



Vlaanderen
is wetenschap



Genetische diversiteit en populatiestructuur van de heivlinder in Vlaanderen Richtlijnen voor translocaties, genetische monitoring en een duurzaam soortbehoud

Annelore De Ro, An Vanden Broeck, Leen Verschaeve, Ilf Jacobs, Filiep T'Jollyn, Hans Van Dyck,
Dirk Maes

**INSTITUUT
NATUUR- EN BOSONDERZOEK**

Auteurs:

[Annelore De Ro](#) , [An Vanden Broeck](#) , [Leen Verschaeve](#) , [Filiep T’Jollyn](#) , [Dirk Maes](#) 
(Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek)
Ilf Jacobs (Natuurpunt Studie)
[Hans Van Dyck](#)  (UCLouvain)

Reviewer:

Lieve Vriens (Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek)

Het INBO is het onafhankelijk onderzoeksinstituut van de Vlaamse overheid dat via toegepast wetenschappelijk onderzoek, data- en kennisontsluiting het biodiversiteitsbeleid en -beheer onderbouwt en evalueert.

Vestiging:

Herman Teirlinckgebouw
INBO Brussel
Havenlaan 88 bus 73, 1000 Brussel
vlaanderen.be/inbo

e-mail:

Annelore.dero@inbo.be

Wijze van citeren:

De Ro A., Vanden Broeck A., Verschaeve L., Jacobs I., T’Jollyn F., Van Dyck H., Maes D. (2022). Genetische diversiteit en populatiestructuur van de heivlinder in Vlaanderen. Richtlijnen voor translocaties, genetische monitoring en een duurzaam soortbehoud. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek jaar (4). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel.
DOI: doi.org/10.21436/inbor.71086387

D/2022/3241/113

Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2022 (4)

ISSN: 1782-9054

Verantwoordelijke uitgever:

Maurice Hoffmann

Foto cover:

Heivlinder / Dirk Maes



Dit werk valt onder een [Creative Commons Naamsvermelding-GelijkDelen 4.0 Internationaal-licentie](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

GENETISCHE DIVERSITEIT EN POPULATIESTRUCTUUR VAN DE HEIVLINDER IN VLAANDEREN

Richtlijnen voor translocaties, genetische monitoring en een duurzaam soortbehoud

Annelore De Ro, An Vanden Broeck, Leen Verschaeve, Ilf Jacobs, Filiep T'Jollyn,
Hans Van Dyck, Dirk Maes

doi.org/10.21436/inbor.71086387

Dankwoord/Voorwoord

De auteurs danken Nico De Regge, Irina De Landtsheer, Koen Devos, Floris Van Den Broeck, Axel Neukermans, Nicolas Vanermen, Dries Bonte, Joost Sturtewagen, Johan Debuck, Arjen Breevaart, Luc De Bruyn, Ann Milbau, Ive Van Krunkelsven, Stern Van Krunkelsven, Marcel Van Waerebeke, Jos Gorissen, Corina Cools, Michel Broeckmans, Michel Huysmans en Oscar Maes voor de hulp bij het verzamelen van de stalen. Verder van harte dank aan Johan Lamaire, Koen Marechal, Guy Vileyn, Dirk Raes, Jef De Winter, Harry Thys, Willy Pardon, Ghis Palmans, Ernesto Zvar, Manu Vermeulen, Patrick Reynders en de terreinbeheerders Jan Appermont, Arne Berckmans en Patrick Schuurmans. Vervolgens danken we Chris van Swaay van de Vlinderstichting voor het verschaffen van data van de verspreiding van de heivlinder in Noordwest-Europa. We danken ook Lieve Vriens voor het kritisch nalezen van dit werk. Tenslotte danken we het Agentschap voor Natuur en Bos om deze studie financieel te ondersteunen en Arjen Breevaart en Hans De Schryver voor de inhoudelijke bijdrage tijdens de stuurgroepvergaderingen.

Samenvatting

De heivlinder (*Hipparchia semele*) is inheems in Europa en is een prioritair te behouden soort in Noordwest-Europa. Om succesvolle behoudsmaatregelen op te stellen willen we zoveel mogelijk weten over de verbreiding en kolonisatiecapaciteit van deze vlinder en de connectiviteit tussen de populaties. Ook kennis over de functionele habitatkwaliteit van bezette en potentiële habitatgebieden is hierbij van belang. In deze studie rapporteren we over de populatiegenetica van de heivlinder in het gefragmenteerd en door de mens beïnvloed landschap in Vlaanderen.

We gingen de recente verbreiding tussen populaties na via genetische toewijzingstesten. Vervolgens onderzochten we het effect van habitatverlies en -versnippering op de genetische populatiestructuur en genetische variatie. Hiervoor ontwikkelden we soortspecifieke nucleaire microsatellietmerkers. We gebruikten recente stalen van 23 verschillende locaties uit twee regio's en voor twee van deze locaties ook historische stalen uit 2001. De gedetecteerde verbreiding ging over noemenswaardig lange afstanden, die meer dan tien keer langer waren dan eerder waargenomen kolonisatieafstanden. De langste gedetecteerde afstand in deze studie overschreed zelfs 100 km, maar langeafstandsverbreiding was uitzonderlijk. Onze resultaten wijzen op de gevolgen van de sterke daling in de populaties in de laatste decennia. We vonden in 72% van de recent bemonsterde populaties aanwijzingen voor inteelt en lage schattingen van de effectieve populatiegroottes (N_e ; variërend van 20 tot 54 individuen).

Ten slotte geven we advies over mogelijke translocaties en genetische monitoring. We formuleren strategieën om (meta)populaties van de heivlinder te behouden en uit te breiden op middellange termijn.

Aanbevelingen voor beheer en/of beleid

Op basis van deze genetische populatiestudie van de Vlaamse heivlinderpopulaties en de functionele habitatkwaliteit raden we de volgende beheersmaatregelen aan:

- De resultaten van de genetische studie tonen sterke metapopulatiedynamieken aan. We kunnen de heivlinderpopulaties van Vlaanderen indelen in **twee verschillende metapopulaties**. De twee metapopulaties vormen elk een *Functional Conservation Unit* (FCU): de kust en de Kempen. Voor elke eenheid worden **specifieke beheers- en herstelmaatregelen aanbevolen**. Op locaties met een grote oppervlakte blijken de effectieve populatiegroottes groter te zijn. Bovendien leek de allelische rijkdom van de populaties hoger in grotere gebieden en in populaties die dichtbij een andere populatie gelegen zijn. Het is aanbevolen om de beheersmaatregelen binnen elke FCU dus vooral te richten op **het verbeteren en vergroten van bestaande habitat** en het **herstellen van alle potentiële habitat**.
- Aan de kust is de huidige graad van connectiviteit tussen populaties extreem laag. Het ontwikkelen van **nieuw habitat als stapstenen** tussen bestaande populaties verdient daarom prioriteit. De **translocatie** van individuen is te overwegen om de **kans op een verminderde vitaliteit als gevolg van inteelt te verkleinen**. Spontane (her)kolonisatie van geschikte habitat en de uitwisseling van genen worden waarschijnlijk gehinderd door door de mens aangebrachte barrières langs de Belgische kust, voornamelijk bebouwing. Ook biedt de smalle duinengordel slechts kleine oppervlakten geschikte habitat.
- Aan de kust wordt een **bijplaatsing** aanbevolen in de populatie van de **Sint-Laureinsduinen** om op korte termijn de genetische toestand van de populatie te verbeteren. De populatie in de Sint-Laureinsduinen is de kustpopulatie die op basis van de genetische studie in de slechtste toestand verkeert. Deze populatie ligt ook geografisch het sterkst geïsoleerd van naburige populaties.
- Ook in de Kempen is er een lage kans dat hersteld en/of nieuw heidegebied spontaan op korte termijn zal ge(her)koloniseerd worden. De voorbije jaren kende de heivlinder een sterke achteruitgang in Vlaanderen (Maes et al. 2021). Dit is het meest merkbaar in de centrale en westelijke Kempen. Het zou een te hoog risico zijn om op spontane kolonisatie en verspreiding van genen te vertrouwen voor het herstel van de populaties. Daarom zijn ook hier **translocaties** te overwegen om de **connectiviteit** tussen populaties in het westelijke en oostelijke deel van de Kempen te verbeteren.
- Voor de centrale Kempen bevelen we **geassisteerde (her)kolonisatie** aan. Er zijn vier gebieden met minstens 100 ha geschikt potentieel leefgebied: **Vliegveld van Malle** (waar de soort pas in 2018 verdween), **Tielenkamp** (Kasterlee/Turnhout, waarnemingen van enkele zwervers in de jaren 2000), **Kempense heuvelrug** (Heiberg en omgeving Snepkensvijver, waarnemingen uit de jaren 1960) en **Engels kamp in Grobbendonk** (geen gekende waarnemingen).
- De **census populatiegrootte** van locaties van de heivlinder in de Kempen wordt opgevolgd met behulp van het platform **Meetnetten.be** (Maes et al. 2019b). Eenmaal translocaties uitgevoerd, worden de nieuwe gebieden opgenomen in dit netwerk. We bevelen ook aan om de oppervlakte **geschikt functioneel habitat** op de locaties waar translocaties plaatsvinden op te volgen. Daarnaast is een genetische monitoring zinvol om de toestand van de populaties op te volgen. Dit gebeurt best door in het derde en vierde jaar na het uitvoeren van de eerste translocaties 30 vlinders te bemonsteren voor genetische analyse. Om het effect van de translocaties op de metapopulatie op te volgen, raden we aan om **in het vijfde jaar de genetische structuur van alle populaties**, inclusief naburige populaties gelegen in Nederland

en Noord-Frankrijk opnieuw in kaart te brengen volgens de methode beschreven in deze studie.



English abstract

To set up successful conservation measures, detailed knowledge on the dispersal and colonization capacities of the focal species and connectivity between populations is of high relevance. Additionally, detailed knowledge about the functional habitat quality of occupied and potential habitat patches is of high interest. We developed species-specific nuclear microsatellite molecular markers for the grayling (*Hipparchia semele*), a butterfly endemic to Europe and of growing conservation concern in NW-Europe, and report on its population genetics, in a fragmented, anthropogenic landscape in Belgium.

Our study included samples from 23 different locations nested in two regions and additional historical samples (from 2001) from two of these locations. We assessed contemporary, long-distance dispersal based on genetic assignment tests and investigated the effect of habitat loss and fragmentation on the population-genetic structure and genetic variation using data of nine microsatellite loci. Detected dispersal events covered remarkably long distances, with the longest movement recorded in this study even exceeding 100 km. However, observed frequencies of long-distance dispersal were low indicating that events of long-distance dispersal are rare. Our results point to the consequences of the strong population decline of the last decades, with evidence of inbreeding in 72% of the recently sampled populations and low estimates of effective population sizes (N_e) (ranging from 20 to 54 individuals).

We discuss the significance for species conservation including future translocation events, and discuss appropriate conservation strategies to maintain viable grayling (meta)populations in highly fragmented, anthropogenic landscapes.

Inhoudstafel

Dankwoord/Voorwoord	2
Samenvatting	3
Aanbevelingen voor beheer en/of beleid	4
English abstract	6
Lijst van tabellen	11
Verklarende woordenlijst.....	12
Soortenbeschermingsprogramma heivlinder als beleidskader voor de studie	14
1 Inleiding.....	15
2 Materiaal en methode	17
2.1 Soortbespreking	17
2.1.1 Habitatype.....	17
2.1.2 Verspreiding	17
2.1.2.1 Waarnemingen.....	17
2.1.2.2 Vlaanderen	18
2.1.2.2.1 Kust.....	19
2.1.2.2.2 Kempen	20
2.1.2.3 Europa	21
2.1.3 Trend	21
2.1.3.1 Waarnemingen.....	21
2.1.3.1.1 Kust.....	22
2.1.3.1.2 Kempen	22
2.1.3.2 Meetnetten	22
2.1.4 Status.....	23
2.2 Bemonstering	23
2.2.1 Selectie van de gebieden voor bemonstering.....	23
2.2.1.1 Op basis van waarnemingen	23
2.2.1.2 De te bemonsteren eenheden	24
2.2.1.2.1 Regio Kust.....	27
2.2.1.2.1.1 Westhoek (De Panne)	27
2.2.1.2.1.2 Schipgatduinen (Koksijde).....	28
2.2.1.2.1.3 Ter Yde – Zeebermduinen (Koksijde)	28
2.2.1.2.1.4 Sint-Laureinsduinen (Middelkerke).....	29
2.2.1.2.1.5 Zwin (Knokke-Heist)	29
2.2.1.2.2 Westelijke Kempen	30
2.2.1.2.2.1 Kalmthoutse Heide (Kalmthout)	30
2.2.1.2.2.2 Klein schietveld (Kapellen)	31

Lijst van tabellen

Tabel 1	Is de heivlinder wel een heivlinder? Enkele voorbeelden van het omschreven leefgebied van de heivlinder in verschillende landen of regio's in Europa.	17
Tabel 2	Selectie van gebieden voor bemonstering.	26
Tabel 3	Overzicht van de bemonsteringslocaties met datum van bemonstering, coördinaten van de plek van bemonstering, de oppervlakte van het gehele gebied, de oppervlakte van het gebied waarin de bemonstering plaatsvond, de maximale afstand tussen twee stalen binnen een locatie, de afstand tot de dichtstbijzijnde populatie, het aantal genomen stalen en het aantal geanalyseerde stalen.	44
Tabel 4	Resultaten van de toewijzingstest met de Bayesiaanse methode in GENECLASS2. De individuele identificatie (ID) met het geslacht, de bemonsteringslocatie, de meest waarschijnlijke populatie van oorsprong, de probabiliteit (p-waarde), de vermoedelijke afgelegde verbreidingafstand in km, en de richting van de verbreiding zijn weergegeven. Gedetecteerde dispersers met een p-waarde $\leq 0,01$ zijn in het vet weergegeven.	50
Tabel 5	De genetische diversiteitsstatistieken per populatie op basis van negen microsatelliet loci van 641 heivlinderindividuen. De stalen werden op 24 locaties in de kust en de Kempische regio van Vlaanderen verzameld. Met: het gemiddeld aantal individuen gegenotypeerd per locus (N); het gemiddeld aantal geobserveerde allelen per locus (A); het effectief aantal allelen (A_e); het gemiddeld aantal allelen per locus (A_r) en het aantal private allelen (A_p), beiden gecorrigeerd voor het minimum aantal gegenotypeerd individuen (gebaseerd op een minimum van 13 individuen); de geobserveerde heterozygositeit (H_o); de verwachte heterozygositeit (H_e); de gemiddelde Wright's inteelt coëfficiënt (F_{IS}); de ondergrens van het 95% betrouwbaarheidsinterval van de F_{IS} -waarde (F_{IS_Laag}); en de bovengrens van het 95% betrouwbaarheidsinterval van de F_{IS} -waarde (F_{IS_Hoog}); voor populaties met bewijs voor inteelt is de F_{IS} -waarde aangeduid in het vet.	53
Tabel 6	Schatting van de effectieve populatiegrootte (N_e) via de toewijzingstest op basis van verwantschap in het programma Colony2. We geven de waarden van het <i>random mating</i> model (RM) en het <i>non-random mating</i> model (N-RM) weer met hun 95% betrouwbaarheidsinterval (95% C.I.) met een onder- (O) en bovenlimiet (B). Gemiddeld N zijn het gemiddeld aantal gegenotypeerde individuen per populatie.....	54
Tabel 7	Enkele voorbeelden van translocaties bij dagvlinders met de locatie, het jaar van uitzetting, het aantal wijfjes en mannetjes dat uitgezet werd (#W, #M) en de referentie.	71
Tabel 8	Afstanden (in meters) tussen de potentiële translocatiegebieden in de centrale Kempen en de afstand (in km) tot de dichtstbijzijnde bestaande populatie (DBpop).	79
Tabel 9	Overzicht van het aantal individuen dat per jaar nodig is voor de geassisteerde herkolonisatie en de bijzetting.	87
Tabel 10	Overzicht van de belangrijkste ecologische risico's gekoppeld aan de gevolgen van translocaties van de heivlinder binnen de regio Kempen (bron: Mergeay & Verbist 2021).....	90
Tabel 11	Overzicht van de belangrijkste socio-economische risico's die gepaard kunnen gaan met translocaties van de heivlinder (bron: Mergeay & Verbist 2021).	91

Verklarende woordenlijst

Allele: een variant van een gen of locus.

Bijplaatsing: het verplaatsen van een individu of individuen naar een bestaande populatie van soortgenoten.

Census populatiegrootte: het aantal volwassen individuen binnen een populatie.

DNA: desoxyribonucleïnezuur, belangrijkste drager van erfelijke informatie.

Functional Conservation Unit: een spatiale eenheid waarin de (potentiële) habitat van een soort aanwezig is en waarin specifieke beheers- en herstelmaatregelen worden toegepast.

Diploïd: Een genoom of een cel is diploïd indien de celkern twee exemplaren bevat van elk chromosoom.

Effectieve populatiegrootte: de snelheid waarmee genetische drift inwerkt op de genetische diversiteit van een populatie, maat voor de grootte van de genenpoel.

Functionele merker: DNA-fragment gelegen in een coderend gen.

Geassisteerde herkolonisatie: het verplaatsen van een individu(en) van een bestaande deelpopulatie van een metapopulatie naar een leeg leefgebied waar ooit een deelpopulatie van de metapopulatie verdween.

Geassisteerde kolonisatie: het verplaatsen van individuen waarbij een nieuwe (meta)populatie wordt gesticht buiten het gekende historische areaal (ook introductie genoemd).

Genetische differentiatie: verschil in de aanwezige genetische variatie tussen populaties of soorten.

Genetische drift: verlies van genetische diversiteit door toeval.

Genetische variatie of genetische diversiteit: het totaal aan genetische verschillen tussen individuen binnen een populatie of soort.

Genotypering: het bepalen van het genotype.

Genotype: het erfelijk materiaal van een individu.

Genetische merker: DNA-fragment (locus) waarop variatie wordt getypeerd binnen en tussen populaties.

Genetische monitoring: opvolgen in de tijd van de genetische variatie en structuur van (meta)populaties of een soort om onderbouwde richtlijnen op te stellen voor het duurzaam voortbestaan van de populatie of soort.

Genmigratie: genenuitwisseling, het proces waarbij populaties genetisch materiaal met elkaar uitwisselen. Dit kan gebeuren via rechtstreekse uitwisseling van individuen (migratie), maar ook via sporen, stuifmeel of andere niet-autonome dragers van genetische informatie.

Ha-grasland: struisgrasvegetatie; graslanden en pioniersvegetaties van voedselarme, zure, meestal zandige standplaatsen

Hardy-Weinberg: theorema van Hardy-Weinberg veronderstelt dat: de voortplanting in de populatie louter willekeurig gebeurt, er enkel seksuele voortplanting is, er geen natuurlijke selectie is, er geen genetische drift is, er geen genenuitwisseling is en de effectieve populatiegrootte oneindig is. In de populatiegenetica vormt dit het nul-model. Afwijkingen van de verwachte distributie van allelen op loci binnen individuen, binnen populaties en tussen populaties laten toe om inferenties te maken over voortplantingswijze, selectie, drift, genmigratie en populatiegrootte.

Herintroductie: het verplaatsen van een individu naar een plek binnen zijn oorspronkelijk inheems verspreidingsgebied waar het eerder verdwenen is.

Homozygoot: een locus komt voor in de vorm van twee identieke allelen bij diploïde organismen.

Heterozygoot: een locus komt voor in de vorm van twee verschillende allelen bij diploïde organismen.

Soortenbeschermingsprogramma heivlinder als beleidskader voor de studie

Deze studie werd in het kader van het soortenbeschermingsprogramma (SBP) van de heivlinder (*Hipparchia semele*) uitgevoerd. Het SBP werd op 19 december 2016 vastgesteld. Het doel van dit programma bestaat uit twee onderdelen. Het eerste doel is om bij te dragen tot een gunstige staat van instandhouding van deze soort in Vlaanderen. Het tweede doel is om een regionaal gunstige staat van instandhouding van vijf Europees te beschermen habitats (heiden en landduinen: 2310, 2330, 4030 en 5130; kustduinen: 2130*¹) te bekomen. Voor deze habitats is de heivlinder een habitattypische soort. De in het SBP opgenomen maatregelen bestaan onder meer uit:

- het behoud en uitbreiden van de oppervlakte leefgebied;
- het aanpassen van het beheer om de kwaliteit van het leefgebied te verhogen;
- het inrichten van kolonisatiegebieden;
- het veiligstellen van stapstenen.

Daarnaast wordt ingezet op onderzoek, monitoring, communicatie en sensibilisering.

Het SBP geeft als onderzoeksactie aan om de potenties van translocatie te onderzoeken. Hiervoor is precieze kennis van de Vlaamse populatiegenetica noodzakelijk. Dit wordt onderzocht aan de hand van een genetisch onderzoek van alle resterende Vlaamse (meta)populaties. Het vangen en bemonsteren van heivlinders en de bepaling van de huidige lokale habitatkwaliteit in de (potentiële) leefgebieden, gebeurt met hulp van de plaatselijke beheerders. Hierbij wordt specifiek naar het functioneel habitat met ecologische hulpbronnen van de heivlinder gekeken. Volgend uit het genetisch onderzoek en op basis van de habitatkwaliteit, wordt een translocatieplan opgemaakt voor de heivlinder in Vlaanderen, zodat elke voorgestelde translocatie op wetenschappelijke basis verantwoord is.

¹ Het "*" teken duidt een prioritair habitatype aan voor de instandhouding waarvan aanwijzing van speciale beschermingszones vereist is. Richtlijn 92/43/EEG van 21 mei 1992 van de Raad inzake de instandhouding van de natuurlijke habitats en de wilde flora en fauna.

1 INLEIDING

De **heivlinder** (*Hipparchia semele*) is endemisch in Europa en komt in de meeste Noordwest-Europese landen voornamelijk voor in (kust)duinen en heidegebieden. Op Europees niveau is de vlindersoort ‘Momenteel niet in gevaar’. De soort wordt echter wel als een *Species of Conservation Concern* beschouwd (van Swaay et al. 2011). Dit betekent dat de soort een sterke achteruitgang in meer dan een derde van alle Europese landen vertoont (van Swaay et al. 2011). De heivlinder is vooral in Noordwest-Europa, alsook in Vlaanderen, sterk getroffen door **habitatverlies en -versnippering**. Zijn verspreidingsgebied onderging een sterke daling in oppervlakte, met een verlies van 47% in Vlaanderen sinds 1991 (Maes et al. 2021), 55% in Nederland sinds 1950 (van Swaay 2019) en 62% in het Verenigd Koninkrijk sinds 1970 (Fox et al. 2011).

De meeste **kustduinen en heidegebieden** zijn versnipperd en beperkt tot kleine en geïsoleerde gebieden (Exeler et al. 2009; Webb 1998). De gebieden zijn omringd door een antropogene en op landbouw gerichte landschapsmatrix. Tijdens de 20^{ste} eeuw verdween 36% van de oppervlakte van de kustduinen in België, hoofzakelijk door bouwprojecten voor het toerisme (Provoost & Bonte 2004). Heidegebied kent ook een sterke afname in oppervlakte. Vandaag is heide zeer schaars in Vlaanderen en bedekt ze nog 0,6 tot 1 procent van het totaaloppervlak: zo'n 7.700 tot 13.000 hectare (De Saeger et al. 2020). Naast eutrofiëring, via stikstofdepositie, heeft ook de stop van traditionele landgebruiken, zoals begrazing door schapen en gecontroleerde afbranding, een negatief effect op de heidegebieden (Rose et al. 2000; Webb 1998). Europese kustduinen met kruidachtige vegetatie ('grijze duinen') en heidegebieden hebben een hoge behoudsprioriteit en zijn beschermd onder de EU habitatrichtlijn (EC 2007). De heivlinder zelf wordt als een **paraplusoort** beschouwd. De soort heeft namelijk nood aan redelijk grote **gebieden met open vegetatie** die in verschillende stadia van successie zijn. Dit soort gebieden bieden ook habitatmogelijkheden voor een hele reeks soorten, o.a. kustrenspin (*Philodromus fallax*), zandwolfsspin (*Arctosa perita*), solitaire bijen en wespen, de harkwesp (*Bembix rostrata*) aan de kust en het heideblauwtje (*Plebejus argus*), de blauwvleugelsprinkhaan (*Oedipoda caerulea*), gladde slang (*Coronella austriaca*) en de knoflookpad (*Pelobates fuscus*) in de Kempen (Declerck 2007; Maes et al. 2013). Een langere lijst van meeliftende soorten is te vinden in het Wetenschappelijk basisrapport van het Soortbeschermingsprogramma Heivlinder (Segers et al. 2014). Deze soorten genieten mee van een optimaal beheer voor de heivlinder.

De ecologie en **verbreding** van de heivlinder werd in Europa (e.g. Bink 1992; Dennis et al. 1998; Middlebrook et al. 2019; Reinhardt et al. 2020; Tinbergen 1942) en ook in Vlaanderen (e.g. Logie 2002; Maes et al. 2006; Maes et al. 2013; Segers 2012; Vanreusel et al. 2002) goed bestudeerd aan de hand van demografische studies. In demografische studies worden verbreding en populatiegroottes ingeschat aan de hand van directe (observatie) methodes. Voorbeelden van deze methodes zijn merk-hervangst onderzoek en de studie van de kolonisatie- en extinctie-dynamieken (Stevens et al. 2010). Deze directe methodes worden echter vaak beperkt door mankracht en de oppervlakte van een bemonsteringsgebied (Schneider 2003). Dit zorgt er bijvoorbeeld voor dat zeldzame verbredingen over lange afstanden moeilijk te detecteren zijn met deze methodes. Het verbreidingsvermogen van een soort wordt bijgevolg waarschijnlijk onderschat (e.g. Vanden Broeck et al. 2017). Bij genetische analyses wordt verbreding daarentegen op een indirecte wijze ingeschat. Deze analyses maken gebruik van het genetische profiel van een individu en de verspreiding van de

genetische variatie tussen de bemonsterde locaties (Stevens et al. 2010). Genetische analyses kunnen eveneens inzicht geven in de genetische uitwisseling tussen populaties en de effectieve populatiegroottes (i.e. het aantal individuen die aan dezelfde graad van verlies van genetische diversiteit, inteelt en genetische drift onderhevig zijn als een ideale populatie – Frankham et al. 2010).

Bovendien kunnen genetische populatiestudies meer inzicht geven voor het ontwerpen van genetische herstelstrategieën (*'genetic rescue'*), zoals **translocaties**, bij het opstellen van **soortbeschermingsplannen** (Coates et al. 2018). Bij zo'n herstelstrategie worden er nieuwe genen in een kleine populatie geïntroduceerd waardoor de uiting van schadelijke genen (genetische lading, *'genetic load'*) wordt onderdrukt (Weeks et al. 2011). Translocaties worden in het natuurbehoud alsmear meer als een onmisbare hulpmiddel beschouwd (Frankham et al. 2017). Uit een recente globale meta-analyse over gepubliceerde translocaties van dieren, bleek dat er vooral over zoogdier- en vogelsoorten gerapporteerd wordt. Over insecten werd het minste gepubliceerd. Bij ongeveer de helft van alle studies (46,6%) was sprake van een succesvolle translocatieactie (Resende et al. 2020). Ook voor verschillende vlindersoorten werden reeds succesvolle translocatieacties uitgevoerd (e.g. Kuussaari et al. 2015; Schultz et al. 2008). Een van de meest succesvolle verhalen is de herintroductie van het tijmblauwtje (*Phengaris arion*) op verschillende plekken in Groot-Brittannië (Andersen et al. 2014; Thomas et al. 2009). Translocatieplannen moeten echter goed doordacht worden. Er zijn veel variabelen die het succes van translocaties kunnen beïnvloeden. Zo blijken de beschikbaarheid en kwaliteit van een habitat, en de keuze van een gepaste bronpopulatie kritische variabelen voor vlinders (Kuussaari et al. 2015; Wynhoff 1998). Leidraden voor het opstellen van deze plannen worden beschreven in IUCN/SSC (2013) en Mergeay & Verbist 2021).

Tot dusver waren er geen gegevens beschikbaar rond de genetische diversiteit en structuur van de heivlinder in Vlaanderen. Ook rond translocaties van de heivlinder in Vlaanderen, Wallonië en aanliggende landen was er geen informatie. Het doel van deze studie was om aan de hand van neutrale moleculaire merkers:

- de recente verbreiding van de heivlinder tussen Vlaamse populaties in te schatten;
- de effecten van habitatverlies en -versnippering op de genetische populatiestructuur en genetische variatie te onderzoeken;
- de effectieve populatiegroottes in te schatten.

Hiervoor ontwikkelden we soort-specifieke, polymorfe, nucleaire microsatellietmerkers. Deze merkers kunnen ook gebruikt worden bij andere genetische populatiestudies van heivlinder. Op basis van de resultaten geven we tenslotte advies over translocaties tussen de Vlaamse heivlinderpopulaties. Het succes van translocaties kan worden opgevolgd en bijgestuurd via genetische monitoring. Het doel is om de duurzame levensvatbaarheid van elke Vlaamse (meta)populatie te behouden, te versterken en te garanderen op middellange en lange termijn.

2 MATERIAAL EN METHODE

2.1 SOORTBESPREKING

We bespreken kort de (ecologische) aspecten die relevant zijn voor deze studie. Voor een uitgebreidere bespreking van de soort verwijzen we naar het **Wetenschappelijk basisrapport van het Soortbeschermingsprogramma Heivlinder** (Segers et al. 2014).

2.1.1 Habitatype

Vergelijking van verschillende Europese bronnen toont dat eenzelfde dagvlindersoort elders in Europa andere biotopen kan gebruiken. Dit is ook het geval voor de heivlinder. In Vlaanderen kennen we de soort als heivlinder, maar ook als duinvlinder. In Noord-Europa is het eerder een rotsvlinder en meer zuidelijk of oostelijk wordt het een bosvlinder (Tabel 1). Afhankelijk van de klimatologische omstandigheden kan de voorkeur van de heivlinder voor een bepaald type habitat veranderen. Een bos in Griekenland is klimatologisch verschillend van een gelijkaardig biotoop in Zweden. De ecologische hulpbronnen moeten in goede kwaliteit aanwezig zijn. Vooral het klimaat en de temperatuur moeten gedurende het hele levensstadium (ei-rups-pop-adult) van de heivlinder geschikt zijn.

Tabel 1 Is de heivlinder wel een heivlinder? Enkele voorbeelden van het omschreven leefgebied van de heivlinder in verschillende landen of regio's in Europa.

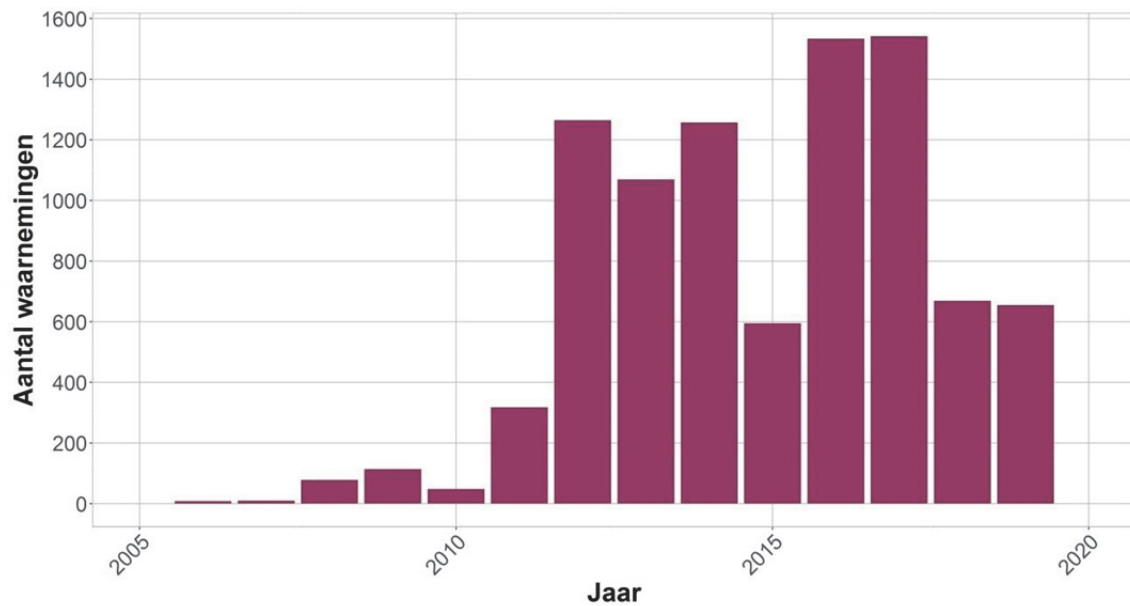
Land of regio	Biotoopomschrijving
Duitsland (Reinhardt et al. 2020)	Voedselarme graslanden, heiden en dennenbossen
Griekenland (Pamperis 2009)	Vooraf in struwelen en bossen, maar ook in het open veld en in berggebieden
Rusland (Tuzov 2000)	Droge, warme randen van naaldbossen en gemengde bossen
Scandinavië (Henriksen & Kreutzer 1982)	Zandige heidevegetaties en rotsige kliffen langs kusten en meren
Slovenië (Verovnik et al. 2012)	Droge kalkgraslanden en stenige, deels overgroeide weiden graslanden
Tsjechië (Beneš et al. 2002)	Warme, zuidgerichte graslanden met een korte vegetatie
Vlaanderen (Maes et al. 2013)	Droge heide in de Kempen en ook in de duinen aan de kust

2.1.2 Verspreiding

2.1.2.1 Waarnemingen

Het natuurplatform waarnemingen.be bevat 10.710 waarnemingen van de heivlinder tot en met 2019. De oudste waarneming dateert uit 1930. Op basis van bewijsmateriaal (foto's), expertoordeel of kennisregels werden er 10.426 waarnemingen gevalideerd. Het aantal waarnemingen per jaar wordt weergegeven in Figuur 1. Hierbij valt het lage aantal waarnemingen op in 2015, 2018 en 2019. Dit waren stuk voor stuk jaren met erg droge

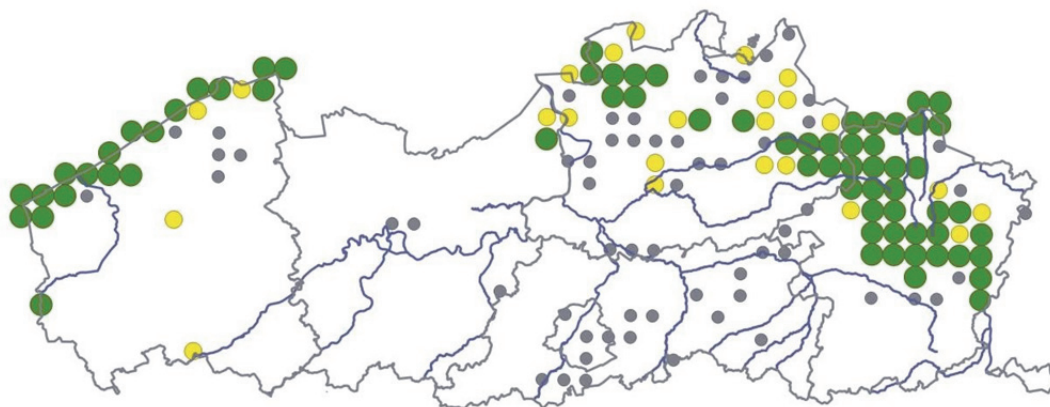
zomers. De lage waarnemingen in de periode voor 2010 zijn vermoedelijk op zijn minst ook deels te wijten aan een lagere registratie binnen het natuurplatform waarnemingen.be.



Figuur 1 Aantal waarnemingen van heivlinder per jaar sinds 2005. Bron: Waarnemingen.be.

2.1.2.2 Vlaanderen

Vroeger kwam de heivlinder niet enkel voor aan de kust en in de Kempen, maar ook op zandgronden in het binnenland zoals in het Zoniënwoud en het Hageland (Figuur 2; Maes et al. 2013).

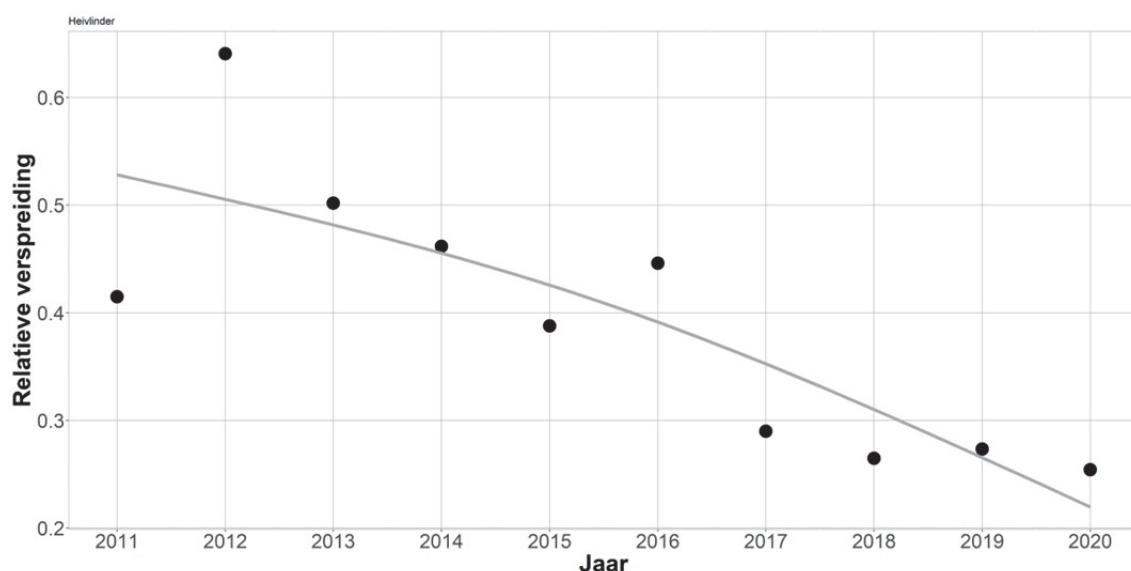


Figuur 2 Verspreiding van de heivlinder in de periode voor 2010. Bron: Maes et al. (2013). Grijze bol = waargenomen tot 1991; gele bol = waargenomen tot 2000; groene bol = waargenomen tot 2010.

De huidige verspreiding van de heivlinder in Vlaanderen beperkt zich tot twee grote regio's aan de kust en in de Kempen (Figuur 3). Figuur 4 geeft de sterk dalende trend weer van de relatieve verspreiding van heivlinder in Vlaanderen. De relatieve verspreiding corrigeert voor het aantal onderzochte gebieden (km-hokken).



Figuur 3 Verspreiding van de heilvinder in de periode 2010-2019 (Bron: Waarnemingen.be). De ecoregio's Kustduinen en Kempen zijn in het grijs aangeduid.



