



Gewone en Grijze zeehonden verschillen in genetisch opzicht sterk van elkaar, maar door de DNA-fingerprinttechniek zijn ook verschillen tussen individuen van dezelfde soort aan te tonen.

nagaan of een populatie is opgebouwd uit een aantal subpopulaties met meer of minder onderlinge migratie.

Momenteel staat er al een scala aan technieken tot onze beschikking en nieuwe ontwikkelingen en toepassingen volgen elkaar in een rap tempo op. Zonder teveel op de technische details in te gaan, wil ik een paar technieken beschrijven om duidelijk te maken wat voor soort gegevens ze opleveren en waarvoor ze kunnen worden toegepast (tabel 1). Uitgebreidere informatie over deze technieken en hun toepassing, ook in het natuurbeheer, is te vinden in Avise (1994).

Het gereedschap

EIWIT-ELEKTROFORESE

Deze techniek berust er op dat veranderingen in een gen tot uiting komen als verandering in de elektrische lading van het eiwit dat door dit gen geproduceerd wordt. Deze ladingsverandering kan met behulp van elektroforese zichtbaar gemaakt worden (voor een uitgebreide uitleg van de techniek zie Ouborg et al. (1991)). Eiwit-elektroforese is tot nu toe de meest gebruikte techniek voor het analyseren van de genetische variatie in planten en dieren, omdat het relatief goedkoop is, er een groot aantal individuen tegelijkertijd kan worden geanalyseerd en de genetische varianten eenvoudig geïdentificeerd kunnen worden (fig. 1). Een nadeel is, dat de opgespoorde hoeveelheid variatie toch nog relatief beperkt is, met name juist in bedreigde soorten. Zo vertonen de Gewone zeehond in de waddenzee en het Jachtluipaard (bijna) geen eiwitvariëteit. Ook een soort als de Noordse woelmuis in Nederland vertoont weinig eiwitvariëteit, zodat deze techniek bij deze soorten niet geschikt is om individuen van elkaar te onderscheiden.

In het algemeen heeft eiwit-elektroforese brede toepassingsmogelijkheden, van beschrijving van variatie binnen popula-

Moleculair genetische

R. Bijlsma technieken en natuurbeheer

Van alle biologische disciplines wordt vooral de oecologie geassocieerd met natuurbehoud en -beheer. Tegenwoordig kan ook een vak als genetica echter een belangrijke bijdrage leveren, zoals uit dit nummer blijkt. Behalve bij het proces van genetische verarming met alle consequenties van dien kan genetica ook een andere rol van betekenis spelen bij het "oplossen" van problemen die optreden bij het natuurbeheer. Dankzij de ontwikkeling van nieuwe technieken is genetische variatie namelijk steeds nauwkeuriger en gemakkelijker zichtbaar te maken, waardoor verwantschappen tussen soorten, populaties of individuen beter zijn te bepalen.

Tot zo'n 30 jaar geleden konden we genetische verschillen tussen individuen alleen waarnemen als ze in de morfologie tot uiting kwamen. Doordat er maar weinig van dit soort kenmerken zijn, was het toen praktisch onmogelijk uitspraken te doen over de genetische verschillen of verwantschap tussen individuen. Zelfs nauwverwante soorten waren vaak moeilijk van elkaar te onderscheiden. Sindsdien kunnen we met nieuwe technieken variatie op moleculair niveau zichtbaar maken: als verandering van het produkt van een gen (eiwit) of als verandering in de bouwstenen (nucleotidensamenstelling) van het DNA zelf. Daardoor zijn veel meer genetische verschillen zichtbaar te maken. Dit geeft als het ware een veel hoger "oplossend" vermogen. Er kan nu zelfs nagegaan worden wie de vader is van een bepaald individu in een populatie. Ook zou het zonder genetisch onderzoek ondoenlijk

zijn binnen een zich sterk vegetatief vermeerderende plantensoort individuen (genets) te onderscheiden. Nu kunnen we bijvoorbeeld nagaan waar de uitlopers van het ene individu eindigen en die van het andere beginnen.

Bij het nemen van adequate beheersmaatregelen is het van groot belang inzicht te verkrijgen in de populatiestructuur en de demografische parameters van populaties, zoals voortplantingssysteem, populatiegrootte, mate van migratie tussen (sub)populaties enz. (Bijlsma et al., 1994). Hierbij is genetisch onderzoek een onmisbaar hulpmiddel. De evolutionaire en demografische "geschiedenis" van een populatie of soort wordt weerspiegeld in de genetische variatie. We kunnen bijvoorbeeld uit de grootte van de genetische verschillen tussen populaties of soorten schatten hoe lang deze van elkaar geïsoleerd zijn geweest. Ook kunnen we



ties tot vergelijking van verwante soorten, maar schiet vaak tekort bij vergelijkingen op het niveau van het individu, zoals bij ouderschapsanalyses.

