

Advies betreffende twee translocatiestrategieën voor de vroedmeesterpad

Adviesnummer:	<u>INBO.A.3535</u>
Auteur(s):	Joachim Mergaey & Jeroen Speybroeck
Contact:	Lode De Beck (lode.debeck@inbo.be)
Kenmerk aanvraag:	e-mail van 12 januari 2017 ; ANB-INBO-BEL-2017-1
Geadresseerden:	Agentschap voor Natuur en Bos T.a.v. Floris Verhaeghe Koning Albert I-laan 1.2 bus 74 8200 Brugge Floris.verhaeghe@vlaanderen.be

Dr. Maurice Hoffmann
Administrateur-generaal wnd.

Aanleiding

Momenteel werkt het studiebureau Antea Group Belgium NV (verder kortweg Antea) in opdracht van het Agentschap voor Natuur en Bos (verder kortweg ANB) aan het ontwerp-soortenbeschermingsprogramma voor de vroedmeesterpad. Dit soortenbeschermingsprogramma (verder kortweg SBP) beoogt onder andere het realiseren van de Gewestelijke Instandhoudingsdoelstellingen (verder kortweg G-IHD-doelen) voor de soort (minstens twintig populaties met telkens minstens tweehonderd roepende mannetjes).

Uit de analyse van de actuele populaties blijkt enerzijds dat er geen twintig populaties meer zijn, daarnaast liggen de huidige aantallen in de resterende populaties flink onder de tweehonderd roepende mannetjes per populatie. Een aantal populaties bestaat zelfs nog maar uit slechts enkele roepende mannetjes. De kans op overleving van dergelijke populaties is wegens het erg beperkt aantal resterende individuen op korte termijn wellicht erg klein geworden, zelfs indien het leefgebied alsnog optimaal zou worden hersteld. Gezien verschillende populaties sterk geïsoleerd voorkomen, is het weinig waarschijnlijk dat genetische uitwisseling tussen populaties nog spontaan kan gebeuren binnen de huidige landschappelijke context. Hierdoor lijkt geassisteerde genmigratie (via translocatie van individuen) een essentieel onderdeel van het behoud van deze populaties.

Omdat het de bedoeling van het SBP is om op (lange) termijn de G-IHD-doelen te halen, komen twee translocatiestrategieën in beeld (of, afhankelijk van de uitgangssituatie, een combinatie van beide):

Een eerste strategie kan er in bestaan om specimens (larven of adulten) van de populaties met acuut uitstervingsgevaar, waarvan wordt ingeschat dat er onvoldoende individuen resteren om zich nog duurzaam zelfstandig als populatie te kunnen handhaven, te verplaatsen naar populaties in de buurt waar nog meerdere individuen aanwezig zijn. Het genetisch materiaal van verschillende uitstervende relictpopulaties wordt zo samengebracht bij een populatie met betere toekomstperspectieven, wat de kans op het opbouwen van een gezonde populatie dient te verhogen (het genetisch materiaal van de populatie die op de rand van uitsterven staat, blijft zo behouden en kan versterkend werken bij introductie in andere populaties). De verhoogde fitheid en populatietoename in de ontvangende populatie, uiteraard in combinatie met gericht beheer van het leefgebied, moet nadien toelaten om te fungeren als bronpopulatie om teloorgegangene populaties opnieuw te stichten, zij het via spontane dan wel geassisteerde migratie. Een nadeel hiervan is dat de laatste individuen van bijna verdwenen populaties moeilijk te vinden zijn en het ook niet gezegd is dat er nog voortplanting optreedt waarbij dan evt. de makkelijker vindbare larven nog zouden getransloceerd kunnen worden.

Een tweede strategie bestaat uit het verplaatsen van individuen uit gezonde populaties met zeer veel larven uit nabije populaties in bvb. Nederlands Zuid-Limburg of aangrenzende streken in Wallonië (gezien het actueel ontbreken van voldoende grote populaties met reproductie-overschot in Vlaanderen), om op deze manier de genetische diversiteit en het aantal individuen in geïsoleerde Vlaamse populaties te doen toenemen. Voorafgaand wordt er eerst een genetisch onderzoek uitgevoerd van zowel de ontvangende populaties in Vlaanderen als de bronpopulaties in Nederland en Wallonië. Tijdens deze tijdspanne is het weliswaar waarschijnlijk dat van de sterk bedreigde populaties (cf. supra) amper individuen worden gevonden om te betrekken in het genetisch onderzoek en dat tijdens de duur van het onderzoek (en de nodige tijd om de vereiste formele stappen te nemen om vergunning te verkrijgen om specimens te verplaatsen over de gewestgrenzen heen) deze populaties nog verder achteruitgaan of zelfs helemaal verdwijnen.

Vraag

Met betrekking tot de eerste strategie:

Het is aangewezen dat voorafgaand aan het transloceren van specimens een genetische screening gebeurt van zowel de te verplaatsen als van de ontvangende populatie. Gezien de veronderstelde lage aantallen en tevens moeilijkheid van het vinden van individuen bij de populaties die zich op de rand van uitsterven bevinden, is dit voor de te transloceren populatie geen sinecure.

