

# Genetisch onderzoek muurhagedissen in Nederland

T.b.v. risicoanalyse geïntroduceerde exotische muurhagedissen en genetische vitaliteit autochtone populatie Maastricht



REPTIELEN AMFIBIEËN VISSSEN ONDERZOEK NEDERLAND



provincie limburg





# **Genetisch onderzoek muurhagedissen in Nederland**

## **T.b.v. risicoanalyse geïntroduceerde exotische muurhagedissen en genetische vitaliteit autochtone populatie Maastricht**

Een rapportage van RAVON  
in opdracht van Provincie Limburg & Bureau Risicobeoordeling en Onderzoeksprogrammering (BuRO) - Nederlandse Voedsel en Warenautoriteit (NVWA)

Frank Spikmans, & Joop Ouborg  
Juni 2015



Stichting RAVON  
Postbus 1413  
6501 BK Nijmegen  
[www.ravon.nl](http://www.ravon.nl)

**Radboud Universiteit**



Radboud University Nijmegen  
Institute for Water and Wetland Research  
Experimental Plant Ecology  
Postbus 9010  
6500 GL Nijmegen

Colofon

© 2015 Stichting RAVON, Nijmegen

Rapportnummer: 2013-091

Tekst: Frank Spikmans, Joop Ouborg

Foto's rapport: Joran Janse, Arnold van Rijsewijk & Frank Spikmans

In opdracht van: Provincie Limburg & Bureau Risicobeoordeling en  
Onderzoeksprogrammering (BuRO) - Nederlandse Voedsel en Warenautoriteit (NVWA)

Wijze van citeren: Spikmans, F. & Joop Ouborg, 2015. Genetisch onderzoek  
muurhagedissen in Nederland t.b.v. risicoanalyse geïntroduceerde exotische muurhagedissen  
en genetische vitaliteit autochtone populatie Maastricht. Stichting RAVON, Nijmegen.

Bij gebruik en publicatie van de gegevens dient in alle gevallen duidelijke bronvermelding  
plaats te vinden.

## INHOUD

SAMENVATTING .....	4
1 INLEIDING.....	6
2 MATERIAAL EN METHODE .....	8
2.1 Verzamelen genetische samples.....	8
2.2 Herkomst geïntroduceerde populaties.....	9
2.3 Genetische vitaliteit en uitwisseling tussen populaties .....	10
3 RESULTATEN .....	12
3.1 Herkomst geïntroduceerde populaties.....	12
3.2 Aanwezigheid uitheemse muurhagedissen in Maastricht.....	19
3.3 Genetische vitaliteit van de autochtone populatie .....	20
3.4 Uitwisseling tussen populaties in Maastricht.....	21
4 DISCUSSIE EN CONCLUSIE.....	26
4.1 Geografische herkomst geïntroduceerde populaties.....	26
4.2 Wijze van introductie.....	29
4.3 Uitheemse muurhagedissen in Maastricht & risico voor inheemse muurhagedissen.....	30
4.4 Genetische vitaliteit populaties in Maastricht.....	31
4.5 Maatregelen en handelingsperspectief .....	32
4.6 Vervolgonderzoek .....	34
5 LITERATUUR.....	35
DANKWOORD.....	38
Bijlage 1. Actuele verspreiding en knelpunten muurhagedis Maastricht .....	39
Bijlage 2. Bemonsterde muurhagedispopulaties en gegevens Genbank.....	40
Bijlage 3. Genetische vitaliteit per locus.....	43
Bijlage 4. Hardy en Weinberg-evenwicht per locus.....	46
Bijlage 5. P-distance tussen cytochrom b sequenties .....	47
Bijlage 6. Assignment waarden Hoge en Lage Fronten.....	50



## SAMENVATTING

De muurhagedis (*Podarvis muralis*) is Nederlands meest zeldzame reptielsoort, met slechts één autochtone populatie in Maastricht. Hier leeft de soort aan de uiterste noordelijk grens van zijn areaal, geïsoleerd van populaties in de regio. Om de soort duurzaam te behouden zijn ontsnipperingsmaatregelen gepland. De belangrijkste daarvan is de realisering van een verbinding tussen de Hoge en Lage Fronten. Om later vast te kunnen stellen of deze verbinding daadwerkelijk bijdraagt aan een betere uitwisseling van individuen tussen deze twee leefgebieden, is in dit onderzoek een nulsituatie vastgelegd. Er is hierbij gekeken naar de genetische structuur en vitaliteit van de beide populaties, met behulp van acht microsatellietenmarkers. Deze genetische vitaliteit wordt vergeleken met gegevens van enkele Duitse populaties.

Op basis van de genetische structuur kan worden vastgesteld of er individuen uitwisselen tussen de populaties in Hoge en Lage Fronten. De resultaten laten zien dat er nauwelijks uitwisseling plaatsvindt. Slechts één van de 75 onderzochte muurhagedissen is waarschijnlijk vanuit de hoge Fronten naar de Lage Fronten gemigreerd. Er is echter geen sprake van een sterke genetische differentiatie tussen de beide populaties ( $P\text{-distance} = 0,053$ ). De tussenliggende Cabergerweg kan gezien worden als een belangrijke barrière tussen de populaties.

In beide populaties zijn aanwijzingen voor het optreden van inteelt. In vergelijking met Duitse populaties is de inteeltcoëfficiënt hoog. Ook de genetische differentiatie is ten opzichte van de Duitse populaties hoger dan de onderlinge genetische differentiatie. De effectieve populatiegrootte van de populaties in de Hoge Fronten en Lage Fronten is lager dan bij de Duitse populaties.

De aanwezigheid van exotische muurhagedissen vormt een bedreiging voor de populatie inheemse muurhagedissen. De risico's bestaan met name uit hybridisatie en verdringing van inheemse muurhagedissen. De Maastrichtse populatie beschikt waarschijnlijk over adaptaties aan het voorkomen aan de noordelijke grens van het areaal van de soort. Deze unieke kenmerken kunnen door hybridisatie verloren gaan. Om dit risico beter in beeld te brengen is onderzocht wat de herkomst is van geïntroduceerde muurhagedissen, welke introductieroutes er zijn en of er in Maastricht autochtone muurhagedissen aanwezig zijn. Bij het fylogenetische onderzoek is het haplotype van individuen bepaald door te kijken naar de sequenties van het cytochroom b gen. Deze worden onderling vergeleken en tevens met een uitgebreide Europese databank van sequenties uit het hele verspreidingsgebied van de muurhagedis.

Er bestaan momenteel 14 zichzelf instandhoudende geïntroduceerde muurhagedispopulaties in Nederland. In de tien onderzochte populaties zijn muurhagedissen uit zes verschillende clades aanwezig. In meer dan de helft van de gevallen zijn er haplotypes uit meerdere clades aanwezig, wat duidt op meervoudige introducties. Muurhagedissen uit de Oost Franse clade, waartoe ook de populatie in Maastricht behoort, zijn het vaakst aangetroffen. In Maastricht is een aantal muurhagedissen aanwezig met een afwijkende genetische structuur, wat duidt op de aanwezigheid van exotische muurhagedissen. Analyse van het mitochondriaal DNA laat zien dat er drie individuen in de Hoge Fronten aanwezig zijn met een West Frans haplotype en in de Lage Fronten een muurhagedis met een Toscaans haplotype. Analyse van nucleair DNA (microsatellieten) laat echter geen verschil zien tussen deze individuen en de rest van de populatie.

Geconcludeerd wordt dat de introductie en aanwezigheid van exotische muurhagedissen een reële bedreiging vormen voor de populatie in Maastricht, maar dat er op dit moment geen

sterke aanwijzingen zijn dat de genetische integriteit van deze populatie hierdoor al aangetast is.

Het aantal locaties met geïntroduceerde muurhagedissen is sinds 1999 sterk gestegen. Opzettelijke uitzetting en toevallige uitzetting door handelsactiviteiten zijn de belangrijkste wijzen waarop deze introducties nu plaatsvinden.

De resultaten van het onderzoek onderstrepen het belang van het nemen van maatregelen. De maatregelen dienen in Maastricht gericht te zijn op de verbinding en vergroting van leefgebieden. Hiermee kan voorkomen worden dat de genetische erosie zich doorzet.

Maatregelen om het risico van exotische muurhagedissen te beperken kunnen bestaan uit het voeren van een uitsterfbeleid bij de bestaande populaties, beperking van het risico op nieuwe uitzettingen door handelsactiviteiten, monitoring van exotische muurhagedissen (early-warning) en voorlichting van het publiek over de risico's van de introductie van exotische muurhagedissen.



# 1 INLEIDING

De muurhagedis (*Podarcis muralis*) is Nederlands meest zeldzame reptielsoort en volgens de laatste Rode Lijst ernstig bedreigd (van Delft et al., 2007). De enige autochtone populatie leeft in Maastricht en dit is wereldwijd de meest noordelijke populatie van deze soort (Tilmans & Frissen-Moors, 2009). De populatie is sinds de jaren '80 hersteld vanuit een diep dal. Actuele stedelijke ontwikkelingen in Maastricht vormen een bedreiging van zijn leefgebied, maar bieden eveneens kansen voor verbeteringen, zoals via de geplande ontsnipperingsmaatregelen (Spikmans & Bosman, 2013). De actuele verspreiding van de muurhagedis en knelpunten in zijn leefgebied zijn op kaart weergegeven (bijlage 1). De noodzaak en effectiviteit van ontsnipperingsmaatregelen kan door genetisch onderzoek vastgesteld worden.

De muurhagedis is daarnaast op diverse locaties in Nederland geïntroduceerd, waaronder ook locaties in de nabijheid van Maastricht. Introducties leiden regelmatig tot het ontstaan van zichzelf instandhoudende populaties. Zeer waarschijnlijk betreft het daarbij muurhagedissen die afkomstig zijn van elders uit Europa en tot een andere ondersoort behoren. Dergelijke introducties hebben in Duitsland geleid tot hybridisatie met autochtone muurhagedissen, waarbij het autochtoon DNA volledig kan verdwijnen (Schulte *et al.*, 2012b). Dit vormt een bedreiging van de genetische integriteit van de autochtone populaties. De Maastrichtse populatie beschikt waarschijnlijk over adaptaties aan het voorkomen aan de noordelijke grens van het areaal van de soort. Deze unieke kenmerken kunnen door hybridisatie verloren gaan.

Het onderzoek heeft zich gericht op de volgende vragen:

- (1) Wat is de herkomst van geïntroduceerde muurhagedissen in Nederland?
- (2) Zijn er uitheemse muurhagedissen in Maastricht aanwezig?
- (3) Wat is de genetische vitaliteit van de autochtone populatie muurhagedissen in Maastricht?
- (4) Vindt er uitwisseling van muurhagedissen plaats tussen de deelpopulaties in Maastricht?

De resultaten van dit onderzoek bieden inzicht in het risico dat uitgaat van de aanwezigheid van geïntroduceerde muurhagedissen (onderzoeksvragen 1 en 2). Op basis hiervan kan een betere inschatting gemaakt worden of exotische muurhagedissen een reële bedreiging vormen voor de autochtone populatie en of er reden is actie te ondernemen. Het onderzoek kan aldus aanleiding geven om exotische populaties te elimineren. Hoewel bestrijding van reptielen in Nederland niet eerder is uitgevoerd, achten we deze maatregel voor (exotische) muurhagedissen zeer kansrijk.

Daarnaast leidt het onderzoek tot inzicht in de actuele genetische kwaliteit van de populatie in Maastricht, op basis waarvan het effect van te nemen maatregelen (gericht op verbetering van het leefgebied) bepaald kan worden (onderzoeksvragen 3 en 4).



## 2 MATERIAAL EN METHODE

In dit hoofdstuk wordt beschreven op welke wijze het onderzoek is uitgevoerd. Getracht is om de beschrijving van het genetisch onderzoek begrijpelijk en beknopt te beschrijven. In dit hoofdstuk is daartoe ook een verklarende woordenlijst opgenomen. Een gedetailleerde beschrijving van de aanpak van het genetisch onderzoek wordt gegeven in Verhoek (2015).

### 2.1 Verzamelen genetische samples

#### Selectie onderzoekslocaties

Er zijn elf geïntroduceerde populaties van muurhagedis onderzocht, waarvan bekend is dat ze zich al enkele jaren zelfstandig in stand houden. De locaties zijn bepaald op basis van gegevens uit de Nationale Databank Flora en Fauna (NDFFF). Indien nodig, is vooraf verdere navraag bij de waarnemer of terreineigenaar gedaan om meer duidelijkheid over de precieze situatie te verkrijgen.

Daarnaast heeft het onderzoek zich gericht op de enige autochtone populatie in Nederland, te Maastricht. Samples zijn verzameld in de Hoge Fronten en de Lage Fronten. Een deel van de samples is verzameld op terreinen die grenzen aan de Lage Fronten (spoorwegemplacement en goederenspoorlijn). Deze worden in deze studie gerekend tot de deelpopulatie Lage Fronten, omdat er geen absolute barrières aanwezig zijn.

#### Sampling van muurhagedissen

Voor het verzamelen van genetische samples is ontheffing verkregen op artikel 11 van de Wet op de dierproeven (Wod). Genetische samples zijn verzameld in de periode september 2013 – oktober 2014, volgens de werkwijze van Schulte *et al.* (2011a). Muurhagedissen zijn gevangen met een stropje of met de hand. DNA-materiaal is afgenomen met een steriel wattenstaafje (swab) (Medical Wire & Equipment, MW-100). Het wattenstaafje is gedurende één minuut in de bek van de muurhagedis geplaatst en voorzichtig rond gedraaid. De wattenstaafjes zijn in steriele buisjes met een silicakorrel bewaard in een vriezer bij -20 graden Celsius. Bij juveniele dieren was het plaatsen van een wattenstaafje in de bek vaak onmogelijk, in welk geval enkele millimeters van de staartpunt is afgenomen. Van elke geïntroduceerde populaties zijn voor de bepaling van de herkomst 1 tot 7 individuen gesampled. In Maastricht zijn voor de bepaling van de genetische vitaliteit van de populatie in de Hoge en Lage Fronten respectievelijk 29 en 46 individuen gesampled (tabel 1).

*Tabel 1. Aantal gesamplede muurhagedissen per onderzoekslocatie.*

Gebiedsnaam	x-coördinaat	y-coördinaat	Aantal gesamplede muurhagedissen
<b>Inheemse populatie</b>			
Maastricht - Hoge Fronten	175401	318014	29
Maastricht - Lage Fronten	175800	318700	46
<b>Geïntroduceerde populatie</b>			
Bemelerberg	181585	317877	3
Dordrecht - haven	103972	423321	2
Echt - steenhandel	187580	346642	4
Eijsden	178049	309044	7
Heeswijk Dinther - kerkhof	161454	406463	5
Hengelo - tuincentrum	254650	476357	4
Nijmegen - botanische tuin	188601	425801	1
Barneveld - station Noord	169464	463676	5
Tilburg - Koningshoeven	136054	395310	2
Tolkamer - volkstuinten	204804	429539	4
Utrecht - botanische tuin	140086	455587	3

## 2.2 Herkomst geïntroduceerde populaties

Om de herkomst van geïntroduceerde populaties vast te stellen, is gekeken naar de sequentie van een stuk mitochondriaal DNA, het cytochroom b gen. Mitochondriaal DNA wordt via de moeder doorgegeven aan het nageslacht, zonder dat daarbij versmelting met het DNA van de vader plaatsvindt, zoals bij nucleair DNA het geval is. Doordat mutaties optreden die in de loop der tijd opstapelen in populaties, kunnen populaties die van elkaar gescheiden zijn geraakt op basis van het verschil in het mitochondriaal DNA onderscheiden worden. Elke unieke sequentie wordt een haplotype genoemd. Het verschil tussen haplotypen wordt uitgedrukt als p-distance (het percentage nucleotiden van totaal dat verschilt).

Of er uitheemse muurhagedissen in Maastricht aanwezig zijn is gekeken naar de aanwezige haplotypen op basis van het cytochroom b gen uit het mitochondriaal DNA. Het DNA is uit de samples verkregen met behulp van DNA isolation kits. Het DNA is geamplificeerd met een PCR. Vervolgens is de sequentie bepaald van een fragment van 656 baseparen uit het cytochroom b. De gevolgde werkwijze van de genotypering is in detail beschreven in Verhoek (2015).

De sequenties uit dit onderzoek zijn vergeleken met cytochroom b-sequenties van diverse andere onderzoeken, zoals opgeslagen in genbank (Bijlage 2: Carranza et al., 2004, Busack et al., 2005, Schulte et al., 2001b, Schulte et al., 2012a, Gassert et al., 2013, Castilla et al., 1998 en Giovannotti et al., 2010). De fylogenetische stamboom is geanalyseerd met het programma MrBayes 3.1.1 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). Er zijn 1 miljoen Monte Carlo Markov Chain-generaties uitgevoerd, met een sample frequency van 100 generaties. Dit was voldoende om de gemiddelde standaarddeviatie onder de 0,01 te krijgen. De fylogenetische stamboom met de posterior probabilities is weergegeven met FigTree v1.4.2. (Rambaut, 2006). De P-distance tussen de verschillende sequenties is berekend met de maximum composite likelihood methode in het programma MEGA6 (Tamura et al., 2013).

