



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Reproduction and genetics in fragmented plant populations

Luijten, S.H.

Publication date
2001

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Luijten, S. H. (2001). *Reproduction and genetics in fragmented plant populations*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam]. UvA, IBED, EPS.

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Samenvatting

Veel voorheen algemene plantensoorten zijn tegenwoordig zeldzaam en bedreigd door fragmentatie en degradatie van hun natuurlijke habitats. Dit is grotendeels te wijten aan toenemende menselijke activiteiten. Verdwijnen van geschikt habitat zorgt ervoor dat veel natuurgebieden klein zijn en van elkaar geïsoleerd zijn komen te liggen. Hierdoor is de populatiegrootte van veel plantensoorten ook kleiner geworden en is het contact tussen populaties onderling verminderd. Dit kan tot lokale extinctie leiden, doordat de genetische variatie en vitaliteit van de nakomelingen is afgenomen als gevolg van respectievelijk genetische drift (een toevalseffect) en inteelt (paring tussen door afstamming aan elkaar verwante individuen). Bovendien zijn kleine plantenpopulaties gevoelig voor een verlies van reproductief succes, omdat ze door bestuivers niet worden gevonden (het Allee-effect) of doordat het aantal geschikte partners voor kruisbestuiving is afgenomen door drift. Behalve populatiegrootte heeft het voortplantingssysteem een belangrijke invloed op de genetische en demografische processen in kleine en gefragmenteerde plantenpopulaties.

In dit proefschrift worden genetische en demografische aspecten onderzocht van twee bedreigde plantensoorten met een verschillende levensstrategie: de kortlevende Duitse gentiaan (*Gentiana germanica*) en het langlevende Valkruid (*Arnica montana*). Beide soorten zijn bedreigd en komen voor in kleine, geïsoleerde halfnatuurlijke biotopen in een sterk versnipperd landschap. De Duitse gentiaan is altijd zeldzaam geweest in Nederland, omdat de soort kenmerkend is voor kalkgraslanden, die alleen maar voorkomen in het zuiden van de provincie Zuid-Limburg. Valkruid daarentegen is een karakteristieke soort van voedselarme heischrale graslanden en heidevelden. Tot in het begin van 1900 was Nederland grotendeels bedekt met heidevelden, afgewisseld met hoogveen, en was Valkruid een zeer algemene soort. Ontginning, ontwatering en bebossing van het heidelandschap hebben het leefgebied vooral sinds de tweede wereldoorlog sterk verkleind en versnipperd. Bovendien heeft depositie van stikstof en andere stoffen vanuit de lucht de bodem verrijkt en verzuurd, waardoor de bodem veranderde ten nadele van soorten die hun optimale groeiomstandigheden hebben in voedselarmere milieus. Daarnaast is Valkruid veelvuldig verzameld in het wild voor allerlei medicinale doeleinden. Al deze factoren hebben er toe geleid dat Valkruid momenteel in Nederland sterk in haar voortbestaan bedreigd wordt. Ondanks het feit dat Valkruid wettelijk beschermd is sinds 1973 en, naast Otter en Korhoen, één van de aandachtsoorten is die genoemd worden in het Natuurbeleidsplan van 1990, gaat de achteruitgang van de soort nog steeds met een alarmerende snelheid door.

Kennis van de demografische en genetische processen in kleine en gefragmenteerde plantenpopulaties is van groot belang om hun levensvatbaarheid in te kunnen schatten en op langere termijn veilig te kunnen stellen. In dit proefschrift wordt in het bijzonder aandacht gegeven aan de relaties tussen de bestuivingsbiologie, het voortplantingssucces (de mate van kruis- of zelfbestuiving), de genetische variatie en de individuele prestaties van planten. Populaties die sterk zijn achteruitgegaan in grootte worden vergeleken met nog "normale", grote populaties, hoewel ook de laatstgenoemde vaak sterk geïsoleerd zijn.

Het proefschrift bestaat uit zes hoofdstukken. De eerste vier beschrijven onderzoek naar een groot aantal van de bovengenoemde factoren die belangrijk zijn voor de vitaliteit van Nederlandse Valkruidpopulaties. De laatste twee hoofdstukken beperken zich tot aspecten van de reproductiebiologie in relatie tot het beheer van de kortlevende Duitse gentiaan.

