

Knoflookpad in Callantsoog

Verspreiding, voortplanting en geografische herkomst

Richard P.J.H. Struijk, Nienke Prins, Stephanie Koster, Niels Jansen, Niek Putters, Jitske Esselaar, Manon de Visser, James France & Ben Wielstra

In 2019 werd langs een amfibieënscherm tegen de duinen bij Callantsoog volstrekt onverwachts een knoflookpad in een valemmer gevonden. Een jaar later maakten gerichte luister- en zoekacties duidelijk dat zich hier een populatie gevestigd had. In 2021 is daarom aanvullend onderzoek uitgevoerd. Aandachtspunten daarbij waren de verspreiding, de voortplanting én de geografische herkomst (op basis van genetische gegevens) van de populatie. De resultaten zijn bijzonder en voegen wéér een extra dimensie toe aan de casus van deze illegaal geïntroduceerde maar sterk bedreigde dieren.

Inleiding

De eerste bevindingen over het onverwachte voorkomen van de knoflookpad in Natura 2000-gebied 'Zwanewater & Pettemerduinen' bij Callantsoog zijn in 2020 en 2021 gepubliceerd (zie Struijk, 2020; 2021). Hoewel desbetreffend onderzoek de knoflookpad zondermeer op de kaart zette, was het onvoldoende om de complete verspreiding van de soort in de duinen (en omgeving) te kunnen duiden. Bovendien was er, omdat het een illegaal geïntroduceerde populatie betreft, behoefte om inzicht te krijgen in de soortidentiteit en geografische herkomst van de dieren. Om deze aspecten nader te onderzoeken zijn RAVON, het Institute of Biology Leiden (Leiden Universiteit), Naturalis Biodiversity Center en Natuurmonumenten in 2021 een samenwerking aangegaan.

Methode

Het onderzoeksgebied strekt zich uit van de parkeerplaats Zwanewater in het noorden tot Uitkijkpunt op duin Sint Maartenzee in het zuiden, én de Uitlandse Polder. Daarbinnen is in de periode april

tot en met augustus 2021 na zonsondergang op het zicht naar knoflookpadden gezocht en zijn, voor individuele herkenning, rugpatronen gefotografeerd. In april en mei 2021 is met onderwatermicrofoons tevens naar roepende dieren geluisterd. Van half juni tot en met begin juli is vervolgens met behulp van fuiken een larvenonderzoek uitgevoerd om het voortplantingssucces te kunnen bepalen (Jansen & Putters, 2021). Er is dus een onderscheid tussen voortplantingsactiviteit (kooractiviteit) en voortplantingssucces (larven) gemaakt.

Gelijktijdig is wangslimvlies, dat in 2020 van 18 dieren was verzameld, genetisch geanalyseerd (Koster *et al.*, 2023). Uit het wangslimvlies werd DNA geïsoleerd en een DNA-barcode van 657 baseparen van het mitochondriale cytochroom b-gen gesequenced. Hiermee kon het haplotype (de specifieke DNA-lettercode) van elk individu geïdentificeerd worden. Door deze te vergelijken met een database van haplotypen van knoflookpadden, verzameld over het hele verspreidingsgebied van het geslacht *Pelobates*, is de soortidentiteit en de geografische herkomst van de Callantsoog-populatie vastgesteld.



Landhabitat van de knoflookpad in N2000-gebied Zwanewater & Pettemerduinen. (Foto's: R. Struijk)



