

Advies betreffende de ex-situ kweek van vroedmeesterpad

Adviesnummer:	<u>INBO.A.3669</u>
Auteur(s):	Joachim Mergeay, Johan Auwerx & Jeroen Speybroeck
Contact:	Lode De Beck (lode.debeck@inbo.be)
Kenmerk aanvraag:	e-mail van 26 maart 2018 ; ANB_2018_05
Geadresseerden:	Agentschap voor Natuur en Bos T.a.v. Dries Desloover VAC Brussel - Herman Teirlinck Havenlaan 88 bus 75 1000 Brussel Dries.desloover@vlaanderen.be
Cc:	Agentschap voor Natuur en Bos Joris Janssens (joris.janssens@vlaanderen.be)

Dr. Maurice Hoffmann
Administrateur-generaal wnd.

Aanleiding

Eind 2017 werd het soortenbeschermingsprogramma voor de vroedmeesterpad bij ministerieel besluit goedgekeurd. 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, vermeldt het SBP twee translocatiestrategieën. Adviesvraag A.3535 handelt over deze strategieën.

Nu het SBP is goedgekeurd wenst het ANB de actie 'herintroductie / translocatie' verder te concretiseren. Parallel wordt gecoördineerd, door partners inclusief ANB, werk gemaakt van betere en meer habitat voor de soort. Van de twee in het SBP vermelde translocatiestrategieën, lijkt de tweede strategie, die uitgaat van het verplaatsen van individuen uit gezonde populaties, het meest kansrijk.

Advies A.3535 vermeldt dat, 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) onmiddellijke geassisteerde migratie zeker verdedigbaar is, simultaan met de start van een genetische studie en volgend op habitatherstel.

Via deze adviesvraag wenst het ANB de ex-situ opkweek te concretiseren.

Vraag

Vraag 1 m.b.t. in te brengen specimens

Gelet op de voorgestelde strategie om enerzijds larven bij te plaatsen bij bestaande populaties en anderzijds larven te introduceren op nieuwe geschikte locaties waarbij, zowel in Limburg als in Vlaams Brabant, twee nieuwe locaties worden geselecteerd en twee bestaande populaties worden geselecteerd voor bijplaatsen.

- In welk stadium van de levenscyclus worden de specimens best overgeplaatst rekening houdende met slagingspercentage?
- Dient de overplaatsing bij voorkeur gespreid te worden over meerdere jaren met het oog op een evenwichtige leeftijdsopbouw van de populatie?

Vraag 2 m.b.t. de geschikte bronpopulaties en -materiaal

- Welke (combinatie van) bronpopulaties uit binnen- en buitenland worden voorgesteld om voldoende genetische diversiteit te garanderen?

- Welke verhouding lijkt het best passend om het lokaal aanwezige genetische materiaal enigszins te bestendigen? Per bronpopulatie (binnen- en buitenland) graag aantallen vermelden en het stadium waarin de dieren kunnen worden verkregen.
- Simultaan aan de opkweek is een genetisch onderzoek wenselijk (INBO A.3535). Wat is precies het voorwerp van dit genetisch onderzoek en welke aanpak wordt voorgesteld?
- Wordt voor de opkweek best gewerkt met adulten in gevangenschap of kunnen er eisnoeren worden verzameld en opgekweekt. Welke buitenlandse ervaring is bekend?

Vraag 3 m.b.t. de budgettering

- Wat is de kostprijs van het genetisch onderzoek van de gebruikte bronpopulaties en de ontvangende Vlaamse populatie?
- Wat is de kostprijs van de opkweek van de vroedmeesterpad uitgedrukt in Euro en VTE per jaar voor de aangehaalde 8 (4 + 4) locaties en rekening houdende met het antwoord op vraag 1?

Vraag 4 Kan INBO instaan voor de ex-situ opkweek van vroedmeesterpad, indien ja, via een enveloppe-project?

