

De genetische diversiteit van Adders in het Meinweggebied

Pedro Janssen, Pavanestraat 15, 5802 LJ Venray, e-mail: pedro@plex.nl

Het Meinweggebied is een grensoverschrijdend natuurgebied gelegen in het midden van Limburg ten oosten van Roermond. Sinds het begin van de dertiger jaren van de vorige eeuw is de Adder (*Vipera berus*) volgens de literatuur bekend uit dit gebied (KNORR, 1970). Het Meinweggebied werd enkele decennia later gezien als één van de belangrijkste leefgebieden voor de soort in Nederland. Ongeveer tien jaar geleden werd echter een sterke achteruitgang geconstateerd in het aantal waargenomen Adders. Deze achteruitgang werd voornamelijk geweten aan het veranderde milieu, het uitgevoerde beheer en de recreatiedruk (LENDERS *et al.*, 2002). Opvallend was dat andere Adderpopulaties in Nederland die te maken hadden met vergelijkbare factoren geen sterke achteruitgang vertoonden. In Zweden (MADSEN *et al.*, 1996; 1999) is door onderzoek aangetoond dat inteelt een grote bedreiging kan vormen voor geïsoleerde adderpopulaties. Om inteelt als een mogelijke oorzaak van de achteruitgang uit te kunnen sluiten, werd naast bestaande vergelijkende populatieonderzoeken, ook een vergelijkend genetisch onderzoek verricht tussen de Adderpopulatie van het Meinweggebied en een aantal andere populaties in Nederland en België.

BESCHERMINGSPLAN

In 2002 verscheen het Beschermingsplan Adder Limburg (LENDERS *et al.*, 2002). In dit plan werd de problematiek geïnventariseerd van de achteruitgang van de Adder en werden maatregelen geformuleerd die nodig waren om de soort duurzaam voor Limburg te behouden. Uit dit plan kwam naar voren dat voor de jaren zeventig nog sprake was van één grote metapopulatie

van Adders. Een metapopulatie bestaat uit een groep van gescheiden populaties, welke min of meer in contact staan met elkaar. Tegenwoordig zijn de adderpopulaties in het Meinweggebied echter zeer versnipperd en verdeeld in verschillende deelpopulaties. Omdat een aantal deelpopulaties zeer klein en volledig geïsoleerd is, bestaat de mogelijkheid van inteelt. Inteelt kan optreden wanneer populaties uit zo weinig individuen bestaan dat paringen niet meer willekeurig, maar juist vaker tussen nauw verwante exemplaren optreden, en er toevallig verlies van genetische informatie plaatsvindt. Het gevolg is altijd een afname van genetische diversiteit en toename van homozygotie (meer gelijke erfelijkheidsfactoren bezittend). Populaties zijn hierdoor vatbaarder voor ziektes en kunnen zich minder goed aanpassen aan veranderingen in de omgeving (FRANKHAM *et al.*, 2004). De kans op uitsterven neemt daardoor toe. Populaties met veel inteelt kunnen het echter ook prima doen, en soms lang standhouden.

Als actiepunt in het beschermingsplan is dan ook opgenomen om onderzoek te doen naar de genetische diversiteit van de deelpopulaties op de Meinweg. Martijn Dorenbosch en de auteur hebben hiervoor een projectvoorstel opgesteld met als vraagstelling: "Is er sprake van genetisch verarmde deelpopulaties Adders in het Meinweggebied ten opzichte van elkaar en ten opzichte van andere Nederlandse adderpopulaties". Dit voorstel werd aan de Provincie Limburg aangeboden en deze stelde voor het onderzoek subsidiegelden ter beschikking.



FIGUUR 1

Onderzoeklocaties van de populaties van de Adder (*Vipera berus*).

TABEL 1

Overzicht van populaties, populatiegrootte, mate van isolatie en versnippering van in dit onderzoek betrokken populaties van de Adder (*Vipera berus*) (bron: Werkgroep Adderonderzoek Nederland).
Noten: 1: dichtstbijzijnde grotere populatie op meer dan 25 kilometer verwijderd; 2: dichtstbijzijnde grotere populatie enkele kilometers verwijderd. Populaties zijn gescheiden door dorpen, wegen en landbouwgronden.

Gebied/Populatie	Provincie (land)	Overzicht
Meinweggebied (totaal)	Limburg	Groot, totaal geïsoleerd ¹ gelegen, deels versnipperd
Boschbeekdal	Limburg	Groot, in verbinding staand
Paardegat	Limburg	Zeer klein, geïsoleerd
Rolvennen	Limburg	Middelgroot, geïsoleerd
Roode Beek	Limburg	Klein, geïsoleerd
Slenk	Limburg	Groot, in verbinding staand
Dorset	Zuidkust Groot-Brittannië	Groot, in verbinding staand, metapopulatie
Gasterse Duinen	Drenthe	Klein, geïsoleerd ² gelegen, niet versnipperd
Groot Schietveld	Antwerpen, België	Groot, totaal geïsoleerd ¹ gelegen, metapopulatie
Haaksbergerveen	Overijssel	Groot, geïsoleerd ² gelegen, metapopulatie
Hijkerveld	Drenthe	Groot, geïsoleerd ² gelegen, metapopulatie
Kootwijkse Veld	Gelderland	Middelgroot, in verbinding staand, metapopulatie
Nijensleekerveld	Drenthe	Klein, geïsoleerd ² gelegen, versnipperd

