetische variatie in de populatie om individuen individueel te kunnen herkennen. Als vuistregel geldt dat voor individuele herkenning bij een steekproef van ca. 10 monsters voor 10 loci het gemiddeld aantal allelen per locus in de onderzoekspopulatie $\geq 3,0$ is, met een gemiddeld percentage heterozygositeit van $\geq 40\%$ (Jansman *et al.*, 2001).

Het aantal aanwezige allelen in de korhoenpopulatie op de Sallandse Heuvelrug was 4,6 en het gemiddelde percentage heterozygositeit 52% (tabel 5). Dit betekent dat individuele herkenning van korhoenders mogelijk moet zijn. Het aantal effectieve allelen is slechts 2,4. Dit zou tot gevolg kunnen hebben dat de populatie onderschat wordt omdat er meerdere individuen met een identiek genetisch paspoort aanwezig kunnen zijn. Aan de hand van de geanalyseerde monsters in deze studie kon nog niet worden nagegaan of dit aan de orde is. Mogelijk kan dit nog nader worden getoetst aan de hand van bijvoorbeeld de onderzochte eischalen uit de nesten bij de uitwerking van de ecologische gegevens (Niewold *et al.*, 2005 in voorbereiding).

Eischalen en ruiveren waren in deze studie in voldoende mate beschikbaar om een gedegen populatiestudie mogelijk te maken. Veel van de gevonden veren waren niet vers meer, wat DNA van inferieure kwaliteit kan opleveren. De ontwikkelingen op het gebied van DNA analyses zijn echter nog steeds in volle gang, waardoor de efficiëntie steeds beter zal worden.

Geconcludeerd kan worden dat genetische monitoring van de populatie in principe mogelijk lijkt, maar dat nog nader onderzoek op het voorkomen van dubbele identiteiten nodig is. Deze non-invasieve en nauwelijks versturende methode kan een aanvulling betekenen op de huidige monitoring, waarbij inzicht kan worden verkregen over het aantal aanwezige hennen, dispersie en verwantschappen. Dit wordt in het kader van monitoring en evaluatie van soortbeschermingsplannen ook aangeraden (Groot Bruinderink *et al.*, 2004).



Foto 3: Korben met op de achtergrond een korbaan. Regte Hei eind jaren '70. Foto Alterra.

Literatuur

Bellinger, M.R., J.A. Johnson, J. Toepfer & P. Dunn, 2003. Loss of Genetic Variation in Greater Prairie Chickens Following a Population Bottleneck in Wisconsin, U.S.A. *Conservation Biology* 17: 717-724.

Birdlife International, 2004. *Birds in Europe: population estimates, trends and conservation status*. Cambridge, UK, Birdlife Conservation Series No. 12.

Bijlsma, R., 1995. *Moleculaire genetische technieken en natuurbeheer*. De Levende Natuur 96 (2).

Booy, G., 1988. Het belang van genetische diversiteit voor de overleving van populaties, literatuurstudie: 1-101. Rapport Centrum voor Plantenveredelings- en Reproductieonderzoek. CPRO-DLO, Wageningen.

Bouzat, J.L., H.A. Lewin & K.N. Paige, 1998. The Ghost of Genetic Diversity Past: Historical DNA analysis of the Greater Prairie Chicken. *The American Naturalist* 152: 1-6.

Caizergues, A. & L.N. Ellison, 2002. Natal dispersal and its consequences in Black Grouse *Tetrao tetrix*. *Ibis* 144: 478-487.

Caizergues, A., O. Rätti, P. Helle, L. Rotelli, L. Ellison & J.Y. Rasplus, 2003a. Population genetic structure of male black grouse (*Tetrao tetrix* L.) in fragmented vs. continuous landscapes. *Molecular ecology* 12: 2297-2305.

Cramp, S., & K.E.L. Simmons, 1982. *Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa*. Vol. 2: Hawks to bustards. Oxford University Press.

De Hoyo, J., A. Elliott & J. Sargatal (eds.), 1994: *Handbook of the Birds of the World*. Vol. 2. New World Vultures to Guinifowl. (Family Tetraonidae / Grouse). Lynx Edicions, Barcelona.

Frankham, R., J.D. Balou & D.A. Briscoe, 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press.

Fumihito A., T. Miyake, M. Takada, S. Ohno & N. Kondo, 1995. The genetic link between the Chinese bamboo partridge (*Bambusicola thoracica*) and the chicken and junglefowls of the genus *Gallus*. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 11053-11056.