Toelichting

1 Aantallen en stadia

1.1 Aantal individuen per locatie

We adviseren om minstens 95% van de genetische diversiteit van de bronpopulatie(s) te behouden in elk van de nieuwe populaties. Genetische criteria voor de lokale staat van instandhouding (LSVI) voor de vroedmeesterpad (Mergeay, 2013; Lommaert *et al.*, in druk) bepalen dat voor het bereiken van een goede staat van instandhouding voor een metapopulatie vroedmeesterpad er een grootte vereist is van minimum 2438 volwassen individuen.

We gaan ervan uit dat onder gunstige natuurlijke condities één vrouwelijk legsel (gemiddeld 42 eitjes volgens Marquez, 1993) naar schatting leidt tot 1,93 adulte individuen. Dit gegeven gebruiken we in een logistisch populatiegroeimodel om te bepalen hoe groot de stichtende adulte populatie moet zijn om in een draagkrachtige populatie (d.i. met 2438 individuen) 95% van de genetische diversiteit van de kweekpopulatie te behouden. We adviseren om gedurende drie jaren op iedere locatie individuen zo uit te zetten dat variatie in de leeftijdsverdeling wordt bekomen en jaareffecten gebufferd zijn (zie onder). Daarvoor is het nageslacht van minstens 22 kweekdieren per jaar per metapopulatie nodig. Gesteld dat onder optimale natuurlijke condities 60% van de juvenielen overleeft tot het adulte stadium (Wels, 2007), dan is het nodig dat er per locatie en per jaar minstens veertig juvenielen uitgezet worden. Voor bijplaatsingen hangt het aantal uit te zetten individuen af van de lokale populatiegrootte. In extreem kleine populaties kan men de bijplaatsing nagenoeg beschouwen als een herintroductie. In grotere populaties (>50 adulten) adviseren we om jaarlijks maximaal 20% van de reeds aanwezige populatiegrootte bij te plaatsen, teneinde de lokale genetische samenstelling enigszins te behouden, waarbij ook rekening wordt gehouden met een te verwachten sterfte van 40% onder de bij te plaatsen dieren.

1.2 Levensstadium voor translocatie

Volgens Martín-Beyer *et al.* (2011) is het aan te bevelen om de vroedmeesterpadden uit te zetten na hun metamorfose in het juveniele stadium, omwille van de verhoogde kans op predatie en de vatbaarheid voor (schimmel)ziektes van de larven. Onder natuurlijke omstandigheden is het juveniele stadium doorgaans de meest dispersieve fase van amfibieën (Wells, 2007). Hoewel juvenielen zo de doelhabitat zouden kunnen verlaten, nemen we aan dat ze vooral de geschikte microhabitats aanwezig op de doellocatie zo optimaal mogelijk zullen benutten.

Er moet steeds een populatie worden opgebouwd van meerdere jaarklassen. Gezien deze soort twee tot drie jaar nodig heeft om geslachtsrijp te worden, dienen jonge dieren minimaal gedurende drie jaar te worden uitgezet.

2 Oorsprong van te kweken individuen

Welke de ideale combinatie is van dieren uit verschillende bronpopulaties, kan niet bepaald worden op basis van de huidige kennis. Er zijn zeer veel combinaties mogelijk. Het is aangewezen om populaties te selecteren die op zich robuust zijn en waar het wegnemen van dieren geen negatief effect heeft op de leefbaarheid van de populatie. Voor de Vlaamse populaties is dat niet evident omdat allen in een (zeer) ongunstige staat van instandhouding verkeren. Toch is het interessant om ook vanuit die bronnen materiaal te selecteren, indien mogelijk, teneinde ook de genetische variatie aanwezig in Vlaanderen mee te betrekken in een herintroductieproject binnen Vlaanderen. Om over voldoende dieren te beschikken voor uitzetting (zie verder) beschikken we ideaal over minstens 27 kweekdieren per jaar. Hiervan zou bijvoorbeeld 1/3 afkomstig kunnen zijn van Vlaamse populaties, verdeeld over Voeren en Vlaams-Brabant, en de overige 1/3 uit Duitsland en 1/3 uit Wallonië. Er bevinden zich in Wallonië voldoende grote metapopulaties (in een gunstige staat van instandhouding) in het Maasbekken van waaruit dieren kunnen gebruikt worden. Zo ook in de aangrenzende Duitse deelstaten Noordrijn-Westfalen en Rijnland-Palts (beiden zijn centraal in het westen van Duitsland gelegen).

