

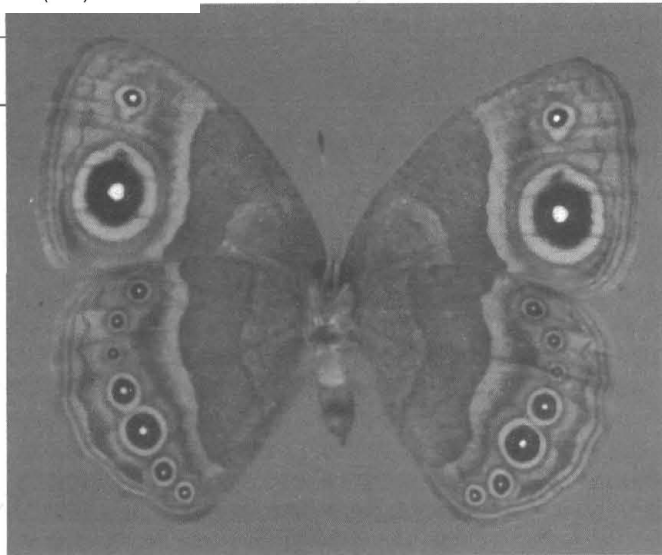


Foto 1. Het tropische Zandoogje (*Bicyclus anynana*) met de opvallende oogvlekken en de witte band aan de onderzijde van de vleugels.

Paul M. Brakefield & Rinny E. Kooi

Wat een tropisch Zandoogje ons kan vertellen over het beheer van Nederlandse vlinders

Veel vlindersoorten in Nederland zijn uitgestorven of verkeren in een bedreigde situatie. Er zijn pogingen gedaan om sommige vlindersoorten te herintroduceren. Helaas is er tot nu toe weinig genetische kennis beschikbaar ter ondersteuning van deze herintroducties. Onderzoek aan het tropische Zandoogje (*Bicyclus anynana*) biedt een mogelijkheid om in deze kennisbehoefte te voorzien.

Wat bepaalt de kans dat natuurlijke populaties uitsterven? Dit is de centrale vraag in het beheer gericht op het handhaven en beschermen van zeldzame soorten planten en dieren. Het is algemeen bekend dat rampen die veranderingen veroorzaken in de omgeving, in de verspreiding of in de erfelijke eigenschappen van organismen belangrijke redenen zijn voor het verdwijnen van soorten. Voor vlinders kan ook de aanwezigheid van bepaalde plantesoorten of vegetatiepatronen erg belangrijk zijn.

Verlies aan erfelijke eigenschappen

Het verkleinen van een populatie kan leiden tot een verandering en verlies aan erfelijke eigenschappen, echter ook tot een verkleining van de aanwezige variatie in genetische eigenschappen. Als een populatie wordt verkleind, neemt ook de kans op inteelt toe: verwante individuen hebben in een kleine populatie meer kans om met elkaar te paren en nageslacht te krijgen dan in een grote populatie. Als deze verwanten in het bezit zijn van ongunstige eigenschappen, hebben deze eigen-

schappen meer kans tot uiting te komen. Daardoor heeft hun nageslacht mogelijk een grotere kans te sterven. Wil een populatie een goede "overlevingskans" hebben, dan is het bezit van een grote verscheidenheid aan erfelijke eigenschappen belangrijk. Dit biedt immers goede aanpassingsmogelijkheden. Iedere tijdelijke afname van het aantal individuen van een kleine populatie kan daarom een "bottleneck" effect hebben. In dit verband wordt met "bottleneck" bedoeld een kritisch moment in de overleving van een populatie. Een populatie ondergaat een ramp met als gevolg dat het aantal individuen zeer sterk afneemt. Dit betekent vermoedelijk een dramatische afname van de verscheidenheid aan erfelijke eigenschappen, waardoor het voortbestaan van de populatie in gevaar komt.