Goudet, J., 1995. Fstat: a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity* 86: 485-486.

Groot Bruinderink, G.W.T.A., A.T. Kuiters, D.R. Lammertsma, H.A.H. Jansman, H.P. Koelewijn & E.A. van der Grift, 2004. Een Programma van Eisen voor Soortbeschermingsplannen. Voorstel om te komen tot meetbare criteria voor ex ante en ex post evaluatie van soortbeschermingsplannen. Alterra-rapport 1098, Wageningen.

Groot Bruinderink, G.W.T.A., G.J. Brandjes, R. van Eekelen, F.J.J. Niewold, P.G.A. ten Den & H.W. Waaardenburg, 2002. Faunabeheersplan Nationaal Park Sallandse Heuvelrug i.o.. Alterra-rapport 502, Wageningen.

Hall, T. A., 1999. BioEdit a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98 NT. Nucleic Acids Symposium Series 41: 95-98.

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

Hazebroek, E., 1986. Kweek van korhoenders te Leersum – verslag over 1983 en 1984. Rijksinstituut voor Natuurbeheer. 42p.

Heringa, R., 2001. The fate of the black grouse. Management experiences in restoration of heathland in Sallandse Heuvelrug. IUCN grouse specialist group newsletter Grouse news summer.

Hjort, L., 1970. Reproductive behaviour in tetraonidae with special reference to males. *Viltrevy* 7: 183-588.

Höglund, J., R.V. Alatalo, A. Lundberg, P.T. Rintamäki & J. Lindell, 1999. Microsatellite markers reveal the potential for kin selection on black grouse leks. *Proc. R. Lond. B* 266: 813-816.

Höglund, J., S.B. Pieltney, R.V. Alatalo, J. Lindell, A. Lundberg & P.T. Rintamäki, 2002. Inbreeding depression and male fitness in black grouse. *Proc. R. Lond. B* 269: 711-715.

Höglund, J., D. Baines, J.K. Larsson & G. Segelbacher, 2003. Population fragmentation and genetic variability in European Black Grouse – a progress report. *Sylvia* 39S: 17-23.

Holst-Jørgenson, B., 2000. The black grouse in Denmark 1978-2000. *Cahiers d'Éthologie* 20 (2-3-4): 505-508.

IUCN, 1996. IUCN/SSC Guidelines For Re-Introductions.
<http://www.iucn.org/themes/ssc/pubs/policy/reinte.htm>

Jansman, H.A.H., J. Bovenschen, M.C. Boerwinkel, M. Perez-Haro, F.J.J. Niewold & H.P. Koelewijn, 2004. Genetische diversiteit binnen de fokpopulatie van

Korhoenders op Nationaal Park De Hoge Veluwe in relatie tot referentiepopulaties. Alterra-onderzoeksrapport korhoen 2004-1, Wageningen.

Jansman, H.A.H., P.R.F. Chanin & J.F. Dallas, 2001. Monitoring otter populations by DNA typing of spraints. IUCN Otter Specialist Group Bulletin 18 (1).

Keller L.K. & D.M. Waller, 2002. Inbreeding effects in wild populations. TREE 17: 230-241.

Kumar, S., K. Tamura, *et al.*, 1993. MEGA Molecular Evolutionary Genetics Analysis v 1.0. The Pennsylvania State University, University Park, P.A..

Larsson, J.K., Y.H. Sun, G. Segelbacher & J. Höglund, 2003. Microsatellite variation in a Chinese grouse *Bonasa sewerzowi* population: signs of genetic impoverishment? Wildlife Biology 9: 261-266.

Lumeij, J.T. & Y.R. Hoogeveen (red.), 1990. De toekomst van de wilde hoenderachtigen in Nederland. Organisatie Commissie Nederlandse Wilde Hoenders, Amersfoort.

Loneux, M., 2000. Modélisation de l'influence du climat sur les fluctuations de population de Tétrás lyre *Tetrao tetrix* en Europe. Cahiers d'Éthologie, 20 (2-3-4): 191-216.

Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij, 1991. Soortbeschermingsplan Korhoen. Directie Natuur-, Milieu- en Faunabeheer, Den Haag.

Nappée, C., 1982. Capercaillie and black grouse breeding in the Parc National des Cévennes and first release results. In: Lovel, T.W.I. (ed.). Proceedings of the 2nd international grouse symposium. Bonyrigg, Edinburgh. 218-228.