DNA-ANALYSE

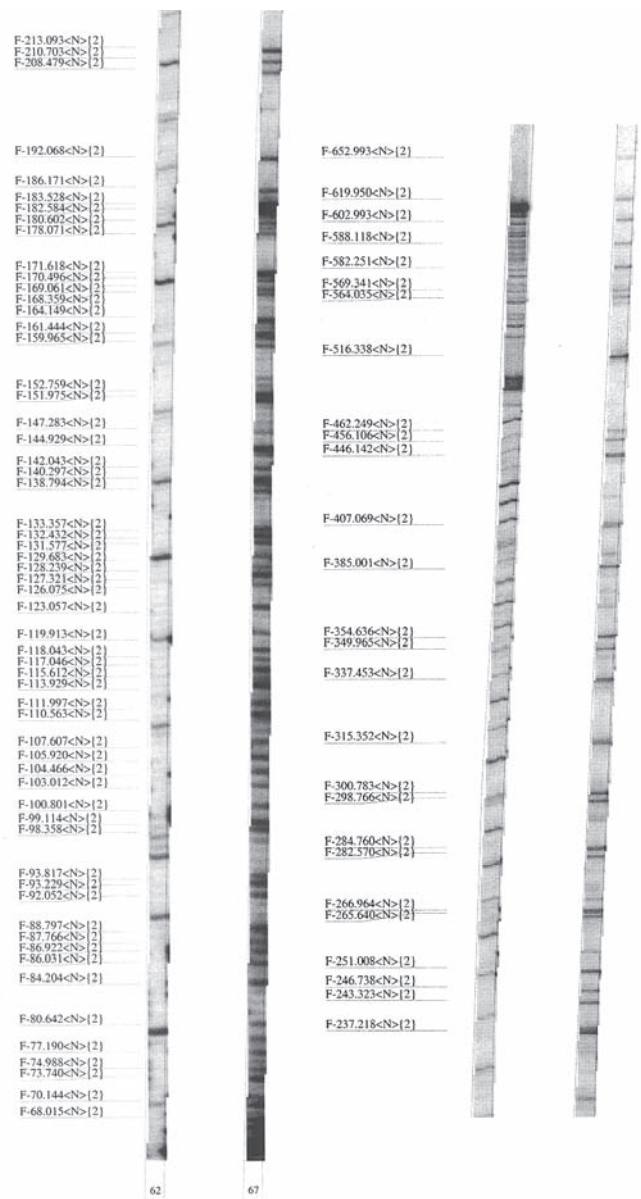
Vorbereiding

Er is gekozen om de DNA-analyse te laten uitvoeren bij het bedrijf Keygene N.V. volgens de AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) methode. Daarbij wordt gebruik gemaakt van zogenaamde dominante markers. Deze methode is relatief goedkoop en zeer nauwkeurig, maar helaas niet ideaal om volledig inzicht te krijgen in inteelt van (sub)populaties. Ze geeft echter wel voldoende informatie om te bepalen of de genetische variatie van Adders uit het Meinweggebied kleiner is dan die van andere Nederlandse adderpopulaties.

Voor het verkrijgen van de nodige onthefingen, onder andere voor het vangen van Adders voor bloedafname en het verkrijgen van een positief advies van de dierexperimentencommissie, was het belangrijk om het onderzoek uit te voeren in samenwerking met een universiteit. Daarom werd het onderzoek ook namens de Werkgroep Adderonderzoek Nederland (WAN) verricht in samenwerking met Reptielen Amfibieën Vissen Onderzoek Nederland (RAVON) en de afdeling Dierecologie van de Radboud Universiteit Nijmegen. Het eerste jaar (2003) zou als pilotstudy gelden, waarbij in het opvolgende jaar een eventueel vervolg kon worden uitgevoerd.

Monstername

In het projectplan werden de gebieden waar de Adders gevangen zouden worden nauwkeurig omschreven. Deze gebieden [figuur 1] werden geselecteerd op grootte en geïsoleerdheid van de aanwezige Adderpopulatie. Door onvoldoende vangsten in de diverse populaties in het eerste jaar van het onderzoek, moest hier echter van worden afgeweken. Vooral in de kleine geïsoleerde subpopulaties van het Meinweggebied werden in het voorjaar onvoldoende vangsten gedaan. Het streefaantal (per subpopulatie) was zes individuen, het minimum vier. In deze subpopulaties bleek het aantal Adders echter al zo drastisch te zijn gedaald, dat met moeite enkele Adders gevangen konden worden. Ook de extreme warme zomer van 2003 was hier debet aan. Daarom werden ook Adders uit enkele andere gebieden toegevoegd [tabel 1]. Uiteindelijk werden in het eerste jaar (2003) 50 bloedmonsters afgenomen. Deze monsters werden genomen uit de staartader van



FIGUUR 2

Zichtbaar bandenpatroon van DNA-vingerafdrukken (copyright: Keygene N.V., Wageningen) van de diverse populaties van de Adder (*Vipera berus*).