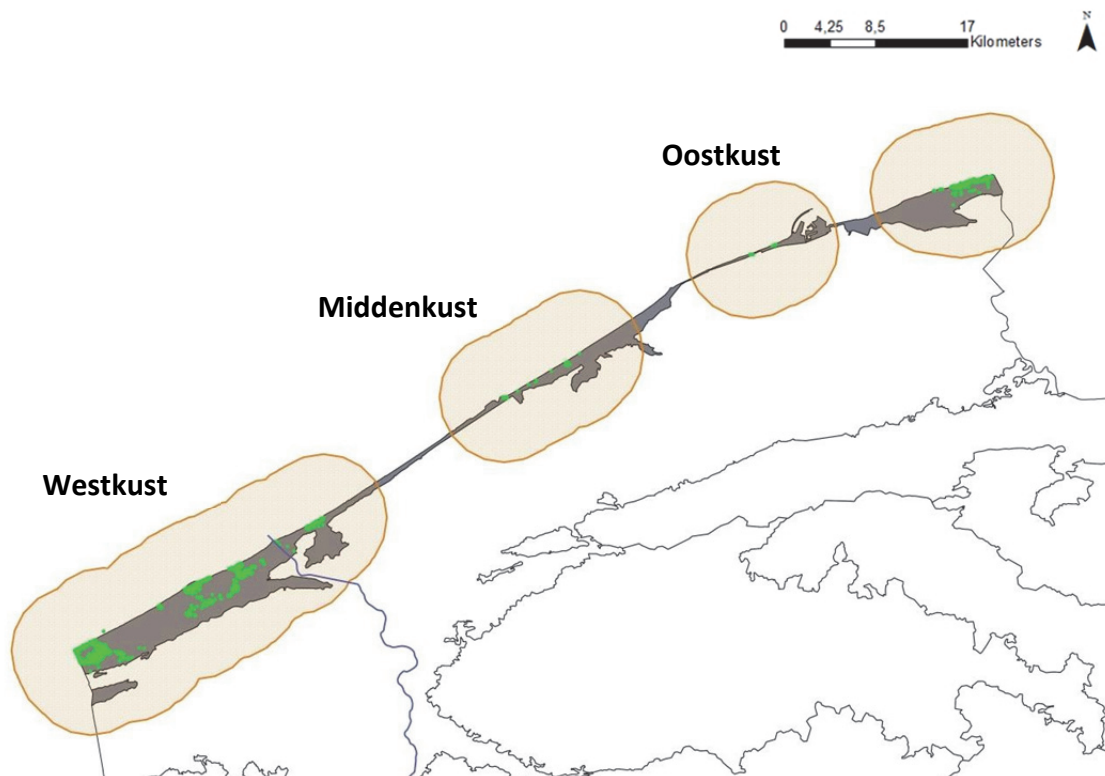
Figuur 4 Trend in de relatieve verspreiding van de heilvinder in Vlaanderen gedurende de periode 2011-2020 (Bron: Maes et al. 2021). De relatieve verspreiding corrigeert voor het aantal onderzochte gebieden (km-hokken).

2.1.2.2.1 Kust

Het verspreidingsgebied van de heilvinder aan de kust wordt ingedeeld in drie grote deelgebieden: de Westkust, de Middenkust en de Oostkust (Figuur 5). Het aaneengesloten deelgebied van de Westkust reikt van De Panne tot Middelkerke. De Middenkust bevat de gebieden van Oostende tot Bredene. De Oostkust bestaat uit twee deelgebieden met Zeebrugge enerzijds en het Zwin anderzijds.

De grootste populaties bevinden zich aan de Westkust. In de Middenkust worden af en toe exemplaren waargenomen, maar er zijn geen permanente populaties. Aan de Oostkust herbergt vooral het Zwin een vrij grote populatie. In de Fonteyntjes worden er af en toe zwervende individuen waargenomen.

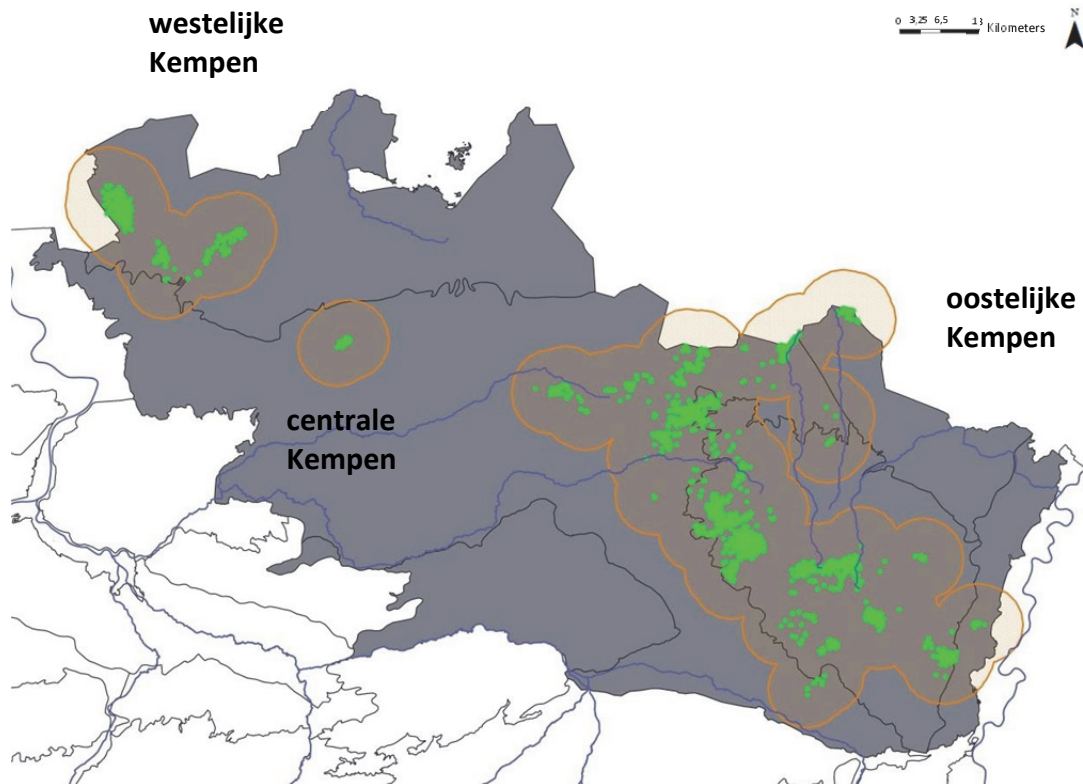
////////////////////////////////////



Figuur 5 Deelgebieden aan de kust. De gebieden aan Oostkust sluiten niet op mekaar aan. De groene stippen zijn recente waarnemingen van de Heivlinder aan de kust (donkergrijs).

2.1.2.2.2 Kempen

Het verspreidingsgebied van de heivlinder in de Kempen bestaat uit drie deelgebieden: de westelijke, centrale en oostelijke Kempen (Figuur 6). De westelijke Kempen reikt van Kalmthout tot het Groot Schietveld. De centrale Kempen betreft enkel de inmiddels uitgestorven populatie van Malle. Het oostelijke deel reikt van Dessel in het westen tot Eisden in het oosten, en van Genk in het zuiden tot Hamont-Achel in het noorden.



Figuur 6 De drie deelgebieden in de Kempen. De ecoregio Kempen is in het grijs aangeduid. De groene stippen zijn waarnemingen van de heivlinder. De oranje contouren is afgebakend door een buffer van 5 km rond de waarnemingen te trekken.

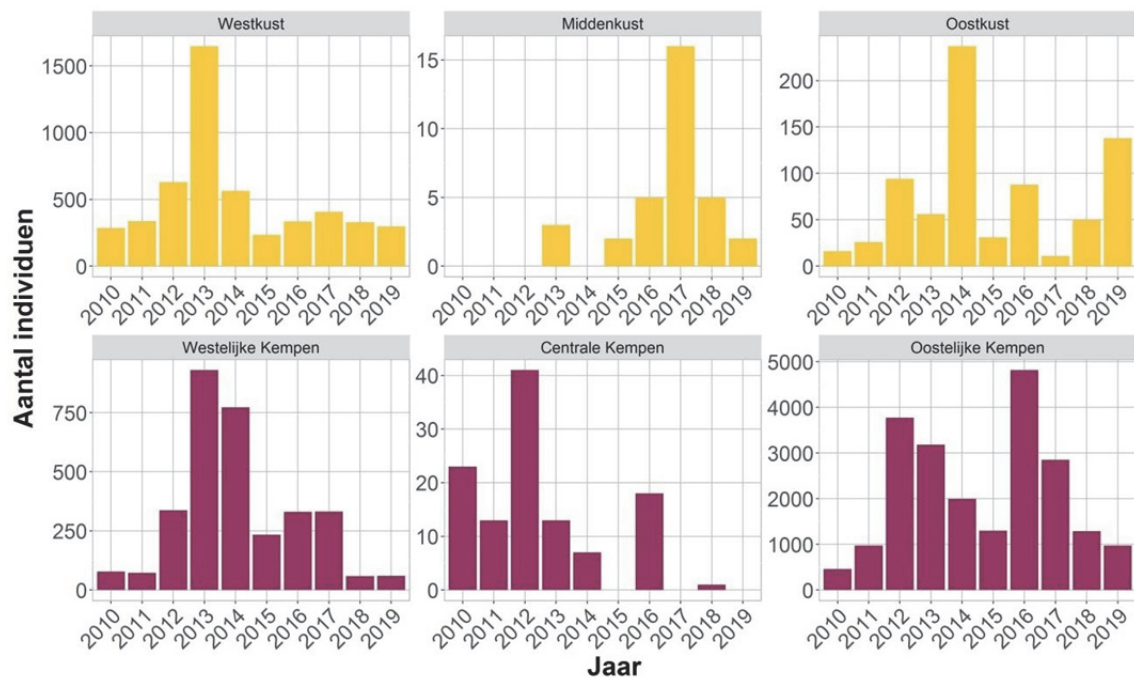
2.1.2.3 Europa

De heivlinder is wijdverspreid binnen Europa, maar de soort komt niet voor in de meest noordoostelijke delen en op de hoogste bergen van Europa (Kudrna et al. 2011). De Vlaamse kustpopulatie in de Westhoek vormt een grensoverschrijdende populatie met de Franse populatie van Bray-Dunes (Dunes du Perroquet; Haubreux et al. 2017). In veel mindere mate vormt ook de populatie uit het Zwin een grensoverschrijdende populatie met Nederlandse kustpopulaties. In de Kempen is dit het geval bij de populatie in Kalmthout en de Nederlandse populatie uit De Zoom, de populatie uit het Hageven en de Nederlandse populatie van De Plateaux, en ten slotte bij de populatie van de Beverbeekse Heide en de Nederlandse populatie uit Leenderheide (Bos et al. 2006).

2.1.3 Trend

2.1.3.1 Waarnemingen

De trend van het aantal gemelde individuen in Waarnemingen.be wordt weergegeven in Figuur 7. Bij het berekenen van de trend werd een correctie doorgevoerd voor de inventarisatie-inspanning. Dit geeft slechts een indicatie over de talrijkheid van de soort per jaar. Niet elke waarnemer geeft namelijk de exact getelde aantallen in. In Nederland gaat de soort ook sterk achteruit, eerst in verspreiding en daarna in aantallen (van Strien et al. 2011).



Figuur 7 Trend van het aantal waarnemingen van de heilvinder in vier regio's. De schaal van de y-as verschilt per regio.

2.1.3.1.1 Kust

Aan de Westkust was er een grote piek in het aantal gemelde individuen in 2013. Het jaarlijks aantal waargenomen individuen schommelt sindsdien tussen 200 - 400 individuen. Aan de Middenkust is het aantal gemelde individuen altijd bijzonder laag en gaat het vermoedelijk om zwervers. Aan de Oostkust werd in 2014 het grootste aantal waarnemingen genoteerd. Er was een dip in 2017, waarna het aantal gemelde individuen weer sterk toenam.

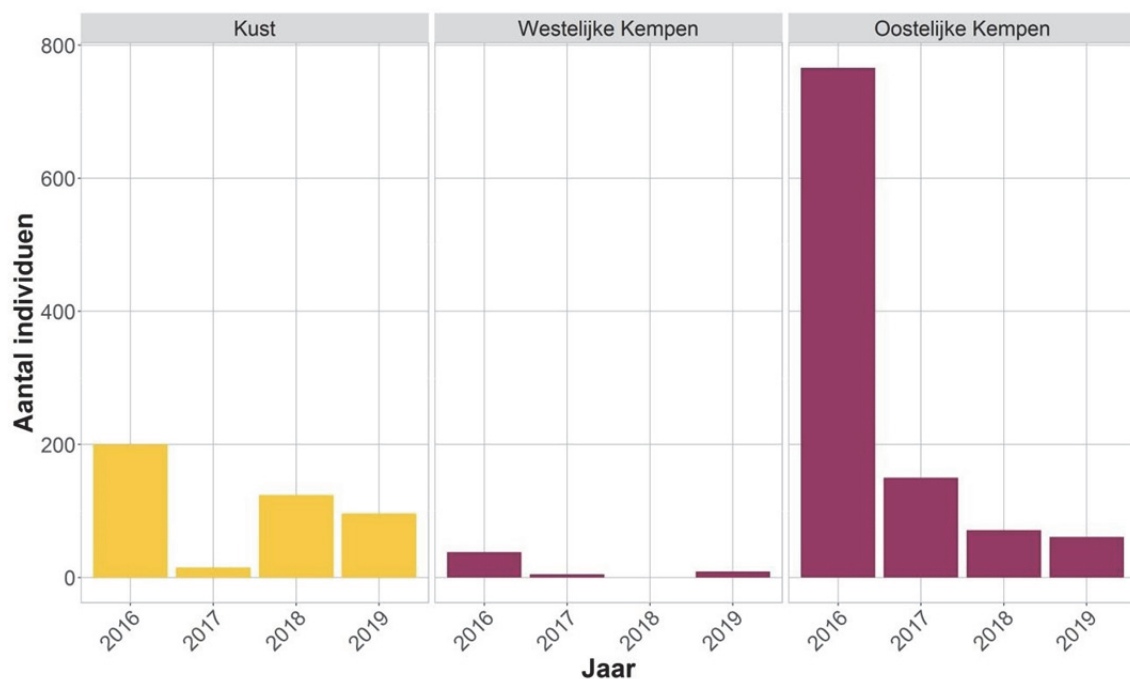
2.1.3.1.2 Kempen

De populatie van Malle in het Centrale deel van de Kempen is inmiddels uitgestorven. Zowel in het westelijke als het oostelijke deel van de Kempen is er een zeer sterke terugval in het aantal gemelde individuen in de jaren 2018 en 2019. Dit is meer dan waarschijnlijk te wijten aan de extreme droogte in beide jaren (gebrek aan geschikte waardplanten en nectar).

2.1.3.2 Meetnetten

Aangezien de heilvinder een Vlaamse prioritaire soort is, wordt ze sinds 2016 op een gestandaardiseerde manier opgevolgd in Meetnetten.be (www.meetnetten.be). De methodiek voor deze tellingen is terug te vinden in Maes et al. (2019b). In totaal wordt de heilvinder gemonitord op 30 locaties en dit in een driejarige cyclus van 10 locaties per jaar. Hierdoor zijn de aantallen tussen jaren moeilijk vergelijkbaar en zullen we pas na meerdere cycli een algemene trend voor de heilvinder kunnen vaststellen. Net als bij de losse waarnemingen valt de sterke terugval in de Kempen op in de laatste drie jaar (Figuur 8). In de westelijke Kempen werden er in 2018 zelfs geen heilvinders waargenomen op de routes.

////////////////////////////////////



Figuur 8 Aantal getelde heivlinders sinds 2016 op de geselecteerde locaties in Meetnetten.be.

2.1.4 Status

De heivlinder staat op de meest recente Rode Lijst van Vlaanderen in de categorie *Bedreigd* (Maes et al. 2021). In Wallonië is de heivlinder *Ernstig bedreigd* (Fichefet et al. 2008), maar vermoedelijk is de soort er ondertussen uitgestorven (Cors & Goffart 2020). In Duitsland (Reinhardt et al. 2020), Groot-Brittannië (Fox et al. 2011) en Nederland (van Swaay 2019) is de heivlinder *Kwetsbaar*. In Frankrijk is de soort *Momenteel niet in gevaar* (IUCN France et al. 2012). Op Europese schaal is de soort niet bedreigd (van Swaay et al. 2010), maar wordt ze wel als een Species of Conservation Concern beschouwd. Dit omdat er een sterke achteruitgang is in meer dan een derde van alle Europese landen (van Swaay et al. 2011). De heivlinder is een Vlaamse prioritaire soort (Herremans et al. 2014) en wordt gemonitord via Meetnetten.be (Brosens et al. 2019). De heivlinder is habitattypisch voor een vijftal Europese biotooptypen: 2130 (Vastgelegde duinen met kruidvegetatie), 2310 (Psammofiele heide met *Calluna* en *Genista*), 2330 (Open grasland met *Corynephorus*- en *Agrostis*-soorten op landduinen), 4030 (Droge Europese heide) en 5130 (*Jeneverbesstruweel* in heide of kalkgrasland; De Knijf et al. 2013).

2.2 BEMONSTERING

2.2.1 Selectie van de gebieden voor bemonstering

2.2.1.1 Op basis van waarnemingen

Het selecteren van de gebieden voor de genetische bemonstering verliep in verschillende stappen:

1. We gebruikten enkel waarnemingen in Waarnemingen.be die werden goedgekeurd op basis van expertenkennis of bewijsmateriaal (foto's);

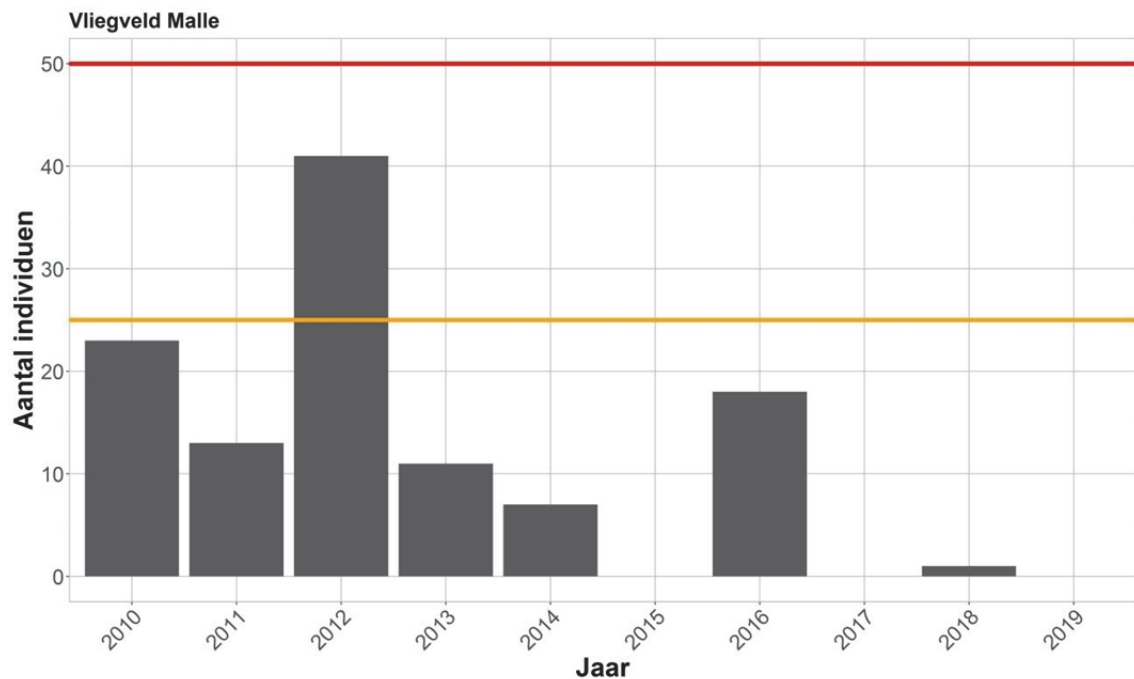
- Op basis van onderzoek naar de mobiliteit van de soort (Logie 2002; Segers et al. 2014), werden rond elke waarneming buffers getrokken van verschillende afmetingen (250, 500, 1000 meter). Dit resulteerde in een eerste indicatieve afbakening van de te bemonsteren clusters. Er werd enkel bemonsterd in gebieden waar de kans voldoende hoog was om aan 30 exemplaren te geraken. We gebruikten daarbij de buffer van 1000 meter.

Om een globaal beeld te krijgen van de populatiestructuur van de heivlinder in Vlaanderen worden de grote eenheden (meta-populaties) bemonsterd. Zo kunnen we nagaan of er significante genetische verschillen zijn tussen de Kust en de Kempen en tussen de deelpopulaties binnen deze twee regio's. Ook uit praktische overwegingen spelen mee. Zo kan men zeker zijn dat er voldoende exemplaren gevangen zullen worden voor de analyses.

Gebieden waarbij er in minstens één jaar van de periode 2010 - 2019 minstens vijf individuen van de heivlinder waargenomen werden, zijn weergegeven in Bijlage 8.1. Deze gebieden bevatten mogelijk nog heel kleine populaties van de heivlinder. Deze gebieden zijn niet bemonsterd voor deze studie. De populatie in Malle is uitgestorven; hier waren geen waarnemingen meer sinds 2018 (Figuur 9) en kan er dus geen bemonstering gebeuren.

Dit resulteert in 25 effectief bemonsterde gebieden voor genetische analyse (Figuur 10, Tabel 2). Zeventien gebieden zijn (mede-)eigendom van het ANB of worden door het agentschap beheerd. Eén gebied wordt beheerd door Natuurpunt (Hageven). De overige zeven gebieden zijn privéterreinen (Tabel 2).

Hieronder geven we meer details over de bemonsterde gebieden.



Figuur 9 Totaal aantal waargenomen individuen per jaar op het vliegveld in Malle. Bron: Waarnemingen.be. De oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer.



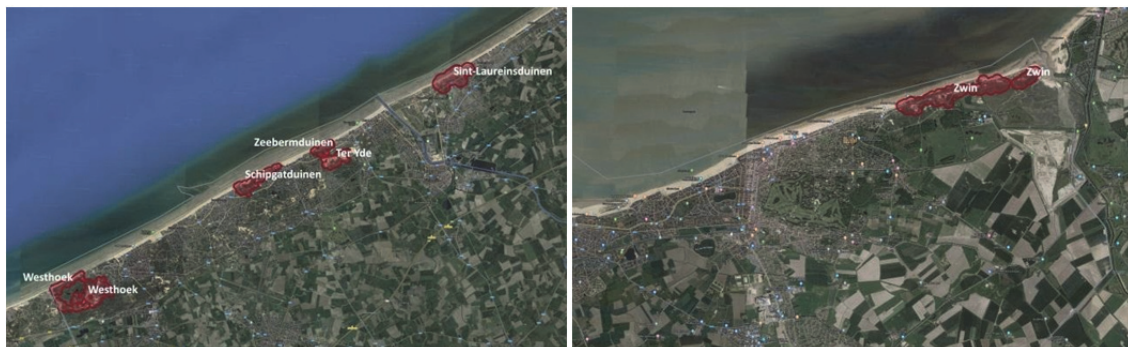
Figuur 10 Ligging van de bemonsterde clusters in Vlaanderen. Sommige clusters werden nog verder opgesplitst in kleinere clusters voor bemonstering.

Tabel 2 Selectie van gebieden voor bemonstering.

Clusters	Gemeente	Eigenaar
Kuststreek (5)		
1. Westhoek (WEH)	De Panne	ANB
2. Schipgatduinen (SGD)	Koksijde	ANB
3. Ter Yde-Zeebermduinen (TYZ)	Koksijde	ANB
4. Sint-Laureinsduinen (SLD)	Middelkerke	ANB
5. Zwin (ZWI)	Knokke	ANB
Kempen – West (3)		
1. Kalmthoutse Heide (KAH)	Kalmthout	ANB
2. Klein Schietveld (KLS)	Kapellen	ANB
3. Groot Schietveld (GRS)	Brecht/Wuustwezel	ANB
Kempen – Oost (17)		
1. Niras (NIR)	Dessel	Privé
2. Keiheuvel – De Most (KDM)	Balen	ANB
3. Balimgronden (BAL)	Lommel	Privé
4. Maatheide (MAH)	Lommel	Privé
5. Hageven (HAG)	Pelt/Lommel	Natuurpunt
6. Beverbeekse Heide (BBH)	Hamont-Achel	ANB
7. Kamp Beverlo Noord (WEV)	Hechtel-Eksel	ANB
8. Zwarte Beek – Noord (ZBN)	Hechtel-Eksel/Beringen	ANB
9. Zwarte Beek – Zuid (ZBZ)	Houthalen-Helchteren/Beringen	ANB
10. Terril Lindeman (TLM)	Heusden-Zolder	ANB
11. Militair Schietveld (HHH)	Houthalen-Helchteren/Oudsbergen	ANB
12. Terril Winterslag (TEW)	Genk	Stad Genk
13. Schemmersberg (SCB)	Genk	Stad Genk
14. Klaverberg (KLB)	Genk/As	ANB
15. Mechelse Heide (MEH)	Maasmechelen	ANB
16. Teutelberg (TEB)	Dilsen-Stokkem	Privé
17. Molse Zandputten (MZP)	Mol	Privé

2.2.1.2.1 Regio Kust

Overzichtskaart met de vijf geselecteerde locaties voor bemonstering aan de kust (Figuur 11).

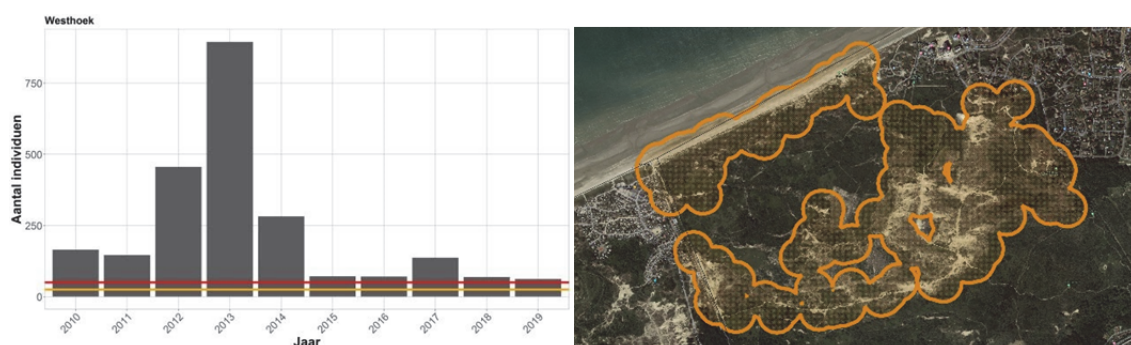


Figuur 11 Overzicht van de geselecteerde clusters voor bemonstering en genetische analyse aan de kust met links de Westkust en rechts de Oostkust.

2.2.1.2.1.1 Westhoek (De Panne)

Een van de grootste populaties met jaarlijks meer dan 50 waargenomen individuen. Het aantal waargenomen vlinders is sinds 2015 echter sterk afgenomen (Figuur 12). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden in 2016 in de Westhoek 24 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: ANB

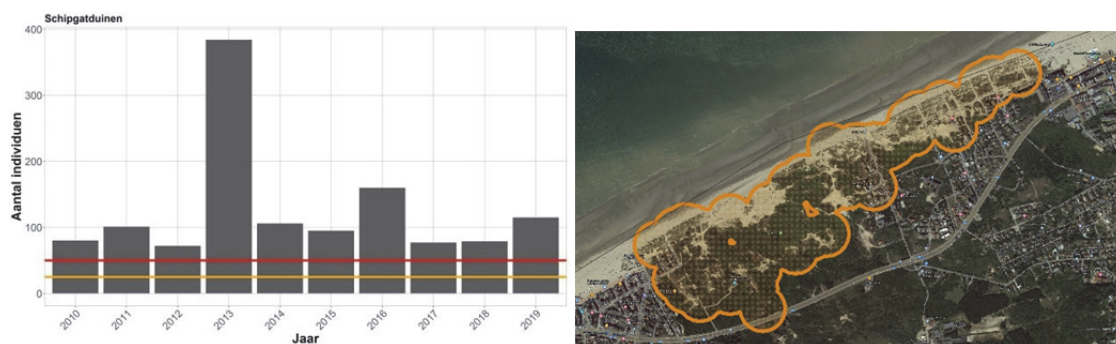


Figuur 12 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in natuurreserveaat de Westhoek in De Panne (oranje).

2.2.1.2.1.2 Schipgatduinen (Koksijde)

Een grote populatie met jaarlijks 50-100 waargenomen individuen. Het aantal waargenomen vlinders is echter sinds 2015 sterk afgenomen (Figuur 13). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden er in de Schipgatduinen in 2016 en 2019 respectievelijk 59 en 26 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: ANB, Gemeente Koksijde, Agentschap Maritieme Dienstverlening en Kust (MDK) / ANB

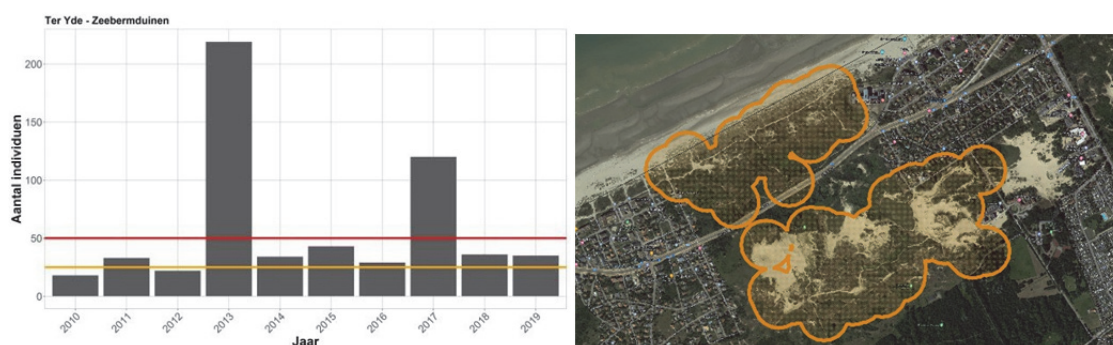


Figuur 13 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in de Schipgatduinen in Koksijde (oranje).

2.2.1.2.1.3 Ter Yde – Zeebermduinen (Koksijde)

Een middelgrote populatie met jaarlijks tussen de 25-50 waargenomen individuen (Figuur 14). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden in 2018 in Ter Yde 22 heivlinders geteld. In 2017 in de Zeebermduinen werden er 15 individuen geteld.

Eigenaar/Beheerder: ANB

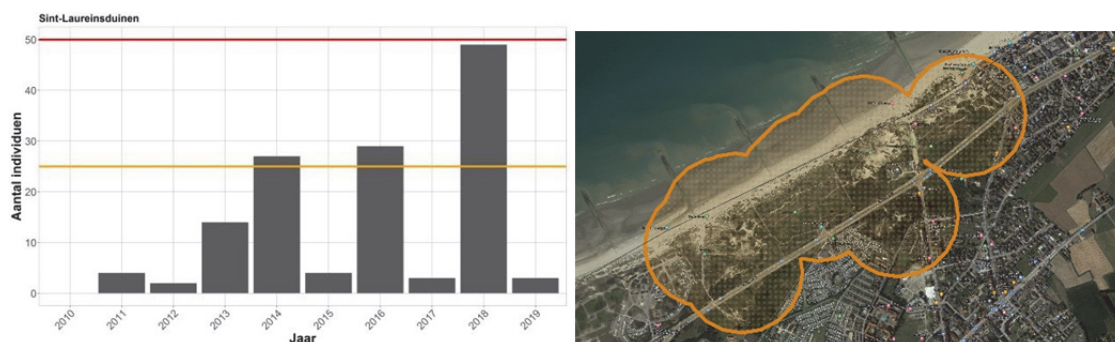


Figuur 14 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in Ter Yde - Zeebermduinen in Koksijde (oranje).

2.2.1.2.1.4 Sint-Laureinsduinen (Middelkerke)

Een sterk fluctuerende populatie met aantallen tussen 25-50, maar in de oneven jaren slechts zeer lage aantallen (Figuur 15). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden in de Sint-Laureinsduinen in 2016 en 2018 respectievelijk 57 en 66 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: ANB

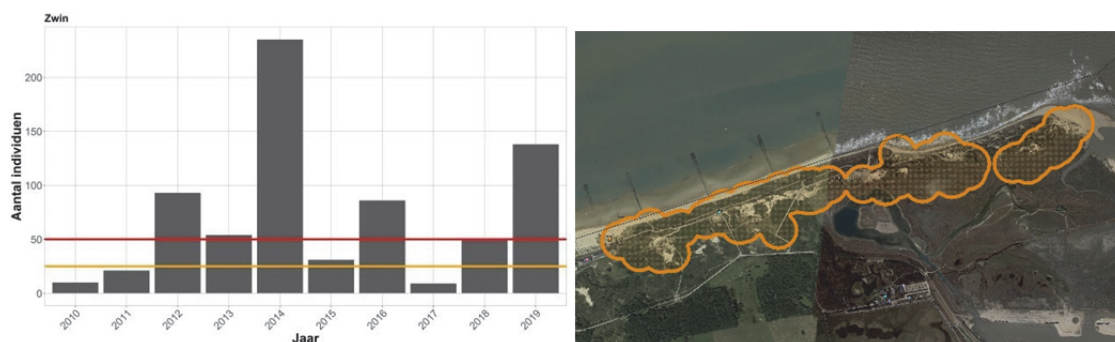


Figuur 15 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in de Sint-Laureinsduinen in Middelkerke (oranje).

2.2.1.2.1.5 Zwin (Knokke-Heist)

Een vrij grote populatie met vaak meer dan 100 waargenomen individuen per jaar (Figuur 16). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden in het Zwin in 2016 en 2019 respectievelijk 58 en 70 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: ANB



Figuur 16 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in het Zwin in Knokke-Heist (oranje).

2.2.1.2.2 Westelijke Kempen

Dee bemonsteren locaties in de westelijke Kempen staan op onderstaande overzichtskaart (Figuur 17).

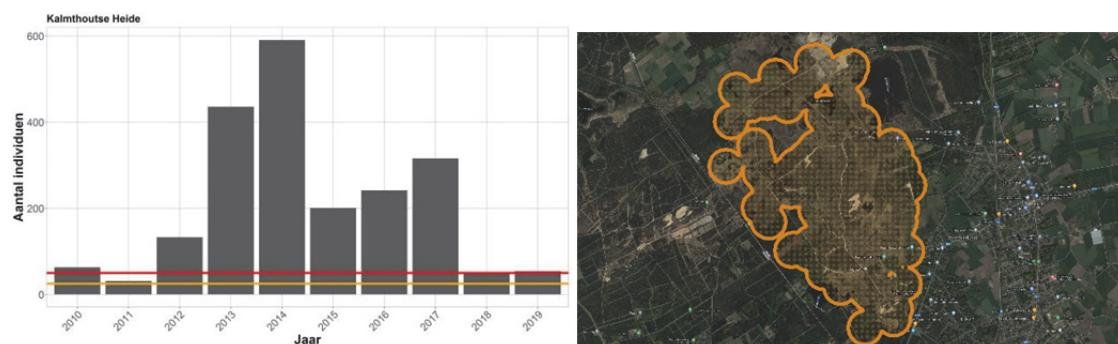


Figuur 17 Overzicht van de te bemonsteren clusters in de regio Kempen West.

2.2.1.2.2.1 Kalmthoutse Heide (Kalmthout)

Een grote populatie, maar het aantal gemelde individuen is de laatste twee jaar sterk gedaald (Figuur 18). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden in de Kalmthoutse Heide in 2016 en 2019 respectievelijk 26 en 4 heivlinders geteld.

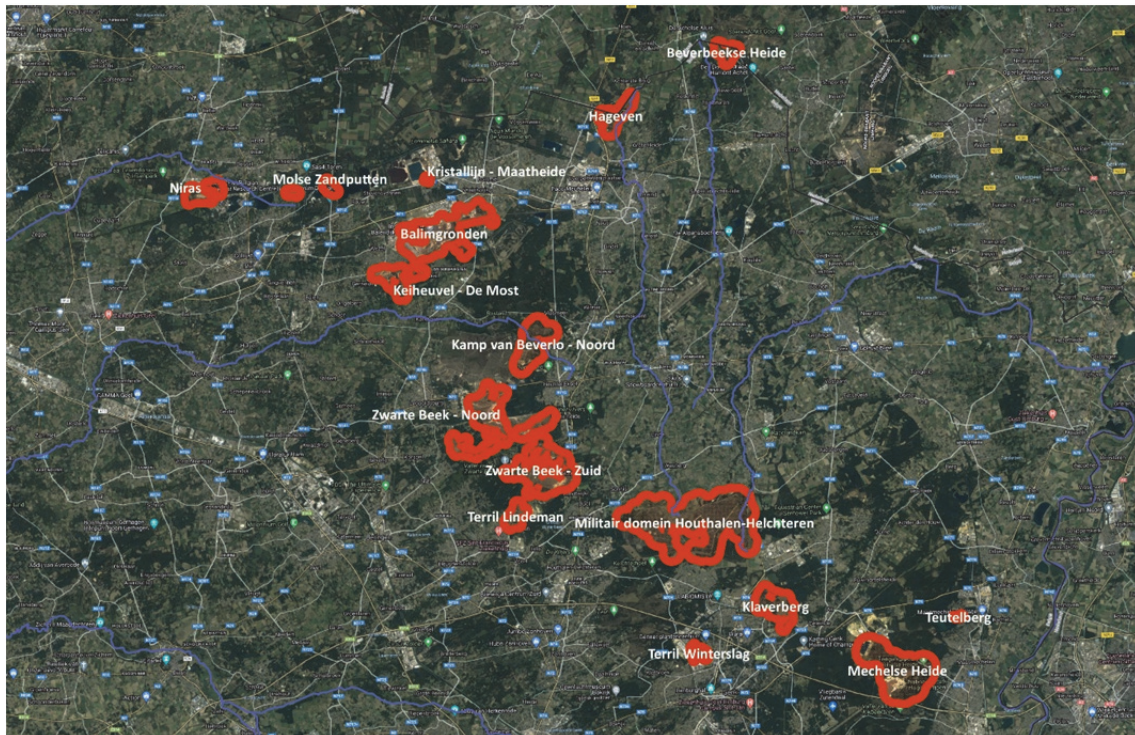
Eigenaar/Beheerder: ANB



Figuur 18 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in de Kalmthoutse Heide in Kalmthout (oranje).

2.2.1.2.3 Oostelijke Kempen

Figuur 21 bevat een overzichtskaart met te bemonsteren locaties in de oostelijke Kempen.

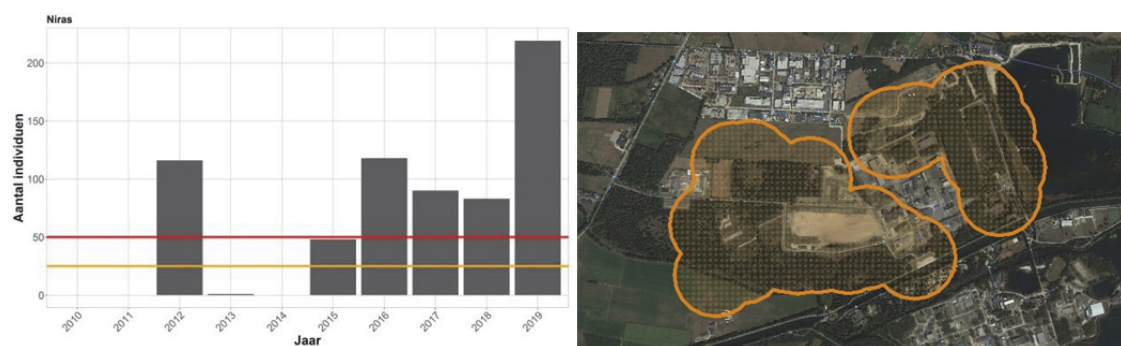


Figuur 21 Overzicht van de te bemonsteren clusters in de regio Kempen Oost.