Het geïsoleerd raken van populaties beperkt de mogelijkheden voor het uitwisselen van genetisch materiaal met andere populaties. Voor kleine populaties kan zo'n uitwisseling belangrijk zijn, omdat daardoor de verscheidenheid aan erfelijk materiaal kan toenemen. Isolatie

beperkt ook de kans op herbezetting van plaatselijk uitgestorven populaties. De variatie aan erfelijke eigenschappen is waarschijnlijk gerelateerd aan de levensvatbaarheid van individuen uit één populatie, en aan de mogelijkheid van een populatie zich aan veranderende omstandigheden aan te passen. Een veranderende omstandigheid kan bv. een door de industrie vervuilde omgeving zijn of een verhoging van de temperatuur onder invloed van de afbraak van de ozonlaag. Met behulp van laboratoriumonderzoek aan tropische Zandoogjes wordt geprobeerd inzicht te krijgen in de hierbij optredende processen. Ook wordt onderzocht welk effect het verkleinen van populaties op de aanwezige verscheidenheid aan erfelijk materiaal heeft.

Waarom vlinders?

Vlinders zijn geliefd bij het publiek en krijgen toenemende aandacht in het beheer. De leefwijze en de binding aan speciale voedselplanten maakt veel vlindersoorten gevoelig voor verstoringen in hun omgeving. De laatste jaren zijn veel soorten sterk in aantal achteruitgegaan of uitgestorven. In Nederland zijn deze eeuw 15 van de 75 aanwezige soorten verdwenen en 26 soorten zijn zeer bedreigd geworden (Tax, 1989). Er zijn verschillende oorzaken waardoor vlindersoorten achteruitgaan; vaak is de achteruitgang gekoppeld met het opsplitsen en verkleinen van hun habitat. De overblijvende populaties zijn klein geworden en geïsoleerd geraakt. Vlinderpopulaties storten in de regel ook regelmatig in als gevolg van veranderende klimaatsfactoren. Als men bedenkt dat het afnemen van de populatiegrootte op zich al regelmatig voorkomt binnen vlindersoorten, kan men zich voorstellen dat informatie over processen, die samenhangen met veranderingen in erfelijke eigenschappen in relatie tot kleine populaties, betrokken moet worden bij het beheer van vlinders.

En waarom een tropisch Zandoogje?

B. anynana is een tropisch Zandoogje uit Afrika, o.a. uit Malawi (Kooi, 1994). De vlinder heeft aan de onderzijde van de vleugels opvallende oogvlekken en een witte band (foto 1). Deze kenmerken kunnen tussen vlinders onderling iets ver-

Fig. 1. Fenotypische verschillen tussen replica's van "bottleneck" kweken uitgaande van één paartje (links) en controles zonder "bottleneck" (rechts) van de vlinder *Bicyclus anynana*. Het gemiddelde en de standaardfout worden gepresenteerd voor drie vleugelkenmerken van de onderzijde van de achtervleugel van mannetjes: de breedte van de witte band, het verschil in kleurintensiteit en de grootte van de grootste oogvlek.

