

# Advies over het genetisch verrijken van de populatie kamsalamanders in Bos van Aa in Zemst

Adviesnummer:	<b><u>INBO.A.4080</u></b>
Auteur(s):	<b>Karen Cox, Jeroen Speybroeck, Johan Auwerx, Loïc van Doorn &amp; Joachim Mergeay</b>
Contact:	<b>Lieve Vriens (<a href="mailto:lieve.vriens@inbo.be">lieve.vriens@inbo.be</a>)</b>
Kenmerk aanvraag:	<b>e-mail van 30 november 2020</b>
Geadresseerden:	<b>Natuurpunt Studie vzw T.a.v. Sam Van de Poel Coxiestraat 11 2800 Mechelen <a href="mailto:sam.vandepoel@natuurpunt.be">sam.vandepoel@natuurpunt.be</a></b>

Dr. Maurice Hoffmann  
Administrateur-generaal wnd.

## Aanleiding

---

Het Bos van Aa–Kollinten, gelegen in Natura 2000–gebied, huisvest een populatie kamsalamanders. Het beheer van dit gebied staat in het teken van deze soort. In het najaar van 2006 werden er twee poelen gegraven en sinds 2007 wordt de soort er zeer intensief gemonitord. Jaarlijks maakt de lokale Natuurpunt afdeling een populatieschatting voor het aantal kamsalamanders in iedere poel om de evolutie doorheen de tijd nauwkeurig op te volgen. In 2007 werden er twee kamsalamanders aangetroffen in het gebied. Doorheen de jaren groeide de populatie aan, maar in 2019 kende de populatie een terugval. Men neemt aan dat de huidige populatie uit een zeer beperkt aantal stichter dieren ontstaan is. Dit werd bevestigd na genetische analyse in 2018. Omwille van de verwachte genetische bottleneck en de gemeten lage genetische diversiteit dringt een analyse naar de nood en slaagkans van een genetische verrijking van deze populatie zich op.

## Vraag

---

1. Hoe kunnen we, op een wetenschappelijk correcte manier, de populatie kamsalamanders in Bos van Aa het best genetisch verrijken?
2. Met welke praktische aspecten moet er rekening gehouden worden?
3. Welke opvolging is nodig?

## Toelichting

---

### 1 Genetische achtergrond

De populatie kamsalamander in Bos van Aa werd in 2018 bemonsterd door Natuurpunt Studie in samenwerking met vrijwilligers. In dat jaar werden nog vijf andere metapopulaties bemonsterd in Vlaanderen, die allemaal genetisch gekarakteriseerd werden. In 2011-2012 werden reeds tien populaties verspreid in Vlaanderen bemonsterd en werden stalen van een populatie uit Marche-en-Famenne aangeleverd door de Universiteit van Luik. Al deze populaties werden met dezelfde set van genetisch merkers genotyped (31 microsatellieten) waardoor onderlinge vergelijking van hun genetische diversiteit mogelijk is. Uit deze (niet-gepubliceerde) data kunnen we afleiden dat de gendiversiteit ( $H_e$ ) van de verschillende populaties varieert van 0,40 tot 0,69. Deze parameter kan waarden vertonen tussen 0 en 1. De gendiversiteit van de kamsalamanderpopulatie in Bos van Aa behoort tot een van de laagst gemeten waarden, namelijk 0,45. Daarnaast blijkt allelische rijkdom (d.i. het aantal allelen over merkers heen) maar 2,6 te bedragen, terwijl deze voor bijvoorbeeld de populatie in De Brand (Maaseik) 5,5 was (in 2011). Allelische rijkdom (AR) wordt beschouwd als indicatief voor het potentieel van de populatie om zich aan te passen aan veranderende omstandigheden en is dus een belangrijke genetische parameter (Caballero & García-Dorado, 2013). Daarnaast is ook de effectieve populatiegrootte ( $N_e$ ) van 67 aan de lage kant. Voor populaties waarvan we weten dat ze het goed tot zeer goed doen, zoals deze in Tommelen en in Marche-en-Famenne, waar de effectieve populatiegrootte geschat werd op respectievelijk 239 en 264 (a.d.h.v. genotypes van volwassen dieren).

