

# Advies over de herintroductie van rugstreeppad in de Zwinstreek

Adviesnummer:	<b><u>INBO.A.3437</u></b>
Datum advisering:	<b>7 juni 2016</b>
Auteurs:	<b>Joachim Mergeay, Karen Cox, Jeroen Speybroeck</b>
Contact:	<b>Lon Lommaert (<a href="mailto:lon.lommaert@inbo.be">lon.lommaert@inbo.be</a>)</b>
Kenmerk aanvraag:	<b>ANB-INBO-BEL-2016-18</b>
Geadresseerden:	<b>Agentschap voor Natuur en Bos T.a.v. Jean-Louis Herrier Jacob van Maerlantgebouw Koning Albert I-laan 1-2 bus 74 8200 Brugge  <a href="mailto:Jean-Louis.herrier@Ine.vlaanderen.be">Jean-Louis.herrier@Ine.vlaanderen.be</a></b>
Cc:	<b>Agentschap voor Natuur en Bos Joris Janssen (<a href="mailto:joris.janssen@Ine.vlaanderen.be">joris.janssen@Ine.vlaanderen.be</a>) Hannah Van Nieuwenhuyse <a href="mailto:Hannah.vannieuwenhuyse@Ine.vlaanderen.be">Hannah.vannieuwenhuyse@Ine.vlaanderen.be</a> Evy Dewulf (<a href="mailto:Evy.dewulf@Ine.vlaanderen.be">Evy.dewulf@Ine.vlaanderen.be</a>)</b>

## Aanleiding

---

Het herstel van leefgebied voor rugstreeppad maakt deel uit van het LIFE+09 Natuurproject in de Zwinstreek. De herstelwerken zijn op terrein uitgevoerd in 2010-2011, maar de soort blijft vooralsnog afwezig bij gebrek aan spontane herkoloniseringskansen. Beschikbare gegevens geven eveneens aan dat de soort niet meer in de regio voorkomt. Een herintroductie met het oog op het ontwikkelen van een duurzame populatie werd aangeduid als een wenselijke en realistische actie. Bij de uitvoering stellen zich een aantal sterk praktijkgerichte vragen.

## Vraag

---

### 1. Met betrekking tot de over te dragen specimens:

- Het ANB denkt in eerste instantie aan het overplaatsen van ei-snoeren of larven gezien dat praktisch meest haalbaar is. Kan het INBO dit als goede optie bevestigen? Welk levensstadium van de soort wordt het best overgeplaatst: ei-larve-juveniel-adult? En welke risico's zijn verbonden aan welk levensstadium?
- Welke aantallen van specimens dienen overgeplaatst te worden?
- Welke ruimtelijke spreiding binnen de bronpopulatie/subpopulaties wordt aanbevolen bij het verzamelen van de over te dragen specimens?
- Hoe kunnen we een optimale genetische diversiteit verkrijgen (bv x-aantal eitjes van verschillende eisnoeren)?
- Dient de overplaatsing bij voorkeur gespreid te worden over meerdere jaren met het oog op een evenwichtige leeftijdsopbouw van de populatie?
- Met welke aandachtspunten dient rekening gehouden te worden om de goede conditie van de specimens te verzekeren bij het verzamelen, het transport en het vrijlaten?
- Zijn er bij het verplaatsen van specimens risico's op het verspreiden van ziekten? Zo ja, hoe kan dit worden vermeden?

### 2. Met betrekking tot het introductiemilieu:

- Welke abiotische en/of biotische factoren zijn van belang bij de keuze van de locaties waar de specimens worden vrijgelaten?
- Welke eventuele (al dan niet tijdelijke) technische ingrepen in het introductiemilieu zijn potentieel zinvol om de overlevingskans van de betrokken specimens te maximaliseren? Bijvoorbeeld met gaas afschermen van de introductieplaatsen zodat er geen watervogels de dikkopjes en masse komen opvreten en tijdelijk voorzien van overdieptes in de plassen zodat de herintroductie door droogvallen niet gehypothekeerd wordt, etc. ?

### 3. Met betrekking tot de bronpopulatie:

- Zijn er eventuele effecten te verwachten op de bronpopulatie?
- Zo ja, op welke wijze kan de significant negatieve impact ervan vermeden worden? Bij voorkeur verzamelen van eitjes/larven op plaatsen die dreigen op te drogen (komt relatief vaak voor)?

### 4. Met betrekking tot de opvolging:

- Zowel Cox & Mergeay (2015) als Lewylle et al. (2010) bevelen aan om de uitzetting met bijdrage van genetica te monitoren. Op welke manier kan een genetisch referentiepunt worden bepaald van de startpopulatie?

- Welke methoden zijn daarnaast (indicatief) bruikbaar om een opvolging van het succes van de uitzetting op het terrein te evalueren in de daaropvolgende jaren?