Gebied / Populatie	2003		2004	
	Aantal Adders	Fingerprint succes	Aantal Adders	Fingerprint succes
Meinweggebied	15	5	14	12
Boschbeekdal	(9)	(4)	(4)	(3)
Paardengat	(0)	(-)	(1)	(1)
Rolvennen	(1)	(0)	(5)	(4)
Roode Beek	(0)	(-)	(2)	(2)
Slenk	(5)	(1)	(2)	(2)
Dorset (Groot-Brittannië)	0	-	2	2
Gasterse Duinen	6	4	4	3
Groot Schietveld (België)	1	1	7	7
Haaksbergerveen	5	0	9	8
Hijkerveld	12	7	7	6
Kootwijkse Veld	5	0	6	5
Nijensleekerveld	6	2	4	3
Totaal	50¹	19	53²	46

TABEL 2

*Overzicht DNA-analyse**2003/2004 van de onder-**zochte Adder (Vipera berus)**populaties (bron: Werkgroep**Adderonderzoek Nederland).**Noten: 1: 24 goede DNA isolaties;**2: 48 goede DNA isolaties.***Conclusie**

Uit deze analyse is de conclusie getrokken dat de onderzochte populaties van Adders verdeeld kunnen worden in twee hoofdgroepen, namelijk: de dieren uit het Meinweggebied enerzijds en alle andere dieren

de Adders (JÖGER & LENK, 1997). Eén spetter bloed (50 µl) was al meer dan voldoende voor het onderzoek. In het tweede jaar (2004) werden 53 bloedmonsters afgenomen.

Dna-analyse

In het eerste jaar werd maar van 24 bloedmonsters het DNA goed geïsoleerd als gevolg van problemen als vervuiling of degeneratie van DNA. Vanwege dit geringe aantal, werd besloten om enkele minder goed geïsoleerde DNA-monsters te gebruiken, wat uiteindelijk resulteerde in 19 monsters met een voldoende goede kwaliteit DNA-vingerafdruk [tabel 2; figuur 2]. De dataset leverde uiteindelijk een totaal van 72 markers op [zie kader].

Het tweede jaar gaf de isolatie van het DNA minder problemen. Hier leverden 53 monsters in totaal 46 maal een DNA-vingerafdruk van goede kwaliteit op [tabel 2], met als resultaat een dataset van 93 markers. Door samenvoeging van de beide datasets ontstond een nieuwe dataset van 65 individuen en 122 markers.

Met behulp van deze markers konden de genetische verschillen worden bepaald. Hiermee zijn de monsters op basis van hun genetische similariteit (mate van gelijkheid van genen) geordend. Dit kan zichtbaar worden gemaakt in dendrogrammen [figuur 3].

Markers

Genetische markers zijn stukjes DNA die in lengte en samenstelling variëren en waarvan de overerving te volgen is. Iedere marker heeft een unieke positie binnen het genoom (totale aantal genen van chromosomen van een individu) [figuur 2].

Als zo'n stukje DNA bij verschillende individuen dezelfde lengte en samenstelling heeft, dan is met grote zekerheid te zeggen dat deze genetisch iets gemeenschappelijk hebben. Hoe groter de veranderingen (door mutaties) in lengte dan wel samenstelling, hoe minder verwantschap de onderzochte populaties op grond van deze marker vertonen. Markers zijn daarom zeer geschikt om genen te lokaliseren en de genetische verschillen tussen individuen in kaart te brengen.

anderzijds. Deze indeling is gebaseerd op de verwantschap tussen populaties.

ANALYSE VAN RUWE DATA

Met de conclusie over de twee hoofdgroepen Adders was de vraagstelling van het projectvoorstel nog niet beantwoord, namelijk of sprake is van genetisch verarmde deelpopulaties Adders in het Meinweggebied ten opzichte van elkaar en ten opzichte van andere Nederlandse Adderpopulaties. Daarvoor moesten de ruwe data op een andere manier geanalyseerd worden.

Aan de Leerstoelgroep Fokkerij en Genetica van de Wageningen Universiteit was Jisca Huisman bereid om de ruwe data in het kader van haar afstudeeropdracht te analyseren. Zij heeft totaal tien maanden aan dit onderzoek gewerkt (HUISMAN, 2006). De ruwe data zijn weergegeven in een tabel waarin de adderindividuen zijn uitgezet tegen de markers. Het is grofweg een tabel met nullen, enen en tweeën. Deze staan voor marker afwezig (=0), aanwezig (=1) of onbekend/niet duidelijk (=2). De aanwezige markers geven in combinatie met elkaar een uniek patroon voor ieder individu. Des te meer markers bij individuen overeenkomen, des te meer zijn de individuen verwant. Voor het onderzoek van HUISMAN (2006) zijn 71 markers gebruikt.

RESULTATEN RUWE DATA

De eindresultaten uit het onderzoek van HUISMAN (2006) hebben betrekking op:

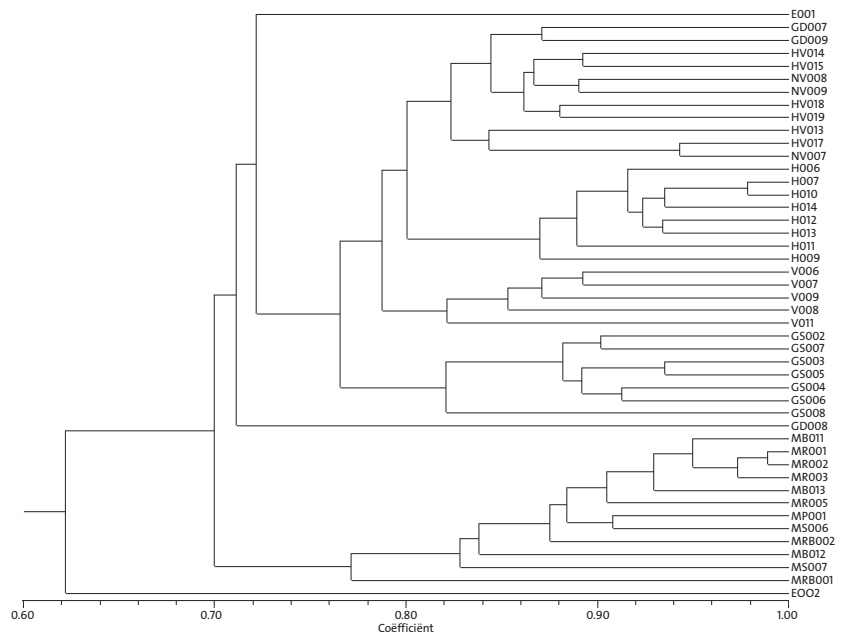
- 1 verwantschap tussen populaties;
- 2 verwantschap binnen populaties;
- 3 inteelt;
- 4 verlies aan genetische diversiteit.