Door de plaatselijke kennis over de populatie in Bos van Aa blijkt de lage genetische variatie en effectieve populatiegrootte te wijten aan het beperkt aantal individuen waaruit de populatie gegroeid is. Hoewel het leefgebied verbeterd is en het beheer sterk toegespitst is op de soort, lijkt natuurlijke genmigratie vanuit omliggende populaties ontoereikend om de populatie genetisch te versterken.

## 2 Genetische verrijking

Genetische verrijking kan enkel een optie zijn wanneer connectiviteit niet verbeterd kan worden met omliggende populaties (Frankham *et al.*, 2019; Mergeay, 2012). Ook moet de draagkracht van de habitat voldoende groot zijn. Als de kwaliteit en hoeveelheid habitat te laag is, moeten beheermaatregelen getroffen worden om deze aspecten eerst te verbeteren.

### 2.1 Bronpopulaties

Op basis van de resultaten uit het genetisch onderzoek op populaties van kamsalamander in Vlaanderen, kunnen we een selectie maken van bronpopulaties voor de geassisteerde genmigratie (ook bijplaatsing genoemd). Deze herbergen best een hogere genetische variatie (Frankham, 2015). Het doel is een hogere genetische diversiteit te bekomen in de populatie van Bos van Aa. Kennis over mogelijk voordelige allelen (allelen die een positieve relatie vertonen met fitness kenmerken) is niet voorhanden voor de Belgische populaties en kan dus ook niet in rekening gebracht worden. Met een hogere genetische diversiteit willen we een betere kans op langdurige overleving bekomen. Bijplaatsen werkt doorgaans positief op genetisch verarmde, geïsoleerde populaties (Frankham, 2015; Whiteley *et al.*, 2015).

Populaties die recent divergeerden van de doelpopulatie zijn het meest geschikt als bronpopulatie. De achterliggende reden is om een mogelijk negatief effect door uitkruising te vermijden. De maten voor genetische differentiatie liggen voor alle onderzochte populaties grotendeels in dezelfde lijn ten opzichte van de populatie van Bos van Aa; de populaties kamsalamander verschillen m.a.w. ongeveer in gelijke mate van Bos van Aa. De meest dichtstbijzijnde populatie van kamsalamander met gekende genetische informatie, is in Zemst. Deze populatie scoort echter voor genetische diversiteit even laag als deze van het Bos van Aa en kan daarom moeilijk als bronpopulatie fungeren. Andere populaties in de directe omgeving van Bos van Aa werden niet genetisch onderzocht, maar deze zouden eerder klein zijn (S. Van de Poel, persoonlijke communicatie). De meerderheid van de overige Vlaamse kamsalamanderpopulaties komt voor in gelijkaardig leefgebied; de kans op uitkruisingsdepressie<sup>1</sup> zal dus eerder klein zijn (Frankham *et al.*, 2011). Bovendien kan de impact van geassisteerde genmigratie groter zijn wanneer de bronpopulatie genetisch gedifferentieerd is van de doelpopulatie (Frankham, 2015).

Van de genetisch onderzochte populaties in Vlaanderen, waar het aantal bemonsterde individuen voldoende hoog was om een degelijke inschatting van de genetische variatie te bekomen, scoorden de volgende populaties het best: De Brand (He: 0,69; AR: 5,5; Ne: 111), Tommelen (He: 0,65; AR: 5,1; Ne: 239) en Viskot (He: 0,65; AR: 5,2; Ne: 96). Geografisch dicht bij Bos van Aa gelegen, is er ook nog de populatie van Antitankgracht die qua He en AR niet slecht scoorde (respectievelijk 0,62 en 4,5), maar waarvoor Ne geschat werd op maar 36 dieren. De Brand en Tommelen werden acht jaar geleden bemonsterd. Het is wenselijk om na te gaan bij de plaatselijke conservators of er geen aanwijzingen zijn voor een achteruitgang in de populaties vooraleer ze als bronpopulaties aan te wenden.