## Toelichting

---

### 1 Aantallen en stadia

#### 1.1 Levensstadium voor herintroductie

Er zijn vier mogelijke levensstadia voor herintroductie: eisnoeren, larven, juveniele individuen, adulte individuen. De grootste mortaliteit vindt bij rugstreepad (net als bij de meeste andere amfibieën) plaats in het larvale stadium: in gedetailleerde studies naar de demografie van rugstreepad (Banks & Beebee, 1988) overleefde slechts 1.75% van de gelegde eieren het eerste kalenderjaar, grotendeels als gevolg van larvale mortaliteit. Na metamorfose tot juveniel (J1) was de overleving tot tweejarig juveniel c. 15% (2J), en de daaropvolgende overleving tot adult was opnieuw c. 15%. Overleving van adulten (3 jaar en ouder) was veel hoger, c. 85% per jaar voor wijfjes en 47% per jaar voor mannetjes.

Mortaliteit tijdens het larvale stadium is in grote mate te wijten aan competitie voor voedsel (vertraagde groei) en predatie in combinatie met uitdrogingsrisico van de poel. Hoe sneller de groei, hoe korter de aquatische larvale fase, en hoe kleiner het risico op mortaliteit door uitdroging.

Van nature uit is het meest dispersieve levensstadium bij rugstreepadden het juveniele stadium (eerste kalenderjaar, K1). Adulten zijn daarentegen zeer trouw aan hun oorspronkelijke leefgebied of territorium (Husté et al. 2006), waardoor de kans dat ze emigreren uit het gebied waar ze geïntroduceerd werden, groot is. Bovendien is kweek volledig in gevangenschap (vertrekkende van adulte dieren) zeer moeilijk bij rugstreepad (Beebee et al. 1997). Deze twee factoren maken het gebruik van adulten niet raadzaam, ondanks de wetenschappelijke voordelen van een perfecte controle van de stamboom van de nakomelingen.

In de volgende paragrafen wordt per stadium aangegeven welke de voorwaarden zijn om herintroductiekansen te maximaliseren. Samenvattend wordt vervolgens aangegeven welke strategieën de voorkeur genieten.

#### 1.2 Aantallen

Het is aangewezen om bij introductie een heterozygositeit (een index van genetische diversiteit die direct relevant is voor inteelt) te behouden van 95% van de parentale (meta)populatie. Hiervoor is het nodig om minstens zoveel individuen te introduceren dat het aantal volwassen equivalenten een effectieve grootte van 10 individuen heeft: immers, de heterozygositeit van een stichtende populatie van  $N$  individuen heeft een verwachte heterozygositeit van  $1-(2N)^{-1}$ . Een stichtende populatie van  $N_e=10$  behoudt daardoor initieel 95% van de heterozygositeit van de bronpopulatie.

In tegenstelling tot in mature populaties, ligt de verhouding tussen de censusgrootte ( $N_c$ , het aantal volwassen dieren) en de effectieve grootte ( $N_e$ ) in stichtende populaties relatief dicht bij elkaar. Gemiddeld komt per jaar de helft van de adulte wijfjes tot reproductie (Banks et al. 1994) tot meer dan 70% (Denton & Beebee, 1993), hetgeen in een stichtende populatie kan zorgen voor een  $N_e/N_c \approx 0.5$ . Hierdoor kan het volstaan om het equivalent van 20 niet verwante dieren te introduceren om bij herintroductie 95% van de heterozygositeit van de bronpopulatie te behouden.

Na introductie is het essentieel dat de populatie zo snel mogelijk groeit tot een grootte waarbij verdere genetische verarming op korte termijn verwaarloosbaar is. Uit een eerder

analyse (Mergeay 2013) blijkt dat de aangewezen duurzame grootte van een rugstreeppadpopulatie (of metapopulatie) voor behoud van genetische diversiteit overeenkomt met een gebied van minimaal c. 120-210 ha en een populatiegrootte van c. 2500 adulte dieren (of een  $N_e=244$ ). Aangezien kustpopulaties doorgaans een hogere reproductie kennen dan populaties uit heidegebieden, ligt de minimale grootte van het leefgebied in het Zwin waarschijnlijk eerder bij 120 ha. Afhankelijk van het gebruikte levensstadium dat geïntroduceerd wordt en de methode die gebruikt wordt kan het initieel aantal propagulen (individuen) lager of hoger liggen. Hoe hoger het aantal stichtende individuen, vanuit een minimale  $N_e=20$ , hoe groter de kans op een succesvolle introductie. We adviseren daarom ook om een strategie te gebruiken die de initiële populatiegroei maximaliseert.