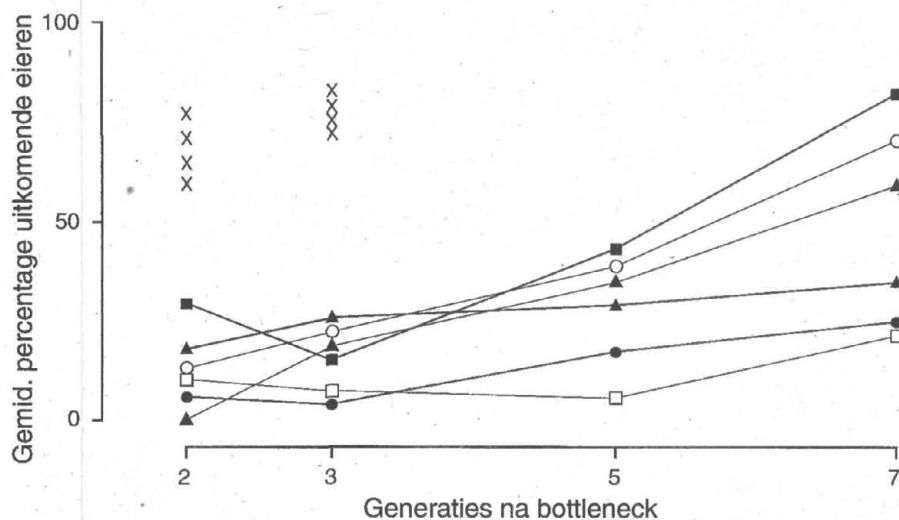
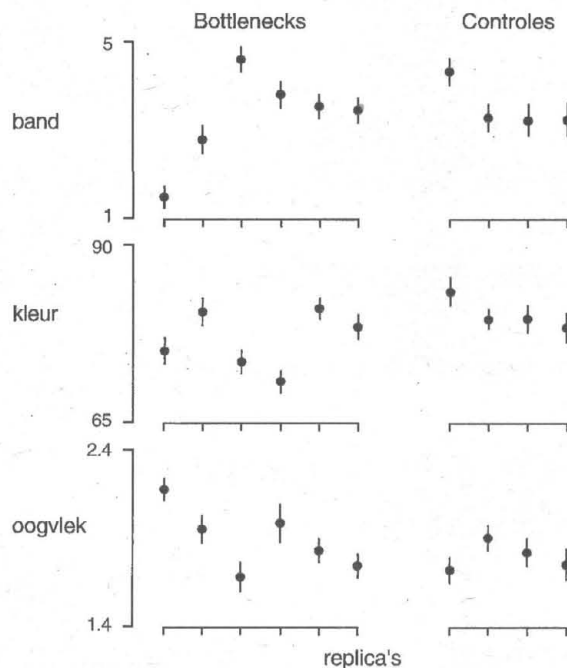


Fig. 2. De levensvatbaarheid van zes populaties van *Bicyclus anynana* van "bottleneck-kweken" uitgaande van één paartje (verbonden symbolen) en controlekweken zonder bottleneck (X). De veranderingen in de loop der tijd worden gepresenteerd voor de "bottleneck-kweken" die opgezet waren met één vlinderpaartje; ieder symbool stelt een afzonderlijke kweek voor.

schillen o.a. onder invloed van de erfelijke aanleg (Windig, 1993). De vlindersoort heeft een korte tijd nodig om zich te ontwikkelen en is gemakkelijk te kweken. In het veld leeft *B. anynana* aan de rand van bossen. De populatie bestaat uit een mozaïek van betrekkelijk kleine groepjes vlinders. De grootte van deze groepjes wisselt en er zijn waarnemingen dat vlinders soms van het ene groepje naar het andere vliegen. *B. anynana* is gebruikt als een soort "model" (Brakefield & Saccheri, 1994). Voor het onderzoek is bewust met een vlindersoort gewerkt. De biologie van *B. anynana* lijkt meer op die van de Nederlandse vlindersoorten dan die van andere te gebruiken insectensoorten als fruitvliegjes of huisvliegen. Uiteraard is het nog de vraag in hoeverre de resultaten representatief zijn voor andere vlindersoorten. Dit zal later moeten worden uitgezocht.

In het laboratorium worden de Zand-oogjes gekweekt in kooien van gaas (35x65x45 cm) met per kooi 300 vlinders of 500 rupsen. De vlinders worden gevoerd met banaan en de rupsen met maisbladeren. De kweken zijn opgezet bij 26°C. Bij deze temperatuur duurt een generatie ongeveer 6 weken. Een vrouwtje legt ongeveer 300 eieren. Het is zeer eenvoudig een kweek op te zetten met slechts één gepaard vrouwtje.