Verwantschap tussen populaties

De resultaten uit eerder onderzoek gaven al aan dat er twee hoofdgroepen waren, de Adders uit het Meinweggebied [figuur 4] en de Adders uit de andere populaties. Het onderzoek van HUISMAN (2006) bevestigde deze stelling.

FIGUUR 3

Dendrogram van de onderzochte populaties van de Adder (*Vipera berus*) (copyright: Keygene N.V., Wageningen). Dendrogrammen zijn diagrammen die boomstructuren laten zien. Hierin wordt aangegeven hoe individuen (in dit geval via hun in dit onderzochte genetisch materiaal) zich clusteren. In dit diagram is goed te zien hoe de Adders van het Meinweggebied (M) zich onderin afscheiden in een hoofdtek van het diagram. De Adders uit de andere gebieden scheiden zich later pas af in subtakken.



Verwantschap binnen populaties

De verwantschap binnen de subpopulaties van het Meinweggebied is gemiddeld ten opzichte van de waarden van de andere populaties. De populaties van de Drentse natuurgebieden het Hijkerfeld, Nijensleekerveld en de Gasterse Duinen scoren laag en hebben dus een hoge genetische diversiteit. Matig hoog is de score voor de populaties van het Kootwijkse Veld (Gelderland) en het Groot Schietveld (provincie Antwerpen). De hoogste mate van overeenstemming van markerpatronen (= laagste diversiteit) vertonen Adders in het Haaksbergerveen (Twente) [tabel 3].

Inteelt

De mate van inteelt werd geschat, omdat bij dominante markers niet direct het verschil te zien is tussen het verwachte en werkelijke aantal heterozygoten. Bij inteelt zal het aantal homozygote Adders toenemen en het aantal heterozygote Adders afnemen. Eenvoudig gezegd is inteelt de kans dat twee individuen door afstamming hetzelfde allel hebben, en op dat punt dus genetisch zeer vergelijkbaar zijn. Een probleem daarbij is dat allelen ook door toeval hetzelfde kunnen zijn. Bij het berekenen van de genetische diversiteit moet hier rekening mee worden gehouden. Op basis van markers is niet te bepalen of genen wel of niet van de zelfde voorouder afkomstig zijn. Daarom zijn er door diverse onderzoekers schatters ontwikkeld, die ieder een andere methode gebruiken om de kans op toeval van de zelfde genen te schatten. Voor de Adders uit het Meinweggebied was de geschatte mate van inteelt het laagste; de Adders van het Haaksbergerveen [figuur 5] en het Groot Schietveld [tabel 3] vertoonden de hoogste mate van inteelt.

FIGUUR 4

Mannelijke Adder (*Vipera berus*) uit het Meinweggebied (foto: Pedro Janssen).



Verlies aan genetische diversiteit

Voor het verlies aan genetische diversiteit werd het aantal markers bepaald, waarvoor alle dieren in de populatie een zelfde score hebben. De Adders uit het Hijkerfeld hadden het minste verlies aan genetische diversiteit. Het hoogste verlies was er voor het Haaksbergerveen en het Nijensleekerveld.

DISCUSSIE EN CONCLUSIE

Genetische diversiteit

Concluderend kan worden gesteld dat gemiddeld genomen geen sprake is van een genetisch verarmde populatie van Adders in het gehele Meinweggebied ten opzichte van andere Nederlandse adderpopulaties. Helaas kon onvoldoende inzicht worden verkregen in de afname van de genetische diversiteit van de kleine geïsoleerde subpopulaties van het Meinweggebied, omdat te weinig Ad-

Populatie	Verwantschap binnen populatie	Geschatte inteelt
Meinweggebied	3,5	-0,947
Gasterse Duinen	2,25	-0,133
Groot Schietveld	4,75	0,467
Haaksbergerveen	6,75	0,526
Hijkerveld	3	0,211
Kootwijkse Veld	5,25	-0,159
Nijensleekerveld	2,5	0,192

ders in deze subpopulaties onderzocht konden worden. Op zich is dit natuurlijk al een minder goed teken. Vergeleken met onderzoek in de jaren tachtig en negentig van de vorige eeuw, werden in dit onderzoek vooral in het voorjaar in deze subpopulaties minder Adders aangetroffen. Er kan dus worden aangenomen dat de aantallen Adders in deze subpopulaties zijn afgenomen.

Uit de weinige data van de kleine subpopulaties is wel iets te zeggen aan de hand van de markers. Het aantal markers waarvoor geen variatie is, is voor iedere aparte subpopulatie hoger, dan voor het Meinweggebied als geheel. De genetische variatie wordt daarom binnen de eigen subpopulatie steeds kleiner en daar gaan de Adders, genetisch gezien steeds meer op elkaar lijken. Omdat in iedere subpopulatie per toeval andere allelen verloren gaan, is de gemiddelde genetische variatie in het Meinweggebied hoger. Dit gegeven moet altijd in het achterhoofd gehouden worden als de gemiddelde diversiteit van het gehele Meinweggebied met andere populaties vergeleken wordt.