### 1.2.1 Eisnoeren of larven

Gezien een eisnoer van rugstreeppad (afhankelijk van de populatie) gemiddeld bestaat uit c. 1000 tot 5000 eitjes (Banks et al. 1993; Nöllert & Nöllert 2001; Drobenkov et al. 2005), en je onder natuurlijke condities moet starten met c. 2500 eieren om netto één geslachtsrijp individu te bekomen na 3 jaren, betekent dit dat je moet starten met circa 20 eisnoeren om aan een  $N_e=10$  te komen bij aanvang. Hoe meer larven per eisnoer overleven (bv. door bescherming van larven), hoe beter uiteraard, maar hierbij is idealiter aandacht om de variantie in overlevingssucces tussen legsels te minimaliseren. Immers, wanneer het verschil in reproductiesucces tussen stichtende individuen (in dit geval de ouders van de larve) groter wordt, neemt de effectieve populatiegrootte af omdat de variantie in reproductiesucces tussen ouders toeneemt.

Wanneer wordt geopteerd om onbeschermd larven of eisnoeren uit te zetten lijkt het aangewezen vanuit het oogpunt van genetische risicospreiding om in elke poel een mengsel van larven of eieren van verschillende legsels uit te zetten, eerder dan alle larven per legsel in dezelfde poel uit te zetten.

### 1.2.2 Beschermd larven, in situ of ex-situ

Het is mogelijk om de larven in de poelen waarin ze uitgezet worden van extra voedsel te voorzien, om zodanig de groeisnelheid te maximaliseren en het voortplantingssucces sterk te verhogen (zie bv. Beebee et al. 1997).

Wanneer vertrokken wordt van 20 legsels is het ook mogelijk om in semi-natuurlijke tot volledig artificiële condities larven op te kweken om zodanig het overlevingssucces sterk te verhogen boven de 1.75% die onder natuurlijke condities kan verwacht worden, tot wel 90% (Beebee et al. 1997). In dat geval worden larven gevoed met detritus, vissenvoer of konijnenkorrels in ondiepe bassins met een natuurlijk tot artificieel substraat tot metamorfose. Metamorfe juvenielen of oude larven worden daarop uitgezet in geschikt leefgebied. Alternatief worden larven in fijnmazige gazen predatorvrije kooien opgekweekt in de poelen waarin de legsels in de bronpopulatie zelf zijn afgezet. Vervolgens worden larven voor ze helemaal gemetamorfoseerd zijn (en overgaan naar een juveniel terrestrisch stadium) gevangen en overgeplaatst naar poelen in het daarvoor voorziene leefgebied. Beebee et al. (1997) geven een overzicht van de opkweek van larven in gevangenschap.

Een deel van de grote larven/metamorfen (de hoeveelheid die verwacht wordt te overleven onder natuurlijke condities) wordt in de bronpopulatie teruggezet teneinde de impact op de bronpopulatie te neutraliseren, de rest wordt gebruikt voor herintroductie, met aandacht om min of meer gelijke aantallen per legsels te introduceren teneinde de variantie in reproductiesucces tussen legsels te minimaliseren (variantie  $\leq$  gemiddelde aantal per legsel).

Het voordeel van een bescherming van larven is dat het finale introductiesucces sterk verhoogd kan worden omdat er meer individuen worden geïntroduceerd: uit experimenten

blijkt dat onder seminatuurlijke kweekcondities het overlevingssucces van ei tot metamorf verhoogd kan worden van c. 2% naar c. 35% (Banks & Beebee 1988). Daardoor is het in principe mogelijk om de populatie veel sneller te doen groeien tijdens de beginfase van de herintroductie, wat aldus gepaard gaat met minder verlies van genetische diversiteit tijdens de populatiegroeifase. In dit geval worden legsels ex-situ opgekweekt en worden finaal metamorfe juvenielen geïntroduceerd. In het geval van beschermde larven worden deze in-situ opgekweekt in poelen in het daarvoor voorziene leefgebied. Ook dan worden ze feitelijk pas losgelaten uit hun beschermde omgeving op het moment dat ze metamorfoser. In alle drie de bovenstaande gevallen (onbeschermde larven, beschermde larven, metamorfen) is het aangewezen om te vertrekken van c. 20 legsels. Als minimum aantal metamorfen die geïntroduceerd zouden moeten worden rekenen we terug van 20 adulten en overlevingskansen van 15% per jaar, hetgeen uitkomt op minstens 889 metamorfen, verspreid over 20 legsels. Met een minimale variantie tussen legsels komen we dan idealiter op een minimum aantal metamorfen per legsel van 45 individuen. Indien het reproductiesucces hoger ligt, mogen uiteraard meer metamorfen uitgezette worden. Hierbij is het aangewezen om de variantie in aantal uitgezette dieren per legsel niet groter te laten worden dan het gemiddelde aantal uitgezette dieren per legsel.

