DE INVLOED VAN ZURE DEPOSITIE OP EEN AANTAL SOORTEN AMFIBIEEN IN NEDERLAND

No. 165

Marius M.C. Christiaans

maart - september 1983
doctoraalverslag voor het
bijvak Aquatische Oecologie

LABORATORIUM VOOR AQUATISCHE OECOLOGIE
Katholieke Universiteit, Toernooiveld, Nijmegen

Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening
en Milieubeheer, Directoraat Lucht, Project LB 131

DE INVLOED VAN ZURE DEPOSITIE OP EEN AANTAL SOORTEN AMFIBIEEN IN NEDERLAND

maart - september 1983

Marius M.C. Christiaans
projectleider: drs.R.S.E.W. Leuven

Verslag No. 165
februari 1984, doctoraalverslag voor het
bijvak Aquatische Oecologie

Laboratorium voor Aquatische Oecologie, Katholieke Universiteit Nijmegen.
Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, Directoraat Lucht, Project LB 131.

Niets uit deze uitgave mag worden overgenomen zonder schriftelijke toestemming van de projectleider.

INHOUDS-OPGAVE

	pag.
Voorwoord	1
1.Inleiding	2
2.Materiaal en methoden	7
2.1 Levenscyclus der amfibieën	7
2.1.1. Adulte exemplaren	7
2.1.2. Eiafzet	9
2.1.3. Larven en juvenielen	10
2.2. Monsterplaatsen	11
2.3. Monstermethoden	13
2.4. Kweekexperimenten	15
2.4.1. pH-gevoeligheid	15
2.4.2. Al-gevoeligheid	15
2.5. Statistische verwerking	16
3.Resultaten	17
3.1. Veldresultaten	17
3.1.1.1. Fysisch-chemische parameters	17
3.1.1.2. De zuurgraad	19
3.1.2. Aanwezigheid van adulte exemplaren	21
3.1.3. Rana arvalis (heikikker)	22
3.1.4. Rana temporaria (bruine kikker)	26
3.1.5. Bufo bufo (gewone pad)	30
3.1.6. Rana esculenta-komplex (groene kikker)	33
3.1.7. Bufo calamita (rugstreeppad)	38
3.1.8. Triturussoorten (salamanders)	39
3.2. Laboratorium resultaten	41
3.2.1. pH-gevoeligheid	41
3.2.2. Al-gevoeligheid	45
3.3 Samenvatting van de resultaten van de veld-waarnemingen en laboratorium-experimenten	47
4.Discussie en conclusie	51
4.1. Discussie	51
4.2. Conclusie	53
5.Aanwijzingen voor verdergaand onderzoek	55
6.Nawoord	56
7.Summary	57
Dankwoord	58
Geraadpleegde literatuur	59
Bijlagen	62

VOORWOORD

Dit verslag bevat de resultaten van een onderzoek naar de invloed van verzuring op het voorkomen van een aantal soorten amfibieën in Nederland.
Het onderzoek werd uitgevoerd van maart t/m september 1983 op de afdeling Aquatische Oecologie van de Katholieke Universiteit te Nijmegen onder begeleiding van drs. R.S.E.W. Leuven en gefinancierd door het Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer.
Enkele resultaten werden op posters gepresenteerd tijdens het Int. Symp. Aquat. Macrophytes van 14-24 september 1983 te Nijmegen en het Zure regen Symp. op 17-18 november 1983 te 's-Hertogenbosch.

1. INLEIDING

De laatste decennia is in Scandinavië en Noord-Amerika relatief veel onderzoek verricht naar de effecten van zure neerslag op aquatische oecosystemen. In deze gebieden zijn duizenden oppervlaktewateren recentelijk verzuurd. Talrijke veranderingen in abiotische en biotische factoren van deze systemen kunnen gecorreleerd worden met de zuurgraad en chemische samenstelling van de neerslag (Drabløs & Tollan, 1980; Overrein et al., 1981).

Coesel et al. (1978), van Dam & Kooijman-van Blokland (1978), van Dam et al. (1980, 1981), Geelen et al. (1983),den Hartog et al. (1983), Higler (1979), Leuven et al. (1984), Roelofs (1983a,b) en Roelofs & Schuurkes (1983) vermelden dat ook in Nederland culturele verzuring van oppervlaktewateren kan plaatsvinden. Deze verzuring heeft vergaande gevolgen voor de chemische samenstelling van het water en de aquatische biota. In ons land blijken vooral de zwak gebufferde wateren (alkaliniteit$\leq$1 meq/l) op calciumcarbonaat-arme minerale bodem (zoals vennen, enkele duinplassen en wielen) gevoelig te zijn voor zure neerslag. Het merendeel van deze wateren is gesitueerd op de pleistocene zandgronden in zuid-oost Nederland.

Over de invloed van verzuring op amfibieën is nog vrij weinig bekend. In Noord-Amerika blijken populaties van Ambystoma maculatum zeer sterk achteruit te gaan ten gevolge van verzuring van de voortplantingspoelen (Pough, 1976; Pough & Wilson, 1974). Gosner & Black (1957) vinden een verspreidingspatroon van soorten amfibieën dat afhankelijk is van de zuurgraad van de voortplantingswateren. Iedere soort heeft een specifieke tolerantie t.a.v. de zuurgraad. Clausnitzer (1979) neemt een sterke achteruitgang waar van Rana arvalis populaties, veroorzaakt door schimmelaantasting der eiklompen. De beschimmelingsgraad blijkt afhankelijk van de pH van het water. Hagström (1977,1980) constateert t.g.v. verzuring een sterke vergrijzing van populaties van Rana temporaria en Bufo bufo. Als een indirect effect blijkt Triturus vulgaris in aantal toe te nemen wegens het plaatselijk uitsterven van de vissen.
Uit het bovenstaande blijkt dat plaatselijk geïsoleerde amfibieënpopulaties onder bepaalde omstandigheden een sterk verminderd voortplantingssucces kunnen hebben, waardoor vergrijzing en zelfs uitsterven van soorten kan optreden omdat geschikt voortplantingswater ontbreekt.

Ook in Nederland wordt geconstateerd dat het voortplantingssucces sterk afneemt bij een lage pH van het water. Strijbosch (1979) onderzocht gedurende een aantal jaren het voorkomen van adulten en het voortplantingssucces in relatie tot de samenstelling van de vegetatie en de fysisch-chemische samenstelling van het water in een 15-tal van nature zure vennen. De vennen hadden een pH van 3.7 tot 6.3 (jaargemiddelden), terwijl de trofie-graad varieerde van oligotroof tot min of meer eutroof. Van oorsprong waren al deze vennen vrij zuur en oligotroof maar door meeuwenkolonisatie en landbouwinvloeden ontstond een terrein met vennen die onderling verschillen in trofie-graad, pH en watersamenstelling. Een aantal resultaten van het onderzoek zijn kort samengevat:

- Er is een duidelijke correlatie tussen de fysisch-chemische samenstelling van het water en de samenstelling van de vegetatie.
- De waargenomen soorten amfibieën zijn: Rana arvalis, Rana esculenta-komplex, Rana temporaria, Bufo bufo, Bufo calamita, Pelobates fuscus, Triturus alpestris, Triturus cristatus en Triturus vulgaris.
- Voortplanting is niet mogelijk in de meest oligotrofe, zure vennen, maar wel in de min of meer geëutrofieerde, minder zure vennen.
- R.temporaria komt in bijna alle vennen voor. In grote aantallen komt R.temporaria voor in wateren waarin het voortplantingssucces min of meer verzekerd is. Alleen in deze laatste vennen vindt eiafzet plaats.
- R.arvalis komt eveneens in bijna alle vennen voor en zet ook in bijna vennen eiklompen af ondanks het mislukken van de voortplanting (elk jaar opnieuw) in een aantal van de vennen.
  Dit gedrag van R.arvalis wordt mogelijk verklaard door de aanwezigheid van R.temporaria (interspecifieke competitie). R.temporaria verschijnt iets eerder op de voortplantingsplaatsen dan R.arvalis en bezet de beste afzetplaatsen (de afzetplaatsen zijn voor beide soorten identiek).
- R.esculenta-k. vertoont wat betreft het voorkomen in de vennen hetzelfde gedrag als R.temporaria.
- B.calamita en P.fuscus geven de voorkeur aan de guanotrofieerde vennen (dit zijn hoog productieve vennen). Deze selectiekeuze wordt verklaard door het feit dat B.calamita-larven een korte ontwikkeltijd hebben en P.fuscus-larven erg groot worden m.a.w. er moet veel voedsel beschikbaar zijn tijdens de larvale periode.
- B.bufo komt in wateren voor die gedurende een lange tijd geëutrofieerd zijn (vnl. in 2 van de 15 vennen).

- Triturussoorten selecteren eveneens de eutrofere vennen. Dit wordt mogelijk verklaard door de carnivore leefwijze van de larven.
- De gevoeligheid voor beschimmeling van de eilegsels is soortsafhankelijk.

In bijlage 1a,b wordt een overzicht gegeven van een aantal resultaten van dit onderzoek.
Cuppen (1983) vermeldt het verdwijnen van een bloeiende kikkerpopulatie (R.arvalis) op de Veluwe t.g.v. verzuring van oppervlaktewater.
Roelofs (1983) vermeldt een sterk gereduceerde of zelfs géén voortplanting in een aantal verzuurde laag alkaliene wateren wegens beschimmeling van de eilegsels.

Over de inwerking van een zuur milieu op de ei-ontwikkeling is nog weinig bekend. In het onderstaande volgen enkele literatuurgegevens.
Lee & Gerking (1980) constateren dat de gevoeligheid van visseneieren voor verzuring is terug te voeren tot de eerste uren nà de bevruchting. Blootstelling van visseneieren aan lage pH's de eerste uren na de bevruchting resulteert in een lager percentage hatching dan wanneer de eieren pas 24 uur na de bevruchting in water met een lage pH worden overgeplaatst. De oorzaak wordt gezocht in de permeabiliteit van het chorion voor water en verschillende ionen tijdens de eerste uren na de bevruchting. Na de bevruchting wordt het chorion geleidelijk selectiever voor osmose en diffusie. Het plasmamembraan ondergaat dezelfde veranderingen: de membraansterkte neemt toe. Het totaal van deze processen wordt 'verharding' genoemd. Na 'verharding' vormen het chorion en het plasmamembraan een barrière om de zich ontwikkelende vrucht te beschermen tegen het externe milieu.

Een combinatie van onderzoeken aan amfibieën van Clausnitzer (1979), Gosner & Black (1957), Hagström (1977,1980), Ploegmakers & de Man (1971), Pough (1976) en Strijbosch (1979) geven het volgende beeld.
In zure wateren treden veranderingen op wat betreft de osmoregulatie van de eieren: de eieren zwellen minder waardoor eiklompen klein blijven en stevig aanvoelen. De embryo's worden in hun ontwikkeling gehinderd omdat er plaatsgebrek ontstaat waardoor de zuurstofvoorziening niet optimaal verloopt. De embryo's liggen vrij in de eieren maar kop en staart raken elkaar. Afgestorven eieren/embryo's worden geïnfecteerd door zuur

resistente schimmels behorende tot de Saprolegniaceae.Of ook verzwakte eieren embryo's geïnfecteerd worden is onbekend. In zuur water wordt regelmatig geconstateerd dat eiklompen aan de buitenkant beschimmelen terwijl de eieren in het centrum van de eiklomp wel normaal ontwikkelen: de aan de buitenkant gelegen eieren vormen een beschermende laag tegen het zure externe milieu ten gunste van de centraal gelegen eieren. Beschimmeling treedt op tijdens de eerste ontwikkelingsstadia of tijdens de stadia 18 tot 21. (Voor de beschrijving der stadia wordt verwezen naar Witschi, 1956.) Ook wanneer het vrijzwemmende stadium 25 bereikt is, kunnen larven alsnog afsterven in wateren met een te lage pH.

Overrein et al. (1981) en Leuven et al. (1984) vermelden dat in verzuurde wateren de concentraties van metalen zoals Al^{3+} en Cd^{2+} significant toe kunnen nemen. Normaal komen deze stoffen in een gebonden, niet giftige vorm voor in de bodem, maar gaan in oplossing bij een lage pH. De mogelijkheid dat deze stoffen een negatieve invloed hebben op de ontwikkeling van eilegsels is niet ondenkbaar. Leivestad (1980) constateert een negatieve invloed van Al^{3+} op de ontwikkeling van visseneieren; deze invloed is het grootst bij een pH van het water tussen 5.0 en 5.5. Ten aanzien van de ontwikkeling van amfibieëneieren constateren Dilling & Healey (1926) dat lood, thorium, zink, koper, thallium en betyllium een negatieve invloed hebben op de germinatie van de eieren en dat larven groeistoornissen krijgen en kunnen sterven.

Naast fysisch-chemische veranderingen treden ook veranderingen op in de samenstelling van aquatische biota. Voor de ontwikkeling van amfibieëneieren is het vaak dominerend voorkomen van Sphagnum spec. in zure wateren van belang. Hagström (1980) vindt onder lab.-condities beduidend lagere hatching percentages van R.temporaria-eieren wanneer deze eieren op een Sphagnum-bed liggen. Het verlaagde hatching-percentage zou veroorzaakt worden door het vrijkomen van Sphagnum-zuren en/of de door Sphagnum spec. veranderde ionenbalans.

Het in 1983 uitgevoerde onderzoek aan amfibieën is een onderdeel van een breed opgezet onderzoek naar de invloed van verzuring op aquatische oecosystemen. Binnen dit onderzoek zijn de effecten van waterverzuring op de samenstelling en abundantie van macrofyten, microflora en microfauna,

macrofauna en amfibieën- en vissenpopulaties bestudeerd. Daarnaast is aandacht besteed aan een groot aantal fysische- en chemische parameters van water en bodem.
Behalve de bestudering van amfibieën in het veld zijn ook enkele laboratorium-experimenten uitgevoerd.