- 1) Is het opportuun om dergelijke individuen (larven of adulten) dan zonder voorafgaande genetische analyse te verplaatsen (weliswaar kunnen tijdens het transloceren genetische stalen worden genomen van de getransloceerde specimens om later na te gaan of en hoe het genetisch materiaal zich in de ontvangende populatie verspreidt)?
- 2) Hoeft het verlies van de genetische diversiteit van een relictpopulatie overigens wel als problematisch te worden gezien?
- 3) Is het zinvol om tijd en moeite te steken in het zoeken en verplaatsen van individuen van een niet-duurzaam geachte relictpopulaties of is het zinvoller de eerste strategie te vergeten en uitsluitend in te zetten op de tweede?

Met betrekking tot de tweede strategie:

De omvang van alle resterende populaties in Vlaanderen wordt op hooguit een tiental of enkel tientallen roepende mannetjes geschat.

- 4) Kan, vanuit algemeen geldende regels van de genetica, en verondersteld dat de geschatte populatieomvang correct is, gesteld worden dat bijplaatsing a priori noodzakelijk is voor een duurzame instandhouding?
- 5) Hoef je eerst de te versterken populaties te onderzoeken, in hoeverre die alsnog voldoende genetisch divers zijn en pas daarna, na analyse van die resultaten en indien dat inderdaad nodig blijkt, de genetica van een bronpopulatie te analyseren?
- 6) Of kan nu al gesteld worden o.b.v. de geschatte populatie-omvang dat bijplaatsing onvermijdelijk nodig is, waarbij beide onderzoeken dus parallel kunnen worden opgestart?

Toelichting

1 Genetische screening van populaties in het kader van levensvatbaarheid van populaties en risico-analyses bij genetische herstelstrategieën

1.1 Inleidende terminologie

Antropogene dispersie is de verzamelterm die we gebruiken voor verschillende vormen van actief menselijk ingrijpen in de verspreiding van organismen, zoals bijvoorbeeld herintroducties.

We onderscheiden binnen antropogene dispersie verschillende types van ingrepen, die hier van toepassing kunnen zijn. Met **herintroducties** bedoelen we het stichten van een nieuwe populatie via het opzettelijk uitzetten van een soort, wanneer deze soort uitgestorven is binnen dat (deel van het) areaal. Een herintroductie herstelt het oorspronkelijke areaal van die soort ten dele of geheel. **Geassisteerde migratie** (of kolonisatie) betreft een stichten van een nieuwe populatie via een opzettelijke uitzetting, binnen het bestaande areaal, zonder dat er sprake hoeft te zijn van extinctie op regionale schaal. Geassisteerde migratie imiteert het proces van rekolonisatie, na lokale extinctie. Wanneer het gaat om verplaatsingen tussen bestaande populaties spreken we van **geassisteerde genmigratie**. Men spreekt dan ook wel van **bijplaatsing**. **Translocatie** is het proces van de verplaatsing van een (deel van een) populatie van het ene naar het andere leefgebied. Dit advies behandelt grotendeels geassisteerde genmigratie, met als doel genetische

diversiteit in relictpopulaties van vroedmeesterpad te herstellen, als onderdeel van een ruimere herstelstrategie.

1.2 Doel van genetische studies bij antropogene dispersie

Het doel van het genetisch bestuderen van populaties voor herintroducties, geassisteerde (gen)migratie en translocaties bestaat uit het bepalen hoe de huidige toestand is, en genetische structuur tussen meerdere populaties in te schatten. Dit laat toe om 1) te testen of bepaalde populaties een verlaagde genetische diversiteit hebben ten opzichte van referentiepopulaties (populaties in een gunstige staat van instandhouding); 2) of we kunnen spreken van een genetische flessenhals, waarbij het soms ook mogelijk is om de timing van die flessenhals te bepalen; 3) om te bepalen in welke mate er genetische uitwisseling is tussen naburige populaties; en 4) om potenties op duurzaam voortbestaan te bepalen door de effectieve grootte van populaties te schatten en te vergelijken met genetische criteria voor duurzaam behoud van populaties op korte en op lange termijn (Mergeay, 2012). Momenteel zijn er geen gegevens beschikbaar van de genetische diversiteit en structuur van vroedmeesterpad in Vlaanderen.

De adviesvraag heeft specifiek betrekking op een dringend herstel van de genetische diversiteit van relictpopulaties van vroedmeesterpad in Vlaanderen, en welke strategie daarvoor meest geschikt is.