Experimenteel werk

Om het effect van "bottlenecks" die mogelijk in het veld optreden na te bootsen werden kweken opgezet uitgaande van één, drie of tien paartjes met als controle grote kweken gebaseerd op 300 vlinders (de serie met één paartje werd in zesvoud opgezet en de overigen in viervoud). De kweken die gebaseerd waren op een laag aantal vlinders simuleren mogelijk populaties in het veld die een ramp hebben overleefd, of ze stellen een groep vlinders voor die men opnieuw in een bepaald gebied heeft losgelaten. De nakomelingen in alle kweken mochten in aantallen toenemen en na 2 of 3 generaties werden bepaalde kenmerken gemeten. Van *B. anynana* is een aantal erfelijke eigenschappen bekend die in kweken van verschillende grootte gevolgd kunnen worden. Voor een viertal kenmerken is het effect van de "bottlenecks" onderzocht door I. Saccheri (Brakefield & Saccheri, 1994).

Resultaten

Normaal hebben de poppen van dit Zand-oogje een groene kleur. Af en toe worden er gele exemplaren gevonden. In dit geval



is er één erfelijke factor, één gen, die bepaalt of de pop geel of groen wordt. Zoals is gemeld werden er zes kweken uitgaande van één vlinderpaartje opgezet. In vier van de zes replica's werden geen gele poppen meer gevonden. Toen de kweken later weer een "bottleneck" kregen bleek dat na deze tweede behandeling in één van de twee resterende kweken ook geen gele poppen meer werden gevonden. Dit was een eerste aanwijzing voor een vermindering aan erfelijke eigenschappen na een "bottleneck".

Zoals eerder is geschreven heeft de vleugel van *B. anynana* oogvlekken en een witte band (foto 1), ook zijn er tussen de vlinders kleurverschillen te zien. Aan drie kenmerken op de achtervleugel van de vlinders werden metingen verricht; namelijk aan de grootste oogvlek, aan de kleur en aan de breedte van de witte band. Uit experimenteel werk weten we dat deze kenmerken variëren bij verschillende individuen. Aangezien deze verschillen voor een deel worden veroorzaakt door een verschil in erfelijke aanleg (Windig, 1993), kunnen deze kenmerken worden gebruikt in de experimenten. Er kan worden bepaald in hoeverre er veranderingen optreden in de aanwezige variatie in erfelijke eigenschappen.

Als met een kleine groep vlinders wordt gestart, is per populatie slechts een beperkte hoeveelheid erfelijk materiaal aanwezig. Als de populatie die ontstaat uit een kleine groep groeit, neemt de verscheidenheid aan erfelijke eigenschappen niet of nauwelijks toe. Wordt uit een stam één vlinderpaartje genomen, en heeft dit paartje toevallig grote oogvlekken, dan zal uit dit paartje een groep vlinders ontstaan met grote oogvlekken. De oogvlekken van de vlinders (en ook de kleur en de band) uit de zes kweken, elk met één paartje gestart, zullen lijken op die van het paartje waarmee de lijn is gestart. Tussen de zes kweken kunnen - enkel door het toeval - grote verschillen ontstaan in deze drie kenmerken. Als men met een grote groep vlinders (300 ex.) een kweek opstart, zal dit nauwelijks het geval zijn. De 300 vlinders zullen gemiddeld lijken op de groep waaruit ze zijn gehaald. Daarom mag worden verwacht dat er nauwelijks verschillen zullen zijn tussen de vier controlelijnen.

Gebaseerd op deze informatie kan een verwachting worden geformuleerd ten aanzien van de resultaten: als een populatie uit een klein aantal individuen is ontstaan, zal de verscheidenheid aan erfe-

lijke eigenschappen tussen deze populaties onderling veel groter zijn dan de onderlinge variatie tussen populaties die uit een groot aantal individuen zijn opgebouwd. De resultaten uit de proeven komen overeen met de verwachting (fig. 1). Tussen de zes replica's uitgaande van één enkel vlinderpaartje werden voor de drie kenmerken oogvleksgrootte, kleur en band veel grotere verschillen gevonden dan tussen de controlelijnen.