2.2.1.2.3.1 Niras (Dessel)

In Niras bevindt zich een redelijk grote populatie (Figuur 22). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden in Niras (Belgonucleaire) in 2016, 2018 en 2019 respectievelijk 66,18 en 29 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: Privé

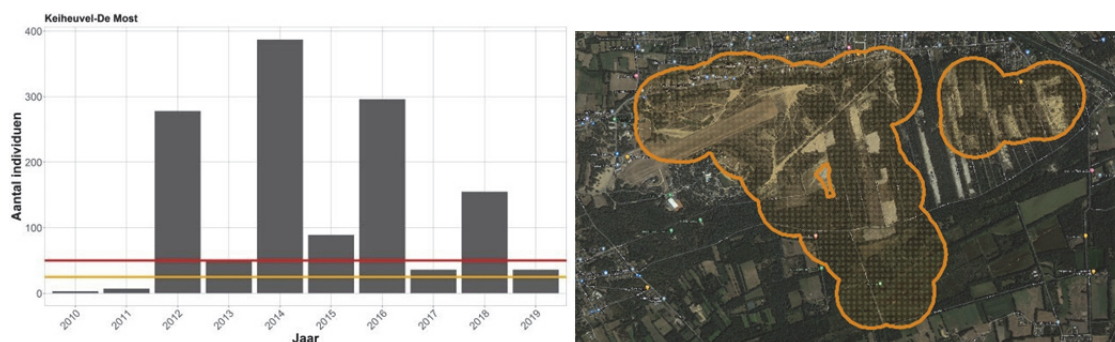


Figuur 22 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in Niras in Dessel (oranje).

2.2.1.2.3.2 Keiheuvel – De Most (Balen)

In Keiheuvel – De Most bevindt zich een middelgrote populatie (Figuur 23). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden in de Keiheuvel in 2016 en 2019 respectievelijk 74 en 2 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: ANB

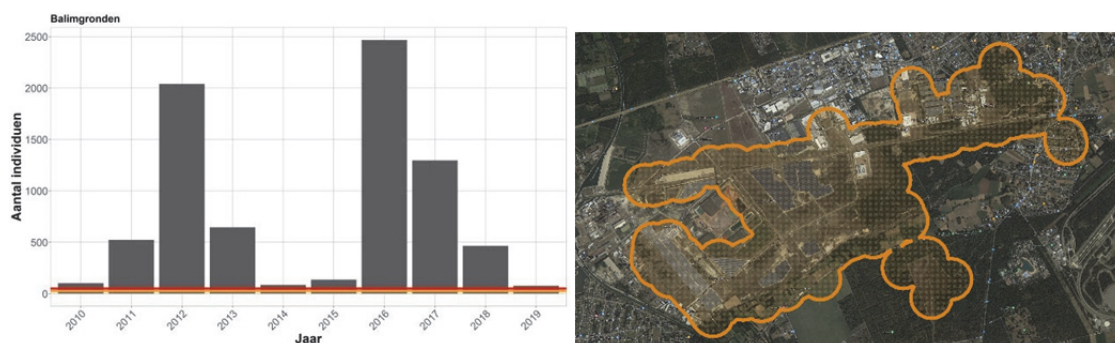


Figuur 23 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in Keiheuvel – De Most in Balen (oranje).

2.2.1.2.3.3 Balimgronden (Lommel)

Op de Balimgronden bevindt zich een zeer grote populatie (Figuur 24). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden er op de Balimgronden in 2016 en 2017 respectievelijk 158 en 93 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: Natuurpunt

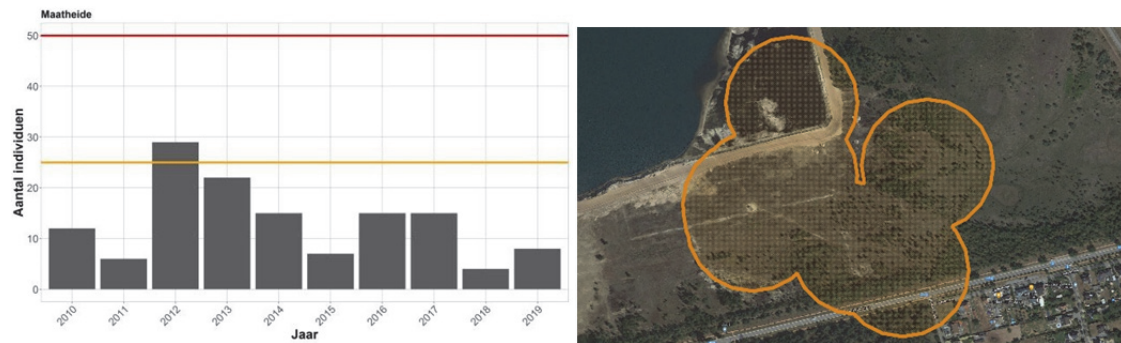


Figuur 24 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in de Balimgronden in Lommel (oranje).

2.2.1.2.3.4 Maatheide (Lommel)

Op de Maatheide bevindt zich een kleine heivlinderpopulatie (Figuur 25). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden op de Maatheide in 2016 en 2019 respectievelijk 26 en 4 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: Privé

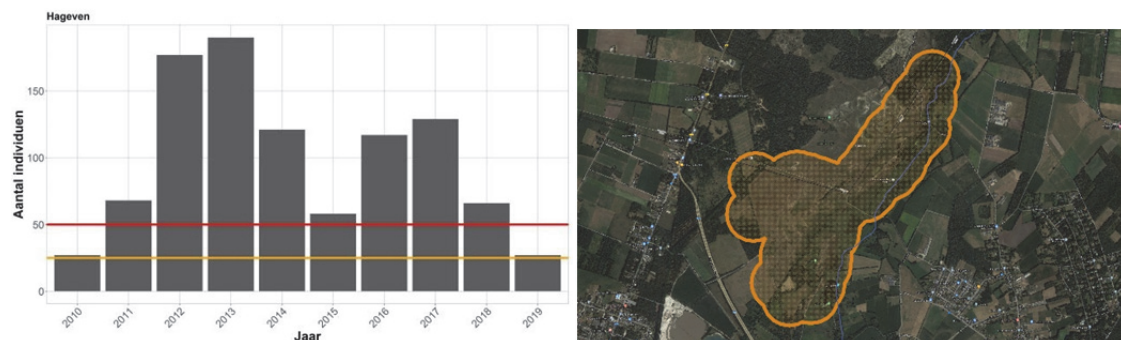


Figuur 25 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in de Maatheide in Lommel (oranje).

2.2.1.2.3.5 Hageven (Pelt)

In 2019 werden er weinig individuen gemeld, maar voordien herbergde het Hageven een vrij grote populatie (Figuur 26). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden in 2017 in het Hageven 8 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: Natuurpunt



Figuur 26 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in het Hageven in Pelt (oranje).

2.2.1.2.3.6 Beverbeekse Heide (Hamont-Achel)

Op de Beverbeekse Heide bevindt zich een kleine populatie (Figuur 27). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden op de Beverbeekse Heide in 2016 en 2019 respectievelijk 67 en 3 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: ANB

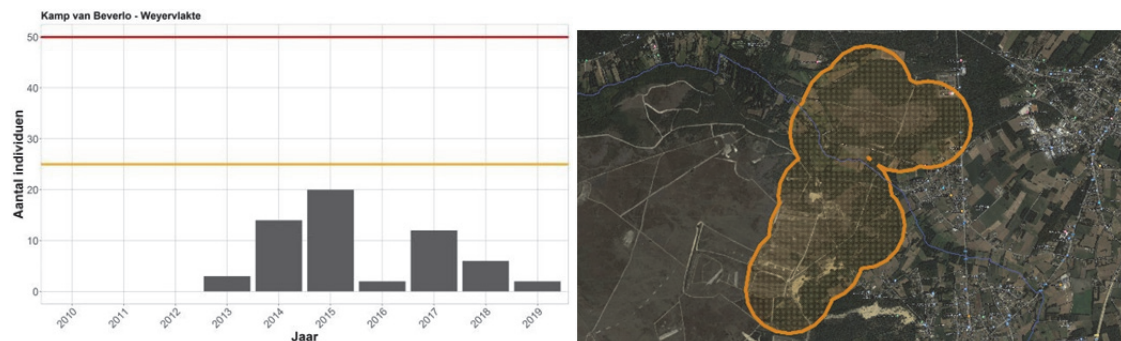


Figuur 27 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in de Beverbeekse Heide in Hamont-Achel (oranje).

2.2.1.2.3.7 Kamp Beverlo Noord (Hechtel-Eksel)

Kamp Beverlo Noord herbergt een kleine populatie (Figuur 28). Op Kamp Beverlo Noord ligt geen vlinderroute van Meetnetten.be

Eigenaar/Beheerder: ANB



Figuur 28 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone op Kamp Beverlo Noord in Hechtel-Eksel (oranje).

2.2.1.2.3.8 Zwarte Beek – Noord (Hechtel-Eksel)

In Zwarte Beek – Noord bevindt er zich een grote heivlinderpopulatie (Figuur 29). In het gebied ligt geen vlinderroute van Meetnetten.be.

Eigenaar/Beheerder: ANB

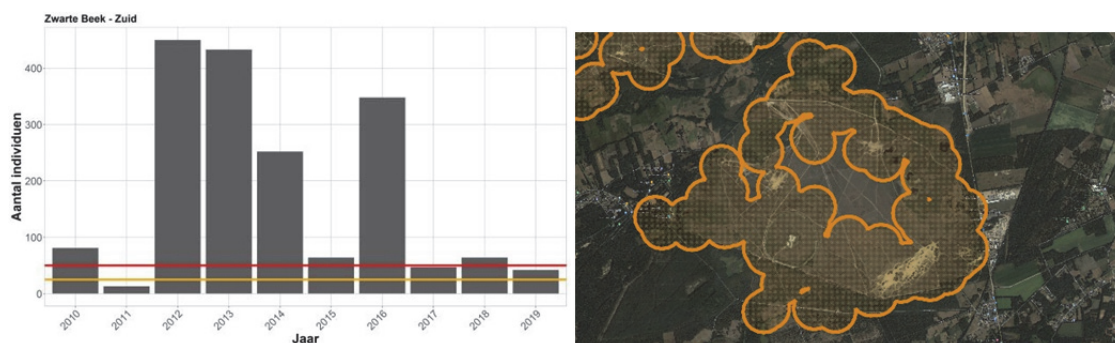


Figuur 29 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in Zwarte Beek - Noord in Hechtel-Eksel (oranje).

2.2.1.2.3.9 Zwarte Beek – Zuid (Houthalen-Helchteren/Beringen)

In Zwarte Beek – Zuid bevindt er zich een grote populatie (Figuur 30). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden in de Zwarte Beek – Zuid in 2016 en 2017 respectievelijk 105 en 33 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: ANB

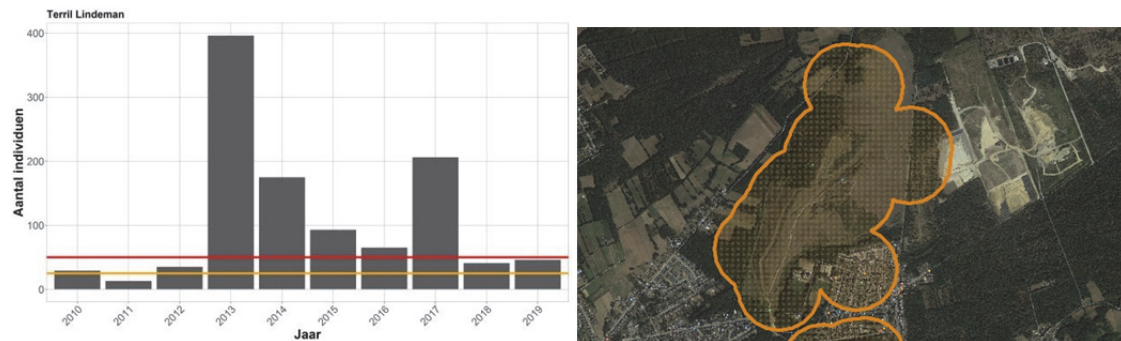


Figuur 30 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in Zwarte Beek - Zuid in Houthalen-Helchteren/Beringen (oranje).

2.2.1.2.3.10 Terril Lindeman (Heusden-Zolder)

Op Terril Lindeman bevindt zich een vrij grote populatie (Figuur 31). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden op de Terril Lindeman (Helderbeekvallei) in 2016 en 2018 respectievelijk 3 en 4 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: ANB

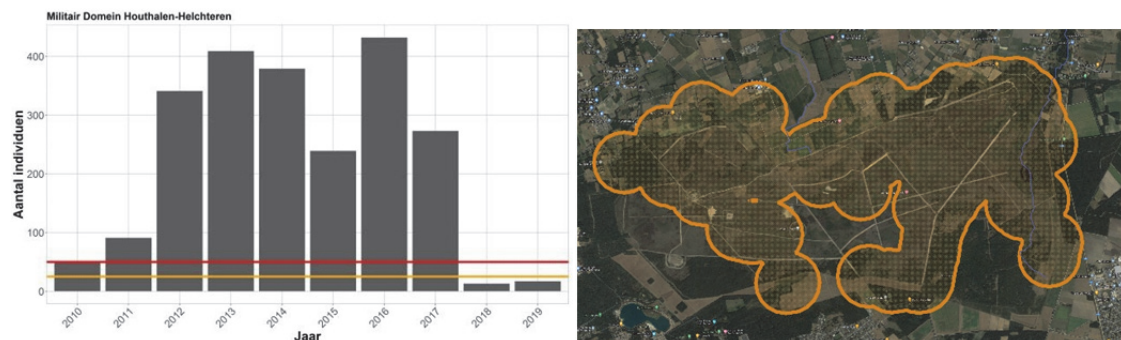


Figuur 31 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in Terril Lindeman in Heusden-Zolder (oranje).

2.2.1.2.3.11 Militair Schietveld (Houthalen-Helchteren/Oudsbergen)

In 2018 en 2019 werden er zeer weinig heivlinders gemeld (Figuur 32). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden op het Militair Schietveld in 2016 en 2019 respectievelijk 58 en 1 heivlinder(s) geteld.

Eigenaar/Beheerder: ANB

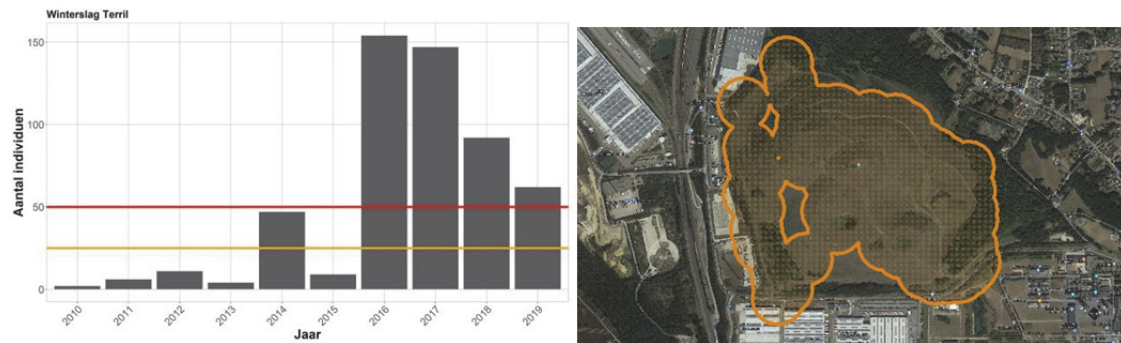


Figuur 32 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone op het Militair Schietveld in Houthalen-Helchteren/Oudsbergen (oranje).

2.2.1.2.3.12 Terril Winterslag (Genk)

Op de Terril Winterslag bevindt zich een grote populatie (Figuur 33). Op de vlinderroutes van Meetnetten.be werden op de Terril in Winterslag in 2016 en 2018 respectievelijk 48 en 36 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: Stad Genk

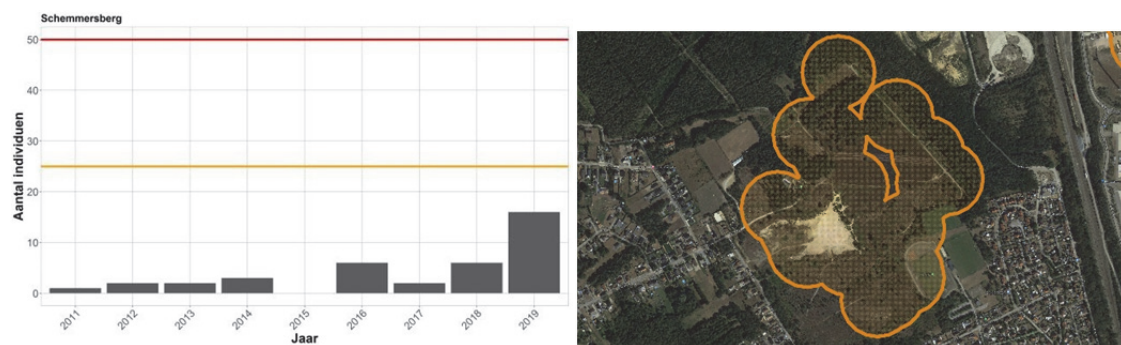


Figuur 33 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone op Terril Winterslag in Genk (oranje).

2.2.1.2.3.13 Schemmersberg (Genk)

Op de Schemmersberg bevindt zich een kleine populatie (Figuur 34). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden in 2019 op de Schemmersberg 14 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: Stad Genk/ANB

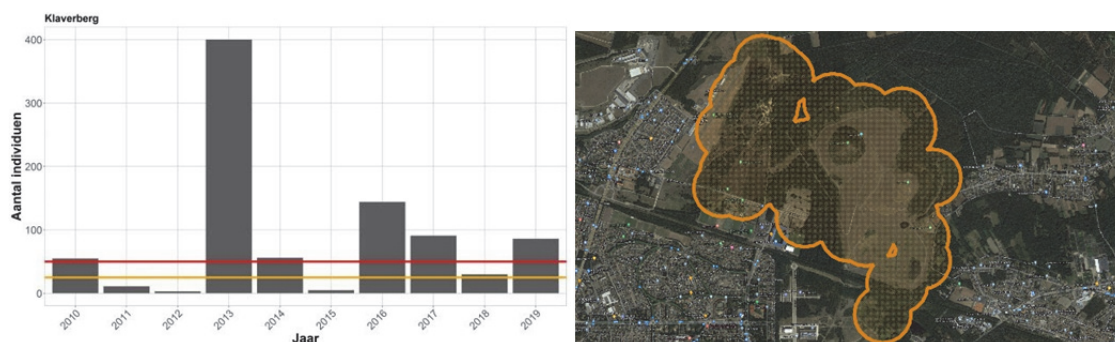


Figuur 34 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone op de Schemmersberg in Genk (oranje).

2.2.1.2.3.14 Klaverberg – Opglabbekerzavel (As)

Op de Klaverberg bevindt zich een vrij grote populatie (Figuur 35). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden op de Klaverberg in 2016, 2018 en 2019 respectievelijk 41, 10 en 9 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: ANB

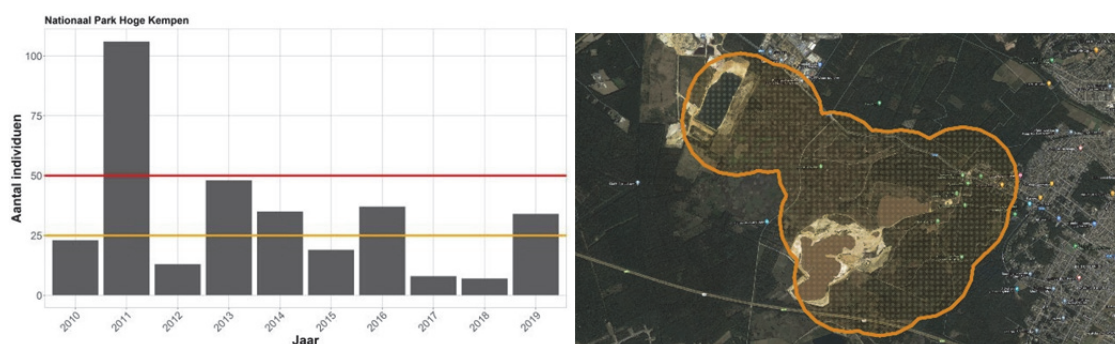


Figuur 35 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone op de Klaverberg in As (oranje).

2.2.1.2.3.15 Mechelse Heide (Maasmechelen)

In de Mechelse Heide bevindt zich een middelgrote populatie (Figuur 36). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden in 2016 in de Mechelse Heide 8 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: ANB

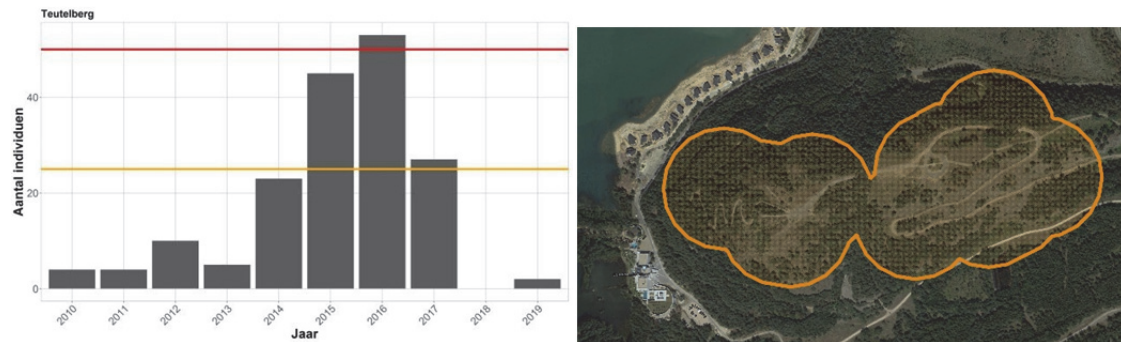


Figuur 36 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in de Mechelse Heide in Maasmechelen (oranje).

2.2.1.2.3.16 Teutelberg (Dilsen-Stokkem)

Op de Teutelberg werden er de laatste jaren nauwelijks waarnemingen gemeld (Figuur 37). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden in 2016 op de Teutelberg 32 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: Privé

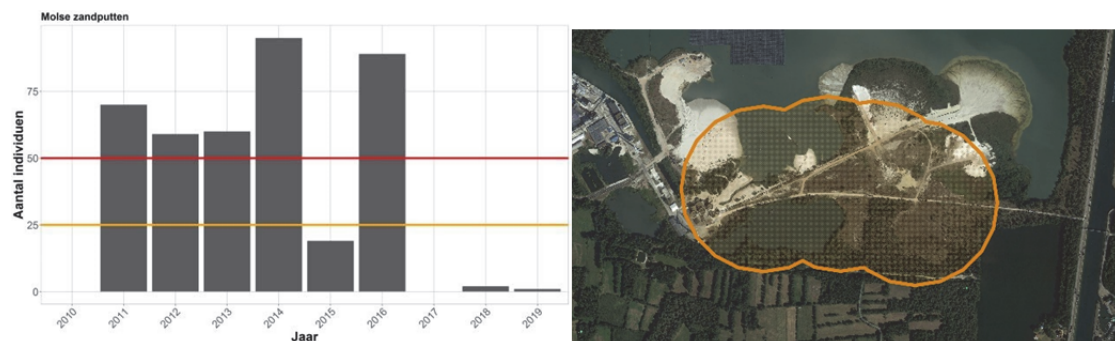


Figuur 37 Links het totaal aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone op de Teutelberg in Dilsen-Stokkem (oranje).

2.2.1.2.3.17 Molse Zandputten (Mol)

In de Molse Zandputten werden er de laatste jaren geen waarnemingen meer gemeld (Figuur 38). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden in 2016 en 2017 in de Molse Zandputten respectievelijk 88 en 16 heivlinders geteld.

Eigenaar/Beheerder: Privé



Figuur 38 Links het totaal aantal waargenomen individuen van de heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer). Rechts de zoekzone in de Molse Zandputten in Mol (oranje).

2.2.2 Bemonstering voor genetische analyse

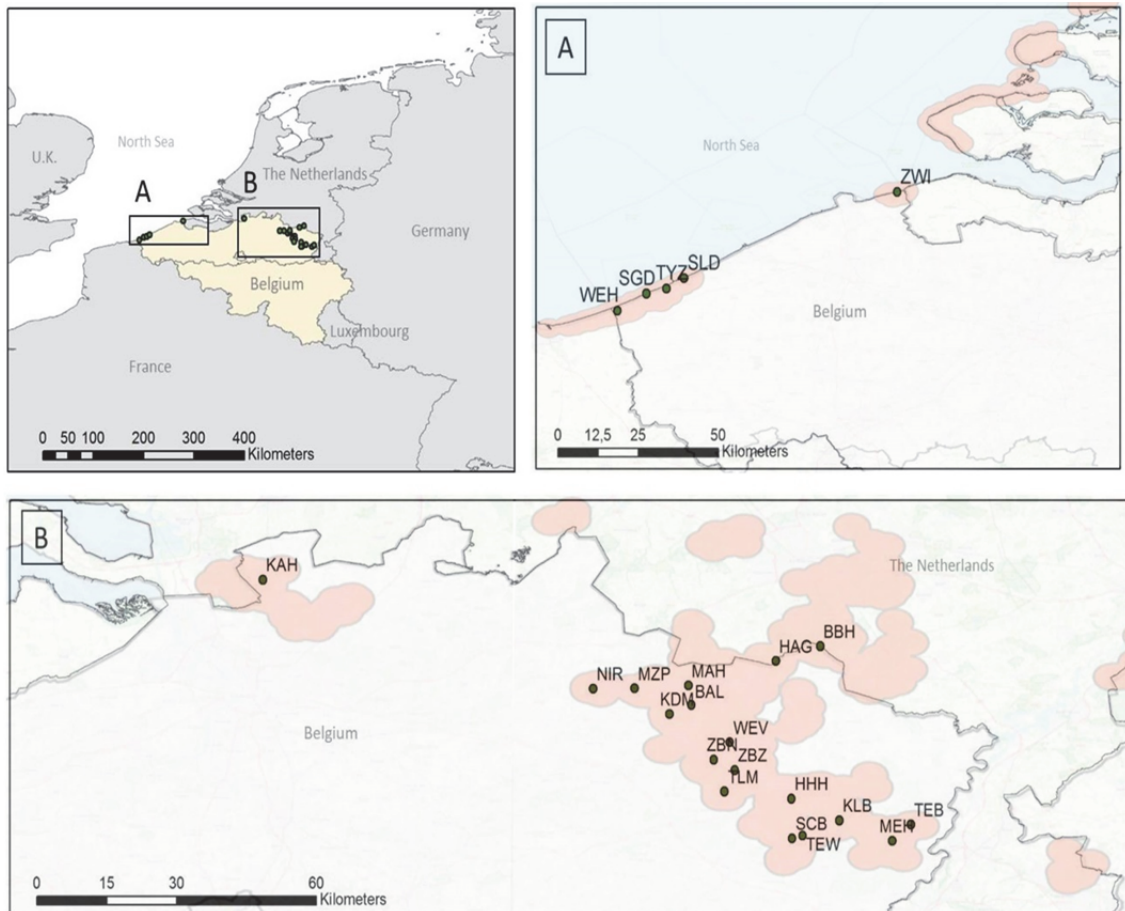
De bemonstering van het genetisch materiaal gebeurde door het nemen van vleugelstukjes. Per vlinder worden met een pincet twee kleine stukjes (enkele mm²) van de achtervleugels verzameld (Figuur 39). In elk stukje bevindt zich minstens één vleugelader waaruit voldoende DNA gehaald kan worden voor verdere analyses. Het nemen van deze vleugelstukjes heeft geen invloed op het vliegvermogen van de vlinders en heeft geen effect op hun overlevingskansen (e.g. Kingsolver 1999). Door het vangen kan de vlinder wel kortstondig gedragsveranderingen vertonen (Hamm et al. 2009).

We nemen aan dat elke bemonsteringslocatie een enkele deelpopulatie bevat. Dit wil zeggen dat de individuen willekeurig onderling met elkaar kruisen. We namen op 25 verschillende locaties stalen: op vijf locaties aan de kust en op 20 locaties in de Kempen (Tabel 3; Figuur 40). De bemonsterde gebieden hadden een oppervlakte van 0.4 ha tot 48.7 ha met een gemiddelde van 7.7 ha. De maximale afstand tussen stalen binnen een bemonsteringslocatie had een bereik van 89 m tot 3.1 km met een gemiddelde van 668 m. De afstand tot de dichtstbijzijnde populatie had een bereik van 644 m tot 46.7 km met een gemiddelde van 6.8 km. Hoewel we elke gekende recente populatie in België bemonsterd hebben, kunnen we niet uitsluiten dat we toch een paar kleine, recent gekoloniseerde populaties binnen de regio's gemist hebben.

Per bemonsteringslocatie namen we van 30 heivlinders vleugelstukjes. Er werden geen individuen waargenomen op het Klein Schietveld (KLS) en het Groot Schietveld (GRS). In de populaties van de Maatheide (MAH) en Teutelberg (TEB) werden er respectievelijk slechts 2 en 25 individuen waargenomen. In totaal werden er van **657 individuen** op niet-destructieve wijze vleugelstukjes verzameld **op 23 locaties**. Na het bemonsteren werd elke vlinder individueel gemerkt. Hier bovenop werden nog vleugelstukjes van 24 en 20 individuen die in 2001 verzameld werden, respectievelijk op de locaties Mechelse Heide (MEH) en Teutelberg (TEB), toegevoegd aan deze studie. Deze individuen werden bewaard bij een temperatuur van -80°C. Door deze historische stalen is het mogelijk om de genetische diversiteit van deze twee populaties op twee tijdstippen met elkaar te vergelijken. De verzamelde vleugelstukjes werden in cryotubes, gevuld met 96% ethanol, bewaard tot verdere analyses. Na het bemonsteren van het vleugelstukje werd elke vlinder individueel gemerkt om te vermijden dat ze dubbel bemonsterd werden (Figuur).



Figuur 39 Het vangen van de heivlinder en verzamelen van vleugelstukjes op een niet-destructieve wijze.



Figuur 40 De bemonsteringslocaties van de heivlinder in de kustregio (A) en de Kempen (B) in Vlaanderen. De oranje polygonen geven de waarnemingen van de heivlinder sinds 2011 weer met een radius van 2,5 km. Bronnen: GBIF, iNaturalist en observado.

Tabel 3 Overzicht van de bemonsteringslocaties met datum van bemonstering, coördinaten van de plek van bemonstering, de oppervlakte van het gehele gebied, de oppervlakte van het gebied waarin de bemonstering plaatsvond, de maximale afstand tussen twee stalen binnen een locatie, de afstand tot de dichtstbijzijnde populatie, het aantal genomen stalen en het aantal geanalyseerde stalen.

Locatie	Locatie code	Regio	Datum bemonstering	Coördinaten	Oppervlakte site (m²)	Oppervlakte bemonstering (m²)	Max. afstand tussen twee stalen binnen een site (m)	Afstand tot dichtstbijzijnde populatie (m)	# Stalen	# Geanalyseerde stalen
2001										
1. Mechelse Heide	MEH	Kempen	-	-	3.791.324	-	-	-	24	24
2. Teutelberg	TEB	Kempen	-	-	119.902	-	-	-	20	18
Totaal 2001		2							44	42
2020										
3. Westhoek	WEH	Kust	29/07/2020	51.108637N/2.569824E	2.049.699	116.817	430	6.132	30	30
4. Schipgatduinen	SGD	Kust	30/07/2020	51.124790N/2.645055E	348.106	4.197	89	1.704	30	29
5. Ter Yde Zeebermduinen	TYZ	Kust	30/07/2020	51.136799N/2.700728E	774.257	13.342	702	1.704	30	30
6. Sint-Laureinsduinen	SLD	Kust	29/07/2020	51.161076N/2.751019E	463.068	14.604	246	3.455	30	30
7. Zwin	ZWI	Kust	27/07/2020	51.364605N/3.349195E	524.685	10.296	200	45.049	30	30
8. Kalmthoutse Heide	KAH	Kempen	06/08/2020	51.401485N/4.435003E	7.434.512	205.215	894	46.730	30	29
9. Klein Schietveld	KLS	Kempen	-	-	-	-	-	-	0	0
10. Groot Schietveld	GRS	Kempen	24 & 25/08/2020	-	-	-	-	-	0	0
11. Niras	NIR	Kempen	23/07/2020	51.224171N/5.073072E	290.086	19.070	526	5.218	30	26
12. Keiheuvel – De Most	KDM	Kempen	21 & 23/07/2020 & 05/08/2020	51.182834N/5.220805E	1.070.387	124.152	958	1.292	30	26
13. Balinggronden	BAL	Kempen	20/07/2020	51.197944N/5.263132E	4.258.107	19.118	210	1.292	30	29



14. Maatheide	MAH	Kempen	05/08/2020	51.228844N/5.257022E	-	-	-	2	0
15. Hageven	HAG	Kempen	13 & 16/08/2020	51.269123N/5.426589E	1.021.629	15.549	1.193	30	28
16. Beverbeekse Heide	BBH	Kempen	13 - 16/08/2020	51.293304N/5.512010E	522.858	487.435	1.914	30	27
17. Kamp Beverlo Noord	WEV	Kempen	10/08/2020	51.13657N/5.337216E	3.991.023	27.215	316	30	30
18. Zwarte Beek – Noord	ZBN	Kempen	10/08/2020	51.108760N/5.306172E	15.345.420	26.421	350	30	27
19. Zwarte Beek – Zuid	ZBZ	Kempen	10/08/2020	51.091782N/5.346917E	5.578.403	35.197	461	30	25
20. Terril Lindeman	TLM	Kempen	04/08/2020	51.056843N/5.326924E	191.168	20.069	283	30	28
21. Militair Schietveld – Houthalen-Helchteren	HHH	Kempen	19 & 24/08/2020	51.045418N/5.456590E	12.381.050	73.117	542	30	28
22. Terril Winterslag	TEW	Kempen	21 & 22/07/2020	50.984821N/5.477813E	743.211	53.548	315	30	24
23. Schemmersberg	SCB	Kempen	12/08/2020	50.980525N/5.457737E	170.879	31.021	336	30	29
24. Klaverberg	KLB	Kempen	22/07/2020	51.009792N/5.548819E	972.762	36.705	802	30	23
25. Mechelse Heide	MEH	Kempen	12/08/2020	50.976566N/5.650973E	3.791.324	247.521	3.132	30	20
26. Teutelberg	TEB	Kempen	30/07/2020 & 04/08/2020	51.003086N/5.686929E	119.902	103.988	673	25	21
27. Molse Zandputten	MZP	Kempen	05/08/2020	51.224333N/5.153156E	72.339	6.434	127	30	30
Totaal 2020		25						657	599
Totaal		27						701	641

GENOTYPING

Ontwikkeling van de microsatellieten

Voor de microsatellietontwikkeling gebruikten we enkele stalen die vóór de aanvang van de studie in het Zwin (ZW1) genomen werden. De ontwikkeling werd uitgevoerd door AllGenetics & Biology SL (www.allgenetics.eu) en was gebaseerd sequentieanalyse van het DNA (Bijlage 8.2.1). Een gedetailleerd overzicht van de 20 polymorfe microsatellieten is weergegeven in Bijlage 8.2.2.

Labo-analyses

Per individu werd er één vleugelstukje gebruikt voor de analyses, het andere verzamelde stukje werd als back-up bewaard. Voor de extractie van het totaal genomisch DNA werd elk vleugelstukje gedurende één uur aan de lucht gedroogd. Hierdoor kon alle 96% ethanol verdampen. Het DNA werd vervolgens uit elk vleugelstukje geëxtraheerd. Elk vleugelstukje werd gedurende enkele minuten in 5 µL proteïnase K (>600mAU, Qiagen) gehomogeniseerd. Hierna werd 100 µL 6% Chelex InstaGene Matrix solution (Biorad) toegevoegd. De stalen werden vervolgens gedurende 60 min. geïncubeerd op 56 °C en geschut op 750 rpm, vervolgens gedurende 15 min. gekookt op 99 °C en geschut op 400 rpm, en tenslotte voor enkele minuten afgekoeld en gedurende drie min. gecentrifugeerd op 14000 rpm. Het supernatans werd bij -20 °C bewaard.

Voor elk staal werden er 20 polymorfe nucleaire microsatellieten geamplificeerd. De PCR-producten (Polymerase Chain Reaction) werden op een ABI 3500 genetic analyser gelopen met de GeneScan-600 LIZ als standaard (Applied Biosystems). Later werden deze geanalyseerd met het programma Geneious Prime 2019.3.2 (<https://www.geneious.com>). Details over de gebruikte microsatellieten en de PCR condities zijn terug te vinden in Bijlage 8.2.2. Voor het bepalen van de fout op genotypering werden er duplicaat DNA-extracties van 24 vleugelstukjes en twee tot vijf onafhankelijke duplicaat PCR-amplificaties van 21 vleugelstukjes uitgevoerd.

DATAVERWERKING GENETICA

Analyses loci

In totaal werden er 701 individuen genetisch gekarakteriseerd. Omdat er bij vijf microsatellieten stutterpieken voorkwamen, en de allelen van deze microsatellieten dus moeilijk te benoemen waren, werden deze niet mee genomen in de analyses. In totaal werd er van 15 microsatellieten data verzameld. Het Hardy-Weinberg evenwicht (HWE ; i.e. het evenwicht van genotype frequenties dat bereikt wordt in een random kruisende populatie die niet beïnvloed wordt door mutaties, migratie of selectie) en de afwezigheid van linkage disequilibrium (LD; i.e. de niet-random associatie van allelen op verschillende loci) zijn fundamentele assumpties voor de genetische analyses. We gebruikten het programma GENEPOP v4.3 (Rousset 2008) om de microsatelliet loci te testen op significante afwijkingen van HWE. Hierbij werd er via de Bonferroni-methode (Hochberg 1988) gecorrigeerd voor het aantal testen. Vervolgens werd met GENEPOP v4.3 voor elk locus-paar in elke populatie getest voor LD. Hiervoor werd de *Markov chain* methode en standaard settings gebruikt. Tenslotte werd de frequentie van nul-allelen geschat via de Dempster methode (Dempster et al. 1977) in het programma GENEPOP v4.3. In genetische studies op vlinders worden er gewoonlijk een groot aantal nul-allelen gevonden (e.g. Keyghobadi et al. 2005), wat we ook in deze studie vonden. We controleerden de invloed van loci met nul-allelen en afwijkingen van het HWE op

3 RESULTATEN

3.1 VERBREIDING TUSSEN POPULATIES

De toewijzingstest identificeerde met de Bayesiaanse methode zeven mogelijke eerste-generatie dispersers tussen populaties ($p \leq 0,01$) (Tabel 4). We detecteerden vooral verbreiding tussen de Kempische populaties. Hierbij werden afstanden tussen 13 en 69 km afgelegd, met een gemiddelde van 33 km. **Het opmerkelijke is dat we een disperser vonden die bemonsterd werd in een Kempische populatie (TLM) maar aan een kustpopulatie (ZWI) werd toegewezen.** Het individu legde daarbij een afstand van 142 km af. Deze mogelijke langeafstands-verbreiding werd ook door de STRUCTURE analyse gedetecteerd (Bijlage 8.2.5) waarbij dit individu toegewezen werd tot de cluster van de kustpopulaties. Een extra kwaliteits- en scoring controle van het genetisch profiel van deze disperser bevestigde dit resultaat. We detecteerden 16 dispersers met de meer toegeeflijke p-waarde van 0,05 (Tabel 4). Bij deze dispersers was er een met een nog grotere verbreidings-afstand. Die disperser werd in een kustpopulatie bemonsterd (WEH), maar werd aan een Kempische populatie toegewezen. Hierbij legde het individu 188 km af. Deze methode heeft dezelfde statistische power als wanneer we het $L_{\text{home}}/L_{\text{max}}$ criterium met een p-waarde van 0,01 gebruiken. Een p-waarde van 0,05 verhoogt echter ook de kans op foute toewijzingen (Paetkau et al. 2004). Verder bespreken we enkel de dispersers met een p-waarde ≤ 0.01 . De resultaten van de methode die gebaseerd is op allel-frequenties zijn terug te vinden in Bijlage 8.2.4.