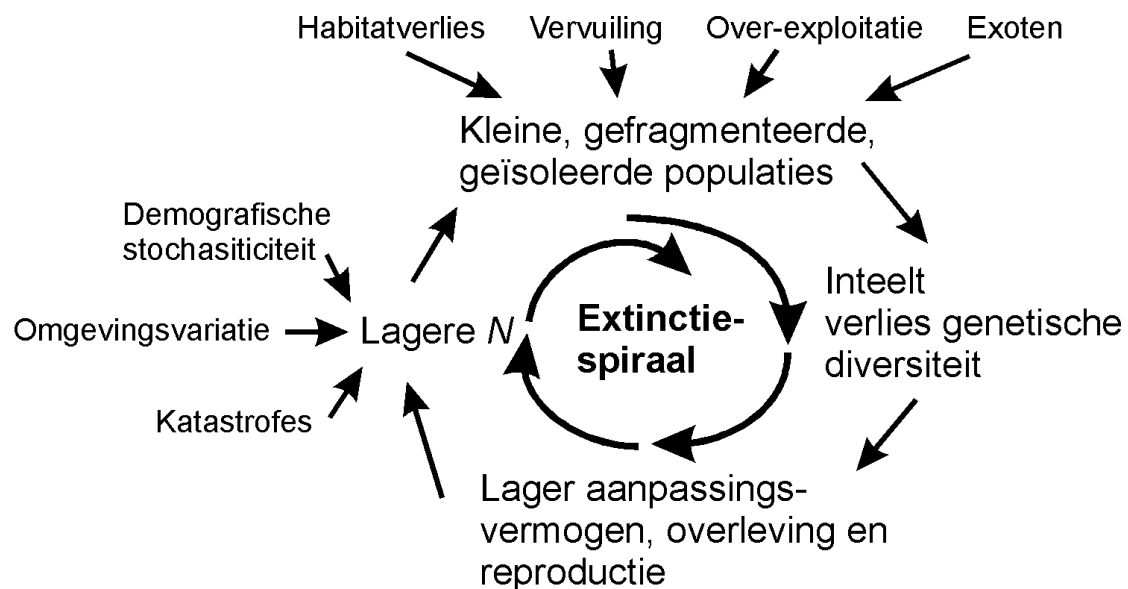
1.3 Inteelt in kleine populaties

Inteelt is het proces waarbij individuen van een populatie die met elkaar paren verwant zijn aan elkaar. Hoe kleiner populaties zijn, hoe sterker de verwantschap tussen individuen per generatie is. Daardoor wordt het voor individuen in kleine populaties nagenoeg onmogelijk om niet te paren met nauwe verwanten. Dit leidt tot een toename van homozygositeit: het gegeven dat de twee allelen (varianten van een gen) die een individu van zijn ouders heeft meegekregen dezelfde zijn. In normale seksuele populaties komen op vele tientallen genen disfunctionele allelen voor (i.e. de mutatielading), in lage frequentie. Doordat er bij diploïde organismen twee verschillende versies van een gen (allelen) kunnen voorkomen (het individu is dan heterozygoot op dat gen), kan de rol van een niet-functioneel allel overgenomen worden door het tweede, (mogelijks) wel functionele allel. Wanneer een individu evenwel homozygoot is (de twee allelen zijn gelijk) op het niet-functionele allel, is er geen backup meer van een (eventuele) gezonde variant. Het gevolg is dat de fitness van dat individu verlaagd is. Dit fenomeen noemt men inteeltdepressie: een verlies van fitness als gevolg van verhoogde homozygositeit. Algemeen genomen merkt men dat een toename van de inteelt met 1% in seksuele uitkruisende organismen (zoals de vroedmeesterpad) leidt tot een afname in fitness van 5% (Frankham, 2005). Fitnessverlies door inteeltdepressie is vooral belangrijk in populaties die vroeger groot en/of geconnecteerd waren met andere populaties, maar ofwel door een flessenhals zijn gegaan (wat genetisch vaak detecteerbaar is) en in aantal enigszins hersteld zijn, of die niet meer verbonden zijn met andere populaties, of die nog steeds in een flessenhals vertoeven. In het laatste geval riskeert een genetische vermenging van relictpopulaties slechts een kortstondig positief effect te hebben, indien de randvoorwaarden voor een duurzame grote populatie met voldoende leefgebied niet voldaan zijn.

1.4 Extinctiespiraal

Langdurige inteelt in steeds kleiner wordende populaties leidt uiteindelijk tot een extinctie, via het mechanisme van de extinctiespiraal (Fig. 1). De extinctiespiraal combineert externe invloeden op demografie, externe toevalligheden en inteelt tot een gevaarlijke cocktail van factoren die zonder ingrepen in deze positieve terugkoppeling van nefaste factoren leidt tot extinctie. Fragmentatie leidt tot kleinere populaties, wat leidt tot een verlies aan genetische diversiteit en inteelt. Inteeltdepressie, de verlaagde reproductie van een populatie door inteelt leidt tot een verdere afname in populatiegrootte, die daardoor nog gevoeliger wordt voor externe toevalsfactoren, en voor verdere inteelt. Dit kan leiden tot een situatie die zonder herstel van genetische diversiteit niet remedieerbaar is, zelfs bij herstel van het oorspronkelijke leefgebied. Geassisteerde genmigratie heeft tot doel om genetische diversiteit te herstellen, genetische lading te verminderen en inteeltdepressie om te keren. Om succesvol te zijn op meer dan een korte termijn, moet dit

altijd gepaard gaan met een herstel van leefgebied, om ook de draagkracht van de ontvangende populatie te vergroten. Herstel van leefgebied moet zodanig zijn dat de oorzaak van het initiële probleem, een te kleine lokale populatie, is geremedieerd. Geassisteerde (gen)migratie is dan ook de laatste stap in het populatieherstel, eerder dan de eerste.



Figuur 1. Schematische voorstelling van de verschillende factoren betrokken in de extinctiespiraal. Naar Frankham et al. 2010.