De doelstelling van het amfibieënonderzoek is als volgt samen te vatten:

- Het inventariseren van de soorten amfibieën in laag alkaliene wateren in Nederland.
- Het bepalen van de tolerantie der adulten en het voortplantingssucces van de verschillende soorten amfibieën ten aanzien van de zuurgraad en de watersamenstelling. Hiertoe zal voornamelijk aandacht worden besteed aan de eiafzet, eiontwikkeling en het voorkomen van larven.

2. MATERIAAL EN METHODEN

2.1. LEVENSCYCLUS DER AMFIBIEEN

Alvorens de onderzoeksmethoden uiteen te zetten, wordt kort ingegaan op de levenswijze der amfibieën. Zonder kennis van de oecologie en ethologie van amfibieën is het onmogelijk onderzoek aan deze soorten te verrichten.

In het onderstaande volgt een korte beschrijving van de levens- en jaarcyclus van de waargenomen soorten amfibieën. Aandacht wordt besteed aan het tijdstip waarop de verschillende stadia kunnen worden waargenomen. Voor een uitvoerige beschrijving van alle in Nederland voorkomende amfibieënsoorten wordt verwezen naar Sparreboom (1981).

De levenscyclus van een amfibie bestaat uit een aantal opeen volgende stadia, te weten: ei, larve, juveniel (eerste jaars gemetamorfoseerd exemplaar), subadult (onvolwassen exemplaar) en adult (volwassen exemplaar). Elk adult exemplaar doorloopt een jaarcyclus die bestaat uit de winterslaap, de paartijd, de eiafzetperiode, de zomer-najaarsperiode en wederom de winterslaap. Tijdens bepaalde stadia bevinden de amfibieën zich in het water, andere stadia worden op het land doorgebracht.
Een aantal van de bovenstaande stadia bieden de mogelijkheid om gedurende het jaar een beeld te krijgen van de aanwezigheid en de mate van voortplanting van iedere soort. In figuur 1 zijn de voor dit onderzoek belangrijke stadia weergegeven. Van iedere soort wordt aangegeven wanneer de adulte exemplaren op de voortplantingsplaatsen aanwezig zijn, in welke periode de eiafzet plaats vindt en wanneer larven waargenomen kunnen worden.

2.1.1. ADULTE EXEMPLAREN

De aanwezigheid van adulten van B.bufo, R.arvalis en R.temporaria in het voortplantingswater beperkt zich tot de paartijd en de eiafzetperiode. Direct daarna verlaten de adulten van deze soorten het water en brengen de overige stadia van de jaarcyclus op het land door. Na de eiafzetperiode kan toch informatie omtrent de aanwezigheid van adulten van deze soorten verkregen worden door de aanwezigheid van afgezette eisnoeren en eiklompen,

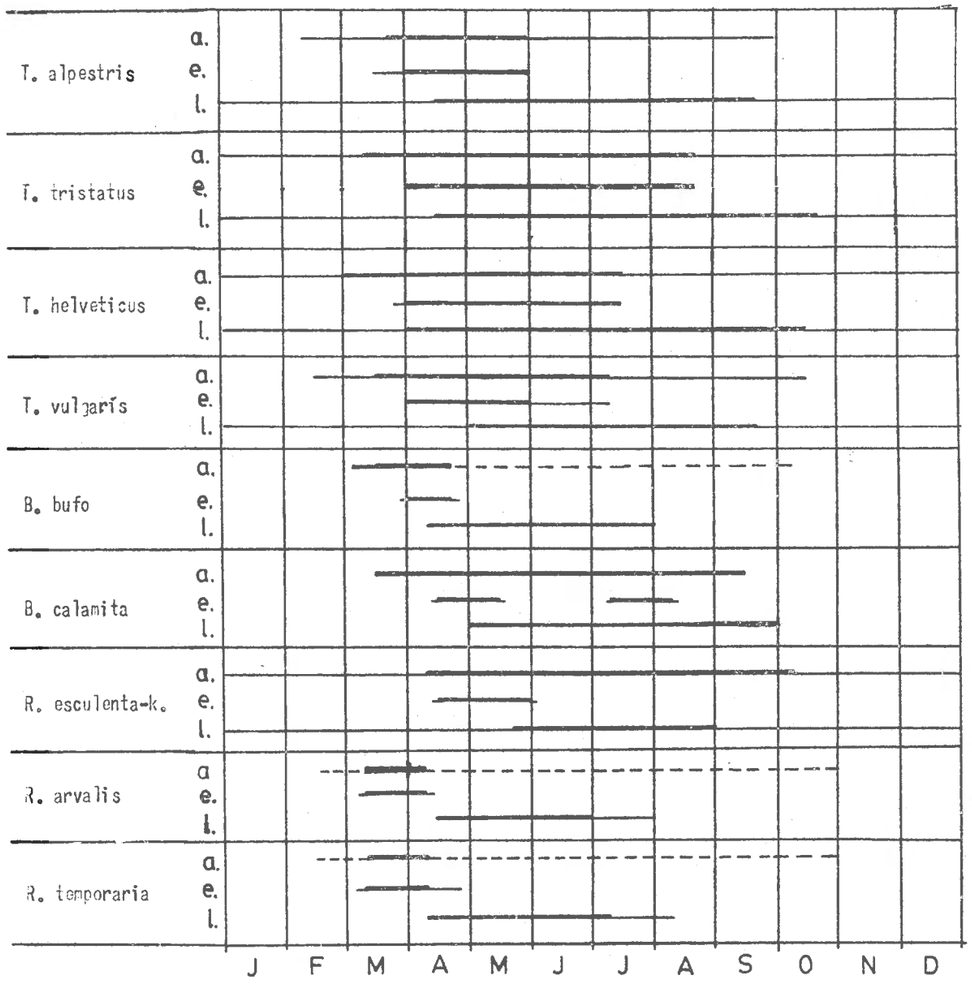


Fig.1: Overzicht van de aanwezigheid van adulten, de periode van eiafzet en de aanwezigheid van larven van een negen-tal soorten amfibieën. ———— aanwezigheid in het water.
— — — — aanwezigheid op het land.
a.= adulten; e.= eiafzet; l.= larven.
(Bron: Bergmans & Zuiderwijk, 1980; Sparreboom, 1981)

larven en juvenielen. De tijdsduur waarin eisnoeren en eiklompen nog te vinden zijn, is afhankelijk van de ontwikkelsnelheid der eieren, deze is o.a. sterk temperatuurafhankelijk. Juvenielen worden op de oever waargenomen. De verblijftijd op de oever is echter kort omdat juvenielen van deze soorten snel verder landinwaarts trekken. Overigens kunnen juvenielen waargenomen

worden gedurende de laatste periode dat nog larven in het water aanwezig zijn.

R.esculenta-komplex (zie 3.1.6.), B.calamita, T.alpestris, T.cristatus, T.helveticus en T.vulgaris kunnen als adult een langere periode in het voortplantingswater aangetroffen worden. R.esculenta-k. heeft een sterk watergebonden levenswijze en kan het hele jaar in het water gezien worden. Alleen de winterslaap vormt hierop een uitzondering: R.ridibunda overwintert onder water, R.lessonae op het land en R.esculenta in het water of op het land. B.calamita verblijft in het water vanaf de paartijd tot ver in de zomer; de late zomer en najaarsperiode wordt evenals de winterslaap op het land doorgebracht. Ook adulten van de Triturussoorten kunnen tot ver in de zomer in het water gevonden worden. T.alpestris en T.vulgaris overwinteren op het land, terwijl T.cristatus en T.helveticus op het land of in het water overwinteren. Naast de directe waarnemingen aan adulten, vormen vondsten van eilegsels en vangsten van larven en juvenielen van deze soorten indirecte bewijzen voor de aanwezigheid van adulte exemplaren.

2.1.2. EIAFZET

Met behulp van eilegsels (losse eitjes, eiklompen en eisnoeren) kan een water op de aanwezigheid van amfibieën geïnventariseerd worden. De hoeveelheid eilegsels geven een indicatie omtrent de populatiegrootte, terwijl de mate van beschimmeling (d.i. ei-mortaliteit) en daarmee het percentage eitjes dat zich wèl tot larve ontwikkelt een maat vormt voor het voortplantingssucces.

De mate waarin eilegsels gevonden kunnen worden is soortsafhankelijk. Triturussoorten zetten de eitjes elk afzonderlijk af op plantendelen gedurende het voorjaar tot in de zomer. De eiafzetperiode is lang maar omdat de eitjes apart afgezet worden, wordt het vinden van salamandereitjes sterk bemoeilijkt.

De Bufo-soorten zetten eisnoeren af, de Rana-soorten eiklompen. De eiafzetperiode is met uitzondering van B.calamita kort (B.calamita kan een tweede eiafzetperiode hebben). De tijd waarin eisnoeren en eistrengen zichtbaar zijn, is afhankelijk van de watertemperatuur omdat de ontwikkeltijd van ei tot larve temperatuurafhankelijk is. In 1983 waren eisnoeren van B.bufo

en eiklompen van R.arvalis en R.temporaria lang zichtbaar omdat na de eiafzetperiode een relatief natte, koude periode optrad.

De plaats waar de eiafzet plaatsvindt, is specifiek voor de soort (Strijbosch, 1979). In het algemeen geven Triturussoorten de voorkeur aan ondiep water en worden zachte plantendelen gebruikt om de eitjes vast te zetten. T.cristatus vormt een uitzondering: deze zet de eitjes af in wat dieper water en de plantendelen mogen harder zijn. Bufo-soorten zetten eisnoeren af in dieper water waarbij de strengen om harde delen zoals rietstengels e.d. worden gewikkeld. R.esculenta-k. zet eiklompen af op planten in wat dieper water, R.arvalis en R.temporaria geven de voorkeur aan de ondiepe oeverzone.

Eilegsels zijn geschikt voor kwalitatieve inventarisaties. Voor sommige soorten zijn de eilegsels ook geschikt voor kwantitatieve inventarisaties, bijvoorbeeld wanneer de eilegsel gedurende een lange tijd waargenomen kunnen worden.

2.1.3. LARVEN en JUVENIELEN

Uit figuur 1 blijkt dat de larvale periode voor de meeste soorten ongeveer 3 maanden duurt. Na deze periode vindt de metamorfose plaats. Larven van R.esculenta-k. en de Triturussoorten metamorfoseren soms niet het zelfde jaar en overwinteren als larve. Pas het jaar daarna vindt de metamorfose plaats. Triturussoorten metamorfoseren soms in het geheel niet waardoor de sexuele rijpheid als larve bereikt wordt. Dit verschijnsel heet neotenie.

Na de larvale periode begint de juveniele periode. De periode duurt tot de winterslaap. Over het algemeen trekken juvenielen zeer snel na de metamorfose verder het land in en keren pas terug naar het water om zich als volwassen dier voort te planten. Alleen R.esculenta-k. vormt hierop een uitzondering omdat deze door zijn water gebonden leefwijze altijd in de buurt van het water blijft: juvenielen kunnen een langere tijd op de oever waargenomen worden.

Als laatste moet opgemerkt worden dat ook larven geschikt zijn voor kwalitatieve inventarisaties; bij kwantificering kunnen echter moeilijkheden optreden omdat het aantal vangsten aan larven sterk afhankelijk is van de habitatselectie der larven, mogelijke schoolvorming en van de selectiviteit van de monstername.

2.2. MONSTERPLAATSEN

De verspreiding van de monsterplaatsen over Nederland is weergegeven in figuur 2. Hierbij is gebruik gemaakt van de "Inventarisatie-atlas voor flora en fauna van Nederland" (SBB, 1981). In bijlage 2 worden de Amersfoort-coördinaten van de monsterplaatsen vermeld.

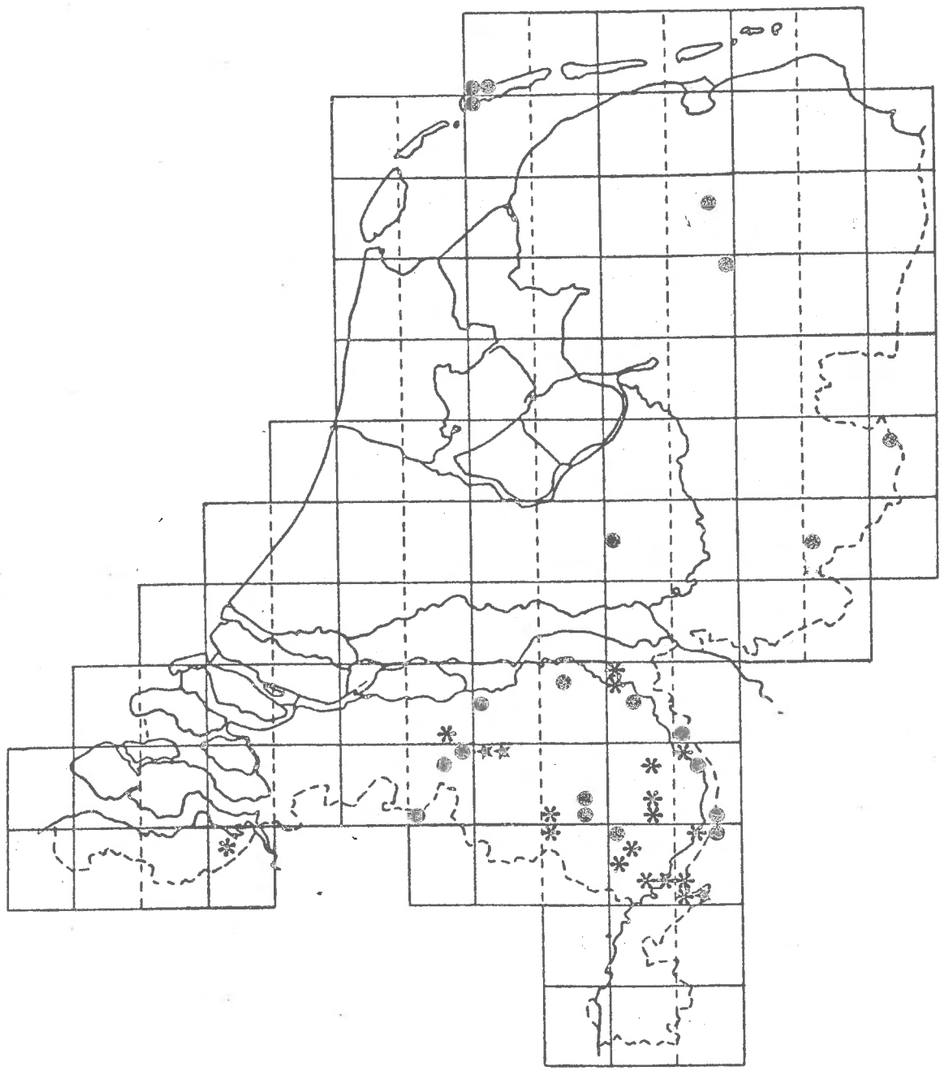


Fig.2: Verspreiding van de bemonsterde wateren.
- ● = atlasblok waarin 1 bemonsterd water.
- ✱ = atlasblok waarin 2 - 5 bemonsterde wateren.
- ★ = atlasblok waarin meer dan 5 bemonsterde wateren.