Verspreiding

In 2021 zijn 59 landvondsten gedaan waardoor, gecombineerd met 2020, in totaal 102 waarnemingen met bijbehorende fotoregistratie bekend zijn. Negen individuen bleken meermaals te zijn waargenomen; acht exemplaren tweemaal en één exemplaar viermaal. Dit resulteert in 91 unieke individuen die tot en met 2021 zijn aangetroffen. Slechts één individu is in zowel 2020 als 2021 gevonden. Geen van de verplaatsingen van de hervangen individuen bedroeg meer dan 65 meter. De verspreiding van waarnemingen rond Callantsoog in 2021 kwam in grote lijnen overeen met die in 2020. Echter, met aanvulling van het onderzoek naar voortplantingsactiviteit- en succes (zie verder), is het voorkomen van de knoflookpad nóg verder zuidwaarts vastgesteld, waardoor ook een zesde kilometerhok bezet blijkt (tegenover vijf in 2020). De meest noordelijke en zuidelijke larvenvangsten liggen op circa 1,3 kilometer van elkaar verwijderd. Ook zijn voor het eerst knoflookpadden in de Uitlandse Polder waargenomen. De aanwezigheid hier lag voor de hand, gezien de voorjaartrek richting dit natuurontwikkelingsgebied aan de oostzijde van de N502 (Struijk, 2020; 2021), maar waarnemingen vanuit de polder zelf ontbraken tot 2021.

Voortplanting

Kooractiviteit is in 2020-2021 in twaalf verschillende wateren vastgesteld. In 2020 was succesvolle voortplanting reeds in één water aangetoond; op eenvoudige wijze werden met een schepnet larven gevangen (Struijk, 2020; 2021). In 2020 zijn alle wateren waar in 2020 en/of 2021 kooractiviteit is vastgesteld, en enkele extra wateren, met fuiken bemonsterd. In de Uitlandse Polder is, ondanks het zeer beperkte aantal roepende dieren (2) dat hier is gehoord, een vlakdekkende fuikmonitoring uitgevoerd in zowel poelen als sloten. In totaal zijn in vier wateren, allen in het duingebied gelegen, knoflookpadlarven aangetroffen. Één van de wateren betreft een uitgestrekt moeras waar bij aanhoudende droogte een aantal van elkaar geïsoleerde waterhoudende laagtes overblijven. Noemenswaardig zijn de aantallen larven die plaatselijk hoog waren; voor Nederlandse begrippen erg hoog. Zo werden in een water met tien fuiken binnen één etmaal maar liefst 267 larven (~4-10 cm)

gevangen. In het eerdergenoemde moeras werden per deellocatie (de diepe delen) maxima van 31 tot 35 larven per etmaal gevangen. Het dagrecord van 62 fuiken in alle wateren tezamen was 420 larven. In geen van de wateren waar vis werd aangetroffen, zijn knoflookpadlarven aangetroffen. In zowel de duinen als Uitlandse Polder waren snoek en tiendoornige stekelbaars de voornaamste soorten, in laatstgenoemd gebied zaten verder ook zeelt en kleine modderkruiper. Van de in totaal twaalf voortplantingswateren die zijn vastgesteld (2020, 2021), zijn er dus tenminste vier succesvol gebleken. Deze vier wateren zijn visvrij, wat waarschijnlijk een belangrijke factor is voor de mate van voortplantingssucces. Verder ligt de pH in deze vier wateren tussen de 6,1 en 7 (EGV= 350-600 $\mu\text{S}/\text{cm}$) en zijn zij alle helder. Hoewel deze voor knoflookpad gunstige fysische en chemische eigenschappen voor veel van de aanwezige wateren in het gebied gelden, zijn dus veel daarvan met vis bezet. Ook speciaal aangelegde amfibiewateren inunderen eenvoudig vanuit het Zwanewater, waardoor ze door vissen gekoloniseerd raken.