## 2.3 Genetische vitaliteit en uitwisseling tussen populaties

### Genotypering met microsatellieten

Het DNA is uit de samples verkregen met behulp van DNA isolation kits. Het DNA is geamplificeerd met een PCR. Van de individuen uit de populatie Lage Fronten en Hoge Fronten in Maastricht is het genotype bepaald m.b.v. 8 polymorfe microsatellietmarkers; vier zijn voor *Podarcis muralis* ontwikkeld (A7, B3, B4, C8, één voor *Zootoca vivipara* (Lv-4-alpha) en drie voor *Podarcis bocagei* (Pb10, Pb50, Pb73). Gedetailleerde gegevens over deze markers zijn te vinden in Verhoek (2015). Van de PCR-producten is vervolgens de sequentie bepaald. De allelen zijn in het programma Gene Marker v2.6.3 gescoord. De gevolgde werkwijze van de genotypering is in detail beschreven in Verhoek (2015).

Microsatellietdata van 12 populaties uit Duitsland zijn van Schulte (2012b) verkregen; Freiburg Dreisam (n=52), Freiburg Messe (n=22), Inzlingen (n=14), Lörrach (n=9), Wölblin (n=62), Mannheim (n=49), Bramsche (n=60), Wittlich (n=50), Nörten-Hardenberg (n=40), Dresden (n=63), Schloß Holte-Stukenbrock (n=64), Ammelshain (n=81). Deze data worden gebruikt als referentie ten opzichte van de populaties in Maastricht.

### Analyses microsatellietdata

Met de ruwe microsatellietdata zijn de volgende analyses uitgevoerd om te bepalen of er sprake is van isolatie en genetische erosie in de populaties in Maastricht. Details over de wijze waarop deze analyses zijn uitgevoerd, worden gegeven in Verhoek (2015).

De microsatellietdata zijn gecontroleerd op null-allelen met het programma Microchecker 2.2.3 (Oosterhout, 2004). Om recente bottlenecks te achterhalen is het programma Bottleneck 1.2.02 (Cornuet & Luikart, 1996) gebruikt. Het programma GenAlEx 6.501 (Peakall & Smouse, 2006) is gebruikt voor het berekenen van het aantal allelen ( $N_a$ ), expected en observed heterozygositeit ( $H_e$  en  $H_o$ ) voor elke locus en populatie. Fstat 2.9.3.2 (Goudet, 2001) is gebruikt voor het berekenen van de allelic richness ( $A_r$ ) en inteeltcoëfficiënt ( $F_{is}$ ). NeEstimator 2.01 (Do *et al.*, 2014) is gebruikt voor het berekenen van de effective population size ( $N_e$ ). Of er uitwisseling is tussen de populaties in Maastricht, is onderzocht met behulp van de volgende analyses. De assignment analyse en de pairwise  $F_{st}$  zijn in het programma GenAlEx uitgevoerd. Structure 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000) is gebruikt voor het analyseren van de genetische structuur tussen subpopulaties.

Verklarende woordenlijst

Microsatelliet	DNA fragment met een repeterende base-sequentie (bv. CGCGCGCG of ATCATCATCATC...). Het aantal herhalingen varieert.
Locus (mv loci)	Specifieke locatie op het genoom = merker
Allel	Binnen een locus bestaat variatie in het aantal herhalingen van een base-sequentie, dit wordt polymorfie genoemd. De verschillende varianten binnen een locus worden allelen genoemd.
Allelfrequentie	Aantal individuen uit een steekproef dat een bepaalde allel op een locus bezit. Bij een allelfrequentie van 1 hebben alle individuen hetzelfde allel, bij een allelfrequentie van 0,5 heeft de helft van de individuen een bepaald allel.
Allelic richness	Aantal allelen per locus
Hetero- /homozygoot	De muurhagedis is diploid, en bezit van elke locus 2 kopieën. Als er op een locus twee dezelfde allelen aanwezig zijn, is het individu homozygoot. Zijn er twee verschillende allelen, dan is het individu heterozygoot.
Hardy-Weinberg-evenwicht	De verwachte (expected) verhouding tussen homo- en heterozygoten op basis van gevonden allelfrequenties. Afwijkingen van het verwachte evenwicht (observed) kunnen het gevolg zijn van bv. selectie, mutatie, genetische drift, of gene flow.
Effective populaion size	Grootte van een ideale populatie ( $N_e$ ) die even veel aan genetische drift onderhevig is als de waargenomen census populatie ( $N_c$ ). Afwijkingen zijn te wijten aan verschillen in voortplantingssucces tussen individuen in een populatie, bijvoorbeeld als gevolg van een scheve sekseratio tijdens voortplanting (haremvorming). Gemiddeld genomen is de effectieve populatiegrootte tien maal kleiner dan de waargenomen populatiegrootte. Bij zeevissen is deze ratio eerder van de grootteorde één op honderdduizend. Individuen.
Genetische drift	Toevallige fluctuaties in de samenstelling van allelen in een populatie.
Genetische differentiatie	Maat voor de hoeveelheid genetische verschillen tussen populaties. Dit is het gevolg van een combinatie van toevalsprocessen (genetische drift), migratie en natuurlijke selectie. Hoe kleiner populaties zijn, hoe belangrijker het aandeel van genetische drift in genetische differentiatie is. Meer migratie leidt tot minder differentiatie. Wordt typisch weergegeven als $F_{st}$ , de inteeltcoëfficiënt $F$ van de subpopulatie ten opzichte van de totale metapopulatie.
Inteelt	Kruising (voortplanting) tussen verwanten. Leidt tot een toename van de homozygositeit. Wordt weergegeven door de inteeltcoëfficiënt $F$ .

### 3 RESULTATEN

De resultaten van de analyses worden in dit hoofdstuk besproken. Vanwege de technische aard is daar waar nodig in enkele zinnen een niet-technische samenvatting opgenomen.

#### 3.1 Herkomst geïntroduceerde populaties

Op basis van gegevens uit de NDFF en aanvullende bronnen is de aanwezigheid van geïntroduceerde muurhagedissen op 34 locaties in Nederland vastgesteld (figuur 1). De locaties liggen verspreid over het hele land. Op 14 locaties (41%) is er anno 2014 een zichzelf instandhoudende populatie aanwezig. Op 17 locaties zijn er één of enkele individuen waargenomen en is er (nog) geen sprake van een populatie. In drie gevallen (9%) gaat het om locaties waar de muurhagedis na enige tijd weer uitgestorven is (tabel 2). De herkomst van geïntroduceerde muurhagedissen is bepaald op basis van een fylogenetische analyse (figuur 2, tabel 2 en tabel 3).



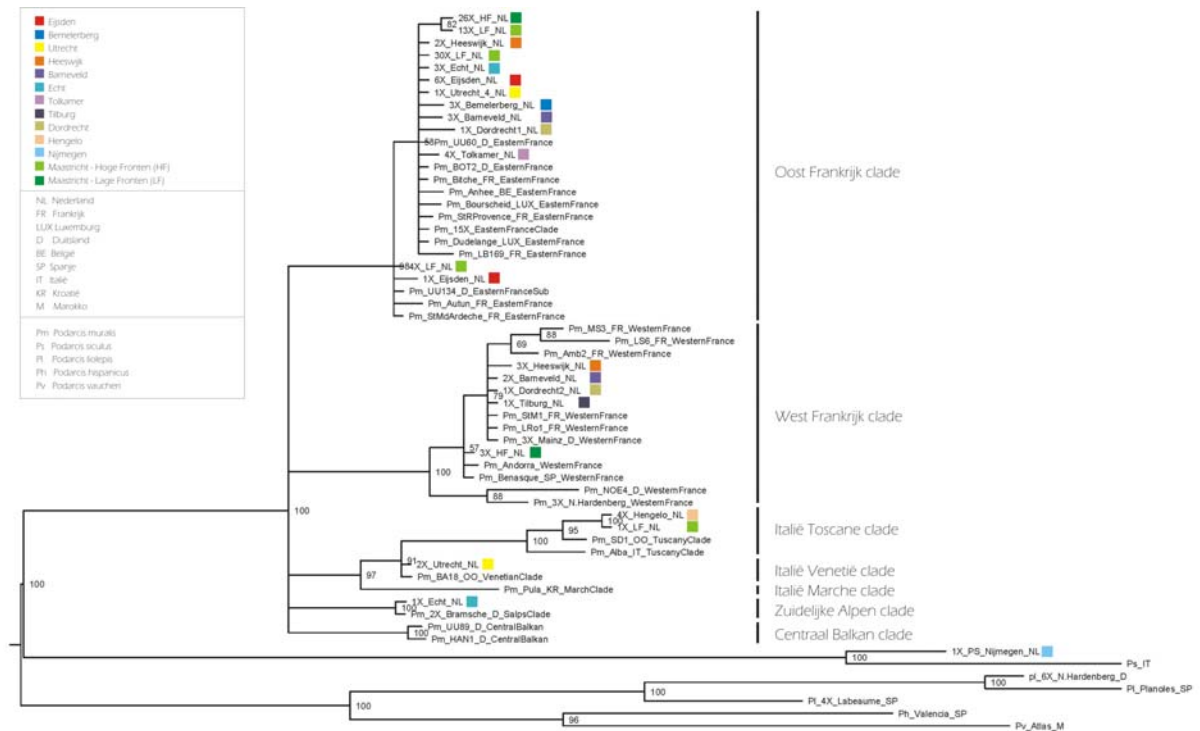
Figuur 1. Waarnemingen van geïntroduceerde muurhagedissen in Nederland, buiten het oorspronkelijke verspreidingsgebied (2005-2014). Locatienummering correspondeert met informatie in tabel 2.

*Tabel 2. Locaties met geïntroduceerde muurbagedissen in Nederland (2005-2014). Herkomst, wijze van introductie en status van de populatie is bepaald op basis van achtergrondinformatie. We spreken van een populatie wanneer er tientallen dieren aanwezig zijn en deze zich al meerder jaren handhaven. Onzekerheden hierbij zijn aangegeven met een vraagteken. De locaties zijn op kaart weergegeven in figuur 1.*

Nr	Locatie	Biotoop	Herkomst	Introductiewijze	Status
1	Eijsden	huis en tuin	Frankrijk (oost)	opzettelijke introductie	Populatie
2	Sint Pietersberg	natuurgebied	?	?	Individu
3	Eyserboschen	natuurgebied	?	?	Individu
4	Bemelerberg	natuurgebied	?	?	Populatie
5	Curfsgroeve	natuurgebied	?	?	Individu
6	Echt	steenhandel	Duitsland	Handel	Populatie
7	Kaldenkirchen	spoor	Zuidelijke Alpen	?	Populatie
8	Tilburg	industrieterrein	?	Handel	Populatie
9	Schijndel	onbekend	?	?	Individu
10	Heeswijk-Dinther	kerkhof	?	?	Populatie
11	Oss	natuurgebied	Frankrijk	?	Individuen
12	Nijmegen	botanische tuin	?	opzettelijke introductie	individu(en)?
13	Nijmegen	huis en tuin	Italië?	onopzettelijk transport	Individu
14	Tolkamer	volkstuin	?	?	Populatie
15	Oosterland	huis en tuin	?	?	Individu
16	Dordrecht	haven	?	Handel?	Populatie
17	Oud-Beijerland	industrieterrein	?	Handel	individu(en)- uitgestorven
18	Hellevoetsluis	huis en tuin	?	?	Individu
19	Oostvoorne	huis en tuin	Italië	onopzettelijk transport	Individu
20	Vlaardingen	onbekend	?	?	Individu
21	Schoonrewoerd	huis en tuin	Italië?	Handel	Individuen
22	Veenendaal	onbekend	?	?	Individu
23	Utrecht	botanische tuin	Italië	opzettelijke introductie	Populatie
24	Barneveld	spoor	?	?	Populatie
25	Aalsmeer	huis en tuin	?	opzettelijke introductie	populatie?
26	Amstelveen	huis en tuin	?	?	Individu
27	Hengelo	tuincentrum	Italië?	Handel	populatie
28	Hengelo	huis en tuin	Italië	opzettelijke introductie	individu(en) - uitgestorven
29	Loozen	botanische tuin	?	opzettelijke introductie	populatie
30	Hoogeveen	huis en tuin	?	Handel?	Individu*
31	Vledder	huis en tuin	Frankrijk & Duitsland	opzettelijke introductie	populatie
32	Texel	huis en tuin	Frankrijk	onopzettelijk transport	individu
33	Drachten	huis en tuin	Frankrijk	?	Individu - uitgestorven
34	Appingendam	huis en tuin	?	?	individu

\* waarschijnlijk gaat het hier om de Spaanse muurbagedis (*Podarcis hispanicus*)





Figuur 2. Fylogenetische boom op basis van het mitochondriaal cytochroom b gen van muurbagedissen (*Podarcis muralis*). Getallen geven de ‘posterior probabilities’ van een afsplitsing aan; een indicatie van de betrouwbaarheid van elke afsplitsing. Elke regel in de figuur staat voor een haplotype. Gelijkende haplotypes zijn geclusterd in clades. Benamingen van de clades zijn overgenomen uit Schulte et al. (2011b) en Gassert et al. (2013). De taklengte geeft het aantal substituties per nucleotide positie aan: hoe langer de tak, hoe groter het verschil tussen de haplotypen. De samples uit dit onderzoek zijn gekleurd weergegeven. Gegevens van de overige haplotypes zijn afkomstig uit GenBank (zie bijlage 2).

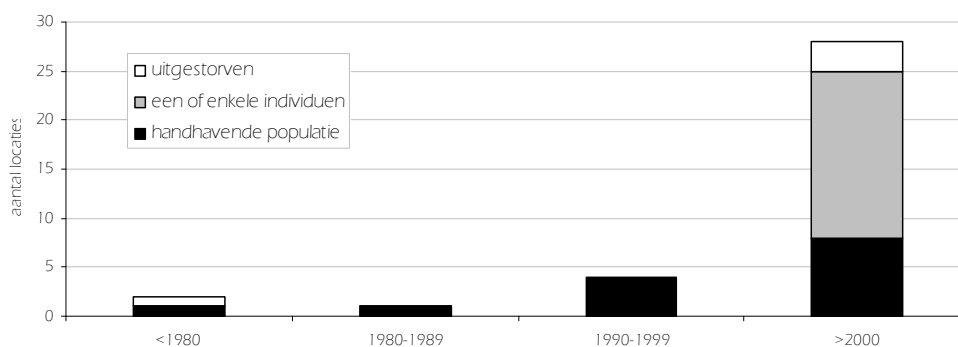
Tabel 3. Herkomst van in Nederland geïntroduceerde muurbagedissen, op basis van achtergrond informatie over de uitzetting en op basis van mitochondriaal DNA haplotypering. Benamingen van de clades

Locatie	Herkomst o.b.v. achtergrond informatie	Clade o.b.v. mitochondriale haplotypering*
Maastricht	Inheems	Oost-Frans, Italiaans (Toscane) & West-Frans
Eijsden	Oost-Frankrijk	Oost-Frans
Bemelerberg	?	Oost-Frans
Echt	Duitsland	Oost-Frans & Zuid-Alpen
Tilburg	?	West-Frans
Heeswijk Dinter	?	Oost-Frans & West-Frans
Tolkamer	?	Oost-Frans
Dordrecht	?	Oost-Frans & West-Frans
Utrecht	Italië	Italiaans (Venetië) & Oost-Frans
Barneveld	?	Oost-Frans & West-Frans
Hengelo	Italië?	Italiaans (Toscane)

overeenkomstig Schulte et al., 2011b.

### Introductieroutes

Uitzettingen van muurhagedissen in Nederland zijn bekend vanaf de jaren '60. Tot en met de jaren '80 van de vorige eeuw blijft het bij een beperkt aantal gevallen. Sinds de jaren '90 is er een toename, welke sinds de eeuwwisseling verder versterkt is (figuur 3). 80% van de bekende uitzettingen is uitgevoerd na 1999. In de meeste gevallen gaat het (nog) om een of enkele individuen. Momenteel zijn er 14 populaties die zich in Nederland handhaven, waarvan 57% is uitgezet na 1999.



Figuur 3. Aantal locaties met waarnemingen van geïntroduceerde muurhagedissen in Nederland en hun status anno 2014, ingedeeld naar het decennium waarin de uitzetting heeft plaatsgevonden.

Van de 34 bekende locaties met geïntroduceerde muurhagedissen is van 17 locaties de (waarschijnlijke) wijze van introductie bekend (tabel 2). In al deze gevallen zijn de introducties door de mens, opzettelijk of onopzettelijk, uitgevoerd. Opzettelijke introductie door liefhebbers van reptielen is in gelijk mate als het transport van muurhagedissen via handelsactiviteiten verantwoordelijk voor de introductie van exotische muurhagedissen in Nederland (beide 41%, figuur 4). Muurhagedissen worden door liefhebbers uitgezet in botanische of particuliere tuinen, zoals het geval is in Utrecht, Nijmegen, Loozen en Vledder. In zeven gevallen kan de wijze van introductie waarschijnlijk toegeschreven worden aan handelsactiviteiten. De muurhagedissen zijn in deze gevallen waarschijnlijk onbedoeld meegelift samen met de handelswaren. Op de plaats van bestemming in Nederland hebben ze in op of rond het betreffende bedrijf leefgebied gevonden. Zo worden muurhagedissen aangetroffen bij bedrijven die handelen in: natuurstenen (Echt), tuinornamenten (Tilburg), olijfbomen (Hengelo), bloemen (Schoonrewoerd) en landbouwmachines (Oud-Beijerland). Ter illustratie is informatie over de waarschijnlijke introductieroute via bloementransport in Schoonrewoerd hieronder in een kader opgenomen.