De monsterplaatsen bestaan uit:

- 35 wateren, die ook bemonsterd werden binnen het breed opgezette onderzoek naar de invloed van verzuring op aquatische oecosystemen. De 35 wateren behoren tot de zogenaamde "(ex-)Littorellions". In deze wateren is op grond van historische gegevens sprake van culturele verzuring (Roelofs, 1983).
- 61 wateren waarvan er een aantal van nature zuur zijn en een aantal eveneens tot de "(ex-)Littorellions" behoren.

De bemonsterde wateren zijn allen zwak gebufferd (alkaliniteit $\leq$1.0 meq/l) en hebben een minerale zandbodem. Nagenoeg alle wateren liggen in bos- en/of heide-achtige natuurterreinen.

2.3. MONSTERMETHODEN

Zoals in 2.1. beschreven wordt, zijn amfibieën gedurende het hele jaar met uitzondering van de winterslaap te observeren. Tijdens de bemonstering van de wateren werden naast visuele- en auditieve waarnemingen ook (sub)adulten, larven en juvenielen gevangen met behulp van een schepnet. Naar eilegsels is gericht gezocht. Van elke waarneming werd genoteerd: soortsnaam, stadium, geslacht, aantallen per soort en stadium, lengte (niet voor larven), het aantal eilegsels en hun beschimmelingsgraad. Voor de determinatie van adulten, eilegsels, larven en juvenielen werd gebruik van Bergmans & Zuiderwijk (1980).
Bij iedere monstername is het water door de oeverzone geheel doorwaad (een enkele uitzondering daargelaten). Hierdoor is elk water per oever-lengte-eenheid met een gelijke intensiteit bemonsterd. Kleine wateren zijn dus een kortere tijd bemonsterd dan grotere wateren.
Tijdens het monsterseizoen (maart tot half september) is elk water 2 tot 5 keer bezocht. Elke monstername is een steekproef met behulp waarvan een inventarisatie van (sub)adulten, eiafzet, larven en juvenielen kwantitatief is uitgevoerd. Aanvullende kwalitatieve gegevens werden verkregen van het gelijktijdig uitgevoerde vissenonderzoek (zie inleiding) via vangsten met o.a. fuiken, zegen en schepnet.

Naast bovengenoemde waarnemingen aan amfibieën werden tijdens elke monstername een aantal fysisch-chemische parameters van de onderzochte wateren bepaald.
Ter plaatse werd de pH, alkaliniteit en aciditeit bepaald. De pH met behulp van een Metrohm E 488 pH-meter en eem gecombineerde electrode (model EA 152). De alkaliniteit door 100 ml van het monsterwater te titreren met 0.01 N HCl tot pH = 4.2; de aciditeit door 100 ml van het monsterwater te titreren met 0.01 N NaOH tot pH = 8.2. Verder werd tijdens elke monstername een watermonster genomen. Het water werd gefilterd over een Whatman GF/C filter (poriëndiameter 1.2 μm) en verzameld in twee gejodeerde polyethyleen potjes van 100 ml. Aan beide potten werd ter fixatie 0.5 ml van een 200 mg/l $HgCl_2$-oplossing toegevoegd; bovendien werden aan één pot enige korrels citroenzuur toegevoegd om precipitatie van metalen te voorkomen. Beide potten werden daarna in een koelbox bewaard en na aankomst

in het laboratorium bij -20°C. tot de analyse.
Voor het analyseren van de watermonsters werd gebruik gemaakt van een Technicon Autoanalyser en een Beckmann Atomic Absorption Spectrofotometer van het Gemeenschappelijk Instrumentarium van de faculteit Wiskunde en Natuurwetenschappen. Aan de watermonsters werden de volgende bepalingen gedaan: K^+, Na^+, Cl^-, SO_4^{2-}, NO_3^- (+ NO_2^-), NH_4^+, PO_4^{3-}, Fe^{2+}, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Si^{4+} en Al^{3+}. Voor een uitvoerige beschrijving van de analyse wordt verwezen naar Bloemendaal & Schuurkes (1982) en Roelofs (1983).
Van de 35 wateren behorend tot het breed opgezette onderzoek naar de invloed van verzuring op aquatische oecosystemen (zie inleiding) zijn naast de bovengenoemde wateranalyse nog een aantal andere fysisch-chemische analyses uitgevoerd. Voor de resultaten van deze analyses wordt verwezen naar de Bie & Maenen (in prep.) en Eeken (in prep.).

2.4. KWEEKEXPERIMENTEN

Tijdens het veldonderzoek werden een klein aantal eilegsels van R.arvalis, R.temporaria, R.esculenta-k. en B.bufo verzameld ten behoeve van enkele laboratoriumexperimenten. De eiklompen van R.arvalis en R.temporaria en eisnoeren van B.bufo waren afkomstig uit de Geul bij het Winkelsven (pH = 5.3) en de eiklompen van R.esculenta-k. uit het Roelofsven I (pH = 5.4). Het ontwikkelingsstadium van de eieren bevond zich tussen stadium 1 en 8.
De pH-gevoeligheid werd bestudeerd met eieren van R.arvalis, R.temporaria, R.esculenta-k. en B.bufo. De Al-gevoeligheid werd alleen met eieren van R.esculenta-k. getest.

2.4.1. pH-GEVOELIGHEID

In bakjes met 1.5 liter vijverwater (in bijlage 3 worden de fysisch-chemische data van het kweekmedium weergegeven) werd een pH-reeks opgesteld. Met behulp van H_2SO_4 werd aangezuurd tot pH 3.0, 3.5, 4.0, ... 6.5 en 7.0. In elk bakje werden 25 tot 60 eieren gelegd: de eieren waren afkomstig van één of enkele eilegsel(s) om de genetische varabiliteit zo klein mogelijk te houden. Elke dag werd het pH-verloop gecontroleerd en zonodig aangezuurd. De experimenten duurden totdat de larven het vrijzwemmende stadium bereikten (stadium 25), dit betekende maximaal 14 dagen. De pH invloed werd getest in één reeks voor B.bufo, in duplo voor R.arvalis en R.temporaria en in vier reeksen voor R.esculenta-k..

2.4.2. Al-GEVOELIGHEID

De invloed van Al^{3+} op de mate van beschimmeling en de mortaliteit van R.esculenta-k. eieren is onder laboratorium-condities bestudeerd. Door middel van $Al(NO_3)_3 \cdot 9\ H_2O$ toevoeging werd 0.2, 2.5 en 5.0 mg/l Al^{3+} toegevoegd. De Al^{3+} toevoeging werd getest bij een drie-tal pH-niveaus nl. 4.0, 4.5 en 5.0. De uitvoering is het zelfde als bij de pH-gevoeligheids-tests.

2.5. STATISTISCHE VERWERKING

Voor de verwerking van een aantal gegevens is gebruik gemaakt van een aantal SAS computer programma's, SAS-probit-analysis (SAS, 1982).
De standaard statistische bewerkingen worden uitgebreid behandeld in Claus & Ebner (1972) en van Elteren (1970).

3. RESULTATEN

3.1. VELDRESULTATEN

In bijlage 2 worden de waargenomen soorten amfibieën per bemonsterd water weergegeven, alsmede de pH van het water.

3.1.1.1. FYSISCH-CHEMISCHE PARAMETERS

De resultaten van het fysisch-chemisch onderzoek zijn gebaseerd op de analyses van 32 wateren die werden bemonsterd tijdens het voorjaar van 1983. De analyses van de overige watermonsters waren nog niet voorhanden ten tijde van deze verslaggeving.
De 32 wateren worden onderscheiden in (extreem, matig en zwak) verzuurde, geëutrofieerde en relatief ongestoorde "(ex-)Littorellions". In tabel 1 worden de gemiddelde waarde van een aantal parameters weergegeven. In tabel 2 wordt een overzicht gegeven van de Spearman rangcorrelatie coëfficiënten van een aantal parameters met de zuurgraad van het water. Een positieve correlatie betekent dat een lage pH correspondeert met een lage concentratie van de betreffende parameter.
Een significant positieve correlatie met de pH vertonen de volgende parameters: alkaliniteit, EGV, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^{+}, K^{+}, Si^{4+}, Cl^{-} en NO_3^{-}. Met andere woorden: de concentratie van deze stoffen neemt af bij een lage pH van het water. Een significant negatieve correlatie met de pH vertonen: aciditeit, Al^{3+}, NH_4^{+} en Cd^{2+} ofwel de concentratie van deze stoffen neemt toe bij een lage pH van het water.

	extreem verzuurd	matig verzuurd	zwak verzuurd	relatief ongestoord	geëutrofieerd
n	7	10	6	5	4
pH	≤4.0	4.0-4.5	4.5-5.5	5.5-7.5	>7.5
Alk.	0	0	0.05	0.6	1.18
Acid.	0.45	0.23	0.17	0.18	0.03
EGV	73	76	1 4	270	311
Ca^{2+}	102.9	82.0	160	684	712.5
Mg^{2+}	66.4	76.0	81.7	234	306.3
Mn^{2+}	3.5	2.3	3.3	4.0	1.8
Na^{+}	214.6	272.6	546.3	825.2	920
K^{+}	56.9	57.9	90.1	201	265.1
Si^{4+}	2.2	1.3	2.1	9.5	16.6
Fe^{2+}	5.6	3.7	6.2	9.2	7.9
Al^{3+}	25.3	13.9	4.5	3.3	7.1
NH_4^{+}	101.1	79.9	40.2	25.6	35.0
Cd^{2+}	11.5	4.1	3.6	2.3	5.7
SO_4^{2-}	304.4	227.4	331.0	600.6	369.8
Cl^{-}	242	326	660	1180	1141
NO_3^{-}	12	16	13	34	101
NO_2^{-}	0.8	15.5	0.9	3.1	3.0
PO_4^{3-}	0.6	0.2	0.3	0.4	2.5

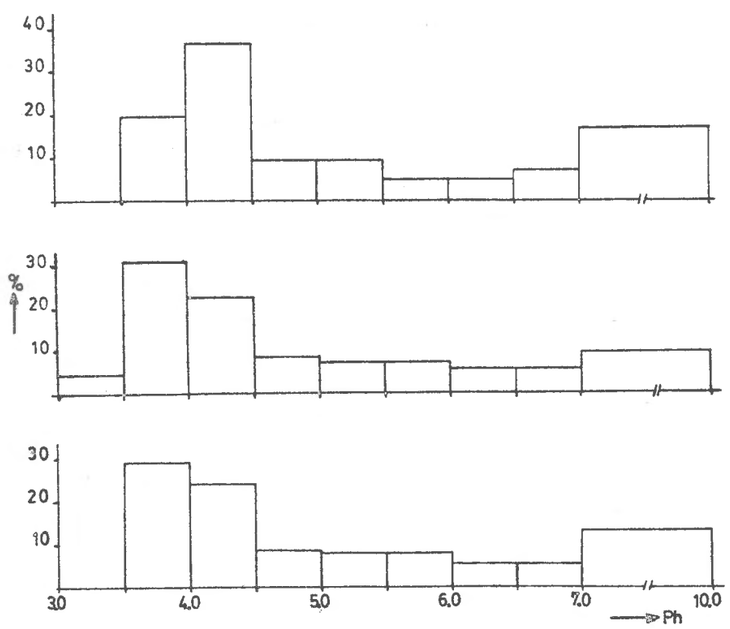
tabel 1: Enkele chemische gegevens van (ex)Littorellionsystemen. De alkaliniteit in meq/l, de aciditeit in meq/l en het EGV in µS/cm. Alle overige chemische parameters zijn uitgedrukt in µmol/l.

Alk.	0.840^	Na^{+}	0.675^	Cd^{2+}	-0.445^
Acid.	-0.743^	K^{+}	0.642^	SO_4^{2-}	0.181
EGV	0.679^	Si^{4+}	0.624^	Cl^{-}	0.702^
Ca^{2+}	0.648^	Fe^{2+}	0.219	NO_3^{-}	0.589^
Mg^{2+}	0.632^	Al^{3+}	-0.412^	NO_2^{-}	0.074
Mn^{2+}	-0.204	NH_4^{+}	-0.392^	PO_4^{3-}	0.037

tabel 2: Spearman rangcorrelatie coëfficiënten van diverse fysisch-chemische parameters met de pH van het water.
^= $p \leq 0.05$.