### 1.2.3 Post-juvenile dieren en adulten

De introductie van juveniele dieren in hun tweede kalenderjaar (het jaar voordien uit het ei gekomen) vereist een minimale introductie-inspanning van 134 dieren. De introductie van adulte dieren vereist een minimale inspanning van 20 dieren. De introductie van zowel tweedeaars als adulte dieren heeft verschillende nadelen: ten eerste heeft dit een directe impact op de bronpopulaties, omdat de populatie aldaar tenminste tijdelijk verkleind wordt. Het gebruik van larven of metamorfen, zeker wanneer deze semi-artificieel opgekweekt werden, kan leiden tot een grotere overleving dan noodzakelijk voor de herintroductie, waardoor het overschot kan teruggezet worden in de bronpopulatie, met een minimale impact tot gevolg. Ten tweede zijn zeker adulte dieren zeer plaatstrouw (Denton & Beebee 1993; Husté et al. 2006), en ze verplaatsen naar een nieuw gebied kan stress veroorzaken die een negatieve impact heeft op reproductie en die zelfs kan leiden tot emigratiepogingen uit het nieuwe gebied. Gezien de lage kansen op succes om rugstreeppad te kweken in gevangenschap (Beebee et al. 1997) en het hoge succes om opkweek te doen startend van eisnoeren, raden we dit dan ook af.

### 1.2.4 Samenvattend overzicht

Beebee et al. 1997 geven aan dat de beste optie voor herintroductie via kweek van dieren bestaat uit het oogsten van legsels en deze in semi-natuurlijke gevangenschap te kweken. Onderstaand overzicht geeft een samenvatting.

1. Eisnoeren (>20) oogsten en onbeschermd uitzetten in nieuwe poelen
  - a. Voordelen: Minimale inspanning.
  - b. Nadelen: Lage overleving, stress tijdens transport, trage populatiegroei, grote kans op falen, impact op lokale populatie.
2. Larven oogsten (van >20 verschillende eisnoeren) en onbeschermd uitzetten in nieuwe poelen
  - a. Voordelen: Zeer kleine inspanning
  - b. Nadelen: Aantal legsels moet gekend zijn, stress tijdens transport, lage overleving, trage populatiegroei, grote kans op falen, impact op lokale populatie.
3. Eisnoeren (<20) beschermen met gaas in poelen van oorsprong, en larven opkweken onder beschermde condities (tegen predatoren) met bijvoeding om competitie en larvale sterfte te minimaliseren. Oude larven worden uitgezette in nieuw gebied, een deel blijft in oude gebied.

- a. Voordelen: Transport wordt verschoven naar stadium dat resistenter is tegen stress. Hoge overleving en snelle populatiegroei, geen negatieve impact op lokale populatie-aangroei. Beschermd opstellingen kunnen indien nodig bij uitdroging verplaatst worden naar andere poel.
  - b. Nadelen: Regelmatige controle van beschermd opstellingen en bijvoeding nodig, met ruimtelijk verspreide inspanning in de bronpopulaties. Risico op uitdroging.
- 4. Eisnoeren of larven oogsten en uitzetten in nieuwe poelen met zelfde bescherming als in 3.
  - a. Voordelen: Hoge overleving en snelle populatiegroei, geen negatieve impact op lokale populatie-aangroei. Introductiepoelen kunnen ruimtelijk geconcentreerd zijn, wat controle vergemakkelijkt. Beschermd opstellingen kunnen indien nodig bij uitdroging verplaatst worden naar andere poel.
  - b. Nadelen: Stress van transport. Dagelijkse controle nodig, risico op uitdroging.
- 5. Eisnoeren oogsten en gebruiken in een opkweekprogramma in gevangenschap onder semi-natuurlijke condities.
  - a. Voordelen: Hoge overleving en snelle populatiegroei, geen negatieve impact op lokale populatie-aangroei. Dagelijks overzicht van situatie van de kweek, en mogelijkheid tot stabiliseren van waterstand op gewenste peil zonder risico op uitdroging.
- 6. 1<sup>e</sup> KJ juveniele dieren (c. 900) vangen en uitzetten in nieuw gebied.
  - a. Voordelen: kan gespreid in de tijd gebeuren binnen één seizoen.
  - b. Nadelen: grote vangstinspanning, hogere impact op lokale populatie. Vergt grote inspanning bij genotypering door gebrek aan kennis van verwantschap tussen individuen.
- 7. Adulte dieren (>40) vangen en uitzetten in nieuwe gebied.
  - a. Voordelen: Kan ad-hoc gebeuren. Elk geïntroduceerd individu kan gegenotypeerd worden.
  - b. Nadelen: Grote vangstinspanning, hoge impact op lokale populatie, hoog risico op emigratie uit introductiegebied. Sterfte bij adulten voor reproductie in introductiegebied moet eveneens ingecalculeerd worden.
- 8. Adulte dieren (>20) vangen en gebruiken in kweekprogramma. 1<sup>e</sup> KJ juveniele dieren of bijna gemetamorfoseerde larven worden uitgezet na opkweek onder (volledig) beschermd condities.
  - a. Voordelen: Wetenschappelijk gezien de meest ideale werkwijze. Optimale controle van pedigree van ouderdieren en nakomelingen, hetgeen een gunstige startsituatie voor monitoring geeft. Sterke controle van variantie in reproductiesucces en dus maximale effectieve populatiegrootte bij introductie. Hoogste overleving, snelle populatiegroei, minimale impact op lokale populatie wanneer deel van nakomelingen met adulten ook in gebied van oorsprong teruggezet wordt.
  - b. Nadelen: vergt zeer grote kweekinspanning en expertise om adulte dieren broeds te krijgen (mogelijk hormonale injectie nodig), invasief voor adulte dieren. Meest complexe werkwijze. Lage kans op succesvolle kweek.