In drie gevallen (18%, figuur 4) is bekend dat het gaat om muurhagedissen die onopzettelijk vanaf een vakantiebestemming zijn getransporteerd naar Nederland. Dit betekent dat een muurhagedis is meegelift in de bagage of de auto en bij thuiskomst in Nederland is ontsnapt naar de omgeving. Exotische muurhagedissen worden ook regelmatig op spoorlijnen aangetroffen (Barneveld en Kaldenkirchen), waar ze mogelijk onbedoeld meeliften op treinen of met ballast worden aangevoerd. Omdat de introductieroute hiervan niet duidelijk is, zijn deze niet opgenomen in figuur 4.



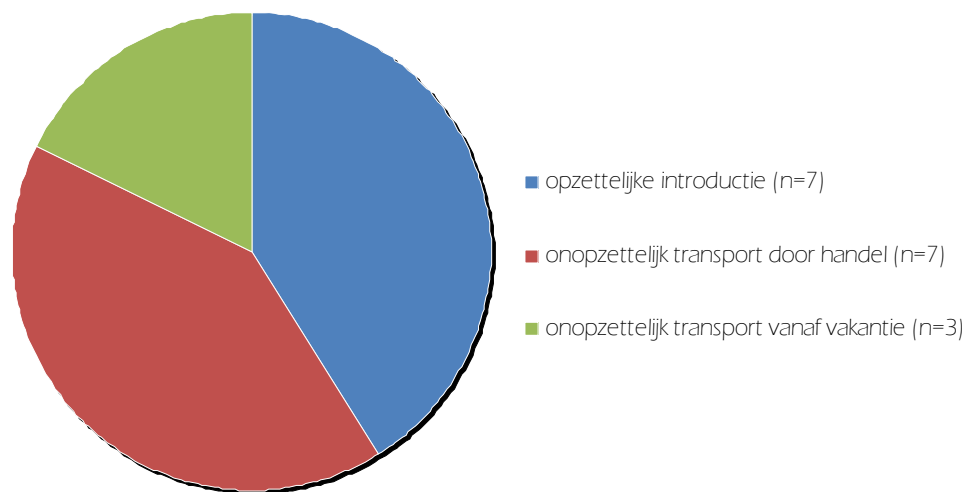
**OVER DEIJ TRANSPORT**

Deij Transport is een internationaal transportbedrijf dat op 3 november 1989 door Arno Deij is opgericht. Hij begon als eigen rijder met het transport van groente naar Duitsland. In 1995 breidde het wagenpark zich uit en werden er bloemen en planten vervoerd naar de Balkanlanden. Sinds 1998 is Deij Transport zich gaan richten op het vervoer van bloemen en planten naar Italië.



Bron: [www.deijtransport.nl](http://www.deijtransport.nl), geraadpleegd 24-12-2014

*Voorbeeld van een introductie van muurbagedis via handelsactiviteiten. De muurbagedis is aangetroffen in een particuliere tuin naast een transportbedrijf dat bloemen vervoert naar Italië.*



*Figuur 4. Wijzen waarop muurbagedissen in Nederland geïntroduceerd worden (2005-2014, n=17).*

Impressie van het leefgebied van muurhagedissen op diverse locaties waar een oorspronkelijke (Maastricht) of geïntroduceerde populatie leeft.



*Eijsden (FS)*



*Bemelerberg (FS)*



*Echt (JJ)*



*Utrecht (FS)*



*Monstername bij muurhagedis in Tilburg met behulp van een wattenstaafje (AR)*



*Heeswijk (FS)*



*Barneveld (JJ)*



*Tolkamer (Hans-Jörgen Wernicke)*



*Tilburg (FS)*



*Dordrecht (Richard Struijk)*



*Hengelo (FS)*



*Maastricht – Lage Fronten (JJ)*



*Maastricht – Hoge Fronten (JJ)*

### 3.2 Aanwezigheid uitheemse muurhagedissen in Maastricht

De aanwezigheid van uitheemse muurhagedissen is onderzocht door genotypering op basis van mitochondriaal DNA en door een analyse met behulp van nucleair DNA (microsatellieten).

#### Hoge Fronten

In de Hoge Fronten zijn 29 individuen bemonsterd. Er zijn hier twee verschillende haplotypen gevonden, behorende tot twee clades. 26 individuen hebben een haplotype dat overeenkomt met de Oost Franse clade (waartoe ook België, Luxemburg en Maastricht behoort), met een P-distance van 0,008 (figuur 2, bijlage 5). Bij drie individuen is er een haplotype gevonden dat overeenkomt met de West Franse clade, met een P-distance van 0,004. De P-distance tussen de twee haplotypen is 0,048.

Op basis van nucleair DNA (microsatellieten) is gekeken naar de populatiestructuur van de Hoge Fronten (figuur 5). Hieruit blijkt dat het nucleair DNA van de individuen met het mtDNA haplotype uit de West Franse clade overeen komt met dat van andere individuen uit de Hoge Fronten. In figuur 5 zijn deze drie individuen met een groene pijl aangegeven.

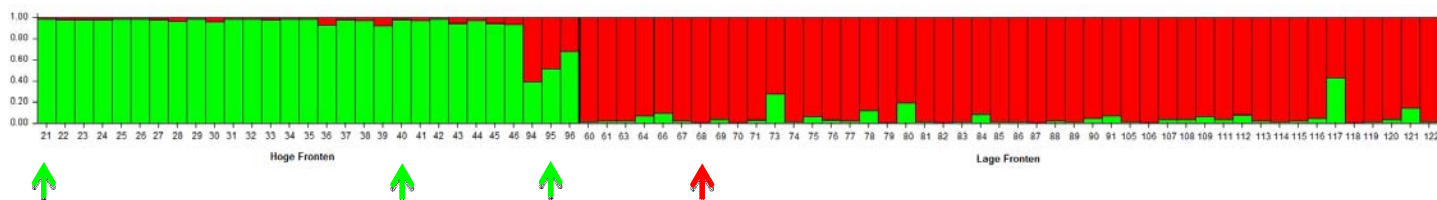
Niet-technisch samengevat: drie van de 29 onderzochte individuen in de Hoge Fronten vertonen enige genetische overeenkomst met muurhagedissen in West-Frankrijk.

#### Lage Fronten

In de Lage Fronten zijn 48 individuen bemonsterd. Er zijn hier vier verschillende haplotypen gevonden. 30 individuen hebben een identiek haplotype dat overeenkomt met de Oost Franse clade, met een P-distance van 0,008. 13 andere individuen hebben een haplotype dat daar sterk op lijkt en ook behoort tot de Oost Franse clade. De P-distance tussen deze twee verschillende haplotypen is 0,002. Vier individuen hebben een haplotype dat overeenkomt met de Oost Franse clade, met een P-distance van 0,008. Het haplotype van één individu komt overeen met de Toscaanse clade, met een P-distance van 0,009. De P-distance tussen het haplotype van de individuen die overeenkomen met de Oost Franse clade en het haplotype van het individu dat overeenkomt met de Toscaanse clade is 0,078.

Op basis van nucleair DNA (microsatellieten) is gekeken naar de populatiestructuur van de Lage Fronten (figuur 5). Hieruit blijkt dat het nucleair DNA van de individuen met het mtDNA haplotype uit de Toscaanse clade overeenkomt met dat van andere individuen uit de Lage Fronten. In figuur 5 is dit individu met een rode pijl aangegeven.

Niet-technisch samengevat: één van de 48 onderzochte individuen in de Lage Fronten vertoont enige genetische overeenkomst met muurhagedissen uit Toscane.



*Figuur 5. Populatiestructuur van de Hoge Fronten en Lage Fronten met het admixture model met correlated allele frequenties. Elke balk geeft een individu weer. De groene pijlen geven de individuen aan met een mtDNA haplotype uit de West Franse clade. De rode pijl geeft het individu aan met een mtDNA haplotype uit de Toscaanse clade.*

### 3.3 Genetische vitaliteit van de autochtone populatie

Twee monsters uit de Lage Fronten hadden een slechte DNA-kwaliteit, waardoor het niet is gelukt om de allelen van zeven van de acht loci te scoren. Deze monsters zijn niet mee genomen in de analyse. Er zijn zodoende 46 muurhagedissen uit de Lage Fronten en 29 uit de Hoge Fronten ge genotypeerd voor acht microsatellietloci. Er zijn geen aanwijzingen gevonden voor het voorkomen van null allelen.

Er is geen vermoeden van een recente bottleneck bij de populatie Hoge Fronten ( $p=0,76953$ ) of Lage Fronten ( $p=0,99609$ ) gevonden. De effective population size, aantal allelen, allelic richness, observed heterozygositeit, expected heterozygositeit en inteeltcoëfficiënt is per locus van elke populatie berekend, deze is te vinden in bijlage 3. De gemiddelde waarden per populatie zijn weergegeven in tabel 4.

De effective population size van de populaties Hoge Fronten en Lage Fronten is lager dan van bijna alle door Schulte onderzochte populaties uit Duitsland. De allelic richness is een maat waarbij het aantal allelen per locus gecorrigeerd wordt voor de kleinste sample size. In dit geval is dat de populatie uit Lörrach (Dld). De allelic richness is in de populatie Hoge Fronten lager dan in de Duitse populaties en in de populatie Lage Fronten is deze gelijk aan die in de Duitse populaties.

De observed heterozygositeit van de populaties Hoge Fronten en Lage Fronten is bij de meeste loci lager dan de expected heterozygositeit. Er zijn dus meer homozygote individuen aanwezig dan verwacht volgens een Hardy en Weinberg evenwicht. In de Hoge Fronten is er voor 5 van de 8 loci een significante afwijking van het HW-evenwicht, in de Lage Fronten geldt dit voor 6 van de 8 loci (bijlage 4). Hierdoor is de gemiddelde inteeltcoëfficiënt van beide populaties positief (Lage Fronten:  $F_{IS} = 0,282$  en Hoge Fronten  $F_{IS} = 0,134$ ). Ook wanneer gekeken wordt naar de aparte loci, zien we dat de  $F_{IS}$  zowel in de Hoge als Lage Fronten meestal positief is. In beide populaties zijn er dus zeer sterke aanwijzingen voor inteelt. De inteeltcoëfficiënt van de populaties Hoge Fronten en Lage Fronten zijn hoger dan die van vrijwel alle Duitse populaties.

Niet-technisch samengevat: de analyse van de genetische vitaliteit in de Hoge en Lage Fronten laat zien dat de genetische variatie laag is ten opzichte van populatie in Duitsland. Er is in beide leefgebieden sprake van inteelt.

Tabel 4. Hardy en Weinberg-analyse voor twee Maastrichtse en 12 Duitse muurbagedispopulaties (Schulte et al., 2012b). Het aantal monsters (N), effective population size (Ne), aantal allelen (Na), allelic richness (Ar), observed heterozygositeit (Ho), expected heterozygositeit (He), inteeltcoëfficiënt (Fis) voor elke populatie. De waarden zijn gemiddelden  $\pm$  standaarddeviatie.

Populatie	N (aantal samples)	Ne (Effective population size)	Na (aantal allelen)	Ar (allelic richness)	Ho (observed heterozygositeit)	He (expected heterozygositeit)	Fis (Inteelt coëfficiënt)
Hoge Fronten	29	24,1	4,625 $\pm$ 0,625	3,522	0,497 $\pm$ 0,058	0,562 $\pm$ 0,043	0,134
Lage Fronten	46	36,1	8,750 $\pm$ 1,319	5,273	0,500 $\pm$ 0,047	0,685 $\pm$ 0,044	0,282
Freiburg Dreisam	52	94,4	8,125 $\pm$ 0,953	5,554	0,712 $\pm$ 0,066	0,749 $\pm$ 0,023	0,059
Freiburg Messe	22	160,8	7,000 $\pm$ 0,845	5,490	0,705 $\pm$ 0,060	0,727 $\pm$ 0,033	0,054
Inzlingen	14	15,1	6,250 $\pm$ 0,940	5,493	0,688 $\pm$ 0,063	0,697 $\pm$ 0,052	0,051
Lörrach	9	52,9	6,375 $\pm$ 0,800	6,375	0,778 $\pm$ 0,047	0,725 $\pm$ 0,040	-0,014
Wölblin	62	2452	9,875 $\pm$ 1,846	5,844	0,667 $\pm$ 0,047	0,734 $\pm$ 0,041	0,100
Mannheim	49	277	8,375 $\pm$ 1,133	5,348	0,594 $\pm$ 0,091	0,666 $\pm$ 0,085	0,117
Bramsche	60	149	7,375 $\pm$ 1,149	4,511	0,564 $\pm$ 0,027	0,625 $\pm$ 0,054	0,106
Wittlich	50	206,2	4,875 $\pm$ 1,109	3,645	0,498 $\pm$ 0,070	0,520 $\pm$ 0,081	0,052
Nörten-Hardenberg	40	57,9	9,25 $\pm$ 1,567	6,296	0,644 $\pm$ 0,120	0,684 $\pm$ 0,106	0,072
Dresden	63	Infinite	5,25 $\pm$ 0,620	3,781	0,582 $\pm$ 0,048	0,637 $\pm$ 0,044	0,095
Schoß Holte-Stukenbrock	64	343,2	6,125 $\pm$ 1,394	3,658	0,535 $\pm$ 0,073	0,539 $\pm$ 0,074	0,015
Ammelshain	81	209,2	8,875 $\pm$ 3,061	4,747	0,530 $\pm$ 0,081	0,610 $\pm$ 0,101	0,137

### 3.4 Uitwisseling tussen populaties in Maastricht

#### Assignment

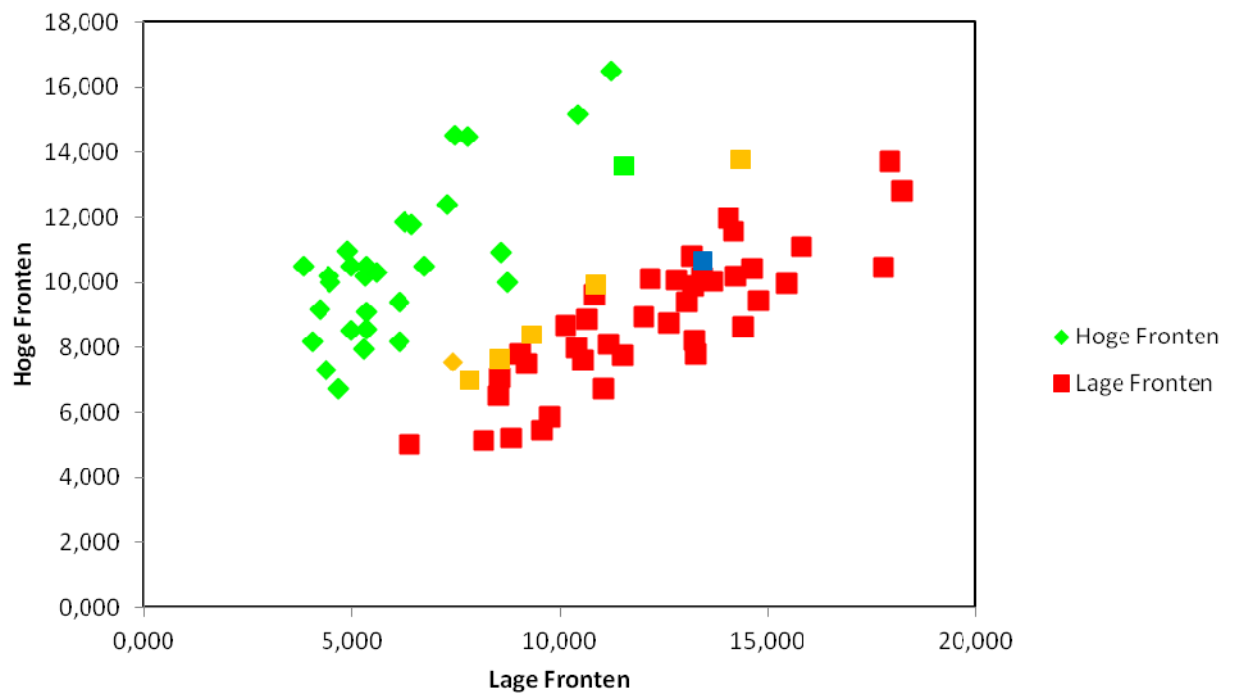
Er is een assignmentanalyse uitgevoerd tussen de populaties Hoge Fronten en Lage Fronten. In figuur 6 is de weergave van de likelihoodwaarden van elk individu te zien. De waarden van de maximum likelihood en de MLD van de assignmentanalyse zijn te vinden in bijlage 6. De kritische waarde van de maximum likelihood difference (MLD) is aangehouden op 1,0. Bij een MLD  $<$  1 kan een individu niet betrouwbaar worden toegewezen aan een populatie.

De meeste individuen kunnen toegewezen worden aan de populatie waar ze ook aangetroffen zijn. Er is één individu, afkomstig uit de Lage Fronten, dat toegewezen wordt aan de Hoge Fronten (MLD = 2,04). Er zijn vijf individuen afkomstig uit de Lage Fronten en één individu afkomstig uit de Hoge Fronten die niet betrouwbaar toe te wijzen zijn aan een populatie (MLD  $<$  1). Deze zijn in figuur 6 oranje weergegeven.

De assignmentanalyse is ook uitgevoerd met de Duitse populaties als referentie. Hieruit blijkt dat één individu uit de Lage Fronten wordt toegewezen aan de populatie Wittlich, het verschil tussen de likelihoods is 2,76. Dit individu is in figuur 6 blauw aangegeven.

Niet-technisch samengevat: de populaties in Hoge en Lage Fronten zijn van elkaar gescheiden, er vindt tussen beiden nauwelijks uitwisseling van individuen plaats.