DNA-VOLGORDE ANALYSE

Hoewel we met eiwit-elektroforese al veel meer variatie zien dan blijkt uit morfologische kenmerken, wordt lang niet alle variatie opgespoord want: 1) lang niet alle veranderingen in het DNA (mutaties) resulteren in een verandering in het eiwit of leiden tot een ladingsverandering, 2) grote delen van het DNA maken geen eiwit of maken een genprodukt dat niet met elektroforese te analyseren is. Deze variatie kan wel opgespoord worden wanneer we van een stuk DNA de exacte volgorde van de nucleotiden (bouwstenen van het DNA) bepalen. Op deze manier is elke verandering (elke nucleotidesubstitutie) op te sporen. Hiervoor bestaan verschillende methodieken. Bij de techniek, bekend onder de naam Restrictie Fragment Lengte Polymorfie (RFLP), gebeurt dit indirect door te bepalen of een specifieke korte volgorde (4-7 nucleotiden lang) wel of niet aanwezig is in een bepaald stuk DNA. In andere gevallen wordt de gehele nucleotidenvolgorde van het stuk bepaald (sequentie analyse). Deze technieken zijn veel duurder en vragen ook veel meer technische expertise dan eiwit-elektroforese. Daarnaast zijn ze erg arbeidsintensief, wat niet alleen de grootte van het stuk DNA dat kan worden onderzocht sterk beperkt, maar ook het aantal individuen dat kan worden geanalyseerd. Hierdoor is ze niet in alle situaties de meest voor de hand liggende.

Sommige delen van het DNA vertonen meer variatie dan andere. Dit maakt het mogelijk om, afhankelijk van de benodigde hoeveelheid variatie om een ge-

stelde vraag te beantwoorden, bewust een bepaald type DNA te gebruiken voor de analyse. Zo wordt voor dieren veel gebruikt gemaakt van het DNA dat zich in de mitochondrieën bevindt. Dit DNA vertoont relatief veel variatie en heeft verder als bijzonderheid dat het in de meeste soorten alleen via de moeder overerft.

DNA-FINGERPRINTING

Van sommige genen komen in het haploïde genoom (de totale enkelvoudige set van chromosomen waarvan diploïde organismen er twee hebben), meer copieën voor. Een speciale klasse vormen de zogenaamde "Variable Number of Tandem Repeats" (VNTR) genen, ook wel minisatelliet genen genoemd. Zoals de naam al aangeeft zijn dit genen waarin een bepaalde nucleotidenvolgorde (bijvoorbeeld 60 nucleotiden lang) een groot aantal malen als kralen in een ketting herhaald wordt. Een belangrijke eigenschap van deze genen is dat ze heel variabel zijn: niet zozeer wat betreft de samenstelling van elke herhaling, maar juist voor het aantal herhalingen. Deze variatie komt dus tot uiting als lengtevariatie van het stuk DNA. Deze lengtevarianten kunnen we scheiden met behulp van elektroforese methoden, waarbij korte stukken zich veel sneller voortbewegen dan lange stukken. Daarnaast komen dit soort genen (clusters van herhalingen) meermalen in het genoom voor. Wanneer we deze genen voor een individu allemaal tegelijkertijd zichtbaar maken ontstaat een complex bandenpatroon zoals te zien is in figuur 2. Omdat er vaak erg veel lengtevariatie is, heeft ieder individu (uitgezonderd eenige tweelingen en sterk ingeteelde organismen) een uniek bandjespatroon: een genetische "vingerafdruk". Omdat de "bandjes" normaal overerven, moet elke band van

een individu afkomstig zijn van of de moeder of de vader. Daarom leent deze techniek zich uitstekend voor ouderschapsanalyses. Ook voor soorten die geen eiwitvariatie vertonen, zoals Jachtluipaard en zeehond, kan men met deze techniek nog variatie aantonen. Een nadeel is dat het erg bewerkelijk is en veel DNA vereist. Een recente variant op deze "fingerprinttechniek", waarbij herhalingen binnen een gen slechts twee, drie of vier nucleotiden lang zijn (ook wel microsatellieten genoemd), maakt gebruik van de PCR techniek (zie hierna) waardoor dit probleem voor een groot deel wordt ondervangen.

POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

Voor het natuurbeheer lijkt de techniek die bekend staat onder de naam Polymerase Chain Reaction (PCR) veelbelovend. Met deze techniek kan men een stuk DNA waarin men geïnteresseerd is in enkele uren meer dan een miljoen maal vermenigvuldigen. Dit is veel sneller en gemakkelijker dan tot nu toe mogelijk was met de traditionele DNA-isolatie technieken. Vooral interessant is echter dat men uit kan gaan van uitermate kleine hoeveelheden DNA: enkele haren, een klein stukje huid, of een klein stukje blad kan al genoeg zijn om voldoende DNA voor onderzoek te hebben. Met deze methode is het zelfs mogelijk om nog DNA te halen uit de huid van opgezette dieren en uit fossielen. Dit betekent dat minimale ingrepen nodig zijn om aan voldoende onderzoeksmateriaal te komen, wat in het geval van zeldzame en bedreigde soorten essentieel kan zijn. In combinatie met DNA-volgorde bepalingen en DNA-fingerprinting lijkt PCR daarom een zeer belangrijke techniek te kunnen worden in het natuurbeheer.