## 2 Bronpopulaties

Uit de studie van Cox & Mergeay (2015) blijkt dat de genetisch meest voortvarende populatie van rugstreeppad in de kustregio deze van de Westhoek is (De Panne), zowel wat betreft heterozygositeit als effectieve grootte. Zij adviseren om een herintroductie in het

Zwin te laten starten vanuit een gemengde basis, met zowel genetisch materiaal uit Westhoek, Ter Yde als Noordduinen en Oosthoek. Het aandeel van elk zou idealiter proportioneel zijn aan de effectieve populatiegrootte in elk van de deelgebieden. In dat geval zouden circa 15 legsels uit Westhoek gebruikt worden, 3 uit Ter Yde en 2 uit Oosthoek-Noordduinen.

### 3 Eigenschappen van leefgebied

Beebee et al. (1997) geven een duidelijk overzicht van de habitatvereisten van rugstreeppad. Poelen om legsels / larven in uit te zetten zijn biologisch zo eenvoudig mogelijk (geen complex voedselweb aanwezig) met vooral primaire producenten (diatomeeën en andere ééncellige wieren), een minimum aan invertebrate predatoren (bootsmannetjes, waterroofkevers en hun larven, libellenlarven, ... ) of vertebrate predatoren en competitoren (vissen, andere amfibieën zoals gewone pad, bruine kikker). De poelen zijn zonbeschenen, vegetatiearm (bij voorkeur vegetatieloos), meso- tot eutroof en hebben  $pH > 6$ . Dit onderdeel van het leefgebied (snel opwarmende, biologisch eenvoudige en matig voedselrijke tijdelijke plasjes) moet zeer goed ontwikkeld zijn in het Zwin. Bij voorkeur gaat het daarbij om ondiepe plassen met zwak hellende oevers. Legselpredatie en vooral competitie met bruine kikker en gewone pad kunnen aanzienlijk zijn, met meer dan 75% afname in groeisnelheid en 40% langere duur tot metamorfose (Banks & Beebee, 1987). De competitievere soorten geven echter de voorkeur aan diepere plassen. De diepte van de plassen kan dus deze nicheoverlap beperken. Anderzijds kunnen ondiepe plassen te vroeg droogvallen. Daarom geniet het de voorkeur om in het gebied een waaier aan poelen met variabele (niet al te grote) diepte te voorzien. Een andere mogelijkheid is de legsels van de genoemde soorten uit de voortplantingswateren verwijderen. Ook de terrestrische habitat is van belang voor de duurzaamheid van de populatie. Het is open onbeschadigd gebied met uitgebreide zones met minimale of ontbrekende vegetatie.

### 4 Leeftijdsopbouw en herhaling

Een herhaling van de introductie-inspanning gedurende 2-3 jaren verhoogt de kans op een succesvolle vestiging, doordat de populatie sneller kan aangroeien, meer genetische diversiteit herbergt en natuurlijke stochastische (bv. seizoensale) factoren worden gemilderd. Gezien de variabele aard van het voortplantingssucces van deze soort (in functie van weersomstandigheden) lijkt dit aangewezen.

### 5 Andere aspecten

Het kort bewaren of transporteren van de eieren en/of larven gebeurt best in het poelwater waar ze gevonden werden. Temperatuurschokken dienen te worden vermeden.

De schimmel *Saprolegnia infestans* is een belangrijke oorzaak van sterfte van embryo's bij amfibieën. Infectie kan vermeden worden door de watertemperatuur voldoende hoog te houden ( $> 18^{\circ}\text{C}$  overdag) en de pH boven 6 te houden. Verder zijn de gangbare aanbevelingen om andere pathogenen zoals ranaviri en chytrid infectie te vermijden, van kracht. We verwijzen hier naar de standaardprocedure [https://www.natuurenbos.be/sites/default/files/inserted-files/2015-bioveiligheid\\_bd\\_bs\\_r\\_amfibie.pdf](https://www.natuurenbos.be/sites/default/files/inserted-files/2015-bioveiligheid_bd_bs_r_amfibie.pdf).