Figuur 6. Weergave van assignment met de maximum likelihoodwaarden van elk individu. Ruiten zijn individuen die zijn gesampled in de Hoge Fronten, vierkanten zijn individuen uit de Lage Fronten. Kleuren geven aan, aan welke populatie het individu toegewezen is (Groen = toegewezen aan Hoge Fronten, Oranje = aan geen populatie toegewezen, Rood = toegewezen aan Lage Fronten, Blauw = toegewezen aan Wittlich (Dld.)).

#### Genetische differentiatie

De genetische differentiatie tussen de populaties (de  $F_{st}$  waarden, met p-values) is te vinden in tabel 5. In alle gevallen is de genetische differentiatie significant ( $P=0,001$ ). De  $F_{st}$  tussen de Hoge en Lage Fronten in Maastricht is 0,053, wat gezien wordt als een verwaarloosbare genetische differentiatie. De  $F_{st}$  waarden tussen de populaties Hoge Fronten en Lage Fronten ten opzichte van de populaties in Duitsland zijn hoger. Bij een  $F_{st}$  waarde groter dan 0,25 is er sprake van een zeer grote genetisch verschil.

Tabel 5. Genetische differentiatie tussen muurhagedispopulaties. Pairwise  $F_{st}$  is links onder de diagonaal aangegeven, de  $P$ -values rechts boven de diagonaal.

Afkortingen van de populaties: HF: Hoge Fronten; LF: Lage Fronten; FDr: Freiburg Dreisam; FMe: Freiburg Messe; In: Inzlingen; Lö: Lörrach; Wö: Wölblin; Ma: Mannheim; Br: Bramsche; Wi: Wittlich; Nö: Nörten-Hardenberg; Dr: Dresden; SH: Schloß Holte-Stukenbrock; Am: Ammelsbain.

	HF	LF	FDr	FMe	In	Lö	Wö	Ma	Br	Wi	Nö	Dr	SH	Am
HF		0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
LF	0,053		0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
FDr	0,161	0,119		0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
FMe	0,170	0,135	0,067		0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
In	0,185	0,144	0,090	0,087		0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Lö	0,168	0,125	0,071	0,091	0,096		0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Wö	0,188	0,139	0,093	0,105	0,121	0,103		0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Ma	0,184	0,155	0,119	0,099	0,065	0,150	0,157		0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Br	0,230	0,181	0,114	0,088	0,129	0,133	0,145	0,143		0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Wi	0,197	0,149	0,116	0,155	0,173	0,155	0,115	0,177	0,201		0,001	0,001	0,001	0,001
Nö	0,172	0,147	0,105	0,119	0,121	0,145	0,138	0,123	0,173	0,161		0,001	0,001	0,001
Dr	0,208	0,161	0,145	0,145	0,115	0,154	0,136	0,097	0,190	0,225	0,166		0,001	0,001
SH	0,177	0,147	0,146	0,155	0,175	0,166	0,124	0,170	0,208	0,108	0,099	0,200		0,001
Am	0,190	0,181	0,170	0,174	0,149	0,187	0,134	0,188	0,204	0,274	0,181	0,169	0,255	

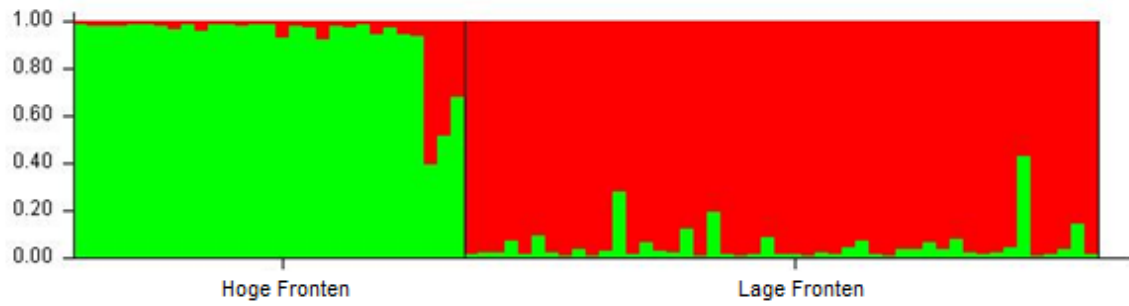
Er is een Structure analyse uitgevoerd om de populatiestructuur van de populaties Hoge Fronten en Lage Fronten in beeld te brengen. Figuur 7 geeft de populatiestructuur van het admixture-model met correlated allele frequenties weer en in figuur 8 is de structuur van de populaties met het admixture model met independant allele frequenties te zien.

Het is niet duidelijk welk model beter gebruikt kan worden. Beide modellen geven weer dat het om twee gescheiden populaties gaat. Bij het independant allele frequentiemodel zijn er meerdere individuen uit de Lage Fronten die gemixte afstamming weergeven. Bij het correlated allele frequentiemodel is dit minder te zien, in dit model hebben een aantal individuen uit de Hoge Fronten een gemixte afstamming.

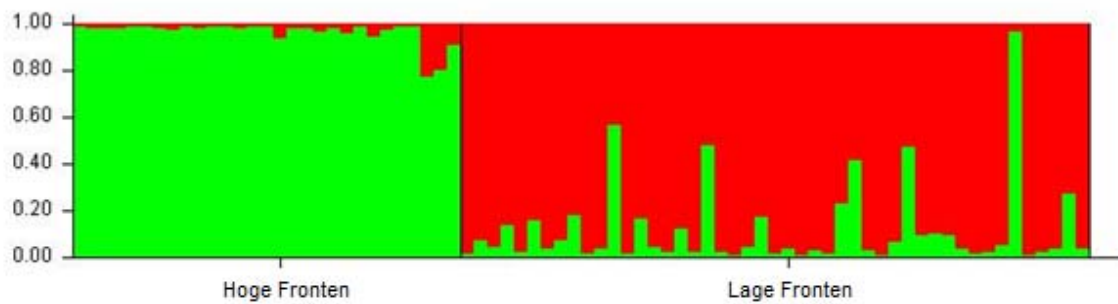
Structure laat een duidelijke indeling van individuen zien naar hun vindplaats. Er is sprake van twee duidelijk te onderscheiden populaties in de hoge en Lage Fronten (delta K methode:  $K=2$ , Verhoek, 2015).

De populatiestructuur komt overeen met de assignment analyse en de  $F_{st}$  waarden. De individuen uit de populatie Hoge Fronten hebben dezelfde afstamming en worden als één populatie weergegeven. In de populatie Lage Fronten zijn er enkele individuen die gedeeltelijk overeenkomen met de Hoge Fronten en de Lage Fronten. Dit zijn de individuen die met de assignmentanalyse niet aan een populatie toegewezen kunnen worden.

Niet-technisch samengevat: de muurhagedissen in Maastricht verschillen genetisch het sterkst van populaties in Maastricht. Minder sterk zijn de verschillen binnen Maastricht (tussen Hoge en Lage Fronten), maar evenwel is hier toch sprake van twee geschieden populaties.



Figuur 7. Structure-analyse met het admixture model met correlated allele frequenties ( $K=2$ ). Elk individu wordt weergegeven in een verticale lijn, verdeeld in  $K$  kleuren. Het geeft de verhouding weer van het aandeel van elk cluster per individu.



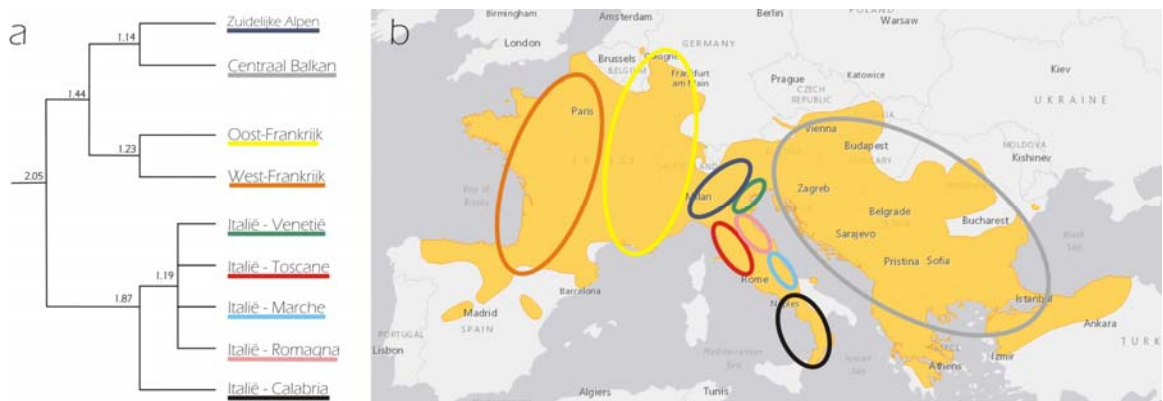
Figuur 8. Structure-analyse met het admixture model met independant allele frequenties ( $K=2$ ). Elk individu wordt weergegeven in een verticale lijn, verdeeld in  $K$  kleuren. Het geeft de verhouding weer van het aandeel van elk cluster per individu.



## 4 DISCUSSIE EN CONCLUSIE

### 4.1 Geografische herkomst geïntroduceerde populaties

Van tien geïntroduceerde populaties muurhagedissen (*Podarvis muralis*) in Nederland is getracht de geografische herkomst te achterhalen. Er wordt gebruik gemaakt van zowel achtergrondinformatie over de uitzetting, als de resultaten van het genetisch onderzoek. In het genetisch onderzoek zijn de muurhagedissen uit Nederland vergeleken met de bekende verspreiding van negen muurhagedis-clades in Europa. Binnen het verspreidingsgebied van de muurhagedis (figuur 9) worden grofweg 4 regio's onderscheiden: West-Frankrijk, Oost-Frankrijk, Italië en de Balkan. Binnen Italië is de diversiteit groter, omdat de muurhagedis hier heeft overleefd tijdens de ijstijden. In Italië wordt daardoor een verder onderscheid gemaakt in zes clades (figuur 9). De autochtone populatie in Maastricht behoort tot de Oost-Frankrijk-clade.



Figuur 9a: Onderverdeling van muurhagedis-clades en de tijd waarin de opsplitsingen ontstaan zijn (links, nummers geven aantal miljoen jaar geleden weer, aangepast naar Gassert et al., 2013).

Figuur 9b: Geografische verspreiding van de muurhagedis-clades over Europa (aangepast naar Schulte et al., 2011b). Oranje: verspreidingsgebied muurhagedis (Böhme et al. 2009).

De herkomst van de onderzochte geïntroduceerde populaties muurhagedis in Nederland wordt hier per onderzochte locatie besproken:

Eijsden	Muurhagedissen zijn door bewoners vanuit de Vogezen (Oost-Frankrijk) meegenomen en in tuin los gelaten. De aangetroffen haplotypen komen hiermee overeen (Oost Franse clade).
Bemelerberg	Het haplotype komt overeen met muurhagedissen uit Oost-Frankrijk, Benelux, West-Duitsland (Oost Franse clade). Gezien de geografische nabijheid betreft het mogelijk dieren uit Maastricht. We achten het niet plausibel dat het hier om een autochtone populatie gaat, zoals gesuggereerd door Noordwijk & Peeters (2008).
Echt	Het haplotype van drie onderzochte dieren komt overeen met muurhagedissen uit Oost-Frankrijk, Benelux, West-Duitsland (Oost Franse clade). Daarnaast is in 2014 één dier aangetroffen met een haplotype dat overeenkomt met muurhagedissen in de Zuidelijke Alpen. Eerder genetisch onderzoek op deze locatie toonde aan dat er

	muurhagedissen uit het Rijndal in Zuid-Duitsland aanwezig zijn (Crombaghs, 2004). Muurhagedissen uit deze omgeving behoren tot de Oost Franse clade. Het wordt bij deze steenhandel aannemelijk geacht dat muurhagedissen zijn aangevoerd vanuit meerdere bronnen.
Tilburg	Het haplotype komt overeen met muurhagedissen uit de West-Franse-clade.
Heeswijk-Dinther	Het haplotype van drie muurhagedissen komt overeen met muurhagedissen uit de West Franse clade. Twee dieren hebben een haplotype dat overeenkomt met muurhagedissen uit Oost-Frankrijk, Benelux, West-Duitsland (Oost Franse clade). Mogelijk zijn hier muurhagedissen uitgezet vanuit meerdere bronnen. Vermoedens dat het hier, op basis van de reeds lange aanwezigheid van de populatie (>30 jaar), kan gaan om een autochtone populatie, worden door de aanwezigheid van haplotypes uit twee verschillende clades ontkracht.
Tolkamer	Het haplotype komt overeen met muurhagedissen uit Oost-Frankrijk, Benelux, West-Duitsland (Oost-Franse-clade).
Dordrecht	Het haplotype van één muurhagedis komt overeen met muurhagedissen uit de West Franse clade. Eén dier heeft een haplotype dat overeenkomt met muurhagedissen uit Oost-Frankrijk, Benelux, West-Duitsland (Oost Franse clade). Mogelijk zijn hier muurhagedissen uitgezet vanuit meerdere bronnen.
Utrecht	Het haplotype van één onderzocht dier komt overeen met muurhagedissen uit Oost-Frankrijk, Benelux, West-Duitsland (Oost Franse clade). Twee dieren hebben een haplotype dat overeenkomt met muurhagedissen uit Italië –Venetië. Bekend is dat er dieren zijn uitgezet afkomstig uit Noord-Italië – Gardameer en Midden-Italië - Palestrina. Genetisch onderzoek indiceert dat hier ook muurhagedissen uit de Oost Franse clade zijn uitgezet.
Barneveld	Het haplotype van drie onderzochte dieren komt overeen met muurhagedissen uit Oost-Frankrijk, Benelux, West-Duitsland (Oost Franse clade). Twee dieren hebben een haplotype dat overeenkomt met muurhagedissen uit de West Franse clade. Mogelijk zijn hier muurhagedissen geïntroduceerd vanuit meerdere bronnen.
Hengelo	Alle vier de onderzochte muurhagedissen hebben een haplotype dat overeenkomt met muurhagedissen uit de Toscaanse clade.

In twee van de tien gevallen geeft achtergrondinformatie over de uitzetting al duidelijkheid over de herkomst van de muurhagedissen, te weten in Eijsden en Utrecht; al is het met name voor Utrecht (een druk bezochte botanische tuin) bepaald niet ondenkbaar dat er meerdere introducties hebben plaatsgevonden zonder dat deze allemaal zijn gedocumenteerd. Voor beide locaties bevestigen de resultaten van het genetisch onderzoek deze herkomst.

Van de andere acht locaties kan de waarschijnlijke herkomst van muurhagedissen alleen gebaseerd worden op de resultaten van het genetisch onderzoek. Het haplotype van een individu wordt hierbij toegewezen aan een clade, op basis van de overeenkomstigheid van de DNA-sequentie. Hierbij wordt aangenomen dat de verspreiding van haplotypes in Europa voldoende bekend is en de afsplitsingen die gemaakt worden in de fylogenetische stamboom betrouwbaar zijn. Er zijn reeds diverse studies uitgevoerd naar de fylogenie van muurhagedissen (Giovannotti et al., 2010, Schulte *et al.*, 2011b & 2012b; Gassert *et al.*, 2013), welke allen een vergelijkbaar beeld geven en dezelfde clades identificeren (figuur 9). In deze onderzoeken worden de afsplitsingen van clades betrouwbaar genoemd. Deze onderzoeken

zijn echter niet vlakdekkend voor Europa uitgevoerd. Clades hebben mogelijk een bredere verspreiding en mogelijk zijn er overgangszones, bijvoorbeeld tussen de West- en Oost-Franse-clades.

Naast de resultaten van het genetisch onderzoek en achtergrondinformatie over de uitzetting, geven uiterlijke kenmerken ook informatie over de herkomst van muurhagedissen. Er bestaat echter veel variatie in kleuren en tekening tussen populaties. Mannelijke muurhagedissen uit Italië (behorende tot de Venetiaanse, Toscaanse, Romagna en Marche clades), hebben meestal een groene rug en witte buik met veel zwarte vlekken ((Schulte *et al.*, 2011c). Bij muurhagedissen uit de Oost Franse clade ontbreken groene kleuren op de rug en is de buik niet of weinig gevlekt. Onderscheid tussen individuen uit de Oost en West Franse clade is op basis van kleur en tekening lastig. De muurhagedissen die op basis van het fylogenetisch onderzoek toegewezen zijn aan een van de Italiaanse clades, laten allen de hierboven genoemde kenmerken ook zien. Enkele voorbeelden zijn weergegeven in figuur 10.

In 5 van de 10 (50%) gevallen wijst het genetisch onderzoek op de introductie van muurhagedissen van verschillende herkomst. Opvallend is dat het in drie gevallen gaat om een mix van de West- en Oost-Franse clades. Mogelijk gaat het hierbij om muurhagedissen uit de overgangszone tussen deze clades, in Midden-Frankrijk of Wallonië en niet om dieren van meerdere bronnen. In Duitsland is het gemixt voorkomen van muurhagedissen uit verschillende clades vastgesteld bij 15 van de 77 (19%) geïntroduceerde populaties (Schulte *et al.*, 2008). In Zuid Engeland blijkt 70% van 23 onderzochte populaties overeenkomstig te zijn met het Venetiaanse haplotype. In 39% van de gevallen worden door op één locatie haplotypen van meerdere clades gevonden (Michaelides *et al.*, 2013).