	Eiwit elektroforese	RFLP	Sequentie analyse	Minisatelliet fingerprinting	Microsatelliet fingerprinting
Klonale structuur	(+)	(+)	0	++	++
Ouderschapsanalyse	(+)	(+)	0	++	++
Paringsstelsel	(+)	(+)	0	++	++
Populatiestructuur	++	++	(+)	(+)	++
Geografische variatie	++	++	(+)	-	(+)
Fylogenie (nauwverwante soorten)	++	++	(+)	-	-
Fylogenie (5-50 miljoen jaar)	(+)	-	++	-	-
Fylogenie (>50 miljoen jaar)	-	-	++	-	-

Tabel 1.

Bruikbaarheid van de verschillende moleculaire technieken voor het oplossen van vragen op verschillende populatiebiologische en genetische gebieden.

Verklaring tekens:

- ++ meest geschikte techniek;
- (+) bruikbaar in bepaalde situaties;
- 0 bruikbaar maar niet de geschikte methode;
- niet bruikbaar.

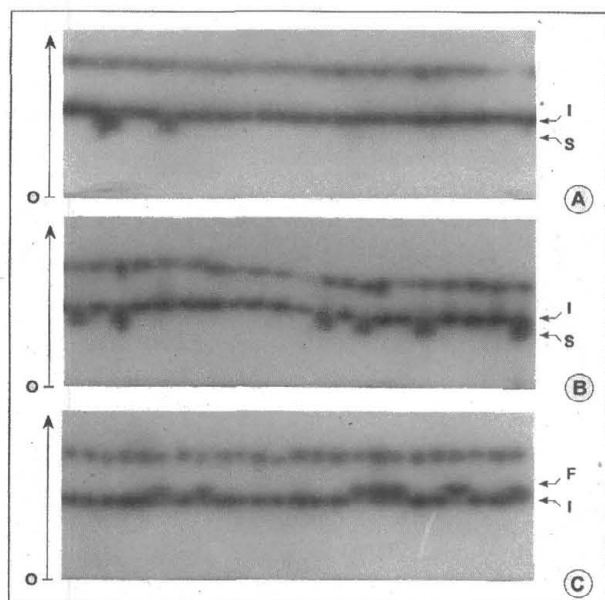


Fig. 1. Elektroforese patronen bij de Rapunzel voor het enzym glucose fosfaat isomerase.

A: Witte rapunzels uit de populatie Valkenberg (Br.), van links naar rechts 24 verschillende individuen;
B: Blauwzwarte rapunzels uit de populatie Centraal (Dr.), 21 verschillende individuen;
C: Blauwzwarte rapunzels uit de populatie Slenaken (Lb.), 19 individuen, terwijl de vijf meest rechtse individuen (de vijf meest rechtse bandenpatronen) afkomstig zijn uit de populatie Beldershoekweg (Tw.). Van de twee rijen banden per gel vertoont alleen de onderste rij variatie voor drie verschillen-

de allelen: een snelle band (F), een intermediaire band (I) en een langzame band (S). De naamgeving van de allelen berust op de relatieve snelheid, waarmee het enzym zich vanaf de opbrengplaats (O) in de richting van de pijl door de gel verplaatst. Individuen met één band voor het onderste systeem zijn homozygoot voor de desbetreffende variant, terwijl heterozygoten drie banden laten zien. Terwijl in alle populaties de I variant het meest frequent is, is het opvallend dat de S-variant alleen gevonden wordt in de Blauwzwarte populaties uit Drenthe en in de Witte rapunzels, maar nooit in de Blauwzwarte populaties uit Twente en Limburg. De relatief grote genetische afstand tussen deze laatste populaties en alle andere berust mede op dit verschil (voor verdere verklaring fig. 3 en de tekst). (Gegevens uit het doctoraal onderzoek van A. Zandt).

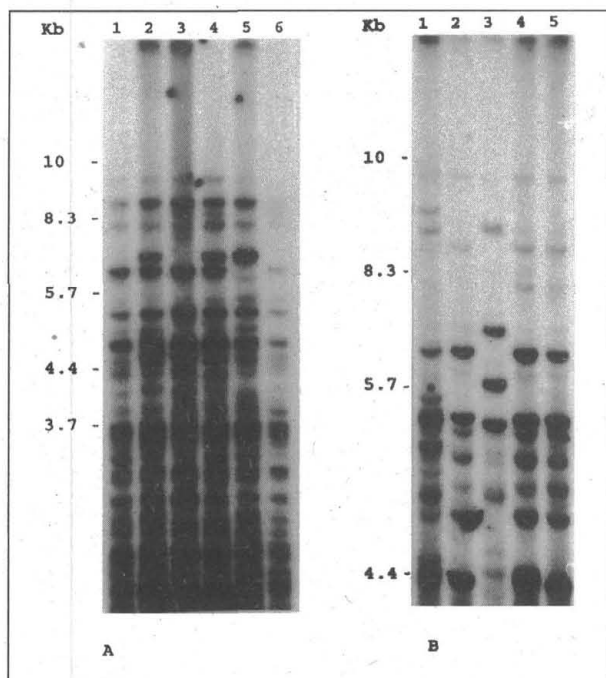


Fig. 2. DNA-fingerprints van de Gewone zeehond en de Grijs zeehond.