3.1.1.2. DE ZUURGRAAD

De pH van het water is gedurende het jaar niet stabiel. In het voorjaar is de pH van het water iets hoger dan in de zomer. De voortplanting (eiafzet en larve-ontwikkeling) vindt voor de verschillende amfibieënsoorten niet gelijktijdig plaats (zie 2.1.). Om de pH van de bemonsterde wateren te relateren aan de voortplanting van de verschillende soorten is onderscheid gemaakt in drie perioden. De eerste periode ("voorjaarsperiode") loopt van maart tot juni, overeenkomstig de voortplantingsperiode van R.arvalis, R.temporaria en B.bufo. De tweede periode ("zomerperiode") loopt van mei tot september, overeenkomstig de voortplantingsperiode van R.esculenta-k. en B.calamita. In figuur 3a,b is de relatieve verdeling van de gemiddelde pH van elk bemonsterd water tijdens respectievelijk "voorjaars-" en "zomerperiode" weergegeven. Triturussoorten zetten eitjes af in het voorjaar tot ver in de zomer. De voortplantingsperiode beloopt daardoor het hele seizoen. In figuur 3c is de relatieve verdeling van de gemiddelde pH van elk water gedurende het hele monsterseizoen weergegeven.



figuur 3a,b,c: De relatieve verdeling van de gemiddelde pH van elk bemonsterd water tijdens de "voorjaarsperiode" (bovenste figuur), de "zomerperiode" (middelste figuur) en het hele monsterseizoen (onderste figuur).

Uit figuur 3a,b,c blijkt dat de pH van de bemonsterde laag alkaliene wateren tussen pH = 3.0 en pH = 10.0 ligt, terwijl ruim 50 % van de wateren een pH $\leq$ 4.5 heeft.
Er van uit gaande dat de bemonsterde wateren een representatieve steekproef vormen van de in Nederland voorkomende laag alkaliene wateren dan blijkt dat dit type water momenteel een zuur tot sterk zuur karakter hebben.
Nog een korte opmerking over het aantal bemonsterde wateren. Tijdens de "voorjaarsperiode", de "zomerperiode" en de hele monsterperiode zijn respectievelijk 89, 86 en 96 verschillende wateren bemonsterd. Deze verschillen zijn ontstaan doordat enkele wateren voor de eerste keer bemonsterd zijn op het eind van de larve-ontwikkelingsperiode van R.arvalis, R.temporaria en B.bufo. Omtrent de eiafzet en larve-ontwikkeling van genoemde soorten in deze wateren is daardoor geen informatie verkregen. Ook voor R.esculenta-k. en B.calamita zijn een aantal wateren buiten beschouwing gelaten omdat deze tijdens de zomer en het najaar niet consequent bemonsterd zijn.

3.1.2. AANWEZIGHEID VAN ADULTE EXEMPLAREN

In de bemonsterde laag alkaliene wateren zijn negen soorten amfibieën waargenomen. In tabel 3 wordt het percentage wateren weergegeven waarin adulten van de verschillende soorten zijn aangetroffen.

soort	%	soort	%
R.esculenta-k.	72.1	T.helveticus	21.9
R.temporaria	52.8	T.vulgaris	9.4
R.arvalis	40.5	T.alpestris	6.3
B.bufo	58.4	T.cristatus	5.2
B.calamita	4.7		

tabel 3: Het percentage bemonsterde wateren waarin adulten van de waargenomen soorten amfibieën.

In de bemonsterde wateren komt R.esculenta-k. het meest voor. Zeer regelmatig worden B.bufo, R.temporaria en R.arvalis waargenomen. De meest voorkomende salamandersoort in deze wateren is T.helveticus. De vier overige waargenomen soorten komen in minder dan 10% van het aantal bemonsterde wateren voor nl. T.vulgaris, T.alpestris, T.cristatus en B.calamita.

Voor R.esculenta-k. geldt dat in 72.1% van de bemonsterde wateren adulten voorkomen, maar dat theoretisch in 58.1% van de wateren voortplanting optreedt. Dit verschil wordt veroorzaakt door de sterk watergebonden leefwijze van deze soort (zie 3.1.6.). Voor de overige soorten geldt dat wateren waarin adulten voorkomen, ook voortplanting kan optreden.

Het is duidelijk dat laag alkaliene wateren, als voortplantingswater van de verschillende soorten amfibieën, een belangrijke bijdrage leveren tot de instandhouding van de in Nederland voorkomende amfibieën.

3.1.3. RANA ARVALIS (heikikker)

R.arvalis heeft een specifieke biotoopkeuze, namelijk vooral in vochtig en ruig terrein, zoals vochtige heidevelden, veen-moerasgebieden, duinvalleien en natte graslanden (Bergmans & Zuiderwijk, 1980; Sparreboom, 1981). Het in 1983 uitgevoerde onderzoek vond voornamelijk plaats in dergelijke gebieden en wel in de in deze biotopen veel voorkomende laag alkaliene wateren.

Voor R.arvalis worden 89 wateren als volledig bemonsterd beschouwd (zie 3.1.1.2.). In tabel 4 wordt het aantal bezochte wateren per pH-interval en de aanwezigheid van (sub)adulten, eiklompen, larven en juvenielen in die wateren weergegeven.

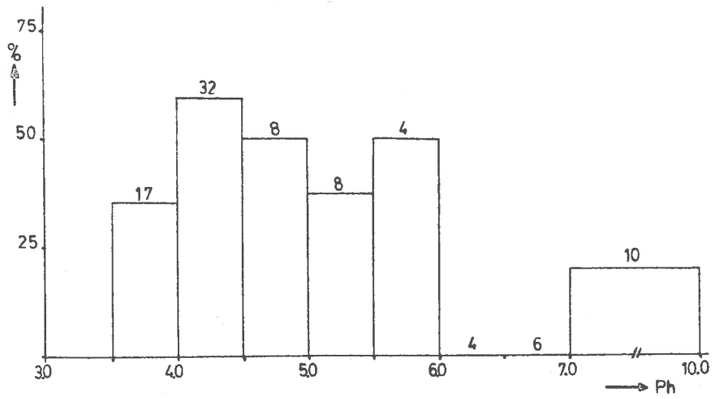
pH	aantal wateren	aantal wateren met: (sub)adulten	%	eiklompen	larven	juvenielen
3.5-4.0	17	6	35%	6	1	0
4.0-4.5	32	17+2 ×	59	17	10	4
4.5-5.0	8	4	50	4	2	0
5.0-5.5	8	3	38	3	3	1
5.5-6.0	4	2	50	2	1	0
6.0-6.5	4	0	–	0	0	0
6.5-7.0	6	0	–	0	0	0
7.0-10.0	10	2	20	2	2	0
totaal	89	34+2 ×		34	19	5

tabel 4: Overzicht van de waarnemingen aan R.arvalis. (× zie tekst).

In 34 wateren werden naast (sub)adulten ook eiklompen en/of larven en/of juvenielen waargenomen m.a.w. er trad voortplanting op. In 2 wateren werden alleen (sub)adulten gezien, het is onzeker of voortplanting optrad of dat deze exemplaren 'per toeval' werden aangetroffen. Samenvattend: het aantal wateren waarin daadwerkelijk dan wel theoretisch voortplanting van R.arvalis optreedt, bedraagt 36 ofwel 40.5% van het totaal aantal bemonsterde wateren. Het aantal wateren met R.arvalis is (aanmerkelijk) kleiner dan het aantal wateren met R.temporaria, R.esculenta-k. en B.bufo (zie 3.1.2.). Dit kan verklaard worden door de specifieke biotoopkeuze van deze soort, waardoor deze een meer beperkte verspreiding heeft in vergelijking met de drie andere soorten.

Uit tabel 4 blijkt dat het aantal wateren met R.arvalis niet evenredig verdeeld is over het aantal bezochte wateren per pH-interval. De relatie tussen het aantal wateren met R.arvalis en de pH van het water wordt weer-

gegeven in figuur 4.

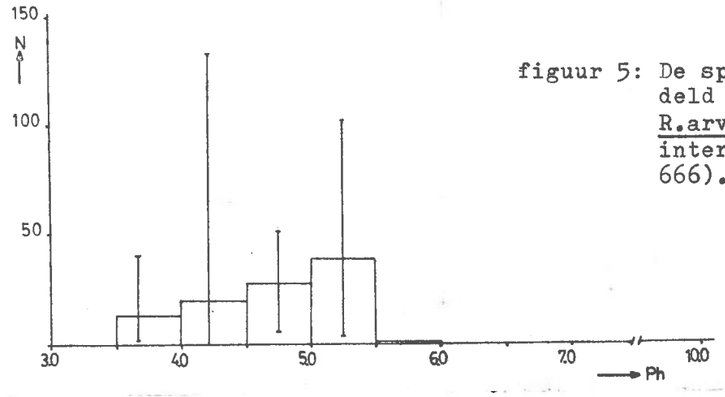


figuur 4: Het percentage wateren per pH-interval waarin R.arvalis is waargenomen. De cijfers corresponderen met het aantal bezochte wateren per pH-interval.

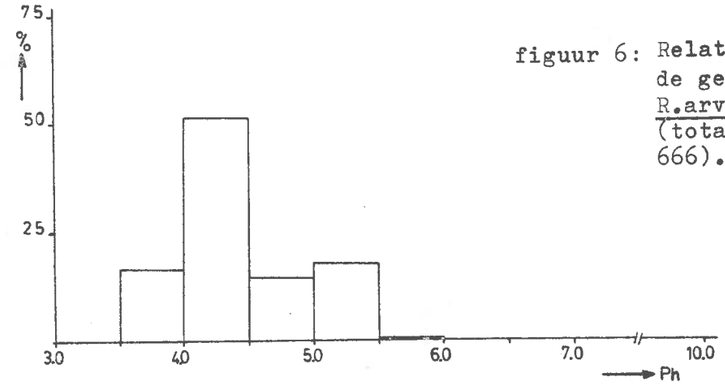
Uit tabel 4 en figuur 4 blijkt dat (op twee na) R.arvalis wordt aangetroffen in wateren met een pH tussen 3.5 en 6.0 d.w.z. in relatief zure wateren (vergelijk de verdeling van R.temporaria, R.esculenta-k. en B.bufo).

In 34 wateren zijn eiklompen van R.arvalis afgezet: in 29 wateren zijn daadwerkelijk eiklompen gevonden (totaal 666), terwijl in 5 wateren alleen larven en/of juvenielen zijn waargenomen. Ook in deze 5 wateren werden dus eiklompen afgezet. In figuur 5 wordt het gemiddeld aantal gevonden eiklompen per water en de spreiding per pH-interval weergegeven. Weliswaar is de spreiding groot, toch blijkt dat het gemiddelde aantal eiklompen per water toeneemt tussen pH = 3.5 en pH = 5.5. In figuur 6 wordt de relatieve verdeling van de gevonden eiklompen over het pH-traject weergegeven. Uit deze figuur blijkt dat ruim 67% van de eiklompen afgezet wordt in water met een pH $\leqslant$ 4.5.

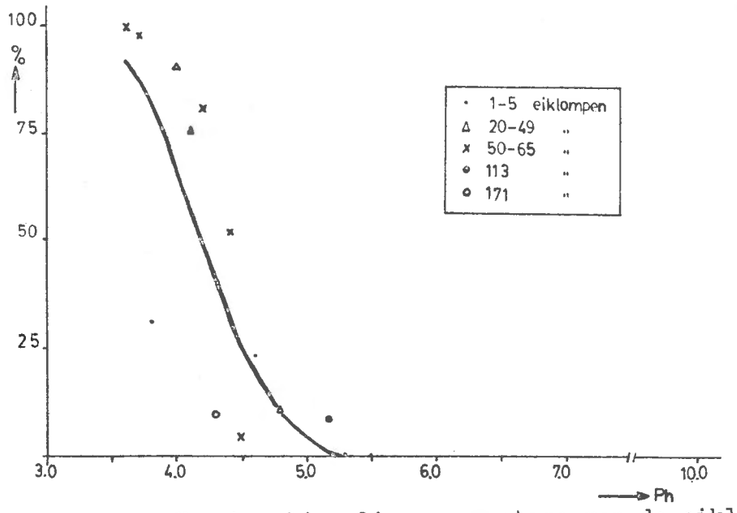
Het aantal eiklompen, het aantal eieren per klomp en de beschimmelingsgraad der eilegsels (ofwel ei-mortaliteit) zijn mede bepalend voor het voortplantingssucces. In figuur 7 wordt het beschimmelingspercentage van de eiklompen van R.arvalis in relatie tot de pH van het water weergegeven. Een regressielijn van de gegevens is bepaald m.b.v. een SAS computer programma (SAS, 1982). Bij pH = 4.2 ($L.D._{50}$-waarde) blijkt 50% van de eiafzet aangetast te zijn door schimmels.



figuur 5: De spreiding en het gemiddeld aantal eiklompen van R.arvalis per water per pH-interval. (aantal eiklompen 666).



figuur 6: Relatieve verdeling van de gevonden eiklompen van R.arvalis per pH-interval. (totaal aantal eiklompen: 666).



figuur 7: Het beschimmelingspercentage van de eiklompen van R.arvalis. De regressie-lijn werd berekend m.b.v. SAS-probit-analysis.

In 19 van de 36 wateren met R.arvalis zijn larven waargenomen. In tabel 5 volgt een overzicht van het percentage wateren waarin larven zijn vastgesteld en het gemiddeld aantal larven per water per pH-interval.

pH	aantal wateren met R.arvalis	wateren met larven aantal	%	gem. aantal (en spreiding der) larven per water
3.0-4.0	6	1	16.7	3.3 (0 - 20)
4.0-5.0	21	12	57.1	14.1 (0 - 150)
5.0-6.0	5	4	80.0	18.0 (0 - 64)
6.0-10.0	2	2	100.0	18.5 (4 - 33)

tabel 5: Het aantal wateren met adulten, het aantal (en %) wateren met larven en het gemiddeld aantal (en de spreiding der) larven van R.arvalis per water in relatie tot de pH van het water.