Het is een optie om individuen van verschillende bronpopulaties te verplaatsen, om op die manier een hoger aantal nieuwe allelen in de doelpopulatie binnen te brengen, dan een enkele bronpopulatie te benutten.

### 2.2 Levensstadium en aantal immigranten

Frankham (2015) adviseert om het aantal migranten uit bronpopulatie(s) te beperken tot maximaal 50% van de doelpopulatie. Het optimaal aantal immigranten hangt af van hun kans op overleving en hun bijdrage aan de reproductie. Dit is moeilijk op voorhand te voorspellen, omdat dit voor amfibieën sterk afhangt van de lokale condities. Voor kamsalamander is het

---

<sup>1</sup> Een lagere fitness als gevolg van kruisingen tussen groepen of populaties die genetisch sterk verschillen door aanpassing aan lokale omstandigheden.

daarom nodig om drie opeenvolgende jaren individuen te verplaatsen. Dit om het aantal dieren op te drijven over de tijd, het risico op verlies aan bijgeplaatste dieren door onvoorspelbare omstandigheden (bijvoorbeeld extreme droogte in een bepaald jaar) te spreiden en een leeftijdsopbouw zonder ontbrekende cohorten (jaarklassen) na te streven.

Kamsalamanders zijn plaatstrouw (Jarvis, 2016; Jehle & Arntzen, 2000) en verplaatsing van adulten over grote afstanden is niet aan te raden (Sinsch & Kirst, 2016) om emigratie uit de doellocatie te vermijden. Volgens een review van Oldham *et al.* (2000) van een translocatie-experiment in UK, migreerde 60% van de verplaatste volwassen kamsalamanders weg van de uitzetlocatie.

Door het verplaatsen van larvale stadia en/of eieren wordt emigratie uit het doelgebied verminderd, evenals de impact op de bronlocaties. De aantallen dieren hoger te zijn dan het beoogde aantal adulte dieren, door de hogere sterfte van deze stadia. Het laten analyseren op de meest courante infectieziekten (*Batrachochytrium dendrobatidis*, *B. salamandrivorans* en ranavirus) is bij elke verplaatsing van dieren naar het doelgebied van het grootste belang. Afhankelijk van de ambitie en het budget zijn verschillende scenario's mogelijk.

#### Scenario 1: lagere kost, lagere kans op slagen

In dit scenario worden eieren verplaatst vanuit de bronpopulaties naar het doelgebied na analyse op infectieziekten. Deze werkwijze is toegepast in het LIFE in Quarries project in Wallonië (via afzetstrips voor de eieren). Dit scenario heeft als voordeel dat het, naast de nodige screening op ziekten, zonder een tussenstap kan uitgevoerd worden. De keerzijde is dat er weinig controle is op het succes van de bijplaatsing, doordat de mortaliteit van de verplaatste eieren en larven meestal groot is. Om een betere kans op succesvolle inmenging te hebben zullen dus grote hoeveelheden eieren verplaatst moeten worden, iets wat een impact op de bronpopulaties kan hebben. De hoeveelheid materiaal die verzameld wordt in de bronlocaties kan ook erg variabel zijn. Het verplaatsen van jonge larven i.p.v. eieren is arbeidsintensief en de kans op beschadigingen en mortaliteit hoog. Bij gebruik van eitjes zal er ook slechts een gedeeltelijke genetische karakterisering kunnen gebeuren. Omdat de bemonstering destructief is, kan maar een klein percentage van de te verplaatsen eitjes genetisch onderzocht worden.

#### Scenario 2: middelmatige kost, goede kans op slagen

Als de verzamelde eieren worden opgekweekt en voor de metamorfose worden uitgezet (> 5 cm) wordt door de optimale voeding en omstandigheden mortaliteit tijdens de eerste groeistadia vermeden. Dit levert ook een grotere kans op overleving na uitzet in het doelgebied (Auwerx *et al.*, 2018). Hiervoor dienen voldoende eieren verzameld te worden in de brongebieden, die via gespecialiseerde infrastructuur en expertise opgekweekt worden en na ziektescreening uitgezet. De kans op slagen van de bijplaatsing is in scenario 2 vele malen groter dan in scenario 1. Er is ook meer controle op de hoeveelheid genetisch materiaal per bronlocatie indien er met verschillende bronlocaties wordt gewerkt. De output wordt bepaald door wat er verzameld kan worden in de bronlocaties.