Wordt naar de afzonderlijke subpopulaties van het Meinweggebied gekeken, dan is aan de hand van de markers duidelijk vast te stellen dat de genetische diversiteit in de Slenk hoger is dan in het Boschbeekdal en dat deze op zijn beurt weer hoger is dan in de Rolvennen. Op zich is dit een logische conclusie als gekeken wordt naar de ligging en grootte van de gebieden. Hoe groter en minder geïsoleerd een leefgebied is, hoe minder de afname van genetische variatie.

Verwantschap tussen populaties

Uit de resultaten van dit onderzoek blijkt dat de Adders uit het Meinweggebied tot een totaal andere groep behoren als de andere onderzochte adderpopulaties (zie ook KEYGENE, 2006). Het lijkt

TABEL 3

Verwantschap binnen de populaties en geschatte inteelt van de onderzochte populaties van de Adder (Vipera berus) (HUISMAN, 2006). De verwantschap binnen een populatie is bepaald aan de hand van de gemiddelden van alle schatters (lage waarde is de grootste diversiteit). De inteelt-factor (negatieve waarde: weinig inteelt; positieve waarde: veel inteelt) werd bepaald (geschat) door berekening van het aantal allelen dat gelijk was.

erop dat deze adderpopulatie genetisch totaal is afgesneden van de 'omringende' adderpopulaties. Een mogelijke oorzaak daarvoor zou allopatrie, oftewel de aanwezigheid van twee populaties of soorten in twee geografisch gescheiden gebieden (FRANKHAM *et al.*, 2002) kunnen zijn. De populatie werd tijdens de (her)vestiging, na laatste ijstijd, in het westen en oosten begrensd door de Maas en de Nederrijn en in het noorden door zijarmen van deze twee rivieren. Dit zou in het verleden een barrière gevormd kunnen hebben voor de dispersie van de soort. Hierbij moeten echter wel vraagtekens worden geplaatst, omdat het dan onduidelijk is hoe het kan dat de Adders uit het Groot Schietveld in het verleden geen barrièrewerken ondervonden door de aanwezigheid van een rivierdelta in ons land, gezien hun verwantschap met de andere populaties in Nederland. Waarschijnlijker is het dat de Adders uit het Meinweggebied afstammen van een andere wijkplaats (refugia) dan de andere onderzochte Adderpopulaties. Het is echter niet duidelijk waar deze ligt. Een andere oorzaak zou uitzetting in het verleden kunnen zijn vanuit een populatie uit het midden of zuiden van Europa (JANSSEN & BIJMA, 2006).

BROENS (2007) heeft mede op basis van het genetisch onderzoek, historisch onderzoek gedaan naar de mogelijke herkomst van de Adders in het Meinweggebied. In geschriften uit de jaren dertig wordt vermeld, dat het vermoeden bestaat dat Franciscanen de Adders geïntroduceerd hebben in het Meinweggebied, vanuit de streek Silezië in de toenmalige provincie Saksen in Duitsland. Waarop dit vermoeden is gebaseerd, is echter niet te achterhalen.

Afwijkende buikschubben

In de literatuur zijn door enkele onderzoekers relaties gelegd tussen enerzijds afwijkingen aan de buikschubben en genetische di-

versiteit, en anderzijds afwijkingen aan de buikschubben en verhoogde sterfte (MERILÄ *et al.*, 1992; SCHWANER, 1990). Vanaf 1990 zijn daarom in het populatieonderzoek in het Meinweggebied afwijkingen aan buikschubben van de individuele Adders genoteerd. Vaak zijn deze schubben maar een kwart of halve lengte van de eigenlijke buikschubben. Afwijkende buikschubben worden



FIGUUR 5

Mannelijke Adder (Vipera berus) uit het Haaksbergerveen (foto: Pedro Janssen).

TABEL 4

Overzicht van afwijkende buikschubben van adulte Adders (*Vipera berus*) (bron: Werkgroep Adderonderzoek Nederland).

Gebied	Meinweggebied	Haaksbergerveen	Groot Schietveld	Kootwijkse Veld
Aantal (n)	787	73	46	149
	Percentage (%)	Percentage (%)	Percentage (%)	Percentage (%)
Geen afwijkingen	31,5	45,2	62,6	73,9
Afwijkingen	68,5	54,8	37,4	26,1
	100	100	100	100
Percentage (%) van totaal adders				
Eén afwijking	33,4	30,1	20,3	4,3
Twee tot vier afwijkingen	32,3	23,3	13	10,9
Meer dan vier afwijkingen	2,8	1,4	4,1	10,9
	68,5	54,8	37,4	26,1
Percentage (%) van afwijkingen				
Eén afwijking	48,8	54,9	54,3	16,4
Twee tot vier afwijkingen	47,1	42,5	34,8	41,8
Meer dan vier afwijkingen	4,1	2,6	10,9	41,8
	100	100	100	100
Percentage (%) midbody van totaal adders	16,6	21,2	15	nb
Percentage (%) midbody van afwijkingen	24,4	36,8	40,2	nb
Hoogste aantal afwijkingen	12 x	5 x	16 x	8 x

in verband gebracht met afwijkingen van ribben en wervelkolom. Ook zouden extra ribben op de plaats van de afwijkende buikschubben aanwezig zijn. Deze misvormde ribben en wervels zouden zorgen voor een lagere mobiliteit en daardoor leiden tot een verhoogde sterfte, wat weer kan leiden tot meer inteelt en dus een verminderde genetische variatie. Als controle heeft de auteur van enkele adders met afwijkende buikschubben, röntgenfoto's laten maken. Op deze foto's konden echter geen afwijkingen aan ribben of wervelkolom vastgesteld worden. De theorie van afwijkingen aan botten die resulteren in afwijkende buikschubben kon dus niet bevestigd worden.