2.1 Genetisch onderzoek

De noodzaak aan genetische opvolging volgt onder meer uit het Soortenbesluit van 15 mei 2009. Het genetisch onderzoek dient om de toestand van de bronpopulaties te kennen, en de identiteit van de uitgezette dieren te bepalen, om daarna de evolutie van de uitgezette populaties te kunnen opvolgen. Genetisch onderzoek laat immers toe om de effectieve populatiegrootte van populaties te bepalen, alsook genetische uitwisseling te meten. Het genetisch onderzoek laat ook toe om inteelt in de uitgezette populaties op te volgen. Inteelt is een cruciale factor in herintroducties, omdat het de fitness van individuen sterk beïnvloedt, en daardoor de slaagkans van herintroducties mee bepaalt.

Op een reeks van ca. 20 genetische microsatellietmerkers (of het equivalent in andere merkers, bv. ca. 120 SNPs¹) wordt de genetische variatie van de bronpopulaties en de kweekdieren bepaald op een representatief aantal individuen op een niet-lethale minimaal invasieve methode. We verkiezen dit te doen op een staartpuntje van goed ontwikkelde larven (met reeds aanwezige vrij goed ontwikkelde achterpoten). Op dezelfde set merkers wordt na afloop van de derde reeks uitzettingen de evolutie van de genetische diversiteit in de uitgezette populaties bepaald, en aan de hand van deze kenmerken wordt de inteeltcoëfficiënt bepaald, wordt de effectieve grootte geschat en wordt eventuele genetische uitwisseling bepaald.

¹ Single nucleotide polymorphisms

2.2 Kweekmethodiek

De opkweek van vroedmeesterpad van ei tot juveniel lijkt niet zeer complex. Er is buitenlandse ervaring met de kweek van vroedmeesterpad (van Wijck, 1991; Martin-Beyer *et al.*, 2011; Wells *et al.*, 2015). We bespreken hier kort drie methodes of scenario's:

Scenario 1. Men kan uit verschillende gebieden mannetjes met legsels op de rug vangen, en deze in het kweekcentrum eitjes laten afzetten, waarna de mannetjes terug in hun gebied van oorsprong kunnen gezet worden of uitgewisseld worden met andere doelpopulaties teneinde genmigratie van volwassen dieren te imiteren. Deze methode werd gebruikt in Zwitserland (Schlup, 2015). De bekomen larven worden dan grootgebracht tot het juveniele stadium. In dit stadium worden de dieren uitgezet in de doelgebieden. De overige dieren worden deels teruggezet in hun gebied van oorsprong, ter compensatie van de eerdere vangst, en kunnen deels uitgezet worden in geschikt leefgebied indien het reeds beschikbaar is. Het is aangewezen om deze methode gedurende drie jaren te herhalen.

Deze werkwijze wordt veelvuldig gebruikt bij andere organismen zoals vissen (Korte, 2014). We rekenen dat we per eisnoer (ca. 40 eitjes) 15 juvenielen kunnen afleveren. Dit houdt rekening met een ontluikingsscijfer van eitjes van ca. 75% en larvale sterfte van ca. 50% tijdens de kweek. Om jaarlijks 400 individuen te kunnen uitzetten (minstens 40 dieren per locatie, 8 locaties) hebben we dan minstens 27 mannetjes met eisnoeren nodig.