A: patroon gevonden voor zes verschillende Gewone zeehonden. Hoewel er verschillen tussen individuen zijn, vooral in het bovenste gedeelte, lijken de patronen sterk op elkaar.
B: vergelijking tussen de patronen van de Grijs zeehond (1 en 3) en de Gewone zeehond (2, 4 en 5). Duidelijk is dat de soorten onderling sterk verschillen maar dat het patroon van de twee Grijs zeehonden

onderling veel meer verschilt dan dat voor de Gewone zeehonden onderling. Let wel dat de schaal, die de lengte van de DNA-fragmenten in kb (1 kb is 1000 nucleotiden lang) aangeeft, verschilt voor A en B. (Figuur uit Kappe et al., 1995).

TECHNIEK KEUZE

Binnen de beschreven technieken kunnen veel verschillende methodieken gevolgd worden die elk op hun eigen specifieke manier een bepaald deel van de genetische variatie op moleculair niveau zichtbaar kunnen maken. Om een probleem "op te lossen" moeten we een keuze maken uit dit pakket. De keuze moet in eerste instantie afhangen van de vraag die we willen beantwoorden (en niet andersom!). De vraag bepaalt welk niveau van genetische variatie en welk type variatie men nodig heeft. Een globaal overzicht van welke techniek het meest geschikt lijkt om welk soort vragen te beantwoorden, wordt gegeven in tabel 1. Verder hangt de keuze natuurlijk af van de aard van de soort(en) die onderzocht moet(en) worden: hoe en welk onderzoeksmateriaal kan verkregen worden en hoe is de ecologie van de soort(en). Ook economische motieven spelen een rol. Moleculaire technieken zijn veelal (heel erg) duur, wat maakt dat een kosten-baten analyse de keuze mede zal bepalen.

De toepassing

SYSTEMATISCHE ASPECTEN

Wanneer we "iets" willen beheren is de vraag naar de taxonomische status van wat we trachten te beschermen essentieel. De "klassieke" taxonomie, gebaseerd op morfologische kenmerken, is soms ontoereikend (zie voorbeeld van de Doerocoeli (De Boer, 1989)). In het geval van bedreigde soorten ontbreekt meestal de tijd voor het uitvoeren van een uitgebreide systematische studie op basis van morfologische en oecologische kenmerken. Genetische technieken kunnen hier een uitkomst bieden, omdat ze vaak sneller en preciezer tot conclusies leiden.

Als voorbeeld kan een onderzoek dienen naar de status van de beide ondersoorten van de Rapunzel: de Witte rapunzel (*Phyteuma spicatum subsp. spicatum*) en de Blauwzwarte rapunzel (*Phyteuma spicatum subsp. nigrum*). Dit onderzoek wordt momenteel door ons uitgevoerd in samenwerking met de onderzoeksgroep Plantenoecologie van de RUG. Met behulp van eiwit-elektroforese (fig. 1) van zeven eiwitgenen is gekeken naar de genetische verschillen tussen een aantal populaties van zowel de Blauwzwarte als de Witte rapunzel (fig. 3). De genetische verschillen tussen de populaties zijn niet erg groot en vallen binnen de grenzen die in het algemeen gevonden worden voor ver-



schillen tussen lokale populaties van planten (genetische afstand $\approx 0-0.05$). Opvallend is dat de Witte rapunzel populaties afkomstig uit Brabant goed binnen de cluster van de Blauwzwarte rapunzel populaties uit Drenthe vallen (de enigszins afwijkende positie van de Witte Elsbroek populatie zou ook een gevolg kunnen zijn van de zeer kleine steekproef). De genetische verschillen tussen de twee ondersoorten lijken hier dus niet groter dan die binnen elke ondersoort. Aan de andere kant lijken de Blauwzwarte rapunzels uit Twente en Limburg wel een aparte cluster te vormen die relatief sterk verschilt van de Drentse en Brabantse populaties (inclusief alle Witte populaties). Dit zou er op kunnen wijzen dat we hier met een andere vorm van de Blauwzwarte rapunzel te maken hebben (subsp. *caerulea*?) die meer verschilt van de Blauwzwarte rapunzels uit Drenthe dan de Witte rapunzel van deze laatste. Puur gebaseerd op deze genetische gegevens zou het dus meer voor de hand liggen om de twee aparte takken van de Blauwzwarte rapunzel te onderscheiden dan te letten op de ondersoorten subsp. *spicatum* en subsp. *nigrum*.