*In Heeswijk-Dinther leeft al minstens 30 jaar lang een populatie muurhagedissen rond de kerk. Ze worden zonnend op oude muren, graven en de Calvarieberg gezien. In het knekelhuisje (foto) overwinteren de muurhagedissen. (FS)*



*Utrecht - botanische tuin. Beide mannetjes geboren tot de Venetiaanse clade. Kenmerkend zijn de groen rug en donkere buik.*

*Hengelo. Mannetje geboren tot de Toscaanse clade. Kenmerkend zijn de groene rug en donkere buik.*



*Heeswijk. Mannetje geboren tot de West Franse clade.*

*Maastricht - Lage Fronten. Mannetje geboren tot de Oost Franse clade. Kenmerkend voor de Maastrichtse populatie is de rode kleur van de buik.*

*Figuur 10. Kleur van rug en buik van mannelijke muurhagedissen uit de verschillende clades*

#### 4.2 Wijze van introductie

Het aantal introducties van muurhagedissen is sinds de eeuwwisseling sterk gestegen. 57% van de 14 populaties die zich momenteel handhaven in Nederland is na 1999 uitgezet. Eenzelfde stijging is ook in Vlaanderen te zien, waar zeven van de acht geïntroduceerde populatie eveneens na sinds 1999 zijn ontstaan (Jooris en Lehouck, 2007). In het Verenigd Koninkrijk zijn 50 geïntroduceerde populaties van muurhagedis bekend, waarvan ongeveer de helft recenter dan 25-30 jaar is ontstaan (Michaelides *et al.*, 2013)

Introducties van muurhagedissen in Nederland berusten in alle gevallen op menselijk handelen, opzettelijk of onopzettelijk. In 50% van het totaal aantal gevallen (n=34) is niet bekend op welke wijze de muurhagedis Nederland heeft bereikt. Van de gevallen waarbij dit wel bekend is (n=17), gaat het bij 41% om de opzettelijk introductie van muurhagedissen



met als doel het stichten van een populatie, meestal in een botanische of particuliere tuin. Eveneens in 41% van de gevallen liften muurhagedissen onbedoeld mee met het transport van handelswaren. In de resterende 18% van de gevallen gaat het om onopzettelijk transport (meeliften) vanaf een vakantiebestemming.

In Duitsland zijn 72 geïntroduceerde populaties bekend, waarbij het in 83,1% van de gevallen gaat om opzettelijke uitzetting, in 12,7% om transport via vrachtverkeer en 4,2% om onopzettelijke ontsnappingen uit terraria (Schulte *et al.*, 2008). In het Verenigd Koninkrijk zijn 50 geïntroduceerde populaties van muurhagedis bekend, waarbij in 50% van de gevallen sprake is van opzettelijk introductie (Michaelides *et al.*, 2003). Deze auteurs vermoeden dat in het Verenigd Koninkrijk nieuwe introducties worden uitgevoerd met dieren uit bestaande populaties van geïntroduceerde muurhagedissen.

#### 4.3 Uitheemse muurhagedissen in Maastricht & risico voor inheemse muurhagedissen

Er zijn aanwijzingen dat er uitheemse muurhagedissen in Maastricht aanwezig zijn. In de Hoge Fronten is bij drie individuen een haplotype uit de West Franse clade gevonden. Het betreft twee volwassen mannetjes en één subadult. Het is niet waarschijnlijk dat dit haplotype ontstaan is door mutaties, daarvoor is het genetisch verschil tussen deze drie individuen ene individuen uit de Oost Franse clade te groot ( $P$ -distance = 0,048). Als er sprake is van een introductie, is het niet waarschijnlijk dat er drie introducties zijn geweest. Mogelijk komt er een vrouwelijke (voor)ouder in de populatie voor die in dit onderzoek niet bemonsterd is. Alleen de vrouwtjes geven het mitochondriaal DNA door aan hun nakomelingen. Het is ook een mogelijkheid dat de verspreiding van de West Franse clade groter is dan gedacht en dat West Franse haplotypes dus van nature ook voorkomen in Maastricht (zie ook 4.1). Dit wordt op basis van de Structure analyse het meest waarschijnlijk geacht. Die analyse laat zien dat deze individuen (met een West Frans haplotype) qua microsatellieten niet afwijken van de andere individuen in de populatie. Op basis hiervan ligt het meest voor de hand aan te nemen dat er in de Hoge Fronten geen uitheemse muurhagedissen aanwezig zijn.

In de Lage Fronten is bij één individu een haplotype uit de Toscaanse clade gevonden. Het bemonsterde individu is een juveniel. Het is niet waarschijnlijk dat dit haplotype ontstaan is door mutaties, daarvoor is het genetisch verschil tussen deze individuen en individuen uit de Oost Franse clade te groot ( $P$ -distance van 0,078). De mogelijkheid dat de verspreiding van deze clade groter is dan gedacht, wordt in dit geval zeer onwaarschijnlijk geacht. De Toscaanse regio is geografisch sterk geïsoleerd van Maastricht, ondermeer door de tussenliggende Alpen. Hier ligt het dus voor de hand dat het om een uitheemse, geïntroduceerde muurhagedis gaat. Mogelijk gaat het ofwel om een vrouwelijke (voor)ouder die in de populatie voorkomt en dit haplotype heeft doorgegeven aan haar nakomelingen, ofwel om een recente introductie van een juveniele Toscaanse muurhagedis. Het nucleair DNA verschilt niet veel met de populatie. Het meest waarschijnlijke scenario is daarom dat de introductie niet recent is geweest en er genetische sporen in de Maastrichtse populatie aanwezig zijn.

Met de assignment analyse is er één individu uit de Lage Fronten toegewezen aan de populatie Wittlich. Hiermee staat niet vast dat dit individu werkelijk uit Wittlich afkomstig is. De assignment laat zien dat het nucleair DNA van dit individu meer overeenkomst vertoont met de populatie in Wittlich dan met die van de Lage Fronten. Het wordt wel gezien als een aanwijzing dat dit individu niet tot de populatie Lage Fronten behoort. Het haplotype (mitochondriaal DNA) van dit individu is wel overeenkomstig met andere individuen uit de Lage Fronten.

De voorwaarde bij de Structure analyses is dat de populaties in Hardy-Weinberg equilibrium zijn. Bij de populaties Hoge Fronten en Lage Fronten is dat niet het geval. Strikt genomen kunnen daardoor de uitkomst van de analyses afwijken van de werkelijkheid. De resultaten geven echter geen aanleiding voor dergelijke twijfel.

Geïntroduceerde muurhagedissen kruisen met inheemse muurhagedissen. Hybridisatie kan leiden tot een verlaagde fitness, verlies van lokale adaptatie en uitteeltdepressie (Schulte *et al.*, 2012b). Onderzoek in Duitsland laat zien dat in gemixte populaties van inheemse en uitheemse muurhagedissen, de uitheemse muurhagedis in genetisch opzicht dominant wordt. Het genetisch materiaal van inheemse muurhagedissen kan hierdoor zelfs geheel verloren gaan in een populatie. Het onderzoek van Schulte *et al.* (2012b) laat met name een sterk effect zien door de introductie van Italiaanse muurhagedissen. Uit dit onderzoek wordt de conclusie getrokken dat de introductie van uitheemse muurhagedissen een serieuze bedreiging vormt voor inheemse muurhagedispopulaties.

De muurhagedis in Maastricht leeft aan de meest noordelijke rand van zijn verspreiding. Verondersteld kan worden dat de soort hier is aangepast aan de lokale omstandigheden, met voor de soort onder meer relatief koude en natte zomers. Het verlies van lokale aanpassingen door hybridisatie is hierdoor voor de Nederlandse situatie een reëel risico.

Van de introductie van een of meerdere muurhagedissen uit Toscane in de Lage Fronten wordt aangenomen dat deze niet recent is uitgevoerd. Dit onderzoek laat verder zien dat momenteel geen sprake is van verdringing van het inheemse genetisch materiaal.

#### 4.4 Genetische vitaliteit populaties in Maastricht

Er zijn aanwijzingen voor isolatie en genetische erosie in de populaties Hoge Fronten en Lage Fronten gevonden. De inteeltcoëfficiënt is positief, wat zowel voor de Hoge als Lage Fronten duidt op inteelt. Deze inteeltcoëfficiënt is bovendien aanzienlijk hoger dan in de Duitse populaties. Het aantal allelen per locus dat is gevonden in de populatie Hoge Fronten is lager dan in de Duitse populaties. In de Lage Fronten is het aantal allelen wel vergelijkbaar met de Duitse populaties, zodat niet duidelijk is of er werkelijk sprake is van genetische erosie. Aan de noordelijke rand van zijn areaal wordt een lagere genetische variatie bij de muurhagedis veroorzaakt door de beperkte omvang van populaties, versnippering, sterkere genetische drift en een grotere selectiedruk (Schulte *et al.*, 2012a). Dit effect lijkt in Maastricht versterkt op te treden in vergelijking met de Duitse populaties die ook aan de noordelijke grens van het areaal van de soort liggen.

Er is geen aanwijzing gevonden van een recente bottleneck in de populatie Hoge Fronten of Lage Fronten. Dit wil niet zeggen dat er geen bottleneck in het verleden is geweest. Bekend is dat de populatie in de Hoge Fronten in de jaren '80 van de vorige eeuw uit enkele tientallen dieren bestond, op basis waarvan wel een bottleneck-effect verwacht wordt. De populatie in de Lage Fronten had destijds een vergelijkbaar geringe omvang. De effectieve population size van de populatie Hoge Fronten en Lage Fronten is lager dan bij de Duitse populaties. Dit is een aanwijzing dat de populaties in Maastricht geïsoleerd zijn.

Tussen de populaties in de Hoge en Lage Fronten vindt nauwelijks uitwisseling plaats. De assignment laat zien dat zes individuen niet met zekerheid aan een populatie toegewezen worden. Van één individu dat in de Lage Fronten bemonsterd is, is vastgesteld dat deze genetisch meer overeenkomsten heeft met de Hoge Fronten. Op basis hiervan wordt

aangenomen dat deze recent de Cabergerweg overgestoken is. Bij onderzoeken uitgevoerd in 1978, waarbij 65 dieren zijn gemerkt, werd vastgesteld dat 1 individu de Cabergerweg overgestoken had (Strijbosch *et al.*, 1980).

#### 4.5 Maatregelen en handelingsperspectief

We maken onderscheid tussen enerzijds de maatregelen die genomen kunnen worden voor de bevordering van de duurzame staat van instandhouding van inheemse muurhagedissen in Maastricht en gaan anderzijds in op het handelingsperspectief dat er is voor wat betreft exotische muurhagedissen.

##### Duurzame staat van instandhouding Maastrichtse populatie

De resultaten van het genetisch onderzoek laten zien dat er sprake is van genetische erosie. In vergelijking tot Duitse populaties is er meer sprake van inteelt. Er vindt nauwelijks uitwisseling van individuen plaats tussen Hoge en Lage Fronten; de brede en druk bereden Cabergerweg tussen beide deelgebieden vormt een vrijwel absolute barrière. Door de geïsoleerde ligging ten opzichte van andere populaties (in Duitsland en België) is het niet mogelijk dat er door migratie nieuwe allelen in de populatie worden gebracht. Maatregelen zijn nodig om verdergaande genetische erosie te voorkomen. Deze maatregelen bestaan uit:

- o verbinding van bestaande Maastrichtse deelpopulaties en
- o vergroting van het leefgebied en verdere groei van de populatie.



*De Cabergerweg tussen de Hoge Fronten (overzijde weg) en de Lage Fronten vormt een bijna absolute barrière tussen de twee populaties. Op de voorgrond is een zonnende muurhagedis zichtbaar. (FS)*

De aanleg van een ecologische verbinding tussen de Hoge en Lage Fronten is belangrijk om de uitwisseling van muurhagedissen tussen de populaties te verbeteren. Hierdoor vermindert het inteelteffect. Een ecoduct moet aan specifieke kenmerken voldoen om te kunnen functioneren voor reptielen en de muurhagedis in het bijzonder (Spikmans & Bosman, 2013). De aanleg van dit ecoduct zal worden uitgevoerd door de gemeente Maastricht, als onderdeel van compensatiemaatregelen voor de diverse stadvernieuwingsprojecten in Maastricht-Noord (Klasberg, 2013).

Door vergroting van het leefgebied kan de populatie verder groeien. De kans op paringen van verwante individuen neemt hierdoor af. Door groei van de populatie kan weer een evenwichtigere verdeling van allelen ontstaan (Hardy en Weinberg-evenwicht). Dit verkleint de kans op het verdwijnen van allelen door toeval.

Uit de jaarlijkse tellingen die in het kader van het Netwerk Ecologische Monitoring worden uitgevoerd, blijkt dat er momenteel sprake is van een matige toename van de populatie (Janssen & De Zeeuw, 2014). In de periode 2004-2014 varieert het totaal aantal getelde (sub)adulte muurhagedissen van 300 tot 600 (gegevens databank RAVON / NEM). De muurhagedis reageert positief op beheer- en inrichtingsmaatregelen die voor de soort genomen worden. Maatregelen die zullen leiden tot de vergroting van het leefgebied en verbinding van de populaties, worden door Spikmans & Bosman (2013) beschreven. Deze maatregelen zullen worden uitgevoerd door de gemeente Maastricht, als onderdeel van compensatiemaatregelen voor de diverse stadvernieuwingsprojecten in Maastricht-Noord.

#### Exotische muurhagedissen

De risico's die uitgaan van de aanwezigheid van exotische muurhagedissen zijn hybridisatie en verdringing van inheemse muurhagedissen. Vermenging van geïntroduceerde muurhagedissen met inheemse muurhagedissen in Maastricht is mogelijk door uitzettingen van exotische muurhagedissen in Maastricht, of door zelfstandige uitbreiding van het leefgebied van nabijgelegen uitheemse populaties. Vanwege de grote bekendheid, de goede toegankelijkheid en de zeldzaamheid van de soort (mensen denken behulpzaam te zijn) wordt het risico op uitzetting van allochtone muurhagedissen in Maastricht reëel geacht. Zo werd in 1989 al eens een exemplaar van de soort *Podarvis dugesii* in de Hoge Fronten aangetroffen (Prick & Kruyntjens, 1989)

De risico's van spontane uitbreiding van het leefgebied van nabijgelegen populaties wordt voor de vier nabijgelegen populaties momenteel klein geacht, op basis van de volgende overwegingen:

- o Echt. Zichzelf instandhoudende populatie aanwezig. Uitbreiding leefgebied via Juliana-kanaal richting Maastricht mogelijk. Afstand tot leefgebied in Maastricht 30 kilometer, Maas vormt barrière. Risico wordt klein geacht.
- o Bemelerberg. Zichzelf instandhoudende populatie aanwezig. Afstand tot leefgebied in Maastricht hemelsbreed 6 km, Maas vormt barrière. Risico wordt klein geacht.
- o Sint-Pietersberg. Nog geen zichzelf instandhoudende populatie aanwezig. Afstand tot leefgebied in Maastricht hemelsbreed 5 km. Spontane uitbreiding leefgebied richting Maastricht is mogelijk. Risico wordt klein geacht.
- o Eijsden. Zichzelf instandhoudende populatie aanwezig. Afstand tot leefgebied in Maastricht hemelsbreed 9 km, Maas vormt barrière. Risico wordt klein geacht.

Op grond hiervan wordt het niet noodzakelijk geacht deze populaties in Limburg, noch elders in Nederland actief te bestrijden.

Om het risico van vermenging van autochtone en allochtone muurhagedissen te beperken worden de volgende aanbevelingen gedaan:

- Ken geen wettelijk beschermingsstatus toe aan geïntroduceerde muurhagedissen, anders dan de zorgplicht voor individuen;
- Neem geen beheer- en inrichtingsmaatregelen in het leefgebied van geïntroduceerde muurhagedissen die het voorkomen van deze soort bevorderen. Laat geïntroduceerde populaties muurhagedis zo bewust uitsterven door het achterwege laten van reptielvriendelijk beheer. Hierdoor zullen de leefgebied dichtgroeien. Bestaande populaties van exotische muurhagedissen kunnen als bron voor nieuwe introducties elders gaan fungeren. Door bestaande exotische populaties uit te laten sterven wordt dit risico verkleind.
- Maak een risico-analyse van de huidige en toekomstige handelsactiviteiten in en rond het huidige leefgebied van inheemse muurhagedissen in Maastricht. Neem voorzorgsmaatregelen wanneer aanwezige of toekomstige handelsactiviteiten een verhoogd risico op de introductie van exoten met zich meebrengen.
- Monitor de ontwikkeling van geïntroduceerde populaties en wees alert op nieuwe introducties (early warning system).
- Licht het publiek voor over de gevaren van de introductie van exotische muurhagedissen. Richt deze voorlichting ook, maar niet uitsluitend, op:
  - reptielenliefhebbers en terrariumhouders, omdat zij een belangrijke rol spelen bij de introductie van muurhagedissen.
  - bedrijven met handelsactiviteiten waarbij een verhoogde kans is op de introductie van exotische reptielen, bijvoorbeeld tuincentra en groothandels in exotische planten.

#### 4.6 Vervolgonderzoek

Wanneer volgens plan het ecoduct tussen de Lage en Hoge Fronten gerealiseerd wordt, kan middels een herhaling van dit onderzoek vastgesteld worden of er daadwerkelijk uitwisseling van individuen plaats vindt en of dit leidt tot een verbetering van de genetische vitaliteit.