Het totaal aantal larven dat werd gevangen is klein, nl. 443. Uit tabel 5 blijkt dat het percentage wateren waarin larven waargenomen worden groter is bij een hogere pH; ook het gemiddeld aantal larven per water is dan groter. Zoals reeds in 2.1.3. is opgemerkt, levert kwantificeren van larven problemen op.Toch is uit bovenstaande tabel een tendens af te leiden: in wateren met een pH $\leq$ 4.0 worden weinig larven waargenomen en in wateren met een pH $>$ 4.0 worden larven beduidend vaker gevangen.

Het aantal wateren waarin juvenielen waargenomen zijn, bedraagt slechts 5. Juvenielen van R.arvalis trekken na de metamorfose zeer snel het land op waardoor ze niet bij de voortplantingswateren worden gezien.

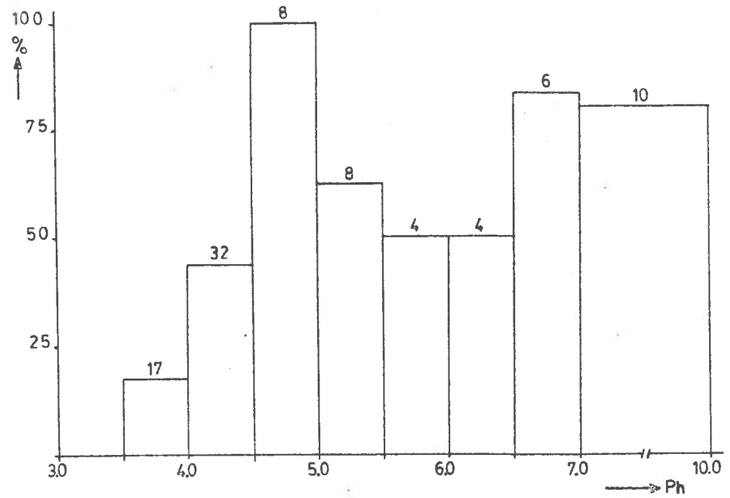
3.1.4. RANA TEMPORARIA (bruine kikker)

In tegenstelling tot R.arvalis heeft R.temporaria een ruime biotoopkeuze. R.temporaria komt in alle landschapstypen voor mits voldoende vochtig (Bergmans & Zuiderwijk, 1980; Sparreboom, 1981). Evenals voor R.arvalis worden voor R.temporaria 89 wateren als volledig bemonsterd beschouwd: van deze wateren is de aan- of afwezigheid van (sub)adulten, eiklompen, larven en juvenielen zeker (binnen de mate van betrouwbaarheid van de onderzoeksmethode). In tabel 6 worden de waarnemingen aan R.temporaria weergegeven.

pH	aantal wateren	aantal wateren met: (sub)adulten		eiklompen	larven	juvenielen
3.5-4.0	17	2+1[x]	12%	2	0	0
4.0-4.5	32	14	44	14	6	2
4.5-5.0	8	8	100	8	7	3
5.0-5.5	8	5	63	5	5	2
5.5-6.0	4	2	50	2	1	0
6.0-6.5	4	2	50	2	2	1
6.5-7.0	6	5	83	5	4	1
7.0-10.0	10	8	80	8	7	2
totaal	89	46+1[x]		46	32	11

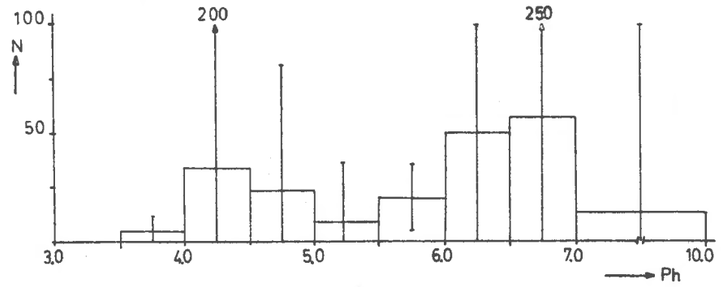
tabel 6: Overzicht van de waarnemingen aan R.temporaria. (x zie tekst).

In 46 van de 89 wateren werden naast (sub)adulten ook eiklompen en/of larven en/of juvenielen waargenomen. In één water is slechts één adult gezien. Daadwerkelijk dan wel theoretisch treedt in 47 wateren, ofwel in 53.8% van de bezochte wateren voortplanting van R.temporaria op. In vergelijking met andere soorten (zie 3.1.2.) wordt R.temporaria vaak waargenomen overeenkomstig de ruime biotoopkeuze van deze soort. De relatie tussen het voorkomen van R.temporaria en de pH van het water wordt weergegeven in figuur 8. R.temporaria komt voor over het hele bemonsterde pH-traject. Tussen pH = 3.5 en pH = 4.5 is het percentage lager dan in wateren met een hogere pH, m.a.w. R.temporaria wordt in deze zure biotopen minder aangetroffen.

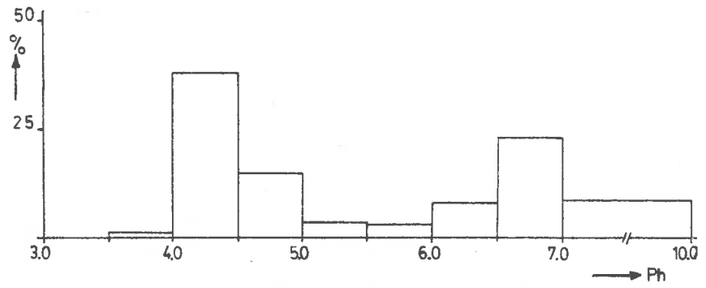


figuur 8: Het percentage wateren per pH-interval waarin R.temporaria is waargenomen. De cijfers corresponderen met het aantal bezochte wateren per pH-interval.

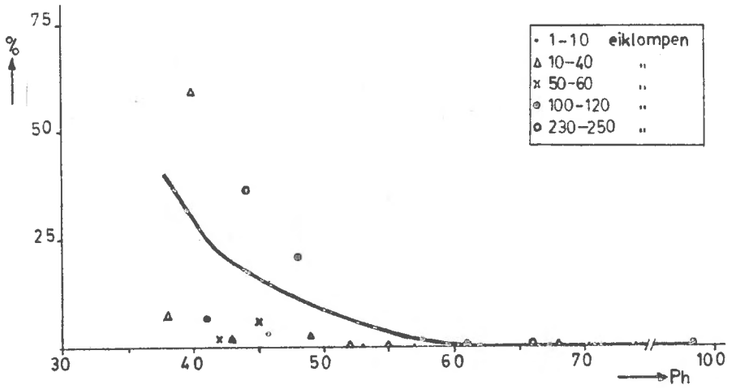
In 46 wateren werden eiklompen afgezet. In 30 wateren zijn daadwerkelijk eiklompen gevonden (totaal 1252), terwijl in 16 wateren géén eiklompen maar wel larven en/of juvenielen werden gezien. In figuur 9 wordt het gemiddeld aantal gevonden eiklompen en de spreiding per water waarin R.temporaria per pH-interval weergegeven. De spreiding is groot en het gemiddelde vertoont geen relatie met de pH van het water (alleen in wateren met een pH $<$ 4.0 zijn de aantallen erg klein). In figuur 10 wordt de relatieve verdeling van de gevonden eiklompen over het pH-traject weergegeven. Vergelijking van figuur 10 en 3a (zie 3.1.1.2.) geeft het volgende beeld: eiklompen van R.temporaria worden redelijk verdeeld over de bemonsterde wateren afgezet, uitgezonderd systemen met een pH $<$ 4.0.
Uit de beschimmelingspercentages zoals die in het veld vastgesteld zijn, blijkt dat in wateren met een pH $<$ 5.0 een deel der eieren geïnfecteerd raken. Onder laboratorium-condities zijn de beschimmelingspercentages extremer: in media met een pH $<$ 4.5 neemt de beschimmelingsgraad zeer snel toe en bij pH $<$ 3.5 is de beschimmeling volledig (zie 3.2.). In figuur 11 wordt het beschimmelingspercentage onder veld-condities weergegeven in relatie tot de pH van het water. Met behulp van een SAS computer programma (SAS, 1982) is een regressielijn bepaald. De $L.D._{50}$-waarde ligt bij pH = 3.3.



figuur 9: De spreiding en het gemiddeld aantal eiklompen van R.temporaria per water per pH-interval. (aantal eiklompen 1252).



figuur 10: Relatieve verdeling van de gevonden eiklompen van R.temporaria per pH-interval. (totaal aantal eiklompen 1252).



figuur 11: Het beschimmelingspercentage van de eiklompen van R.temporaria. De regressie-lijn werd bepaald m.b.v. SAS-probit-analysis.

In 32 van de 47 wateren met R.temporaria zijn larven waargenomen. In tabel 7 volgt een overzicht van het aantal en het percentage wateren waarin larven waargenomen zijn en het gemiddeld aantal larven per water per pH-interval.

pH	aantal wateren met R.temporaria	wateren met larven aantal	%	gem. aantal (en spreiding der) larven per water
3.0-4.0	3	0	0	0 (--)
4.0-4.5	14	6	42.9	0.6 (0 - 4)
4.5-5.0	8	7	87.5	10.8 (0 - 36)
5.0-6.0	7	6	85.7	12.9 (0 - 30)
6.0-10.0	15	13	86.7	65.9 (0 -518)

tabel 7: Het aantal wateren met adulten, het aantal (en %) wateren met larven en het gemiddeld aantal (en de spreiding der) larven van R.temporaria per water in relatie tot de pH van het water.

Het totaal aantal gevangen larven bedraagt 1174. Uit tabel 7 is een tendens af te leiden: in systemen met een pH $>$ 4.5 is het aantal wateren waarin larven voorkomen en het gemiddeld aantal larven per water beduidend hoger dan in wateren met een pH $<$ 4.5.

Juvenielen van R.temporaria worden weinig waargenomen omdat deze na de metamorfose snel verder het land optrekken.

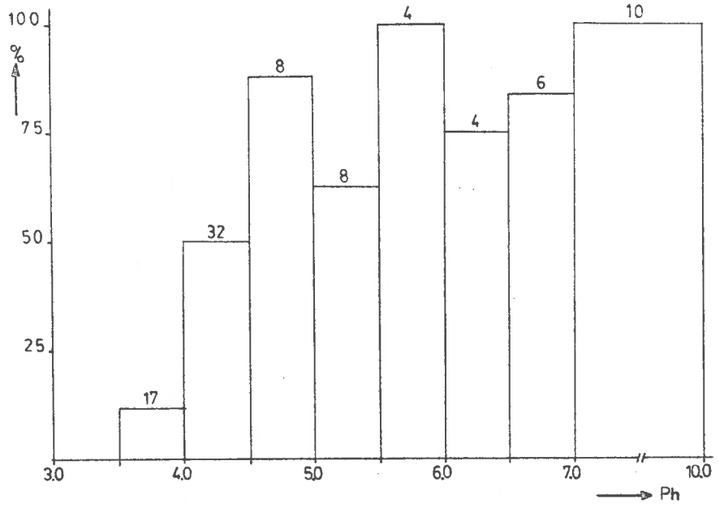
3.1.5. BUFO BUFO (gewone pad)

B.bufo kan worden aangetroffen in droge heiden, duinen, bossen, venen en moerassen maar ook in gecultiveerde terreinen zoals bouwland, weiland, stadsparken, dorpen en stadsranden. Hiermee is B.bufo waarschijnlijk de meest verbreide soort onder de Nederlandse amfibieën (Bergmans & Zuiderwijk, 1980; Sparreboom, 1981).
Voor B.bufo zijn 89 wateren te beschouwen als volledig bemonsterd (zie 3.1.1.2.). In tabel 8 worden de waarnemingen aan B.bufo weergegeven.

pH	aantal wateren	aantal wateren met: (sub)adulten		eisnoeren	larven	juvenielen
3.5-4.0	17	1+1[x]	12 %	1	1	0
4.0-4.5	32	13+3[x]	47	13	9	3
4.5-5.0	8	7	88	7	6	1
5.0-5.5	8	5	63	5	4	0
5.5-6.0	4	4	100	4	4	1
6.0-6.5	4	3	75	3	3	0
6.5-7.0	6	3+2[x]	83	3	3	1
7.0-10.0	10	10	100	10	9	1
totaal	89	46+6[x]		46	39	7

tabel 8: Overzicht van de waarnemingen aan B.bufo. ([x] zie tekst).

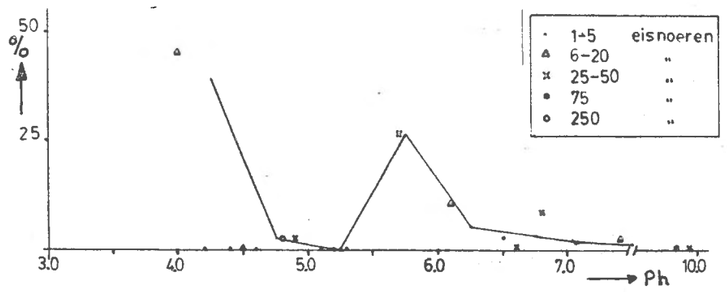
In 52 van de 89 bemonsterde wateren zijn (sub)adulten waargenomen. In 46 wateren werden behalve (sub)adulten ook eisnoeren en/of larven en/of juvenielen gezien m.a.w. in deze wateren trad voortplanting op. In 6 wateren zijn alleen (sub)adulten maar geen eisnoeren en/of larven waargenomen, toch kan in deze wateren theoretisch voortplanting hebben plaats gevonden. Maximaal zijn 52 wateren waarin B.bufo voorkomt vastgesteld, hetgeen overeen komt met 58.4% van de bemonsterde wateren. Na R.esculenta-k. is B.bufo de soort die overeenkomstig de ruime biotoopkeuze het meest frequent is aangetroffen.
De relatie tussen het aantal wateren met B.bufo en de pH van het water is in figuur 12 weergegeven. Uit de figuur blijkt dat B.bufo waargenomen wordt over het gehele bemonsterde pH-traject. In wateren met pH $<$ 4.0 wordt B.bufo echter beduidend minder aangetroffen dan in wateren met een hogere pH, m.a.w. B.bufo komt weinig voor in sterk zure milieus.



figuur 12: Het percentage wateren per pH-interval waarin B.bufo is waargenomen. De cijfers corresponderen met het aantal bezochte wateren per pH-interval.