Vanzelfsprekend is het onjuist om, met veronachtzaming van oecologische en taxonomische kenmerken, alleen op genetische gronden een beslissing te nemen, maar een voorafgaande genetische analyse kan "problemen", zoals in het geval van de Amerikaanse Seaside sparrow (*Ammodramus maritima*), voorkomen. De Seaside sparrow is een musachtige vogel waarvan een aantal ondersoorten voorkomt langs zowel de kust van de Atlantische Oceaan als van de Mexicaanse Golf van de Verenigde Staten. Van de Dusky Seaside sparrow (*A. m. nigrescens*), een ondersoort met een donker verenkleed, die voorkwam aan de oostkust van Florida (Atlantische kust) waren in 1966 nog maar zes mannetjes over. In een ultieme poging deze ondersoort te redden werden deze dieren in gevangenschap gekruist met vrouwtjes van de, volgens taxonomische gegevens nauwverwante, ondersoort *A. m. penninsulae* uit een nabijgelegen vergelijkbare habitat aan de westkust van Florida (Mexicaanse Golf kust). Door de zo ontstane hybriden weer terug te kruisen met de oorspronkelijke *A. m. nigrescens* mannetjes probeerde men de ondersoort terug te fokken. Het programma

A. m. nigrescens genetisch nauwelijks verschilde van de andere ondersoorten aan de Atlantische kust maar wel sterk van de ondersoorten aan de westkust van Florida. Op grond van de grootte van deze verschillen wordt geschat dat *A. m. nigrescens* en *A. m. penninsulae* tenminste 250.000 jaar genetisch gescheiden zijn geweest. Hieruit kan men concluderen dat het beter geweest was de zes *A. m. nigrescens* mannetjes terug te kruisen met een ondersoort van de Atlantische kust. Het oorspronkelijke fokprogramma zou, indien succesvol, geleid hebben tot het introduceren van hybriden van twee sterk verschillende fylogenetische eenheden in de natuur.

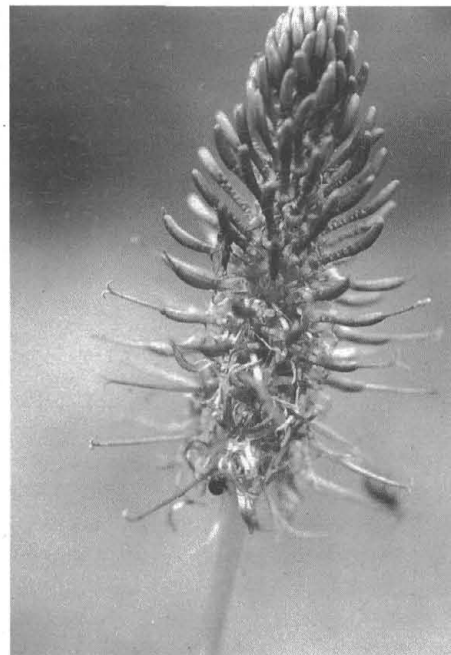
Ook onder "natuurlijke" omstandigheden is hybridisatie (bastardering) een gevaar dat voor veel bedreigde soorten speelt. Door de lage dichtheden van een bedreigde soort wordt het bijvoorbeeld steeds moeilijker een partner van de eigen soort te vinden en neemt de neiging om (dan maar) met een nauwverwante soort te kruisen toe. Een voorbeeld hiervan is de Rode wolf (*Canis rufus*) die vroeger algemeen voorkwam in de zuidelijke VS maar sinds 1900 sterk in aantal is afgenomen. Moleculair onderzoek van de nog levende dieren, maar ook van huiden van museumexemplaren, heeft aangetoond dat de meeste rode wolven genetisch materiaal bevatten afkomstig van de Coyote (*C. latrans*) (Avisé, 1994). Ook de Grijze wolf (*C. lupus*) in de VS schijnt van tijd tot tijd met de Coyote te hybridiseren. Een verwant probleem is de toenemende kans van "genetische vervuiling" van wilde soorten door gedomesticeerde (vaak ontsnapte en weer verwilderde) verwanten. Voorbeelden hiervan zijn sommige forelsoorten in de VS en de Atlantische zalm in Noorwegen. De genoemde genetische technieken lenen zich er goed voor om de aanwezigheid van hybridisatie te onderkennen en de invloed hiervan te analyseren.

DEMOGRAFISCHE ASPECTEN EN POPULATIESTRUCTUUR

Voor het nemen van adequate beheersmaatregelen is het vaak van belang inzicht te hebben in de demografie en structuur van populaties. Zoals eerder genoemd wordt de "demografische geschiedenis" van een populatie/soort weerspiegeld in de aard, hoeveelheid en verdeling van de genetische variatie. Door bestudering hiervan wordt de demografische geschiedenis van een populatie/soort weerspiegeld in de aard, hoeveelheid en verdeling van de genetische variatie. Door bestudering hiervan

te hebben volledig te zijn, wil ik hier op een aantal aspecten ingaan.

