

Advies over de herintroductie van de boomkikker in Wallonië

Adviesnummer: **INBO.A.4250 (gecorrigeerde versie)**
Auteurs: **Jeroen Speybroeck, Loïc van Doorn, Johan Auwerx & Joachim Mergeay**
Contact: **Lode De Beck (lode.debeck@inbo.be)**
Kenmerk aanvraag: **e-mail van 4 oktober 2021; ANB_2021_30**
Geadresseerde: **Agentschap voor Natuur en Bos
T.a.v. Veerle Versteirt
veerle.versteirt@vlaanderen.be**
CC: **Agentschap voor Natuur en Bos
T.a.v. Joris Janssens
Joris.janssens@vlaanderen.be**

Dr. Maurice Hoffmann
Administrateur-generaal wnd.

Wijze van citeren: Speybroeck J., van Doorn L., Auwerx J. & Mergeay J. (2021). Advies over de herintroductie van de boomkikker in Wallonië (Adviezen van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek; nr. INBO.A.4250). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel.

Aanleiding

Het Agentschap voor Natuur en Bos (ANB) heeft vragen over de translocatie van eiklompjes van boomkikker uit de Vlaamse populaties naar Wallonië.

Vragen

1. Welke Vlaamse populaties zijn in gunstige toestand en kunnen dienen als bronpopulatie voor de herintroductie in Wallonië?
2. Welke genetische samenstelling wordt bij voorkeur (en indien mogelijk) nagestreefd (m.a.w. moeten er eiklompjes uit verschillende bronpopulaties komen en zo ja welke)?
3. Welke methodologie moet gevolgd worden om een succesvolle herintroductie te garanderen (met in acht name van de wettelijke verplichtingen en richtlijnen onder andere i.v.m. de verspreiding van amfibieënziektes)?

Toelichting

1. Welke Vlaamse populaties zijn in gunstige toestand en kunnen dienen als bronpopulatie voor de herintroductie in Wallonië?

Om deze vraag te kunnen beantwoorden, dienen vooreerst populaties afgebakend te worden. Specifieke ecologische soortkenmerken en de voortdurende expansie van de soort met name in de provincie Limburg bemoeilijken dit enigszins. De boomkikker is een relatief kortlevende soort (levensverwachting doorgaans 3-5 jaar – Schneider & Grosse, 2009), waardoor populatiegroottes aan grote oscillaties onderhevig kunnen zijn en lokale extinctie aan hoog tempo kan afgewisseld worden door rekolonisatie vanuit naburige populaties (Carlson & Edenhamn, 2000). Adequaat soortgericht beheer heeft de voorbije jaren geleid tot een duidelijke expansie van het Vlaamse areaal van de soort, met name in de provincie Limburg. De dispersiecapaciteit van de soort blijkt vrij hoog te liggen, waarbij roepende mannetjes opgemerkt kunnen worden op grote afstand van gekende voortplantingskernen. Waar dit enerzijds tot de wenselijke ontwikkeling van een grote en robuuste metapopulatie leidt, worden anderzijds boomkikkers waargenomen in locaties waar onvoldoende duidelijkheid bestaat over voortplantingssucces. Succesvolle voortplanting, de maatstaf voor de aanwezigheid van een stabiele populatie, wordt gekwantificeerd met aantal roepende mannetjes als proxy. Gebieden met accidentele roepende mannetjes worden onderscheiden van leefgebieden waarin alle functies voor de soort aanwezig zijn (water- en landhabitat met de juiste kenmerken).

Op macroschaal worden onderscheiden (Lewylle *et al.* 2018):

- West-Vlaanderen
 - Zwin
- Antwerpen
 - Merkske
- Limburg
 - Vijvergebied Midden-Limburg
 - Diepenbeek (Dautewijers)
 - Maaswinkel
 - Noordoost-Limburg (kern: Maaseik)

Verder zijn er nog een aantal recent (illegaal) uitgezette populaties zoals in De Maten (° 2017-2018) en de Zwarte Beek (° 2020). Op deze en die van Maaswinkel na, bevinden alle (meta)populaties zich in een goede staat van instandhouding (Speybroeck & De Knijf, 2019). Kanttekening hierbij is dat de populatie van het Merkske (° 2012 en volgende) afstamt van een recent uitzetprogramma aan de Nederlandse kant van de grens (Crombaghs *et al.*, 2017).