1.5 Voor- en nadelen van uitkruising

Het bijplaatsen van individuen in kleine geïsoleerde populaties die te lijden hebben onder inteelt (inteeltdepressie) heeft doorgaans een gunstig effect, omdat dit de nadelige effecten van sublethale allelen die in elk van de populaties in homozygote toestand (in twee kopieën per individu, door inteelt) voorkomen snel opheft en aldus de fitness van de populaties zeer sterk verhoogt. Effecten van vermenging bij ingeteelde populaties zijn spectaculair, gemiddeld genomen neemt de fitness toe met bijna 150% (Frankham 2015). Hoe sterker populaties op neutrale merkers verschillen, hoe duidelijker de effecten op fitnessstijging doorgaans zijn (Frankham 2015).

Vermenging van populaties kan evenwel ook een negatief effect teweegbrengen, namelijk uitkruisingsdepressie ("outbreeding depression"). Dit komt voor wanneer ouders genetisch te sterk verschillen op kenmerken die gelieerd zijn aan lokale adaptatie, of uitgesproken genomische (chromosomale) verschillen vertonen. Uit een uitgebreide meta-analyse van Frankham *et al.* (2011) blijkt dat het risico op uitkruisingsdepressie doorgaans erg klein is, zeker wanneer de populaties minder dan 500 j. geïsoleerd zijn van elkaar, en de huidige populaties in gelijkaardige leefomstandigheden voorkomen. Genetische isolatie gedurende de laatste 500 jaren is moeilijk vast te stellen, maar kan deels afgeleid worden uit historische verspreidingspatronen en kennis omtrent verspreidingsvermogen. Bovendien kan ook populatiegenetica gebruikt worden om genetische gelijkheid tussen populaties te evalueren, en in te schatten of de betrokken populaties voldoen aan de criteria van Frankham *et al.* (2011). Zelfs wanneer uitkruisingsdepressie voorkomt als gevolg van het kruisen van twee ingeteelde populaties, is dit doorgaans van korte duur: natuurlijke selectie zal kunnen inwerken op de toegenomen genetische diversiteit van de hybride populatie, met een uiteindelijke toename van de fitness en van het adaptatievermogen (Frankham *et al.* 2010).

2 Aanbevelingen voor Atlantische populaties vroedmeesterpad

Concreet betekent het bovenstaande dat voor Belgische relictpopulaties van vroedmeesterpad uit het Atlantische areaal (naast Vlaamse populaties ook Brusselse en Waalse populaties ten noorden van de scheiding Samber-Maas) wederzijdse bijplaatsingen als risicoarm worden ingeschat, terwijl de baten ervan waarschijnlijk sterk zijn, zeker in zeer kleine populaties. Randvoorwaarde is wel dat er voldoende geschikt leefgebied is om de populatie snel te doen groeien en verder verlies van genetische diversiteit op korte termijn te beperken. Idealiter bestaat er een metapopulatiestructuur die voldoende genetische uitwisseling toelaat tussen deelpopulaties (c. 10 immigranten per generatie, ofwel één effectieve migrant per generatie), die desnoods via antropogene dispersie verloopt. Mergeay (2012) geeft als voor aanbevolen metapopulatiegrootte voor vroedmeesterpad een effectieve (genetische) grootte van c. 244, hetgeen overeenkomt met een populatie van c. 2400 volwassen individuen.

Gezien de kritieke toestand waarin de populaties zich momenteel bevinden, en gezien het lage risico op uitkruisingsdepressie bij genetische vermenging, lijkt het aangewezen om (al dan niet wederzijdse) geassisteerde genmigratie simultaan te laten gebeuren met een genetische studie, eerder dan deze slechts te laten volgen op een genetische studie. Het vrij vertaalde advies hieromtrent van Frankham (2015) luidt dan ook: "De noodzaak om snel te handelen groeit uit het feit dat conservatiebiologie een crisisdiscipline is, waar het wachten op actie door een gebrek aan data dreigt te leiden tot een verdere achteruitgang en zelfs tot extinctie van populaties." We merken op dat we feitelijk niet weten of geassisteerde genmigratie noodzakelijk is voor behoud van de relictpopulaties van vroedmeesterpad (zie bv. Geeraerts & Mergeay (2012) voor een vergelijkbare studie op relictpopulaties van adder in Vlaanderen), maar schadelijk lijkt deze maatregel alleszins niet. Omdat de grootte van het leefgebied van huidige populaties, ook na herstel van het beschikbare leefgebied in optimale toestand, waarschijnlijk onvoldoende is, zal geassisteerde genmigratie naar alle waarschijnlijkheid (tijdelijk?) deel moeten uitmaken van een bredere herstelstrategie.

We verwijzen verder naar eerdere adviezen van het INBO omtrent duurzame populatiegroottes van vroedmeesterpad en de huidige evaluatie van Vlaamse populaties (Mergeay, 2013; Mergeay & Van Hove, 2013), en naar een nota "ecologische verbindingen vroedmeesterpad" uit 2012 (Bijlage 1).