1) **Populatiegrootte.** Wanneer een populatie tijdelijk uit een (zeer) klein aantal individuen bestaat dan verliest deze daarbij een groot deel van zijn genetische variatie. Ook als de populatie hierna weer sterk groeit, blijft dit verlies nog lang aantoon-



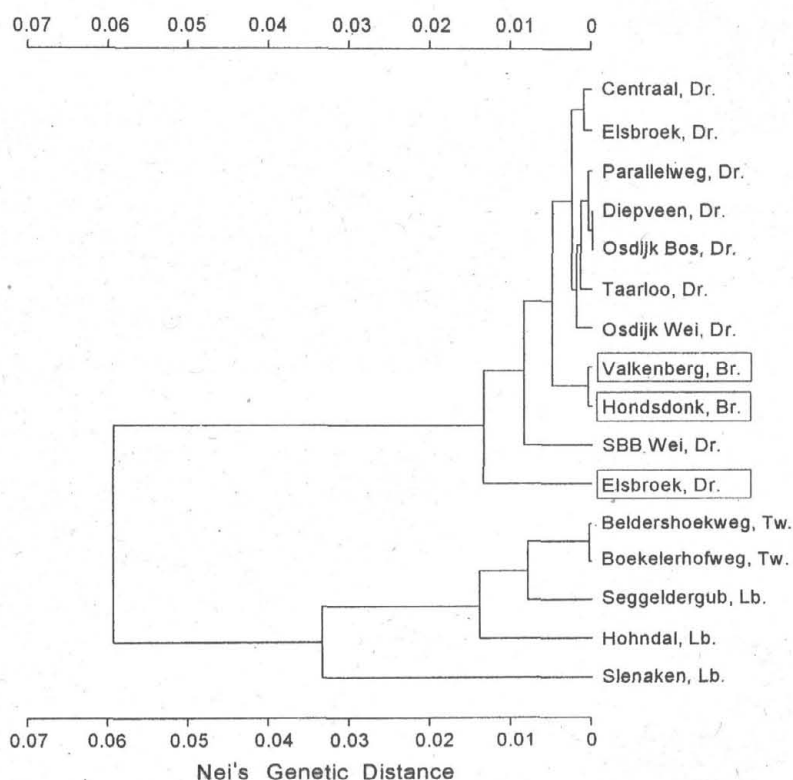
De Blauwzwarte rapunzels uit Drenthe blijken genetisch sterk te verschillen van de Blauwzwarte rapunzels uit Twente en Limburg. Dit kon worden aangetoond met behulp van elektroforese (foto: Stichting Saxifraga).

baar. Een voorbeeld is de Bever (*Castor fiber*) in Zweden die in de 19de eeuw was uitgestorven (Ellegren et al., 1993). Rond 1900 vond een herintroductie plaats door middel van ongeveer 40 dieren uit Noorwegen, waar op dat moment de populatie ook al zeer klein geworden was. Door goede omstandigheden en goed beheer is de populatie Bevers in Zweden nu uitgegroeid tot meer dan 100.000 individuen. Recent onderzoek heeft echter aangetoond dat de Zweedse bever, in tegenstelling tot soortgenoten in Rusland die niet op de rand van uitsterven hebben gestaan, geheel geen genetische variatie vertoont, zelfs niet voor de sterk variabele fingerprintgenen.

Een vergelijkbaar resultaat is door ons gevonden bij de Grijze wolf (*C. lupus*) in Zweden. Deze wolf vertoont, zelfs niet voor de sterk variabele fingerprintgenen.

Een vergelijkbaar resultaat is door ons gevonden bij de Grijze wolf (*C. lupus*) in Zweden. Deze wolf vertoont, zelfs niet voor de sterk variabele fingerprintgenen.

Fig. 3. Stamboom gebaseerd op de genetische verschillen tussen 13 Blauwzwarte en 3 Witte rapunzel populaties (omkaderd). De genetische afstand (genetic distance volgens Nei, 1978) geeft de mate van genetische divergentie tussen populaties weer: hoe groter deze afstand hoe sterker de populaties van elkaar verschillen. In de stamboom is de genetische afstand tussen twee populaties de lengte in horizontale richting tot het eerste gemeenschappelijke vertakkingspunt, bijvoorbeeld tussen Slenaken en Hohndal is de afstand 0,033 en tussen Slenaken en Centraal 0,060. Achter iedere populatie is het gebied van herkomst aangegeven: Dr=Drenthe, Tw=Twente, Br=Brabant en Lb=Limburg. Het aantal onderzochte individuen per populatie ligt tussen de 30 en 60 behalve voor Taarloo: 15, Elsbroek (blauwzwart): 10 en Elsbroek (wit): 6. (Gegevens afkomstig uit het doctoraal onderzoek van A. Zandt).



met behulp van de fingerprint techniek werd heel weinig variatie gevonden (Kappe et al, 1995; fig. 2). Dit lage niveau van variatie lijkt soortspecifiek te zijn want de Grijze zeehond (*Halichorus grypus*), uit het zelfde gebied, vertoonde veel meer variatie. Waarschijnlijk is de Gewone zeehond in het verleden door één of meer "bottlenecks" gegaan en heeft daardoor veel van zijn genetische variatie verloren. De hiermee gepaard gaande toename in homozygositeit in de Waddenzee populatie is er misschien mede de oorzaak van geweest dat deze populatie zo gevoelig bleek voor de recente virusinfectie, waarbij 60% van de dieren stierf (Reijnders, 1989).