Een genotypering met behulp van allozymelectroforese van alle rozetten aanwezig in een proefvlak van 10x10 meter in een middelgrote populatie van Valkruid suggereerde dat deze

soort een klonale structuur vertoont, omdat dichte clusters van rozetten van hetzelfde genotype waren (HOOFDSTUK 2). Rozetclusters met een open structuur bestonden uit meerdere genotypen, hetgeen waarschijnlijk veroorzaakt werd door een zeer korte verspreidingsafstand van de zaden. De meeste kiemplanten werden gevonden binnen de open rozetclusters of in de directe nabijheid van de bloeiende planten. Een bestuivingsexperiment in dezelfde populatie liet tevens zien dat deze soort zelf-incompatibel is, hetgeen betekent dat er door een genetisch mechanisme geen zaden gevormd worden als bloemen met hun eigen stuifmeel bestoven worden. Een dergelijk zelf-incompatibiliteitssysteem verhindert ook de kruisbestuiving tussen twee individuen die hetzelfde genetische kenmerk hebben (ofwel hetzelfde S-allel bezitten). Voor een goede kruisbestuiving zijn in een populatie veel verschillende S-allelen nodig en dus ook een groot aantal verschillende individuen. De zelf-incompatibiliteit maakt Valkruid afhankelijk van bestuivers voor de uitwisseling van compatibel pollen. Ondanks dit systeem dat zelfbevruchting (en dus inteelt) tegengaat, had een klein aantal individuen in de populatie wel een redelijke zaadsetting na kunstmatige zelfbestuiving. Kennelijk is het systeem niet waterdicht. In een op Valkruid gelijkende Asteresoort in Noord-Amerika werd gesuggereerd dat wanneer het zelf-incompatibiliteitssysteem niet waterdicht is, je zou kunnen verwachten dat in kleine populaties, waar bezoek door insecten vaak onzeker is, het aandeel zelf-compatibele planten toe zou nemen omdat deze planten wel zaad produceren, in tegenstelling tot hun zelf-incompatibele soortgenoten.

HOOFDSTUK 3 gaat over een onderzoek naar de genetische variatie – gemeten met allozymen – van 26 Valkruidpopulaties van verschillende grootte. In vergelijking met andere zeldzame plantensoorten bleek dat Valkruid in Nederland zeer weinig genetische variatie bezit. Bovendien hadden kleinere populaties een lagere polymorfiegraad, een lager aantal allelen en een lagere genetische diversiteit dan grote. Genetische drift, een verschijnsel dat kan optreden wanneer een drastische reductie in het aantal individuen (een zg. 'bottleneck') plaatsvindt is zeer waarschijnlijk verantwoordelijk voor deze lage genetische variatie. Opvallend was de afwezigheid van een relatie tussen de waargenomen heterozygotie van de planten in het veld en de populatiegrootte, hetgeen verwacht zou worden wanneer ook inteelt in kleine populaties plaatsvindt. Over het algemeen vertoonden de kleine populaties juist een heterozygotenoverschot in verhouding tot een genetische evenwichtssituatie. Het is goed mogelijk dat de planten in de huidige kleine populaties de laatste overlevers van de voormalige grotere populaties zijn. Wanneer en hogere heterozygotie samengaat met een betere overleving zou te verwachten zijn dat de resterende planten indedaad vooral heterozygoot zouden zijn.

Behalve een lage genetische variatie vertoonden de populaties een relatief hoge genetische differentiatie ten opzichte van vergelijkbare niet zeldzame soorten, hetgeen impliceert dat uitwisseling van genen tussen de populaties zeer laag is.

Voorts bleek ook de zaadsetting positief gecorreleerd te zijn met populatiegrootte. In een zelf-incompatibele soort is het niet duidelijk of dit veroorzaakt wordt door een tekort aan bestuivers of door een tekort aan S-allelen (zie boven). Ook de kiemplantgrootte, het aantal bloeistengels en hoofdjes, de overleving van adulte planten en de totale vitaliteit (berekend uit de afzonderlijke vitaliteitskenmerken) waren significant lager in kleine populaties. Er werd echter geen verband gevonden tussen de prestaties van de nakomelingen in de kas en de genetische diversiteit van de ouderplanten in het veld. We concludeerden dat de vitaliteit in kleine populaties significant lager is, maar dat dit niet (of slechts in geringe mate) veroorzaakt

is door inteelt, maar eerder door effecten van de slechte omgevingsomstandigheden op de resterende moederplanten. Kennelijk is het zelf-incompatibiliteitssysteem effectief genoeg om zelfbevruchting en het daaraan gerelateerde verlies van vitaliteit tegen te gaan.