#### Scenario 3: hogere kost, zeer goede kans op slagen

Door adulte kamsalamanders van de bronpopulaties *ex situ* te laten kweken is er een zeer goede controle en zekerheid op het aantal larven per bronlocatie dat zoals in scenario 2 opgekweekt wordt. Door de ouderdieren *ex situ* te huisvesten wordt het jaarlijks oogsten van nieuw genetisch materiaal overbodig. Het overtal aan gekweekte larven evenals de ouderdieren kunnen tijdens/na afloop van de bijplaatsing teruggeplaatst worden in de bronlocaties. Het grote voordeel van scenario 3 t.o.v. scenario 2 is dat de output gemaximaliseerd en gekwantificeerd wordt, waardoor grote hoeveelheden larven worden verkregen en de genetische mix optimaal samengesteld kan worden.

Afhankelijk van het gekozen scenario zal het aantal te verplaatsen dieren variëren. Om tot een jaarlijkse bijplaatsing van 10 kamsalamanders per poel te komen die zelf bijdragen tot de voortplanting zijn meerdere honderden eieren nodig onder scenario 1 en 50 grote larven per poel onder scenario 2 en 3. Dit zijn richtlijnen op basis van de ervaring met de ecologie en kweek van deze soort in Vlaanderen, maar overleving van larven en juvenielen (Karlsson *et al.*, 2007) is desalniettemin sterk afhankelijk van de lokale condities.

Vanwege de momenteel beperkte genetische diversiteit binnen de populatie van Bos van Aa lijkt het ons geen optie om deze als bronpopulatie te gebruiken voor aanvulling van andere genetisch verarmde populaties.

### 3 Opvolging

De verderzetting van de bestaande monitoring door Natuurpunt Studie geeft info over de census populatiegrootte en de mate van reproductie. Daarnaast is genetische opvolging wenselijk om te weten in hoeverre de ingebrachte allelen de genetische diversiteit al dan niet hebben veranderd. Door het genetisch onderzoek in 2018, is het niet meer noodzakelijk om de doelpopulatie op dit moment genetisch te karakteriseren ( $t_0$ ). Enkel de te verplaatsen individuen worden best bemonsterd voor uitzetting. Zoals eerder vermeld, zal bij gebruik van eitjes (scenario 1) slechts een klein percentage genetisch gekarakteriseerd kunnen worden. Ook bij een groot aantal larven (scenario 2 en 3), zal waarschijnlijk om budgettaire redenen een representatief aandeel van larven genetisch gekarakteriseerd worden.

De eerste staalname voor genetische opvolging gebeurt best 4-5 jaar na uitzetting ( $t_1$ ). Wanneer meerdere opeenvolgende jaren individuen verplaatst werden, is het best om de analyse uit te voeren 4-5 jaar na de laatste uitzetting. Wanneer er teken is van overleving van de uitgezette dieren, en/of de immigranten als ouder van larven werden geïdentificeerd, is dat een eerste signaal van succes. Door de lage trefkans van dergelijk signaal (je moet net die individuen gevangen hebben die na één generatie nieuwe allelen dragen) wordt de analyse na enkele jaren best herhaald ( $t_2$ ). Verdere genetische opvolging zal aantonen of de genetische diversiteit is toegenomen. Het langetermijneffect kan pas na meerdere generaties geobserveerd worden.

Voor de genetische opvolging van de bijplaatsing is de bemonstering van minimum 30 larven en 30 adulten verspreid binnen de populatie voldoende voor de bepaling van parameters zoals gendiversiteit en allelische rijkdom, en voor het eventueel detecteren van nakomelingen van immigranten. Voor de schatting van de effectieve populatiegrootte wordt het aantal individuen best opgetrokken naar minimaal 50. Vanaf  $t_2$  is het voldoende om enkel adulten te bemonsteren, al kan het bemonsteren van larven een maat van het effectief aantal ouders geven voor het jaar van bemonstering. De trend hierin is meer een directe aanwijzing van de evolutie van de populatie dan een schatting van  $N_e$  die meerdere generaties in rekening brengt.