Het grootste knelpunt van deze methode is om jaarlijks voldoende mannetjes met eisnoeren te vangen. Hiervoor werd door Schlup (2015) gebruik gemaakt van een netwerk van vrijwilligers. Om deze methodiek hier te gebruiken zou op verschillende locaties (Duitsland, Wallonië, Vlaanderen) verschillende groepen van vrijwilligers moeten aangestuurd worden.

Bijkomend nadeel van deze methode is dat er nog geen genetische vermenging is opgetreden onder de uitgezette dieren, en dat een eventuele aanwezige inteeltdepressie (te verwachten in zeer kleine populaties zoals de Vlaamse) nadelig is. De fitness-voordelen van uitkruising tussen populaties (Frankham, 2015) kunnen zich hierdoor slechts een generatie na de uitzetting manifesteren.

Scenario2. De stap met adulte dieren kan overgeslagen worden, en men kan direct beginnen met vangst van larven in voortplantingspoelen, om deze verder op te kweken tot uitzetbare juvenielen. Nadelen hiervan zijn dat a) er veel minder zicht is op het aantal ouders dat hierbij betrokken is, hetgeen van belang is voor een voldoende grote genetische basis, b) dat er ook nog geen genetische vermenging is opgetreden op het moment van uitzetten, waardoor inteeltdepressie nog aanwezig kan zijn. Het voordeel is dat er geen tijd moet gestoken worden in het vangen van mannetjes met eisnoeren.

Scenario 3. Een ander alternatief is om de volledige kweek te beginnen met adulten in gevangenschap, die jaarrond worden gehouden in verwarmde buitenterraria (bv van Wijck, 1991). Dit heeft het voordeel dat het de bronpopulaties slechts éénmalig verstoort en dat er volledige controle is over de genetische samenstelling van de larven. Deze methode is echter veel arbeidsintensiever op vlak van de kweek en huisvesting van de dieren, die immers gedurende drie jaren in gevangenschap moeten worden gehouden.

3 Kostprijs

3.1 Genetische analyses

Merkerontwikkeling kost circa € 12.000, dit is voor de uitbesteding en de éénmalige aanschaf van de merkers. Daarnaast zal een analyse op twintig microsatellietmerkers per genotype ca. € 29,5 per staal kosten (werking), met een personeelsinzet van 0,15 VTE (0,07 A en 0,08 B samengeteld) per jaar voor ca. 100 stalen. In het ideale geval wordt elk uitgezet individu gengenotypeerd (ca. 40 per populatie, 8 populaties). Dit laat toe om in groot detail te bepalen hoe de genetische structuur evolueert in elke populatie, hoeveel dieren achteraf effectief bijdragen aan de populatie, etc. In het minimale scenario worden elk jaar de eidragende mannetjes gescreend, alsook een subset van vijftig larven.

3.2 Kweek

De kostprijs voor het opzetten van een dergelijk kweekprogramma is sterk afhankelijk van de gekozen kweekmethodes. Ook wanneer begonnen wordt met eisnoeren of gevangen larven kunnen deze gaan van extensief, naar semi-intensief tot intensief. De groei, de overleving van de larven en het bekomen aantal uit te zetten exemplaren hangen af van de gekozen kweekmethode. Bij een extensieve kweek kan er gewerkt worden met zogenaamde enclosures waarin de larven ter plaatse opgroeien. Bij een semi-intensieve kweek kan er geopteerd worden om de larven in een afgesloten vijver op te kweken. Bij een intensieve kweek worden de larven in bassins gehouden die voorzien zijn van de nodige beluchting, waterverversing,... en de larven dagelijks aangepaste voeding krijgen. Dergelijk intensief kweekstelsel is voorzien van een noodstroomaggregaat. De kostenanalyse is te vinden in bijlage 1.