Soort en geografische herkomst

Alle geïdentificeerde haplotypen waren reeds bekend uit eerdere studies (Crottini *et al.*, 2007; Dufresnes *et al.*, 2019). De individuen uit Callantsoog behoren tot de soort *P. fuscus*, en niet tot de – op het oog nauwelijks te onderscheiden en nauw verwante soort – ‘Pallas knoflookpad’, *P. vespertinus* uit Oekraïne en Rusland. In de inheemse populaties van de knoflookpad in Nederland zijn twee mitochondriale haplotypen aangetroffen: FUS13 en FUS14 (Eggert *et al.*, 2006; Dufresnes *et al.*, 2019). FUS13 is thans uniek voor Nederland en FUS14 heeft een grote verspreiding in Europa. In de populatie van Callantsoog werden echter twee andere haplotypen gevonden: FUS5 en FUS6. FUS5 is bekend uit Servië, en FUS6 komt voor in Oostenrijk, Hongarije en Servië (Dufresnes *et al.*, 2019). Deze hoek van Centraal-Europa is daarmee de meest waarschijnlijke oorsprong van de voorouders van de populatie in Callantsoog.

Discussie

Het onderzoek in 2021 heeft een ruimere verspreiding ten opzichte van 2020 aan het licht gebracht. Dit komt waarschijnlijk niet door



Succesvolle voortplantingswateren van de knoflookpad: ruime oppervlaktes met ondiep, visvrij, helder water met een weelderige onderwatervegetatie en een pH van 6,1-7. (Foto's: R. Struijk)