Tabel 4 Resultaten van de toewijzingstest met de Bayesiaanse methode in GENECLASS2. De individuele identificatie (ID) met het geslacht, de bemonsteringslocatie, de meest waarschijnlijke populatie van oorsprong, de probabiliteit (p-waarde), de vermoedelijke afgelegde verbreidingafstand in km, en de richting van de verbreiding zijn weergegeven. Gedetecteerde dispersers met een p-waarde $\leq 0,01$ zijn in het vet weergegeven.

ID (Geslacht)	Plaats van staalname	Mogelijke oorsprong	P-waarde	Verbreidingafstand (km)	Richting
WEH07	WEH	ZWI	0,028	61	Kust → Kust
SGD05 (v)	SGD	SLD	0,033	8	Kust → Kust
TLM23 (v)	TLM	ZWI	0,006	142	Kust → Kempen
KAH14 (m)	KAH	ZWI	0,028	75	Kust → Kempen
WEH05 (v)	WEH	BAL	0,029	188	Kempen → Kust
NIR12 (m)	NIR	TLM	0,000	26	Kempen → Kempen
KDM27 (v)	KDM	TLM	0,002	13	Kempen → Kempen
BBH07 (m)	BBH	KLB	0,005	32	Kempen → Kempen
SCB28 (v)	SCB	HHH	0,006	36	Kempen → Kempen



Figuur 41 Visualisatie van de allelische rijkdom (A_r) per populatie. De kleureng gradiënt geeft aan voor welke populaties de laagste A_r werd geschat (rood) en voor welke populaties de hoogste A_r werd geschat (groen).



Figuur 42 Visualisatie van populaties waarvoor bewijs van inteelt gevonden is met het R pakket DiveRisty, aangeduid in het rood. Populaties waarvoor er geen bewijs van inteelt gevonden is, zijn weergegeven in het groen.

De geschatte effectieve populatiegrootte (N_e) varieerde tussen 20 en 54 individuen. We vonden de laagste waarde voor de kustpopulatie Zwin (ZWI) en de hoogste waarde voor de Kempische populatie Zwarte Beek Noord (ZBN). Voor de stalen van 2001 (bemonsterde locaties MEH en TEB) ligt de schatting van N_e binnen dezelfde grootteorde als deze voor de locaties bemonsterd in 2020. Resultaten van het programma Colony2 worden weer gegeven in Tabel 6 en Figuur 43. De resultaten van het programma NeEstimator v2.0 worden weergegeven in Bijlage 8.2.7.

Tabel 6 Schatting van de effectieve populatiegrootte (N_e) via de toewijzingstest op basis van verwantschap in het programma Colony2. We geven de waarden van het *random mating* model (RM) en het *non-random mating* model (N-RM) weer met hun 95% betrouwbaarheidsinterval (95% C.I.) met een onder- (O) en bovenlimiet (B). Gemiddeld N zijn het gemiddeld aantal gegenotypeerde individuen per populatie.

Regio	Locatie	Gemiddeld N	Ne (RM)	95% CI		Ne (N-RM)	95% C.I.	
				O	B		O	B
Kust	SGD	28,44	34	21	60	26	15	47
	SLD	29,00	32	19	59	17	10	36
	TYZ	29,44	26	15	46	18	10	38
	WEH	29,33	44	26	85	29	17	58
	ZWI	29,33	20	11	39	14	7	31
Kempen	BAL	28,11	30	18	57	17	9	35
	BBH	26,00	33	19	60	23	13	43
	HAG	26,89	35	21	63	23	13	44
	KAH	27,11	32	19	57	20	11	42
	KDM	25,33	37	22	66	25	15	48
	KLB	21,78	36	20	72	23	12	47
	MEH	18,78	33	18	66	20	10	44
	HHH	27,44	36	22	64	31	18	56
	MZP	28,56	21	12	40	16	9	34
	NIR	24,44	25	14	46	16	9	35
	SCB	27,89	25	14	46	23	13	44
	TLM	27,22	32	18	58	20	11	41
	TEW	22,78	30	17	57	20	10	42
	TEB	19,89	32	18	64	23	12	46
	WEV	28,89	35	21	66	25	14	46
	ZBN	26,33	54	31	107	44	24	85
	ZBZ	23,89	39	23	84	35	19	69
	MEH 2001	23,44	28	16	57	19	10	40
	TEB 2001	16,89	31	16	69	29	15	61



Figuur 43 Visualisatie van de geschatte effectieve populatiegrootte (N_e) berekend met Colony2 per populatie met het random-mating model. De kleurengradiënt geeft aan voor welke populaties de laagste N_e werd geschat (rood - oranje) en voor welke populaties de hoogste N_e werd geschat (geel - groen).

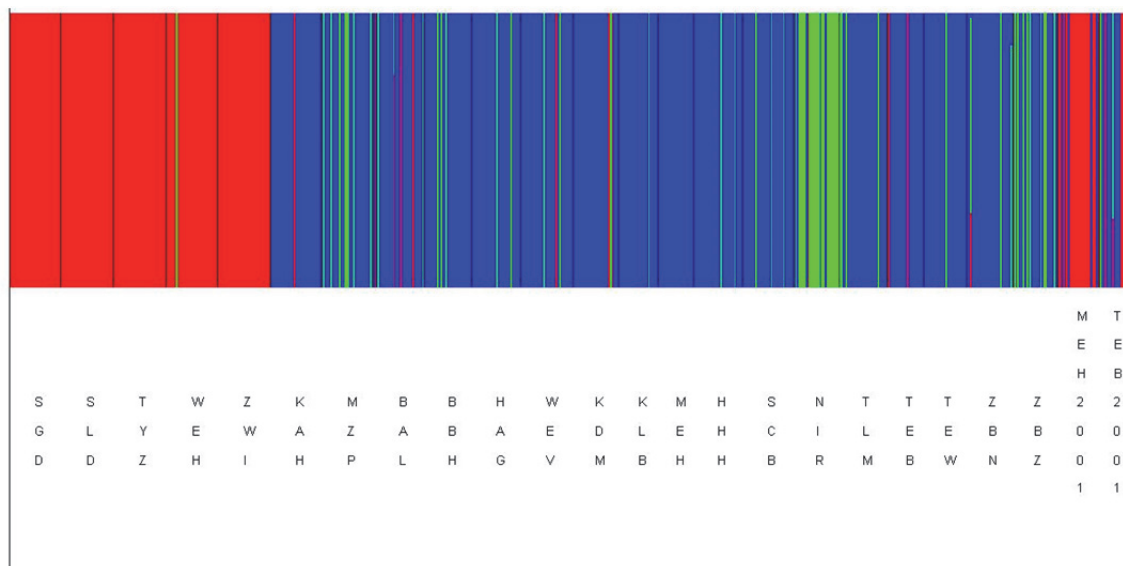
Slechts drie kustpopulaties (SLD, TYZ en ZWI) toonden zwak bewijs voor een genetische bottleneck of een recente inkrimping van de populatie (onder IAM model p -waarde $< 0,05$; ZWI onder TPM model p -waarde $< 0,05$) (Bijlage 8.2.8).

We vonden een significante positieve correlatie tussen N_e en de oppervlakte van een locatie ($r = 0,64$; $p = 0,002$). Verder detecteerden we ook een positieve trend tussen Ar en de oppervlakte van een locatie ($r = 0,40$; $p = 0,068$) en een negatieve trend tussen Ar en de afstand tot de dichtstbijzijnde populatie ($r = -0,40$; $p = 0,068$). Beide correlaties waren bijna significant (voor beiden $p = 0,068$). De andere geteste correlaties waren niet significant.

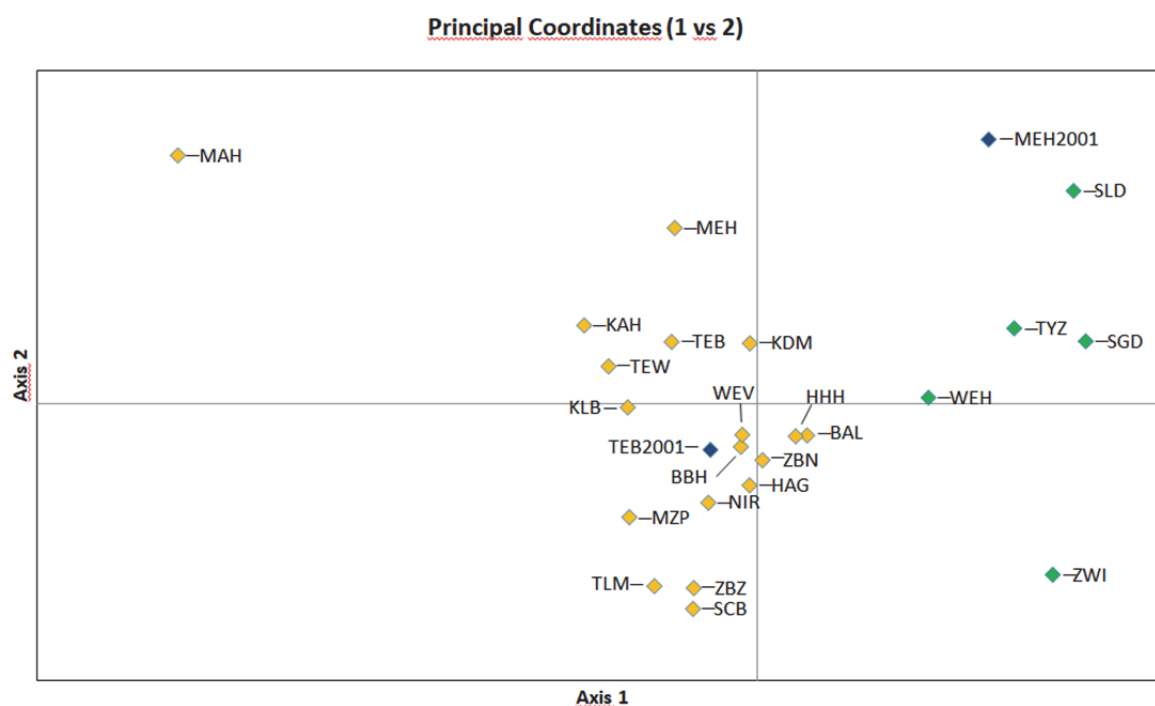
3.3 GENETISCHE STRUCTUUR

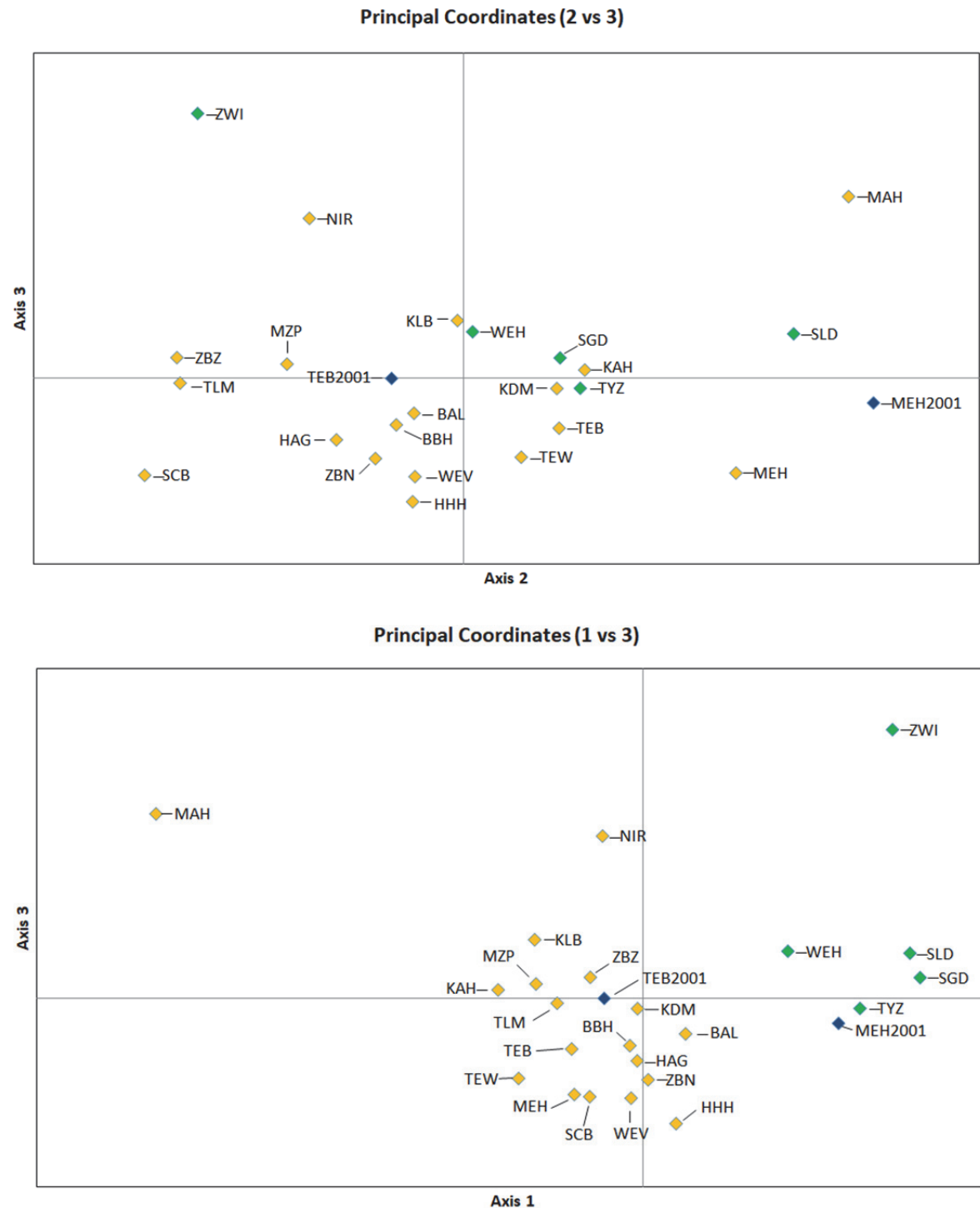
De globale genetische differentiatie tussen populaties was laag (globale $G'_{ST} = 0,059$ (95% C.I.: 0,046–0,073) en $D_{EST} = 0,014$ (95% C.I.: 0,009–0,020)). Op regionaal vlak was de genetische differentiatie zelfs lager tussen de Kempische populaties (regionale $G'_{ST} = 0,039$ (95% C.I.: 0,025–0,054) en $D_{EST} = 0,007$ (95% C.I.: 0,002–0,013)) en lichtjes hoger tussen de kustpopulaties (regionale $G'_{ST} = 0,060$ (95% C.I.: 0,032–0,090) en $D_{EST} = 0,017$ (95% C.I.: 0,008–0,029)). Zowel de globale als de regionale genetische differentiatie waren significant (G'_{ST} : $p < 0,001$, globale D_{EST} : $p < 0,001$, regionale D_{EST} : $p < 0,05$). De G'_{ST} -waarden berekend tussen populatie-paren varieerden tussen -0,012 en 0,160. Regionaal varieerden de G'_{ST} -waarden in de Kempische regio tussen -0,012 en 0,114 en in de kustregio tussen 0,000 en 0,128. We vonden een significante genetische differentiatie ($p \leq 0,05$) tussen 97 van de 276 populatie-paren (Bijlage 8.2.9).

IBD-analyses toonden aan dat de genetische variabiliteit enkel globaal gestructureerd was, aangeduid door een significante lineaire relatie ($p = 0,00021$; $R^2 = 0,28$). Binnen de Kempische regio vonden we geen significante *Isolation-by-distance* ($p = 0,185$; $R^2 = 0,027$). De IBD-analyse van de kustregio was bijna significant ($p = 0,087$, $R^2 = 0,55$) en vertoonde een positieve trend. Dit betekent dat er zwak bewijs is voor *Isolation-by-distance* in deze regio (grafieken in Bijlage 8.2.10). De AMOVA toonde aan dat de genetische variatie binnen de populaties het hoogste was (95%), en slechts voor 3% en 2% verklaard werd door respectievelijk de regio en populatie (Bijlage 8.2.11).



Figuur 44 De geschatte populatiestructuur voor heivlinder bepaald door het spatiaal model in het programma BAPS, K=3. Elke fijne kolom stelt een individu voor. De kleur van de kolom duidt aan tot welke cluster het individu (gedeeltelijk) is toegewezen.





Figuur 45 Biplots van de Principale Componenten Analyses. De eerste drie assen vertegenwoordigen respectievelijk 43,70%, 17,07% en 12,05% van de totale genetische variatie binnen de data. De clustering volgens de eerste as versus de tweede as (boven), de tweede as versus de derde as (midden), en de eerste as versus de derde as (onder) zijn weergegeven. De kustpopulaties staan in het groen, de Kempische populaties in het geel en de historische populaties in het blauw. Om de populatie van de Maatheide (MAH) te kunnen plaatsen, werd deze populatie uitzonderlijk weergegeven in deze analyse. MAH bevatte echter slechts twee individuen en de resultaten moeten dus in een brede zin geïnterpreteerd worden.

LOKALE FUNCTIONELE HABITATKWALITEIT

De heivlinder is een mobiele soort die gebruik maakt van het hele gebied waarin de soort voorkomt. Hierdoor is het opmaken van habitatkwaliteitsfiches (Bijlage 8.3) op een kleine schaal (20m, zie Segers et al. 2014) weinig informatief. Om een beeld te krijgen van de (potentiële) geschiktheid van een gebied werd daarom informatie verzameld op gebiedsniveau. Habitatfiches zijn nuttig bij de opmaak en update van beheerplannen en kunnen hierbij een hulpmiddel vormen voor beheerders.

De resultaten van de fiches worden gezien de hoeveelheid niet elk als aparte bijlage opgenomen in deze studie. De fiches worden rechtstreeks ter beschikking gesteld aan de beheerders en/of eigenaars van de betreffende gebieden in functie van een kwaliteitsverhoging van het habitat indien nodig. Zodoende wordt extra kennis aangeleverd en kan beheer en inrichting op maat van de heivlinder en het gebied afgestemd worden.

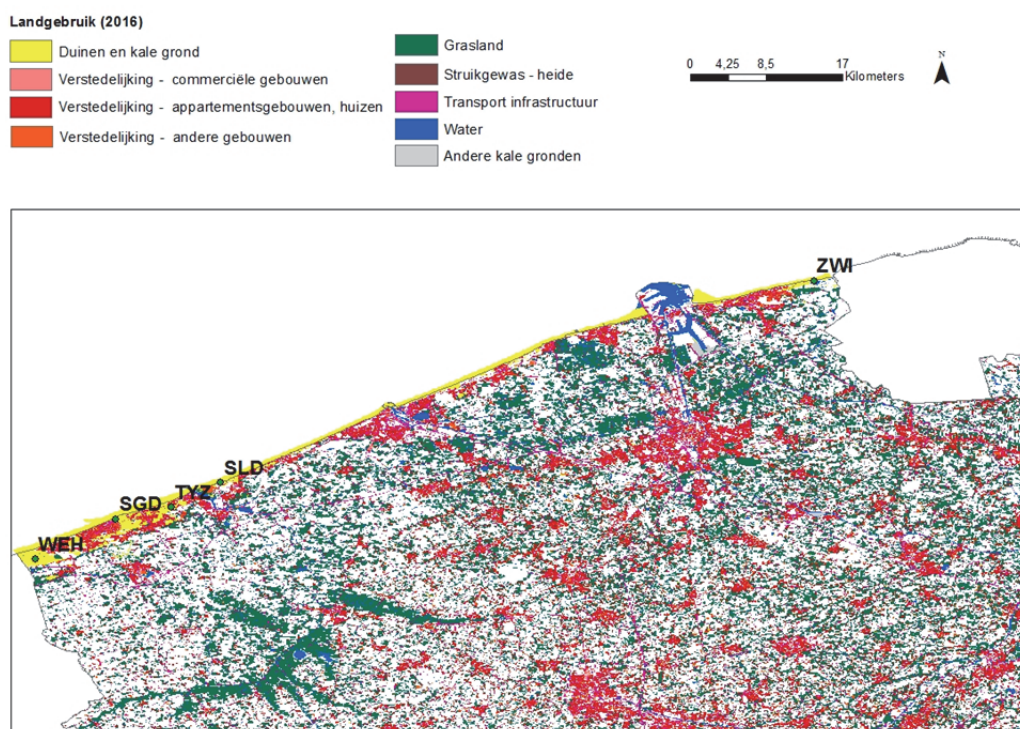
4.1 VERBREIDING TUSSEN POPULATIES

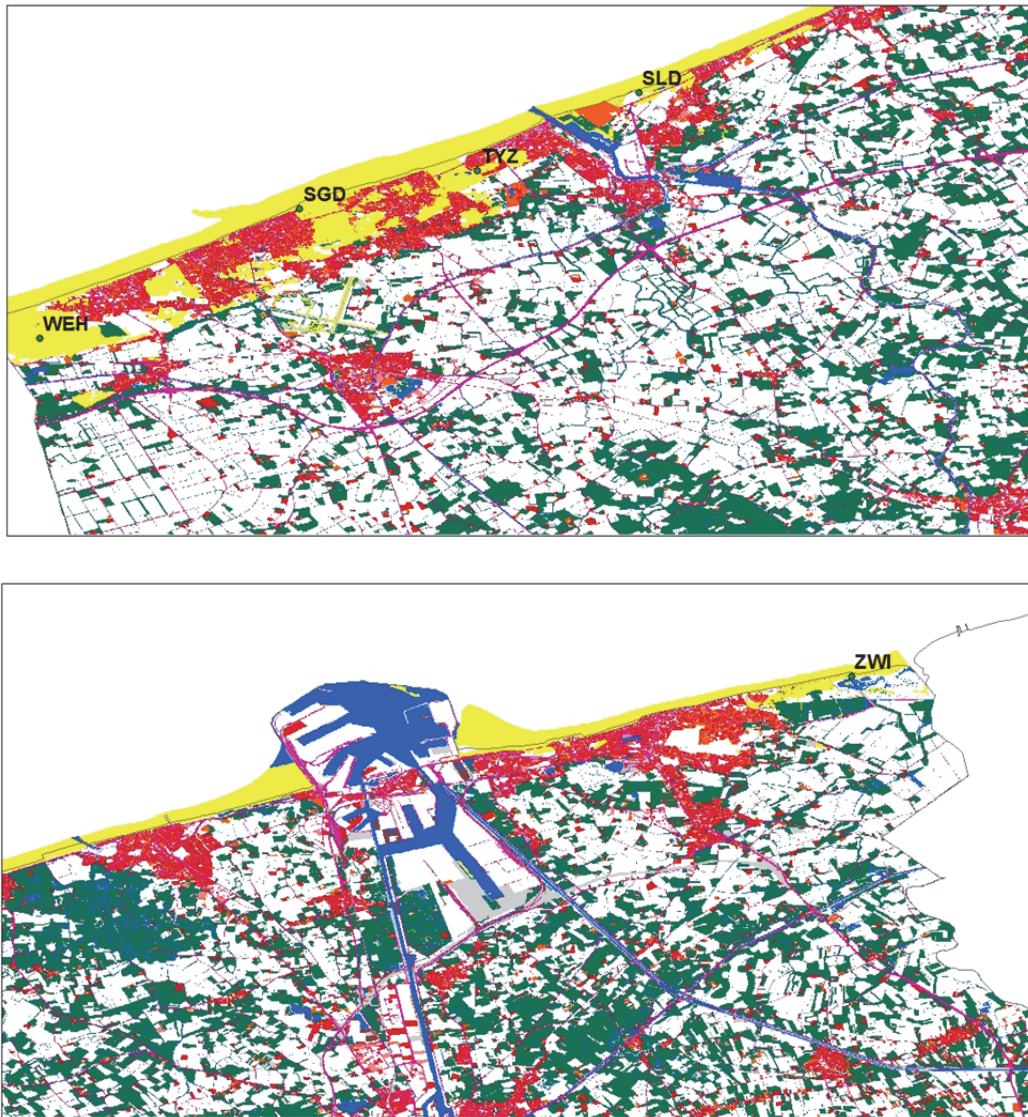
Andere studies vonden gelijkaardige verschillen tussen verbreidingsafstanden die geschat werden door observatiemethoden, zoals in merk-hervangst studies, en afstanden die geschat werden via genetische merker studies (e.g. Harper et al. 2003). Voor het sedentaire gentiaanblauwtje (*Maculinea alcon*) vond Vanden Broeck et al. (2017) een verbreidingsafstand van 2,9 km tussen habitatfragmenten. In dezelfde regio werd er echter in eerdere merk-hervangst studies over het gentiaanblauwtje een maximum verbreidingafstand van 0,5 km geobserveerd. De maximum afstand die dusver voor spontane kolonisatie werd geobserveerd was 1,7 km (Maes et al. 2004). Om een totaalbeeld te krijgen van het verbreidinggedrag van een soort, moeten zowel directe methodes (merk-hervangst) als indirecte methodes (genetische analyses) gebruikt worden.

Hoewel we aantonen dat de heivlinder onverwacht lange afstanden kan afleggen, werden er weinig verbreidingsondernemingen over een lange afstand waargenomen (1,2%). Deze lage geobserveerde frequentie kan, tenminste gedeeltelijk, verklaard worden door de lage genetische differentiatie tussen populaties. Een lage genetische differentiatie limiteert de statistische power van de toewijzingstest om verbreidingsondernemingen te detecteren (Paetkau et al. 2004). Mogelijk zijn niet alle populaties bemonsterd (nabije populaties in buurlanden (Figuur 40) en recent gekoloniseerde populaties binnen een regio). Migranten kunnen dus ook uit andere populaties afkomstig zijn. Daarom testten we voor de waarschijnlijkheid dat een heivlinder-individue in een andere populatie geboren werd dan waar het gevangen werd (Paetkau et al. 2004). Dit resulteert ook in een verlaagde statistische power om migranten te detecteren in vergelijking met een dataset waarbij alle potentiële

hebben dus potentieel om de recente uitwisseling van genen in te schatten, wat het doel van deze studie was.

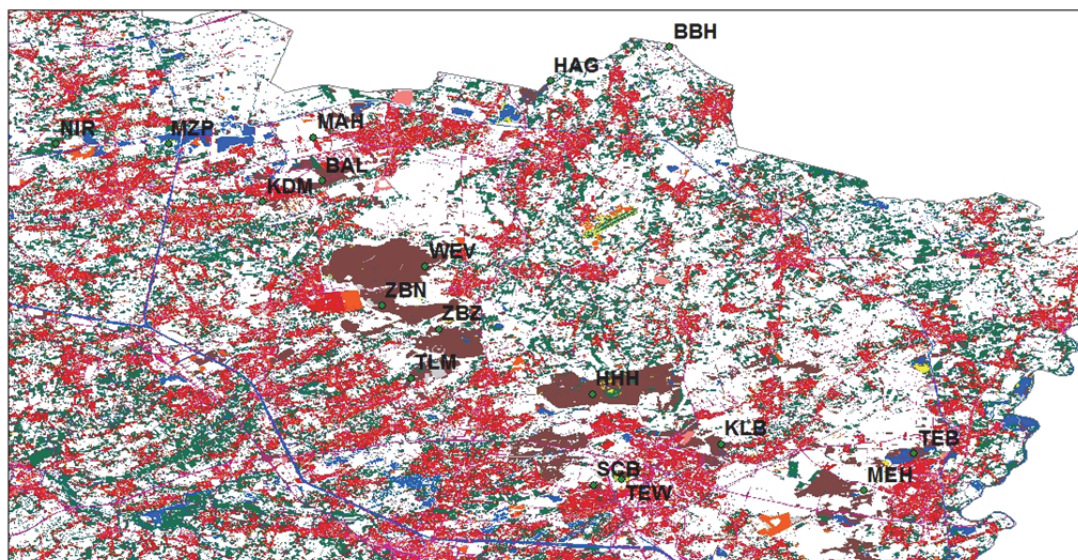
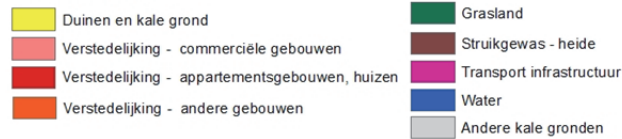
In contrast met de kustregio, zijn de heivlinderpopulaties in de Kempen voornamelijk omringd door een matrix van bos, heide en weiden (Figuur 47). Voor vlinders die in een open habitat leven (e.g. heide en graslanden) worden bossen vaak als een verbreidingsbarrière beschouwd. Een studie door Nowicki et al. (2014) toonde echter aan dat bossen de verbreiding tussen vlinderpopulaties niet altijd tegenhouden. Bovendien behoren bossen tot een deel van de habitat van de heivlinder in het zuiderse en oosterse deel van de verspreiding van de soort (Maes et al. 2013). De Kempische populaties zouden dus door een gunstigere matrix omringd zijn dan de kustpopulaties. We kunnen echter enkel speculeren over de mogelijke barrières in de twee regio's. Een studie met genetische landschapsanalyses, die spatiale structuren in rekening brengt, zouden meer robuust bewijs kunnen leveren over de potentiële barrières van de heivlinder in Vlaanderen.





Figuur 46 Gedetailleerde kaarten van het landgebruik in de kustregio van België. De kaarten werden met het programma ArcGIS [GIS software] gemaakt. Version 10.8. Redlands, CA: Environmental Systems Research Institute, Inc. 2010.(www.esri.com). Bron data landgebruik: Vlaamse Overheid – Departement Omgeving – Afdeling Vlaams Planbureau voor Omgeving. Landgebruik-Vlaanderen-2016 [GIS data]. Brussels, Belgium: Vlaamse Overheid. 2020. <https://metadata.vlaanderen.be/srv/api/records/78e82101-8fbc-4a75-b649-b208df2b77be> (bezoekt: 30 maart 2021).

Landgebruik (2016)



Figuur 47 Gedetailleerde kaarten van het landgebruik in de Kempische regio in België. De kaarten werden met het programma ArcGIS [GIS software] gemaakt. Version 10.8. Redlands. CA: Environmental Systems Research Institute. Inc. 2010.(www.esri.com). Bron data landgebruik: Vlaamse Overheid – Departement Omgeving – Afdeling Vlaams Planbureau voor Omgeving. Landgebruik-Vlaanderen-2016 [GIS data]. Brussels. Belgium: Vlaamse Overheid. 2020. <https://metadata.vlaanderen.be/srv/api/records/78e82101-8fbc-4a75-b649-b208df2b77be> (bezoekt: 30 maart 2021).

EFFECTEN VAN VERSNIPPERING OP DE GENETISCHE DIVERSITEIT

We vonden bewijs voor inteelt in meerdere populaties en lage schattingen voor de effectieve populatiegroottes (variërend van 20 tot 54 individuen). Habitatverlies en -versnippering zorgen voor een grotere afstand tussen lokale populaties en tussen lokale populaties en habitatgebieden waar de soort niet aanwezig is. Habitatversnippering kan verbreiding dus verhinderen of volledig tegen houden, en met andere woorden ook de uitwisseling van genen tussen populaties (Hanski 1999). Samen met het effect van genetisch drift, kan dit een negatieve impact hebben op de populaties door een afname in genetische diversiteit. Dit wordt gereflecteerd in lage effectieve populatiegroottes. Lage effectieve populatiegroottes en volledige isolatie van populaties kunnen uiteindelijk resulteren in inteelt en een verhoogd risico op lokaal uitsterven (Frankham et al. 2010). Inteelt zorgt er namelijk voor dat de levels van homozygositeit stijgen. Hierdoor hebben schadelijke recessieve allelen meer kans om tot expressie te komen. Dit kan uiteindelijk resulteren in een inteeltdepressie en een verlaagde fitness van de populatie (Drees et al. 2009; Frankham et al. 2010; Zilko et al. 2020).

Deze negatieve gevolgen op populatieniveau kunnen ook implicaties hebben voor de metapopulatie-dynamieken (Nieminen et al. 2001). Een metapopulatie is een groep van gedeeltelijk geïsoleerde populaties van dezelfde soort (deelpopulaties) die onderhevig zijn aan lokale extincties en kolonisaties (Frankham et al. 2010). Wanneer er een aantal deelpopulaties wegvallen gaat ook het aantal mogelijke migranten dalen. Een stijging in extincties, veroorzaakt door inteelt, zorgt dus voor een lagere kans dat vrije habitatplekken gekoloniseerd kunnen worden (Nieminen et al. 2001). Vooral kleine metapopulaties kunnen lijden onder een verhoogd risico op lokaal uitsterven veroorzaakt door inteelteffecten (Nieminen et al. 2001; Nonaka et al. 2019).

Om de effecten van habitatversnippering op de genetische diversiteit van de Vlaamse heivlinders verder te bestuderen, voegden we historische stalen toe aan de studie. Deze stalen werden twee decennia geleden (2001) in twee Kempische populaties (MEH en TEB) verzameld. We vergeleken de genetische diversiteit van deze stalen met de recente stalen van de corresponderende locaties (verzameld in 2020). Voor beide locaties was de genetische diversiteit, op vlak van de effectieve populatiegroottes en de allelische rijkdom, gelijkaardig tussen de recente en historische stalen. Voor de historische populatie van MEH vonden we geen bewijs voor inteelt, terwijl er wel zwak bewijs voor inteelt gevonden werd voor de huidige populatie. Dit betekent mogelijk dat de levels van de genetische diversiteit gedurende de laatste twee decennia niet veranderden, maar dat een consistent lage gemiddelde populatiegrootte na verloop van tijd voor hogere graad van inteelt zorgde. De effectieve populatiegroottes worden namelijk laag ingeschat en de census populatiegroottes dalen al sinds enkele decennia (Maes et al. 2021). Bovendien is het noemenswaardig dat de historische stalen van MEH in dezelfde cluster worden ingedeeld als deze van de kustpopulaties. Dit kan er op wijzen dat de twee regio's in het verleden genetisch gelijkaardiger waren door een hogere graad van connectiviteit tussen de regio's.

Eerder werden er in de Kempen al genetische populatiestudies uitgevoerd op het gentiaanblauwtje (Vanden Broeck et al. 2017) en het heideblauwtje (ongepubliceerde data). Het gentiaanblauwtje staat op de Rode Lijst van de dagvlinders in Vlaanderen als ‘Ernstig bedreigd’, het heideblauwtje als ‘Bedreigd’ (Maes et al. 2021). De resultaten van deze studies en onze studie op de heivlinder werden met dezelfde methodes verkregen. Op vlak van effectieve populatiegroottes en genetische diversiteit vonden we gelijkaardige resultaten. De

inteeftcoëfficiënten van de heivlinderpopulaties waren gelijkaardig aan deze van de populaties van het heideblauwtje. Ook in de studie op het heideblauwtje werd maar een laag aantal dispersers en geen bewijs voor IBD waargenomen tussen populaties in de Kempen.

De waarden van onze inteeftcoëfficiënten moeten echter met voorzichtigheid worden geïnterpreteerd. Hoewel we rekening hielden met nul-allelen bij het selecteren van de microsatelliet loci, is er nog bewijs voor nul-allelen bij een klein aantal loci-populatie combinaties. De aanwezigheid van nul-allelen zorgt ervoor dat de homozygositeit hoger wordt ingeschat. Dit betekent dat de inteeftcoëfficiënten overschat kunnen zijn (e.g. Chybicki & Burczyk 2009). Bovendien kan een substructurering binnen populaties er ook voor zorgen dat de geobserveerde heterozygositeit onderschat wordt (het Wahlund effect - Wahlund 1928), en de inteeftcoëfficiënten overschat (Waples 2015; Zilko et al. 2020). Dit is echter onwaarschijnlijk in onze studie. De individuen werden op redelijk kleine bemonsteringsoppervlakten gevangen en op korte afstanden van elkaar binnen een locatie (Tabel 3). De heivlinder is ook een mobiele soort die gemakkelijk afstanden van 100 m en meer over een paar dagen aflegt (Maes et al. 2006).

4.3 IMPLICATIES VOOR NATUURBEHOUD

Deze studie ondersteunt de resultaten van eerdere demografische studies. Deze studies stellen dat de heivlinder gekarakteriseerd wordt door een sterke afname en sterk beïnvloed wordt door habitatverlies en -versnippering, vooral in Noordwest-Europa (e.g. Bos et al. 2006; Fox et al. 2011; Maes et al. 2021; Maes et al. 2012; van Strien et al. 2011). Klimaatverandering kan ook een negatieve impact hebben op de reproductie van de soort (Salgado et al. 2020). De laatste jaren kende België extreme droogte (e.g. in 2018 en 2019). Gerichte actieplannen zijn daarom nodig om de verdere afname van de heivlinder in Vlaanderen tegen te gaan en regionaal uitsterven te vermijden.

De resultaten van deze studie tonen sterke metapopulatie-dynamieken aan voor de heivlinder in Vlaanderen. We kunnen de heivlinderpopulaties van Vlaanderen indelen in twee verschillende metapopulaties, die elk een *Functional Conservation Unit* (FCU) vormen (cf. Maes et al. 2004): de kustduinen en de Kempen. Hoewel er tussen de FCU's uitwisseling is van genen en ze dus niet compleet geïsoleerd zijn van elkaar, beschouwen we ze als verschillende spatiale eenheden. Voor elke eenheid worden specifieke beheer- en herstelmaatregelen aanbevolen. Op locaties met een grote oppervlakte werden de effectieve populatiegroottes groter ingeschat. Bovendien leek de allelische rijkdom van de populaties hoger in grotere gebieden en in populaties die dichtbij een andere populatie gelegen zijn. Het is aanbevolen om de beheermaatregelen binnen elke FCU dus vooral te richten op het verbeteren en vergroten van bestaand habitat en het herstellen van alle potentiële habitats.