Ook het overplaatsen van invasieve plantensoorten, met name watercrassula (*Crassula helmsii*) dient nauwlettend worden vermeden door bij elke verplaatsing materiaal (laarzen, netten, recipiënten, ...) te controleren; zelfs de kleinste fragmenten kunnen gevolgd worden door enorme vegetatieve aanwas.

## 6 Monitoring van herintroductie

### 6.1 Genetische monitoring

Voor de genetische monitoring zijn idealiter de genotypes van de uitgezette individuen gekend. Dit laat toe om een stamboom uit te werken waarmee de nakomelingen en de daaruit volgende nieuwe ouderdieren in de daaropvolgende jaren vergeleken kunnen worden. Bij subadulten en adulten worden hiertoe mondswabs genomen. Als hele eisnoeren uitgezet worden, zou dit echter betekenen dat 1000-den stalen genomen zouden moeten worden. Een compromis is een subset te nemen per legsel van bijvoorbeeld 5 larven (dit zijn dan broers en zussen). Dit laat toe om de parentale genotypes te reconstrueren en dus als referentiepunt de generatie ervoor te gebruiken. Zoals beschreven door Cox & Mergeay (2015) worden staartpuntjes van de larven genomen. Deze individuen worden dan met een set van microsatellieten genetisch geïdentificeerd. Indien de introductie over meerdere jaren herhaald wordt, wordt ook de genetische karakterisering herhaald. We raden aan om minstens 20 verschillende microsatellietmerkers te gebruiken voor de genetische monitoring.

Verdere genetische opvolging van de populatie laat toe om het effectief aantal ouders, de effectieve populatiegrootte (wanneer data over meerdere generaties beschikbaar zijn), de gemiddelde heterozygositeit, de mate van inteelt en de trends in deze maten te bepalen. Ook kan men met maten van verwantschap bepalen of inteelt een bedreiging vormt. Na evaluatie van een geslaagde herintroductie wordt de populatie om de twee generaties gevolgd (ongeveer 6-8 jaar) (Cox & Mergeay, 2015). Omdat de eerste fase bij introducties doorgaans cruciaal is, is een tussentijdse opvolging na de eerste 3 à 4 jaar wenselijk. De resultaten uit de genetische monitoring zullen aangeven of de populatie op de lange termijn levensvatbaar is, dan wel dat er bijsturing (bijv. met bijkomende uitzetting) nodig is.

### 6.2 Demografische monitoring

In het kader van de monitoring van Natura2000-soorten wordt ook voor de rugstreeppad een gewestelijk meetnet opgezet (De Knijf *et al.*, 2014). Hierbij wordt 2x per jaar het aantal roepende mannetjes geteld *en* op latere datum het aantal eisnoeren. Dit is een vrij beperkte monitoringsinspanning die bovendien enkel dient om op gewestelijk niveau een trend te bepalen (programmamonitoring). Voor het opvolgen van een (lokale) introductie is meer doorgedreven projectmonitoring aan de orde.

Een aantal soortkenmerken komen van pas bij monitoring:

- Mannetjes hebben een karakteristieke, ver (minstens 1km) dragende roep;
- Wijfjes leggen doorgaans 1 snoer per jaar in ondiep vegetatieloos water, meestal uit de buurt van andere legsels;
- Legsels zijn vrij eenvoudig te herkennen;
- Metamorfen zijn dagactief en blijven nog geruime tijd in de buurt van de poel.

We stellen een monitoringsprogramma met drie luiken voor.

1. Omwille van de lange duur van de roepperiode en de niet accurate voorspelbaarheid (o.b.v. klimatologische data), het feit dat niet roepende satellietmannetjes in variabele abundantie voorkomen en mannetjes zich onvoorspelbaar verplaatsen van de ene naar de andere poel gedurende één nacht (Denton & Beebee, 1993), is monitoring aan de hand van het aantal mannetjes problematisch en in grote



populaties zelfs onmogelijk (Buckley & Beebee 2004). Als ruwe indicatie en omwille van de eenvoudige werkwijze, lijkt het tellen van roepende mannetjes pragmatisch desalniettemin zinvol, zeker bij een nieuwe populatie.