Los van genetische aspecten (zie antwoord op vraag 2) kunnen deze populaties dan ook fungeren als brongebieden voor de Waalse (her)introductie. In overleg met de terreinbeheerders en gespreid over verschillende waterpartijen moet het (wetende dat een vrouwtje 200 à 1.400 eieren per jaar produceert - Nöllert & Nöllert, 1991) mogelijk zijn gedurende drie jaar jaarlijks 4.000 eieren in te zamelen (maar zie antwoord op vraag 3 over dit aspect van de Waalse uitzetstrategie) zonder significant effect op de Vlaamse bronpopulaties. Hierbij aansluitend durven we stellen dat de legsels die afkomstig waren van de populaties van het Vijvergebied en Maaseik en gebruikt werden voor een herintroductieproject in het Groothertogdom Luxemburg in 2012-2014 geen meetbaar effect op de bronpopulaties hebben gehad. De populatie van Diepenbeek is praktisch wellicht iets moeilijker te bemonsteren.

2. Welke genetische samenstelling wordt bij voorkeur (en indien mogelijk) nagestreefd (m.a.w. moeten er eiklompjes uit verschillende bronpopulaties komen en zo ja welke)?

De genetische diversiteit en verwantschappen van de Vlaamse boomkikkerpopulaties zijn niet goed gekend. De beperkte en verouderde beschikbare gegevens suggereren echter dat er sprake is van genetische verarming (Vrijders, 2006), wat strookt met de bottleneck waardoor de populaties heen moesten. Rond de laatste eeuwwisseling stond de soort in heel Vlaanderen op de rand van uitsterven.

Inteelt kan bij boomkikkers leiden tot verlaagde fitness, wat zich onder meer kan uiten onder de vorm van verlaagde larvale overleving (Andersen *et al.*, 2004; Angelone, 2010) en verlaagde weerstand tegen pathogenen (Luquet *et al.*, 2012). In Nederland wordt vermoed dat een lagere genetische diversiteit verband houdt met kleinere legselgroottes (Crombaghs *et al.*, 2017). Daar wordt dan ook vastgesteld dat in uitgezette mengpopulaties op gestandaardiseerde wijze getelde koren relatief gezien een groter aantal larven voortbrengt in vergelijking met genetische armere bronpopulaties. De fitness van de populaties kan verhoogd worden door het kruisen van boomkikkers uit verschillende populaties (Luquet *et al.*, 2010).

In het Vlaamse soortbeschermingsprogramma voor de boomkikker wordt de nood voor genetisch onderzoek van de Vlaamse populaties aangestipt als uit te voeren actie (Engelen *et al.*, 2017). Ondanks de huidige kennislacunes hieromtrent geeft de ecologie en biogeografie van de boomkikker en de ervaringen met introducties en het mengen van populaties in Nederland waardevolle inzichten voor het adviseren van een optimale genetische samenstelling.

Onder natuurlijke omstandigheden kan de omvang van populaties van boomkikkers sterk fluctueren, onder meer doordat deze relatief kortlevende soort een voorkeur heeft voor pionierssituaties, waarbij de larvale overleving tussen jaren sterk kan verschillen. Snelle kolonisatie en extinctie heeft tot gevolg dat het gevaar voor uitbreiding depression (i.e. het verlies aan fitness door het mengen van populaties) (Mergeay, 2014) als zeer laag wordt ingeschat, zeker als de populaties van dezelfde biogeografische regio komen (o.a. Frankham *et al.*, 2011; Ralls *et al.*, 2018).

De postglaciale expansie van boomkikker heeft er daarnaast voor gezorgd dat aan de randen van het areaal de genetische diversiteit lager is dan in de zuidelijk gelegen refugia (Stöck *et al.*, 2012). Dit natuurlijke proces heeft tot gevolg dat de versnippering en het wegvallen van