Bij de Werkgroep Adderonderzoek Nederland zijn van vier van de acht populaties Adders in dit onderzoeksgegevens bekend over afwijkende buikschubben [tabel 4]. Eerder bleek dat de subpopulaties van Adders binnen het Meinweggebied van deze vier onderzochte populaties de laagste verwantschap vertoonden. De Adders uit het Meinweggebied bezitten echter ook het hoogste aantal afwijkende buikschubben. Het Haaksbergerveen met de hoogste verwantschap binnen de populaties heeft de tweede hoogste score voor aantallen afwijkende buikschubben. De populatie Adders van het Kootwijkerveld heeft een redelijk hoge score voor de verwantschap binnen de populatie, maar heeft wel van de vier populaties de laagste score voor afwijkende buikschubben. De relatie tussen genetische diversiteit en afwijkende buikschubben schetst dus niet direct een eenduidig beeld en de verbanden van MERILÄ *et al.* (1992) en SCHWANER (1990) kunnen niet bevestigd worden.

Melanisme

Mutaties zoals melanisme (een zwarte kleurafwijking) komen voor in elke Adderpopulatie. Als gevolg van verminderde genetische variatie kan het aantal dieren dat een mutatie draagt

echter sterk toenemen (FRANKHAM *et al.*, 2004). Bij een toename van de inteeltfactor kunnen daarom meer melanistische Adders worden aangetroffen, omdat melanisme een recessieve vorm van een mutatie is (BITTNER & KING, 2003).

In de populatie van de Gasterse Duinen wordt een relatief hoog percentage (circa zes procent) zwarte Adders waargenomen (bron: Werkgroep Adderonderzoek Nederland) [figuur 6]. De populatie uit dit gebied had echter vreemd genoeg een hoge genetische diversiteit. Toch is hier een verklaring voor te geven. In het verleden zijn waarschijnlijk door evolutionaire aanpassingen aan het klimaat, enkele melanistische Adders geboren in deze populatie (mondelinge mededeling Piter Bijma). De Gasterse Duinen liggen boven de ondergrens van de klimaatgordel van het boreale gebied. Dit gebied wordt gekenmerkt door lagere temperaturen en een aangepaste flora en fauna (JANSSEN & VAN HOOFF, 2009.). Door genetische drift kunnen toevallige veranderingen in de allelenfrequentie in korte tijd leiden tot veel zwarte Adders in een populatie.



FIGUUR 6

Vrouwelijke Adder (*Vipera berus*) uit de Gasterse Duinen, vrijwel melanistisch (foto: Pedro Janssen).

Populatie	Aantal	Gemiddelde totale lengte (cm)	Geslacht	Gemiddelde totale lengte (cm)
Meinweggebied	1.200	56,1	Man	54,2
			Vrouw	59,1
Gasterse Duinen	142	50,8	Man	51,6
			Vrouw	49,1
Melanistisch	19	50,8	Man melanistisch	52,8
			Vrouw melanistisch	49,3
Groot Schietveld	139	48,2	Man	46,5
			Vrouw	50,2
Haaksbergerven	60	50,2	Man	50
			Vrouw	50,4
Hijkerveld	850	46,9	Man	45,7
			Vrouw	48,1

TABEL 5

Gemiddelde totale lengtes van de populaties van adulte Adders (*Vipera berus*) groter dan 35 cm (bron: Werkgroep Adderonderzoek Nederland).

In een grote populatie is het effect gering, maar in een klein geïsoleerde populatie kan genetische drift in een paar generaties het gezicht bepalen. Tegenwoordig heeft de Gasterse Duinen een geïsoleerde populatie, daarom zal de inteelfactor in deze populatie alleen maar groter worden, wat naar verwachting een verdere toename van het aandeel zwarte Adders zal geven.

In de populatie van het Meinweggebied zijn tot op heden geen melanistische Adders bekend. Er wordt zeer zelden wel eens een donkerdere Adder aangetroffen, alleen zijn deze meer donker bruin van kleur dan zwart.

Misvormen

Inteelt in populaties kan ook in andere morfologische afwijkingen resulteren zoals verminderde groei en vruchtbaarheid. Naast doodgeboren jongen worden vaak ook minder jongen geboren, die op hun beurt ook een hogere kans hebben op misvormingen (MADSEN *et al.*, 1996; ÚJVÁRI *et al.*, 2002). In de onderzochte populaties, zijn zover bekend geen misvormde juvenielen aangetroffen. Op zich is dit een goed teken. Alleen geeft het geen zekerheid of er geen misvormingen voorkomen. Juvenile addertjes zijn immers moeilijk te vinden, terwijl misvormde exemplaren ook geen lang leven beschoren zal zijn.

Verschillen in grootte

Door enkele auteurs (MADSEN & STILLE, 1988; FORSMAN, 1993; VAN HOOFF & DORENBOSCH, 2000) is een relatie gelegd tussen de grootte van Adders en versnippering van populaties. Wanneer populaties Adders versnipperd raken en de mate van isolatie te groot wordt, dan zijn er minder mogelijkheden voor uitwisseling. Hierdoor kan een verschuiving optreden van voorplanting naar overleving (grotere Adders overleven makkelijker dan Adders die minder groot zijn). Daar uit voortvloeiend, zullen minder Adders geboren worden in de populatie en zal de leeftijdsopbouw veranderen, zodat de gemiddelde grootte toe zal nemen.