De kostprijs zal ook zeer sterk afhangen van het aantal benodigde exemplaren. Onder optimale condities rekenen we op een netto productie van vijftien juvenielen per eisnoer.

4 Kan INBO instaan voor de ex-situ opkweek?

Het INBO beschikt in Linkebeek over een geschikte locatie om een kweekprogramma voor vroedmeesterpad op te zetten. Klimatologisch en ecologisch is deze locatie extra geschikt aangezien in het verleden de soort hier van nature voorkwam. Eveneens is er goede literatuur beschikbaar met betrekking tot de kweek in het kader van herintroducties en bijplaatsingen (Martin-Beyer *et al.*, 2011; Michaels *et al.*, 2016; Wells *et al.*, 2015) waardoor de kweek als haalbaar wordt beschouwd.

Momenteel is de kweekfaciliteit zo goed als volledig (in tijd en ruimte) in gebruik, waardoor uitbreiding van lopende ANB-opdrachten (beekprik, beekforel, kwabaal, rivierdonderpad, kamsalamander, ...) met nog een opdracht (vroedmeesterpad) niet mogelijk is zonder de bestaande kweekopdrachten af te bouwen of extra middelen te voorzien om dit te realiseren.

Gelet op de lineaire personeelsbesparing sinds het begin van de huidige legislatuur is het INBO genoodzaakt zijn enveloppewerking te herbekijken. Het INBO kan zich daarom momenteel niet engageren om supplementaire enveloppeprojecten te aanvaarden bovenop de in 2019 nog doorlopende projecten.

Conclusie²

² V: Vraag ; A: Antwoord

1. In te brengen specimens

V: Hoeveel specimens en in welk levensstadium dienen per locatie te worden voorzien?

A: Jaarlijks veertig juvenielen, kort na de metamorfose van de larven.

V: Dient de overplaatsing gespreid te moeten worden over meerdere jaren?

A: We adviseren een gefaseerde populatieopbouw, gespreid over minstens drie jaren.

2. Bronpopulaties

V: Welke combinatie van bronpopulaties is aangewezen, en in welke verhoudingen?

A: We adviseren om 1/3 Vlaamse, 1/3 Waalse en 1/3 Centraal-West-Duitse bronpopulaties te gebruiken.

V: Wat is het voorwerp van het genetisch onderzoek?

A: Opvolgen van de effectieve grootte en inteelt van de geherintroduceerde populaties en deze waar bijplaatsingen zijn uitgevoerd.

V: Wordt voor de kweek best gebruik gemaakt van eisnoeren of adulten in gevangenschap?

A: Naar kweekmethodiek toe is het efficiëntst om te vertrekken van eidragende mannetjes, deze de eitjes in gevangenschap te laten afzetten en deze larven op te kweken tot het stadium voor uitzetting. Die kweekmethode (intensieve kweek) geeft de hoogste kans om over voldoende individuen te beschikken om uit te zetten. Alternatieve methodes zijn met een kosteninschatting en voor/nadelen weergegeven in het advies.

3. Budgettering

V: Wat is de kostprijs van het genetisch onderzoek van de gebruikte bronpopulaties en de ontvangende Vlaamse populatie?

A: De kostprijs van het genetisch onderzoek hangt af van het gewenste detailniveau, en is besproken in de toelichting van dit advies.

V: Wat is de kostprijs van de opkweek van vroedmeesterpad?

A: De kostprijs voor het opzetten van een dergelijk kweekprogramma is afhankelijk van de gekozen kweekmethodes en het beoogde aantal locaties/populaties (zie bijlage 1).

4. Kan INBO instaan voor de kweek?

V: Kan INBO instaan voor de kweek van vroedmeesterpad?

A: Ja, mits andere vragen worden afgebouwd of extra middelen worden voorzien voor de kweek van vroedmeesterpad.

Referenties

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.