3 Criteria voor immigranten en hun bronpopulaties

Bij de meeste amfibieën zijn adulten zeer filopatrisc (plaatstrouw), en leidt een verplaatsing van individuen uit hun vertrouwde omgeving tot zwerfgedrag. Van nature uit zijn juveniele individuen de meest dispersieve stadia. Idealiter gebeurt ook hier een antropogene dispersie met juvenielen. Antropogene dispersie van larven is af te raden, omdat mortaliteit bij larven doorgaans zeer hoog ligt. Beter is het om larven op te kweken tot juveniele individuen, en deze vervolgens vrij te laten in het doelgebied. We verwijzen hiervoor ook naar eerdere adviezen omtrent herintroductie van rugstreeppad (Mergeay *et al.*, 2016a), translocaties bij kamsalamander (Mergeay *et al.*, 2016b) en een advies inzake genetische aspecten van een soortenbeschermingsprogramma, inclusief aanbevelingen voor antropogene dispersie, bij knoflookpad (Mergeay, 2014).

Antropogene dispersie als beheermaatregel, in casu geassisteerde genmigratie, is aangewezen wanneer het gebrek aan genetische diversiteit de primaire oorzaak lijkt te zijn van het uitblijven van populatieherstel, of wanneer het op termijn riskeert te leiden tot een verlaging van de populatiefitness in geïsoleerde populaties. Te lage genetische diversiteit is een gevolg van een verlies aan diversiteit doordat de populatie te lang te klein is geweest. Wanneer geen directe bewijzen hiervan voorhanden zijn, kan men bij langdurig kleine populaties met weinig voortplanting in gunstig leefgebied ervan uitgaan dat een uitblijven van populatieherstel gelieerd is aan een gebrek aan genetische diversiteit. In dit geval is het verlies van genetische diversiteit waarschijnlijk niet de primaire oorzaak van de achteruitgang van de populaties, maar wordt het herstel ervan wel bemoeilijkt door het verlies aan genetische diversiteit dat gepaard ging met de

jarenlange achteruitgang. We weten echter niet in welke mate een eventueel gebrek aan genetische diversiteit momenteel een herstel in de weg staat.

De keuze van bronpopulatie(s) bij geassisteerde genmigratie wordt ingegeven door verschillende factoren. Primair wegen het risico op uitkruisingsdepressie en de verwachte baten door opheffen van inteeltdepressie. Dit risico moet per kruising van populaties worden afgewogen aan de hand van leefgebiedkarakteristieken. Grosso modo schatten we echter in dat binnen het Atlantische areaal er tussen Belgische populaties een laag risico is op uitkruisingsdepressie. Frankham (2015) geeft aan dat de kans op succes groter is wanneer migranten afkomstig zijn uit een grote populatie met hoge genetische diversiteit, dan wanneer ze komen uit kleine populaties met lage genetische diversiteit. Het lijkt daarom niet aangewezen om alle relictpopulaties met elkaar te kruisen, maar eerder om vanuit gezonde, grote populaties te vertrekken en daar individuen uit te betrekken, in zoverre dit mogelijk is. Het aantal migranten wordt best beperkt tot maximaal 50% van de ontvangende populatie (Frankham, 2015).

4 Antwoorden op de concrete vragen van ANB

ANB stelt twee strategieën van antropogene dispersie voor herstel van populaties vroegeestpad.

Strategie 1 bestaat uit het tijdelijk samenvoegen van relictpopulaties, teneinde één genetisch diverse populatie te krijgen die op die manier hopelijk de extinctiespiraal kan doorbreken. Enige tijd later worden de nakomelingen van deze populatie gebruikt voor geassisteerde rekolonisatie van de eerder verdwenen populaties. Het voordeel van deze strategie, tenminste wanneer relictpopulaties uit dezelfde regio komen (bv. toepasbaar op de verschillende relicten in de provincies Vlaams-Brabant, Waals-Brabant en Brussel) is dat het risico op uitkruisingsdepressie zeer klein is, omdat het naar alle waarschijnlijkheid gaat om populaties met een recente gemeenschappelijke evolutionaire geschiedenis, gezien de geografische nabijheid, meer bepaald het voorkomen in hetzelfde rivierbekken (Dijle). Hoe recent en hoe sterk verbonden die gemeenschappelijke geschiedenis is, kunnen we momenteel niet schatten. Bij andere amfibieën zien we dat de genetische differentiatie (uitgedrukt als F_{ST} , de fractie van genetische diversiteit die deelpopulaties delen met de totale populatie) tussen deelpopulaties op een gelijkaardige geografische schaal vaak niet groter is dan $F_{ST}=0.2$ (bv. Cox *et al.*, 2015; Schön *et al.* 2011; Vos *et al.* 2001; Wilson *et al.* 2008) hetgeen aangeeft dat doorgaans meer dan 80% van de genenpool van deelpopulaties gemeenschappelijk is. Dit aandeel aan gedeelde genetische diversiteit wordt algemeen beschouwd als het resultaat van (huidige of vroegere) sterke verbondenheid (Wright, 1951; Mills & Allendorf, 1996). Die verbondenheid was niet noodzakelijk rechtstreeks (tussen de huidige relicten) maar verliep waarschijnlijk via intussen uitgestorven intermediaire deelpopulaties. De verwachting is dus dat voor nabijgelegen populaties als deze uit het Dijlebekken het risico op uitkruisingsdepressie op basis van de criteria van Frankham *et al.* (2011) zeer klein is.