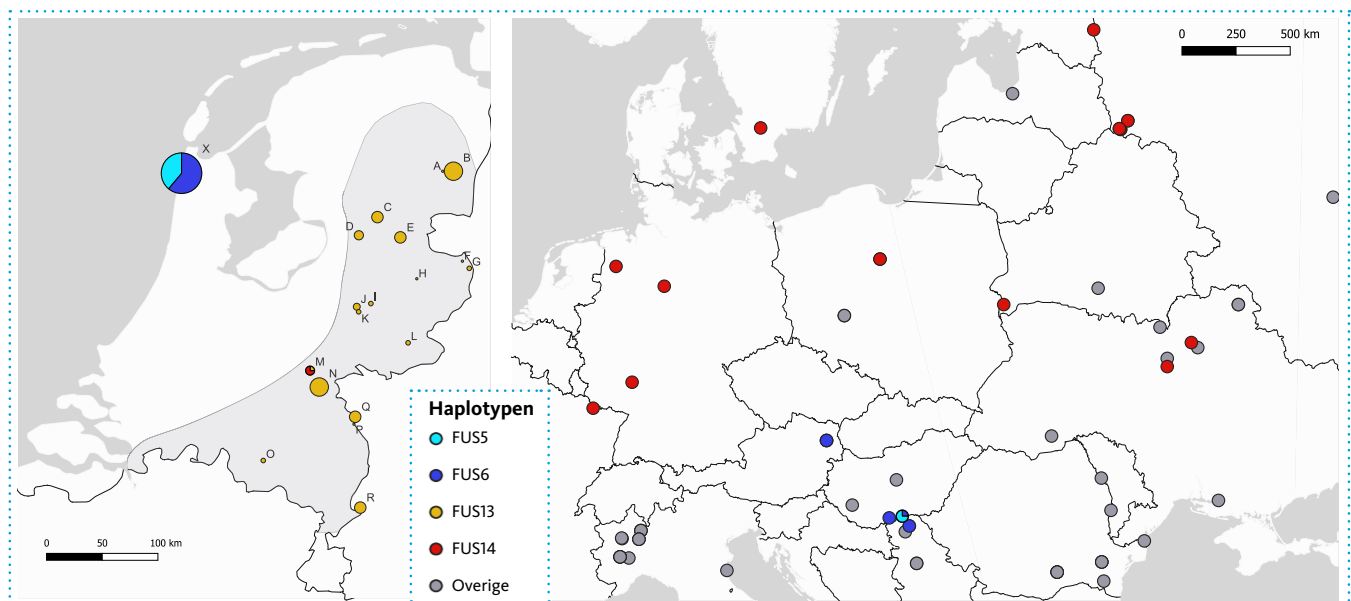


snelle uitbreiding, maar omdat in 2020 geen vlakdekkend onderzoek is uitgevoerd. Het voorkomen van de knoflookpad in een zesde kilometerhok van aaneengesloten leefgebied is in Nederland behoorlijk uniek; veel inheemse populaties zijn sterk geïsoleerd en niet zelden afhankelijk van één voortplantingswater (Bosman *et al.*, 2015). Het voortplantingssucces in Natura 2000-gebied Zwanenwater & Pettemerduinen blijkt plaatselijk hoog te zijn. Reden voor dit succes is waarschijnlijk de hoge kwaliteit van de voortplantingswateren en de ligging daarvan direct tegen geschikt landhabitat aan. De pH van de meest productieve wateren was 6,5-7, er was een uitbundige watervegetatie, het water was helder en vis afwezig. Dergelijke situaties zijn in het natuurlijke verspreidingsgebied van de knoflookpad in Nederland uiterst schaars geworden. Omdat kwalitatief goed land- en aquatisch habitat ook nog zuidwaarts van de huidige verspreiding in Callantsoog aanwezig is, bestaat er een reële kans dat de knoflookpad zich in de toekomst verder zal uitbreiden. Deze casus lijkt inzichtelijk te maken dat, wanneer de omstandigheden geschikt zijn, de knoflookpad daar navenant op zal reageren en daadwerkelijk kan floreren. Dat er minder of geen sprake is van een sterke populatietoename bij veel van de herintroductie- en bijplaatsingsprojecten (Struijk & Schut, 2022) betekent mogelijk dat habitatkwaliteit en/of -kwantiteit onvoldoende zijn. Wij pleiten daarom voor nog meer aandacht voor habitatverbetering en -vergroting alvorens er tot herintroductie en bijplaatsing wordt overgegaan. De vraag is of de succesvolle vestiging te Callantsoog een positieve ontwikkeling is; het gaat immers om een sterk bedreigde soort die

Tabel 1: Haplotypen van de knoflookpaddenpopulatie uit Callantsoog en diverse andere autochtone Nederlandse populaties, afkomstig uit verschillende studies (¹Koster *et al.*, 2023; ²Jansman *et al.*, 2011; ³Eggert *et al.*, 2006). (* door Jansman *et al.* (2011) aangeduid als 'Lichtenvoorde').

Code	Provincie	Populatie	# Monsters			Haplotypen	
			2023 ¹	2011 ²	2006 ³		
X	Noord-Holland	Callantsoog	18			FUS ₅ (7); FUS ₆ (11)	
A	Drenthe	Hendriksveen	1			FUS ₁₃	
B		Valthe	3	5		FUS ₁₃	
C	Overijssel	Staphorst		5		FUS ₁₃	
D		Zwolle		4		FUS ₁₃	
E		Arriën		5		FUS ₁₃	
F		de Plooi (Tilligte)		1		FUS ₁₃	
G		Rodemors	1	1		FUS ₁₃	
H		Barvoorde (Wierden)	1			FUS ₁₃	
I		Gelderland	Gorsseel	1	1		FUS ₁₃
J			De Poll	3			FUS ₁₃
K	Soerel			2		FUS ₁₃	
L	Zieuwent		1	1*		FUS ₁₃	
M	Ewijk		2		2	FUS ₁₃ (1); FUS ₁₄ (3)	
N	Overasseltse en Hatertse Vennen		7	1		FUS ₁₃	
O	Noord-Brabant	Toterfout	2			FUS ₁₃	
P	Limburg	Bergerheide		1		FUS ₁₃	
Q		Heereven (Beekheuvel)		5		FUS ₁₃	
R		Meinweg		5		FUS ₁₃	

ondanks grote inspanningen, nog steeds zwaar onder druk staat in Nederland. De auteurs zijn van mening dat deze casus geen positieve ontwikkeling is. Het illegaal uitzetten van populaties, nota bene van buitenlandse herkomst en buiten het oorspronkelijke verspreidingsgebied is af te keuren. De uitzetting is vermoedelijk het werk van particulieren die de mogelijke gevolgen niet overzien.