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

Korte E. (2014). Untersuchung des Schlammpeitzgers (*Misgurnus fossilis*) in Südhessen sowie Durchführung eines Zucht- und Besatzprogramms. - Untersuchung im Auftrag des Landes Hessen., RP Darmstadt. 26 pp.

Lommaert L., Adriaens D. & Pollet M. (in druk). Criteria voor de beoordeling van de lokale staat van instandhouding van de Habitatrichtlijnsoorten in Vlaanderen. Versie 2.0. INBO.R.2015.8193367. Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel.

Martín-Beyer B., Fernández-Beaskoetxea S., Garcia G. & Bosch J. (2011). Re-introduction program for the common midwife toad and Iberian frog in the Natural Park of Peñalara in Madrid, Spain: can we defeat chytridiomycosis and trout introductions? Pages 81-84 in: *Global Re-introduction Perspectives: 2011. More case studies from around the globe*. IUCN/SSC Re-introduction Specialist Group & Abu Dhabi Environment Agency, Gland, Switzerland.

Márquez R. (1993). Male reproductive success in two midwife toads, *Alytes obstetricans* and *A. cisternasii*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 32:283-291.

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.

Michaels C.J., Fahrbach M., Harding L., Bryant Z., Capon-Doyle J.-S., Grant S., Gill I. & Tapley B. (2016). Relating natural climate and phenology to captive husbandry in two midwife toads (*Alytes obstetricans* and *A. cisternasii*) from different climatic zones. *Alytes* 33: 2-11.

Schlup B. (2015). Umsiedlung der Geburtshelferkröten Projekt Sanierungstunnel Belchen (STB). Karch Herpetokolloquium, Bern.
https://www.unine.ch/files/live/sites/karch/files/Doc_a_telecharger/Herpetokolloquium/pr%C3%A9sentations/2015/9_Schlup_1143%20Herpetokolloquium%20Umsiedlung%20v1.pdf

Van Wijck D. (1991). Paring en eiafzetting van de Vroedmeesterpad (*Alytes obstetricans*) in het buitenterrarium. *Lacerta* 49:140-142.

Wells E., Garcia-Alonso D., Rosa G.M., Garcia G. & Tapley B. (2015). Amphibian Taxon Advisory Group best practice guidelines for midwife toads (*Alytes* spp.), version 1. Amphibian Taxon Advisory Group, EAZA. Beschikbaar via www.eaza.net/assets/Uploads/CCC/2015-Midwife-toads-EAZA-Best-PracticeGuidelines-Approved.doc.pdf

Wells, K. D. 2007. *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press, Chicago. 1400 pp.

Bijlage 1: Overzicht werklust en directe werkingskosten voor scenario's 1 tot 3.

Dit standaardoverzicht geeft de kosten weer voor scenario 1 (vangst van mannetjes met eisnoeren). Scenario 2 is identiek hieraan, evenwel zonder de vangst van mannetjes, enkel larven moeten worden gevangen. In scenario 3 (jaarrond houden van adulten) moet de extra kost van huisvesting en verzorging van ca. 60 volwassen dieren mee verrekend worden (mannetjes en vrouwtjes), en dit gedurende minstens drie jaren.

- **Voorafgaande werken**

Op de kwekerij:

Installatie bouwen met aanwezige bassins voor het huisvesten van de mannetjes.
Installatie bouwen voor de opkweek van de larven (o.v. van de gemaakte keuzes)
luchtpompen, voedsel, voedingssupplementen, verwarmingselementen,...
aanschaffen (o.b.v. van de gemaakte keuzes). (*dubbel voor scenario 3*).
Tijd? : 10 (20) d.