## 5 LITERATUUR

- Baldauf, S.L., 2003. Phylogeny for the faint of heart: a tutorial. *Trends in genetics* 19: 345-351. doi:10.1016/S0168-9525(03)00112-4
- Busack, S.D., R. Lawson & W.M. Arjo, 2005. Mitochondrial DNA, allozymes, morphology and historical biogeography in the *Podarcis vaucheri* (Lacertidae) species complex. *AmphibiaReptilia* 26: p. 239-256.
- Carranza, S., E.N. Arnold & F. Amat, 2004. DNA phylogeny of *Lacerta* (*Iberolacerta*) and other lacertine lizards (Reptilia: Lacertidae): did competition cause long-term mountain restriction. *System. Biodivers*, 2004. 2: 57-77.
- Castilla, A.M., et al., 1998. Mitochondrial DNA divergence suggests that *Podarcis hispanica atrata* (Squamata: Lacertidae) from the Columbretes Islands merits specific distinction. *Copeia* 1998. 4: 1037-1040.
- Böhme, W., V. Pérez-Mellado, M. Cheylan, H. K. Nettmann, L. Krecsák, B. Sterijovski, B. Schmidt, P. Lymberakis, R. Podloucky, R. Sindaco & A. Avci, 2009. *Podarcis muralis*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org). Downloaded on 12 December 2014.
- Cornuet, J.M. & G. Luikart, 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144(4): 2001-2014
- Delft, J.J.C.W. van, R.C.M. Creemers & A. Spitzen-van der Sluijs, 2007. Basisrapport Rode Lijsten Amfibieën en Reptielen volgens Nederlandse en IUCN-criteria. Stichting RAVON, Nijmegen, in opdracht van Directie Kennis, Ministerie van LNV.
- Evanno, G., S. Regnaut, & J. Goudet, 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14: 2611-2620
- Frissen-Moors, C.M.M. & R.A.M Tilmans, 2009. Muurhagedis (*Podarcis muralis*) In: Creemers, R.C.M. & J.J.C.W. van Delft (RAVON) (redactie), 2009. De amfibieën en reptielen van Nederland. – Nederlandse Fauna 9. Nationaal Natuurhistorisch Museum Naturalis, European Invertebrate Survey – Nederland, Leiden.
- Gassert, F., Schulte, U., Husemann, M., Ulrich, W., Rodder, D., Hochkirch, A., Engel, E., Meyer, J. & Habel, J.C., 2013. From southern refugia to the northern range margin: genetic population structure of the common wall lizard, *Podarcis muralis*. *Journal of Biogeography* 40: 1475–1489.
- Giovannotti, M., Nisi-Cerioni, P. & Caputo, V., 2010. Mitochondrial DNA sequence analysis reveals multiple Pleistocene glacial refugia for *Podarcis muralis* (Laurenti, 1768) in the Italian Peninsula. *Italian Journal of Zoology* 77: 277–288.
- Goudet, J., 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from: <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>

- Janssen, I. & M. de Zeeuw, 2014. Resultaten Meetnet Reptielen 2013. Adder en gladde slang de laatste 10 jaar afgenomen. *Schubben & Slijm* 21: 12-15.
- Jooris, R. & M. Lehouck, 2007. De Muurhagedis in Vlaanderen. Met dank aan het veranderend klimaat en de NMBS. *Natuur.Focus* 6(4): 123-129
- Klasberg, M., 2013. Natuurtoets en rammwerk natuur voor ruimtelijke ontwikkelingen Belvédère. Arcadis Nederland BV.
- Michaelides, S., G.M. While, C. Bell & T. Uller, 2013. Human introductions create opportunities for intra-specific hybridization in an alien lizard. *Biological Invasions* 15: 1101-1112.
- Noordwijk, C.G.E. van, T.M.J Peeters, 2008. Muurhagedissen op de Bemelerberg : over het hoofd gezien of over het hek gezien? *Natuurhistorisch maandblad* 97(7): 145-148.
- Oosterhout CV, W.F. Hutchinson, D.P.M Wills & P. Shipley, 2004. Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes* 4: 535–538.
- Peakall, R. & P.E. Smouse, 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 6: 288-295.
- Pritchard, J.K., M. Stephens & P. Donnelly, 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959.
- Prick, R. & B. Kruijntjens, 1989. De muurhagedis in Maastricht in 1989. *Natuurhistorisch Maandblad* 81(1): 3-12
- Rambaut, A., 2006. Tree Figure Drawing Tool Version 1.4.2. Available from: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.
- Ronquist, F. & J.P. Huelsenbeck, 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19(12): 1572-4.
- Schulte, U., Thiesmeier, B., Mayer, W. & S. Schweiger, 2008. Allochthone Vorkommen der Mauereidechse (*Podarcis muralis*) in Deutschland. *Zeitschrift für Feldherpetologie* 15: 139-156.
- Schulte, U., Gebhard, F., Heinz, L., Veith, M. & A. Hochkirch, 2011a. Buccal swabs as a reliable non-invasive tissue sampling method for DNA analysis in the lacertid lizard *Podarcis muralis*. *North-Western Journal of Zoology* 7: 325-328.
- Schulte, U., Hochkirch, A., Lötters, S., Rödder, D., Schweiger, S., Weimann, T. & M. Veith, 2011b. Cryptic niche conservatism among evolutionary lineages of an invasive lizard. *Global Ecology and Biogeography* 21: 198-211.
- Schulte, U., Bidinger, K., Deichsel, G., Hochkirch, A., Thiesmeier, B. & M. Veith, 2011c.

- Verbreitung, geografische Herkunft und naturschutzrechtliche Aspekte allochthoner Vorkommen der Mauereidechse (*Podarcis muralis*) in Deutschland? – Zeitschrift für Feldherpetologie 18(2): 161-180.
- Schulte, U., Gassert, F., Geniez, P., Veith, M. & A. Hochkirch, 2012a. Origin and genetic diversity of an introduced wall lizard population and its cryptic congener. Amphibia-Reptilia 33: 129-140.
- Schulte, U., Veith, M. & A. Hochkirch, 2012b. Rapid genetic assimilation of native wall lizard populations (*Podarcis muralis*) through extensive hybridization with introduced lineages. Molecular Ecology, doi: 10.1111/j.1365-294X.2012.05693.x.
- Schulte, U., A. Hochkirch, V. Mingo, C. Modica, & M. Veith, 2012c. Genetic consequences of a recent range expansion in an introduced wall lizard population. Universität Trier, Thesis chapter 6: 108-124.
- Spikmans, F, & W. Bosman, 2013. Reptielen in Maastricht voor de toekomst behouden. Naar duurzame metapopulaties binnen het stadsvernieuwingsgebied Belvédère. Stichting RAVON, Nijmegen.
- Spikmans, F, & W. Bosman (accepted): Compensation of habitat loss for the Common Wall Lizard (*Podarcis muralis*) in the city of Maastricht (Netherlands). Mertensiella Band: Verbreitung, Ökologie und Schutz der Mauereidechse.
- Strjbosch, H., J.J.A.M. Bonnemayer, P.J.M. Dietvorst, 1980. The northern most population of *Podarcis muralis* (Lacertilia, Lacertidae). Amphibia Reptilia 1;161-172
- Tamura K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski, & S. Kumar, 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Molecular Biology and Evolution 30: 2725-2729.
- Verhoek, I., 2015. Genetisch onderzoek van inheemse en geïntroduceerde populaties van de Muurhagedis (*Podarcis muralis*). Stageverslag Radboud Universiteit Nijmegen, RAVON & Saxion hogeschool. 25 p.



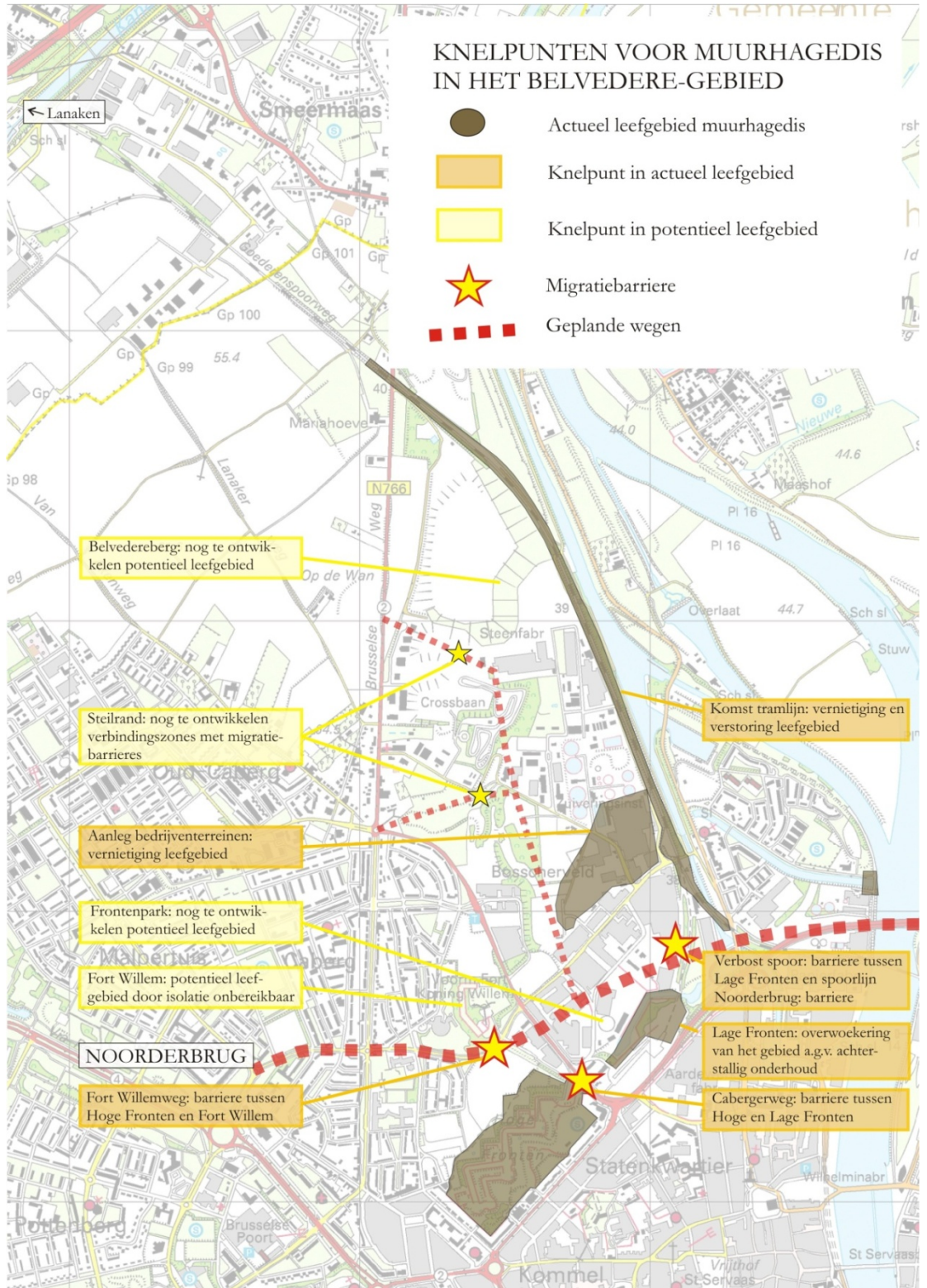
## DANKWOORD

Dank gaat uit naar de volgende personen voor hun bijdragen of medewerking aan het onderzoek

Het genetische onderzoek is zeer kundig en nauwkeurig uitgevoerd door Iris Verhoek, stagiaire van Saxion Hogeschool, onder begeleiding van Niels Wagemaker van de afdeling Moleculaire Ecologie van de Radboud Universiteit Nijmegen. Om de samples te kunnen nemen is toestemming verkregen van de terreineigenaren. Diverse waarnemers hebben waardevolle aanvullende achtergrondinformatie verstrekt over populaties van geïntroduceerde muurhagedissen. Bij het verzamelen van de samples is medewerking en assistentie verleend door Bert Kruyntjens. Tenslotte gaat dank uit naar Ulrich Schulte voor het beschikbaar stellen van gegevens van Duitse populaties.

## Bijlage 1. Actuele verspreiding en knelpunten muurhagedis Maastricht

Actuele verspreiding van de muurhagedis (anno 2012) en de knelpunten die in zijn leefgebied aanwezig zijn (uit: Spikmans & Bosman, 2013). De beschreven knelpunten worden naar verwachting in de komende jaren aangepakt in het kader van diverse stedelijke ontwikkelingen in de gemeente Maastricht.



## Bijlage 2. Bemonsterde muurhagedispopulaties en gegevens Genbank

Sample ID	Species (clade affiliation)	Sampling location	Genbank accession number	Referentie
6X_Eijsden_NL	<i>P.muralis</i>	Eijsden, Nederland		dit onderzoek
1X_Eijsden_NL	<i>P.muralis</i>	Eijsden, Nederland		dit onderzoek
3X_Bemelerberg_NL	<i>P.muralis</i>	Bemelerberg, Nederland		dit onderzoek
2X_Utrecht_NL	<i>P.muralis</i>	Utrecht, Nederland		dit onderzoek
1X_Utrecht_NL	<i>P.muralis</i>	Utrecht, Nederland		dit onderzoek
3X_Heeswijk_NL	<i>P.muralis</i>	Heeswijk, Nederland		dit onderzoek
2X_Heeswijk_NL	<i>P.muralis</i>	Heeswijk, Nederland		dit onderzoek
3X_Barneveld_NL	<i>P.muralis</i>	Barneveld, Nederland		dit onderzoek
2X_Barneveld_NL	<i>P.muralis</i>	Barneveld, Nederland		dit onderzoek
3X_Echt_NL	<i>P.muralis</i>	Echt, Nederland		dit onderzoek
1X_Echt_NL	<i>P.muralis</i>	Echt, Nederland		dit onderzoek
4X_Tolkamer_NL	<i>P.muralis</i>	Tolkamer, Nederland		dit onderzoek
1X_Tilburg_NL	<i>P.muralis</i>	Tilburg, Nederland		dit onderzoek
1X_Dordrecht1_NL	<i>P.muralis</i>	Dordrecht, Nederland		dit onderzoek
1X_Dordrecht2_NL	<i>P.muralis</i>	Dordrecht, Nederland		dit onderzoek
4X_Hengelo_NL	<i>P.muralis</i>	Hengelo, Nederland		dit onderzoek
1X_PS_Nijmegen_NL	<i>P.sicula</i>	Nijmegen, Nederland		dit onderzoek
26X_HF_NL	<i>P.muralis</i>	Maastricht, Nederland		dit onderzoek
3X_HF_NL	<i>P.muralis</i>	Maastricht, Nederland		dit onderzoek
30X_LF_NL	<i>P.muralis</i>	Maastricht, Nederland		dit onderzoek
13X_LF_NL	<i>P.muralis</i>	Maastricht, Nederland		dit onderzoek
4X_LF_NL	<i>P.muralis</i>	Maastricht, Nederland		dit onderzoek
1X_LF_NL	<i>P.muralis</i>	Maastricht, Nederland		dit onderzoek
Pm_Andorra_WesternFrance	<i>P.muralis</i> (Western France Clade)	Andorra	AY151908	Carranza et al., 2004
Pm_Benasque_SP_WesternFrance	<i>P.muralis</i> (Western France Clade)	Benasque, Spanje	AY234155	Busack et al., 2005
Pm_UU60_D_EasternFrance	<i>P.muralis</i> (Eastern France Clade)	Duisburg-Hüttenheim, Duitsland	HO652880	Schulte et al., 2012a
Pm_UU134_D_EasternFranceSub	<i>P.muralis</i> (Eastern France Subclade)	Duitsland	HO652908	Schulte et al., 2012a
Pm_BOT2_D_EasternFrance	<i>P.muralis</i> (Eastern France Clade)	Bottrop, Duitsland	HO652955	Schulte et al., 2012a
Pm_SD1_OO_TuscanyClade	<i>P.muralis</i> (Tuscany Clade)	Schärding, Oostenrijk	HO652937	Schulte et al., 2012a
Pm_BA18_OO_VenetianClade	<i>P.muralis</i> (Venetian Clade)	Klosterneuburg, Oostenrijk	HO652943	Schulte et al., 2012a
Pm_2X_Bramsche_D_SalpsClade	<i>P.muralis</i> (Salps Clade)	Bramsche, Duitsland	HO652944 HO652960	Schulte et al., 2012a
Pm_UU89_D_CentralBalkan	<i>P.muralis</i> (Central Balkan Clade)	Altenhain, Duitsland	HO652886	Schulte et al., 2012a
Pm_HAN1_D_CentralBalkan	<i>P.muralis</i> (Central Balkan Clade)	Halle a. d. Saale, Duitsland	HO652958	Schulte et al., 2012a
Pm_3X_Mainz_D_WesternFrance	<i>P.muralis</i> (Western France Clade)	Mainz, Duitsland	HO652893 HO652894 HO652896	Schulte et al., 2012a
Pm_3X_N.Hardenberg_WesternFrance	<i>P.muralis</i> (Western France Clade)	Nörten-Hardenberg, Duitsland	HO652966 HO652969 JO403288	Schulte et al., 2012a Schulte et al., 2012b