In 46 wateren heeft eiafzet plaats gevonden. In 27 wateren zijn daadwerkelijk eisnoeren waargenomen, terwijl in 19 wateren alleen larven en/of juvenielen werden gezien. In de 27 wateren met eisnoeren zijn 605 eisnoeren geteld, waarvan 250 in één water. Er is geen duidelijke relatie tussen het aantal eisnoeren per water en de pH van het water (zie bijlage 4). Wel blijkt dat in wateren met pH $\leq$ 4.5 slechts 22 eisnoeren, ofwel 3.6% van het totaal aantal eisnoeren zijn waargenomen, terwijl in dit pH-traject 55.1% van het totaal aantal bemonsterde wateren ligt. Met andere woorden wateren met een pH $\leq$ 4.5 worden zelden als voortplantingswater gebruikt.

In figuur 13 wordt het beschimmelingspercentage van de eisnoeren van B.bufo weergegeven. Het blijkt dat het percentage beschimmeling stijgt in wateren met een pH $\leq$ 4.75. In één water, nl. het Geistersven met een pH tussen 5.5 en 6.0 is ook een verhoogd percentage te zien. Hierbij moet opgemerkt worden dat het een betrekkelijk klein aantal eisnoeren betreft waarop de figuur is gebaseerd terwijl bovendien 250 eisnoeren (d.i. 41.3% van het totaal aantal gevonden eisnoeren) in één water gevonden zijn. De $L.D._{50}$-waarde ligt bij een pH van het water van ongeveer 4.0 (deze waarde is afgeleid van figuur 13). In 3.2.1. blijkt onder lab.-condities het percentage beschimmeling snel toe te nemen bij pH $\leq$ 4.75. In het veld is (ondanks de weinige waarnemingen) een zelfde tendens te zien.



figuur 13: Het beschimmelingspercentage van de eisnoeren van B.bufo.

In 39 van de 46 wateren met B.bufo zijn larven waargenomen. In tabel 9 wordt een overzicht gegeven van het percentage wateren waarin larven zijn vastgesteld en het gemiddeld aantal larven per water per pH-interval.

pH	aantal wateren met B.bufo	wateren met larven aantal	%	gem. aantal (en spreiding der) larven per water
3.0-4.0	2	1	50.0	1.0 (--)
4.0-4.5	16	9	56.3	8.3 (0 - 50)
4.5-5.0	7	6	85.7	115.4 (0 - 325)
5.0-6.0	9	8	88.9	90.6 (0 - 350)
6.0-10.0	18	15	83.3	558.1 (0 -2552)

tabel 9: Het aantal wateren met adulten, het aantal (en %) wateren met larven en het gemiddeld aantal (en de spreiding der) larven van B.bufo per water in relatie tot de pH van het water.

Het totaal aantal larven is relatief groot, nl. bijna 12000. Uit tabel 9 is een tendens af te leiden: in systemen met een pH $\leq$ 4.5 is het aantal wateren waarin larven voorkomen en het gemiddeld aantal larven per water lager dan in wateren met een pH $\geq$ 4.5.

In slechts 7 wateren zijn juvenielen waargenomen. Ook dit wordt eveneens bij R.arvalis en R.temporaria verklaard doordat juvenielen van B.bufo na de metamorfose snel verder landinwaards trekken.

3.1.6. RANA ESCULENTA-KOMPLEX (groene kikker)

In Nederland komen R.ridibunda (meerkikker of grote groene kikker), R.lessonae (poelkikker of kleine groene kikker) en R.esculenta (middelste groene kikker) voor. R.esculenta is de hybride vorm van de twee andere soorten. Tesamen vormen deze drie het R.esculenta-k(omplex). Uitwendig zijn zij aan de hand van een aantal kenmerken te onderscheiden: de lengte van de binnenste teen, de vorm van de metatarsusknobbel en de lengte van de achterpoten zijn daarbij bepalend. Eiklompen en larven van deze soorten zijn uiterlijk niet te onderscheiden. Er bestaat een biotoopkeuze verschil tussen R.ridibunda en R.lessonae. R.esculenta komt in beide biotopen voor. Wijnands (1977) beschouwt een mesotroof ven in zanderig, bebost terrein als een typisch biotoop voor R.lessonae. Om deze reden is het niet uitgesloten dat tijdens dit onderzoek voornamelijk R.lessonae en R.esculenta zijn waargenomen.R.esculenta-k. is sterk watergebonden en komt in Nederland algemeen voor. Als komplex is de biotoopkeuze groot en behoort tot de meest verbreide soorten amfibieën in Nederland (Bergmans & Zuiderwijk, 1980; Sparreboom, 1981).
Bij dit onderzoek is geen onderscheid gemaakt tussen de twee soorten en de hybride, maar zij worden als R.esculenta-k. behandeld. Voor R.esculenta-k. worden 86 wateren als volledig bemonsterd beschouwd (zie 3.1.1.2.).

Alvorens een overzicht te geven van de waarnemingen aan R.esculenta-k., eerst iets meer over de interpretatie van deze waarnemingen.
R.esculenta-k. is sterk watergebonden en trekt niet zoals de eerder behandelde soorten (R.arvalis, R.temporaria en B.bufo) na de eiafzet het land op. Door de watergebonden leefwijze heeft deze soort de mogelijkheid om na de eiafzet vanuit het voortplantingswater (tijdens vochtige perioden) naar andere wateren te migreren. In deze andere wateren wordt de zomer-najaarsperiode doorgebracht waarbij deze wateren een 'fourageerfunctie' hebben. Er treedt dus geen voortplanting op in deze wateren. De mogelijkheid om te migreren wordt ook door Sparreboom (1981) vermeld: " R.esculenta (Middelste groene kikker) heeft een sterke neiging om te migreren en dat leidt ertoe dat deze vorm nieuwe biotopen vaak als eerste ontdekt en bewoont.".
In 24 van de bemonsterde wateren werden alléén (sub)adulten van R.esculenta-k. waargenomen. Deze 24 wateren zijn te verdelen in:

- 12 wateren waarin zowel tijdens de voortplantings- als de zomer-najaarsperiode (sub)adulten werden waargenomen;
- 4 wateren waarin alléén subadulten werden waargenomen;
- 2 wateren waarin per water slechts één adult tijdens de 'voorjaarstrek' (april) werden gevangen;
- 6 wateren waarin (sub)adulten alléén tijdens de zomer-najaarsperiode (augustus en later) werden gevangen ('fourageerfunctie').

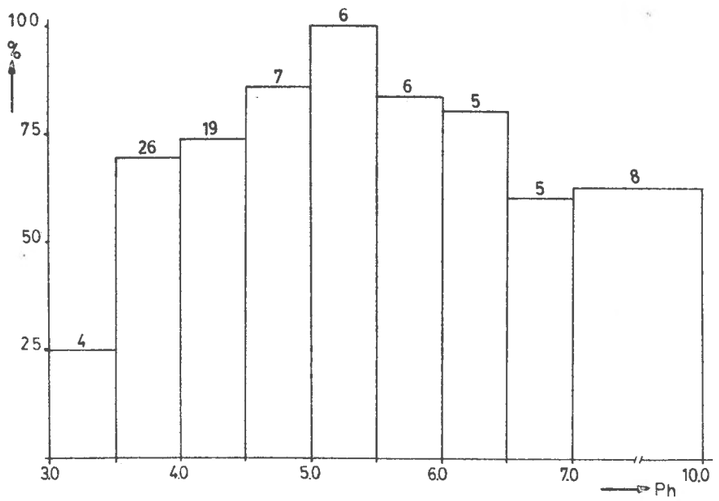
Met andere woorden: in 12 van de 24 wateren waarin alleen (sub)adulten werden waargenomen heeft mogelijk eiafzet plaatsgevonden, maar deze afzet is niet vastgesteld tijdens het onderzoek (zie verder in dit hoofdstuk). In 12 wateren heeft zeer waarschijnlijk géén eiafzet plaats gevonden, maar deze wateren vervullen andere functies: dispersal of migratie tijdens voorjaarstrek en zomer-najaar. Elf van deze laatste wateren hebben een pH $\leq$4.5. Verderop in dit hoofdstuk zal blijken dat bij een dergelijke pH van het water de beschimmeling der eiklompen groot is. Deze wateren worden mogelijk gemeden als voortplantingswater wanneer geschikt water in de directe omgeving aanwezig is. Zo werd in de Mariapeel vastgesteld dat een water met zeer veel hondsvis (Umbra pygmaea) tijdens de nazomer zeer veel R.esculenta-k. bevatte, terwijl gedurende de voortplantingstijd geen enkele aanwezigheid van R.esculenta-k. kon worden vastgesteld. Op enkele 100-den meters van dit water was geschikt voortplantingswater aanwezig. De hondsvis vormt een onderdeel van het voedselpakket van R.esculenta-k.: er werd een exemplaar met een hondsvis in de bek gevangen. Ook Strijbosch (1979) constateert dat bepaalde amfibieënsoorten wateren selecteren waarin de voortplanting min of meer verzekerd is.

In tabel 10 wordt een overzicht gegeven van het aantal bemonsterde wateren en de waarnemingen aan R.esculenta-k. per pH-interval.

pH	aantal wateren	aantal wateren met: (sub)adulten		eiklompen	larven	juvenielen
3.0-3.5	4	0+1[x]	25%	0	0	0
3.5-4.0	26	14+4[x]	69	7	4	4
4.0-4.5	19	8+6[x]	74	6	4	4
4.5-5.0	7	6	24	6	6	5
5.0-5.5	6	6	100	5	4	3
5.5-6.0	6	4+1[x]	83	3	3	3
6.0-6.5	5	4	80	4	3	3
6.5-7.0	5	3	60	3	3	3
7.0-10.0	8	5	63	4	3	3
totaal	68	50+12[x]		38	30	28

tabel 10: Overzicht van de waarnemingen aan R.esculenta-k.. ([x] zie tekst).

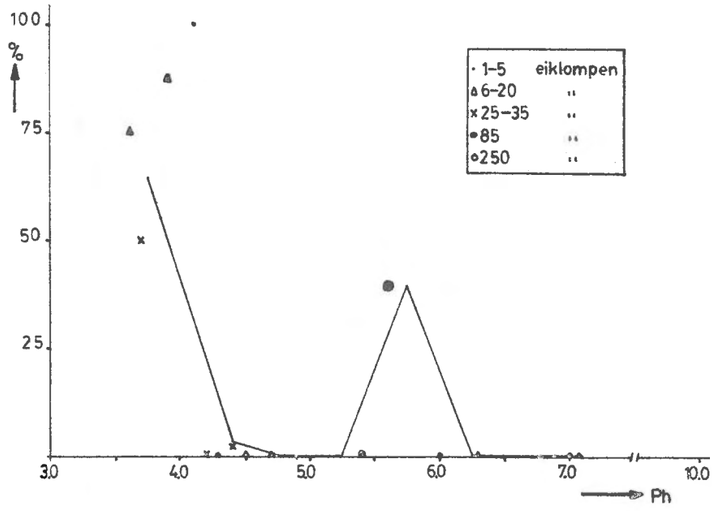
Uit tabel 10 blijkt dat in 62 wateren, ofwel 72.1% adulten van R.esculenta-k. voor komen. In 38 wateren werden behalve (sub)adulten ook eiklompen en/of larven en/of juvenielen waargenomen, bovendien kan in 12 wateren theoretisch gezien eiafzet hebben plaatsgevonden (zie bovenstaande). In totaal kan dus in 50 wateren, ofwel 58.1% voortplanting optreden. In 12 wateren vindt waarschijnlijk géén voortplanting plaats. Overeenkomstig de ruime biotoopkeuze van R.esculenta-k. is deze soort de meest waargenomen soort tijdens dit onderzoek.
In figuur 14 wordt de relatie tussen de pH van het water en het percentage wateren waarin R.esculenta-k. (zowel voortplantend als niet voortplantend) per pH-interval weergegeven. Het blijkt dat R.esculenta-k. voorkomt in wateren over het hele bemonsterde pH-traject: van pH = 3.0 tot pH = 10.0. Bij een pH van het water $<$ 3.5 wordt echter slechts 25% van de bemonsterde wateren in dit pH-gebied bezet door R.esculenta-k..



figuur 14: Het percentage wateren per pH-interval waarin R.esculenta-k. is waargenomen . De cijfers corresponderen met het aantal bemonsterde wateren per pH-interval.