Uit de resultaten van dit onderzoek [tabel 1 en 5] blijkt dat het Meinweggebied van de onderzochte gebieden veruit het meest geïsoleerd is. De Adders zijn ook gemiddeld het grootst van de onderzochte populaties. Het Hijkerveld heeft veruit de kleinste Adders van de onderzochte populaties, de Adders van de Gasterse Duinen komen wat betreft hun gemiddelde grootte op de tweede plaats. Beide gebieden liggen nu geïsoleerd, maar maakten in het verleden deel uit van het netwerk van heidevelden in Drenthe. Opvallend is dat de Adders van de Gasterse Duinen niet kleiner zijn

dan die van het Groot Schietveld, dat net als het Meinweggebied, totaal geïsoleerd ligt. Een verklaring hiervan zou het hoge aantal melanisten kunnen zijn. Melanisten worden onder normale omstandigheden gemiddeld iets groter dan normale vormen (FORSMAN & ÅS, 1987). Alleen zijn de gemiddelde lengtes voor de melanistische vorm en normale vorm gelijk. De eerder genoemde hypothese, kan dus aan de hand van de onderzochte gebieden niet eenduidig worden bewezen.

VERVOLGONDERZOEK

Een deel van de conclusies uit dit onderzoek is niet met zekerheid vast te stellen omdat te weinig bloedmonsters werden verzameld van Adders uit enkele subpopulaties van het Meinweggebied. Het is dus zinvol om de komende jaren het onderzoek aan te vullen met nieuwe data van de verschillende subpopulaties.

Daarom is door de auteur en Dr. Ir. P. Bijma een nieuw projectvoorstel gemaakt (JANSSEN & BIJMA, 2006) dat niet alleen de analyse van meer bloedmonsters van Adders omvat, maar ook een methode van DNA-analyse voor nauwkeurige bepaling van inteelt. Ook wordt aandacht besteed aan het in kaart brengen van de (snelheid van) achteruitgang van de genetische diversiteit met behulp van DNA uit museumadders. Eveneens zal geprobeerd worden een antwoord te krijgen op de vraag waarom de Adders uit het Meinweggebied zo afwijken van de andere Nederlandse populaties. Dit onderzoek is reeds opgestart in samenwerking met Dr. Sylvain Urzenbacher uit Zwitserland. Hierbij wordt het DNA van de Adders uit het Meinweggebied vergeleken met Adders uit andere Europese populaties.

AANBEVELINGEN

Alhoewel de mogelijkheid bestaat dat de subpopulaties op zich een lage genetische diversiteit bezitten, is het toch gunstig dat de gehele populatie van het Meinweggebied gemiddeld een hoge genetische diversiteit heeft. Hierdoor blijft het nuttig en aanbevelenswaardig om uitwisseling tussen de diverse subpopulaties te bevorderen en zo de kans op genetische uitwisseling te verhogen. Door de beheermaatregelen die genomen zijn naar aanleiding van het Beschermingsplan Adder Limburg (LENDERS *et al.*, 2002) is uitwisseling tussen de diverse subpopulaties tegenwoordig gemakkelijker. Indien de natuurlijk aangelegde verbindingzones toch niet voldoende blijken te werken, kan in het uiterste geval ook kunstmatige uitwisseling bevorderd worden door enkele dieren over te brengen naar andere subpopulaties. Om inteelt te verminderen en er voor te zorgen dat minder allelen verloren gaan, is volgens FRANKHAM *et al.*

(2002) slechts één migrant per generatie nodig. In Zweden zijn op deze manier al enkele adderpopulaties gered van uitsterven. MADSEN *et al.* (1996; 1999) beschrijven de sterke achteruitgang, door inteelt, van een geïsoleerde adderpopulatie in het zuiden van Zweden (Smygehuk). De inteelt was niet alleen door DNA-analyse zichtbaar, maar ook door het hoge aantal misvormde en doodgeboren juveniele Adders. Ook was het aantal geboren jongen zeer klein in verhouding tot de grootte van de vrouwtjes. In 1992 werden 20 volwassen mannelijke Adders gevangen uit grote naburige populaties en deze werden losgelaten in de geïsoleerde adderpopulatie van Smygehuk. De Adders verbleven daar drie of vier parseizoenen en de acht Adders die dit overleefden, werden gevangen en teruggeplaatst in hun geboortepopulaties. Tussen 1996 en 1999 steeg het aantal mannetjes dat gevangen werd in Smygehuk fors (vanuit het oogpunt van populatieonderzoek zijn mannetjes een makkelijkere controlegroep dan vrouwtjes). Ook werden in die periode veel minder doodgeboren jongen geboren. DNA-analyses voor en na de introductie van de nieuwe Adders, lieten een sterk gestegen genetische variabiliteit zien.

DANKWOORD

Graag wil ik iedereen bedanken die op enigerwijze een rol heeft gehad in het tot stand komen van dit onderzoek. Speciale dank gaat echter uit naar Katja Claus en Dick van Dorp voor de hulp bij het rondleiden door de diverse onderzoeksgebieden en het vangen van de Adders. Ook wil ik Piter Bijma van de Wageningen Universiteit bedanken voor het begeleiden van de afstudeeropdracht en het mede opstellen van enkele nieuwe projectvoorstellen. Ton Lenders wil ik bedanken als aanspreekpunt namens het Natuurhistorisch Genootschap in Limburg, voor de hulp bij het veldwerk en als 'raadman' voor het algehele project. Verder dank aan Hugh Jansman van Alterra voor het kritisch doorlezen van dit manuscript. Als laatste wil ik vooral Jisca Huisman en Martijn Dorenbosch bedanken. Jisca voor het analyseren van de ruwe data. Meer dan tien maanden heeft zij de nullen en eentjes op de juiste plaats weten te zetten en daarover een zeer goede thesis geschreven. Martijn voor het mede organiseren van het onderzoek, de contacten die hij heeft onderhouden, het veldwerk en de vele uren van prettig gezelschap in het veld en tijdens onze overlegavonden.