Genetisch onderzoek muurhagedissen in Nederland

Pm_NOE4_D_WesternFrance	<i>P.muralis</i> (Western France Clade)	Nörten-Hardenberg, Duitsland	JQ403287	Schulte et al., 2012b
Pm_LB169_FR_EasternFrance	<i>P.muralis</i> (Eastern France Clade)	Labeaume, Frankrijk	JQ403289	Schulte et al., 2012b
Pm_MS3_FR_WesternFrance	<i>P.muralis</i> (Western France Clade)	Montségur, Frankrijk	JQ403290	Schulte et al., 2012b
Pm_LS6_FR_WesternFrance	<i>P.muralis</i> (Western France Clade)	Lourdes, Frankrijk	JQ403291	Schulte et al., 2012b
Pm_LRo1_FR_WesternFrance	<i>P.muralis</i> (Western France Clade)	La Rochelle, Frankrijk	JQ403292	Schulte et al., 2012b
Pm_StM1_FR_WesternFrance	<i>P.muralis</i> (Western France Clade)	St. Malo, Frankrijk	JQ403293	Schulte et al., 2012b
Pm_Amb2_FR_WesternFrance	<i>P.muralis</i> (Western France Clade)	Amboise, Frankrijk	JQ403294	Schulte et al., 2012b
Pm_15X_EasternFranceClade	<i>P.muralis</i> (Eastern France Clade)	Remich, Luxemburg	JX069773	Gassert et al., 2013
		Larochette, Luxemburg	JX069774	
		Mont Saint Odily, Frankrijk	JX069775	
		Esch sur sure, Luxemburg	JX069776	
		Ansembourg, Luxemburg	JX069778	
		Euville, Frankrijk	JX069779	
		Urft, Duitsland	JX069781	
		Willerwiltz, Luxemburg	JX069782	
		Vianden, Luxemburg	JX069783	
		Luxemburg city	JX069784	
Beaufort, Luxemburg	JX069785			
Kautenbach, Luxemburg	JX069786			
Wasserbillig, Luxemburg	JX069788			
Braubach, Duitsland	JX069789			
Wark Valley	JX069790			
Pm_Bitche_FR_EasternFrance	<i>P.muralis</i> (Eastern France Clade)	Bitche, Frankrijk	JX069777	Gassert et al., 2013
Pm_Bourscheid_LUX_EasternFrance	<i>P.muralis</i> (Eastern France Clade)	Bourscheid, Luxemburg	JX069780	Gassert et al., 2013
Pm_Dudelange_LUX_EasternFrance	<i>P.muralis</i> (Eastern France Clade)	Dudelange, Luxemburg	JX069787	Gassert et al., 2013
Pm_Anhee_BE_EasternFrance	<i>P.muralis</i> (Eastern France Clade)	Anhee, België	JX069791	Gassert et al., 2013
Pm_StRProvence_FR_EasternFrance	<i>P.muralis</i> (Eastern France Clade)	Saint Remy de Provence, Frankrijk	JX069793	Gassert et al., 2013
Pm_Autun_FR_EasternFrance	<i>P.muralis</i> (Eastern France Clade)	Autun, Frankrijk	JX069794	Gassert et al., 2013
Pm_StMdArdeche_FR_EasternFrance	<i>P.muralis</i> (Eastern France Clade)	Saint Martin d'Ardeche, Frankrijk	JX069795	Gassert et al., 2013
Pm_Pula_KR_MarchClade	<i>P.muralis</i> (March Clade)	Pula, Kroatië	JX069796	Gassert et al., 2013
Pm_Alba_IT_TuscanyClade	<i>P.muralis</i> (Tuscany clade)	Alba fucens, Italië	JX069797	Gassert et al., 2013
Pv_Atlas_M	<i>P. vaucheri</i>	Atlas, Marokko	AF052633	Castilla et al., 1998
Ph_Valencia_SP	<i>P.hispanicus</i>	Valencia, Spanje	AF052635	Castilla et al., 1998
pl_6X_N.Hardenberg_D	<i>P.liolepis</i>	Nörten-Hardenberg, Duitsland	HQ652946	Schulte et al., 2012a
			JQ403295	Schulte et al., 2012b
			JQ403296	
			JQ403297	
			JQ403298	
PI_Planoles_SP	<i>P.liolepis</i>	Planoles, Spanje	JQ403300	Schulte et al., 2012b
PI_4X_Labeaume_SP	<i>P.liolepis</i>	Labeaume, Frankrijk	JQ403301	Schulte et al., 2012b
			JQ403302	

			JQ403303 JQ403304	
Ps_IT	<i>Psicula</i>	Italië	FJ867396	Giovannotti et al., 2010

## Bijlage 3. Genetische vitaliteit per locus

Aantal monsters (N), aantal allelen (Na), aantal effectieve allelen (Ne), allelic richness (Ar), observed heterozygositeit (Ho), expected heterozygositeit (He), inteeltcoëfficiënt (Fis) voor elke locus.

Locus	Populatie	N	Na	Ar	Ho	He	Fis
B4	Hoge Fronten	28	2,000	2,321	0,357	0,490	0,238
	Lage Fronten	46	5,000	3,163	0,435	0,570	0,248
	Freiburg Dreisam	52	6,000	4,008	0,385	0,657	0,422
	Freiburg Messe	22	4,000	3,619	0,636	0,561	-0,112
	Inzlingen	14	6,000	5,249	0,500	0,559	0,142
	Lörrach	9	6,000	6,000	0,778	0,735	0,000
	Wölblin	62	8,000	5,050	0,823	0,644	-0,270
	Mannheim	49	3,000	1,795	0,061	0,098	0,385
	Bramsche	60	3,000	2,150	0,433	0,500	0,142
	Wittlich	50	2,000	1,969	0,240	0,269	0,117
	Nörten-Hardenberg	40	2,000	1,913	0,225	0,200	-0,114
	Dresden	62	5,000	3,222	0,484	0,616	0,222
	Schoß Stukenbrock	63	3,000	2,243	0,349	0,314	-0,104
	Ammelshain	81	5,000	3,292	0,531	0,499	-0,057
B3	Hoge Fronten	24	7,000	5,674	0,667	0,710	0,082
	Lage Fronten	43	17,000	8,236	0,535	0,852	0,378
	Freiburg Dreisam	52	9,000	5,950	0,692	0,769	0,109
	Freiburg Messe	22	8,000	6,130	0,682	0,809	0,180
	Inzlingen	14	6,000	5,487	0,643	0,770	0,201
	Lörrach	9	10,000	10,000	0,778	0,852	0,145
	Wölblin	62	14,000	6,542	0,452	0,772	0,422
	Mannheim	49	10,000	5,179	0,490	0,663	0,271
	Bramsche	59	12,000	7,218	0,542	0,837	0,360
	Wittlich	50	11,000	7,364	0,760	0,836	0,101
	Nörten-Hardenberg	40	9,000	6,579	0,700	0,819	0,158
	Dresden	62	5,000	3,718	0,532	0,575	0,082
	Schoß Stukenbrock	64	15,000	7,577	0,547	0,800	0,323
	Ammelshain	77	29,000	11,197	0,545	0,922	0,414
Pb50	Hoge Fronten	29	4,000	3,312	0,207	0,554	0,637
	Lage Fronten	47	8,000	4,834	0,511	0,718	0,32
	Freiburg Dreisam	52	3,000	2,991	0,519	0,638	0,195
	Freiburg Messe	22	4,000	3,978	0,545	0,726	0,271
	Inzlingen	14	2,000	2,000	0,429	0,408	-0,013
	Lörrach	9	4,000	4,000	0,556	0,722	0,286
	Wölblin	59	4,000	3,390	0,831	0,665	-0,24
	Mannheim	49	4,000	3,738	0,612	0,637	0,05
	Bramsche	60	3,000	2,277	0,617	0,436	-0,407
	Wittlich	50	4,000	2,360	0,520	0,486	-0,06
	Nörten-Hardenberg	40	3,000	2,108	0,025	0,202	0,879
	Dresden	61	4,000	3,707	0,656	0,631	-0,031
	Schoß Stukenbrock	62	2,000	1,919	0,210	0,213	0,022

	Ammelshain	80	4,000	2,566	0,575	0,494	-0,157
C8	Hoge Fronten	28	4,000	3,336	0,429	0,480	0,055
	Lage Fronten	44	7,000	4,264	0,409	0,650	0,381
	Freiburg Dreisam	52	8,000	5,919	0,846	0,802	-0,046
	Freiburg Messe	22	7,000	5,348	0,409	0,654	0,394
	Inzlingen	14	8,000	7,088	0,857	0,824	-0,003
	Lörrach	9	8,000	8,000	0,889	0,710	-0,196
	Wölblin	61	5,000	3,986	0,607	0,663	0,093
	Mannheim	49	10,000	5,397	0,653	0,704	0,083
	Bramsche	60	11,000	5,467	0,517	0,657	0,221
	Wittlich	50	2,000	1,981	0,320	0,295	-0,074
	Nörten-Hardenberg	40	12,000	8,527	0,925	0,884	-0,033
	Dresden	62	5,000	2,656	0,306	0,384	0,21
	Schoß Stukenbrock	63	5,000	2,552	0,778	0,503	-0,542
	Ammelshain	79	1,000	1,000	0,000	0,000	NA
Pb73	Hoge Fronten	29	5,000	3,367	0,586	0,568	-0,015
	Lage Fronten	43	6,000	5,084	0,512	0,739	0,323
	Freiburg Dreisam	52	9,000	6,127	0,962	0,768	-0,242
	Freiburg Messe	22	6,000	4,914	0,818	0,664	-0,210
	Inzlingen	14	10,000	7,609	0,929	0,712	-0,271
	Lörrach	9	3,000	3,000	0,667	0,475	-0,352
	Wölblin	59	7,000	3,486	0,678	0,573	-0,175
	Mannheim	49	8,000	6,620	0,878	0,830	-0,047
	Bramsche	60	8,000	3,746	0,517	0,455	-0,127
	Wittlich	50	2,000	1,950	0,280	0,241	-3153
	Nörten-Hardenberg	40	12,000	6,923	0,700	0,816	0,155
	Dresden	63	3,000	2,995	0,603	0,642	0,068
	Schoß Stukenbrock	63	5,000	2,866	0,381	0,428	0,117
	Ammelshain	81	10,000	6,016	0,716	0,779	0,087
Pb10	Hoge Fronten	29	7,000	4,714	0,690	0,736	0,08
	Lage Fronten	46	12,000	6,770	0,717	0,772	0,082
	Freiburg Dreisam	52	12,000	7,612	0,769	0,782	0,026
	Freiburg Messe	22	11,000	7,213	0,773	0,799	0,056
	Inzlingen	14	5,000	4,870	0,643	0,768	0,199
	Lörrach	9	6,000	6,000	0,778	0,809	0,097
	Wölblin	62	19,000	9,881	0,645	0,902	0,292
	Mannheim	49	10,000	6,538	0,490	0,802	0,398
	Bramsche	60	8,000	5,255	0,667	0,739	0,107
	Wittlich	48	5,000	4,115	0,583	0,688	0,162
	Nörten-Hardenberg	40	14,000	8,825	0,900	0,867	-0,026
	Dresden	62	9,000	5,226	0,710	0,768	0,084
	Schoß Stukenbrock	62	7,000	3,573	0,629	0,665	0,062
	Ammelshain	78	6,000	4,102	0,667	0,689	0,039
Lv-4-alpha	Hoge Fronten	26	4,000	3,458	0,577	0,584	0,031
	Lage Fronten	37	10,000	5,848	0,622	0,731	0,163
	Freiburg Dreisam	52	10,000	6,053	0,827	0,804	-0,018

Genetisch onderzoek muurhagedissen in Nederland

	Freiburg Messe	22	9,000	6,582	0,909	0,793	-0,123
	Inzlingen	14	4,000	3,881	0,643	0,686	0,100
	Lörrach	9	6,000	6,000	1,000	0,765	-0,252
	Wölblin	59	14,000	8,610	0,542	0,866	0,381
	Mannheim	49	10,000	6,631	0,796	0,766	-0,029
	Bramsche	60	7,000	4,380	0,583	0,593	0,025
	Wittlich	44	7,000	4,680	0,705	0,681	-0,023
	Nörten-Hardenberg	40	10,000	7,534	0,725	0,858	0,167
	Dresden	60	6,000	4,472	0,650	0,734	0,123
	Schoß Stukenbrock	62	6,000	4,360	0,613	0,685	0,114
	Ammelshain	78	10,000	5,914	0,513	0,801	0,365
A7	Hoge Fronten	28	2,000	1,997	0,393	0,357	-0,084
	Lage Fronten	36	6,000	3,986	0,278	0,453	0,402
	Freiburg Dreisam	52	8,000	5,770	0,692	0,770	0,110
	Freiburg Messe	22	7,000	6,136	0,864	0,808	-0,046
	Inzlingen	14	9,000	7,757	0,857	0,849	0,028
	Lörrach	9	8,000	8,000	0,778	0,735	0,000
	Wölblin	62	8,000	5,807	0,758	0,788	0,046
	Mannheim	49	12,000	6,889	0,776	0,825	0,071
	Bramsche	60	7,000	5,597	0,633	0,781	0,198
	Wittlich	50	6,000	4,744	0,580	0,668	0,141
	Nörten-Hardenberg	40	12,000	7,957	0,950	0,826	-0,138
	Dresden	59	5,000	4,251	0,712	0,746	0,054
	Schoß Stukenbrock	62	6,000	4,175	0,774	0,702	-0,095
	Ammelshain	79	6,000	3,886	0,696	0,697	0,008



## Bijlage 4. Hardy en Weinberg-evenwicht per locus

*Hardy en Weinberg-analyse Chi-kwadraat toetsen*

Populatie	Locus	Aantal vrijheidsgraden	Chi- kwadraat	Kans (P)	Significantie	Locus in HW-evenwicht
Hoge Fronten	B4	1	2,1	0,152	ns	Ja
Hoge Fronten	B3	21	46,2	0,001	P < 0.01	nee
Hoge Fronten	Pb50	6	48,9	0,000	P < 0.001	Nee
Hoge Fronten	C8	6	29,0	0,000	P < 0.001	Nee
Hoge Fronten	Pb73	10	32,0	0,000	P < 0.001	Nee
Hoge Fronten	Pb10	21	11,5	0,952	ns	Ja
Hoge Fronten	Lv-4-alpha	6	17,1	0,009	P < 0.01	Nee
Hoge Fronten	A7	1	0,3	0,589	ns	Ja
Lage Fronten	B4	10	9,2	0,510	ns	Ja
Lage Fronten	B3	136	242,6	0,000	P < 0.001	Nee
Lage Fronten	Pb50	28	133,8	0,000	P < 0.001	Nee
Lage Fronten	C8	21	61,8	0,000	P < 0.001	Nee
Lage Fronten	Pb73	15	69,4	0,000	P < 0.001	Nee
Lage Fronten	Pb10	66	77,0	0,166	ns	Ja
Lage Fronten	Lv-4-alpha	45	77,3	0,002	P < 0.01	Nee
Lage Fronten	A7	15	62,3	0,000	P < 0.001	Nee

Bijlage 5. P-distance tussen cytochroom b sequenties





		Tuscany Clade				Venetian Clade		March Clade	Salps Clade		Central Balkan Clade		Piscula		Ptilolepis			P Hispanicus
	Sequente	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57
Pmurals Eastern France Clade	01_26X_HF_NL																	
	02_13X_LF_NL																	
	03_2X_Heeswijk_NL																	
	04_30X_LF_NL																	
	05_3X_Echt_NL																	
	06_2X_Banneveld_NL																	
	07_1X_Utrecht_4_NL																	
	08_3X_Banneveld_NL																	
	09_4X_Banneveld_NL																	
	10_1X_Dordrecht1_NL																	
	11_Pm_UU60_D																	
	12_4X_Tolkamer_NL																	
	13_Pm_BOT2_D																	
	14_Pm_Bitche_FR																	
	15_Pm_Anhée_BE																	
	16_Pm_Bourscheid_LUX																	
	17_Pm_SRPProvence_FR																	
	18_Pm_15X																	
	19_Pm_Dudelange_LUX																	
	20_Pm_LB169_FR																	
	21_4X_LF_NL																	
	22_1X_Kisdonk_NL																	
	23_Pm_UU134_D																	
	24_Pm_Aulun_FR																	
	25_Pm_SiMdArdeche_FR																	
Pmurals Western France Clade	26_Pm_MS3_FR																	
	27_Pm_LS6_FR																	
	28_Pm_Amb2_FR																	
	29_3X_Heeswijk_NL																	
	30_2X_Banneveld_NL																	
	31_1X_Dordrecht2_NL																	
	32_1X_Tilburg_NL																	
	33_Pm_SIM1_FR																	
	34_Pm_LR01_FR																	
	35_Pm_3X_Mainz_D																	
	36_3X_HF_NL																	
	37_Pm_Andorra																	
	38_Pm_Benasque_SP																	
	39_Pm_NOE4_D																	
	40_Pm_3X_NHardenberg																	
Pmurals Tuscany Clade	41_4X_Hengelo_NL																	
	42_1X_LF_NL	0																
Pmurals Venetian Clade	43_Pm_SDI_OO	0,009	0,009															
	44_Pm_Alba_IT	0,027	0,027	0,017														
Pmurals March Clade	45_2X_Utrecht_NL	0,031	0,031	0,021	0,031													
Pmurals Salps Clade	46_Pm_BA18_OO	0,031	0,031	0,021	0,031	0												
	47_Pm_Pula_KR	0,054	0,054	0,044	0,054	0,031	0,031											
Pm Central Balkan clade	48_1X_Echt_NL	0,073	0,073	0,063	0,069	0,04	0,04	0,063										
	49_Pm_2X_Bramsche_D	0,073	0,073	0,063	0,069	0,04	0,04	0,063	0									
Piscula	50_Pm_LU089	0,058	0,058	0,049	0,054	0,026	0,026	0,039	0,03	0,03								
	51_Pm_HANI_D	0,058	0,058	0,049	0,054	0,026	0,026	0,039	0,03	0,03	0							
Ptilolepis	52_1X_PS_Nimwegen_NL	0,152	0,152	0,139	0,159	0,144	0,144	0,161	0,15	0,15	0,143	0,143						
	53_Ps_IT	0,221	0,221	0,206	0,23	0,212	0,212	0,224	0,224	0,224	0,204	0,204	0,058					
P Hispanicus	54_Pi_6X_NHardenberg_D	0,192	0,192	0,177	0,2	0,183	0,183	0,183	0,195	0,195	0,176	0,176	0,189	0,201				
	55_Pi_Planoles_SP	0,208	0,208	0,192	0,216	0,198	0,198	0,198	0,211	0,211	0,19	0,19	0,204	0,217	0,009			
	56_Pi_4X_Labeurme_SP	0,217	0,217	0,201	0,226	0,183	0,183	0,195	0,195	0,195	0,176	0,176	0,194	0,182	0,04	0,049		
Pvoucheri	57_Pv_Valencio_SP	0,208	0,208	0,192	0,21	0,174	0,174	0,186	0,205	0,205	0,172	0,172	0,215	0,207	0,145	0,159	0,141	
	58_Pv_Atlas_M	0,202	0,202	0,186	0,203	0,192	0,192	0,18	0,224	0,224	0,191	0,191	0,23	0,248	0,171	0,186	0,177	0,13

## Bijlage 6. Assignment waarden Hoge en Lage Fronten

Maximum likelihood waarden en maximum likelihood difference (MLD) van de assignmentanalyse van de Hoge Fronten en Lage Fronten.