Uit de vorige twee hoofdstukken is gebleken dat fragmentatie en populatiegrootte een negatief effect hebben op de zaadproductie in een soort die afhankelijk is van bestuivers en/of kruisbestuiving (S-allelen). In HOOFDSTUK 3 kon hierover geen uitsluitsel gegeven worden, maar omdat Valkruid tot de familie van de samengesteldbloemigen (Asteraceae) behoort, een familie die door een groot aantal verschillende insectengroepen bezocht wordt, kon verwacht worden dat de soort minder last zou hebben van een tekort aan bestuivers dan van een tekort aan S-allelen. Een tekort aan bestuivers in kleine populaties kan zoals hierboven werd gesteld leiden tot een toename in het aantal individuen dat tot zelfbevruchting in staat is, als gevolg van selectie voor het produceren van zaden. Zelfbestuiving leidt echter tot een toename in homozygotie en dus tot een afname van de vitaliteit (inteeltdepressie).

Een analyse van de bloembezoekers en hun visitatiefrequentie in relatie tot de dichtheid van bloemhoofdjes in één grote en één kleine populatie (HOOFDSTUK 4) liet zien dat Valkruid inderdaad door verschillende insectengroepen bezocht wordt, zoals allerlei soorten vliegen, zweefvliegen, vlinders, honingbijen, solitaire bijen, hommels, kevers en wantsen. Alle waargenomen bezoekers hadden zowel stuifmeel van Valkruid als stuifmeel van andere bloeiende plantensoorten op hun lijf. Gezien hun relatief hoge aantal, de hoeveelheid Valkruidstuifmeel op het lichaam en visitatie-frequentie van zweefvliegen en bijen namen we aan dat deze groepen potentieel de meest efficiënte bestuivers waren. Er werd geen verschil gevonden tussen de grote en de kleine populatie en tussen proefvlakken met verschillende dichtheden aan bloemhoofdjes voor het aantal keren dat een individu bezocht werd en het totaal aantal bezochte hoofdjes per individu. Het bezoek per bloemhoofdje was twee keer zo hoog in het proefvlak met lage dichtheid aan hoofdjes dan in het proefvlak met een hoge dichtheid. De visitatiefrequentie per bloemhoofdje in de kleine populatie was gelijk aan het proefvlak met lage dichtheid aan hoofdjes in de grote populatie. De gemiddelde visitatiefrequentie per hoofdje in de kleine populatie was hoger dan in de grote populatie.

We hebben geen aanwijzing gevonden voor een toename van het aantal zelfbevruchtende individuen noch voor een afbraak van het zelf-incompatibiliteitssysteem in kleine populaties (HOOFDSTUK 4). Hoge waarden voor de mate van uitkruising in de kleine en twee grote populaties suggereerden tevens dat het zelf-incompatibiliteitssysteem nog goed functioneert. Interessant was het feit dat het aantal pollendonoren (vaders) per bloemhoofdjes in de kleine populatie hoger was dan in twee grote populaties. Dit is in overeenstemming met de hogere visitatie per bloemhoofdje in die populatie, en suggereert tegelijkertijd dat er nog voldoende S-allelen aanwezig waren. Kruisbestuiving, dat leidt tot een hogere mate van heterozygotie, is belangrijk voor het behoud van een hoge vitaliteit van de nakomelingen. Een positief verband werd namelijk gevonden tussen de heterozygotiegraad van individuen en de grootte die ze na dezelfde groeitijd in de kas hadden bereikt (HOOFDSTUK 4).

Gezien de snelle achteruitgang van Valkruid in Nederland zou een genetische versterking van de resterende populaties door middel van uitzaaien of uitplanten van individuen uit andere populaties een belangrijke beheermaatregel kunnen zijn om de soort niet uit ons land te laten verdwijnen. Het mengen van genetische variatie van twee of meerdere populatie kan echter leiden tot uitteeltdepressie ('outbreeding depression') ofwel het verlies van vitaliteit van de nakomelingen door kruising tussen populaties of zelfs ver uit elkaar staande planten.