functionele metapopulaties langs areaalgrenzen een groter dan normaal risico tot extinctie met zich meebrengt (Allentoft & O'Brien, 2010; Pabijan *et al.*, 2020). Vanuit genetisch oogpunt zijn dan ook de grootste winsten te boeken door het mengen van populaties die reeds lange tijd niet meer met elkaar verbonden zijn (Liddell *et al.*, 2021). Deze populaties hebben doorheen de tijd onafhankelijk van elkaar aan genetische diversiteit ingeboet, waardoor menging ervan voor een grotere toename van genetische diversiteit zal zorgen dan populaties die genetisch dichter bij mekaar staan. Een hoge diversiteit is zeker voor een introductie in een nieuw gebied van groot belang om voldoende flexibel om te kunnen gaan met de (a)biotische omstandigheden in de nieuwe gebieden. Uit Frans onderzoek blijkt dat larven van kruisingen tussen geïsoleerde populaties een beter overlevings- en aanpassingsvermogen hebben dan deze van de geïsoleerde populaties (Luquet *et al.*, 2010).

Zonder de nodige genetische studies is het koffiedik kijken naar de gedetailleerde genetische samenhang van de boomkickers in Vlaanderen, maar er kan vermoed worden dat op Vlaams niveau de Limburgse populaties nauwer aan elkaar verwant zijn dan deze van het Zwin en de Antwerpse Kempen (het Merkske). In het Merkske zijn verschillende Nederlandse genetische lijnen uitgezet (Crombaghs *et al.*, 2017), waardoor deze populatie mogelijk tot de meest diverse populaties van Vlaanderen kan gerekend worden.

Omdat de klimatologische condities van de populatie van het Zwin (uitgesproken maritiem klimaat) verschillen van die in Limburg en Wallonië (continentaler klimaat) en de fitness van de Limburgse en Antwerpse populaties afdoende blijkt, lijkt er geen grote nood om populaties van verschillende klimatologische omstandigheden te vermengen met elkaar. Vanuit genetisch oogpunt adviseren we daarom om legsels uit het Merkske met legsels uit Limburg te combineren voor een uitzet in Wallonië. De mengpopulatie van het Merkske stamt af van populaties uit Gelderland en Noord-Brabant, waarvan de habitats vergelijkbaar zijn met deze van de Limburgse populaties (Crombaghs *et al.*, 2017). De voorgestelde combinatie maximaliseert de menging van genetische lijnen en reduceert de reeds kleine kans op uitbreiding depression.

Omdat de soort in Wallonië is uitgestorven, kan best ook breder dan Vlaanderen worden gekeken. Populaties in Groothertogdom Luxemburg en Frankrijk bevinden zich (zeer) dicht bij de grens met België/Wallonië. De populaties in Groothertogdom Luxemburg zijn evenwel minder interessant aangezien hier reeds boomkickers uit Limburg voor zijn gebruikt. Hoewel dit de huidige ambities van het Waalse project mogelijk overstijgen, is het vanuit genetisch oogpunt voordelig om een eerste stap te zetten in het sluiten van het huidige gat in de verspreiding van de soort met genetische materiaal van alle omliggende gebieden.

3. Welke methodologie moet gevolgd worden om een succesvolle herintroductie te garanderen (met inachtnaam van de wettelijke verplichtingen en richtlijnen onder andere i.v.m. de verspreiding van amfibieënziektes)?

We vatten deze vraag ruim op en beschouwen dus naast de praktische aspecten ook de meer strategische. We verwijzen hierbij ook naar de leidraad translocaties van ANB en INBO, die eveneens een doorvertaling vormt van de richtlijnen ter zake van de IUCN (Mergeay & Verbist, 2021).

Herkomst

Naar selectie van brongebieden leverden we reeds inzichten in de antwoorden op de twee voorgaande vragen.