- **Verzamelen 27 mannetjes met eisnoeren**

- Dit kan best jaarlijks opnieuw georganiseerd worden. Zo verkrijgen we een maximale genetische diversiteit. Idealiter is er jaarlijks een mix vanuit meerdere populaties.
Wanneer: mei - augustus.
- Tijd: niet begroot. Hangt af van selectie van bronlocaties, terwijl inspanning om mannetjes met eisnoeren te vinden niet gekend is.
- Hoe ?:
 - In de drie herkomstgebieden worden mannetjes met eisnoeren gevangen. Het verzamelen van de mannetjes kan gebeuren door plastic folie en emmers te plaatsen en de mannetjes te vangen die op en neer trekken naar hun poelen.
 - door ANB en externen bij de Waalse en Duitse populaties.
- Wat na verzamelen?:
 - Swab nemen voor schimmelonderzoek
 - Veldformulier invullen, foto nemen van het rugpatroon
 - De gevangen mannetjes ter plaatse in plastic bakken verzamelen en dagelijks overbrengen naar Linkebeek
 - Swabs bezorgen aan gespecialiseerd laboratorium
- Benodigd materiaal:
 - Plastic containers
 - Swabs
 - Veldformulier
 - Schrijfgierief

- **Huisvesting van de mannetjes met de eisnoeren te Linkebeek**

De 27 mannetjes met eisnoeren worden verdeeld over 3-4 buitenterraria, bestaande uit bassins van 4.000 liter met daarin een droge en natte zone. De mannetjes kunnen in deze

“biotoop” dagelijks naar een waterpartijtje kruipen om de eitjes te bevochtigen. Indien ook wijfjes moeten worden gehuisvest (scenario 3) zijn eens zoveel buitenterraria nodig. Ieder eisnoer bevat bij een vroedmeesterpad gemiddeld 40 eieren. In de bassins wordt een kleine waterverversing voorzien. Iedere tank wordt tegen predatoren afgeschermd. Dagelijks krijgen de mannetjes voeding en worden de systemen gecontroleerd. De afgezette / ontloken larven worden 2 maal per week verzameld.

- Tijd?: 2 uur/dag gedurende 3 weken (ook weekends) (scenario 3: x 2)
- Door INBO

• **Opkweek van de larven te Linkebeek**

Voor de opkweek van de ontloken larven kan er gekozen worden tussen intensieve of extensievere methodes. Intensieve opkweek zal meer personeelsinzet vragen, maar resulteert in een groter aantal jonge vroedmeesterpadjes. Uitgaande van 27 mannetjes, zou het potentieel aantal geproduceerde larven maximaal 400 stuks bedragen.

De periode van opkweek tot juveniele diertjes bedraagt, afhankelijk van de temperatuur, meerdere maanden. Larven die laat op het jaar zijn afgezet (na juli) overwinteren doorgaans als larve, en moeten dus de hele winter door gehouden worden. We voorzien hiervoor twee diepere, ingegraven overwinteringsbassins van 2000 liter elk.

➤ Intensieve opkweek:

- De opkweek van de larven zal plaats vinden in 8 bassins van 400 liter. Deze worden voorzien van verwarmingselementen, beluchting,.... De dieren ontvangen supplementaire voeding. Het streefcijfer is een overleving van 50 % van larven.
- Benodigde tijd voor het bouwen van deze systemen: 2 x 10 dagen
- Benodigde tijd voor het opkweken: 2 uur/dag gedurende 150 dagen (ook zaterdagen, en zon- en feestdagen).
- Door INBO
- Wat?: dagelijks voederen, verversen water, voeder aankoop, voeder aanmaken

➤ Semi-intensieve opkweek:

- De opkweek van de larven zal plaats vinden in 3 kleine vijvers (140 m²) op de kwekerij. Deze vijvertjes worden vooraf afgelaten om vertebrate en invertebrate predatoren maximaal te verwijderen, en daarna afgezet met een plastic folie en overspannen met draden tegen vogels. Er is geen supplementaire voeding voorzien. De overleving is moeilijk in te schatten (vraat door larven van libellen, waterroofkevers,...).
- Benodigde tijd voor het inrichten van deze vijvers: 2 x 3 dagen
- Tijd?: 15 min/dag gedurende 250 dagen (ook zaterdagen en zondagen)
- Door INBO
- Wat?: controle vijvers en verzamelen van de jonge padden.