Als er kweken werden opgezet met per groep tien vlinderpaartjes leken de resultaten voor deze drie kenmerken zeer veel op die van de controlelijnen. Binnen deze kweken met tien paartjes was kennelijk al bijna evenveel variatie in erfelijke eigenschappen aanwezig als in de controlegroepen. Het resultaat van de kweken uitgaande van drie vlinderpaartjes nam een tussenpositie in. Deze resultaten vormen een eerste aanwijzing dat voor de vestiging van een vlinderpopulatie tien bevruchte, eierleggende vrouwtjes een redelijk beginaantal kan zijn wat betreft de genetische variatie. Hierbij gaan we er vanuit dat de tien vrouwtjes zich snel zullen vestigen, dat wil zeggen dat er een snelle toename zal zijn van de populatiegrootte. In de veldsituatie zal vanwege de sterftekans een groter beginaantal noodzakelijk zijn, maar dit beginaantal hoeft niet erg groot te zijn.

Stressfactor

Men heeft getest in hoeverre groepen rupsen gevoelig zijn voor een stressfactor, in dit geval het synthetische pyrethroid insecticide deltamethrin. Individuele rupsen variëren misschien in hun mogelijkheid weerstand te bieden aan dit gif. Door groepen in aanraking te brengen met dezelfde concentratie van dit middel werd getest welk deel van de groep overleefde. De helft van de lijnen gestart met één paartje was zeer gevoelig voor een insecticide-behandeling na de eerste behandeling. Dit zou er inderdaad op kunnen duiden dat er binnen een populatie een mogelijkheid is om een insecticide-behandeling te overleven en dat deze kan berusten op erfelijke eigenschappen. Na een herhaalde "bottleneck"-behandeling in een latere generatie bleek dat er nog slechts in één lijn tolerantie voor insecticide aanwezig was. De reeds geringe erfelijke variatie aanwezig voor insecticide-tolerantie in de zes lijnen was na de eerste behandeling kennelijk verder afgenomen. De resultaten zijn opmerkelijk, omdat we tot nu toe geen onaf-

hankelijke waarnemingen hebben voor deze erfelijke variatie.

Levensvatbaarheid

Tot slot is gekeken naar de levensvatbaarheid van populaties. Het is bekend dat de levensvatbaarheid van kleine populaties kan afnemen. Men heeft met inteelt-effecten te maken; letale eigenschappen of erfelijke eigenschappen die een verminderde levensvatbaarheid met zich meebrengen hebben een grotere kans tot uiting te komen. Als maat voor levensvatbaarheid kan men de uitkomst van de eieren van de vlinders gebruiken. Men kan vrouwtjes isoleren, ze eieren laten leggen en controleren of deze eieren uitkomen. Als wordt gekeken naar de uitkomst van de eieren gelegd door de vrouwtjes, die uit de kweken kwamen gestart met slechts één enkel vlinderpaartje per lijn, dan blijkt dit percentage verschrikkelijk laag te zijn in vergelijking met controlegroepen (fig. 2). Ook bij deze proeven bleek het uitkomstpercentage van de lijnen met tien paartjes per kweek bijna overeen te komen met de controlelijnen. De resultaten van de lijnen opgezet met drie paartjes waren weer intermediair. Dit bevestigt het vermoeden dat de levensvatbaarheid van kleine populaties (of populaties die een "bottleneck" hebben doorlopen) gering is en afneemt.

Deze interpretatie wordt versterkt door het waargenomen "herstel" van de levensvatbaarheid. In enkele kweken uitgaande van één vlinderpaartje bleek in de loop der tijd het uitkomstpercentage toe te nemen; er trad als het ware herstel op. Men kan vermoeden dat de eigenschappen die gepaard gaan met een verlaagde uitkomst van eieren uit de populatie verdwijnen. De individuen die deze erfelijke aanleg bezitten zullen minder of geen nakomelingen opleveren waardoor deze eigenschappen verdwijnen en de exemplaren die "goede" nakomelingen opleveren overblijven.