2) **Voortplantingssysteem.** Kennis van het voortplantingssysteem door middel van ouderschaps- en verwantschapsanalyses kan belangrijk zijn voor het nemen van de juiste beheersmaatregelen. Zo vonden Van Treuren et al. (1994) dat voor Duifkruid (*Scabiosa columbaria*) de hoeveelheid zaadzetting van de planten sterk afnam bij lagere populatiedichtheden. Van een geïsoleerde plant, bijvoorbeeld, werd waargenomen dat slechts 17% van de vruchtbeginsels kiemkrachtige zaden opleverde. Een nadere analyse van de mate van zelf- en kruisbevruchting met behulp van eiwitelktroforese liet zien dat

dit mogelijk een gevolg was van een toename in de hoeveelheid zelfbestuiving, bij lagere dichtheid leidend tot een afnemende hoeveelheid zaadafzetting. Uit dit oogpunt lijkt voor deze soort de populatiedichtheid van groter belang dan de populatiegrootte om een goed reproduceerbare populatie te krijgen.

Veel diersoorten kennen een sociale structuur die sterk bepalend is voor hun paringssysteem. Kennis hiervan is uitermate belangrijk voor het nemen van de juiste beheersmaatregelen. Met name fingerprinttechnieken zijn onontbeerlijk voor het ophelderen van complexe sociale structuren.

3) **Populatiestructuur en migratie.** Populatiestructuur is een wezenlijke eigenschap van de meeste soorten, omdat beperkingen in de dispersiemogelijkheden leiden tot meer genetische en demografische isolatie tussen afzonderlijke populaties. De mate van isolatie is over het algemeen gecorreleerd met de mate van genetische divergentie: hoe groter de isolatie hoe groter de genetische verschillen tussen twee populaties. Met moleculaire merkers kunnen deze verschillen goed gekwantificeerd worden en kunnen schattingen gemaakt worden over de mate van migratie tussen populaties. Zowel voor Veldsalie als Duifkruid werd door Van Treuren (1993) een sterke genetische divergentie gevonden tussen populaties van elk van de soorten. Omdat de mate van divergentie niet afhangt van de geografische afstand (nabijgelegen populaties verschilden even veel van elkaar als verafgelegen populaties), concludeerde hij dat er weinig of geen migratie tussen populaties optrad. Dit komt goed overeen met het feit dat we hier met insect bestoven planten te maken hebben. Kennis van de mate van isolatie kan van belang zijn bij het bepalen van de ligging en de grootte van het gebied dat beschermd moet worden. Ook kunnen dergelijke gegevens leiden tot het nemen van maatregelen om de isolatie door middel van het aanleggen van verbindingen tussen de populaties of door middel van kunstmatige genenverspreiding op te heffen (Ouborg et al., 1991).

In vergelijking met planten zijn dieren mobieler en speelt migratie een veel grotere rol. In het sterk versnipperde Nederlandse landschap bestaan populaties van veel diersoorten uit lokale subpopulaties die door dispersie met elkaar verbonden zijn. Dit complex van subpopulaties noemen we een metapopulatie (Opdam, 1987). Hoewel de lokale populaties veelal



De Witte rapunzels uit Noord-Brabant lijken genetisch meer op de Blauwzwarte populaties uit Drenthe dan uit Twente en Limburg (foto: Stichting Saxifraga).

Slot

De problematiek van bedreigde soorten en populaties bevindt zich op het raakvlak van de (populatie)oecologie en (populatie)genetica. Van oudsher werkten oecologen en genetici vanuit een verschillende optiek en interesse. Dat voor het voortbestaan van bedreigde populaties en soorten naast oecologische factoren ook genetische verarming een essentiële rol speelt, wordt helaas (nog) niet door iedereen ingezien. Met dit artikel denk ik te hebben aangetoond dat genetisch onderzoek ook nog op vele andere manieren een belangrijke bijdrage kan leveren aan een goed beheer en bescherming van bedreigde soorten en populaties. Hopelijk leidt dit inzicht tot een betere samenwerking tussen beide disciplines met als uiteindelijk resultaat een sterk verhoogde overlevingskans van onze bedreigde flora en fauna.