Niewold, F.J.J. & H. Nijland, 1979. Zur Situation des Birkwildes in den Niederlanden. Z. Jagdwiss 25: 207-211.

Niewold, F.J.J. & H. Nijland, 1987. Die Chancen des westeuropäischen Moor- und Heidebirkhuhns. Z. Jagdwiss 33: 227-241.

Niewold, F.J.J., 1987. De korhoenders van onze heideterreinen: verleden, heden en toekomst. RIN-rapport 87/3. Rijksinstituut voor Natuurbeheer.

Niewold, F.J.J., 1995. Kalkgebrek bij vogels van heiden en hoogvenen. IBN-notitie april 1995. DLO-Instituut voor Bos- en Natuuronderzoek, Wageningen. 23p.

Niewold, F.J.J., 2002. Het Korhoen *Tetrao tetrix*. In: SOVON Vogelonderzoek Nederland, Atlas van de Nederlandse Broedvogels 1998-2000. Nederlandse Fauna 5. Nationaal Natuurhistorisch Museum Naturalis, KNNV Uitgeverij & European Invertebrate Survey- Nederland, Leiden. 174-175.

- Niewold, F.J.J., P.G. Ten Den, H.A.H. Jansman, 2003. Het korhoen in de knel. Monitoring van de populatie op de Sallandse Heuvelrug in 2003. Wageningen, Alterra-tussenrapport korhoen.
- Peakall, R. & P.E. Smouse, 2001. GenAIEx V5: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Australian National University, Canberra, Australia. Source: internet (<http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAIEx/>) accessed 23 June 2003.
- Piertney, S.B. & J. Höglund, 2001. Polymorphic microsatellite DNA makers in black grouse (*Tetrao tetrix*). *Molecular Ecology Notes* 1: 303-304.
- Pritchard, J.K., M. Stephens & P. Donnelly, 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959. Source: internet (<http://www.stats.ox.ac.uk/~pritch/home.html>) accessed 23 June 2003.
- Raymond, M. & Rousset, F., 1995 GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity* 86:248-249
- Robertson, P.A. & S.D. Dowell, 1990. The effects of hand-rearing on wild gamebird populations. In: Lumeij, J.T. & Y.R. Hoogeveen (red.) 1990
- Saitou, N. & M. Nei, 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 345-355.
- Scherzinger, W., 1980. Chancen der Zucht und Auswilderung von Birkhühnern. Baden Württemberg. Beih. Veröff. Naturschutz Landschaftspflege 16 : 179-189.
- Schreiber, A., T. Weitzel & E. Strauß, 1998. Allozyme variability in Black Grouse (*Tetrao tetrix*), a tetraonid with lek behaviour. *J. Ornithol.* 139: 55-66.
- Segelbacher G., R.Paxton, G.Steinbruck, P.Trontelj & I. Storch, 2000. Characterization of microsatellites in capercaillie *Tetrao urogallus* (Aves). *Molecular Ecology* 9: 1934-1935.
- Segelbacher, G. & I. Storch, 2004. Testing existing markers for studying genetic variability in Caucasian black grouse (*Tetrao mlokosiewicsi*) – a pilot study. IUCN grouse specialist group newsletter, grouse news Issue 28.
- Segelbacher, G., J. Höglund & I. Storch, 2003. From connectivity to isolation: genetic consequences of population fragmentation in capercaillie across Europe. *Molecular Ecology* 12: 1773-1780.
- Seiler, C., P. Angelstam & H.H. Bergmann, 2000. Conservation releases of captive-reared grouse in Europe, What do we know and what do we need? *Cahiers d'Éthologie* 20 (2-3-4): 235-252.