In FCU van de kust is de huidige graad van connectiviteit tussen populaties extreem laag. Het ontwikkelen van nieuwe habitat als stapstenen tussen bestaande populaties verdient daarom prioriteit. De translocatie van individuen is te overwegen om de kans op een verminderde vitaliteit als gevolg van inteeft te verkleinen. Spontane (her)kolonisatie van geschikte habitat en de uitwisseling van genen worden waarschijnlijk gehinderd door antropogene barrières langs de Belgische kust, voornamelijk bebouwing. Ook voor de FCU van de Kempen is er een lage kans dat hersteld en/of nieuw heidegebied spontaan op korte termijn zal ge(her)koloniseerd worden. De voorbije jaren kende de heivlinder een sterke achteruitgang in Vlaanderen (Maes et al. 2021). Dit is het meest merkbaar in de centrale en westelijke Kempen. Het zou een te hoog risico zijn om op spontane kolonisatie en verspreiding van genen te vertrouwen voor het herstel van de populaties. Hierdoor zijn ook hier translocaties te

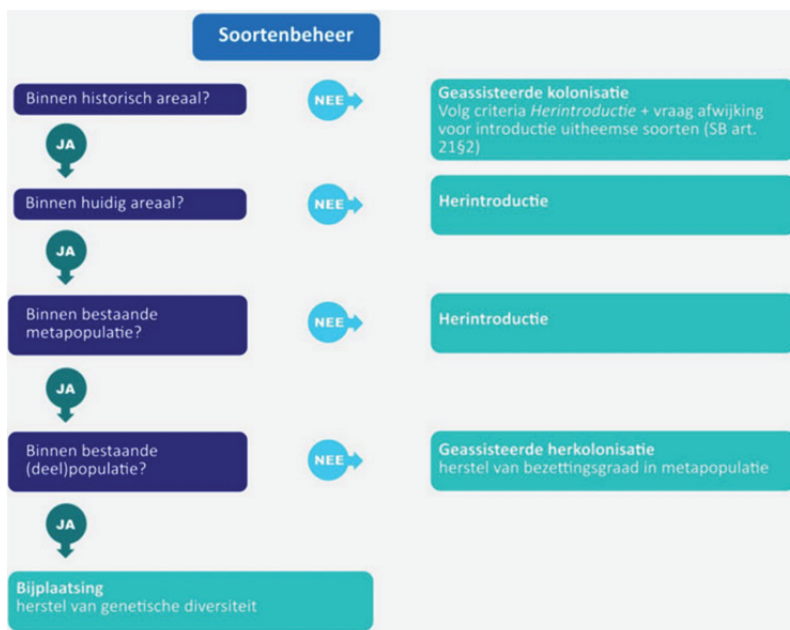
overwegen om de connectiviteit tussen populaties in het westelijke en oostelijke deel van de Kempen te verbeteren.

5 TRANSLOCATIEPLAN VOOR HEIVLINDER IN VLAANDEREN

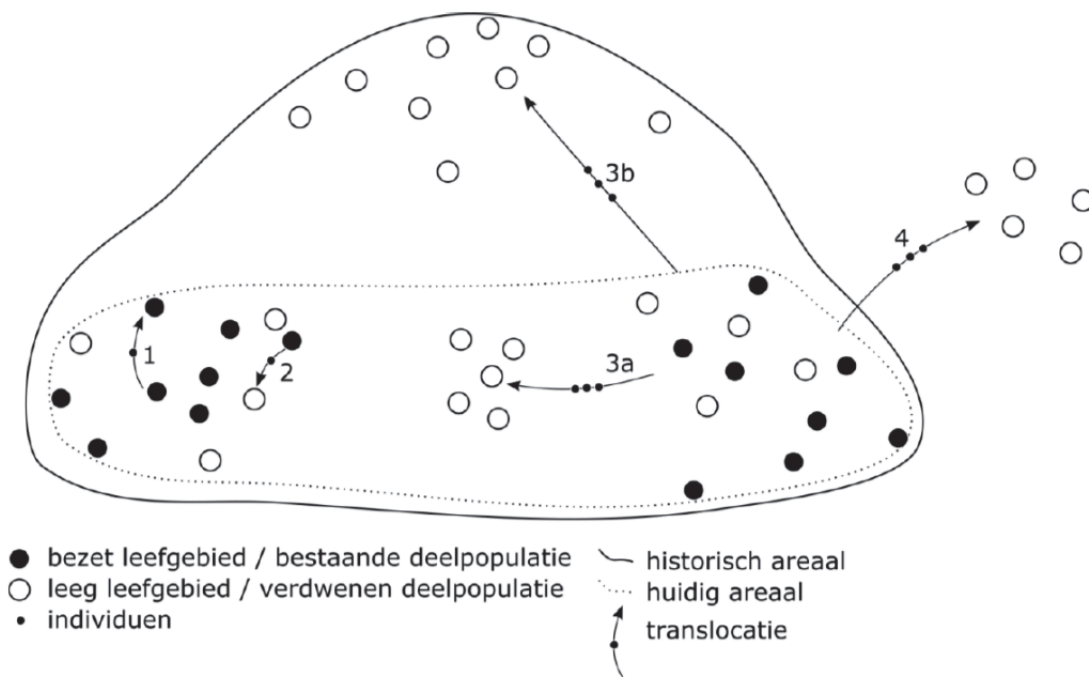
5.1 TYPE TRANSLOCATIES

Dit translocatieplan voor de heivlinder is opgesteld op basis van de resultaten van het genetisch onderzoek en volgens de richtlijnen en methodiek beschreven in Mergeay & Verbist (2021). We beschrijven potentiële locaties voor geassisteerde herkolonisatie en/of bijplaatsing. Dit doen we voor de kustregio en voor de Kempen.

Een overzicht van de types translocaties is weergegeven in Figuur 48 en Figuur 49. Een **herintroductie** is het verplaatsen van een individu naar een plek binnen zijn oorspronkelijk inheems verspreidingsgebied waar het eerder verdwenen is (IUCN/SSC 2013). Het doel van een herintroductie is dus om het historisch verspreidingsgebied van een soort geheel of deels te herstellen, of om gaten in het huidige verspreidingsgebied te dichten (Mergeay & Verbist 2021). Bij een **geassisteerde herkolonisatie** voor metapopulatieherstel worden individuen van een bestaande deelpopulatie van een metapopulatie verplaatst naar een leeg leefgebied waar ooit een deelpopulatie van de metapopulatie verdween. Het doel van dit soort translocaties is om risico's op het uitsterven van een metapopulatie te verminderen. Een **bijplaatsing** is het verplaatsen van een individu of individuen naar een bestaande populatie van soortgenoten (IUCN/SSC 2013). Het doel van deze translocatie is om genetische uitwisseling tussen populaties te imiteren. Op die manier tracht men inteelt in deelpopulaties te verminderen en de overlevingskansen van een populatie te vergroten (Mergeay & Verbist 2021). Vanuit een genetisch perspectief heeft elk van deze translocaties hetzelfde algemene doel: het behouden of verhogen van de genetische variatie binnen een (meta)populatie en daarmee het verhogen van het evolutiepotentieel (Weeks et al. 2011).



Figuur 48 Overzicht van de types conservatietranslocaties voor soortbeheer (Bron: Mergeay & Verbist 2021)



Figuur 49 Schematisch overzicht van verschillende types van conservatietranslocaties voor soortenbeheer in relatie tot de ruimtelijke schaal waarop ze uitgevoerd worden. 1. Bijplaatsing; 2. Geassisteerde herkolonisatie bij metapopulatieherstel. 3. Herintroductie. 4. Geassisteerde kolonisatie. (Bron: Mergeay & Verbist 2021).

Een geassisteerde herkolonisatie of bijplaatsing is enkel zinvol wanneer er absolute zekerheid is over een **opvolgingsprogramma** (Mergeay & Verbist 2021) dat zowel de adulte vlinders monitort als de genetische monitoring omhelst en dat gedurende meerdere generaties na de translocatie. Een dergelijk opvolgingsproject wordt bij voorkeur gegund vóór de geassisteerde herkolonisatie of bijplaatsing plaatsvindt.

5.2 VERGUNNINGSPLICHT

De heivlinder staat op de meest recente Rode Lijst van de dagvlinders in de categorie Bedreigd (Maes et al. 2021). In het Soortenbesluit² valt de heivlinder in bijlage 1 onder categorie 1 (soorten waarop de basisbeschermingsbepalingen van het besluit van toepassing zijn). Van die beschermingsbepalingen kan worden afgeweken onder de voorwaarden van artikel 20 §1, §2 en §4. Bovendien gelden voor die soorten de aan planologische bestemming verbonden vrijstellingen, vermeld in artikel 11 en 15.

Uit bovenstaande kunnen we besluiten dat een translocatie van de heivlinder in Vlaanderen vergunningsplichtig is. De vergunning moet worden aangevraagd bij het Agentschap voor Natuur en Bos (ANB). Aangezien de bronpopulaties zich allemaal in Vlaanderen bevinden, dient er geen rekening gehouden te worden met het Nagoya-protocol.

² Besluit van de Vlaamse Regering met betrekking tot soortenbescherming en soortenbeheer (citeeropschrift: "het Soortenbesluit") van 15/05/2009.

De wetgeving inzake dierenwelzijn heeft enkel betrekking op gewervelde dieren en vermeldt niets over het welzijn van ongewervelden. Aangezien de heivlinder geen gevaar vormt voor de volksgezondheid en geen invasieve soort is, vormt dit geen probleem voor een translocatie. Zorg voor een diervriendelijk transport en bedenk dat bij transport van dieren en planten makkelijk ongewenste pathogenen en parasieten kunnen meereizen (Duploux et al. 2021). Door inbreng van adulten is de kans op geïnfecteerde nakomelingen gering. De inbreng van eventuele parasitoïden gebeurt vooral wanneer translocaties gebeuren met eitjes en/of rupsen.

5.3 ECOLOGISCHE VOORWAARDEN

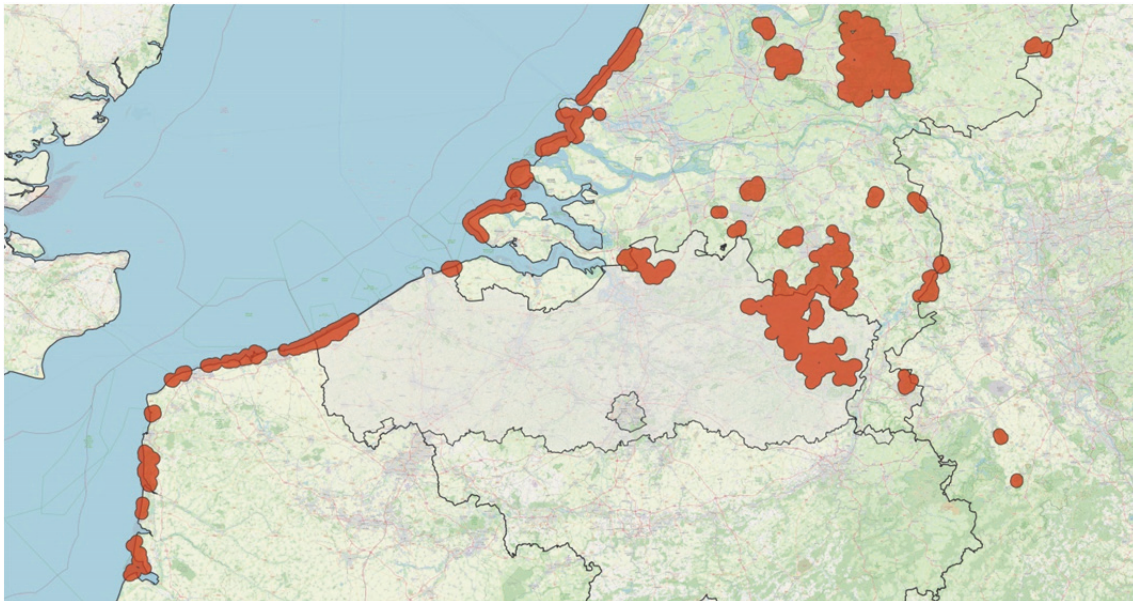
Om in aanmerking te komen voor een translocatie moet een gebied voldoen aan de **volgende criteria** (Van Den Berge 2004; Mergeay & De Meester 2010; Mergeay 2017; Vanreusel et al. 2017; Mergeay & Verbist 2021):

- Het gebied ligt te geïsoleerd voor een spontane (her)kolonisatie door heivlinder op relatief korte termijn: ondanks het feit dat de heivlinder grote afstanden kan afleggen, gebeurt dit onvoldoende frequent om ervan uit te gaan dat potentieel geschikte locaties op korte termijn spontaan ge(her)koloniseerd zullen worden en aanleiding zullen geven tot duurzame populaties;
- De oorzaak van het verdwijnen van heivlinder moet gekend en opgelost zijn;
- Er mogen geen bronpopulaties in gevaar worden gebracht;
- Het gebied moet beschikken over voldoende oppervlakte geschikte habitat;
- Het beheer van het gebied moet afgestemd zijn op de ecologische eisen van de heivlinder, beheerplannen van potentiële translocatiegebieden dienen dus gericht te zijn op de ecologische eisen van de heivlinder;
- Er wordt simultaan gewerkt aan verbindingen naar andere populaties;
- Er mag geen gevaar op uitteelt (*'outbreeding depression'*) zijn (Frankham et al. 2011; Weeks et al. 2011).

Voor een uitgebreide beschrijving van de ecologische eisen van heivlinder verwijzen we naar het **Wetenschappelijk basisrapport van het Soortbeschermingsprogramma Heivlinder** (Segers et al. 2014).

We benadrukken het **belang van habitattherstel en -uitbreiding**. Het vergroten van de geschikte habitat en het uitbreiden van geschikt leefgebied voor heivlinder zal de populatiegrootte doen toenemen. Een verhoogde densiteit van individuen zal de kans op migranten en dus de connectiviteit tussen deelpopulaties vergroten. Dit is de meest geschikte manier om de toestand van de populaties te verbeteren. Omdat de soort heel sterk achteruit gaat de laatste jaren en het herstel van habitat tijd vraagt, bevelen we ook **translocaties** aan.

We gebruiken de potentiële leefgebiedenbenadering beschreven in Maes et al. (2019c) voor het afbakenen van potentieel geschikte leefgebieden geschikt voor translocaties. De meest potentieel geschikte gebieden werden bezocht en gekarteerd op de aanwezigheid van waarden nectarplanten (voorbeeld van een habitatfiche in Bijlage 8.3). Verbreiding vanuit naburige populaties gelegen buiten Vlaanderen (Franse kust, Nederlandse kust, locaties in de Nederlandse provincies Noord-Brabant en Limburg, de Hoge Veluwe, enkele locaties in de Eifel in het westen van Duitsland) is waarschijnlijk, maar niet onderzocht (Figuur 50).



Figuur 50 Verspreiding van de heivlinder in Vlaanderen en de buurregio's (bron: [GBIF, observation.org](https://gbif.org/)).

5.4 MANIER VAN TRANSLOCEREN

De meeste translocaties van dagvlinders die in de literatuur beschreven zijn, vonden plaats met **volwassen vlinders** (Tabel 7). Bij meerdere translocaties van het tijmblauwtje in Engeland (1983, 1992) werden echter opgekweekte rupsen uitgezet in plaats van volwassen vlinders (Thomas et al. 2009).

Tabel 7 Enkele voorbeelden van translocaties bij dagvlinders met de locatie, het jaar van uitzetting, het aantal wijfjes en mannetjes dat uitgezet werd (#W, #M) en de referentie.

Soort	Locatie	Jaar	#W	#M	Referentie
ringoogparelmoervlinder	N-Frankrijk	1970	4	-	Nève et al. (1996); Barascud et al. (1999)
	C-Frankrijk	1973	14	-	Nève et al. (1996); Barascud et al. (1999)
koninginnenpage	UK	1975	124	64	Dempster & Hall (1980)
bosparelmoervlinder	UK	1983	23	22	Warren (1991)
	UK	1987	20	18	Warren (1991)
pimpernelblauwtje	Nederland	1990	53	33	Wynhoff (1998)
donker pimpernelblauwtje [†]	Nederland	1990	48	22	Wynhoff (1998)
gentiaanblauwtje	Vlaanderen	1998	4	-	Vanreusel et al. (2000)
zwarte apollovlinder	Finland	2000	20	-	Kuussaari et al. (2015)
bont dikkopje	UK	2018	32	10	Maes et al. (2019a)

[†]Na 2004 werd geen enkel individu meer waargenomen op de herintroductielocatie

Voor translocaties van heivlinder stellen we voor om volwassen vlinders te verplaatsen. Het is belangrijk om de wijfjes **zo vroeg mogelijk in de vliegperiode** te vangen aangezien ze meestal vrij snel na het uitsluipen uit de pop paren en dan nog het grootste aantal eitjes in zich dragen (maximale eiproductie (schatting): 230-280; Bink 1992).

Translocatie van heivlinders naar Vlaanderen vanuit Nederlandse en/of Franse (grensstreek)populaties is niet nodig of wenselijk aangezien er in Vlaanderen zelf voldoende grote bronpopulaties aanwezig zijn. De populaties net over de grens liggen in theorie voldoende dichtbij om op natuurlijke wijze genetisch materiaal uit te wisselen met de Vlaamse populaties (duinen in Noord-Frankrijk; de Kalmthoutse Heide sluit op het grenspark De Zoom en de populaties in de oostelijke Kempen sluiten aan bij die in Noord-Brabant in Nederland). Er kan uiteraard gekeken worden naar een nauwe samenwerking met aangrenzende Nederlandse gebieden waar de heivlinder momenteel nog aanwezig is of waar er potenties zijn voor een eventuele geassisteerde herkolonisatie (Noord-Brabant, Zeeland).

Translocatie van heivlinders buiten het historisch verspreidingsareaal in Vlaanderen (geassisteerde areaaluitbreiding) om proactief antwoord te bieden op eventuele effecten van klimaatverandering mogelijk zoals aanhoudende extreme droogteperiodes is niet meteen aan de orde. De binnenlandse populatie vormen een zuidgrens waar vermoedelijk populaties zullen verdwijnen, terwijl geassisteerde areaaluitbreiding vooral aan de noordgrens van het areaal van de heivlinder soelaas kan bieden.

In tal van recent herstelde heideterreinen zijn de benodigde ecologische hulpbronnen voor de heivlinder onvoldoende aanwezig. Hoewel typische soorten kunnen terugkeren uit de zaadbank blijkt dat voor een aantal belangrijke waardplanten (bv. fijn schapengras) niet het geval. Het gericht opbrengen van maaisel uit goed ontwikkelde gebieden (droog heischraal) op zones met een beperkte zaadbank kan een terrein sneller geschikt maken voor de soort.

5.5 TRANSLOCATIEPLAN KUST

5.5.1 Populatiestructuur en genetische diversiteit

Aan de kust zien we twee grote verspreidingsclusters (Figuur 50): de westkust, die aansluit op de Noord-Franse populaties (Haubreux et al. 2017) en het Zwin, dat door de Westerschelde gescheiden wordt van de Nederlandse kustpopulaties (Bos et al. 2006). Langs de kust lijkt de heivlinder voor te komen in de meest geschikte gebieden. De overige gebieden (voornamelijk middenkust: Middelkerke tot Blankenberge) zijn vrij klein en/of bevatten onvoldoende waard- en nectarplanten voor duurzame populaties van de heivlinder. In de duinengordel van Bredene en in de Fonteintjes (Blankenberge, Zeebrugge) worden af en toe lage aantallen van de heivlinder waargenomen. Dit wijst erop dat deze locaties vermoedelijk bereikbaar zijn vanuit andere populaties in de duinen. De habitatgeschiktheid is er echter laag voor de heivlinder. Een gericht beheer zou hier kunnen zorgen voor een groter aanbod aan waard- en nectarplanten waardoor hier op termijn grotere oppervlakten geschikt leefgebied kunnen ontstaan die spontaan door de heivlinder gekoloniseerd kunnen worden.

Ondanks het feit dat er aan de westkust verschillende vrij grote populaties zijn die op niet al te grote afstand van elkaar gelegen zijn, vonden we in deze genetische studie geen aanwijzingen voor recente verbreiding van individuen tussen de bemonsterde locaties. De meeste bemonsterde locaties aan de kust vertoonden tekenen van inteelt. De populatie in de Sint-

////////////////////////////////////



Figuur 51 Geschikte locaties voor de bijplaatsing (rode sterren) van individuen in de Sint-Laureinsduinen. Geel = Zeereepduin, Groen = zuur duingrasland, Oranje = duindoornstruweel (zie ook Bijlage 8.4 Figuur B19).

5.5.4 Bronpopulaties

Op basis van de genetische studie, worden **drie potentiële bronpopulaties** geselecteerd waaruit individuen gehaald zullen worden **voor de bijplaatsing**. Dit zijn allemaal locaties met een relatief hoge census populatiegrootte.

- **Westhoek (WEH)**
- **Schipgatduinen (SGD)**
- **Ter Yde – Zeebermduinen (TYZ)**

De populaties Westhoek (WEH) en Schipgatduinen (SGD) zijn relatief grote populaties met een relatief goede genetische diversiteit en zijn daarom geschikt als bronpopulatie. Ook de locatie Ter Yde – Zeebermduinen (TYZ) komt in aanmerking als bronpopulatie. De meeste genetische variatie is te vinden binnen populaties en niet tussen populaties, waardoor het vanuit dit oogpunt niet belangrijk is of er één of meerdere bronpopulaties worden aangesproken. Om bronpopulaties niet in gevaar te brengen, kan het echter wel een optie zijn om op meerdere locaties individuen weg te vangen. Het wegvangen van individuen uit bronpopulaties met indicaties voor inteelt, heeft geen verhoogd risico op inteelt tot gevolg in de populatie waar bijplaatsingen gebeuren. De aanwijzingen voor inteelt zijn aanwijzingen van verwantschap tussen individuen binnen een populatie. De inteeltcoëfficiënt in een populatie na een bijplaatsing is onafhankelijk van de inteeltcoëfficiënt van de bronpopulaties.

5.5.5 Opvolging

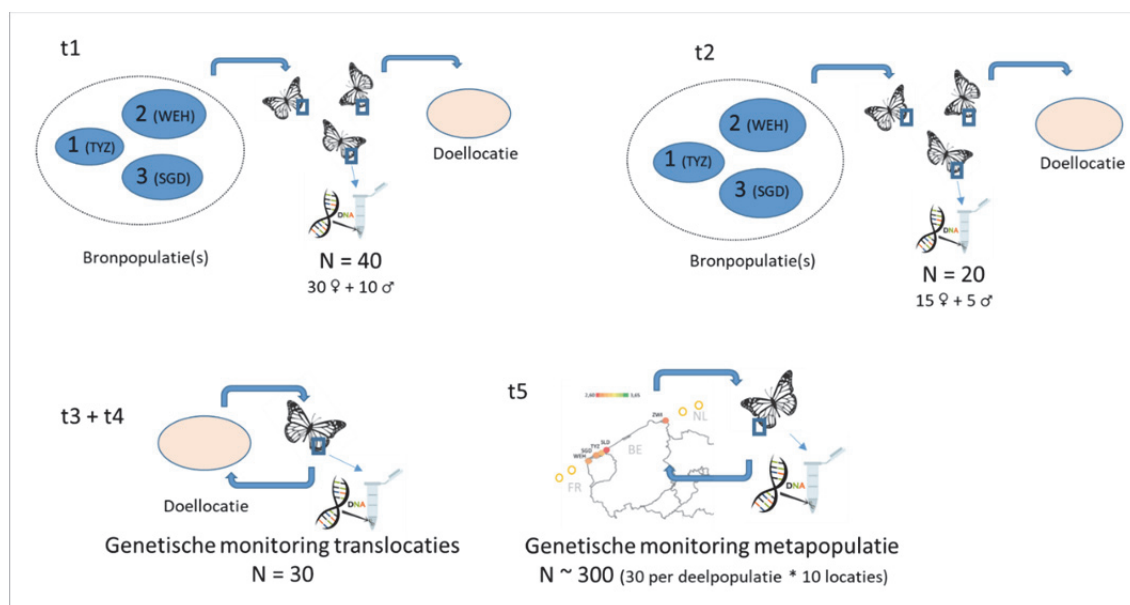
5.5.5.1 Census populatiegrootte en functioneel habitat

De toestand van de heivlinder in de kustregio wordt in vijf locaties (WEH, SGD, TYZ, SLD, ZWI) opgevolgd via Meetnetten.be (Maes et al. 2019b). Eenmaal translocaties uitgevoerd, kunnen nieuw gekoloniseerde gebieden worden opgenomen in dit meetnet.

Het succes van een translocatie hangt af van de aanwezigheid van geschikte habitat. Een functionele habitat voorziet in de aanwezigheid van geschikte waardplanten, nectarplanten en structuren in de vegetatie zoals open zandplekken en vegetatie voor beschutting (Segers et al. 2014). Naast het monitoren van de census populatiegrootte is het daarom aan te bevelen ook de evolutie van geschikte functionele habitat op de locaties waar translocaties plaatsvinden, in kaart te brengen.

5.5.5.2 Genetische monitoring

Voor de bijplaatsing in de Sint-Laureinsduinen (SLD), adviseren we om op beide doellocaties **40 volwassen vlinders** (30 wijfjes en 10 mannetjes) uit te zetten afkomstig uit de drie bronpopulaties (WEH, SGD, TYZ). Dit gebeurt **in het eerste jaar van de translocatie (t1)**. Na het vangen van de vlinders in de bronpopulaties worden best direct vleugelstukjes verzameld voor genetische opvolging. **Het jaar volgend op de translocatie (t2)**, adviseren we **de translocaties van opnieuw 20 individuen** (15 wijfjes en 5 mannetjes) op beide plekken. Ook in het tweede jaar t2 worden best direct vleugelstukjes verzameld na het vangen in de bronpopulaties en voor het uitzetten op de doellocaties. **In het derde (t3) en vierde (t4) jaar** bevelen we aan om de locaties waar bijplaatsingen werden uitgevoerd, **genetisch op te volgen** door jaarlijks 30 vlinders te bemonsteren voor genetische analyse. Om het effect van de translocaties op de metapopulatie op te volgen, is het aan te bevelen om **in het vijfde jaar de populatie genetische structuur van alle kustpopulaties**, inclusief naburige populaties gelegen in Nederland en Noord-Frankrijk opnieuw in kaart te brengen volgens de methode beschreven in deze studie (Figuur 52).



Figuur 52 Schematische voorstelling van de voorgestelde translocaties heivlinder en bijhorende genetische monitoring langs de kust.

5.6 TRANSLOCATIEPLAN KEMPEN

5.6.1 Populatiestructuur en genetische diversiteit

De bemonsterde locaties in de Kempen vormen **één genetische cluster**, met uitzondering van de locatie Niras. De locatie Niras vormt om een onduidelijke reden, een aparte genetische eenheid. In de Kempen werden 7 migranten gedetecteerd met een hoge waarschijnlijkheid tussen verschillende deelpopulaties binnen de bemonsterde regio. Hierbij werden **afstanden tussen 13 en 69 km** afgelegd, met een gemiddelde van 33 km. De deelpopulaties in de Kempen vormen samen **één grote metapopulatie** waarvan de deelpopulaties min of meer verbonden zijn met elkaar door verbreiding van individuen en genetische uitwisseling. De genetische variatie binnen de deelpopulaties was iets hoger dan de geobserveerde genetische variatie binnen de bemonsterde locaties aan de kust. De differentiatie tussen de deelpopulaties van de Kempen is kleiner dan de differentiatie tussen de bemonsterde kustpopulaties, wat ook een indicatie kan zijn van een iets hogere connectiviteit en/of een kleiner verlies aan genetische diversiteit door genetische drift. De hoogste waarden voor de effectieve populatiegrootte werden gevonden voor de deelpopulatie Zwarte Beek Noord ($N_e = 44$), gevolgd door de deelpopulatie van Zwarte beek Zuid ($N_e = 35$). Op locatie Molse Zandputten werd de laagste waarde voor effectieve populatiegrootte vastgesteld ($N_e = 21$).

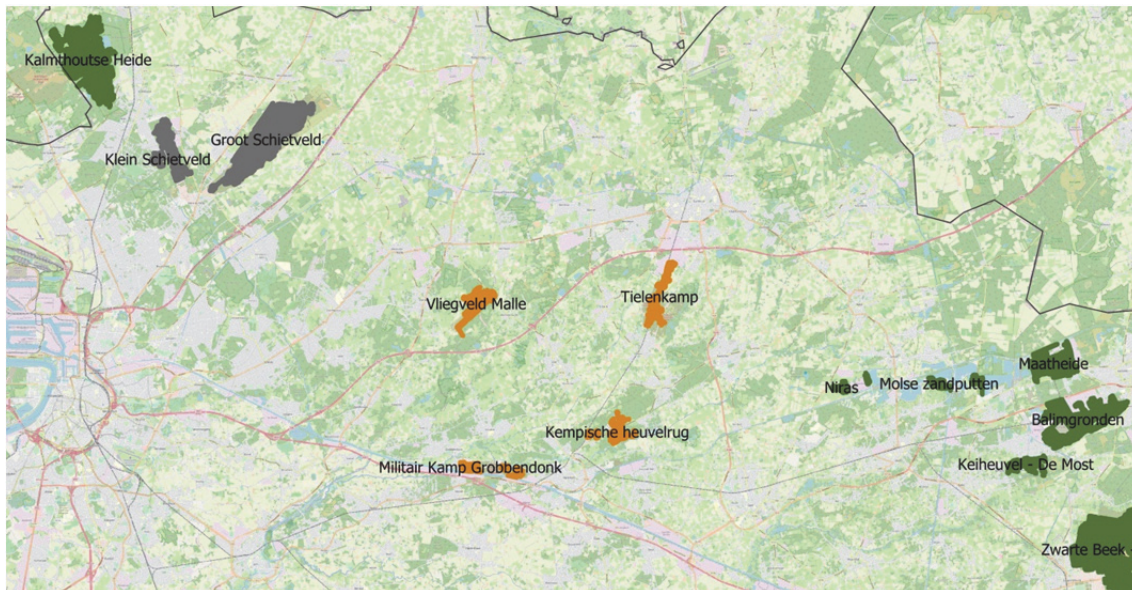
5.6.2 Geassisteerde herkolonisatie

5.6.2.1 Westelijke Kempen

Voor de westelijke Kempen worden geen translocaties aanbevolen. De drie aanwezige gebieden liggen voldoende dicht bij elkaar (max 7.5 km tussen Kalmthoutse Heide en Groot Schietveld met Klein Schietveld daartussen als mogelijke stapsteen of kolonisatiegebied). Deze afstand ligt binnen het verbreidingsbereik van de heivlinder (Figuur 50). Hier raden we dan ook geen geassisteerde herkolonisatie aan. Tijdens de bemonsteringsperiode van deze studie, werd heivlinder niet meer waargenomen in twee (Klein en Groot Schietveld) van de drie gebieden binnen deze cluster. De populatie in Kalmthout vormt één geheel met het natuurgebied De Zoom aan de Nederlandse kant. **Het Klein en Groot Schietveld** liggen voldoende dicht bij de grote populatie van de Kalmthoutse Heide om op relatief korte termijn spontaan gekoloniseerd te worden. In beide gebieden **raden we aan om vooral in te zetten op geschikt biotoopbeheer** voor de heivlinder. Zowel binnen het Klein als het Groot Schietveld is door het uitvoeren van gerichte inrichtingen nog heel wat bijkomend heivlinderhabitat te herstellen of te creëren. Hiervoor worden best sterk dichtgegroeide (reliëfrijke) stuifduinzones tot de minerale bodem geplagd. Veelal bevatten deze zones een voldoende robuuste zaadbank waarbij spontaan en geleidelijk stuifduinvegetaties tot ontwikkeling komen met o.a. de waardplanten van heivlinder (buntgras, fijn schapengras ...). Binnen de voor heivlinder geschikte zones worden best regelmatig nieuwe zones geplagd zodat steeds geschikte biotopen in verschillende successiestadia aanwezig zijn.

Buiten de stuifduinkernen kunnen bepaalde zones tevens geschikt gemaakt worden door het **gericht opbrengen van maaisel** met een grote abundantie aan waardplanten van de heivlinder (bv. langs droge, zandige brandwegen binnen maaizones met ijle, droge vegetaties ...). Het effect van de recente brand op het Groot Schietveld op potentieel geschikte vegetaties zal moeten onderzocht worden. Op het moment van de brand was de populatie heivlinder al verdwenen op de locatie Groot Schietveld dus een direct effect van de brand op sterfte was er

5.6.2.2 Centrale Kempen



Figuur 53 Locatie van de vier gebieden die in aanmerking komen voor een geassisteerde herkolonisatie. Groen = bestaande populaties, grijs = recent verdwenen populaties (met uitzondering van Malle), oranje = potentiële gebieden voor geassisteerde herkolonisatie (inclusief de recent verdwenen populatie te Malle).

De vier weerhouden gebieden voor geassisteerde herkolonisatie liggen momenteel minstens 11 kilometer verwijderd van een bestaande populatie (Tabel 8). De afstand tussen deze gebieden onderling bedraagt maximaal net iets meer dan 10 km (Tabel 8). De dichtstbijzijnde Nederlandse populaties (Regte Heide en omgeving) liggen op meer dan 20 km van deze gebieden. Deze afstanden zijn wel te overbruggen door heivlinders, maar de sterk dalende trend in waarnemingen hogerop beschreven, doet vermoeden dat de tijdsperiode waarbinnen een spontane herkolonisatie kan worden verwacht, groot is. De kans op een spontane kolonisatie daalt verder met een toename van ongunstige toestand van de omringende deelpopulaties. Sommige van deze omringende deelpopulaties zijn echter vaak te klein om veel migranten op te leveren. Om die reden bevelen we aan om over te gaan tot geassisteerde herkolonisatie in de centrale Kempen. Het is uiteraard eveneens belangrijk om de densiteit in de naburige populaties te vergroten door een aangepast lokaal natuurbeheer.

De idee achter het simultaan herkoloniseren van de heivlinder in vier geschikte gebieden is tweeledig:

- i) er wordt gestreefd naar het creëren van een lokale metapopulatie en
- ii) het risico op mislukken wordt gespreid over meerdere gebieden.

Tabel 8 Afstanden (in meters) tussen de potentiële translocatiegebieden in de centrale Kempen en de afstand (in km) tot de dichtstbijzijnde bestaande populatie (DBpop).

Gebied	DBpop	Kempense heuvelrug	Tielenkamp	Vliegveld Malle
Engels kamp Grobbendonk	Niras (19 km)	2.348	10.727	7.162
Kempense heuvelrug	Niras (12 km)	-	2.812	7.716
Tielenkamp	Niras (11 km)	-	-	8.549
Vliegveld Malle	Kalmthoutse Heide (22 km)	-	-	-

De meest geschikte locaties voor de uitzetting van de vlinders worden aangeduid op Figuur 54. Een grotere weergave van de gebieden is te vinden in Bijlage 8.4 (figuren B20 tot en met B23).

De **belangrijkste strategieën en acties** die nodig zijn **voor een succesvolle translocatie** (bv. acties in functie van ecologische hulpbronnen zoals een voldoende en gevarieerd aanbod aan nectar- en waardplanten) zijn uitgebreid beschreven in het SBP heivlinder (Segers et al. 2014). Indien aan de slag wordt gegaan met deze aanbevelingen zal dit de huidige populaties versterken en optimale kansen bieden voor succesvolle translocaties.

Naast het in stand houden en verhogen van de habitatkwaliteit van de actuele leefgebieden kan ingezet worden op **habitattherstel in de onmiddellijke omgeving**. Om tot echt duurzame populaties te komen, dient in de meeste gebieden eveneens volop ingezet te worden op het **herstel van de historische hydrologische en landschappelijke gradiënten**. De droge heidegebieden terug meer in verbinding brengen met voedselrijkere beekvalleien, kleinschalige extensieve landbouwgebieden, vernatuurlijken van de aanpalende bosgebieden, enz. is een traject dat opgestart en/of versneld uitgerold zou moeten worden. Op dit moment is een soort als heivlinder, naast tal van andere soorten, als het ware opgesloten in vaak te kleine, te homogene en veelal uitermate droge gebieden. Bij uitzonderlijke weerssituaties (bv hitte en droogte resulterend in nectartekort), die zich bovendien waarschijnlijk meer en meer gaan voordoen, kunnen soorten als heivlinder moeilijk op een vlotte manier schuiven doorheen het landschap op zoek naar hun ecologische hulpbronnen. Ook verspreid staande bomen en ijle bosranden zijn belangrijk als territoriumplaatsen en om te 'schuilen' bij extreme weersituaties.

- **Vliegveld van Malle (Malle)**

De heivlinder verdween recent (2018) in dit gebied. Dit gebied vormt ongetwijfeld het meest kansrijke terrein voor een geassisteerde herkolonisatie. In tegenstelling tot vele andere gebieden zijn binnen dit gebied, zelfs naar Vlaamse normen, vrij grote oppervlaktes aanwezig van goed ontwikkelde 'ha-graslanden' en 'korstmos-steppes' met een hoge abundantie aan waardplanten (buntgras, struisgrassen, schapengras,...). Hierdoor vormt het gebied een ideaal brongebied voor het 'oogsten' van waardplant-maaisel om gericht in te zetten in andere terreinen. Er zijn op het terrein tevens zones met open zand aanwezig en andere korte, snel opwarmende vegetaties. Ook de nectarabundantie en -variatie lijkt voldoende om goede kansen te bieden voor de opbouw van een populatie na een translocatie. Bijkomende nectarvoorziening is echter, zoals in praktisch alle heidegebieden, een extra aandachtspunt.

Het Vliegveld van Malle was voor de aanleg van het NAVO-vliegveld ongetwijfeld een bijzonder reliëfrijk gebied. Dit is nog duidelijk te zien in de zones die op rand van het vliegveld liggen of onderdeel vormen van de nabijgelegen privé-eigendommen. De zone van het vliegveld zelf is quasi volledig genivelleerd. Bij accidentele graafwerken (bv. werken van de Provinciale Intercommunale Drinkwatermaatschappij Provincie Antwerpen (PIDPA)) blijkt dat bij bodemverstoring interessante landduinvegetaties tot ontwikkeling komen. Het herprofileren van een aantal zones kan resulteren in zones met meer reliëf, wat typisch is voor de binnenlandse stuifduingebieden.

In Tielenkamp werden in de jaren 2000 enkele zwervers van heivlinder waargenomen. Qua habitatkwaliteit voor heivlinder volgt Tielenkamp op enige afstand na het Vliegveld van Malle. De oppervlakte 'ha-graslanden' en droge heideterreinen was rond de eeuwwissel erg laag. De afgelopen twee decennia is echter sterk ingezet op habitattherstel. De herstelde habitatzones in combinatie met de relictzones vormen op dit moment een goede Ausgangssituatie om een geassisteerde herkolonisatie van heivlinder te overwegen. Om de slaagkansen te verhogen, lijkt bijkomend habitattherstel en een kwaliteitstoename van de huidige duingraslanden en droge heide aangewezen. De geschikte habitatvlekken zijn op dit moment verbonden door een lange strook geschikt leefgebied langs de spoorweg. Deze landschappelijke corridor is essentieel als leefgebied en als corridor voor heivlinder, en tal van andere soorten, binnen dit gebied. Het verder uitbouwen van deze corridorfunctie kan bijkomende kansen voor populatieherstel creëren.

Ook in Tielenkamp kan getracht worden om verder in te zetten op het herstel van landschappelijke gradiënten en zowel de bereikbaarheid als beschikbaarheid van andere habitats zoals mesofiele graslanden, natte valleibiotopen, enz. te verhogen. In de nabijgelegen gebieden 'Hoge Rielen' en 'Hoge Mouw' wordt tevens gewerkt aan herstel van paraboolduinen, duin- en heidevegetaties. Deze maatregelen kunnen op langere termijn mogelijk bijdragen aan een netwerk van geschikte leefgebieden en de creatie van een metapopulatie van heivlinder.