Strategie 2 bestaat erin om relictpopulaties te verrijken met individuen uit gezonde en grote populaties, die weliswaar noodgedwongen van verder afkomstig zijn en dus een minder recente gemeenschappelijke geschiedenis hebben. Indien de bij te plaatsen individuen uit hetzelfde biogeografische areaal afkomstig zijn, en onder gelijkaardige klimatologische condities voorkomen als de individuen in de doelpopulaties, is het geschatte risico uitkruisingsdepressie klein, en zijn de verwachte baten van uitkruising groot. Deze strategie laat toe om simultaan in meerdere geïsoleerde deelpopulaties (die in strategie 1 samengevoegd zouden worden) aan geassisteerde migratie te doen. Dit verhoogt daardoor alleszins de slaagkans ten opzichte van strategie 1. De keuze tussen beide strategieën zal evenwel sterk afhangen van de beschikbaarheid van bronpopulaties. We herhalen dat beide strategieën enkel zinvol zijn mits ter beschikking stellen van voldoende oppervlakte aan geschikt habitat.

Met betrekking tot strategie 1 rezen verschillende vragen:

- a) *Is het opportuun individuen (larven of adulten) zonder voorafgaande genetische analyse te verplaatsen, en de genetische analyses simultaan te laten verlopen met de antropogene dispersie?*

Gezien de zeer slechte toestand van de relictpopulaties en het laag gepercipieerde risico op uitkruisingsdepressie met nabije populaties (op basis van criteria van Frankham *et al.* 2011), en het hoge risico op verder fitnessverlies door inteeltdepressie (op basis van Frankham, 2015) is onmiddellijke geassisteerde migratie zeker verdedigbaar, simultaan met de start van een genetische studie en volgend op habitatherstel.

- b) *Hoeft het verlies van de genetische diversiteit van een relictpopulatie overigens wel als problematisch te worden gezien?*

Dat hangt af van het aantal relictpopulaties met een gemeenschappelijke achtergrond. Wanneer de regionale genetische diversiteit verlaagd wordt door het verlies van een relictpopulatie, dan is het antwoord op vraag b) positief (bv. bij boomkikker: Arens *et al.*, 2006). Gezien er nog maar zeer weinig relictpopulaties zijn, draagt elk bijkomend verlies nagenoeg zeker bij tot een verdere afname van de regionale genetische diversiteit. Behoud van genetische diversiteit van populaties aan de rand van het areaal wordt als belangrijk beschouwd, omdat men veronderstelt dat ze aanpassingen vertonen aan het leven in de marge van het areaal (Hampe & Petit, 2005).

- c) *Is het zinvol om tijd en moeite te steken in het zoeken en verplaatsen van individuen van niet-duurzaam geachte relictpopulaties of is het zinvoller de eerste strategie te vergeten en uitsluitend in te zetten op de tweede?*

Het is aangewezen om in niet-duurzaam geachte relictpopulaties na te gaan welke de oorzaken zijn van de niet-duurzame aard van de situatie. Indien de niet-duurzaamheid te maken heeft met een gebrek aan genetische diversiteit ten gevolge van een te kleine effectieve populatiegrootte en een gebrek aan genetische uitwisseling met andere populaties, kan dit gemitigeerd worden door 1) uitbreiding van leefgebied om verder verlies van genetische diversiteit tegen te gaan, en aansluitend 2) zorgen voor connectiviteit met andere leefgebieden teneinde natuurlijke genetische uitwisseling mogelijk te maken om genetische diversiteit te herstellen. Indien dit laatste niet lukt, kan geopteerd worden om recurrent genetische uitwisseling (via geassisteerde genmigratie) uit te voeren, in afwachting van alternatieve oplossingen. Bijkomend wijzen we erop dat de instandhoudingsverplichting die voortvloeit uit de Habitatrichtlijn stelt dat leefgebieden in slechte toestand terug geschikt moeten worden gemaakt, en dat de nodige maatregelen moeten worden getroffen om hier terug een duurzame situatie te creëren. A priori opgeven van relictpopulaties lijkt geen goede strategie, en zet de deur open voor willekeur in het behoud en beheer van populaties, en is onverenigbaar met voormelde instandhoudingsplicht, in casu het stilstandprincipe ten opzichte van de referentiesituatie in 1994, en het behoud van het areaal.

Met betrekking tot de tweede strategie stellen de volgende vragen zich:

De omvang van alle resterende populaties in Vlaanderen wordt op hooguit een tiental of enkel tientallen roepende mannetjes geschat.