2. Aangezien wijfjes doorgaans slechts één legsel per jaar produceren, is het tellen van legsels een (accuratere) manier om het aantal volwassen (reproducerende) vrouwtjes op te volgen en wellicht de beste methode om de populatie op te volgen. Dit kan bovendien overdag, ongeacht de weersomstandigheden gebeuren. Echter, ook hier geldt een onnauwkeurigheid, aangezien een groot (ongekend) deel van de aanwezige wijfjes niet elk jaar lijkt deel te nemen aan de voortplanting (doorgaans meer bij natte lentes). Bovendien kan het detecteren van legsels belemmerd worden, vooral bij hoge waterstanden. Dit alles kan enigszins geïnterpreteerd worden in functie van te hoge of te lage waterstanden. Betrouwbare relatieve groottes van het aantal reproductieve wijfjes kunnen echter pas na 10 jaar tellen worden bepaald (Buckley & Beebee, 2004). Dat neemt echter niet weg dat voor een nieuwe populatie de vastgestelde aantallen niet reeds indicatief kunnen zijn voor de ontwikkeling van de populatie.
3. Het tellen van metamorfen (juvenielen) kan niet kwantitatief worden uitgevoerd, maar hun afwezigheid tijdens meer dan twee opeenvolgende jaren geldt als alarmsignaal. Rugstreeppadden worden vaak 7-8 jaar oud, dus effecten van ontbrekend voortplantingssucces zullen dan ook binnen dergelijke termijn tot extinctie leiden.

Om de vastgestelde aantallen te kunnen duiden t.o.v. regionale trends, verdient het aanbeveling als controle dezelfde monitoring uit te voeren in bv. de Westhoek. Een voorgestelde timing en frequentie waarmee geteld moet worden zijn weergegeven hieronder.

Roepende mannetjes: 1 mei – 15 juni; min. 2x

Legsels: mei – juni; min. 2x

Metamorfen: juni-juli; min. 2x

De gegevens worden best verzameld per poel. Bovendien kan best ook de permanentie van het poelwater worden genoteerd en eventueel beheersmatig worden gecorrigeerd. Verder kan ook de aanwezigheid van predatoren en competitoren worden genoteerd om eventuele actie te ondernemen.

Aandacht voor deze variabelen laat toe na te gaan waar eventuele problemen zijn en van welke aard die zijn, namelijk of het om intrinsieke effecten gaat (zoals inteelt) of extrinsieke biotische (predatie, competitie, pathogenen, voedsel, ...) of abiotische effecten (uitdroging van poelen, temperatuur, pH, ...)

## Conclusie

---

1. Met betrekking tot de over te dragen specimens:

- Het ANB denkt in eerste instantie aan het overplaatsen van eisnoeren of larven gezien dat praktisch meest haalbaar is. Kan het INBO dit als goede optie bevestigen? Welk levensstadium van de soort wordt het best overgeplaatst: ei-larve-juveniel-adult? En welke risico's zijn verbonden aan welk levensstadium?
  - Eisnoeren worden best gebruikt om een opkweek te starten van larven, waarna larven vlak voor de metamorfose worden uitgezet in het leefgebied. De pro's en contra's van elk stadium zijn besproken.

- Welke aantallen van specimens dienen overgeplaatst te worden?
  - Het equivalent van 20 genetisch niet-verwante adulte dieren dient overgeplaatst te worden. Dit kan bekomen worden door 20 legsels op te kweken en de larven uit te zetten.
- Welke ruimtelijke spreiding binnen de bronpopulatie/subpopulaties wordt aanbevolen bij het verzamelen van de over te dragen specimens?
  - Idealiter zouden circa 15 legsels uit Westhoek gebruikt worden, 3 uit Ter Yde en 2 uit Oosthoek-Noordduinen.
- Hoe kunnen we een optimale genetische diversiteit verkrijgen (bv x-aantal eitjes van verschillende eisnoeren)?
  - Dit wordt gedekt door het aantal legsels (20) en de ruimtelijke spreiding ervan uit de bronpopulaties.
- Dient de overplaatsing bij voorkeur gespreid te worden over meerdere jaren met het oog op een evenwichtige leeftijdsopbouw van de populatie?
  - Herhaling van de inspanning (tweemaal 20 legsels) is aangewezen.
- Met welke aandachtspunten dient rekening gehouden te worden om de goede conditie van de specimens te verzekeren bij het verzamelen, het transport en het vrijlaten?
  - Gebruik het eigen poelwater, vermijd temperatuur- en pH-schokken en volg de geldende regels inzake ziekteverspreiding. Laat de dieren vrij op zo laat mogelijke leeftijd om ze robuuster te maken.
- Zijn er bij het verplaatsen van specimens risico's op het verspreiden van ziekten? Zo ja, hoe kan dit worden vermeden?
  - Volg de geldende regels inzake ziekteverspreiding: [https://www.natuurenbos.be/sites/default/files/inserted-files/2015-bioveiligheid\\_bd\\_bs\\_r\\_amfibie.pdf](https://www.natuurenbos.be/sites/default/files/inserted-files/2015-bioveiligheid_bd_bs_r_amfibie.pdf)

## 2. Met betrekking tot het introductiemilieu:

- Welke abiotische en/of biotische factoren zijn van belang bij de keuze van de locaties waar de specimens worden vrijgelaten?
  - Zie Beebee et al. (1997) voor een zo volledig mogelijk overzicht.
- Welke eventuele (al dan niet tijdelijke) technische ingrepen in het introductiemilieu zijn potentieel zinvol om de overlevingskans van de betrokken specimens te maximaliseren? Bijvoorbeeld met gaas afschermen van de introductieplaatsen zodat er geen watervogels de dikkopjes en masse komen opvreten en tijdelijk voorzien van overdieptes in de plassen zodat de herintroductie door droogvallen niet gehypothekeerd wordt, etc. ?
  - Dit is nuttig indien er geen ex-situ opkweek gebeurt om de overlevingskansen te maximaliseren.