Strategie

Jaarlijks wordt beoogd 4.000 larven uit te zetten. Op basis van veldwaarnemingen omtrent de grootte van legsels in Vlaanderen, komt dit bij maximale overleving ongeveer overeen met 150 legsels (a rato van ca. 30 eitjes per klomp, pers. med. Peter Engelen). Om sterfte tijdens de opgroei te compenseren kan dit best als ondergrens gezien worden. Om een evenredige genetische inbreng te verkrijgen is het aan te bevelen de verschillende brongebieden in gelijke mate te vertegenwoordigen in het uit te zetten materiaal, al kan dit in de praktijk mogelijk moeilijk zijn. De nodige flexibiliteit zal dus vereist zijn, waarbij ons advies inzake de optimale samenstelling best voor ogen gehouden wordt. Voor het verzamelen van de eieren in het veld dienen er met de terreinbeheerders duidelijke afspraken gemaakt te worden, onder meer over de locaties waar het weghalen van eikklompjes de kleinste vermoedelijke impact heeft op de populaties, aangezien sommige nog in volle opmars zijn (met name in Het Merkske). We adviseren om uit het Merkske 50 legsels als doel voorop te stellen en deze aan te vullen tot 150 legsels via gelijke inbreng van het Vijvergebied en Maaseik. Deze laatste twee populaties zijn groot, legsels zijn er makkelijk te vinden en ze zijn al geruime tijd gescheiden van elkaar. Eventuele tekorten uit het Merkske kunnen dan ook aangevuld worden uit deze populaties. De larven dienen per brongebied apart opgekweekt te worden om een maximale genetische menging in de uitzetgebieden mogelijk te maken. In het Waalse plan wordt vooropgesteld dat in minstens drie van de vier uitzetgebieden ook effectief boomkickers zullen uitgezet worden en dit voor minstens twee jaar per site. We adviseren om minstens drie achtereenvolgende jaren uit te zetten. Dit om een natuurlijke populatieopbouw en overlap in de seksuele maturatie van de cohorten te verkrijgen. Het is belangrijk om deze looptijd in elk gebied eerst af te werken en geen gaten te laten vallen tussen opeenvolgende uitzetjaren per site. We verwachten dat dit geen probleem mag zijn bij het verzamelen van de nodige legsels. Larvale kwantiteit bij uitzet zal voornamelijk afhangen van kwaliteit en overleving van de larven in opkweek. Hierbij adviseren we om zeker tijdens het eerste jaar voldoende marge in te bouwen en zo eventuele mortaliteit tijdens de opkweek op te kunnen vangen.

Kwantiteit en levensstadium

De legsels worden opgekweekt tot grote larven met vier poten (vlak voor de metamorfose) en vervolgens vrijgelaten. Het is ons niet duidelijk of het in het Waalse plan vooropgestelde aantal van 1.000 dieren per doellocatie ontsproot vanuit logistieke beperkingen bij de opkweek, dan wel vanuit beschikbaarheid van bronmateriaal, maar dat laatste mag gezien de omvang van de bronpopulaties geen hinderpaal zijn. Van belang voor een hogere overleving van de uitgezette dieren is dat er, naar Nederlands voorbeeld, maximaal dient ingezet te worden op het uitzetten van juveniele dieren en dit rechtstreeks in de landhabitat en in directe nabijheid van de waterhabitat. Op deze manier wordt random dispersie in de precare start van een uitzetproject vermeden. Initieel dient een populatie opgebouwd te worden in de geschikt geachte habitat, in een latere fase is dispersie daarentegen wel positief voor natuurlijke uitbreiding en kolonisatie van nieuwe gebieden. In het pre-metamorfosestadium zijn larven erg gevoelig aan predatie (in het Waalse plan stellen ze voor om de dieren in dat stadium uit te zetten). Uit ervaring in Nederland wordt een hoog percentage van de uitgezette juvenielen in het landhabitat tot maanden later visueel teruggevonden, in tegenstelling tot tellingen bij het uitzetten van pre-metamorfe stadia (Crombaghs *et al.*, 2017). Voor het stichten van nieuwe populaties is de extra inspanning van doorkweek tot juvenielen dan ook zinvol, zowel om de kwantiteit als de genetische kwaliteit van de nieuw te stichten populaties te waarborgen.

Habitatgeschiktheid en beheer van de doellocaties

Cruciaal bij translocaties is een grondige evaluatie van de geschiktheid van de habitats in de ontvangende gebieden. Aangezien veel amfibiesoorten, waaronder boomkikker, in dynamische milieus en niet in leefgebieden gekenmerkt door successieclimax voorkomen, is blijvende beheerinzet essentieel om de gepaste graad van pionierskenmerken in de habitats te behouden. Naar onze mening is voor beide aspecten voldoende aandacht in het Waalse voorstel.

Hygiëneprotocol

Hoewel grootschalige mortaliteit door ziekte bij boomkikkers in Europa niet gekend is, dient zowel bij het verzamelen van legsels als het uitzetten van de kweekdieren het bioveiligheidsprotocol met betrekking tot het beperking van de overdrachtkans van amfibieënziektes te worden gevolgd¹.