Zowel de **Kempense Heuvelrug** als het **Engels kamp in Grobbendonk** zijn eveneens geselecteerd als gebieden waarvoor een translocatie overwogen kan worden. De habitatkwaliteit – en kwantiteit zijn op dit moment echter nog ondermaats. **Voorafgaand aan een eventuele translocatie worden best nog een aantal gerichte maatregelen uitgevoerd.**

- **Kempense heuvelrug** (Kasterlee/Herentals)

De laatste waarnemingen van heivlinder dateren uit de periode rond 1960. Na een periode rond de eeuwwissel waarbij de open habitats quasi volledig verdwenen waren, is er de laatste twee decennia ingezet op habitatherstel. Hierbij werden, verspreid over het hele gebied, maatregelen genomen. Er zijn momenteel twee clusters met een hogere concentratie aan open biotopen. De meest geschikte zones binnen de Kempense heuvelrug bevinden zich tussen 'Het Zwart Water' en de Herentalsesteenweg en zijn in beheer bij ANB. De terreinen in eigendom en beheer bij Natuurpunt in het westelijk deel van de Kempense Heuvelrug zijn momenteel minder geschikt.

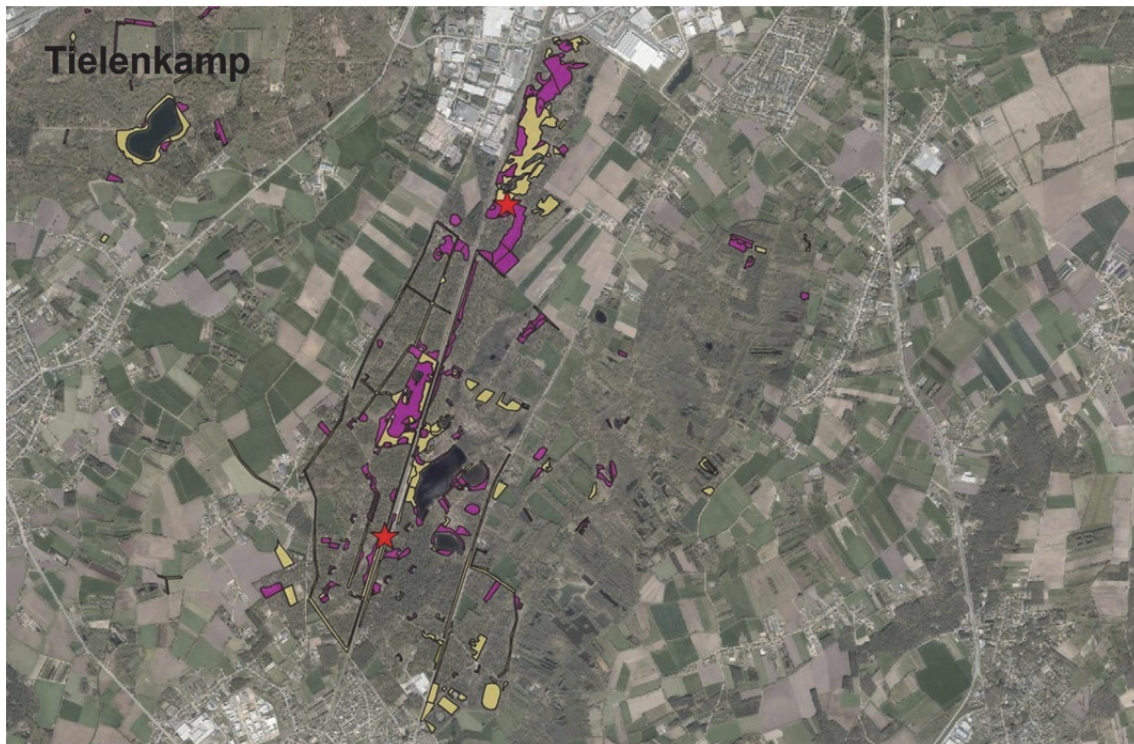
In de zone tussen ‘Het Zwart Water’ en de Herentalsesteenweg zijn stuifduinvegetaties hersteld. De habitatkwaliteit is momenteel echter onvoldoende. Door binnen de ingerichte zones maaisel op te brengen van het Vliegveld van Malle zullen deze vegetaties sneller in de goede richting ontwikkelen. Verder dient er, zoals hierboven beschreven voor het Vliegveld van Malle en Tielenkamp, sterk ingezet te worden op extra nectarvoorziening. Binnen de zone in beheer van Natuurpunt werden reeds enkele kleinschalige akkers hersteld die de ontwikkeling van zeldzame akkerflora en nectarvoorziening beogen. Door plagsel te verwerken op het terrein kunnen ‘nectarhotspots’ ontstaan die een belangrijke meerwaarde kunnen vormen in een verder zeer voedselarme omgeving.

Om de translocatie een grotere slaagkans te geven, dient er echter nog bijkomend habitat gecreëerd te worden. In de zone tussen 'Het Zwart Water' en de Herentalsesteenweg is middenin de herstelde stuifduinvegetaties nog een grote 'dennenakker' aanwezig. Dit groot en onnatuurlijk productiebos vormt een grote hindernis voor landschapsherstel en een succesvolle translocatie van heivlinder.

- **Engels kamp in Grobbendonk** (Grobbendonk/Herentals)

In dit gebied zijn geen waarnemingen gekend van heivlinder. Zoals het geval voor tal van andere gebieden, waren ook in dit gebied rond de eeuwwissel praktisch alle voor heivlinder belangrijke habitats volledig dichtgegroeid. Ook hier zijn de laatste twee decennia vele maatregelen genomen om de quasi verdwenen habitats te herstellen. Op dit moment is er een vrij grote oppervlakte aanwezig van droge heide en 'ha-graslanden'. Waardplanten komen vrij verspreid voor over het terrein en er zijn ook heel wat gradiënten aanwezig (van droog naar nat, van open naar gesloten, enz). In een aantal zones zou het gericht opbrengen van maaisel van het Vliegveld van Malle het herstel nog kunnen versnellen.

In het gebied wordt ook getracht het cultuurhistorische landschap te herstellen zoals kleine voedselarme graslanden en houtsingels. Het gebied is geëvolueerd van een gebied met hier en daar een habitatrelict naar een gevarieerd landschap met mooi ontwikkelde biotopen. Het verderzetten van dit landschapsherstel zal de heivlinder ten goede komen bij een eventuele translocatie. Binnen het gebied zijn een groot aantal verspreid staande bomen en ijle bosranden aanwezig. Hier kan de heivlinder schuilplaatsen vinden bij extreme weersomstandigheden.



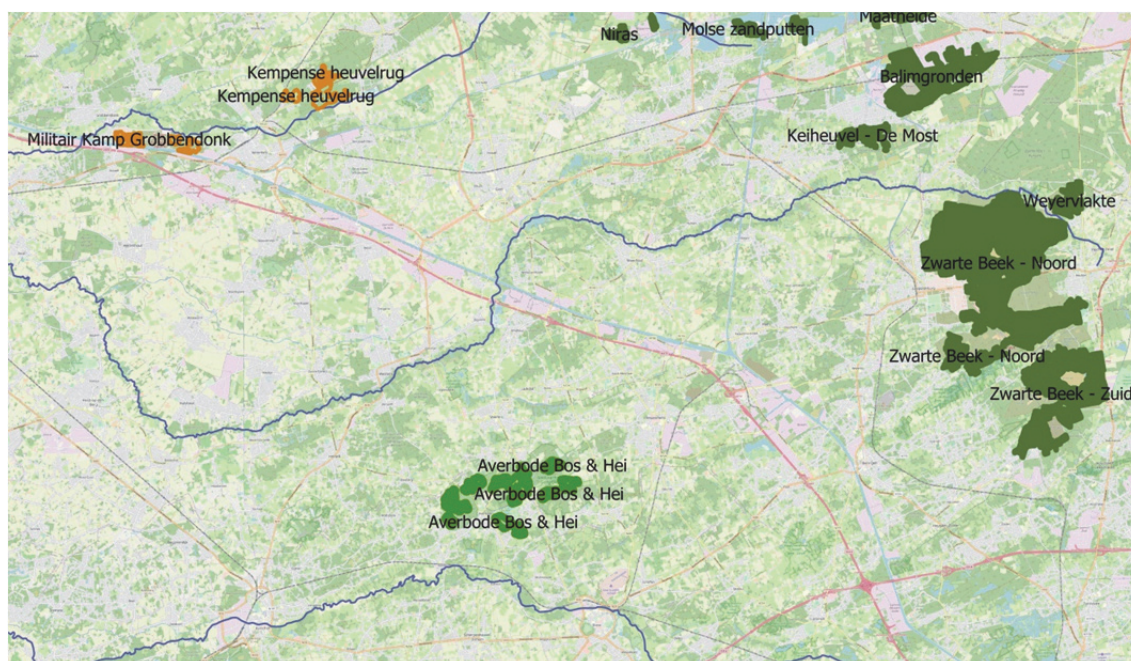
Figuur 54 Meest geschikte locatie(s) (rode ster) voor de uitzetting van heivlinders in de vier geselecteerde gebieden in de centrale Kempen; i) Engels kamp in Grobbendonk, ii) Kempense heuvelrug, iii) Tielenkamp, iv) het Vliegveld van Malle. Okergeel = halfnatuurlijk grasland, geel = binnenlands vegetatiearm stuifduin, paars = heide. (Zie ook Bijlage 8.4, Figuren B20 tot en met B23).

5.6.2.3 Oostelijke Kempen

Voor de oostelijke Kempen worden geen translocaties aanbevolen. In de oostelijke Kempen liggen zo goed als alle populaties op minder dan 6 km van een bestaande populatie. Wanneer er rond de waarnemingen in het oostelijke deel van de Kempen een buffer van 4 km getrokken wordt (de maximale afstand die tijdens merk-hervangst onderzoek vastgesteld werd in het Nationaal Park Hoge Kempen - Vanreusel et al. 2002), vallen alle waarnemingen in een grote cluster, die ook aansluit op de Nederlandse populaties in Noord-Brabant (Figuur 50). In dit deel van de Kempen lijkt het daarom zinvoller om gebieden gepast te beheren zodat ze spontaan gekoloniseerd kunnen worden door de heivlinder. Het aanleggen of beheren van kleine gebieden die als mogelijke stapstenen kunnen dienen, kan ook helpen. Dit zou moeten leiden tot grotere populaties zodat er meer uitwisseling gebeurt.

5.6.2.4 Zuidelijke Kempen

Voor de zuidelijke Kempen worden geen translocaties aanbevolen. Het enige potentieel geschikt leefgebied in het zuidelijk deel van de Kempen (Averbode Bos & Hei) ligt minstens 16 km verwijderd van de dichtstbijzijnde bestaande populatie (Figuur 55). In Averbode Bos & Hei is er veel open terrein gecreëerd, maar de totale oppervlakte geschikt leefgebied lijkt nog te klein en het aantal waardplanten is momenteel nog onvoldoende. Door gerichte beheeringrepen (bv. het opbrengen maaisel met waardplanten) kan dit gebied in de toekomst mogelijk evolueren naar een voor de soort geschikte locatie.



Figuur 55 Locatie van Averbode Bos & Hei ten opzichte van de bestaande populaties van de heivlinder (donkergroen) en de voorgestelde locaties voor translocatie (oranje).

5.6.3 Bijplaatsing

Er worden geen aanbevelingen gedaan voor bijplaatsing in de Kempen. In het translocatieplan voor de Kempen zetten we in de eerste plaats in op de geassisteerde herkolonisatie van de heivlinder. Bijplaatsing van individuen in gebieden met een sterk verarmde genetische diversiteit (bv. Molse Zandputten, Mechelse Heide) kan echter ook een zeer gunstige maatregel zijn om de kans op uitsterven van dergelijke populaties te verkleinen.

Geschikt terreinbeheer kan de populatiedensiteit doen toenemen waardoor de connectiviteit tussen de deelpopulaties op een natuurlijke wijze kan worden hersteld.

5.6.4 Bronpopulaties

Op basis van onderstaande argumenten, worden **vijf potentiële bronpopulaties** geselecteerd waaruit individuen gehaald zullen worden **voor de geassisteerde herkolonisatie**.

- **Kalmthoutse Heide (KAH)**
- **Zwarte Beek-Noord (ZBN)**
- **Zwarte Beek-Zuid (ZBZ)**
- **Militair Domein Houthalen-Helchteren (HHH)**
- **Balimgronden (BAL)**

De voorgestelde bronpopulaties zijn allemaal populaties met een relatief groot aantal heivlinders (relatief hoge census populatiegrootte). De enige nog bestaande en grote populatie in de westelijke Kempen is de **Kalmthoutse Heide**. Aangezien de locaties voor geassisteerde herkolonisatie gelegen zijn tussen de Kalmthoutse Heide en de oostelijke Kempen is het zinvol om individuen uit de Kalmthoutse Heide te gebruiken voor de translocatie. In de oostelijke Kempen zijn er vier grote populaties: **Zwarte Beek Zuid, Zwarte Beek Noord en het Militair Domein in Houthalen-Helchteren en de Balimgronden**. De populatie op de Balimgronden is een zeer grote populatie en een deel van de habitat dreigt op termijn te verdwijnen aangezien ze gelegen is op industrieterrein. Het onzekere bestaan maakt de populatie geschikt om te functioneren als bronpopulatie voor translocaties. Het wegvangen van individuen uit bronpopulaties met indicaties voor inteelt, heeft geen verhoogd risico op inteelt tot gevolg bij een geassisteerde herkolonisatie waarbij verschillende bronpopulaties worden gebruikt. De aanwijzingen voor inteelt zijn aanwijzingen van verwantschap tussen individuen binnen een populatie. De inteeltcoëfficiënt van een populatie ontstaan na een geassisteerde herkolonisatie is onafhankelijk van de inteeltcoëfficiënt van de bronpopulaties.

5.6.5 Opvolging

5.6.5.1 Census populatiegrootte en functioneel habitat

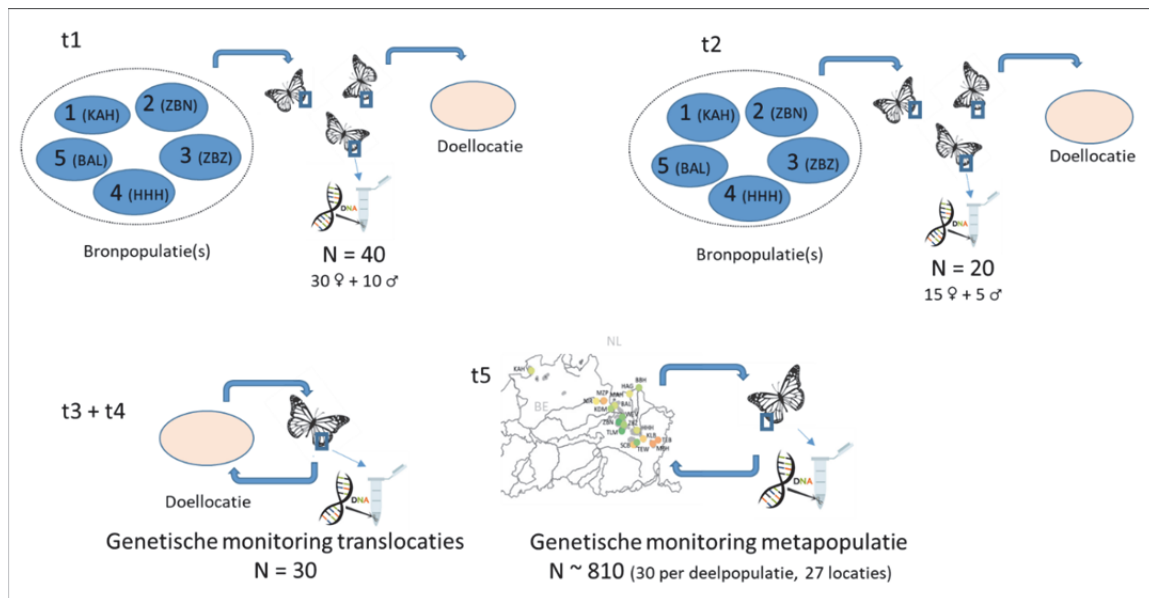
De **census populatiegrootte** van locaties van de heivlinder in de Kempen wordt opgevolgd via **Meetnetten.be** (Maes et al. 2019b). Eenmaal translocaties uitgevoerd, kunnen nieuw gekoloniseerde gebieden opgenomen in dit meetnet.

Het succes van een translocatie hangt af van de aanwezigheid van geschikte habitat. Een functioneel habitat voorziet in de aanwezigheid van geschikte waardplanten, nectarplanten en structuren in de vegetatie zoals open zandplekken en vegetatie voor beschutting (Segers et al. 2014). Naast het monitoren van de census populatiegrootte is het daarom aan te bevelen ook de evolutie van **geschikt functioneel habitat** op de locaties waar translocaties plaatsvinden, in kaart te brengen. Geschikt terreinbeheer kan de populatiedensiteit doen toenemen waardoor de connectiviteit tussen de deelpopulaties op een natuurlijke wijze kan worden hersteld.

5.6.5.2 Genetische monitoring

Voor elk van de vier voorgestelde geassisteerde herkolonisaties (vliegveld Malle, Tielenkamp Kasterlee, Kempense heuvelrug en Engels kamp Grobbendonk), adviseren we de translocatie van in totaal **40 volwassen vlinders** (30 wijfjes en 10 mannetjes). Na het vangen van de vlinders in de vijf bronpopulaties (KAH, ZBN, ZBZ, HHH, BAL) worden best direct vleugelstukjes

verzameld voor genetische opvolging. **Het jaar volgend op de translocatie (t2)**, adviseren we **de translocaties van opnieuw 20 vlinders** (15 wijfjes en 5 mannetjes) naar elke doellocatie (Tabel 9). **In het derde (t3) en vierde (t4) jaar**, bevelen we aan om de locaties waar geassisteerde herkolonisaties werden uitgevoerd, **genetisch op te volgen** door jaarlijks 30 vlinders te bemonsteren voor genetische analyse. Om het effect van de translocaties op de metapopulatie op te volgen, is het aan te bevelen om **in het vijfde jaar de populatie genetische structuur van alle deelpopulaties in de Kempen**, inclusief naburige populaties gelegen in Nederland in kaart te brengen volgens de methode beschreven in deze studie (Figuur 56).



Figuur 56 Schematische voorstelling van de voorgestelde translocaties heivlinder en bijhorende genetische monitoring langs in de Kempen.

5.6.6 Tijdschema voor translocatie

Om de druk op de bronpopulaties te beperken, stellen we voor de translocaties in de Kempen een gefaseerde herkolonisatie voor over drie jaar. Als richtlijn geven we hier aantallen mee die bij voorkeur gebruikt worden bij de geassisteerde herkolonisatie. In bepaalde ongunstige omstandigheden (bv. droogte, ontoegankelijkheid van het gebied, ...) moet hier echter op een verantwoorde manier van afgeweken kunnen worden (bv. geen schade toebrengen aan een bronpopulatie).

In het eerste jaar worden in het vliegveld van Malle en in Tielenkamp telkens 30 wijfjes en 10 mannetjes uitgezet. Hiervoor worden in de bronpopulaties telkens 12 wijfjes (totaal 60) en 4 mannetjes (totaal 20) gevangen. In het tweede jaar worden in het in het vliegveld van Malle en in Tielenkamp 15 wijfjes en 5 mannetjes bijgezet en in het Engels kamp in Grobbendonk en in de Kempense heuvelrug worden telkens 30 wijfjes en 10 mannetjes uitgezet. In het derde jaar worden in het Engels kamp in Grobbendonk en in de Kempense heuvelrug telkens 15 wijfjes en 5 mannetjes bijgezet. In de daaropvolgende jaren wordt bekeken of er eventueel nog individuen bijgezet moeten worden op de verschillende locaties (Tabel 9). Na het uitvoeren van translocaties, is een opvolging van de census populatiegrootte en een genetische monitoring van de totale metapopulatie sterk aanbevolen. Indien informatie verder wenselijk is over de genetische uitwisseling tussen metapopulatie van de Kempen en de kustregio, dient

de bemonstering van de populaties in beide regio's voor een dergelijke analyse in hetzelfde vliegseizoen te worden uitgevoerd.

Tabel 9 Overzicht van het aantal individuen dat per jaar nodig is voor de geassisteerde herkolonisatie en de bijzetting.

Jaar 1 (t_1)

Geassisteerde herkolonisatie	Bronpopulatie	Aantal
Vliegveld Malle	Kalmthoutse Heide	6w/2m
	Zwarte Beek-Noord	6w/2m
	Zwarte Beek-Zuid	6w/2m
	Houthalen-Helchteren	6w/2m
	Balimgronden	6w/2m
Totaal		30w/10m
Tielenkamp	Kalmthoutse Heide	6w/2m
	Zwarte Beek-Noord	6w/2m
	Zwarte Beek-Zuid	6w/2m
	Houthalen-Helchteren	6w/2m
	Balimgronden	6w/2m
Totaal		30w/10m
Totaal jaar 1		60w/20m

Jaar 2 (t_2)

Geassisteerde herkolonisatie	Bronpopulatie	Aantal
Engels kamp	Kalmthoutse Heide	6w/2m
	Zwarte Beek-Noord	6w/2m
	Zwarte Beek-Zuid	6w/2m
	Houthalen-Helchteren	6w/2m
	Balimgronden	6w/2m
Totaal		30w/10m
Kempense heuvelrug (herintroductie)	Kalmthoutse Heide	6w/2m
	Zwarte Beek-Noord	6w/2m
	Zwarte Beek-Zuid	6w/2m
	Houthalen-Helchteren	6w/2m
	Balimgronden	6w/2m
Totaal		30w/10m
Vliegveld Malle (bijzetting)	Kalmthoutse Heide	3w/1m
	Zwarte Beek-Noord	3w/1m
	Zwarte Beek-Zuid	3w/1m
	Houthalen-Helchteren	3w/1m
	Balimgronden	3w/1m

Totaal		15w/5m
Tielenkamp (bijzetting)	Kalmthoutse Heide	3w/1m
	Zwarte Beek-Noord	3w/1m
	Zwarte Beek-Zuid	3w/1m
	Houthalen-Helchteren	3w/1m
	Balimgronden	3w/1m
Totaal		15w/5m
Totaal jaar 2		90w/30m
Jaar 3 (t₃)		
Geassisteerde herkolonisatie	Bronpopulatie	Aantal
Engels kamp (bijzetting)	Kalmthoutse Heide	3w/1m
	Zwarte Beek-Noord	3w/1m
	Zwarte Beek-Zuid	3w/1m
	Houthalen-Helchteren	3w/1m
	Balimgronden	3w/1m
Totaal		15w/5m
Kempense heuvelrug (bijzetting)	Kalmthoutse Heide	3w/1m
	Zwarte Beek-Noord	3w/1m
	Zwarte Beek-Zuid	3w/1m
	Houthalen-Helchteren	3w/1m
	Balimgronden	3w/1m
Totaal		15w/5m
Totaal jaar 3		30w/10m

5.7 ECOLOGISCHE RISICO'S

5.7.1 Risico op sterfte tijdens de translocatie

Aangezien de bronpopulaties en de locaties voor translocaties dicht bij elkaar liggen is het risico op stress en sterfte tijdens vangst, transport en vrijlating zeer beperkt.

Het vangen en vrijlaten van de vlinders gebeurt best in de late namiddag gedurende een periode met gunstig weer (minstens 20°C, weinig wind en uiteraard geen regen). Transport gebeurt in netjes (Figuur 57) die in koelboxen ($\pm 10 - 15^{\circ}\text{C}$) gezet worden tijdens het transport. De vlinders kunnen eventueel, afhankelijk van de weersomstandigheden, een nacht overnachten onder een groot gaas waar ze pas 's morgens uit gehaald worden zodat ze niet onmiddellijk weg kunnen vliegen.

Tabel 10 Overzicht van de belangrijkste ecologische risico's gekoppeld aan de gevolgen van translocaties van de heivlinder binnen de regio Kempen (bron: Mergeay & Verbist 2021)

Aard van risico	Risicograad		
	Laag risico	Gemiddeld risico	Hoog risico
Afstand tussen bronpopulatie en translocatie		De locaties liggen in principe binnen de verbreidingscapaciteit van de heivlinder. De uitwisseling die gebeurt tussen de bestaande populaties is echter onvoldoende om een spontane hervestiging of te verwachten (De Ro et al. 2021).	
Risico voor bronpopulatie(s)	De bronpopulaties zijn groot en er zijn voldoende mogelijke bronpopulaties (zie p. 85). Het wegnemen van individuen heeft geen meetbare impact op de bronpopulatie(s).		
Vestiging van de doelsoort houdt een risico in op afname tot verlies van belangrijke habitattypes in het doelgebied.	Zeer klein risico		
Vestiging van de doelsoort houdt een risico in op afname tot verlies van belangrijke soorten in het doelgebied.	Zeer klein risico		
Risico op accidentele verspreiding van ziekten / plagen / invasieve soorten	Geen gekende problemen		
Kans op verbreiding van de doelsoort buiten de doelgebieden of buiten de zone van bestemming		Verbreiding buiten de locaties voor geassisteerde herkolonisatie is waarschijnlijk en wenselijk, maar heeft geen negatieve effecten op ecologische en socio-economische factoren.	
Risico op <i>outbreeding depression</i> en verbreken van lokale adaptatie (bijplaatsingen of herstel van metapopulatiestructuur)	Geen gekende of te verwachten betekenisvolle verschillen in lokale adaptatie tussen individuen in de bronpopulatie(s) en locatie(s) voor geassisteerde herkolonisatie.		

Dezelfde risico-inschatting is van toepassing voor de voorgestelde bijplaatsing van individuen heivlinder in de Sint-Laureinsduinen (SLD) vanuit de drie bronpopulaties Westhoek, Schipgatduinen en Ter Yde-Zeebermduinen (WEH, SGD, TYZ) in de kust-regio. Ook voor deze regio zijn er geen hoge ecologische risico's. Zo is de kans op uitteeltdepressie eveneens hier verwaarloosbaar klein en is er een laag ecologisch risico voor de bronpopulaties. De locatie SLD ligt eveneens binnen de verspreidingscapaciteit van de heivlinder maar een snelle, spontane uitbreiding via nieuwe migranten is niet te verwachten omdat de waargenomen frequentie van migratie laag ligt (De Ro et al. 2021)

5.8 SOCIO-ECONOMISCHE RISICO'S EN DRAAGVLAK

Een translocatie kan enkel overwogen worden wanneer socio-economische risico's goed ingeschat en afgewogen zijn ten opzichte van de baten van de translocatie (Mergeay & Verbist 2021). In de onderstaande tabel worden de belangrijkste socio-economische risico's weergegeven.

Tabel 11 Overzicht van de belangrijkste socio-economische risico's die gepaard kunnen gaan met translocaties van de heivlinder (bron: Mergeay & Verbist 2021).

Aard van risico	Risicograad		
	Laag risico	Gemiddeld risico	Verhoogd risico
Schade aan volksgezondheid of welzijn	Geen gekende risico's		
Socio-economische schade	Onwaarschijnlijk		
Kost van translocatie		Translocatie is geassocieerd met bepaalde kosten die gedekt worden door projectmiddelen of andere bronnen.	
Kosten van nabeheer (bv. door nood aan populatiebeheer buiten het doelgebied)		Er is een kans dat biotoopbeheer nodig is, maar deze kosten zullen dan relatief beperkt zijn.	

5.9 COMMUNICATIEPLAN

Translocaties kennen nog steeds voor- en tegenstanders in natuurbeschermingsmiddelen. Een translocatieplan wordt dus best samen met een goede communicatiestrategie uitgerold.

De richtlijnen die in deze studie zijn opgesteld, zijn gebaseerd op het beleid van de International Union for the Conservation of Nature (IUCN) rond translocaties. Mergeay & Verbist (2021) werkten deze richtlijnen concreet uit voor Vlaanderen.

Eenmaal het translocatieplan voor de heivlinder formeel is goedgekeurd, raden we aan om in samenspraak met alle betrokken actoren (wetenschappers, conservators, natuurbeheerders, militairen) de verdere planning, implementatie en opvolging uit te voeren.

Nast de wetenschappelijke gemeenschap (congressen, wetenschappelijk publicaties), is het ook zinvol om het brede publiek in te lichten over de resultaten van de translocatie. Dit kan via streekkranten, tijdschriften, bv. NatuurFocus of websites, bv. Ecopedia. Daarnaast kan er ook in de opleiding voor natuurgidsen, in scholen of via STEM-campagnes aandacht besteed worden aan translocatie als een vorm van natuurbehoud/-beheer, maar ook hoe dergelijke natuurbeschermingsmaatregelen opgevolgd en geëvalueerd kunnen worden.

6 CONCLUSIES

- Via genetische toewijzingstesten vonden we dat **de verbreidingsafstanden** die afgelegd kunnen **worden door de heivlinder veel groter** waren **dan eerder** gedacht.
- Ondanks het feit dat de heivlinder grote afstanden kan afleggen, **is de frequentie van verbreiding over lange afstanden laag**. De kans is klein dat geschikte locaties op korte termijn spontaan worden ge(her)koloniseerd.
- De geschatte **effectieve populatiegroottes** waren **laag** (20 tot 54 individuen) en 16 van de 22 populaties vertoonden indicaties voor inteelt.
- Hoewel de genetische differentiatie zowel binnen als tussen de regio's laag was, vonden we een **significante differentiatie tussen de twee regio's**. Het is aangeraden om de regio's als twee aparte *Conservation Units* te beschouwen.
- **De genetische diversiteit** binnen de deelpopulaties van de kust is kleiner dan deze binnen de deelpopulaties van de Kempen. In de Kempen vonden we een duidelijke metapopulatiestructuur met verbreiding tussen de deelpopulaties. We vonden geen indicaties voor verbreiding tussen de deelpopulaties aan de kust.
- Inzetten op de **versterking van de aanwezige deelpopulaties** via het streven naar een hogere densiteit van individuen, zal de spontane verbreiding tussen deelpopulaties doen toenemen.
- **Aan de kust raden we een bijplaatsing aan in de Sint-Laureinsduinen**. Drie kustpopulaties zijn geschikt als bronpopulaties.
- **Voor de centrale Kempen raden we geassisteerde herkolonisatie aan van vier gebieden**: Vliegveld van Malle, Tielenkamp, Kempense heuvelrug en Engels kamp in Grobbendonk. Vijf populaties zijn geschikt als bronpopulaties.
- Om het succes van de translocaties te bepalen is een **opvolgingsplan** uitgewerkt. **Genetische monitoring** laat toe om het effect van de acties te evalueren. Naast het monitoren van de genetische toestand, is het aan te bevelen ook de evolutie van de oppervlakte **geschikt functioneel habitat** op de locaties waar translocaties plaatsvinden, in kaart te brengen.
- Een translocatieplan wordt best samen met een goede **communicatiestrategie** uitgerold.

7 REFERENCES

- Andersen A, Simcox DJ, Thomas JA & Nash DR (2014) Assessing reintroduction schemes by comparing genetic diversity of reintroduced and source populations: A case study of the globally threatened large blue butterfly (*Maculinea arion*). *Biological Conservation* 175: 34-41. 10.1016/j.biocon.2014.04.009
- Barascud, Martin, Baguette & Descimon (1999) Genetic consequences of an introduction-colonization process in an endangered butterfly species. *Journal of Evolutionary Biology* 12 (4): 697-709. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1999.00069.x>
- Beneš J, Konvička M, Dvorak J, Fric Z, Havelda Z, Pavlicko A, Vrabec V & Weidenhoffer Z. (2002). *Butterflies of the Czech Republic: Distribution and conservation I, II*. Praha: SOM.
- Bink FA. (1992). *Ecologische atlas van de dagvlinders van Noordwest-Europa*. Haarlem: Schuyt & Co Uitgevers en Importeurs bv.
- Bolger AM, Lohse M & Usadel B (2014) Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30 (15): 2114-2120. 10.1093/bioinformatics/btu170
- Bos F, Bosveld M, Groenendijk D, van Swaay CAM, Wynhoff I & De Vlinderstichting. (2006). *De dagvlinders van Nederland. Verspreiding en bescherming (Lepidoptera: Hesperioidea, Papilionoidea)*. Nationaal Natuurhistorisch Museum N, Uitgeverij K & Survey EI, (editors). Leiden: Nationaal Natuurhistorisch Museum Naturalis; KNNV Uitgeverij; European Invertebrate Survey. 1-381 p.,
- Brosens D, Piesschaert F, Westra T, Ledegen H, Pollet M, Veraghtert W, Van de Poel S & Maes D. (2019). *Meetnetten - Transects for butterflies in Flanders, Belgium*. In: Research Institute for Nature and Forest (INBO). Version 1.13. Brussels: Research Institute for Nature and Forest (INBO).
- Chybicki JJ & Burczyk J (2009) Simultaneous estimation of null alleles and inbreeding coefficients. *J Hered* 100 (1): 106-113. 10.1093/jhered/esn088
- Coates DJ, Byrne M & Moritz C (2018) Genetic Diversity and Conservation Units: Dealing With the Species-Population Continuum in the Age of Genomics. *Frontiers in Ecology and Evolution* 6. 10.3389/fevo.2018.00165
- Concepción ED, Moretti M, Altermatt F, Nobis MP & Obrist MK (2015) Impacts of urbanisation on biodiversity: the role of species mobility, degree of specialisation and spatial scale. *Oikos* 124 (12): 1571-1582. 10.1111/oik.02166
- Corander J & Marttinen P (2006) Bayesian identification of admixture events using multilocus molecular markers. *Mol Ecol* 15 (10): 2833-2843. 10.1111/j.1365-294X.2006.02994.x
- Cornuet JM & Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144: 2001-2014.
- Cornuet JM, Piry S, Luikart G, Estoup A & Solignac M (1999) New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 153: 1989-2000.
- Cors R & Goffart P. (2020). *Rapport d'activité GT Lycaena 2019*. Gembloux: SPW/DEMNA.
- De Krijf G, Adriaens D, Van Elegem B & Paelinckx D (2013) *Natura 2000 habitattypen - Meer dan flora! Selectiecriteria en gebruik van typische faunasoorten bij de gewestelijke beoordeling van de staat van instandhouding*. *Natuurfocus* 12 (3): 109-120. https://www.natuurpunt.be/sites/default/files/documents/publication/natuur.focus.2013-3_natura_2000_habitattypen_meer_dan_flora.pdf

- Frankham R, Ballou JD, Ralls K, Eldridge MD, Dudash MR, Fenster CB, Lacy RC & Sunnucks P (2017) Genetic management of fragmented animal and plant populations. Oxford University Press: Oxford, UK.
- Gilbert KJ & Whitlock MC (2015) Evaluating methods for estimating local effective population size with and without migration. *Evolution* 69: 2154-2166.
- Hamm CA, Aggarwal D & Landis DA (2009) Evaluating the impact of non-lethal DNA sampling on two butterflies, *Vanessa cardui* and *Satyrodes eurydice*. *Journal of Insect Conservation* 14 (1): 11-18. 10.1007/s10841-009-9219-0
- Hanski I (1999) Habitat connectivity, habitat continuity, and metapopulations in dynamic landscapes. *Oikos* 87: 209-219. <https://doi.org/10.2307/3546736>
- Harper GL, Maclean N & Goulson D (2003) Microsatellite markers to assess the influence of population size, isolation and demographic change on the genetic structure of the UK butterfly *Polyommatus bellargus*. *Mol Ecol* 12 (12): 3349-3357. 10.1046/j.1365-294x.2003.02012.x
- Haubreux D, Mézière S, Dhellemmes T & Quevillart R. (2017). Atlas des papillons "de jour" Nord - Pas-de-Calais 2000-2014. Lépidoptères Papilionoidea. (GON) GoendNP-d-C, (editor). Lille: Groupe de travail sur les Lépidoptères Papilionoidea du Nord – Pas-de-Calais (Groupe ornithologique et naturaliste du Nord - Pas-de-Calais). 494 p.,
- Hedrick PW (2005) A standardized genetic differentiation measure. *Evolution* 59 (8): 1633-1638.
- Henriksen HJ & Kreutzer IB. (1982). The butterflies of Scandinavia in nature. Odense: Skandinavisk Bogforlag.
- Herremans M, De Knijf G, Hansen K, Westra T, Vanreusel W, Martens E, Van Gossum H, Anselin A, Vermeersch G & Pollet M. (2014). Monitoring van beleidsrelevante soorten in Vlaanderen met inzet van vrijwilligers. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek INBO.R.2014.1628917. Brussel: Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek.
- Hochberg Y (1988) A sharper Bonferroni procedure for multiple tests of significance. *Biometrika* 75 (4): 800-802.
- Holleley CE & Geerts MC (2009) Multiplex Manager 1.0: a cross-platform computer program that plans and optimizes multiplex PCR. *Biotechniques* 46: 511-517.
- IUCN France, MNHN, OPIE & SEF. (2012). La Liste rouge des espèces menacées en France - Chapitre Papillons de jour de France métropolitaine. Paris: UICN France, MNHN, OPIE & SEF.
- IUCN/SSC (2013) IUCN guidelines for reintroductions and other conservation translocations, version 1.0. IUCN Species Survival Commission, Gland.
- Jones AT, Ovenden JR & Wang YG (2016) Improved confidence intervals for the linkage disequilibrium method for estimating effective population size. *Heredity* 117 (4): 217-223. 10.1038/hdy.2016.19
- Jones OR & Wang J (2010) COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Mol Ecol Resour* 10 (3): 551-555. 10.1111/j.1755-0998.2009.02787.x
- Jost L (2008) G(ST) and its relatives do not measure differentiation. *Mol Ecol* 17 (18): 4015-4026. 10.1111/j.1365-294x.2008.03887.x
- Kalinowski ST (2005) hp-rare 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Molecular Ecology Notes* 5 (1): 187-189. 10.1111/j.1471-8286.2004.00845.x
- Keenan K, McGinnity P, Cross TF, Crozier WW, Prodöhl PA & O'Hara RB (2013) diveRsity: AnRpackage for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. *Methods in Ecology and Evolution* 4 (8): 782-788. 10.1111/2041-210x.12067