## 3. Met betrekking tot de bronpopulatie:

- Zijn er eventuele effecten te verwachten op de bronpopulatie?
  - Ja, maar deze kunnen geëlimineerd worden door een deel van de opgekweekte dieren terug te plaatsen in de bronpopulatie.

- Zo ja, op welke wijze kan de significant negatieve impact ervan vermeden worden? Bij voorkeur verzamelen van eitjes/larven op plaatsen die dreigen op te drogen (komt relatief vaak voor)?
    - Effecten kunnen vermeden worden door een surplus aan larven, bekomen door een beschermde opkweek, terug in het oorspronkelijke leefgebied uit te zetten.
4. Met betrekking tot de opvolging:
- Zowel Cox & Mergeay (2015) als Lewylle et al. (2010) bevelen aan om de uitzetting met bijdrage van genetica te monitoren. Op welke manier kan een genetisch referentiepunt worden bepaald van de startpopulatie?
    - Elke introductie dient gepaard te gaan met een staalname die toelaat een aantal basisparameters te meten, zoals hierboven uitgelegd.
  - Welke methoden zijn daarnaast (indicatief) bruikbaar om een opvolging van het succes van de uitzetting op het terrein te evalueren in de daaropvolgende jaren?
    - Traditionele monitoring van de verschillende levensstadia is aangewezen, met tellen van roepende mannetjes, tellen van legsels en opvolgen van de aanwezigheid/afwezigheid van juvenielen gedurende de eerste 5-10 jaren na introductie.

## Referenties

---

- Banks, B., and T. J. C. Beebee. 1988. Reproductive Success of Natterjack Toads *Bufo calamita* in Two Contrasting Habitats. *Journal of Animal Ecology* 57:475-492.
- Banks, B., and T. J. C. Beebee. 1987. Diurnal spawning behavior in the natterjack toad *Bufo calamita*. *Herpetological Journal* 1:154-155.
- Banks, B., T. J. C. Beebee, and A. S. Cooke. 1994. Conservation of the natterjack toad *Bufo calamita* in Britain over the period 1970-1990 in relation to site protection and other factors. *Biological Conservation* 67:111-118.
- Beebee, T., J. Denton, and S. Wroot. 1997. The Natterjack Toad Conservation Handbook (Species Recovery Programme). English Nature. ([http://obozzivelnici.wbs.cz/natterjack\\_toad.pdf](http://obozzivelnici.wbs.cz/natterjack_toad.pdf))
- Buckley, J., and T. J. C. Beebee. 2004. Monitoring the conservation status of an endangered amphibian: the natterjack toad *Bufo calamita* in Britain. *Animal Conservation* 7:221-228.
- Cox, K., and J. Mergeay. 2015. Genetische beoordeling van potentiële bronpopulaties rugstreeppad voor herintroductie in Zwinstreek. (Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek. INBO.R.2015.9091964). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek.
- Denton, J. S., and T. J. C. Beebee. 1993. Density-related features of natterjack toad (*Bufo calamita*) populations in Britain. *Journal of Zoology* 229:105-119.
- De Knijf G., Westra T., Onkelinx T., Quataert P. & M. Pollet (red.) (2014). Monitoring Natura 2000-soorten en overige soorten prioritair voor het Vlaams beleid. Blauwdrukken soortenmonitoring in Vlaanderen. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2014 (INBO.R.2014.2319355). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel.
- Drobenkov, S. M., R. V. Novitsky, L. V. Kosova, K. K. Ryzhevich, and M. M. Pikulik. 2005. The Amphibians of Belarus. Pensoft Publishers, Sofia - Moscow.
- Husté, A., J. Clobert, and C. Miaud. 2006. The movements and breeding site fidelity of the natterjack toad (*Bufo calamita*) in an urban park near Paris (France) with management recommendations. *Amphibia-Reptilia* 27:561-568.
- Mergeay, J. 2013. Analyse van de mogelijke verbindingen voor amfibieën en reptielen in de S-IHD rapporten. Adviezen van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek. INBO.A.2013.66.
- Nöllert, A., and C. Nöllert. 2001. Amfibieëngids van Europa. Tirion Uitgevers BV, Baarn, Nederland.