Uitteeltdepressie kan ontstaan door de verbreking van gunstige genencomplexen die ofwel ontstaan zijn door adaptatie aan de lokale omstandigheden of doordat sommige combinaties van genen een positieve invloed hebben op de vitaliteit van de planten, onafhankelijk van het milieu waarin ze voorkomen.

In een veldexperiment van vier jaar zijn de demografische gevolgen van zelfbevruchting, kruisbestuiving binnen en kruisbestuiving tussen populaties onderzocht. Nakomelingen van vijf populaties van verschillende grootte werden geïntroduceerd als zaden en als kleine kiemplanten (HOOFDSTUK 5). De zaadzetting na zelfbestuiving was significant lager dan na beide kruisbestuivingsexperimenten (binnen en tussen populaties). Opvallend was het hogere aantal zaden na kruisbestuiving tussen verschillende populaties in tegenstelling tot kruisbestuiving binnen populaties. Dit verschil werd voornamelijk veroorzaakt door het feit dat de zaadzetting in één van de kleine populaties zeer laag was. Dit is zeer waarschijnlijk het gevolg van een tekort aan S-allelen in die populatie. Versterking van de populatie met nieuwe individuen als zaad of plant leidt in ieder geval tot een toename van het aantal S-allelen, de kruisbaarheid en uiteindelijk de zaadzetting.

In hetzelfde experiment vonden we significante uitteeltdepressie (verlies van vitaliteit na zelfbestuiving) voor de groeisnelheid van planten geïntroduceerd als zaailing maar niet voor planten geïntroduceerd als zaad. De planten die waren geïntroduceerd als zaad afkomstig van kruisbestuivingen tussen populaties hadden een grotere kans op bloei dan planten afkomstig van binnen-populatie kruisbestuivingen. Planten die waren geïntroduceerd als kiemplant vertoonden een marginale toename in grootte en bloei na kruisbestuivingen tussen populaties. In de vier jaar van het experiment hebben we alleen een toename van vitaliteit (heterosis) geconstateerd en vonden we geen aanwijzingen van een afname van vitaliteit door uitteelt, maar dit kan alsnog optreden in latere generaties. De meerjarigheid van Valkruid zorgt er tevens voor dat generaties overlappen (in tegenstelling tot eenjarige soorten), zodat het nog vele generaties kan duren voordat er uitteeltdepressie kan worden waargenomen. Het is dan ook niet duidelijk in hoeverre de verkregen heterosis na uitkruising met andere populaties eventuele uitteeltdepressie kan compenseren. Dit resulteert in de moeilijke vraag of we moeten wachten met het uitzaaien of bijplanten van Valkruidpopulaties vanuit andere populaties of dat er meer onderzoek naar uitteeltdepressie nodig is. De bestaande gegevens in de literatuur suggereren dat het verlies van prestaties door uitteeltdepressie doorgaans slechts gering is en vooral optreedt bij kruisingen over zeer grote afstanden (≥ 100 km). Mede op basis hiervan zijn wij van mening dat gezien de huidige snelle achteruitgang van Valkruid in Nederland er weinig wachttijd over is, en dat genetische versterking van de vele kleine populaties belangrijker is dan de misschien mogelijke nadelige gevolgen van uitteelt. Een belangrijk argument vóór genetische versterking is de toename in de diversiteit van S-allelen die erdoor ontstaat. Dit zal ervoor zorgen dat in ieder geval de productie van nakomelingen weer hersteld wordt.

De laatste twee hoofdstukken behandelen studies naar de bestuivings- en reproductiebiologie van de Duitse gentiaan in relatie tot isolatie en beheer.