HF: Hoge Fronten; LF: Lage Fronten; FDr: Freiburg Dreisam; Fme: Freiburg Messe; In: Inzlingen; Lö: Lörrach; Wö: Wölblin; Ma: Mannheim; Br: Bramsche; Wi: Wittlich; Nö: Nörten-Hardenberg; Dr: Dresden; SH: Schloß Holte-Stukenbrock; Am: Ammelshain. Bij een MLD < 1 kan een individu niet betrouwbaar aan een populatie worden toegewezen.

Individu	Herkomst individu	HF	LF	FDr	FMe	In	Lö	Wö	Ma	Br	Wi	Nö	Dr	SH	Am	Assigned Populatie	MLD
21	HF	-5,37	-9,13	-21,48	-20,96	-22,07	-22,04	-22,39	-22,02	-26,15	-16,72	-15,94	-18,60	-15,94	-18,00	HF	3,76
22	HF	-5,33	-10,27	-18,47	-19,94	-20,44	-20,91	-19,56	-15,84	-19,05	-18,22	-18,03	-18,60	-13,11	-21,04	HF	4,93
23	HF	-5,00	-10,55	-24,04	-26,26	-27,84	-22,20	-22,39	-23,27	-26,75	-20,70	-24,87	-25,94	-17,17	-27,24	HF	5,55
24	HF	-5,29	-8,02	-23,52	-23,28	-23,62	-24,61	-24,52	-22,86	-27,14	-19,64	-18,11	-21,84	-19,50	-17,47	HF	2,74
25	HF	-4,05	-8,26	-23,56	-23,52	-24,48	-22,12	-23,55	-23,15	-27,82	-19,00	-19,83	-21,53	-17,57	-20,86	HF	4,21
26	HF	-4,45	-10,24	-21,52	-20,93	-23,57	-20,74	-22,02	-19,89	-24,26	-19,09	-21,18	-22,54	-17,70	-23,14	HF	5,79
27	HF	-4,99	-8,59	-21,08	-20,17	-21,76	-22,49	-22,58	-20,57	-24,80	-17,42	-18,13	-20,22	-18,52	-19,06	HF	3,60
28	HF	-7,31	-12,46	-22,78	-22,86	-25,63	-23,61	-22,89	-23,71	-25,63	-21,06	-23,81	-24,08	-19,18	-25,11	HF	5,15
29	HF	-4,48	-10,04	-24,63	-25,97	-26,23	-25,44	-26,24	-23,21	-26,97	-24,12	-23,92	-26,22	-19,89	-26,15	HF	5,56
30	HF	-6,27	-11,93	-25,15	-26,61	-28,39	-23,35	-22,77	-23,45	-26,45	-21,61	-24,57	-25,64	-18,11	-27,21	HF	5,66
31	HF	-7,47	-14,59	-22,40	-23,33	-24,77	-24,01	-25,57	-20,98	-24,42	-21,37	-22,68	-23,84	-19,72	-23,32	HF	7,12
32	HF	-4,92	-11,03	-24,02	-26,15	-26,59	-22,65	-24,33	-24,04	-28,19	-22,61	-24,23	-25,68	-18,45	-25,86	HF	6,11
33	HF	-5,60	-10,36	-22,31	-25,27	-25,49	-24,17	-23,48	-23,09	-28,05	-20,70	-26,68	-26,16	-20,44	-28,16	HF	4,76
34	HF	-3,85	-10,57	-20,82	-21,14	-22,23	-20,91	-21,77	-17,85	-22,92	-17,21	-17,00	-20,20	-13,74	-19,91	HF	6,72
35	HF	-7,78	-14,53	-22,96	-25,60	-26,68	-21,12	-24,61	-23,96	-27,91	-22,81	-26,58	-27,04	-21,05	-25,57	HF	6,75
36	HF	-6,16	-9,40	-22,19	-22,83	-23,68	-23,42	-22,37	-21,53	-26,45	-17,67	-22,59	-22,65	-16,52	-23,96	HF	3,24
37	HF	-4,23	-9,22	-16,92	-18,88	-19,04	-16,29	-17,79	-18,23	-22,63	-15,75	-19,48	-21,02	-14,35	-19,27	HF	4,99
38	HF	-6,75	-10,55	-20,58	-20,89	-23,22	-22,52	-20,83	-20,89	-23,65	-14,69	-19,53	-20,40	-14,75	-25,07	HF	3,80
39	HF	-6,14	-8,24	-21,88	-21,97	-22,37	-24,31	-22,49	-22,38	-24,30	-19,28	-18,09	-20,44	-17,59	-20,47	HF	2,10
40	HF	-5,35	-8,64	-18,94	-18,14	-19,32	-20,31	-21,05	-20,93	-22,92	-17,09	-15,04	-19,07	-16,49	-13,98	HF	3,28
41	HF	-4,69	-6,79	-18,25	-18,63	-19,32	-19,57	-18,40	-18,51	-22,39	-12,45	-13,86	-16,39	-13,59	-14,36	HF	2,10
42	HF	-6,46	-11,85	-20,30	-19,99	-23,22	-21,57	-23,53	-22,64	-25,25	-19,43	-20,51	-23,08	-17,81	-24,69	HF	5,40
43	HF	-4,38	-7,37	-17,49	-19,46	-18,63	-17,22	-18,62	-19,01	-20,72	-17,58	-18,42	-19,82	-13,83	-17,63	HF	2,99
44	HF	-5,36	-10,55	-22,77	-22,38	-23,82	-24,01	-23,78	-19,55	-23,27	-19,61	-21,13	-22,57	-16,82	-25,50	HF	5,20
45	HF	-10,46	-15,21	-21,59	-22,09	-23,52	-21,35	-22,05	-20,99	-28,38	-17,47	-22,52	-24,50	-19,41	-23,52	HF	4,75
46	HF	-11,23	-16,55	-24,04	-22,91	-25,54	-20,61	-20,86	-21,46	-24,43	-20,78	-22,60	-22,90	-17,21	-25,27	HF	5,32

Individu	Herkomst individu	HF	LF	FDr	FMe	In	Lö	Wö	Ma	Br	Wi	Nö	Dr	SH	Am	Assigned Populatie	MLD
94	HF	-7,45	-7,55	-19,46	-21,02	-21,08	-19,35	-19,50	-20,98	-22,60	-17,89	-18,37	-20,57	-15,84	-22,33	-	0,10
95	HF	-8,75	-10,05	-25,36	-24,52	-26,28	-23,04	-25,07	-23,10	-27,23	-19,86	-21,41	-23,36	-21,24	-21,47	HF	1,30
96	HF	-8,59	-10,94	-25,09	-23,33	-24,23	-22,39	-26,48	-22,00	-26,54	-24,14	-23,61	-25,62	-24,37	-23,87	HF	2,34
60	LF	-9,57	-5,38	-13,92	-15,94	-15,27	-17,61	-16,61	-18,17	-16,18	-12,64	-15,06	-17,09	-12,61	-18,41	LF	4,20
61	LF	-8,53	-6,49	-14,99	-17,85	-18,23	-20,70	-16,82	-16,28	-15,09	-12,17	-15,57	-15,60	-13,30	-19,01	LF	2,04
63	LF	-11,17	-8,15	-17,88	-18,61	-17,82	-18,78	-19,36	-17,89	-20,34	-16,09	-13,91	-18,42	-16,66	-15,08	LF	3,02
64	LF	-10,65	-8,93	-24,52	-25,03	-24,15	-27,66	-26,12	-21,48	-26,15	-19,62	-21,47	-25,18	-23,27	-23,45	LF	1,72
66	LF	-10,16	-8,63	-19,87	-23,00	-24,02	-18,67	-17,78	-24,69	-24,60	-15,12	-23,84	-23,89	-13,87	-25,58	LF	1,52
67	LF	-8,17	-5,14	-14,09	-16,95	-16,74	-16,47	-15,70	-16,93	-14,02	-12,79	-14,47	-17,42	-11,28	-16,11	LF	3,03
68	LF	-12,03	-8,25	-9,06	-9,48	-11,58	-10,29	-13,49	-8,64	-9,97	-11,65	-12,51	-9,75	-12,34	-13,12	LF	3,78
69	LF	-13,43	-10,66	-15,78	-16,66	-16,66	-15,41	-16,61	-17,85	-21,34	-7,91	-14,43	-15,29	-10,26	-20,05	Wi	2,76
70	LF	-13,22	-8,11	-18,05	-19,81	-20,54	-16,53	-14,75	-20,19	-20,98	-12,19	-19,18	-20,03	-13,92	-18,21	LF	5,11
71	LF	-9,76	-5,92	-19,23	-20,65	-19,88	-21,65	-21,30	-20,62	-20,20	-19,97	-15,31	-20,73	-18,31	-16,17	LF	3,84
73	LF	-10,86	-9,65	-22,60	-25,97	-26,03	-22,25	-23,22	-26,79	-28,30	-20,83	-28,10	-26,92	-21,58	-28,79	LF	1,21
74	LF	-14,43	-8,68	-20,21	-21,48	-21,27	-21,56	-22,44	-21,29	-24,61	-18,61	-16,82	-20,14	-22,05	-17,45	LF	5,74
75	LF	-9,05	-7,86	-18,40	-19,40	-20,68	-21,98	-21,56	-21,85	-20,25	-17,14	-16,92	-20,02	-18,17	-17,96	LF	1,18
76	LF	-10,42	-8,04	-22,65	-24,59	-24,88	-20,38	-22,73	-24,89	-27,89	-18,34	-23,29	-22,65	-20,11	-24,65	LF	2,38
77	LF	-13,21	-9,91	-21,87	-24,23	-24,12	-22,17	-21,78	-26,96	-27,59	-20,59	-25,40	-24,64	-21,94	-26,11	LF	3,30
78	LF	-6,40	-5,07	-19,37	-19,89	-20,12	-22,01	-20,32	-19,44	-20,18	-14,90	-15,74	-17,34	-15,27	-18,76	LF	1,33
79	LF	-17,93	-13,77	-17,96	-21,36	-18,86	-20,26	-19,19	-18,90	-18,78	-16,50	-17,87	-18,42	-19,84	-19,36	LF	4,16
80	LF	-7,83	-7,03	-18,54	-20,41	-21,43	-18,09	-17,72	-24,48	-21,43	-17,49	-21,71	-22,66	-17,42	-24,61	-	0,80
81	LF	-13,06	-9,27	-19,09	-21,02	-21,03	-20,67	-18,08	-21,85	-22,00	-13,29	-22,07	-23,67	-15,30	-21,44	LF	3,79
82	LF	-15,82	-11,00	-17,18	-19,45	-19,76	-20,67	-19,18	-21,08	-20,51	-17,15	-20,18	-20,42	-16,59	-18,74	LF	4,83
83	LF	-13,41	-10,22	-19,36	-22,68	-22,13	-21,09	-22,80	-22,51	-23,43	-19,92	-19,51	-23,02	-23,65	-22,84	LF	3,20
84	LF	-8,57	-7,70	-18,60	-20,08	-20,23	-23,50	-20,80	-20,30	-20,56	-15,99	-18,89	-21,31	-18,13	-20,90	-	0,88
85	LF	-11,05	-6,73	-20,09	-22,86	-22,73	-23,16	-21,17	-24,33	-22,08	-20,50	-22,57	-22,87	-19,40	-23,11	LF	4,32
86	LF	-14,19	-11,60	-27,46	-28,11	-27,36	-26,22	-25,54	-25,98	-28,96	-24,51	-25,21	-26,32	-23,69	-27,53	LF	2,59
87	LF	-13,27	-7,82	-22,38	-25,54	-22,77	-21,60	-23,31	-24,16	-26,49	-22,08	-25,62	-23,45	-23,30	-27,44	LF	5,46
88	LF	-12,82	-10,11	-26,33	-26,34	-24,54	-27,26	-26,70	-23,92	-26,31	-24,54	-21,38	-26,07	-24,21	-20,16	LF	2,71
89	LF	-14,77	-9,44	-20,11	-24,36	-22,72	-21,98	-22,08	-25,94	-23,83	-20,78	-26,12	-22,18	-19,02	-25,99	LF	5,33
90	LF	-12,19	-10,17	-24,55	-25,79	-26,23	-21,95	-23,19	-25,61	-26,00	-22,62	-26,65	-26,51	-23,60	-29,41	LF	2,02
91	LF	-10,87	-9,96	-23,76	-25,43	-25,72	-28,53	-25,02	-23,62	-25,11	-21,14	-22,08	-24,74	-20,00	-24,22	-	0,92

Individu	Herkomst individu	HF	LF	FDr	FMe	In	Lö	Wö	Ma	Br	Wi	Nö	Dr	SH	Am	Assigned Populatie	MLD
105	LF	-13,66	-10,09	-23,00	-22,17	-22,14	-24,97	-24,17	-21,72	-23,42	-19,15	-19,58	-20,52	-20,71	-20,94	LF	3,57
106	LF	-17,78	-10,48	-18,61	-23,33	-22,57	-17,94	-21,85	-27,03	-25,86	-19,14	-25,41	-23,45	-21,04	-28,13	LF	7,30
107	LF	-13,16	-10,79	-23,05	-23,59	-24,07	-20,08	-21,45	-22,19	-27,82	-17,75	-19,64	-23,47	-17,51	-20,40	LF	2,38
108	LF	-14,35	-13,80	-20,28	-22,63	-22,67	-23,61	-21,30	-25,32	-23,33	-16,93	-22,89	-22,49	-19,51	-25,79	-	0,55
109	LF	-8,57	-7,09	-24,18	-24,49	-24,73	-26,61	-25,01	-24,04	-24,07	-20,76	-21,10	-21,94	-18,44	-25,00	LF	1,48
111	LF	-14,05	-11,89	-18,77	-21,55	-23,22	-18,98	-18,03	-26,64	-26,66	-18,36	-22,70	-25,66	-15,96	-21,51	LF	2,15
112	LF	-9,20	-7,51	-24,39	-25,37	-26,03	-23,42	-23,23	-25,40	-26,91	-19,31	-19,97	-23,96	-18,56	-21,87	LF	1,69
113	LF	-14,23	-10,24	-25,00	-26,08	-24,20	-23,69	-24,44	-25,04	-29,81	-20,62	-21,37	-25,08	-22,26	-21,16	LF	3,99
114	LF	-12,64	-8,78	-23,38	-26,40	-25,65	-23,73	-23,18	-25,48	-26,88	-21,27	-23,61	-25,94	-19,11	-25,52	LF	3,86
115	LF	-8,85	-5,25	-19,06	-22,15	-22,89	-20,17	-17,83	-23,94	-22,30	-15,81	-21,53	-21,79	-16,87	-24,03	LF	3,60
116	LF	-10,58	-7,68	-25,87	-27,05	-24,47	-22,54	-24,16	-23,87	-27,88	-21,24	-23,78	-21,89	-23,14	-21,85	LF	2,90
117	LF	-11,55	-13,59	-22,96	-25,30	-26,59	-22,65	-22,21	-27,70	-27,07	-20,48	-26,38	-27,99	-20,92	-30,26	HF	2,04
118	LF	-15,44	-10,01	-19,87	-21,57	-22,11	-24,76	-23,99	-22,70	-22,62	-19,86	-20,23	-22,61	-22,17	-21,83	LF	5,43
119	LF	-18,24	-12,86	-23,84	-25,10	-24,38	-24,55	-26,38	-23,51	-27,68	-21,36	-24,27	-25,13	-23,75	-26,28	LF	5,39
120	LF	-11,51	-7,76	-23,59	-25,54	-24,22	-21,68	-22,85	-24,75	-27,72	-19,44	-23,92	-24,29	-21,88	-22,28	LF	3,75
121	LF	-9,33	-8,45	-23,94	-26,63	-27,09	-27,36	-23,31	-26,08	-24,93	-21,80	-23,18	-25,46	-21,75	-29,20	-	0,88
122	LF	-14,63	-10,43	-21,07	-22,61	-24,09	-23,69	-22,22	-25,96	-26,66	-18,90	-29,85	-26,50	-25,69	-28,50	LF	4,21