Conclusies

Uit de experimenten komt naar voren dat de populaties die een "bottleneck" hebben doorgemaakt een verlies vertonen van de variatie aan erfelijke eigenschappen, en kenmerken bezitten die duiden op inteelt. De inteelt-kenmerken gaan gepaard met een verminderde levensvatbaarheid. De laboratoriumexperimenten hoeven niet (volledig) representatief te zijn voor dat wat in het veld gebeurt met (geïsoleerde) populaties van kleine omvang die een verminderde uitwisseling hebben met andere



populaties. Er komen uit de proeven echter aanwijzingen voor kenmerken die vermoedelijk ook aanwezig zijn in deze kleine natuurlijke populaties, zoals het bezit van letale eigenschappen of een verminderde levensvatbaarheid. Het feit dat een toename wordt gevonden voor de gevoeligheid voor insecticide is belangrijk in verband met de mogelijkheden voor populaties om zich in een veranderende omgeving aan te passen. Mogelijk worden populaties gevoeliger voor stressfactoren uit de omgeving.

Beheersadviezen

Als algemene regel geldt bij het beheer van vlinderpopulaties: probeer zoveel mogelijk de variatie in erfelijke eigenschappen te behouden door 1) de populaties zo groot mogelijk te houden; 2) het deel van de populatie dat aan de voortplanting deelneemt zo groot mogelijk te laten zijn; 3) de variatie in de omgeving van de vlinders te handhaven; 4) minimaliseer de mate en snelheid van veranderingen in de omgeving; 5) handhaaf de natuurlijke patronen van uitwisseling van erfelijk materiaal tussen populaties en bevorder de mogelijkheden voor herbezetting. Dit laatste kan bereikt worden door een netwerk van landschapstypes met verbindingsmogelijkheden te creëren, en eventueel door vlinders kunstmatig naar een andere populatie over te brengen. Echter, te veel verplaatsing van vlinders kan een tegengesteld effect hebben, doordat de vlinders geen gelegenheid krijgen zich aan de omgeving aan te passen, bijvoorbeeld aan hun voedselplanten. De rupsen van veel vlindersoorten accepteren vaak een beperkt aantal plantensoorten als voedselplant. Er zijn vlindersoorten waarvan het bekend is dat verschillende populaties in dezelfde regio gebruik maken van verschillende voedselplanten. Bij een kunstmatige herintroductie van soorten moet men zich beraden over de herkomst van de vlinders, het materiaal en het aantal individuen dat ingebracht wordt. De herkomst (habitat, voedselplanten en het klimaat) van de vlinders die verzameld worden moet zoveel mogelijk lijken op die van het gebied waarin de exemplaren worden losgelaten. Indien dit namelijk het geval is, hoeven ze zich minder aan te passen en hebben ze een grotere kans zich te vestigen. In dit verband is het nuttig als men een indruk heeft van de kans op de vestiging en het voortbestaan van de populatie in relatie tot de verscheidenheid aan

erfelijke eigenschappen van de ingebrachte individuen.