Bestuivingsexperimenten in twee populaties van de Duitse gentiaan (HOOFDSTUK 6) toonden aan dat bestuivers essentieel zijn voor het transport van stuifmeel uit de antheren naar de stempel. Wanneer insectenbezoek aan de bloemen werd verhinderd en de bloemen niet met de hand werden zelf- of kruisbestoven (spontane zelfbestuiving), was de zaadzetting relatief

laag (30%). Spontane zelfbestuiving varieerde echter tussen de verschillende individuen (0–90%), hetgeen suggereerde dat er verschillen waren in de mate waarin bloemen in staat zijn hun eigen stuifmeel op de stempel te deponeren (autofertiliteit). Dit verschijnsel werd toegeschreven aan de mogelijke variatie in temporele (dichogamie) en ruimtelijke (herkogamie) scheiding van meeldraden en stempel. In twee verschillende populaties werden geen aanwijzingen gevonden voor pollenlimitatie. Met andere woorden, er waren voldoende bestuivers aanwezig om tot een goede zaadzetting te komen. Een lagere zaadzetting na zelfbestuiving met de hand in één van de twee populaties toonde aan dat inteelt in enige mate het aantal zaadknoppen en ontwikkelde zaden reduceerde.

Een vergelijking van spontane zelfbestuiving en het aantal zaadknoppen per bloem voor verschillende gentiaansoorten met verschillende levenstrategie (HOOFDSTUK 6), op basis van de eigen data en literatuurgegevens, liet zien dat één- en tweejarige gentiaansoorten voornamelijk zelfbestuivers zijn en dat de meerjarige voornamelijk kruisbestuiven. Met name de laatste groep is dus afhankelijk van bestuivers. In tegenstelling tot de andere tweejarige bleek de Duitse gentiaan in Nederland meer een kruisbestuiver te zijn dan een zelfbestuiver en dus eerder vergelijkbaar met de meerjarige soorten.

In 1997 en 1998 werden de tijdelijke en ruimtelijke scheiding van meeldraden en stempels onderzocht in relatie tot de autodepositie van eigen pollen op de stempel (HOOFDSTUK 7). Dichogamie was zwak in de Duitse gentiaan en variabel binnen individuen. Het is naar onze mening geen effectieve barrière tegen spontane zelfbestuiving. Herkogamie daarentegen varieerde significant tussen de individuen en populaties en was niet gecorreleerd met plant- of bloemgrootte. Autofertiliteit was relatief hoog in alle drie de populaties. In één kleine populatie werd een negatief verband tussen de mate van herkogamie en autofertiliteit gevonden. In deze populatie waren de stempels meestal duidelijk boven de meeldraden gepositioneerd, terwijl de stempels in de andere twee populaties voornamelijk op gelijke hoogte of beneden de meeldraden waren geplaatst. Uit een vergelijking met gegevens uit 1991 en 1992 voor één van de populaties bleek dat de gemiddelde afstand tussen meeldraden en stempel in 1998 kleiner was geworden en de planten een hogere autofertiliteit vertoonden. Een mogelijke verklaring voor dit verschijnsel is een verandering in het maaibeheer in dit reservaat, waardoor de niet alleen de populatie van de Duitse gentiaan en andere bloeiende planten herhaaldelijk drastisch werd gereduceerd, maar ook de insectenfauna. Onder deze omstandigheden zou er selectie kunnen hebben plaatsgevonden voor planten die nauwelijks of geen herkogamie vertoonden, omdat deze een hogere autofertiliteit hebben en zonder bestuiversbezoek dus veel meer zaden produceren. Deze studie laat zien dat menselijke invloed een belangrijke rol kan spelen in de reproductie en evolutie van zeldzame plantensoorten, zelfs wanneer deze menselijke invloed plaatsvindt in het kader van natuurbescherming.

De onderzoeksresultaten die in dit proefschrift worden gepresenteerd laten duidelijk zien dat populaties van ooit algemene en nu bedreigde plantensoorten te leiden hebben van de fragmentatie en verslechtering van hun habitat. Hoewel er indicaties zijn dat populaties van kortlevende soorten, zoals de Duitse gentiaan, zich kunnen aanpassen aan de veranderde leefomstandigheden, kunnen evolutieprocessen in langlevende soorten, zoals Valkruid, de snelheid waarmee hun habitat verandert niet bijbenen, mede als gevolg van verlies van genetische variatie en de vitaliteit van nakomelingen in kleine populaties. Deze populaties

SAMENVATTING

hebben een verhoogde kans op uitsterven en een kleinere kans op herstel als de ecologische habitatomstandigheden verbeterd worden. Daarom kunnen we niet langer wachten met het bundelen van onze krachten om de genetische variatie en vitaliteit van onze kleine plantenpopulaties te herstellen. We moeten actie ondernemen voordat het te laat is !