Monitoring

Genetische opvolging

In het Waalse plan wordt genetische monitoring als een aanvulling voor klassieke monitoring naar voren geschoven. Hier is echter nog geen concreet plan of budget voor uitgestippeld. Genetische monitoring is evenwel van groot belang voor het opvolgen van de overlevingskansen van de te stichten populaties op lange termijn (Mergeay & Verbist, 2021). Het kan een duidelijk beeld geven van de genetische diversiteit (allelenrijkdom, gendiversiteit) bij aanvang van de opkweek en van de verschuivingen die nadien gebeuren tijdens de ontwikkeling van de populatie. Die verschuivingen laten toe om een beeld te krijgen van de effectieve (genetische) grootte (N_e) van de zich ontwikkelende populatie, wat een criterium is voor de evaluatie van de staat van instandhouding en de duurzaamheid van populaties (Lommaert *et al.*, 2020; Hoban *et al.*, 2020). We adviseren dat de dieren die uitgezet worden (circa 30 per metapopulatie van oorsprong) genetisch gescreend moeten worden om als referentiekader gebruikt te kunnen worden voor latere genetische monitoring van de populaties.

Naast het bekomen van weefsel- of swabmonsters van de dieren zelf, kan expansie van de soort ook worden opgevolgd door het gebruik van eDNA. Ook voortplantingssucces (zie verder) kan worden opgevolgd door in de juiste periode sporen van de aanwezigheid van larven te zoeken via eDNA.

Klassiek

Hieronder bespreken we kort de op te volgen variabelen. Voor details in verband met klassieke monitoringstechnieken verwijzen we naar Speybroeck *et al.* (2020).

Adulten

Hoewel de literatuur aangeeft dat het aantal roepende mannetjes geen al te beste proxy voor de populatiegrootte is (Grafe & Meuche, 2005; Pellet *et al.*, 2007), is het een pragmatisch haalbare manier om een (indicatieve) vinger aan de pols te houden. Roepende mannetjes tellen moet toelaten de grotere trends in populatieontwikkeling (sterke stijgingen en dalingen) op te volgen.

Voortplantingssucces

Het onderzoeken van de aan- of afwezigheid van larven in de aanwezige waterpartijen door middel van scheppen met een net laat toe na te gaan of er voortplanting is geweest. Indien de lokale habitats er zich toe lenen, is het ook nuttig zonnende juvenielen te tellen langsheen vaste trajecten, bv. langs braamgordels.

Conclusies

¹ <https://www.natuurenbos.be/amfibie%C3%ABnziektes>

1. Welke Vlaamse populaties zijn in gunstige toestand en kunnen dienen als bronpopulatie voor de herintroductie in Wallonië?

Onderstaande populaties bevinden zich in een gunstige staat van instandhouding:

- West-Vlaanderen
 - Zwin
- Antwerpen
 - Merkske
- Limburg
 - Vijvergebied Midden-Limburg
 - Diepenbeek (Dautewijers)
 - Maaswinkel
 - Noordoost-Limburg (kern: Maaseik)

In principe kunnen al deze populaties fungeren als brongebieden voor de Waalse (her)introductie, zij het met enig voorbehoud inzake de praktische vindbaarheid van legsels in Diepenbeek en Maaswinkel. Omdat de klimatologische condities van de populatie van het Zwin (uitgesproken maritiem klimaat) sterk verschillen van die in Limburg en Wallonië (continentaler klimaat) en de fitness van de Limburgse populaties uitstekend lijkt, lijkt er geen grote nood om populaties van sterk verschillende oorsprong te vermengen met elkaar.

We schuiven dan ook volgende populaties naar voor als bronlocaties.

- Antwerpen
 - Merkske
- Limburg
 - Vijvergebied Midden-Limburg
 - Noordoost-Limburg (kern: Maaseik)

In overleg met de terreinbeheerders en gespreid over verschillende waterpartijen moet het, zoals gevraagd in het Waalse voorstel, mogelijk zijn gedurende drie jaar jaarlijks 4.000 eieren in te zamelen zonder significant effect op de Vlaamse bronpopulaties.