Tenslotte

De laatste jaren is melding gemaakt van veel herintroducties van vlindersoorten in Europa. Enkele van deze herintroducties, soms gebaseerd op een zeer laag begin-aantal exemplaren, hebben geleid tot populaties die zich min of meer vestigen. Of ze zich op de lange duur ook kunnen handhaven is nog onzeker. Het is nog onbekend welk deel van de pogingen om soorten te herintroduceren daadwerkelijk succesvol is geweest. De experimenten met *B.anymana* tonen aan dat een aanvangspopulatie van tien bevruchte, eierleggende vrouwtjes uit een kweek zonder inteelt-effecten meer succes zal hebben dan wanneer de aanvangspopulatie kleiner zal zijn; ook zou een aanvangspopulatie van tien eierleggende vrouwtjes ongeveer evenveel kans hebben zich te vestigen als een grotere groep. In dit geval is het echter wel van belang dat de geïntrodeerde populatie snel in omvang toeneemt. Hoewel laboratoriumexperimenten mogelijk geen gegevens opleveren over overlevings- en reproductieverschillen kunnen deze wel degelijk in wilde populaties een grote rol spelen. In aanvulling op dit laboratoriumwerk is daarom veldonderzoek noodzakelijk. Het werk met *B.anymana* staat nog slechts aan het begin van onderzoek ter ondersteuning van beheersvraagstukken. De proeven zijn bijvoorbeeld gebaseerd op "bottlenecks" die slechts één generatie duurden; in het veld kan deze periode langer zijn. Gezien de vele vragen die nog openblijven is meer onderzoek uiterst noodzakelijk, willen we onze vlinderpopulaties en andere organismen deskundig kunnen beheren. De betrokkenheid van velen is hierbij noodzakelijk. De Chinees Chuang Tzu (4e eeuw voor Chr.) schreef "I dreamed, and in my dream I was a butterfly". Laten wij hopen dat in de toekomst vlinders niet alleen in dromen bestaan.

Literatuur

Brakefield, P.M. & N. Reitsma, 1991. Phenotypic plasticity, seasonal climate and the population biology of *Bicyclus* butterflies (Satyridae) in Malawi. *Ecological entomology* 16: 291-303.
Brakefield, P.M. & I.J. Saccheri, 1994. Guidelines in conservation genetics and the use of the population cage experiments with butterflies to investigate the effects of genetic drift and inbreeding. In: V. Loeschcke, J. Tomiuk

& S.K. Jain (eds): Conservation genetics. Birkhäuser verlag Basel/Zwitserland

Kooi, R.E., 1994. Hoe veranderen vleugelpatronen bij tropische zandoogjes. *Vlinders* 9:7-8.

Tax, M.H., 1989. Atlas van de Nederlandse dagvlinders. Vlinderstichting, Wageningen en Natuurmonumenten, 's Graveland.

Windig, J.J., 1993. The genetic background of plasticity in wing pattern of *Bicyclus* butterflies. Proefschrift Rijksuniversiteit Leiden.

Summary

Can the tropical Butterfly *Bicyclus anymana* help in the conservation of dutch butterflies?

A basic concern in conservation biology theory is to understand what determines the survival of natural populations. It is well established that catastrophes, environmental stochasticity, demographic stochasticity and genetic stochasticity are the major causes of extinction. The importance of genetic variation remains essentially unquantified for almost all organisms. A quantitative description of the importance of these processes and how they interact in different species and environments is only present for the early stage of development. Therefore, the genetic management of rare species is based on largely untested theoretical considerations with little knowledge of the long-term consequences. For this reason "bottleneck" experiments were performed with the tropical Butterfly *Bicyclus anymana* in cages in which populations were established from different numbers of founding individuals. Lines established with single pairs and then measured in generation 2 or 3 showed increased differentiation from each other, declines in heritability of morphological traits, dramatic reduction in egg fertility and an increased sensitivity to insecticide applications relative to unbottlenecked control lines. Some general management policies for butterflies are outlined: 1) maintain population size minimizing the incidence and duration of any bottlenecks; 2) maximize the proportion of breeding adults; 3) preserve relevant habitat and environmental heterogeneity; 4) minimize the rate and extent of any (man-induced) environmental change; 5) retain natural patterns of migration. In addition the experimental results suggest that an introduction involving ten mated egg-laying females is as likely to be successful as one with more founders where the "initial bottleneck" is short lived.

Prof. dr. P.M. Brakefield & dr. R.E. Kooi
Instituut voor Evolutionaire en Ecologische Wetenschappen,
Rijksuniversiteit Leiden
Postbus 9516
2300 RA Leiden