➤ Extensieve opkweek:

- Het INBO staat enkel in voor de periode van het uitbroeden van de eitjes. Nadien worden de larven op locatie in enclosures gezet en deze worden door ANB/ vrijwilligers opgevolgd.
- Tijd?: 2 personen gedurende 1 week

Bij intensieve opkweek moet er ook extra tijd gerekend worden voor het oplossen van allerlei technische problemen, het maken van extra huisvesting bij het aan land gaan van de juveniele padden, de verplaatsingen pathologisch onderzoek op ziekteverwekkers, , ... Uit de ervaringen met de opkweek van de kamsalamanderlarven, bleek dat een grootschalige opkweek van die soort toch meer problemen met zich meebracht dan wat in hobby-magazines aangegeven wordt.

- **Uitzet van de juveniele vroedmeesterpadjes (ca 1,5 cm groot) + transport vanuit Linkebeek**

Om risico's te spreiden, kan dit best gebeuren op 2 verschillende momenten. De jonge padden moeten immers op 8 verschillende locaties uitgezet worden. Het uitzetten van de jonge dieren moet uiterst zorgvuldig gebeuren.

- Tijd?: 2 x 1 dag (1 persoon)
- INBO verzamelt de dieren uit de kweekinstallaties en brengt ze naar de verschillende locaties.

Budget en personeelsinzet

Wat	Tijd (uur)	
	Deskundige (dagen)	technische ondersteuning (dagen)
Voorbereiding		
<ul style="list-style-type: none"> Bouw installaties huisvesting mannetjes (mannetjes en vrouwtjes, scenario 3) 	5 (10)	5 (10)
<ul style="list-style-type: none"> Swabs nemen ter controle ziektes in de te gebruiken populaties 	1	
Verzamelen mannetjes met eisnoeren per locatie (jaarlijks)		
Door ANB/locale verantwoordelijken/vrijwilligers?		
<ul style="list-style-type: none"> Plastic folie spannen, emmers ingraven Controle van de vanginrichting (vrijwilligers?) 		
<ul style="list-style-type: none"> Transport naar Linkebeek 		
Uitbroeden eisnoeren (jaarlijks)		
<ul style="list-style-type: none"> Controles, voeding, waterverversing, verzamelen larven 2 uur/ gedurende 6 weken (ook weekend, en uitgaande van een spreiding van 3 weken tussen eerste en laatste broedsel) 	4	8
Jaarrond zorg en huisvesting kweekdieren (jaarlijks, scenario 3)	30	45
Optie A: Opkweek larven intensief		
<ul style="list-style-type: none"> Bouwen systemen voor opkweek larven (éénmalig) 	10	10
<ul style="list-style-type: none"> Voederen, verversen water, voeder aanmaken, controles,... 2u/dag gedurende 150 dagen 	15	30
<ul style="list-style-type: none"> Oplossen problemen, aanpassingen huisvesting,... 	5	5
Optie B: Opkweek semi-intensief		
<ul style="list-style-type: none"> Voorbereiding en inrichting vijvers (éénmalig) 	3	3
<ul style="list-style-type: none"> Dagelijkse opvolging aan 15 min/. 250 en 	2	8
Optie C: Opkweek extensief	5	5
Uitzet + voorbereiding transport		
<ul style="list-style-type: none"> Uitzetten padden 	2	
<ul style="list-style-type: none"> Terugbrengen naar bronpopulatie 	1	

Kosten materiaal:

- Aankoop beluchters/ zuurstofstenen/ 'beregencomputer'/ voeder/ voedingssupplementen,.....€ 1500
- Verbruik elektriciteit, diversen,.....€ 500

Verplaatsingskosten: te bepalen in functie van veldwerk en andere.