Figuur 1: Verspreiding van haplotypes van de knoflookpad in Nederland en Europa (eigen data aangevuld met Eggert *et al.*, 2006; Jansman *et al.*, 2011; zie tabel 1). Het grove natuurlijke verspreidingsgebied in Nederland is grijs gearceerd.





Knoflookpad uit Callantssoog. (Foto: N. Jansen).

Introductie van ziektes, concurrentie om voedsel en predatie – alle lastig waarneembaar, maar wel degelijk reëel – zijn voorbeelden van risico's voor de reeds aanwezige fauna. Ook mag het risico op verdere verspreiding van deze genetisch afwijkende knoflookpadden niet worden onderschat. Secundaire verspreiding, oftewel translocatie van dieren vanuit Zwanewater & Pettemerduinen naar autochtone populaties, kan desastreuze gevolgen hebben ('outbreeding'). Het gevaar van deze secundaire verspreiding krijgt vrijwel geen aandacht in Nederland, maar ligt voor diverse reptielen en amfibieën op de loer (Struijk & Wielstra, 2023).

Amfibieën (en ook reptielen) hebben een bovengemiddeld 'sleepehalte', getuige de talloze uitzettingen van verschillende soorten door het hele land (Spikmans & Ouborg, 2015; Gilbert & Lemmers, 2022). Het tegenwoordig (vanaf 2017) legaal kunnen houden en kweken van inheemse herpetofauna vormt in die zin een nieuw risico, aangezien gevangenschapsdieren in Nederland een aantoonbaar legale herkomst moeten hebben en initieel dus van buitenlandse hobbyisten afkomstig moeten zijn. Als gevolg van het grote voortplantingspotentieel van amfibieën kan een surplus aan nakweekdieren ontstaan. Het scenario waarbij kwekers dit surplus willen uitzetten is niet alleen voorstelbaar maar zelfs al bewezen (Struijk & Wielstra, 2023). Het risico van versoepeling in de wetgeving kan dus tot een toename in illegale introducties van inheemse herpetofauna leiden. Het bestrijden van geïntroduceerde populaties, in het bijzonder die met een volkomen afwijkende geografische herkomst of diegene die zelfs tot een uitheemse cryptische soort behoren, is wat ons betreft een serieuze optie die wij beleidsmakers derhalve aanbevelen. Naast een beschermingseffect voor de autochtone populaties, kan dit ook een ontmoedigend effect hebben op verdere illegale introducties.

Summary

Distribution, reproduction and geographical origin of the common spadefoot at Callantssoog

An illegally introduced population of, supposedly, common spadefoots (*Pelobates fuscus*) was discovered in the coastal dunes of Callantssoog in 2020. Additional research on the local distribution, reproduction and provenance has been conducted in 2021. The species' distribution extended the range that was recorded in 2020 with one new square kilometre grid, totalling 6 grids. The total number of reproduction sites

(chorus activity) was determined at 12 and successful reproduction (larvae) occurred in at least four of these sites. Successful breeding waters contained no fish, were clear and had roughly neutral pH values (6,1-7). A genetic study (mtDNA) revealed the spadefoots were indeed *Pelobates fuscus* but with a non-indigenous origin. Their haplotypes are known from Serbia (FUS5) and Austria, Hungary and Serbia (FUS6). Throughout the native range in the Netherlands haplotype FUS13 is present, with a single population additionally containing haplotype FUS14. The illegal introduction of herpetofauna is rather popular but is highly undesirable and comes with significant risks. Changes in Dutch legislation allows privates to keep and breed indigenous herpetofauna since 2017 which increased the risk of releasing of surplus stock. Because of the risks, including secondary distribution of introduced animals into native populations, elimination of introduced populations, despite possible species rareness, should be considered a real option.