- d) *Kan, vanuit algemeen geldende regels van de genetica, en verondersteld dat de geschatte populatieomvang correct is, gesteld worden dat bijplaatsing a priori noodzakelijk is voor een duurzame instandhouding?*

We moeten hier in de eerste plaats de verschillende kernen van populatierelictten beschouwen. Volgens Mergeay & Van Hove (2013) zijn er circa vijf kernen van potentiële metapopulaties, enkele geïsoleerde waarnemingen buiten beschouwing gelaten. In geen enkele van deze gevallen wordt voldaan aan genetische criteria van behoud van diversiteit,

ingegeven door het te kleine leefgebied dat nog beschikbaar is (zie ook Mergeay, 2013). Behoudens de Voerense populatie, die mogelijk wel nog voldoende leefgebied heeft, en daardoor misschien nog voldoende genetische diversiteit herbergt, lijken alle andere leefgebieden in slechte staat, bij gebrek aan voldoende leefgebied om voldoende grote populaties in stand te houden en voldoende genetische diversiteit te behouden op lange termijn. In elk van deze kernen, die vaak intern ook nog versnipperd zijn of uit slechts één relict bestaan, is geassisteerde migratie een verdedigbare en waarschijnlijk noodzakelijke maatregel, tenminste wanneer die voorafgegaan wordt door herstel van leefgebied. Het doel van die geassisteerde migratie is om inteeltdepressie te verlichten, en dit via een toename van de lokale genetische diversiteit door inkruising met individuen uit andere deelpopulaties. Om het risico op uitkruisingsdepressie te beperken wordt het afwegingskader van Frankham *et al.* (2011) gebruikt. We merken hierbij op dat een meta-analyse aangeeft dat de effecten van geassisteerde genmigratie in kleine, ingeteelde populaties consistent sterk en positief zijn wanneer dit afwegingskader wordt aangewend (Frankham 2015).

- e) *Hoef je eerst de te versterken populaties te onderzoeken, in hoeverre die alsnog voldoende genetisch divers zijn. En pas daarna, na analyse van die resultaten en indien dat inderdaad nodig blijkt, de genetica van een bronpopulatie te analyseren?*
- f) *Of kan nu al gesteld worden o.b.v. de geschatte populatie-omvang dat bijplaatsing onvermijdelijk nodig is, waarbij beide onderzoeken dus parallel kunnen worden opgestart?*

In situaties waar het uitermate waarschijnlijk is dat genetische diversiteit reeds sterk gereduceerd is, en het risico op inteelt groot is, zijn geassisteerde migraties die simultaan verlopen met een populatiegenetisch onderzoek verdedigbaar (zie ook Frankham 2015). In het geval van vroedmeesterpad in Vlaanderen zijn we niet zeker dat genetisch herstel een kritische succesfactor is. Herstel van leefgebied is dit zeker wel. Het lijkt evenwel waarschijnlijk dat op termijn geassisteerde genmigratie noodzakelijk zal zijn, in die gevallen waarbij spontane genmigratie tussen herstelde populaties niet mogelijk is. Zie ook Bijlage 1.

Conclusie

Met betrekking tot de eerste strategie:

1. *Is het opportuun individuen (larven of adulten) zonder voorafgaande genetische analyse te verplaatsen, en de genetische analyses simultaan te laten verlopen met de antropogene dispersie?* Ja, wanneer het zeer kleine populaties betreft die een recente gemeenschappelijke geschiedenis hebben (naburige populaties), en het risico op uitkruisingsdepressie daardoor verwaarloosbaar is. In populaties die reeds meerdere generaties zeer klein zijn is er nagenoeg zeker een duidelijk verlies aan genetische diversiteit geweest. Concreet stelt zich hier evenwel de vraag of de situatie zo extreem dringend is dat men niet 1 jaar kan wachten om genetische analyses voorafgaand aan geassisteerde (gen)migratie uit te voeren.
2. *Hoeft het verlies van de genetische diversiteit van een relictpopulatie overigens wel als problematisch te worden gezien?* Het is aangewezen om genetische diversiteit van relictpopulaties te behouden, zeker van deze aan de rand van het areaal.
3. *Is het zinvol om tijd en moeite te steken in het zoeken en verplaatsen van individuen van niet-duurzaam geachte relictpopulaties of is het zinvoller de eerste strategie te vergeten en uitsluitend in te zetten op de tweede?* Het opgeven van relictpopulaties omdat ze niet duurzaam zijn valt niet te rijmen met de instandhoudingsplicht die uitgaat van de Habitatrictlijn. Het is dus noodzakelijk om randvoorwaarden te herstellen die relictpopulaties weer duurzaam kunnen maken. Los daarvan, geassisteerde genmigratie

vanuit grote populaties (strategie 2) lijkt zowel meer haalbaar als een sterker effect op herstel van genetische diversiteit te geven.

Met betrekking tot de tweede strategie:

4. *Kan, vanuit algemeen geldende regels van de genetica, en verondersteld dat de geschatte populatieomvang correct is, gesteld worden dat bijplaatsing a priori noodzakelijk is voor een duurzame instandhouding?* We weten niet in welke mate geassisteerde genmigratie nu al noodzakelijk is voor herstel. Op termijn zal dit waarschijnlijk wel (tijdelijk?) nodig zijn, zelfs bij herstel van het beschikbare leefgebied, teneinde te voldoen aan genetische criteria voor de gunstige staat van instandhouding.
5. *Hoef je eerst de te versterken populaties te onderzoeken, in hoeverre die alsnog voldoende genetisch divers zijn. En pas daarna, na analyse van die resultaten en indien dat inderdaad nodig blijkt, de genetica van een bronpopulatie te analyseren?* In de meeste gevallen is dit de aangewezen strategie. Bij hoogdringendheid kan hiervan afgeweken worden, om te voorkomen dat de te redden populaties verder verzwakken en zelfs verdwijnen. Dit vertrekt vanuit de premisse "baat het niet, het schaadt ook niet". Deze strategie is vooral van toepassing bij geassisteerde genmigratie tussen populaties met een gemeenschappelijke recente evolutionaire geschiedenis. Het is bij vroedmeesterpad evenwel geen evidentie dat een herstel van de relictpopulaties staat of valt met geassisteerde genmigratie. Herstel van leefgebied lijkt momenteel de kritische succesfactor.
6. *Of kan nu al gesteld worden o.b.v. de geschatte populatie-omvang dat bijplaatsing onvermijdelijk nodig is, waarbij beide onderzoeken dus parallel kunnen worden opgestart?* Uit Mergeay & Vanhove (2013) is gebleken dat de hoeveelheid leefgebied voor vroedmeesterpad in de meeste bestaande relictpopulaties ver onder de noden voor behoud van genetische diversiteit liggen. Op basis van theoretische relaties tussen de hoeveelheid leefgebied, de draagkracht van dat leefgebied, en de populatiegrootte die je in zo'n leefgebied kan verwachten, is het zeer waarschijnlijk dat de genetische diversiteit laag is, en dat inteelt belangrijk is. Het is daardoor plausibel dat de fitness van deze populaties door inteelt verlaagd is. Of geassisteerde genmigratie onvermijdelijk nodig is (i.e., essentieel voor het welslagen van populatieherstel op korte termijn), kunnen we hier echter niet uit concluderen. Waarschijnlijk is geassisteerde genmigratie gunstig voor populatieherstel op lange termijn.

Referenties

- Arens P., Bugter R., Westende W.v.t., Zollinger R., Stronks J., Vos C.C. & Smulders M.J.M. (2006). Microsatellite variation and population structure of a recovering Tree frog (*Hyla arborea* L.) metapopulation. *Conserv Genet* 7:825-835.
- Cox K., Vanden Broeck A. & Mergeay J. (2015). Toestand Vlaamse rugstreeppadpopulaties op basis van genetische data. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek Brussel: Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek.
- Frankham R. (2005). Genetics and extinction. *Biol Conserv* 126:131-140.
- Frankham R. (2015). Genetic rescue of small inbred populations: meta-analysis reveals large and consistent benefits of gene flow. *Mol Ecol* 24:2610-2618.
- Frankham R., Ballou J.D., Eldridge M.D.B., Lacy R.C., Ralls K., Dudash M.R. & Fenster C.B. (2011). Predicting the probability of outbreeding depression. *Conserv Biol* 25:465-475.

Frankham R., Balloux J.D. & Briscoe D.A. (2010). *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 618 p.

Geeraerts C. & Mergeay J. (2012). Genetisch onderzoek van de adder in functie van duurzame bescherming op lange termijn. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek (INBO.R.2012.57). Brussel: Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek.

Hampe A. & Petit R.J. (2005). Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecol Lett* 8:461-467.

Mergeay J. (2012). Afwegingskader voor de versterking van populaties van Europees beschermde soorten. Adviezen van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek. INBO.A.2012.141. Brussel: Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek.

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.

Mergeay J. & Van Hove M. (2013). Analyse van de duurzaamheid van populaties van Europees beschermde amfibieën en reptielen (deel 2). Adviezen van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek. INBO.A.2013.104.

Mergeay J. (2014). Advies in het kader van de opmaak van een soortenbeschermingsprogramma voor de knoflookpad in Vlaanderen. INBO.A.2014.40. Brussel: Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, INBO.

Mergeay J., Cox K. & Speybroeck J. (2016a). Advies over de herintroductie van rugstreeppad in de Zwinstreek. INBO.A.3437. Brussel: Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek.

Mergeay J., Van den Broeck A., Neyrinck S., Coeck J. & Auwerx J. (2016b). Advies over de translocatie van een populatie kamsalamander. INBO.A.3387. Brussel: Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, INBO. 6 p.

Mills L.S. & Allendorf F.W. (1996). The one-migrant-per-generation rule in conservation and management. *Conserv Biol* 10:1509-1518.

Schön I., Raepsaet A., Goddeeris B., Bauwens D., Mergeay J., Vanoverbeke J. & Martens K. (2011). High genetic diversity but limited gene flow in Flemish populations of the crested newt, *Triturus cristatus*. *Belgian J Zool* 141:3-13.

Vos C.C., Antonisse-De Jong A.G., Goedhart P.W. & Smulders M.J.M. (2001). Genetic similarity as a measure for connectivity between fragmented populations of the moor frog (*Rana arvalis*). *Heredity* 86:598-608.

Wilson G.A., Fulton T.L., Kendell K., Scrimgeour G., Paszkowski C.A. & Coltman D.W. (2008). Genetic diversity and structure in Canadian northern leopard frog (*Rana pipiens*) populations: implications for reintroduction programs. *Can J Zool* 86:863-874.

Wright S. (1951). The genetical structure of populations. *Ann Hum Genet* 15:323-354.

Bijlage 1: Nota ecologische verbinding Vroedmeesterpad (2013)