Literatuur

- Apeldoorn, R.C. van, H. Hollander, W. Nieuwenhuizen & F. van der Vliet, 1992. De Noordse woelmuis in het Deltagebied. *Landschap* 9: 189-202.
- Avise, J.C., 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall, New York.
- Avise, J.C. & W.S. Nelson, 1989. Molecular genetic relationships of the extinct Dusky Seaside Sparrow. *Science* 243: 646-648.
- Berry, R.J., G.S. Triggs, P. King, R.H. Nash & L.R. Noble, 1991. Hybridization and gene flow in house mice introduced into an existing population on an island. *Journal of Zoology*, London, 225: 615-632.
- Boer, L.E.M. de, 1989. Soortenbehoud in dieren- en plantentuin. In: R.A. Prins & H.M. van Emden (red.). *Het verdwijnen van soorten*. Biologische Raad, Amsterdam: 126 - 165.
- Bijlsma, R., N.J. Ouborg & R. van Treuren, 1994. On the genetic erosion and population extinction in plants: A case study in *Scabiosa columbaria* and *Salvia pratensis*. In: *Conservation Genetics* (V. Loeschke, J. Tomiuk & S.K. Jain (red.)). Birkhauser Verlag, Basel: 255 - 271.
- Ellegren, H., G. Hartman, M. Johansson & L. Andersson, 1993. Major histocompatibility complex monomorphism and low levels of

DNA fingerprinting variability in a reintroduced and rapidly expanding population of beavers. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 90: 8150-8153.

- Kappe, A.L., L. van de Zande, E.J. Vedder, R. Bijlsma & W. van Delden, 1995. Genetic variation in the harbour seal (*Phoca vitulina*) revealed by DNA fingerprinting and RAPD's. *Heredity*.
- Nei, M., 1978. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- Opdam, P., 1987. De metapopulatie: model van een populatie in een versnipperd landschap. *Landschap* 4: 289-306.
- Ouborg, N.J., R. van Treuren, J. Haeck & K. Reinink, 1991. De omvang van genetische verarming in twee zeldzame plantesoorten in Nederland, Veldsalie en Duifkruid. *De Levende Natuur* 92 (6): 206-212.
- Reijnders, P.J.H., 1989. The recent virus outbreak amongst harbour seals in the Wadden Sea: possible consequences for population trends. *Wadden Sea Newsletter*: 10-12.
- Treuren, R. van, 1993. The significance of genetic erosion for the extinction of locally endangered plant populations. Proefschrift, Universiteit van Groningen.
- Treuren, R. van, R. Bijlsma, N.J. Ouborg & M.M. Kwak, 1994. Relationships between plant density, outcrossing rates and seed set in natural and experimental populations of *Scabiosa columbaria*. *Journal of Evolutionary Biology* 7: 287-302.

Summary

The use of molecular genetic techniques in nature conservation

New genetic techniques operating at the molecular level, such as protein electrophoresis, RFLP analysis, and DNA fingerprinting, reveal generally much more genetic variation than can be observed at the morphological level. For this reason they are useful tools in determining the extent and patterns of genetic variation in species and populations. In conservation biology, where one often has to deal with small numbers and low levels of genetic variation, some problems can be solved with these techniques. It is shown here how they can be successfully used to study phylogenetic questions and hybridization problems. Moreover they can be used to determine population structure and to get a better understanding of demographic processes (e.g. mating systems, migration rates, population size). Therefore these techniques can contribute to the development of better management measures for the preservation of endangered species.

Dr. R. Bijlsma
Genetisch Instituut, RUG
Kerklaan 30
9751 NN Haren

klein zijn met een relatief hoge uitsterfkans, kan door migratie weer herkolonisatie optreden. Door dit proces van lokale extinctie en herkolonisatie heeft de metapopulatie als geheel een zeer lage uitsterfkans, tenminste als er voldoende migratie is, zodat de herkolonisatiekans groot genoeg is om de extinctie te overtreffen. Migratie speelt dus een essentiële rol in een metapopulatiestructuur. Met behulp van moleculaire technieken is het mogelijk meer inzicht te krijgen in de mate van migratie. Deze kan indirect worden afgeleid uit de mate van divergentie tussen (sub)populaties, maar ook kan de verspreiding van genen direct gevolgd worden. Zo vonden Berry et al. (1991) dat in een Huismuis populatie op het Schotse eiland Isle of May, 75 hectare groot, veel migratie optrad. Zij introduceerden in de lokale populatie op één punt van het eiland 75 muizen die genetisch, op eiwit niveau, afweken van de al aanwezige muizen. Binnen zes maanden na introductie werden deze "afwijkende" genen al overal op het eiland teruggevonden. Het verspreidingspatroon van veel diersoorten in Nederland lijkt op een metapopulatiestructuur, maar er is nog relatief weinig bekend over de ecologische en genetische consequenties van een dergelijke structuur. Om hier inzicht in te krijgen wordt momenteel door de onderzoeksgroep Populatiegenetica van de Rijksuniversiteit Groningen en de afdeling Landschapsoecologie van het Instituut voor Bos en Natuuronderzoek te Wageningen onderzoek verricht aan de Noordse woelmuis (*Microtus oeconomus*). Deze soort lijkt, met name voor de populaties in het Deltagebied, een dergelijke metapopulatiestructuur te bezitten (Van Apeldoorn et al., 1992).