In 38 wateren werden eiklompen van R.esculenta-k. afgezet: in 15 wateren werden daadwerkelijk eiklompen gevonden terwijl in 23 wateren alleen larven en/of juvenielen werden waargenomen. Ieder ♀ zet meerdere eiklompjes af (Sparreboom, 1981), toch zijn slechts 518 eiklompen gevonden (waarvan 250 in één water). Het kleine aantal gevonden eiklompen wordt waarschijnlijk

veroorzaakt door enerzijds de snelle ontwikkeling (inclusief beschimmeling) van de eieren wegens de hoge watertemperatuur en anderzijds omdat de watervegetatie ver in ontwikkeling was waardoor de eiklompen moeilijker gezien worden (dit in vergelijking met de lange ontwikkeltijd van de eiklompen en de nog geringe ontwikkeling der vegetatie tijdens de eiafzet van R.arvalis, R.temporaria en B.bufo). Er is geen duidelijke relatie tussen het aantal afgezette eiklompen en de pH van het water. Eiklompen worden niet gevonden in wateren met een pH $<$ 3.5.
Het beschimmelingspercentage der eiklompen in relatie tot de pH van het water is in figuur 15 weergegeven. De figuur is gebaseerd op de beschimmelingsgraad van slechts 518 eiklompen. Bij een pH van het water $<$ 4.25 kan de beschimmeling sterk stijgen. Ook bij een pH tussen 5.5 en 6.0 wordt een verhoogd percentage beschimmeling vastgesteld; het betreft hierbij echter 85 eiklompen gevonden in één water, nl. het Galgenven te Valkenswaard. De L.D.$_{50}$-waarde ligt bij een pH van het water van ongeveer 3.9 (deze waarde is afgeleid van figuur 15). Onder lab.-condities (zie 3.2.1) blijkt dat de beschimmeling sterk toeneemt in water met een pH $<$ 4.5.



figuur 15: Het beschimmelingspercentage van de eiklompen van R.esculenta-k..

In het bovenstaande is gesteld dat in 50 wateren voortplanting kan zijn opgetreden. In 30 van deze wateren zijn larven en/of juvenielen waargenomen.

Het totaal aantal larven is klein, nl. 360. In tabel 11 wordt een overzicht gegeven van het aantal en percentage wateren waarin larven en het aantal larven per water zijn waargenomen per pH-interval.

pH	aantal wateren met R.esc.-k.	wateren met larven aantal	%	gem. aantal (en spreiding der) larven per water
3.0-4.0	14	4	28.6	1.4 (0 - 8)
4.0-4.5	8	4	50.0	10.4 (0 - 30)
4.5-5.0	6	6	100.0	6.5 (0 - 20)
5.0-6.0	10	7	70.0	11.3 (0 - 35)
6.0-10.0	12	9	75.0	8.8 (0 - 26)

tabel 11: Het aantal wateren met adulten, het aantal (en %) wateren met larven en het gemiddeld aantal (en de spreiding der) larven van R.esculenta-k. per water in relatie tot de pH van het water.

Uit tabel 11 is een tendens af te leiden: in systemen met een pH $>$ 4.0 is het aantal wateren waarin larven en het gemiddeld aantal larven per water beduidend hoger dan in wateren met een pH $<$ 4.0. In 2.1.3. is reeds opgemerkt dat kwantificeren van larven niet zonder problemen is.

Op twee na worden in alle wateren waarin larven waargenomen worden ook juvenielen gezien. Door de watergebonden leefwijze blijven juvenielen na de metamorfose dicht bij het water.

3.1.7. BUFO CALAMITA (rugstreeppad)

B.calamita kan worden aangetroffen in terreinen met een losgrondige, meestal zanderige bodem zoals in de zee- en rivierduinen, maar ook in kleigebieden (gecombineerd met hoger gelegen zandgrond) zoals dijken, stuwwallen en opgespoten terreinen e.d. (Bergmans & Zuiderwijk, 1980; Sparreboom, 1981).
Voor B.calamita worden 86 wateren als volledig bemonsterd beschouwd (zie 3.1.1.2.). In slechts 4 wateren, ofwel 4.7% van het totaal aantal bemonsterde wateren is B.calamita aangetroffen. Drie wateren liggen op Terschelling en het vierde water is het Beuven. De pH van de wateren varieert van 4.7 tot 9.5.
Eisnoeren zijn niet gevonden, maar werden wel afgezet in 3 wateren wegens de aanwezigheid van larven en juvenielen. In deze 3 wateren is voortplanting opgetreden. De pH van deze wateren varieert van 4.7 tot 8.9.

Op grond van de weinige gegevens kan over de relatie tussen de aanwezigheid van adulten en de pH van het water en over de relatie tussen de voortplanting en de pH van het water geen uitspraken gedaan worden.

pH 4 - 4.5 5%
6.5 - 7.0 20%
7.0 - 10.0 25%

3.1.8. TRITURUSSOORTEN (salamanders)

In Nederland komen 4 Triturussoorten voor: T.alpestris (alpenwatersalamander), T.cristatus (kamsalamander), T.helveticus (draadstaart-, vinpoot- of zwemvoetsalamander) en T.vulgaris (kleine watersalamander). Afhankelijk van de soort wordt een groot deel van het jaar in het water doorgebracht. Naast het voortplantingswater is de directe omgeving (het landbiotoop) van zeer groot belang. In het algemeen geldt als biotoop: ongestoord terrein met een gevarieerde structuur met één of meer poelen. In het voorjaar vindt de voorjaarstrek plaats. Paring en eiafzet voltrekt zich vanaf maart-april tot in juli, maar kan doorgaan tot in het najaar. In de (na)zomer verlaten de adulten het water. T.helveticus keert in het najaar grotendeels terug om in het water te overwinteren, de andere soorten overwinteren incidenteel in het water. Elk ♀ zet 50 tot 300 eitjes afzonderlijk af gedurende één tot enkele maanden. Twee à drie weken na de eiafzet komen de larven uit en na een larvale periode van 2 à 3 maanden metamorfoseren zij. Laat in het jaar uitgekomen larven kunnen als larve overwinteren en metamorfoseren het jaar daarop. Voor een uitvoerige beschrijving van soorten, oecologie e.d. wordt verwezen naar Bergmans & Zuiderwijk (1980) en Sparreboom (1981).

De Triturussoorten hebben een langgerekte eiafzetperiode en dientengevolge kunnen gedurende een lange periode larven in verschillende stadia gevangen worden. Daarom wordt voor de pH-waarde van het water de gemiddelde waarde over het hele jaar genomen. Het aantal bemonsterde wateren over het hele jaar bedraagt 96 (zie 3.1.1.2.). In tabel 12 wordt een overzicht gegeven van de waarnemingen aan de Triturussoorten. Ten aanzien van tabel 12 het volgende: eitjes van Triturussoorten kunnen niet tot op soort gedetermineerd worden, deze worden in de tabel gesommeerd weergegeven. Ook larven van T.helveticus en T.vulgaris zijn niet te onderscheiden: deze zijn apart weergeven in die wateren waarin géén adulten zijn waargenomen. Zijn in een bepaald water zowel adulten van T.helveticus als larven gevangen, dan wordt aangenomen dat dit T.helveticus-larven zijn en géén T.vulgaris-larven. Hetzelfde geldt voor T.vulgaris-larven in combinatie met gevangen larven. Worden beide Triturussoorten als adult waargenomen in combinatie met larven dan wordt aangenomen dat het larven van beide soorten betreft.

pH	aantal bezochte wateren	wateren waarin eitjes	wateren met: T.alp. l.	a.	T.cris. l.	a.	T.vulg. l.	a.	T.helv. l.	a.	T.vulg. óf T.helv. l.
3.5-4.0	28	2	-	-	-	-	-	-	2	3 11%	1
4.0-4.5	23	6	-	3 14%	-	2 9%	1	2 9%	4	9 29%	2
4.5-5.0	8	-	-	-	-	-	-	-	-	1 12.5%	-
5.0-5.5	7	1	-	1 15%	-	1 15%	1	2 29%	1	2 29%	-
5.5-6.0	7	3	2	2 29%	1	1 15%	1	2 29%	1	1 14%	1
6.0-6.5	5	-	-	-	1	1 20%	-	-	2	2 40%	-
6.5-7.0	5	-	-	-	-	-	-	1 20%	-	1 20%	-
7.0-10.0	13	-	-	-	-	-	-	2 15%	-	2 15%	-
totaal	96	13	2	6	2	5	3	9	10	21	4

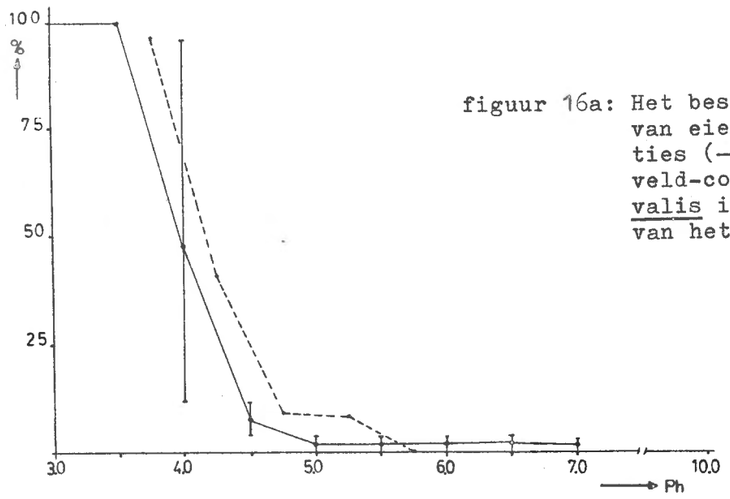
tabel 12: Overzicht van de waarnemingen aan T.alpestris, T.cristatus, T.vulgaris en T.helveticus. l.=larven; a=adulten.

De bemonsterde wateren komen in veel gevallen overeen met de biotoopbeschrijvingen der Triturussoorten. Toch werden deze soorten in weinig wateren gevangen: T.alpestris komt in 6.3% van de wateren voor, T.cristatus in 5.2%, T.vulgaris in 9.4% en T.helveticus in 21.9%. Hiermee is T.helveticus de meest verspreide salamander in de laag alkaliene wateren.
Door de wijze van eitjes af zetten, werden slechts in een klein aantal wateren eitjes gevonden.
T.alpestris en T.cristatus worden in wateren met een pH > 4.0 waargenomen. Er zijn echter te weinig gegevens om uitspraken te doen omtrent de relatie tussen de pH van het water en de voortplanting.
T.vulgaris wordt waargenomen in wateren met pH > 4.0. Waar adulten voorkomen kan succesvolle voortplanting optreden, er worden immers larven gevangen.
T.helveticus komt voor in wateren met een pH van 3.8 tot 9.5. Hierbij is geen duidelijke voorkeur voor zure, circumneutrale of basische wateren. Larven worden gevangen in wateren met een pH van 3.8 tot 6.3: in deze wateren is dus voortplanting vastgesteld.

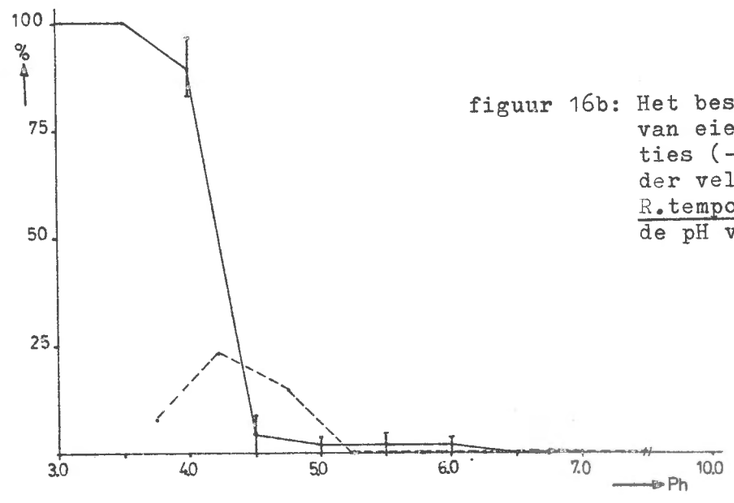
3.2. LABORATORIUM RESULTATEN

3.2.1. pH-GEVOELIGHEID

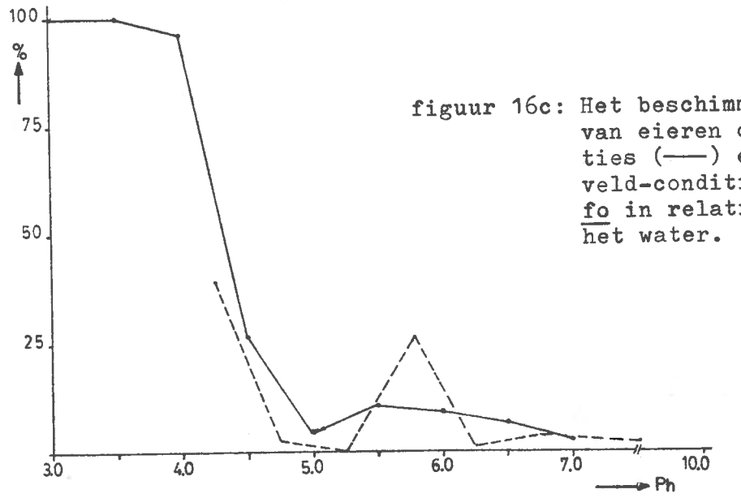
De pH-gevoeligheid van R.arvalis, R.temporaria, R.esculenta-k. en B.bufo is aan de hand van delen van eilegsels getest in bakjes water met een pH van 3.0, 3.5, ..., 6.5 en 7.0. In figuur 16a,b,c,d is het beschimmelingspercentage en de spreiding per pH-waarde in relatie tot de pH van het medium weergegeven. Ook de in het veld vastgestelde beschimmelingspercentages zijn aangegeven.