Summary

THE GENETIC DIVERSITY OF THE COMMON ADDER IN THE MEINWEG RESERVE

A genetic study in 2003 and 2004 aimed to determine whether the decline of Common Adder (*Vipera berus*) populations in the Dutch nature reserve called Meinweg was due to inbreeding, by comparing the genetic diversity of eight Dutch and Belgian Common Adder populations. Blood samples were collected from 103 adders and, after isolation, 72 DNA samples of sufficient quality remained. DNA analysis resulted in 122 markers. The analyses of the markers were visualised as genetic trees on the basis of similarity. The most important conclusion was that the Adders that were investigated fell into two main groups: the population from the Meinweg area and all the other populations.

In 2005, a student from Wageningen University carried out further analyses of the raw data, which yielded more information about genetic diversity and inbreeding. The degree of kinship within the population was average for the Adders from the Meinweg area, which had the lowest estimated level of inbreeding.

Literatuur

- BITTNER, T. & R. KING, 2003. Gene flow and melanism in garter snakes revisited: a comparison of molecular markers and island vs. coalescent models. *Biological Journal of the Linnean Society* 79: 389–399.
- BROENS, G.P.J., 2007. Een historisch onderzoek naar het voorkomen van de adder (*Vipera berus*) op de Meinweg. Stichting Natuurpublicaties Limburg/Radboud Universiteit, afdeling Milieukunde, Maastricht/Nijmegen.
- FORSMAN, A., 1993. Survival in relation to body size and growth rate in the adder, *Vipera berus*. *Journal of Animal Ecology* 62: 647–655.
- FORSMAN, A. & S. ÅS, 1987. Maintenance of colour polymorphism in adder populations, *Vipera berus* L.: a test of a popular hypothesis. *Oikos* 50: 13–16
- FRANKHAM, A., J.D. BALLOU & D.A. BRISCOE, 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge.
- FRANKHAM, A., J.D. BALLOU & D.A. BRISCOE, 2004. *A Primer of Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge.
- HOOF P. VAN & M. DORENBOSCH, 2000. Een morfologische vergelijking van drie adderpopulaties. *Ravon* 3(2): 29–34.
- HUISMAN, J., 2006. Analysis of genetic diversity of Dutch Adder (*Vipera berus*) populations with AFLP markers. Wageningen Universiteit, leerstoelgroep Fokkerij en Genetica/Werkgroep Adderonderzoek Nederland, Wageningen.
- JANSSEN, P. & P. BIJMA, 2006. Genetische projectvoorstellen 2007. Adders Meinweggebied, vervolg. Werkgroep Adderonderzoek Nederland/Wageningen Universiteit, Leerstoel Fokkerij & Genetica, Wageningen.
- JANSSEN, P. & P. VAN HOOF, 2009. Adder. In: Creemers, R.C.M. & J.J.C.W. van Delft, *De amfibieën en reptielen van Nederland*. Nederlandse Fauna 9. Nationaal Natuurhistorisch Museum Naturalis, KNNV Uitgeverij/European Invertebrate Survey-Nederland, Leiden.
- JOGER, U. & P. LENK, 1997. Entname und Behandlung von Blutproben für molekulargenetische Untersuchungen in der Feldherpetologie. In: Henle, K. & M. Veith (Hrsg.), *Naturschutzrelevante Methoden der Feldherpetologie*. Mertensiella 7: 329–340.
- KEYGENE N.V., 2006. AFLP® - Genetic Fingerprinting. 14 september 2006. http://www.keygene.com/technologies/technologies_aflp.htm.
- KNORR, E., 1970. Echsen und Schlangen zwischen Rur und Schwalm. *Heimatkalendar der Erkelener Lande* 1970: 116–130.
- LENDERS, A.J.W., M. DORENBOSCH & P. JANSSEN, 2002. Beschermingsplan Adder Limburg. Bureau Natuurbalans – Limes Divergens/Natuurhistorisch Genootschap in Limburg, Nijmegen/Roermond.
- MADSEN, T., & B. STILLE, 1988. The effect of size dependant mortality on colour morphs in male adders, *Vipera berus*. *Oikos* 52: 73–78.
- MADSEN, T., B. STILLE & R. SHINE, 1996. Inbreeding depression in an isolated population of adders *Vipera berus*. *Biological Conservation* 75: 113–118.
- MADSEN, T., R. SHINE, M. OLSSON & H. WITZELL, 1999. Restoration of an inbred adder population. *Nature* 402 (6757): 34–35.
- MERILÄ, J., A. FORSMAN & L.E. LINDEL, 1992. High frequency of ventral scale anomalies in *Vipera berus* populations. *Copeia* 4: 1127–1130.
- SCHWANER, T.D., 1990. Geographic variation in scale and skeletal anomalies of tiger snakes (Elapidae: *Notechis scutatus-ater* complex) in southern Australia. *Copeia* 4: 1168–1173.
- ÚJVÁRI, B., T. MADSEN, T. KOTENKO, M. OLSSON, R. SHINE & H. WITZELL, 2002. Low genetic diversity threatens imminent extinction for Hungarian meadow viper (*Vipera ursinii rakosiensis*). *Biological Conservation* 105: 127–130.