////////////////////////////////////

- Maes D, Vanreusel W & Van Dyck H. (2013). Dagvlinders in Vlaanderen: nieuwe kennis voor betere actie. Tiel: Uitgeverij Lannoo nv 542 p.,
- Meirmans PG (2012) The trouble with isolation by distance. *Molecular Ecology* 21: 2839-2846.
- Mergeay J (2017) Translocaties in natuurbeheer. Controversieel en essentieel. *Natuurfocus* 16 (3): 121-128.
- Mergeay J & De Meester L (2010) (Her)introductions en rationaliteit in het natuurbeheer. *Natuurfocus* 9 (3): 124-127.
- Mergeay J & Verbist V. (2021). Leidraad Translocaties voor Biodiversiteit in Vlaanderen. Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, (editor). Brussel: Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek. 33 p. <https://doi.org/doi.org/10.21436/inbor.34130911>
- Middlebrook I, Hardy PB, Botham MS & Dennis RLH (2019) The importance of unique populations for conservation: the case of the great orme's head grayling butterfly *Hipparchia semele* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Satyrinae). *Journal of Insect Conservation* 23 (2): 381-391. 10.1007/s10841-019-00137-x
- Nève G, Barascud B, Hughes R, Aubert J, Descimon H, Lebrun P & Baguette M (1996) Dispersal, colonization power and metapopulation structure in the vulnerable butterfly, *Proclossiana eunomia* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Journal of Applied Ecology* 33: 14-22.
- Nieminen M, Singer MC, Fortelius W, Schöps K & Hanski I (2001) Experimental Confirmation that Inbreeding Depression Increases Extinction Risk in Butterfly Populations. *The American Naturalist* 157 (237-244).
- Nonaka E, Siren J, Somervuo P, Ruokolainen L, Ovaskainen O & Hanski I (2019) Scaling up the effects of inbreeding depression from individuals to metapopulations. *J Anim Ecol* 88 (8): 1202-1214. 10.1111/1365-2656.13011
- Nowicki P, Vrabec V, Binzenhöfer B, Feil J, Zakšek B, Hovestadt T & Settele J (2014) Butterfly dispersal in inhospitable matrix: rare, risky, but long-distance. *Landscape Ecology* 29 (3): 401-412. 10.1007/s10980-013-9971-0
- Paetkau D, Slade R, Burden M & Estoup A (2004) Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Mol Ecol* 13: 55-65. 10.1046/j.1365-294X.2003.02008.x
- Pamperis LN. (2009). The Butterflies of Greece. Athens: PAMPERIS Editions.
- Peakall R & Smouse PE (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research--an update. *Bioinformatics* 28 (19): 2537-2539. 10.1093/bioinformatics/bts460
- Peery MZ, Kirby R, Reid BN, Stoelting R, Doucet-Beer E, Robinson S, Vasquez-Carrillo C, Pauli JN & Palsboll PJ (2012) Reliability of genetic bottleneck tests for detecting recent population declines. *Mol Ecol* 21 (14): 3403-3418. 10.1111/j.1365-294X.2012.05635.x
- Piry S, Alapetite A, Cornuet JM, Paetkau D, Baudouin L & Estoup A (2004) GENECLASS2: a software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *J Hered* 95 (6): 536-539. 10.1093/jhered/esh074
- Pritchard JK, Stephens M & Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Provoost S, Ampe C, Bonte D, Cosyns E & Hoffmann M (2002) Ecology, management and monitoring of dune grasslands in Flanders, Belgium. *Littoral 2002 The Changing Coast*: 11-22.
- Provoost S & Bonte D (2004) Levende duinen: een overzicht van de biodiversiteit aan de Vlaamse kust. Instituut voor Natuurbehoud, Brussel.
- Puechmaille SJ (2016) The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: subsampling and new estimators alleviate the problem. *Mol Ecol Resour* 16 (3): 608-627. 10.1111/1755-0998.12512

////////////////////////////////////

- R Core Team (2020) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria URL <https://www.R-project.org/>.
- Reinhardt R, Harpke A, Caspari S, Dolek M, Kühn E, Musche M, Trusch R, Wiemers M & Settele J. (2020). Verbreitungsatlas der Tagfalter und Widderchen Deutschlands. Stuttgart: Eugen Ulmer KG.
- Resende PS, Viana-Junior AB, Young RJ & Azevedo CSd (2020) A global review of animal translocation programs. *Animal Biodiversity and Conservation*: 221-232. 10.32800/abc.2020.43.0221
- Rose RJ, Webb NR, Clarke RT & Traynor CH (2000) Changes on the heathlands on Dorset, England, between 1987 and 1996. *Biological Conservation* 93: 117-125.
- Rousset F (2008) genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour* 8 (1): 103-106. 10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x
- Salgado AL, DiLeo MF, Saastamoinen M & Rasmann S (2020) Narrow oviposition preference of an insect herbivore risks survival under conditions of severe drought. *Functional Ecology* 34 (7): 1358-1369. 10.1111/1365-2435.13587
- Schneider C (2003) The influence of spatial scale on quantifying insect dispersal: an analysis of butterfly data. *Ecological Entomology* 28: 252-256.
- Schuelke M (2000) An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology* 18: 233-234.
- Schultz CB, Russell C & Wynn L (2008) Restoration, Reintroduction, and captive Propagation for at-risk Butterflies: A review of British and American Conservation Efforts. *Israel Journal of Ecology & Evolution* 54 (1): 41-61. 10.1560/ijee.54.1.41
- Segers N. (2012). Mobility and habitat use of the butterfly *Hipparchia semele* (Lepidoptera, Satyrinae) in the National Park Hoge Kempen (Belgium) [Master Thesis]. Evolutionary Ecology Research Group, Universiteit Antwerpen Antwerpen. Promoter: Matthysen E.
- Segers N, Jacobs I, Vanreusel W, Van Dyck H & Maes D (2014) Wetenschappelijk basisrapport voor het Soortenbeschermingsprogramma Heivlinder (*Hipparchia semele*). . Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel.
- Stevens VM, Turlure C & Baguette M (2010) A meta-analysis of dispersal in butterflies. *Biol Rev Camb Philos Soc* 85 (3): 625-642. 10.1111/j.1469-185X.2009.00119.x
- Thomas JA, Simcox DJ & Clarke RT (2009) Successful conservation of a threatened Maculinea butterfly. *Science* 325 (5936): 80-83. 10.1126/science.1175726
- Tinbergen N. (1942). The courtship of the Grayling *Eumenes (=Satyrus) semele* (L.) In: The animal in its world; field studies. London Allen & Unwin. 197-249 p.,
- Tuzov VK. (2000). Guide to the butterflies of Russia and adjacent territories. Volume 2. Libytheidae, Danaidae, Nymphalidae, Riodinidae, Lycaenidae. Sofia - Moscow: Pensoft Publishers.
- Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M & Rozen SG (2012) Primer3 - new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research* 40 (15): e115. <https://doi.org/10.1093/nar/gks596>
- Van Den Berge K (2004) Sleutel inzake afweging herintroductie en introductie. *Natuurfocus* 3 (1): 24-25.
- van Strien A, van Swaay C & Kéry M (2011) Metapopulation dynamics in the butterfly *Hipparchia semele* changed decades before occupancy declined in The Netherlands. *Ecological Applications* 21 (7): 2510-2520.
- van Swaay C, Maes D, Collins S, Munguira ML, Šašić M, Settele J, Verovnik R, Warren M, Wiemers M, Wynhoff I & Cuttelod A (2011) Applying IUCN criteria to invertebrates:

- How red is the Red List of European butterflies? Biological Conservation 144 (1): 470-478. 10.1016/j.biocon.2010.09.034
- van Swaay C, Wynhoff I, Verovnik R, Wiemers M, Lopez CMR, Maes D, Sasic M, Verstrael T, Warren M & Settele J (2010) *Hipparchia semele*. The IUCN Red List of Threatened Species.
- van Swaay CAM (2019) Basisrapport Rode Lijst Dagvlinders 2019 volgens Nederlandse en IUCN-criteria. De Vlinderstichting, Wageningen.
- Vanden Broeck A, Maes D, Kelager A, Wynhoff I, WallisDeVries MF, Nash DR, Oostermeijer JGB, Van Dyck H & Mergeay J (2017) Gene flow and effective population sizes of the butterfly *Maculinea alcon* in a highly fragmented, anthropogenic landscape. Biological Conservation 209: 89-97. 10.1016/j.biocon.2017.02.001
- Vanreusel W, Cortens J & Van Dyck H. (2002). Herstel van dagvlinderpopulaties in en om het Nationaal Park Hoge Kempen. Wilrijk: Universiteit Antwerpen (UIA-UA) - in opdracht van afdeling Natuur van het Ministerie van de Vlaamse Gemeenschap.
- Vanreusel W, Kevin L & Opdekamp W. (2017). Het actief verplaatsen van dieren of planten in natuurgebieden van Natuurpunt. Richtlijnen voor terreinbeheerders. Studie N, (editor). Mechelen: Natuurpunt Studie 37 p.,
- Vanreusel W, Maes D & Van Dyck H. (2000). Soortbeschermingsplan gentiaanblauwtje. Wilrijk: Universiteit Antwerpen (UIA-UA) - in opdracht van afdeling Natuur van het Ministerie van de Vlaamse Gemeenschap.
- Verovnik R, Rebeušek F & Jež M. (2012). Atlas dnevnih metuljev (Lepidoptera: Rhopalocera) Slovenije, Atlas of butterflies (Lepidoptera: Rhopalocera) of Slovenia. Miklavž na Dravskem polju: Center za kartografijo favne in flore.
- Wahlund S (1928) Zusammensetzung von population und korrelationserscheinung vom standpunkt der vererbungslehre aus betrachtet. Hereditas 11: 65-106.
- Wang J (2009) A new method for estimating effective population sizes from a single sample of multilocus genotypes. Mol Ecol 18 (10): 2148-2164. 10.1111/j.1365-294X.2009.04175.x
- Waples RS (2015) Testing for Hardy-Weinberg proportions: have we lost the plot? J Hered 106 (1): 1-19. 10.1093/jhered/esu062
- Warren MS (1991) The succesful conservation of an endangered species, the Heath fritillary butterfly *Melitica athalia*, in Britain. Biological Conservation 55: 37-56.
- Webb NR (1998) The traditional managment of European heathlands. Journal of Applied Ecology 35: 987-990.
- Weeks AR, Sgro CM, Young AG, Frankham R, Mitchell NJ, Miller KA, Byrne M, Coates DJ, Eldridge MD, Sunnucks P, Breed MF, James EA & Hoffmann AA (2011) Assessing the benefits and risks of translocations in changing environments: a genetic perspective. Evol Appl 4 (6): 709-725. 10.1111/j.1752-4571.2011.00192.x
- Wynhoff I (1998) Lessons from the reintroduction of *Maculinea teleius* and *M. nausithous* in the Netherlands. Journal of Insect Conservation 2: 47-57.
- Zilko JP, Harley D, Hansen B, Pavlova A & Sunnucks P (2020) Accounting for cryptic population substructure enhances detection of inbreeding depression with genomic inbreeding coefficients: an example from a critically endangered marsupial. Mol Ecol 29 (16): 2978-2993. 10.1111/mec.15540

8 BIJLAGEN

8.1 GEBIEDEN MET MOGELIJK KLEINE HEIVLINDERPOPULATIES

Het criterium voor de selectie van eventuele bijkomende te bemonsterende gebieden was dat er in minstens één jaar van de periode 2010-2019 minstens vijf individuen van de heivlinder waargenomen werden. Dit leverde 14 potentieel bijkomend te bemonsteren eenheden op: vijf aan de kust en acht in de oostelijke Kempen (Figuur B1; Tabel B1).



Figuur B1 Ligging van de mogelijk kleine heivlinderpopulaties aan de kust (links) en in de Kempen (rechts).

Tabel B1 Lijst van de clusters die mogelijk een kleine heivlinderpopulatie herbergen.

Clusters	Gemeente	Eigenaar / Beheerder
Kuststreek (5)		
1. Ster der Zee	Koksijde	ANB
2. Hoge Blekker - Doornpanne	Koksijde	ANB
3. Witte Burg	Koksijde	ANB
4. Paelsteenpanne	Bredene	Natuurpunt
5. Fonteintjes	Brugge	Natuurpunt
Kempen – Oost (9)		
1. Maatheide – Oost	Lommel	Privé
2. Blekerheide	Lommel	Natuurpunt
3. Kattenbosserheide	Lommel	Natuurpunt
4. Vliegbasis Kleine Brogel	Peer	Defensie
5. Galgenberg	Heusden-Zolder	ANB
6. Ten Haagdoornheide	Houthalen-Helchteren	ANB
7. Teut	Zonhoven	ANB
8. Oudsberg	Oudsbergen	ANB

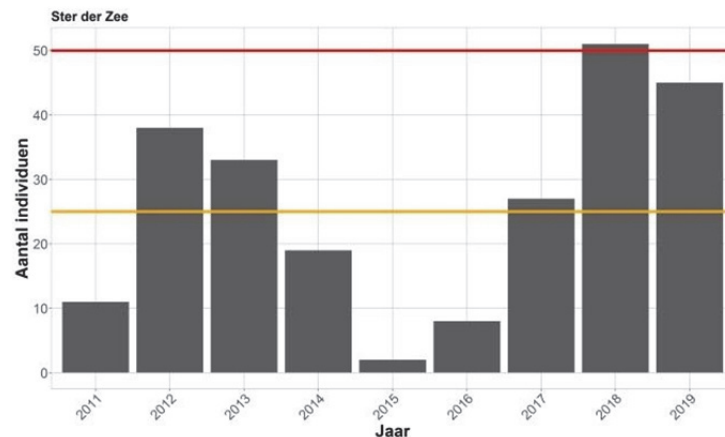
Hieronder geven we per cluster nog het aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar. Het gaat over het totaal van de waarnemingen in waarnemingen.be. Daarnaast vermelden we de eventuele waarnemingen via meetnetten.be.

8.1.1 Regio kust

8.1.1.1 Ster der Zee (Koksijde)

Ster der Zee is een zeer klein gebied. Er worden echter wel vrij regelmatig een redelijk aantal individuen gemeld (Figuur B2). In Ster der Zee ligt geen vlinderroute van Meetnetten.be.

Eigenaar/Beheerder: ANB

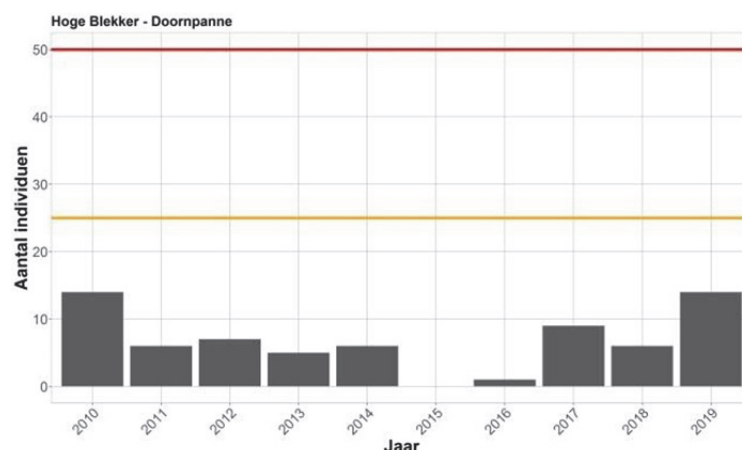


Figuur B2 Aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer).

8.1.1.2 Hoge Blekker – Doornpanne (Koksijde)

Op de Hoge Blekker en de Doornpanne bevindt zich een kleine populatie (Figuur B3). Op de vlinderroute van Meetnetten.be werden in 2016 op de Hoge Blekker 10 heivlinders geteld en in de Doornpanne waren er dat 16.

Eigenaar/Beheerder: ANB

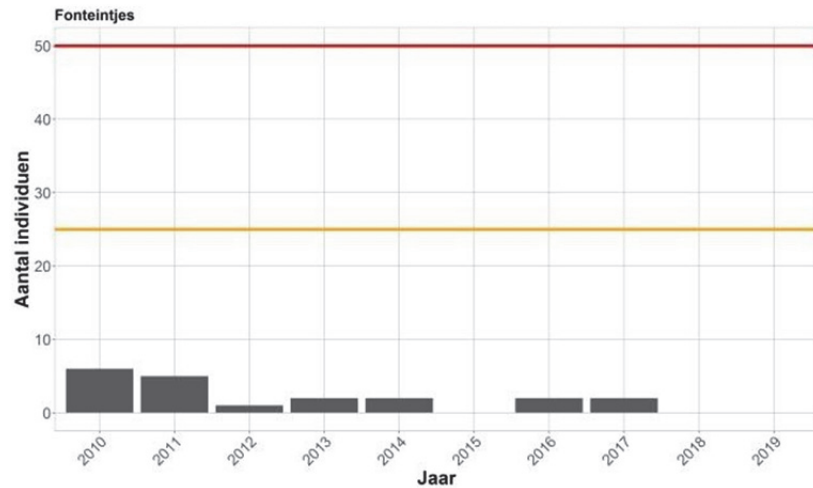


Figuur B3 Aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer).

8.1.1.5 Fonteintjes (Brugge)

De waargenomen individuen in de Fonteintjes zijn vermoedelijk zwervers (Figuur B6). In de Fonteintjes ligt geen vlinderroute van Meetnetten.be.

Eigenaar/Beheer: Natuurpunt



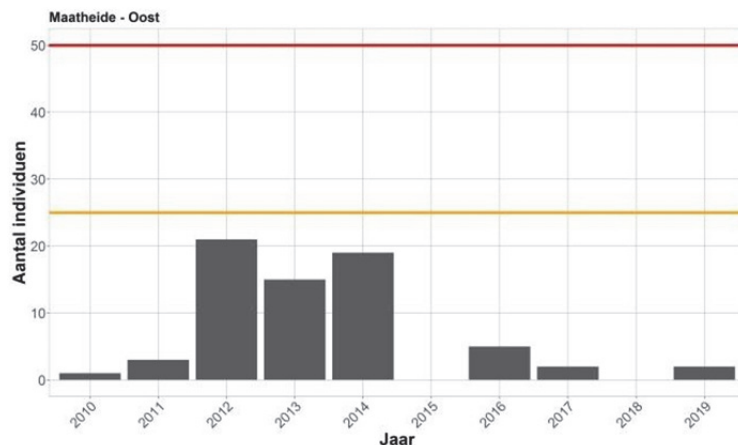
Figuur B6 Aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer).

8.1.2 Oostelijke Kempen

8.1.2.1 Maatheide-Oost (Lommel)

In de Maatheide-Oost werd slechts een klein aantal heivlinder-individuen waargenomen, dit zijn mogelijk enkel zwervers (Figuur B7). Op Maatheide-Oost ligt geen vlinderroute van Meetnetten.be.

Eigenaar/Beheerder: Privé

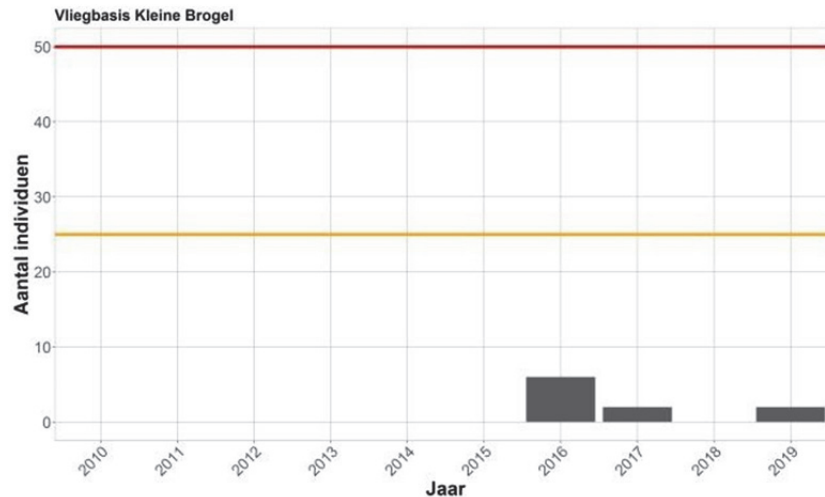


Figuur B7 Aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer).

8.1.2.4 Vliegbasis Kleine Brogel (Peer)

Op de Vliegbasis van Kleine Brogel werd er een zeer laag aantal individuen waargenomen (Figuur B10). In het gebied ligt geen vlinderroute van Meetnetten.be.

Eigenaar/Beheerder: Defensie

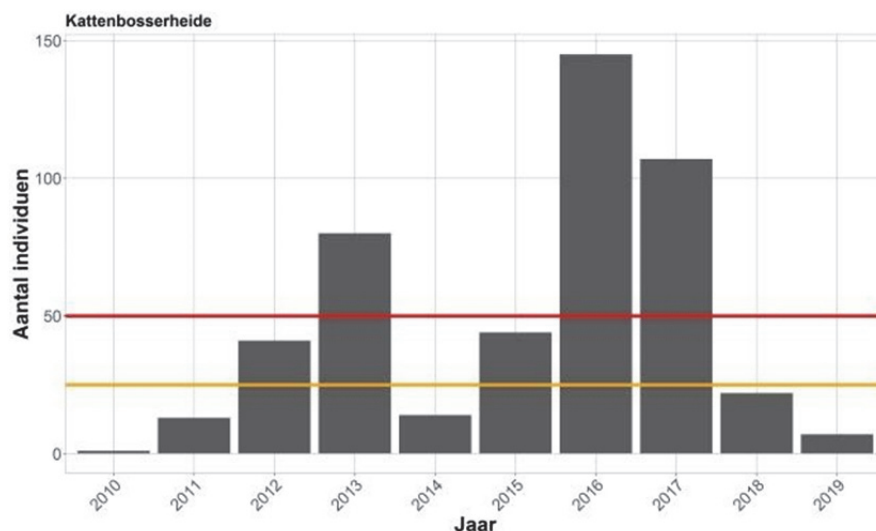


Figuur B10 Aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer).

8.1.2.5 Galgenberg (Heusden-Zolder)

Op de Galgenberg bevindt zich een kleine populatie. Deze bestaat momenteel echter mogelijk uit zwervers van Terril Lindeman (Figuur B11). Op de Galgenberg ligt geen vlinderroute van Meetnetten.be.

Eigenaar/Beheerder: ANB

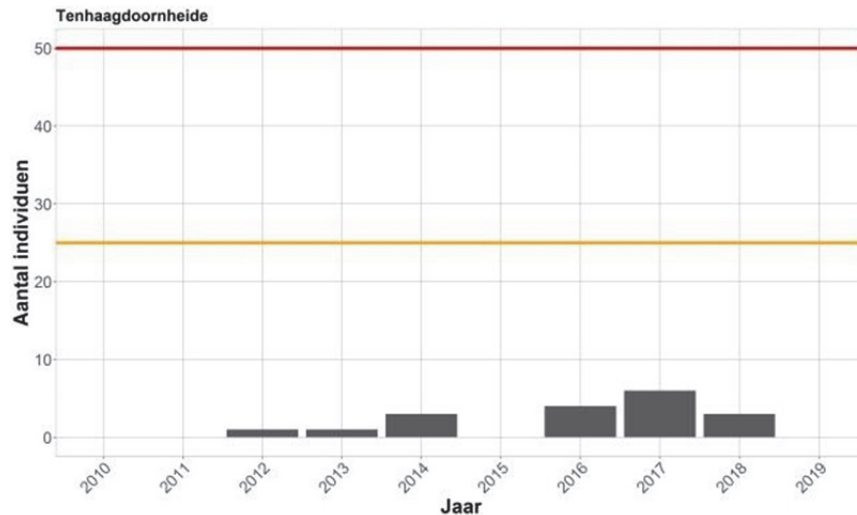


Figuur B11 Aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer).

8.1.2.6 Tenhaagdoornheide (Houthalen-Helchteren)

In de Tenhaagdoornheide werd er een zeer laag aantal individuen waargenomen, mogelijk enkel zwervers (Figuur B12). Op het gebied ligt geen vlinderroute van Meetnetten.be.

Eigenaar/Beheerder: ANB

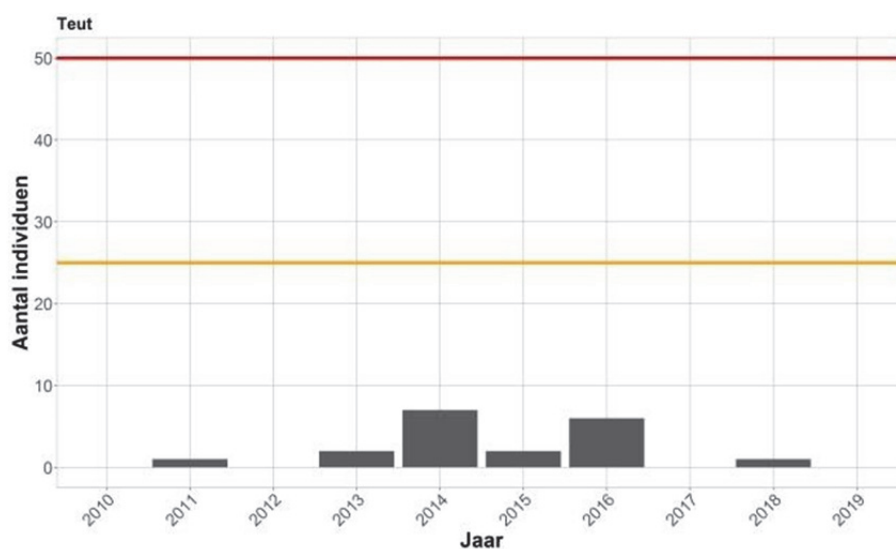


Figuur B12 Aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer).

8.1.2.7 Teut (Zonhoven)

Op de Teut zijn er nauwelijks heivlinders waargenomen, vermoedelijk enkel zwervers (Figuur B13). In het gebied ligt geen vlinderroute van Meetnetten.be.

Eigenaar/Beheerder: ANB

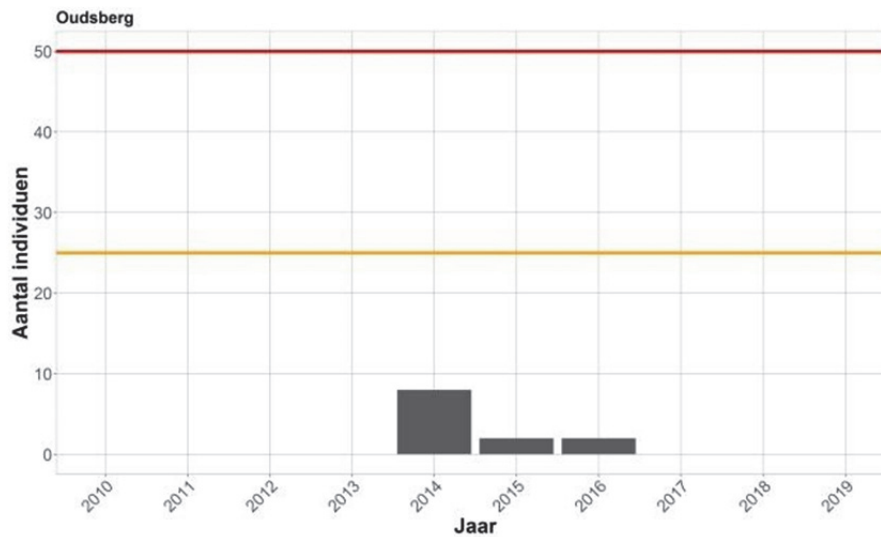


Figuur B13 Aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer).

8.1.2.8 Oudsberg (Oudsbergen)

Op de Oudsberg werden er vermoedelijk enkel zwervers waargenomen (Figuur B14). In het gebied ligt er geen vlinderroute van Meetnetten.be.

Eigenaar/Beheerder: ANB



Figuur B14 Aantal waargenomen individuen van heivlinder per jaar (de oranje en rode lijn geven respectievelijk 25 en 50 individuen weer).

8.2.1 Microsatelliet ontwikkeling

De DNA-bibliotheek werd met de volgende microsatelliet motieven verrijkt: AC, AG, ACG en ATCT. De DNA-bibliotheek werd vervolgens gesequeneerd met het Illumina MiSeq platform (PE300). Er werden 5.191.783 paired-end reads geproduceerd. Met het programma FastQC 0.11.15 werd de kwaliteit van de ruwe sequentiedata gecontroleerd. Reads met een lage kwaliteit werden geïdentificeerd en getrimd met het programma Trimmomatic 0.36 (Bolger et al. 2014; Bioinformatics btu170). Om zeker te zijn dat enkel reads met een hoge kwaliteit in de volgende stappen werden gebruikt, werd er een tweede kwaliteitscontrole uitgevoerd met FastQC 0.11.15. De reads werden vervolgens in het programma Geneious 8.1.9 (Biomatters Ltd.) en met zelfontwikkelde scripts verwerkt. De primers werden in het programma Primer (Koressaar & Remm 2007; Untergasser et al. 2012), geïmplementeerd in Geneious 10.2.3, ontworpen. De primer-paren hybridiseren via de flankerende regio's van de microsatellietmotieven.

Van de 73 geteste microsatellieten, amplificeerden er in totaal 18 primer-paren polymorfe microsatelliet loci. Deze 18 primer-paren werden heringedeeld in 6 nieuwe multiplexen. De PCR's werden volgens het eerder beschreven protocol uitgevoerd.

8.2.2 Microsatelliet loci en PCR-condities

Tabel B2 Overzicht van de gebruikte polymorfe nucleaire microsatelliet loci.

	Locus	Sequentie motief	Product grootte	Primer	Ta (C°)	Dye	Multiplex
1	AG_Hse_007	AG	57 - 97	F: AGCACGTAGAGCTGTGCGGTT R: CAGGTGCCTTCACTCTCACA	64,2	FAM	2
2	AG_Hse_039	AC	80 - 120	F: GTAAGTAGCCACGGCCAAAG R: GGTTCAATTCATTGTTGCGTG	61,5	FAM	3
3	AG_Hse_072	AAG	110 - 140	F: CTGTGGAAGTCCATGCAAGA R: CGCGTGGAATCTGACTGATA	61,7	VIC	3
4	AG_Hse_076	AC	140 - 160	F: GGTACATTTGTTGTGGCGTG R: CTGACAGGATAGCGACCGAT	63,3	NED	2
5	AG_Hse_185	AC	100 - 120	F: AGCAAGCTCTCGCTCACAT R: CGAAACATTGCTAGTTGCCA	61,2	VIC	2
6	AG_Hse_186	AC	204 - 299	F: TTTGGCGGTTTGGAATAGAG R: ATGGTGAAGTGGACAACGTG	60,5	VIC	1
7	AG_Hse_210	CCG	160 - 211	F: GAAGCGAGCCACTACGAGTC R: TGTGCTCGAACCCTTGGTAT	63,3	NED	3
8	AG_Hse_214	ACC	91 - 142	F: GTCAGAGGGTCAGGAGTTCG R: GCCAGAGCGGTTTAAAGAAA	61,0	NED	3
9	AG_Hse_229	ACGAT	133 - 148	F: GGAGACAGTTGGACAGGTGG R: CACATGTGGGCGCTATGTCAC	64,3	PET	2
10	AG_Hse_269	AT	134 - 156	F: CTACGCACAAGTGGCATTTC R: GATCGCAAGGAAGTGTAGGC	63,0	VIC	1
11	AG_Hse_343	ACC	127 - 136	F: TGACAGGGTATCGGTCTGAA R: GCTTACCCAGGTGGCAGATA	61,2	PET	1
12	AG_Hse_350	ACGG	126 - 146	F: CTGTGAAATGCCGGTTACAA R: GGACAATTGGTGTGTTGACGA	60,9	NED	1
13	AG_Hse_369	AC	88 - 102	F: TTTCAAGACACAAGACGGCA R: TCTCGATTAGTTGGATGCGA	59,7	PET	3
14	AG_Hse_371	AAAC	76 - 98	F: ATTCGAAAGGTTCCGTACCA R: GTCGATCCGTAGATCGGTTG	61,0	VIC	1
15	AG_Hse_376	CG	236 - 254	F: TCCAGATGAAGTGGACGTGA R: ACTAGGACCGGTCGAGTGTC	61,8	FAM	2
16	AG_Hse_421	ATCC	80 - 100	F: TTATTCCAGTCAGTCGACGC R: CACGTCTTTGACGGTAGGGT	61,9	NED	2
17	AG_Hse_426	AC	214 - 261	F: ATTCGGCTGAAAGGAATGG R: TATCGTCAGGTGCATCGTGT	61,2	PET	3
18	AG_Hse_454	CG	116 - 118	F: GCTGTACTACTCAACGCGA R: ACAGAGGGACGCTGTAGTGG	64,0	FAM	1
19	AG_Hse_471	AAG	155 - 205	F: GCGTTGTTCACCGAAATATG R: CAAACAAGTCGCAGGGAAC	60,9	FAM	1
20	AG_Hse_489	ATC	142 - 175	F: GAATCGAGTGGATGCGAAA R: GTGGCCTACACGGCTGTTAT	60,1	PET	3

PCR condities

De 20 primer-paren werden in 3 multiplexen ingedeeld via het programma Multiplex Manager 1.2 (Holleley & Geerts 2009). De primer-paren werden met 5' fluorescente label primers gelabeld (dyes: FAM, VIC, NED, PET). Voor de amplificatie van de microsatellieten werd de QIAGEN multiplex Master mix (hotstart) gebruikt met de standaard PCR condities: een initiële denaturatiestap gedurende 15 min. op 95 °C; 35 cycli van 30 s op 95 °C, 30 s op de locus-specifieke annealing temperatuur, en een extensiestap gedurende 30 s op 72 °C; tenslotte een elongatiestap gedurende 30 min. op 72 °C. Hiervoor werd een Biometra Thermocycler gebruikt. Het totale reactievolume telde 10 µL waarvan 2 µL template DNA. De PCR producten werden op een ABI 35000 analyzer gelopen met de GeneScan-600 LIZ standaard en geanalyseerd met het programma Geneious Prime 2019.3.2 (<https://www.geneious.com>).

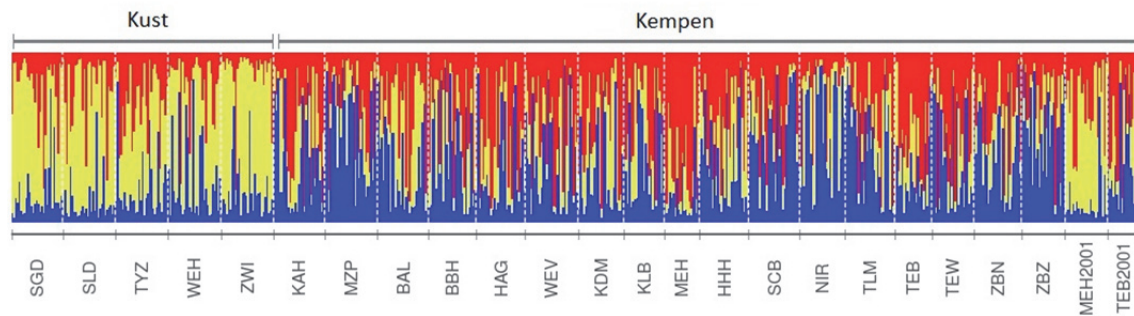
Tabel B3 Samenvatting van de gemiddelde diversiteitsindices en inteelt coëfficiënten die verkregen werden voor de verschillende datasets. De kolom 'Data' geeft weer hoeveel loci de dataset bevatte en welk locus er uit de data gesloten werd (bovenop de loci uit de grotere dataset). Met: het gemiddeld aantal individuen dat geënotypeerd werd per locus (N); het gemiddeld aantal allelen per locus gecorrigeerd voor sample grootte (gebaseerd op een minimum van 13 individuen) (Ar); de geobserveerde heterozygositeit (Ho); de verwachte heterozygositeit (He); de gemiddelde Wright inteelt coëfficiënt per locus (F_{is}); de laagste limiet van het 95% betrouwbaarheidsinterval van de F_{is} -waarde (F_{is_laag}); de hoogste limiet van het 95% betrouwbaarheidsinterval van de F_{is} -waarde (F_{is_hoog}); en het aantal populaties waarvoor bewijs voor inteelt gevonden werd.

Data	N	Ar	Ho	He	F_{is}	F_{is_laag}	F_{is_hoog}	Bewijs voor inteelt
Totale SSR data (15 loci)	24,84	2,75	0,34	0,54	0,37	0,28	0,45	24
14 SSR (zonder Hse_186)	24,92	2,66	0,34	0,52	0,34	0,25	0,43	24
14 SSR (zonder Hse_426)	25,09	2,67	0,34	0,52	0,34	0,24	0,42	24
14 SSR (zonder Hse_471)	25,23	4,03	0,34	0,52	0,34	0,26	0,43	24
14 SSR (zonder Hse_214)	24,78	2,68	0,34	0,52	0,35	0,26	0,44	24
14 SSR (zonder Hse_210)	24,74	2,65	0,33	0,52	0,37	0,27	0,45	24
12 SSR (zonder Hse_186, Hse_426, Hse_471)	25,68	3,78	0,35	0,47	0,26	0,16	0,36	24
11 SSR (zonder Hse_214)	25,69	3,53	0,35	0,45	0,23	0,12	0,33	24
11 SSR (zonder Hse_210)	25,64	3,36	0,33	0,44	0,24	0,13	0,35	24
10 SSR (zonder Hse_210, Hse_214)	25,65	3,04	0,33	0,41	0,19	0,08	0,31	22
9 SSR (zonder Hse_371)	26,21	3,18	0,35	0,40	0,14	0,02	0,26	16
8 SSR (zonder Hse_489)	26,11	3,16	0,35	0,39	0,12	-0,02	0,25	10

Tabel B4 Samenvatting van de gemiddelde genetische differentiatie indices die verkregen werden voor de verschillende datasets. De kolom 'Data' geeft weer hoeveel loci de dataset bevatte en welk locus er uit de data gesloten werd (bovenop de loci uit de grotere dataset).

Data	G'st	G'st_lower	G'st_upper	Dest	Dest_lower	Dest_upper
Totale SSR data (15 loci)	0,118	0,100	0,135	0,060	0,047	0,069
14 SSR (zonder <i>Hse_186</i>)	0,112	0,091	0,130	0,050	0,035	0,058
14 SSR (zonder <i>Hse_426</i>)	0,110	0,092	0,127	0,050	0,036	0,058
14 SSR (zonder <i>Hse_471</i>)	0,110	0,098	0,125	0,051	0,045	0,059
14 SSR (zonder <i>Hse_214</i>)	0,105	0,085	0,121	0,050	0,035	0,058
14 SSR (zonder <i>Hse_210</i>)	0,112	0,093	0,129	0,050	0,035	0,058
12 SSR (zonder <i>Hse_186</i> , <i>Hse_426</i> , <i>Hse_471</i>)	0,094	0,079	0,108	0,030	0,023	0,036
11 SSR (zonder <i>Hse_214</i>)	0,076	0,063	0,090	0,020	0,014	0,026
11 SSR (zonder <i>Hse_210</i>)	0,086	0,072	0,100	0,020	0,014	0,026
10 SSR (zonder <i>Hse_210</i> , <i>Hse_214</i>)	0,066	0,051	0,081	0,018	0,012	0,024
9 SSR (zonder <i>Hse_371</i>)	0,057	0,045	0,070	0,014	0,009	0,019
8 SSR (zonder <i>Hse_489</i>)	0,048	0,035	0,061	0,010	0,005	0,016

8.2.5 STRUCTURE analyse



Figuur B15 STRUCTURE Bayesiaanse clustering van de bemonsterde heiliger individuen. Het optimaal aantal aangegeven clusters (K) was 3. Elke kolom stelt een individu voor en is verdeeld volgens de waarschijnlijkheid dat een bepaald individu tot een bepaalde cluster behoort. Elke cluster is voorgesteld door een verschillende kleur. De regio waar de populatie aan toebehoort is boven de kolommen weergegeven.

De Bayesiaanse cluster analyse uitgevoerd met STRUCTURE v2.3.4 (Pritchard et al. 2000) vertoonde de hoogste waarschijnlijkheid voor het scenario waarbij de populaties ingedeeld worden in drie genetische clusters (K = 3) (Figuur B15). Individuen van de kustpopulaties werden duidelijk toegewezen aan één cluster. De Kempische populaties toonden meer genetische vermenging waardoor er geen duidelijke differentiatie tussen de twee Kempische clusters kan gemaakt worden.