## Conclusies

---

1. Mits de hoeveelheid en kwaliteit van de habitat voldoende hoog is om een grotere populatie te dragen en wanneer connectiviteit met andere populaties ontoereikend is en niet verbeterd kan worden, kan genetische verrijking een uitkomst bieden voor een hogere overlevingskans van de kamsalamanderpopulatie op lange termijn. Als bronpopulatie voor de te verplaatsen dieren wordt best een (of meerdere) populatie(s) gekozen met hoge genetische diversiteit, zoals deze in De Brand en in Tommelen (volgens de situatie in 2011).
2. Er zijn verschillende mogelijke scenario's voor een bijplaatsing. De zekerheid van genetische inmenging neemt toe als larven *ex situ* worden opgekweekt en uitgezet voor de metamorfose. Ziektescreening voor uitzet is noodzakelijk.

3. Naast opvolging van de demografie en reproductie wordt genetische opvolging aangeraden. De genetische karakterisering van de doelpopulatie is al gebeurd. Verdere genetische monitoring vereist een genetische karakterisering van:

- de uit te zetten dieren (of een representatief aandeel ervan),
- de doelpopulatie 4-5 jaar na de laatste bijplaatsing en eventueel enkele jaren erna (wanneer er initieel geen signaal van succes wordt opgepikt),
- de doelpopulatie gedurende verschillende generaties na bijplaatsing om het langdurig effect van de bijplaatsing in te kunnen schatten.

## Referenties

---

Auwerx J., Picavet B. & De Charleroy D. (2018). Collecting live food with a light trap to feed salamander larvae. Amphibian Ark. Newsletter Number 45, December 2018. ISSN 2640-4141

Caballero A. & García-Dorado A. (2013). Allelic diversity and its implications for the rate of adaptation. *Genetics* 195(4):1373-1384.

Frankham R. (2015). Genetic rescue of small inbred populations: meta-analysis reveals large and consistent benefits of gene flow. *Mol Ecol* 24(11):2610-2618.

Frankham R., Ballou J.D., Ralls K., Eldridge M., Dudash M.R., Fenster C.B., Lacy R.C., Sunnucks P. (2019). *A Practical Guide for Genetic Management of Fragmented Animal and Plant Populations*: OUP Oxford.

Frankham R., Ballou J.D., Eldridge M.D., Lacy R.C., Ralls K., Dudash M.R., Fenster C.B. (2011). Predicting the Probability of Outbreeding Depression. *Conserv Biol* 25(3):465-475.

Jarvis L.E. (2016). Terrestrial ecology of juvenile great crested newts (*Triturus cristatus*) in a woodland area. *Herpetological Journal* 26:287-296.

Jehle R., Arntzen J.W. (2000). Post-breeding migrations of newts (*Triturus cristatus* and *T. marmoratus*) with contrasting ecological requirements. *J Zool* 251(3):297-306.

Karlsson T., Betzholtz B.T., Malmgren J.C. (2007). Estimating viability and sensitivity of the great crested newt *Triturus cristatus* at a regional scale. *Web Ecology* 7:63-76.

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). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel.

Oldham R.S., Keeble J., Swan M.J.S., Jeffcote M. (2000). Evaluating the suitability of habitat for the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Herpetological Journal* 10:143-155.

Sinsch U., Kirst C. (2016). Homeward orientation of displaced newts (*Triturus cristatus*, *Lissotriton vulgaris*) is restricted to the range of routine movements. *Ethol Ecol Evol* 28(3):312-328.

Whiteley A.R., Coombs J.A., Cembrola M., O'Donnell M.J., Hudy M., Nislow K.H., Letcher B.H. (2015). Effective number of breeders provides a link between interannual variation in stream flow and individual reproductive contribution in a stream salmonid. *Mol Ecol* 24(14):3585-3602.