- Stegemann, B., 1932. Die geographischen Formen des Birkhuhns (*Lyrurus tetrix* L.). *Journal für Ornithologie* 80: 342-354.
- Storch, I., 2000. An overview to population status and conservation of black grouse worldwide. *Cahiers d'Éthologie* 20 (2-3-4): 153-164.
- Ten Den, P, & F.J.J. Niewold, 2000. The black grouse in the Netherlands: monitoring the last (?) surviving population. *Cahiers d'Éthologie* 20 (2-3-4): 299-310.
- Van Apeldoorn, R.C., 2002. The root vole (*Microtus oeconomus arenicola*) in the Netherlands: threatened and (un)adapted? *Lutra* 45: 155-166.
- Van Boxstaele, R., 1990. Problemen bij herpopulatie door uitzetten van in gevangenschap gefokte hoenderachtigen. In: Lumeij, J.T. & Y.R. Hoogeveen (red.) 1990.
- Van de Zande, L., R.C. van Apeldoorn, A.F. Blijdenstein, D. de Jonge, W. van Velden & R. Bijlsma, 2000. Microsatellite analysis of population structure and genetic differentiation within and between populations of the root vole, *Microtus oeconomus* in The Netherlands. *Molecular ecology* 9: 1651-1656.
- Van der Lans, H., J. Tockens & C. van der Ziel, 2001. Evaluatie Soortbeschermingsplan Korhoen. *Ecoplan rapport 159*, Rhee.
- Van der Ziel, C.E. & H.E. van der Lans, 2004. Plan van Aanpak herintroductie Korhoenders Nationaal Park de Hoge Veluwe. Uitzetplan en methodiek. Concept. *Ecoplan rapport 213*.
- Van Turnout, C., 2003. De situatie omtrent het Korhoen in Nederland en omliggende landen. SOVON-notitie in opdracht van Das en Boom.
- Van Vessem, J., P. De Becker & H. Pootemans, 1990. Reintroduction experiment of black grouse at het Kalmhoudt heath, Flanders (Belgium). In: Lumeij, J.T. & Y.R. Hoogeveen (red.)
- Warren, P. & D. Baines, 2004. Black Grouse in northern England: stemming the decline. *British Birds*, april 2004. 183-189.
- Westemeier, R.L., J.B. Brawn, S.A. Simpson, T.L. Esker, R.W. Jansen, J.W. Walk, E.L. Kershner, J.L. Bouzat & K.N. Paige, 1998. Tracking the Long-Term Decline and Recovery of an Isolated Population. *Science* 282: 1695-1698.

Bijlage 1 Inteelt en fitnessconsequenties bij het Groot prairiehoen en Noordse woelmuis

In de Verenigde Staten is een afgenomen fitness, gemeten als aantal eieren per worp en uitkomstsucces, bij een hoenderachtige vastgesteld. Het betreft hier het Groot prairiehoen (Greater prairie chicken, *Tympanuchus cupido*), vroeger een zeer algemene hoender op de prairies van het middenwesten van Noord-Amerika. In de afgelopen eeuw is deze soort hard achteruitgegaan als gevolg van habitat vernietiging en fragmentatie. De ondersoort in het oosten van het verspreidingsgebied, ook wel bekend als heath hen *T.c.cupido* is in 1931 uitgestorven. Een andere ondersoort, de Attwater's prairie chicken *T.c.attwateri*, die alleen nog in Texas voorkomt, staat op het punt van uitsterven. In de staat Illinois is het groot prairiehoen *Tympanuchus cupido pinnatus* van 25.000 vogels in 1933 afgenomen tot 2000 vogels in 1962 en uiteindelijk tot zo'n 46 vogels in 1994 (Westemeier *et al.* 1998). Deze 46 vogels waren verdeeld in twee subpopulaties welke 640 km verwijderd waren van de dichtstbijzijnde vitale populaties. Broedsucces, gemeten als percentage bevruchte eieren en percentage uitgekomen eieren lag boven de 90% tot aan de jaren '80. Daarna daalde het broedsucces tot 70% en in 43% van de nesten werden vier of meer niet uitgekomen eieren vastgesteld. In grote vitale populaties in andere staten werd toen geen afgenomen broedsucces vastgesteld, terwijl wel in Illinois het laagste percentage heterozygositeit werd aangetroffen (Bouzat *et al.* 1998, tabel 11). In 1992 werd een translocatieproject opgestart waarbij in vijf jaar 271 prairiehoenders vanuit Minnesota, Kansas en Nebraska werden uitgezet. Binnen enkele jaren werden significant verbeterde broedsuccessen gemeten. Andere factoren als bijvoorbeeld klimaat (hoeveelheid neerslag in de kuikenperiode) werden geanalyseerd maar als niet van invloed zijnde beschouwd. Volgens Westemeier *et al.* (1998) heeft de verandering in fitness alles te maken met de genetische variatie van de populatie. Zij beëindigen hun artikel met de opmerking dat periodieke translocatie vanuit vitale populaties naar kleine geïsoleerde populaties noodzakelijk is voor de langdurige overleving van de soort totdat significant meer habitat beschikbaar komt. Overigens werden in de staat Wisconsin wel vergelijkbare waarden voor afgenomen genetische variatie vastgesteld, maar er werd geen bewijs voor een afgenomen broedsucces gevonden (Bellinger *et al.* 2003).