8.2.6 Het effect van nul-allen op F_{IS} -waarden

We gebruikten het programma INEst 2.2 (Chybicki & Burczyk 2009) om meer inzicht te krijgen in het effect van de nul-allelen op de geschatte inteelt-waarden. INEst 2.2 schat tegelijkertijd de frequentie van nul-allelen als de inteelt-waarden die gecorrigeerd zijn voor de aanwezigheid van nul-allelen. We gebruikten het IIM (*Individual Inbreeding Model*) model dat op een Bayesiaanse aanpak gebaseerd is. We stelden de MCMC iteraties in op 200 000 cycli, de verdunningsparameter op 200 en de *burn-in* op 20 000 cycli.

Tabel B6 De frequentie van de nul-allelen geschat met het programma INEst 2.2. Significante waarden zijn in het vet weer gegeven.

	Hse_454	Hse_269	Hse_350	Hse_343	Hse_007	Hse_376	Hse_229	Hse_369	Hse_489
SGD	/	0,0834	0,0116	0,1149	0,0430	0,1384	0,0299	0,0232	0,0268
SLD	/	0,0413	0,0575	0,2100	/	0,1739	0,0341	0,0908	0,2129
TYZ	/	0,0215	0,0167	0,0319	0,0220	/	0,0199	0,0297	0,0964
WEH	/	0,1735	0,0412	0,0869	0,1931	0,2250	0,0286	0,0780	0,0946
ZWI	/	0,0407	0,0271	0,0332	0,1130	0,0994	0,0207	0,0140	0,2982
KAH	/	0,0229	0,0118	0,0386	0,0558	/	0,0860	0,0290	0,1949
MZP	0,1283	0,0524	0,0086	0,0498	0,1351	0,4935	0,0194	0,0122	0,2755
BAL	/	0,0428	0,0322	0,1536	0,1640	0,3016	0,0412	0,0222	0,0806
BBH	0,0853	0,0328	0,0133	0,0356	0,0337	0,3363	0,0422	0,0153	0,2684
HAG	/	0,0539	0,0424	0,1201	0,2152	0,4500	0,0282	0,0154	0,1179
WEV	0,0429	0,0152	0,0351	0,0138	0,0317	/	0,0194	0,0233	0,0699
KDM	/	0,0126	0,0199	0,0642	0,0443	/	0,0342	0,0448	0,0753
KLB	0,0993	0,0248	0,0159	0,1759	0,0693	/	0,0647	0,0191	0,2466
MEH	/	0,0825	0,0277	0,1136	0,3195	/	0,0251	0,0688	0,2934
HHH	/	0,0131	0,0292	0,0218	0,1255	0,2194	0,0452	0,0141	0,0776
SCB	0,0244	0,0318	0,0071	0,0337	0,0268	/	0,0302	0,0161	0,1841
NIR	0,0937	0,0239	0,0272	0,0894	0,1388	0,2984	0,0569	0,0143	0,3327
TLM	0,0924	0,0388	0,0128	0,0543	0,1257	0,2476	0,0617	0,0202	0,1309
TEB	0,0352	0,0287	0,0176	0,0311	0,1430	/	0,1285	0,0169	0,0802
TEW	0,0452	0,0328	0,0306	0,1033	0,2191	0,2935	0,0530	0,0167	0,1517
ZBN	0,0617	0,0121	0,0206	0,0197	0,0214	0,2599	0,0232	0,103	0,0764
ZBZ	/	0,0181	0,0174	0,0255	0,1230	0,4713	0,0767	0,0188	0,1664
MEH2001	/	0,0151	0,0329	0,0837	0,1081	0,2161	0,0281	0,0786	0,0416
TEB2001	0,0481	0,0383	0,0294	0,0887	0,1293	0,3288	0,0207	0,0196	0,3148

We zien dat er, voor de loci gebruikt in de data analyses, nog steeds 15 significante locus x populatie combinaties zijn (Tabel B6). Dit betekent dat de aanwezigheid van nul-allelen een invloed kan hebben op de schatting van de F_{IS} -waarden. Daarom berekende we de F_{IS} -waarden die gecorrigeerd zijn voor deze geschatte nul-allel frequenties (Tabel B7).

////////////////////////////////////

als het beste model, betekent dit dat de 'inteelt' parameter de belangrijkste factor was in het berekenen van de gecorrigeerde F_{IS} -waarden. Als het nb-model geselecteerd wordt als het beste model, betekent dit dat de F_{IS} -waarde beïnvloed wordt door de aanwezigheid van nul-allelen (Chybicki & Burczyk 2009).

Voor drie van de kustpopulaties was het nfb-model het best passende model. Twee van deze populaties toonden ook significante inteeltwaarden berekend met DiveRsity. Het nfb-model was ook het beste model voor negen Kempische populaties. Van deze populaties vertoonden vijf populaties ook significante inteeltwaarden berekend met DiveRsity. Als we de resultaten van beide methoden combineren (INEst 2.2 & DiveRsity), vinden we dus met meer zekerheid voor zeven van de 24 populaties (30%) bewijs voor inteelt.

8.2.7 Schatting van de effectieve populatiegroottes (N_e)

Tabel B8 Schatting van de effectieve populatiegroottes (N_e) en hun 95% betrouwbaarheidsintervallen (95% C.I.) via de *Linkage Disequilibrium* methode in NeEstimator v2.0.

Regio	Location	Ne	95% C.I.	
Kust	SGD	36,4	7,8	Infinite
	SLD	103,7	12,3	Infinite
	TYZ	312,8	17,7	Infinite
	WEH	83,4	13,2	Infinite
	ZWI	119,3	10,1	Infinite
Kempen	KAH	Infinite	42,8	Infinite
	MZP	60,8	7,8	Infinite
	BAL	Infinite	132,3	Infinite
	BBH	Infinite	11,5	Infinite
	HAG	Infinite	51,6	Infinite
	WEV	Infinite	28,5	Infinite
	KDM	Infinite	22,7	Infinite
	KLB	Infinite	14,2	Infinite
	MEH	Infinite	12,3	Infinite
	HHH	249,4	17,6	Infinite
	SCB	441,3	6,9	Infinite
	NIR	30,2	7,7	Infinite
	TLM	208,9	21,4	Infinite
	TEB	56,9	5,1	Infinite
	TEW	Infinite	37,6	Infinite
	ZBN	560,7	19,3	Infinite
	ZBZ	Infinite	22,4	Infinite
	MEH2001	373,8	9,0	Infinite
	TEB2001	27,6	3,0	Infinite

Voor elke populatie resulteerde de schatting in een onbegrensd betrouwbaarheidsinterval. Bijgevolg is deze methode weinig informatief voor het schatten van N_e . Dit is niet ongevoelzaam en heeft te maken met de beperkingen van de methode voor het bepalen van het betrouwbaarheidsinterval (*jack-knife* methode) in combinatie met het relatief beperkt aantal microsatelliet loci, het relatief laag aantal allelen per locus en de beperkte steekproefgroottes (Jones et al. 2016). Via de LDNe methode kon er dus voor geen enkele populatie een accurate effectieve populatiegrootte geschat worden (Gilbert & Whitlock 2015).

8.2.8 Genetische bottlenecks

Tabel B9 Resultaten van de tests die recente genetische bottlenecks (inkrimping van populaties) detecteren. Er werden drie verschillende modellen gebruikt in het programma BOTTLENECK v1.2.0.2: het *Infinite Alleles Model* (IAM), het intermediaire *Two-Phase Model* (TPM) en het conservatieve *Stepwise Mutation Model* (SMM). Significante waarden (p-waarde < 0,05) zijn in het vet aangeduid.

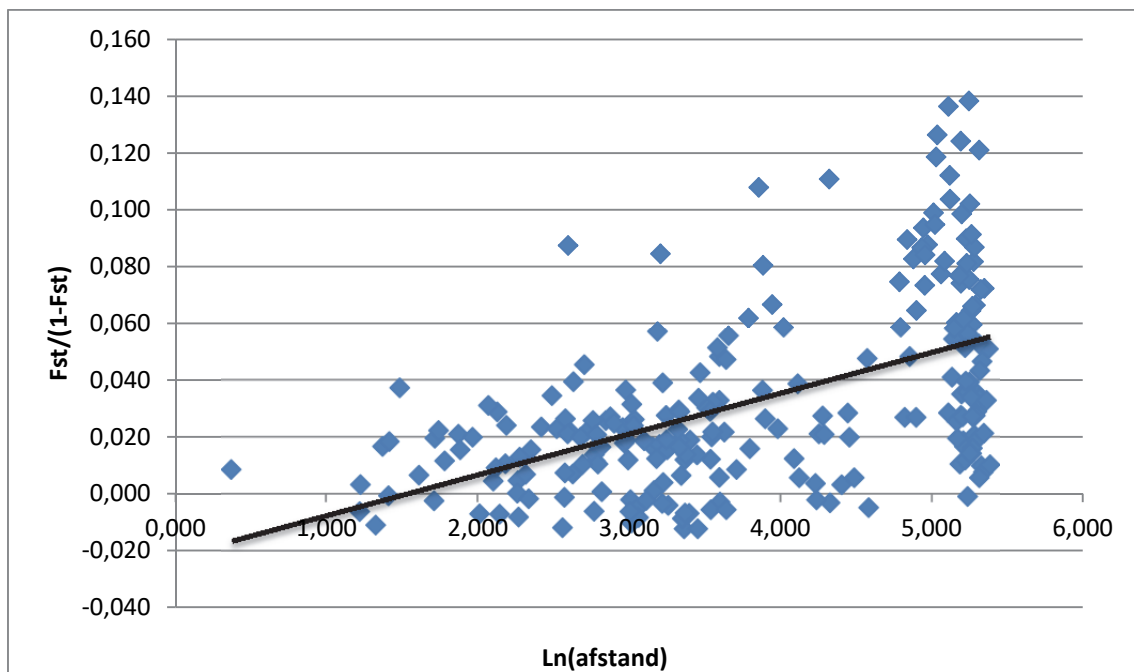
Regio	Pop	IAM	TPM	SMM
Kust	SGD	0,2305	0,7695	0,9023
	SLD	0,0195	0,1484	0,2891
	TYZ	0,0273	0,3438	0,9453
	WEH	0,0977	0,5273	0,9727
	ZWI	0,0098	0,0273	0,7266
Kempen	KAH	0,1484	0,4688	0,9727
	MZP	0,0820	0,3672	0,6738
	BAL	0,3203	0,7266	0,9805
	BBH	0,5000	0,8496	0,9990
	HAG	0,1914	0,6797	0,9805
	WEV	0,5273	0,9023	0,9981
	KDM	0,1875	0,7656	0,9961
	KLB	0,3203	0,6797	0,9727
	MEH	0,2344	0,7656	0,9727
	HHH	0,5273	0,9727	0,9961
	SCB	0,5273	0,9629	0,9961
	NIR	0,3262	0,6738	0,9815
	TLM	0,2481	0,8984	0,9971
	TEB	0,5273	0,7695	0,9727
	TEW	0,8750	0,9932	1,0000
	ZBN	0,7520	0,9971	1,0000
	ZBZ	0,9727	1,0000	1,0000
	MEH2001	0,1250	0,3711	0,9629
	TEB2001	0,5449	0,9756	0,9981

8.2.9 Paarsgewijze G'ST waarden

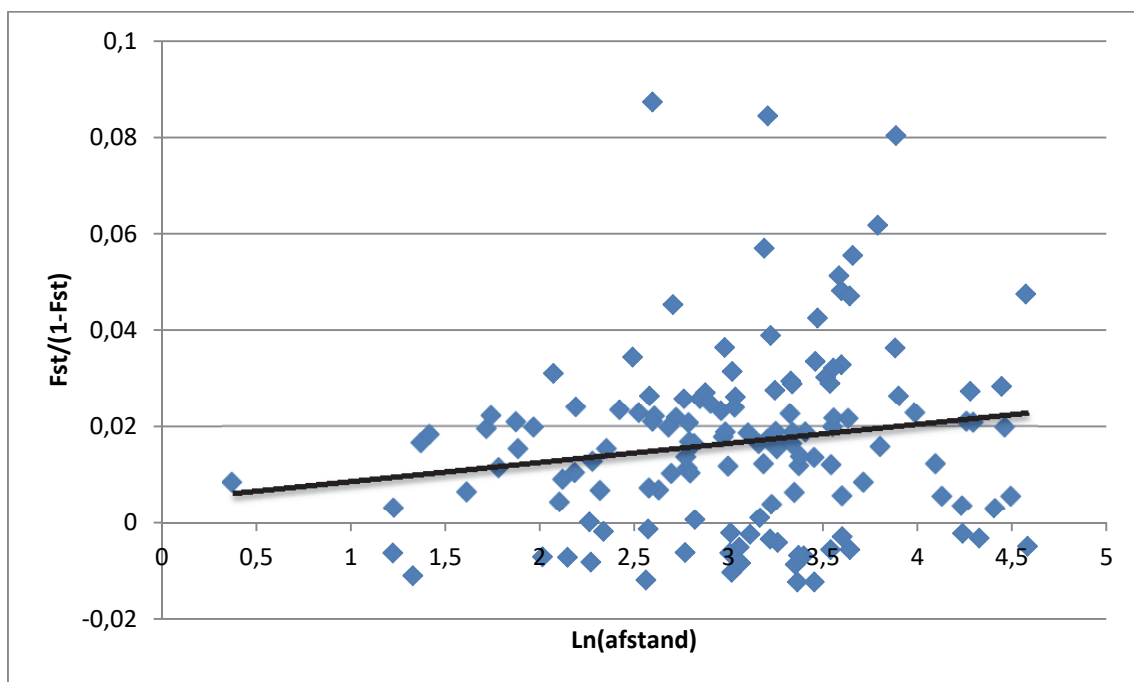
Tabel B10 Paarsgewijze G'_{ST} waarden. Significante waarden zijn in het vet aangeduid.

G _{ST}	SGD	SLD	TYZ	WEH	ZWI	KAH	MZP	BAL	BBH	HAG	WEV	KDM	KLB	MEH	HHH	SCB	NIR	TLM	TEB	TEW	ZBN	ZBZ	MEH2001
SGD																							
SLD	0,036																						
TYZ	0,002	0,048																					
WEH	0,000	0,050	0,009																				
ZWI	0,071	0,128	0,086	0,050																			
KAH	0,058	0,089	0,036	0,036	0,134																		
MZP	0,072	0,130	0,070	0,045	0,108	0,035																	
BAL	0,026	0,075	0,018	0,003	0,082	0,012	0,010																
BBH	0,044	0,079	0,030	0,016	0,119	0,000	0,024	0,002															
HAG	0,074	0,111	0,053	0,041	0,111	0,031	0,052	0,015	0,031														
WEV	0,045	0,090	0,024	0,021	0,115	0,001	0,019	-0,004	-0,003	0,022													
KDM	0,034	0,070	0,027	0,018	0,101	0,018	0,023	-0,003	0,005	0,036	0,004												
KLB	0,042	0,097	0,028	0,014	0,098	0,012	0,014	-0,008	-0,010	0,029	-0,008	-0,004											
MEH	0,083	0,133	0,059	0,065	0,160	0,060	0,080	0,047	0,062	0,068	0,028	0,031	0,044										
HHH	0,034	0,089	0,022	0,010	0,114	0,006	0,018	-0,006	-0,002	0,024	-0,012	0,000	-0,005	0,030									
SCB	0,093	0,145	0,103	0,060	0,129	0,034	0,017	0,029	0,037	0,051	0,028	0,034	0,024	0,095	0,028								
NIR	0,054	0,104	0,044	0,037	0,076	0,051	0,028	0,034	0,023	0,056	0,037	0,034	0,018	0,104	0,041	0,055							
TLM	0,101	0,151	0,083	0,047	0,096	0,033	0,028	0,027	0,023	0,028	0,019	0,037	0,020	0,081	0,023	0,029	0,041						
TEB	0,040	0,083	0,029	0,016	0,122	-0,002	0,025	0,003	-0,002	0,031	-0,006	-0,002	-0,004	0,026	-0,004	0,024	0,038	0,026					
TEW	0,076	0,114	0,079	0,053	0,145	0,027	0,031	0,025	0,037	0,045	0,024	0,011	0,031	0,044	0,013	0,012	0,069	0,038	0,016				
ZBN	0,048	0,091	0,036	0,020	0,105	0,008	0,024	0,002	-0,001	0,027	-0,011	0,011	-0,004	0,040	0,001	0,031	0,033	0,019	-0,005	0,032			
ZBZ	0,065	0,113	0,065	0,035	0,100	0,038	0,018	0,014	0,009	0,043	0,012	0,028	0,006	0,102	0,018	0,023	0,019	0,026	0,026	0,055	0,006		
MEH2001	0,033	0,023	0,027	0,037	0,109	0,053	0,097	0,043	0,067	0,087	0,057	0,049	0,067	0,059	0,058	0,114	0,104	0,113	0,042	0,073	0,060	0,111	
TEB2001	0,041	0,079	0,030	0,011	0,096	0,008	0,032	0,008	-0,003	0,019	0,001	0,020	-0,002	0,063	0,009	0,026	0,014	0,016	-0,011	0,040	-0,006	0,004	0,056

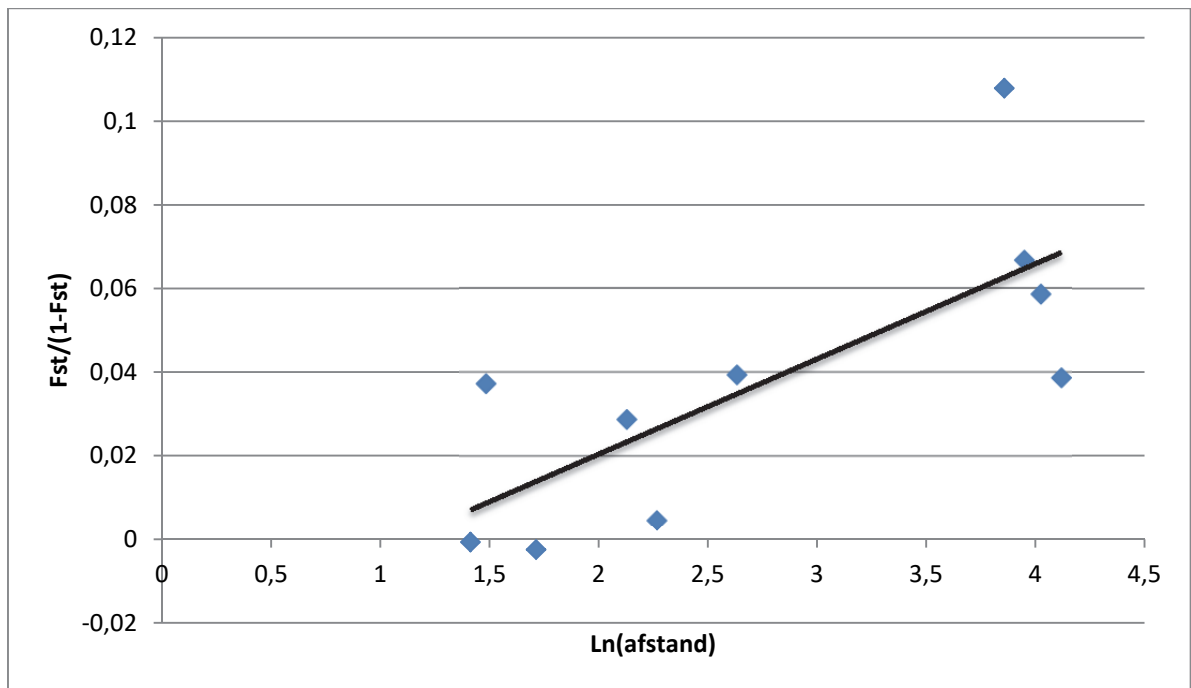
8.2.10 Isolation-by-distance analyses



Figuur B16 Globale IBD-analyse met p-waarde = 0,00 en $R^2 = 0,28$.



Figuur B17 IBD-analyse van de Kempische regio met p-waarde = 0,185 en R^2 -waarde = 0,03.



Figuur B18 IBD-analyse van de kustregio met p-waarde = 0,087 en R²-waarde = 0,55.

8.2.11 Geschatte niveaus van de hiërarchische structurering binnen populaties, tussen populaties en tussen regio's door een analyse van moleculaire variantie (AMOVA)

Tabel B11 Resultaten van de AMOVA. Met: bron van de variantie, de vrijheidsgraden (Df), de som van de kwadraten (SS), de gemiddelde kwadratensom (MS), de geschatte variantie, de geschatte variantie in procent, de F-statistiek, de F-waarde, en de P-waarde.

Bron van de variantie	Df	SS	MS	Geschatte variantie	%	F-Stat	F-Waarde	P- Waarde
Tussen regio's	1	33,01	33,01	0,061	3%	Frt	0,028	0,001
Tussen populaties	22	10,47	4,48	0,052	2%	Fsr	0,025	0,001
Binnen populaties	1258	2581,01	2,05	2,052	95%	Fst	0,052	0,001
Totaal	1281	2720,49		2,165	100%			

We voerden de AMOVA uit in het programma GenAlEx v6.501 (Peakall & Smouse 2012). De waarden werden berekend met de data van negen microsatelliet loci van 641 heivlinder individuen. We verzamelden de stalen op 24 locaties, genest in twee regio's (de kust en de Kempische regio van Vlaanderen, België). Significantie werd met 999 permutaties getest. Zoals gebruikelijk, is de meeste genetische variatie (95%) te vinden binnen populaties. 3% van de genetische variatie aanwezig in de totale dataset wordt toegewezen aan verschillen tussen regio's. De genetische variatie tussen populaties verschilt voor 2% van elkaar.

8.3 FICHE VOOR KARTERING VAN FUNCTIONEEL HABITAT

HEIVLINDER

1 FICHE PER ONDERZOCHT (DEEL)GEBIED

Teller (s):

Datum:.....Gemeente

Gebiedsnaam:.....CODE.....

Inschattingen densiteit Nectar/waardplanten:

0: afwezig, 1: sporadisch aanwezig, 2: gering aanwezig, 3: aanwezig maar suboptimaal, 4: hoge densiteit aanwezig

Locatiekenmerken op landschapsschaal

Regio: Kust - Kempen

Type: Binnenlandse stuifduin - Schraalgrasland - Droge heide - Groeve - Witte kustduin - Grijze kustduin - Terril - Natte heide -

Bosrand in open terrein

Openheid van het landschap

Geen bomen aanwezig - open landschap met hier en daar een boom - halfopen landschap met verspreidstaande bomen - eerder gesloten landschap met groot aandeel bomen - In bos of open plek in bos

Nectarinschatting Nectar aanwezig: ja / neen

Struikhei: 0 / 1 / 2 / 3 / 4 : 0 / 1 / 2 / 3 / 4

Gele composieten : 0 / 1 / 2 / 3 / 4 : 0 / 1 / 2 / 3 / 4

Akkerdistel : 0 / 1 / 2 / 3 / 4 : 0 / 1 / 2 / 3 / 4

Waardplanten

Schapengrassen & Zwenkgrassen 0 / 1 / 2 / 3 / 4 Buntgras 0 / 1 / 2 / 3 / 4

Struisgrassen 0 / 1 / 2 / 3 / 4 Vroege haver 0 / 1 / 2 / 3 / 4

Helm 0 / 1 / 2 / 3 / 4

Dravik 0 / 1 / 2 / 3 / 4

Aandeel open zand/snel opwarmende korte vegetaties (<2cm hoog)

R: zeldzaam +: <1% 1: 1-5% 2: 6-25% 3: 26-50% 4: 51-75% 5: 76-100%

Heivlinder Aantal waargenomen imago's en geslacht:

Andere waargenomen dagvlinders

.....

Reliëf: 0 - 1 - 2 - 3 - 4

Helling: Vlak - Gering - Steil

Substraat/Bodem: stuifzand - zand- zand+kiezel - kolen/stenen -

OPMERKINGEN.....

.....

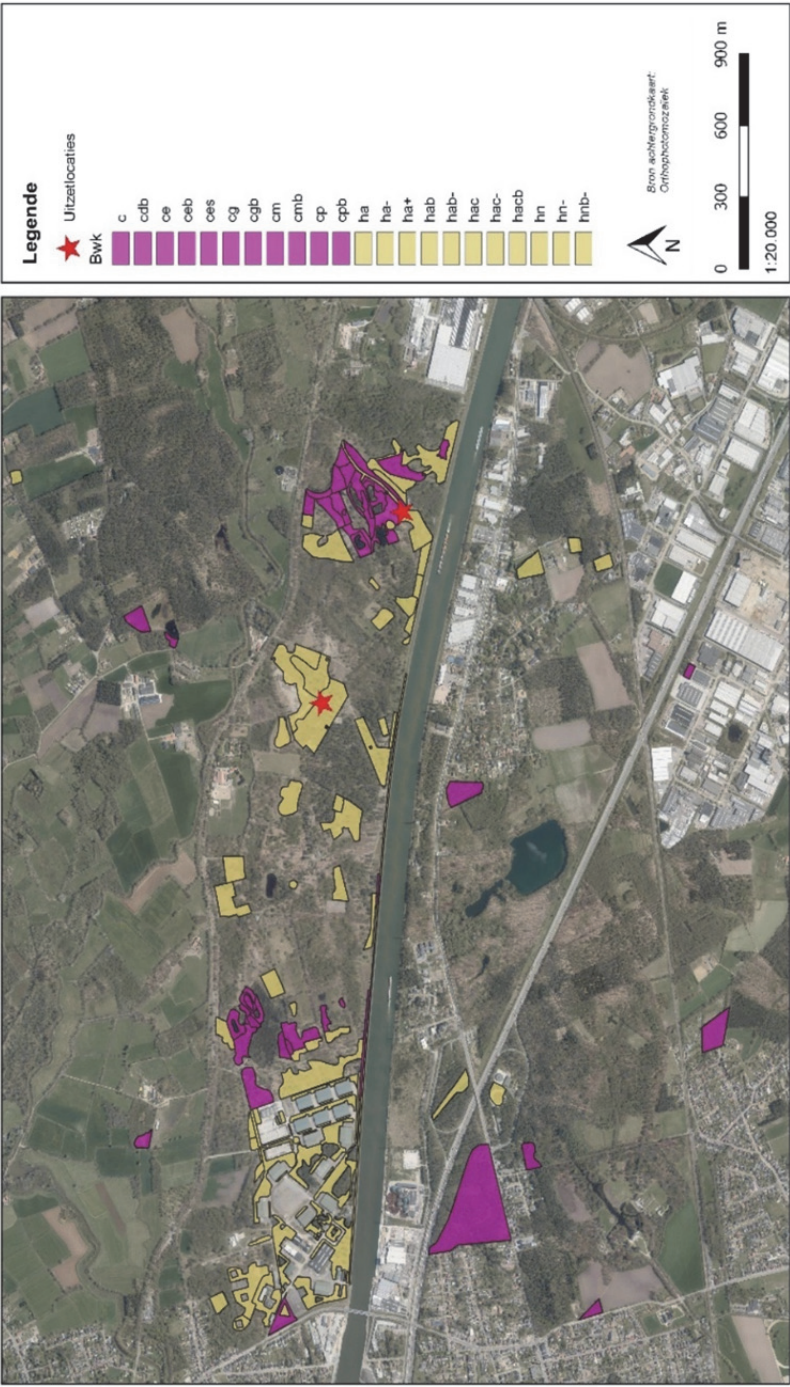
8.4 DE MEEST GESCHIKTE LOCATIES VOOR TRANSLOCATIES

8.4.1 Kust-regio



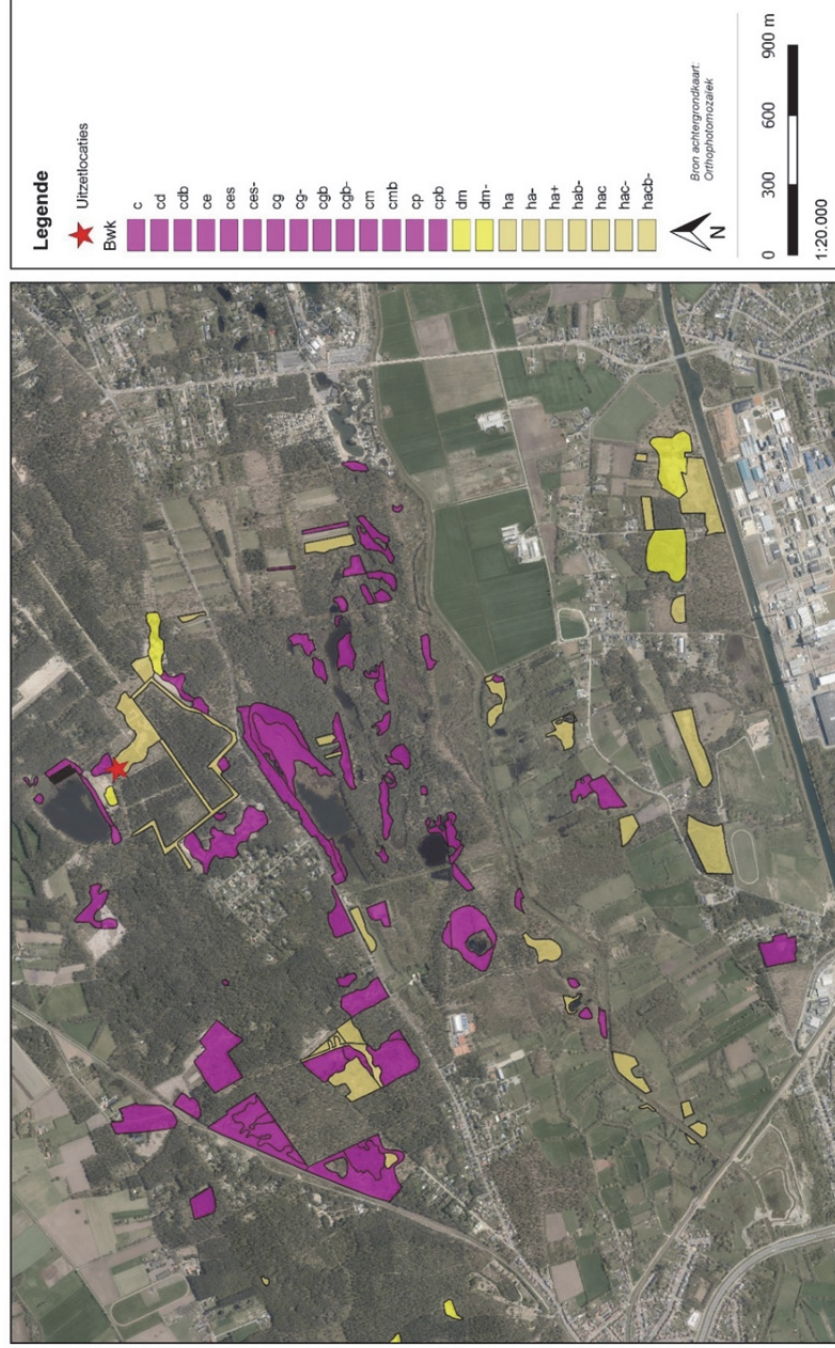
Figuur B19 Meest geschikte locaties (rode ster) voor de bijplaatsing van heivlinders in de Sint-Laureinsduinen. Een beschrijving van de legende van de Biologische Waarderingskaart (Bwk) is te vinden op <https://www.ecopedia.be/pagina/de-biologische-waarderingskaart>)

8.4.2 Centrale Kempen

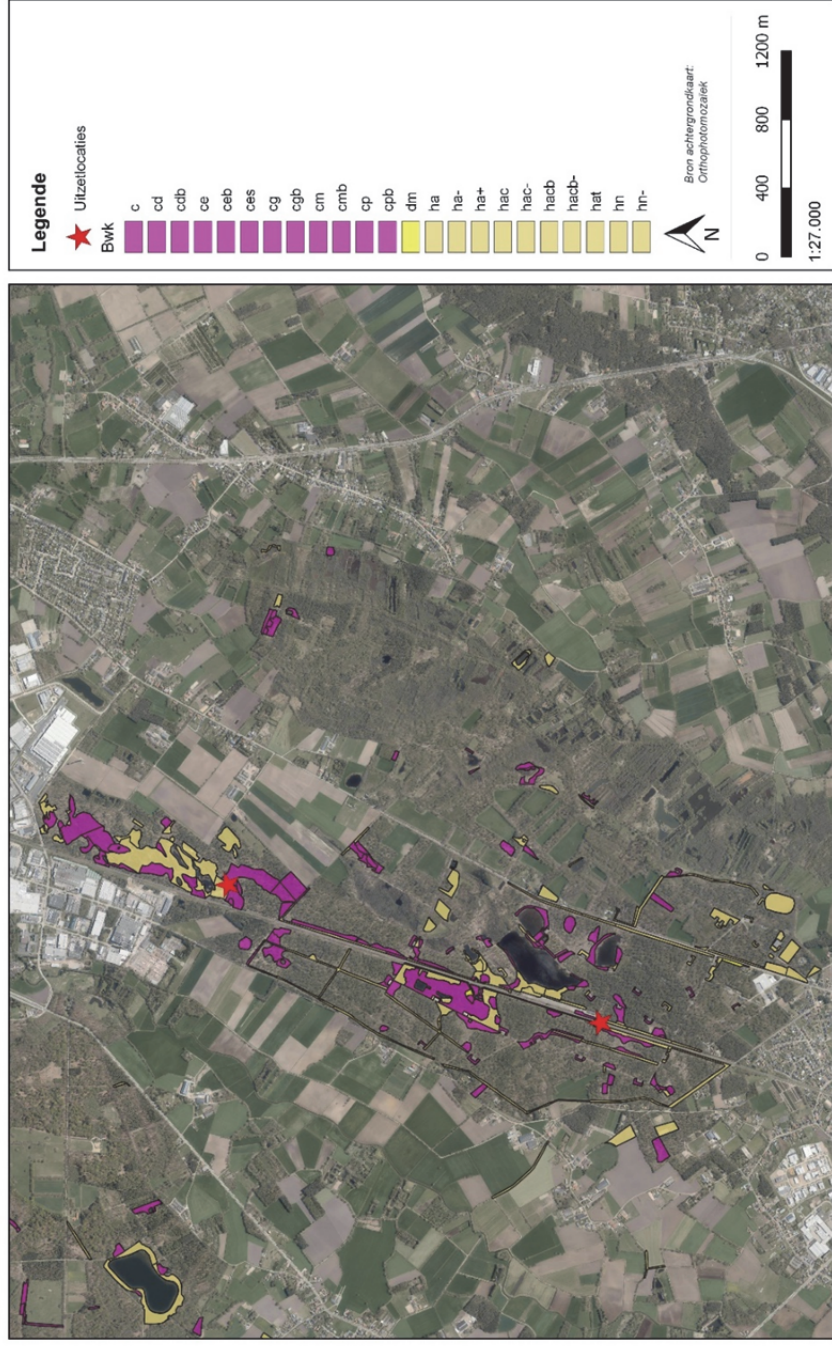


Figuur B20 Meest geschikte locaties (rode ster) voor de geassisteerde herkolonisatie van heivlinders in het Engels kamp in Grobbendonk. Een beschrijving van de legende van de Biologische Waarderingskaart (Bwk) is te vinden op <https://www.ecopedia.be/pagina/de-biologische-waarderingskaart>

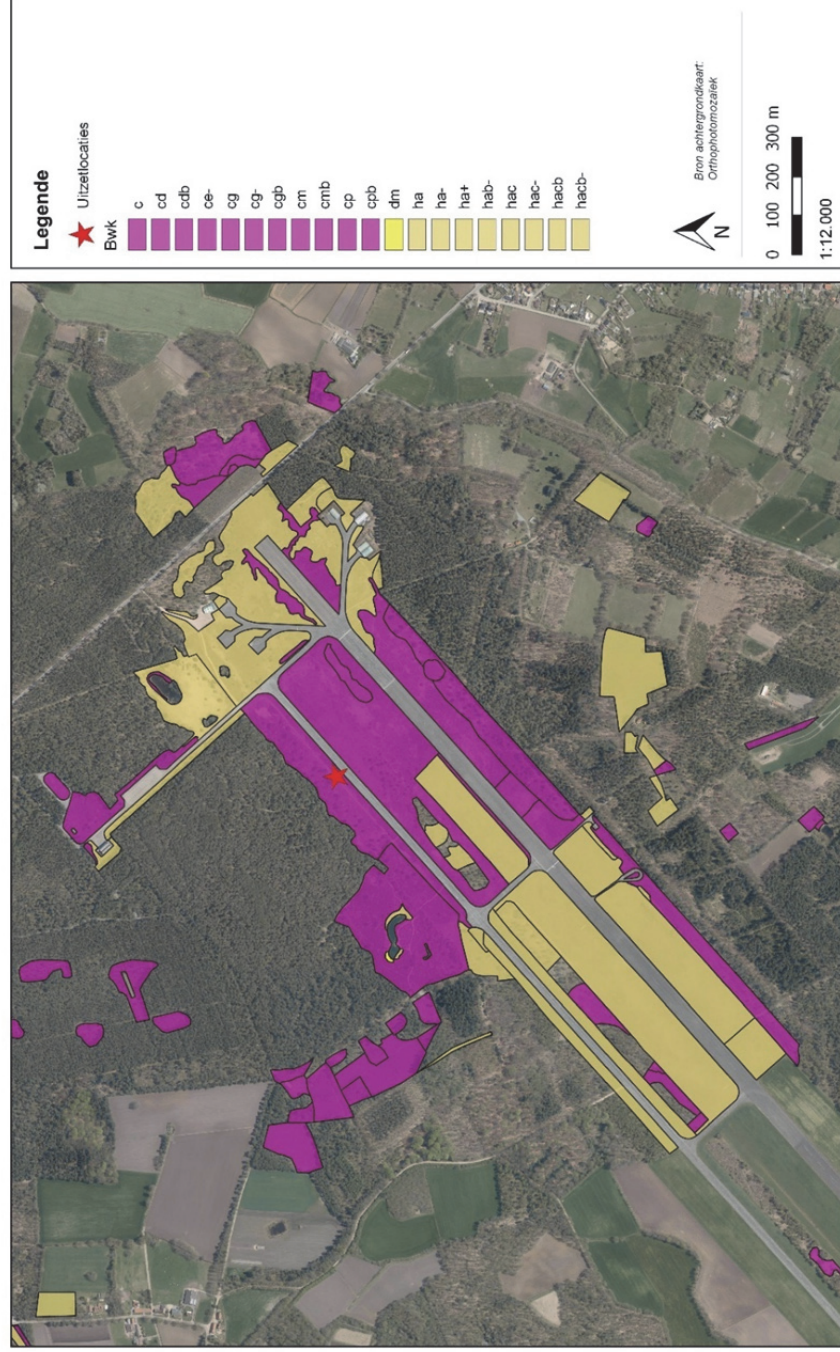
////////////////////////////////////



Figuur B21 Meest geschikte locatie (rode ster) voor de geassisteerde herkolonisatie van heivlinders in de Kempense Heuvelrug. Een beschrijving van de legende van de Biologische Waarderingskaart (Bwk) is te vinden op <https://www.ecopedia.be/pagina/de-biologische-waarderingskaart>



Figuur B22 Meest geschikte locaties (rode ster) voor de geassisteerde herkolonisatie van heivlinders in Tielenkamp. Een beschrijving van de legende van de Biologische Waarderingskaart (Bwk) is te vinden op <https://www.ecopedia.be/pagina/de-biologische-waarderingskaart>



Figuur B23 Meest geschikte locatie (rode ster) voor de geassisteerde herkolonisatie van heivlinders op het Vliegveld van Malle. Een beschrijving van de legende van de Biologische Waarderingskaart (Bwk) is te vinden op <https://www.ecopedia.be/pagina/de-biologische-waarderingskaart>