2. Welke genetische samenstelling wordt bij voorkeur (en indien mogelijk) nagestreefd (m.a.w. moeten er eiklompjes uit verschillende bronpopulaties komen en zoja welke)?

Hoewel aangeduid als actiepoint in het soortbeschermingsprogramma voor de boomkikker in Vlaanderen, ontbreken voldoende ruimtelijk omvattende en actuele gegevens over de genetische diversiteit van de boomkikkerpopulaties in Vlaanderen. Zonder dergelijke studies is het koffiedik kijken naar de gedetailleerde genetische samenhang van de populaties. Er kan vermoed worden dat de Limburgse populaties nauwer aan elkaar verwant zijn dan deze van het Zwin en de Antwerpse Kempen (het Merkske). Vanuit genetisch oogpunt adviseren we om legsels uit het Merkske met legsels uit Limburg te combineren voor een uitzet in Wallonië.

Omdat de soort in Wallonië is uitgestorven kan best ook breder dan Vlaanderen worden gekeken. Populaties in Groothertogdom Luxemburg en Frankrijk bevinden zich (zeer) dicht bij de grens met België/Wallonië. De populaties in Groothertogdom Luxemburg zijn evenwel minder interessant aangezien hier reeds materiaal uit Limburg voor is gebruikt. Hoewel dit de huidige ambities van het Waalse project mogelijks overstijgt, is het vanuit genetisch oogpunt voordelig om het huidige gat dat Wallonië vormt in de verspreiding van de soort op te vullen met genetische materiaal van alle omliggende gebieden.

3. Welke methodologie moet gevolgd worden om een succesvolle herintroductie te garanderen (met inachtnaam van de wettelijke verplichtingen en richtlijnen onder andere i.v.m. de verspreiding van amfibieënziektes)?

- De impact op de brongebieden moet minimaal zijn.
- Het uitzetten van juvenielen (gedurende 3 jaar en 1.000 per doellocatie), ex situ opgekweekt op basis van Vlaamse legsels, geniet de voorkeur.
- Habitatgeschiktheid en langdurige beheer van de doellocaties zijn cruciaal.
- Zowel bij het verzamelen van legsels als het uitzetten van de kweekdieren dient het bioveiligheidsprotocol met betrekking tot het beperking van de overdrachtkans van amfibieënziektes te worden gevolgd.
- Zowel genetische als klassieke monitoring zijn vereist om het succes (of het gebrek daaraan) van de uitzet nauwgezet op te volgen inzake adulte populatiegrootte en voortplantingssucces.

Referenties

Allentoft M.E. & O'Brien J. (2010). Global amphibian declines, loss of genetic diversity and fitness: a review. *Diversity* 2(1): 47-71.

Andersen L.W., Fog K. & Damgaard C. (2004). Habitat fragmentation causes bottlenecks and inbreeding in the European tree frog (*Hyla arborea*). *Proc. R. Soc. Lond. B* 271: 1293-1302.

Angelone S. (2010). Are differences in fitness traits related to genetic clusters? An empirical test on the European tree frog. *Biological Conservation* 143: 471-478.

Carlson A. & Edenhamn P. (2000). Extinction dynamics and the regional persistence of a tree frog metapopulation. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267: 1311-1313.

Crombaghs B., *et al.* (2017). Herintroductieproject Noord-Brabant. Bundeling Nieuwsbrieven 2009-2016. *Natuurbalans Limes Divergens*.

Engelen B., Heylen O. & Goemaere K. (2017). Ontwerp-soortbeschermingsprogramma voor de boomkikker (*Hyla arborea*). Antea Group in opdracht van het Agentschap voor Natuur en Bos.

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. *Conservation Biology* 25: 465-475.

Grafe T.U. & Meuche I. (2005). Chorus tenure and estimates of population size of male European tree frogs *Hyla arborea*: implications for conservation. *Amphibia-Reptilia* 26: 437-444.

Hoban S., Bruford M., D'Urban Jackson J., Lopes-Fernandes M., Heuertz M., Hohenlohe P.A., Paz-Vinas I., Sjögren-Gulve P., Segelbacher G., Vernesi C., Aitken S., Bertola L.D., Bloomer P., Breed M., Rodríguez-Correa H., Funk W.C., Grueber C.E., Hunter M.E., Jaffe R., Liggins L., Mergeay J., Moharrek F., O'Brien D., Ogden R., Palma-Silva C., Pierson J., Ramakrishnan U., Simo-Droissart M., Tani N., Waits L. & Laikre L. (2020). Genetic diversity targets and indicators in the CBD post-2020 Global Biodiversity Framework must be improved. *Biological Conservation* 248: 108654.