Bij inteelt experimenten aan de Universiteit van Groningen met een andere rode lijst soort in Nederland, de Noordse woelmuis *Microtus oeconomus*, zijn ook fitness afnames vastgesteld (Van de Zande *et al.* 2000, Van Apeldoorn 2003). Bij dit experiment werden 80 muizen verdeeld over 2 groepen: een inteelt groep (broer-zus paringen) en een uitteelt groep (random paring tussen niet-verwanten). Na vijf generaties werden grote verschillen aangetroffen tussen de inteelt en uitteelt groep. Voor de ingeteelde groep was het percentage succesvolle paringen afgenomen, de worpgrootheid verminderd, de overleving van de jongen afgenomen en ook de groei (gemeten als lichaamsgewicht) was afgenomen. Na afloop van het inteeltexperiment werden de dieren in grote rennen uitgezet en hun overleving gevolgd. De ingeteelde Noordse woelmuizen vertoonden een significant lagere overleving dan hun uitgeteelde

soortgenoten. Uit dit experiment komt duidelijk naar voren dat inteelt een lagere fitness tot gevolg kan hebben. Dit proces is waarschijnlijk geleidelijk en kan dan ook moeilijk waarneembaar zijn zonder goede controle groep.

Bijlage 2 Foto overzicht

De foto's zijn gemaakt door Hugh Jansman, tenzij anders vermeld.



Foto 4: Monsternamen van gebalgde korboenders in Naturalis, Leiden.



Foto 5: Verwerking van eieren (A) en veren (C) van korboenders op de Sallandse Heuvelrug op het extractie laboratorium (B) te Alterra.

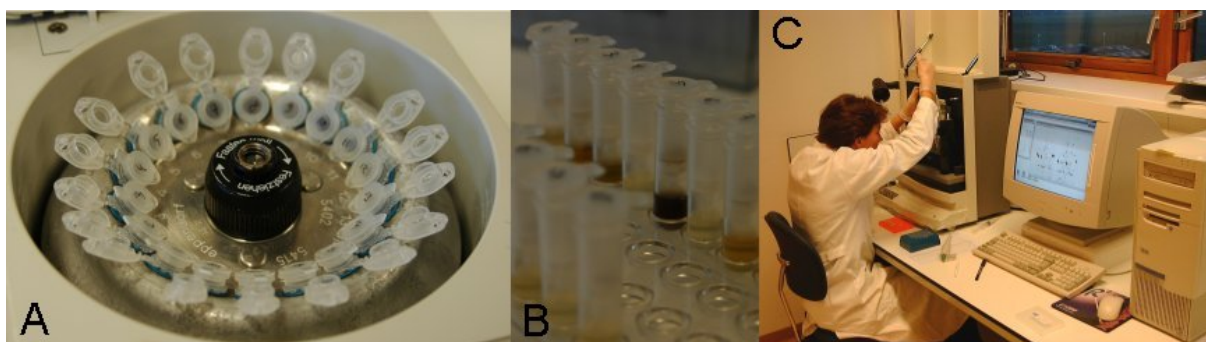


Foto 6: Zuivering en analyse van DNA monsters op het genetica laboratorium, Alterra. A: monsters worden over een filter gecentrifugeerd om het DNA te zuiveren. B: buisjes met DNA monsters na de eerste zuiveringscentrifugatie. C: DNA monsters worden op een gel geladen. Deze gel heeft een fijne korrelstructuur waardoor DNA op lengte wordt gescheiden. De DNA monsters zijn gelabeld zodat de infrarood detector ze kan herkennen. Het resultaat wordt op de monitor weergegeven (zie ook foto 2).



Foto 7: Uiterlijke verschillen tussen korhoenders van Zweedse herkomst (A&B) en Nederland (C). A&B: bennen in het RIN fokprogramma (Foto's Ed Hazebroek). C: hen op de Regte bei, eind jaren '70 (foto Alterra). D: verschil in de witte vleugelrandbandering tussen een korben van het fokprogramma van de Hoge Veluwe (boven) en een hen van de Sallandse Heuvelrug (onder). E: verschil in eikleur tussen eieren in fokprogramma's (bovenste drie eieren) en eieren van de Sallandse Heuvelrug (onderste twee eieren).



Foto 8: Baltende korhanen op de Haarlerberg, mei 1986. foto's Alterra.