Literatuur

- Bosman, W., R.P.J.H. Struijk, M. Zekhuis, F. Otburg, B. Crombaghs, D. Schut & P. van Hoof, 2015. De knoflookpad in Nederland: ondergang of "slechts" een bottleneck? *De Levende Natuur* 116 (1): 2-6.
- Crottini, A., F. Andreone, J. Kosuch, L.J. Borkin, S.N. Litvinchuk, C. Eggert, M. Veith, 2007. Fossorial but widespread: the phylogeography of the common spadefoot toad (*Pelobates fuscus*), and the role of the Po Valley as a major source of genetic variability. *Molecular Ecology* 16: 2734-2754.
- Dufresnes, C., I. Strachinis, N. Suriadna, G. Mykitynets, D. Cogalniceanu, P. Székely, T. Vukov, J.W. Arntzen, B. Wielstra, P. Lymberakis, E. Geffen, S. Gafny, Y. Kumlutaş, Ç. Ilgaz, K. Candan, E. Mizsei, M. Szabolcs, K. Kolenda, N. Smirnov, P. Géniez, S. Lukanov, P.-A. Crochet, S. Dubey, N. Perrin, S.N. Litvinchuk, M. Denoël, 2019. Phylogeography of a cryptic speciation continuum in Eurasian spadefoot toads (*Pelobates*). *Molecular Ecology* 28: 3257-3270.
- Eggert, C., D. Cogalniceanu, M. Veith, G. Dzukic & P. Taberlet, 2006. The declining Spadefoot toad *Pelobates fuscus* (Pelobatidae): paleo and recent environmental changes as a major influence on current population structure and status. *Conservation Genetics* 7: 185-195.
- Gilbert, M. & P. Lemmers, 2022. Genetisch onderzoek vitaliteit en authenticiteit vroedmeesterpad in Limburg. *RAVON* 24(3): 46-49.
- Jansen, N.M., & N. Putters, 2021. Een vreemde pad in de bijt. Een onderzoek naar de verspreiding en het voortplantingssucces van de knoflookpad (*Pelobates fuscus*) in Callantssoog. Stichting RAVON, Nijmegen.
- Jansman, H., I. Laros, J. Bovenschen & F. Ottburg, 2011. Populatie genetische status knoflookpaddenpopulatie Nederland; kunnen we mengen? Alterra, Wageningen: 6pp.
- Koster, S., N. Prins, C. Dufresnes, J. France, M.C. de Visser, R.P.J.H. Struijk & B. Wielstra, 2023. The conservation paradox of an introduced population of a threatened species: spadefoot toads in the coastal dunes of the Netherlands. *Amphibia- Reptilia* 44(1): 11-18.
- Spikmans, F. & J. Ouborg, 2015. Genetisch onderzoek muurhagedissen in Nederland t.b.v. risicoanalyse geïntroduceerde exotische muurhagedissen en genetische vitaliteit autochtone populatie Maastricht. Stichting RAVON, Nijmegen.
- Struijk, R.P.J.H., 2020. Knoflookpadden in de kustduinen van Callantssoog. *RAVON* 22(4): 80-81.
- Struijk, R.P.J.H., 2021. Knoflookpadden in de kustduinen van Callantssoog. Tussen Duin en Dijk 2021(1): 16-18.
- Struijk, R.P.J.H. & D. Schut, 2022. De knoflookpad in Overijssel. Populatiestatus en effecten van (her)introductie en bijplaatsing. Stichting RAVON, Nijmegen & ATKB, Assen.
- Struijk, R.P.J.H. & B. Wielstra, 2023. Hybridisatierisico's door nieuwe boomkikker-taxa in Nederland. *Kijk op Exoten* 43: 10-11.

Richard P.J.H. Struijk RAVON, rstruijk@ravon.nl

Ben Wielstra, Nienke Prins, Stephanie Koster, Manon de Visser & James France

Institute of Biology Leiden, Leiden University & Naturalis Biodiversity Center, ben.wielstra@naturalis.nl

Jitske Esselaar

Vereniging Natuurmonumenten, jesselaar@natuurmonumenten.nl

Niek Putters & Niels Jansen Hogeschool Van Hall Larenstein