Lewylle I., Van de Poel S., De Smedt P. & Lambeets K. (2018). Boomkikker en kamsalamander in Vlaanderen. *Natuur.focus* 17(3): 109-116.

Liddell E., Sunnucks P. & Cook C.N. (2021). To mix or not to mix gene pools for threatened species management? Few studies use genetic data to examine the risks of both actions, but

failing to do so leads disproportionately to recommendations for separate management. *Biological Conservation* 256: 109072.

Lommaert L., Adriaens D. & Pollet M. (red.) (2020). Criteria voor de beoordeling van de lokale staat van instandhouding van de Habitatrichtlijnsoorten in Vlaanderen. Versie 2.0. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2020 (28). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel. DOI: doi.org/10.21436/inbor.8193367

Luquet E., Léna J.-P., David P., Joly P., Lengagne T., Perrin N. & Plénet S. (2010). Consequences of genetic erosion on fitness and phenotypic plasticity in European tree frog populations (*Hyla arborea*). *Journal of Evolutionary Biology* 24: 99-110.

Luquet E., Garner T.W.J., Léna J.-P., Bruel C., Joly P., Lengagne T., Grolet O. & Plénet S. (2012). Genetic erosion in wild populations makes resistance to a pathogen more costly. *Evolution* 66(6): 1942-1952.

Mergeay J. (2014). Advies in het kader van de opmaak van een soortenbeschermingsprogramma voor de knoflookpad in Vlaanderen. Adviezen van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek. INBO.A.3139. Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel.

Mergeay J. & Verbist V. (2021). Leidraad Translocaties voor Biodiversiteit in Vlaanderen. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2021 (13). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel. DOI: doi.org/10.21436/inbor.34130911

Nöllert A. & Nöllert C. (1991). Die Amphibien Europas. Bestimmung – Gefährdung – Schutz. Kosmos Naturführer.

Pabijan M., Palomar G., Antunes B., Antoś W., Zieliński P. & Babik W. (2020). Evolutionary principles guiding amphibian conservation. *Evolutionary Applications* 13(5): 857-878.

Pellet J., Helfer V. & Yannic G. (2007). Estimating population size in the European tree frog (*Hyla arborea*). *Amphibia-Reptilia* 28: 287-294.

Ralls K., Ballou J.D., Dudash M.R., Eldridge M.D.B., Fenster C.B., Lacy R.C., Sunnucks P. & Frankham R. (2018). Call for a paradigm shift in the genetic management of fragmented populations. *Conservation Letters* 11(2): 1-6.

Schneider H. & Grosse W.-R. (2009). *Hyla arborea* (Linnaeus, 1758) – Europäischer Laubfrosch. In: Grossenbacher K. Handbuch der Reptilien und Amphibien Europas. Froschlurche II. Aula Verlag, Wiesbaden.

Speybroeck J., De Bruyn L., Van de Poel S., Ledegen H. & Westra T. (2020). Monitoringsprotocol amfibieën en reptielen. Versie 2.0. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2020 (22). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel. DOI: doi.org/10.21436/inbor.17954118

Speybroeck, J. & De Knijf, G. (2019). Staat van instandhouding (status en trends) van de soorten van de Habitatrichtlijn. Deelrapport amfibieën en reptielen - rapportageperiode 2013-2018. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2019 (12). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel. DOI: doi.org/10.21436/inbor.16089660

Stöck M., Dufresnes C., Litvinchuk S.N., Lymberakis P., Biollay S., Berroneau M., Borzée A., Ghali K., Ogielska M. & Perrin N. (2012). Cryptic diversity among Western Palearctic tree frogs: Postglacial range expansion, range limits, and secondary contacts of the three European tree frog lineages (*Hyla arborea* group). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 65: 1-9.

Vrijders H. (2006). Bijdrage tot de kennis van de genetische variabiliteit van de boomkikker (*Hyla arborea*) in Vlaanderen. MSc thesis UGent.