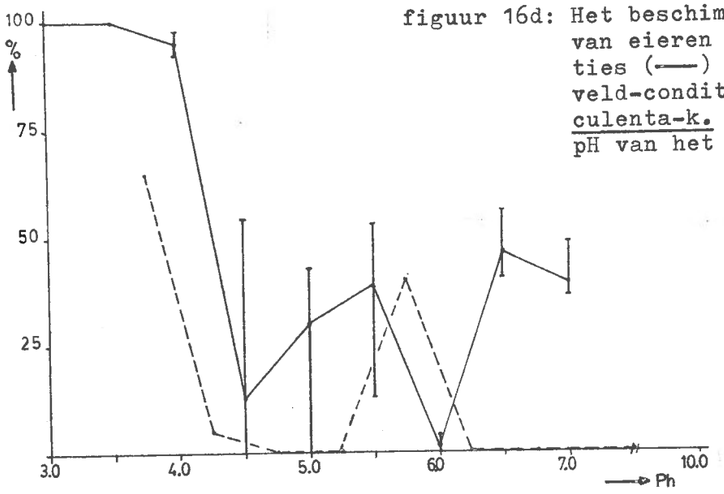
figuur 16a: Het beschimmelingspercentege van eieren onder lab.-condities (——) en eiklompen onder veld-conditie (---) van R.arvalis in relatie tot de pH van het water.



figuur 16b: Het beschimmelingspercentage van eieren onder lab.-condities (——) en eiklompen onder veld-condities (---) van R.temporaria in relatie tot de pH van het water.



figuur 16c: Het beschimmelingspercentage van eieren onder lab.-condities (——) en eisnoeren onder veld-condities (---) van B.bufo in relatie tot de pH van het water.



figuur 16d: Het beschimmelingspercentage van eieren onder lab.-condities (——) en eiklompen onder veld-condities (---) van R.esculenta-k. in relatie tot de pH van het water.

Omtrent de spreiding bij bepaalde pH-waarden het volgende:
Relatief grote spreiding in beschimmelingspercentages komen voor bij R.arvalis (bij pH = 4.0) en bij R.esculenta-k. (bij pH $\geqslant$ 4.5). Deze verschillen kunnen veroorzaakt worden door: schade aan de eieren ontstaan tijdens het vervoer (schokken van de eieren e.d.); schade aan de eieren ontstaan bij het uiteen halen van de eiklompen; schade ontstaan tijdens het aanzuren (bij een pH $\geqslant$ 4.5 verloopt de pH per dag minimaal 0.2 pH-eenheden) en mogelijk zijn de verschillen van genetische aard of is er verschil in bevruchtingspercentages.

Uit figuur 16a,b,c,d komt het volgende beeld naar voren:

= R.temporaria en B.bufo:

- Bij pH = 3.0 en pH = 3.5 krimpt de dooier aanmerkelijk gedurende de eerste dag, er treedt geen verdere ontwikkeling meer op. De eieren worden ondoorzichtig en binnen enkele dagen zijn schimmeldraden te zien.
- Bij pH = 4.0 vertoont het merendeel van de eieren het zelfde beeld als bij pH = 3.0 en pH = 3.5. De overige eieren hebben een geremde ontwikkeling t.o.v. eieren in water met een hogere pH: na 1 dag ontwikkeling zijn de eieren 1 à 2 stadia minder ver ontwikkeld dan eieren in water met een hogere pH. Na 2 dagen is het verschil 2 à 3 stadia. Na ongeveer 3 dagen wordt stadium 18 tot 21 bereikt. Door plaatsgebrek (kop en staart liggen tegen elkaar waardoor de staartslag belemmerd wordt en mogelijk zuurstofgebrek ontstaat) ontwikkelen veel embryo's niet meer verder, sterven af en beschimmelen. Bij pH = 4.0 wordt uiteindelijk meer dan 80% van de eieren van R.temporaria en meer dan 90% van de eieren van B.bufo door schimmel aangetast.
- Bij een pH $\geqslant$ 4.5 van het water bereiken bijna alle embryo's van R.temporaria en B.bufo het vrijzwemmende stadium (stadium 25).

= R.arvalis:

- Bij pH = 3.0 en pH = 3.5 vertoont de beschimmeling hetzelfde beeld als bij R.temporaria en B.bufo.
- Bij pH = 4.0 treedt een groot verschil in beschimmeling op tussen de twee reeksen. Bij pH = 4.0 in reeks A is het percentage 6.7%; bij pH = 4.0 in reeks B is het percentage 96.0% waarbij de aantasting vrijwel volledig bij de eerste ontwikkelingsstadia optrad. Mogelijke oorzaken zijn reeds aangegeven.
- Bij pH $\geqslant$ 4.5 verloopt de ontwikkeling der eieren als bij R.temporaria en B.bufo.

= R.esculenta-k.:

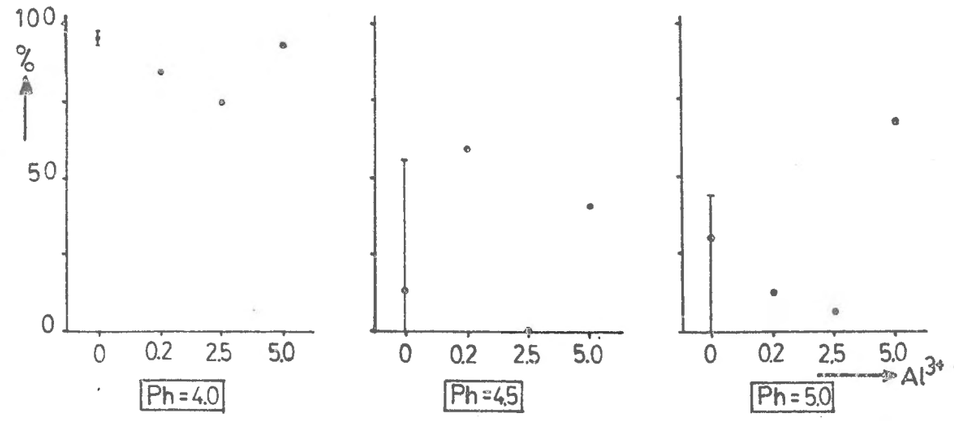
- Bij een pH $\leqslant$ 4.0 is de ontwikkeling zoals bij R.temporaria en B.bufo.
- Bij een pH $\geqslant$ 4.5 wordt een aanzienlijk deel van de eieren aangetast. Mogelijke verklaringen zijn reeds vermeld.

Roelofs (1983) vindt bij kweekproeven met R.esculenta-k.-eieren 100% beschimmeling bij een pH $\leqslant$ 4.0 en nagenoeg geen beschimmeling bij pH $\geqslant$ 4.5.

Uit het bovenstaande moet geconcludeerd worden dat bij een pH $\geqslant$ 4.5 de ei-ontwikkeling normaal verloopt voor eieren van de vier geteste amfibieënsoorten. Bij een pH $\leqslant$ 4.0 verloopt de ei-ontwikkeling voor R.temporaria, R.esculenta-k. en B.bufo desastreus: bij pH = 4.0 wordt 90% of meer door schimmel aangetast, bij pH $\leqslant$ 3.5 wordt 100% aangetast.
Voor R.arvalis verloopt de schimmelaantasting bij pH = 4.0 in reeks A overeenkomstig de drie andere soorten, in reeks B treedt echter weinig beschimmeling op.
De overgang van zeer veel beschimmeling naar vrijwel geen aantasting vindt plaats tussen pH = 4.0 tot pH = 4.5 voor R.temporaria, R.esculenta-k. en B.bufo en tussen pH = 3.5 en pH = 4.5 voor R.arvalis (gemiddelde van de twee reeksen). De uit figuur 16a,b,c,d te bepalen $L.D._{50}$-waarden onder lab.-condities liggen voor R.arvalis, R.temporaria, R.esculenta-k. en B.bufo bij een pH van respectievelijk 4.0, 4.2, 4.3 en 4.3.

3.2.2. Al-GEVOELIGHEID

In een proefopstelling werd aan water met een pH van 4.0, 4.5 en 5.0 m.b.v. $Al(NO_3)_3 \cdot 9\ H_2O$ 0.2, 2.5 en 5.0 mg Al^{3+} toegevoegd. Dergelijke concentraties komen van nature in verzuurde wateren voor. In figuur 17a,b,c is het beschimmelingspercentage per pH-waarde in relatie tot de Al^{3+} toevoeging weergegeven. De 'nulwaarden' zijn de beschimmelingspercentages zoals gevonden bij de pH-gevoeligheidstests (zie 3.2.1.).



figuur 17a,b,c: Het beschimmelingspercentage van eieren van R.esculenta-k. onder toevoeging van aluminium bij drie verschillende pH-waarden.

De beschimmelingspercentages gevonden onder Al^{3+} toevoeging vallen op 4 na allen binnen de spreiding der 'nulwaarden'. Door vergelijking van het gemiddelde beschimmelingspercentages zonder aluminium toevoeging ('gemiddelde nulwaarden') met de beschimmeling onder 0.2, 2.5 en 5.0 mg Al^{3+}/l worden toch enkele tendensen zichtbaar:

- Bij pH = 4.0 ligt het percentage beschimmeling onder toevoeging van de drie concentraties Al^{3+} lager dan de 'gemiddelde nulwaarde'.
- Bij pH = 4.5 ligt het percentage beschimmeling onder toevoeging van 0.2 en 5.0 mg Al^{3+}/l hoger dan de 'gemiddelde nulwaarde'. Wanneer 2.5 mg Al^{3+} wordt toegevoegd ligt het percentage beschimmeling lager.
- Bij pH = 5.0 ligt het percentage onder toevoeging van 0.2 en 2.5 mg Al^{3+}/l lager en bij 5.0 mg Al^{3+}/l hoger dan de 'gemiddelde nulwaarde'.
- Bij alle drie pH-waarden blijkt beschimmeling onder toevoeging van 2.5 mg Al^{3+}/l lager te zijn dan bij 0.2 en 5.0 mg Al^{3+}/l. Bovendien is het percentage dan lager dan de 'gemiddelde nulwaarden'.
- Onder Al^{3+} toevoeging is het pH-verloop groter dan zonder Al^{3+} toevoeging. In water met een pH = 4.0 is het pH-verloop het grootst; in water met pH 4.5 en 5.0 is het pH-verloop 2 tot 3 keer zo groot als zonder aluminium toevoeging.

3.3. SAMENVATTING VAN DE RESULTATEN VAN DE VELD-WAARNEMINGEN EN LABORATORIUM-EXPERIMENTEN

1. De fysisch-chemische samenstelling van de bemonsterde verzuurde laag alkaliene wateren is significant verschillend van niet verzuurde laag alkaliene wateren.
2. De pH van de bemonsterde laag alkaliene wateren ligt tussen 3.0 en 10.0. Ruim de helft van de wateren heeft een pH $\leq$ 4.5.

Er van uit gaande dat de bemonsterde wateren een representatieve steekproef van de in Nederland voorkomende laag alkaliene wateren zijn, dan gelden bovengenoemde punten algemeen voor dit type water in Nederland.

3. In de bemonsterde wateren werden de volgende soorten amfibieën waargenomen (tussen haakjes het percentage wateren waarin zij werden aangetroffen): R.arvalis (40.5), R.esculenta-k. (72.1), R.temporaria (52.8), B.bufo (58.4), B.calamita (4.7), T.alpestris (6.3), T.cristatus (5.2), T.helveticus (21.9) en T.vulgaris (9.4).
4. Ten aanzien van de pH-tolerantie van adulte exemplaren kan het volgende overzicht gegeven worden, tabel 13:

soort	pH-tolerantie	opmerkingen
R.arvalis	3.5 - 6.0	slechts 2 wateren met een pH > 6.0
R.esculenta-k.	3.0 -10.0	wateren met pH < 3.5 beduidend minder bezet
R.temporaria	3.5 -10.0	,, ,, pH < 4.5 ,, ,, ,,
B.bufo	3.5 -10.0	,, ,, pH < 4.0 ,, ,, ,,
T.helveticus	3.5 -10.0	----

tabel 13: pH-tolerantie der adulten van enkele soorten amfibieën.

De pH van de bemonsterde wateren is afhankelijk van het tijdstip der bemonstering. Tijdens de aanwezigheid van R.esculenta-k. lag de pH-range van de wateren tussen 3.0 en 10.0, tijdens de aquatische fase van de andere soorten tussen 3.5 en 10.0.

Wegens de geringe waarnemingen aan de overige soorten kan geen pH-tolerantie voor die soorten aangegeven worden.

5. Het aantal gevonden eilegsels per soort is als volgt, tabel 14:

soort	aantal	opmerkingen
R.arvalis	666	67% van de eiklompen in water met pH < 4.5
R.esculenta-k.	518	geen eiklompen in water met pH < 3.5
R.temporaria	1252	nauwelijks eiklompen in water met pH < 4.0
B.bufo	605	,, ,, ,, ,, ,, pH < 4.5

tabel 14: Aantal gevonden eilegsels van 4soorten amfibieën tijdens het in 1983 uitgevoerde amfibieënonderzoek.

Bij een lage pH van het water is het aantal afgezette eiklompen van R.arvalis kleiner dan bij een hogere pH van het water. Met andere woorden er is een tendens dat de populatiegrootte van R.arvalis kleiner is bij een lage pH van het water. Er is geen duidelijke correlatie tussen het aantal afgezette eilegsels van de andere soorten genoemd in tabel 14. Overigens worden nauwelijks eilegsels waargenomen wanneer de pH van het water beneden een bepaalde pH-waarde ligt.

Voor de overige soorten kan geen uitspraak gedaan worden wegens het geringe aantal gevonden eilegsels.

6. Zowel onder veld-condities als onder lab.-condities neemt het percentage beschimmeling van de eilegsels (= ei-mortaliteit) sterk toe beneden een bepaalde pH-waarde (de zg. kritische pH-waarde). In tabel 15 volgt een overzicht; tussen haakjes wordt de $L.D._{50}$-waarde aangegeven d.w.z. de pH waarbij 50% van de eilegsels door schimmel wordt aangetast (de met een × aangegeven waarden zijn bepaald m.b.v. SAS-probit-analysis; SAS, 1982).

soort	kritieke pH-waarde: onder veld-condities	onder lab.-condities
R.arvalis	4.75 (4.2×)	4.5 (4.0)
R.esculenta-k.	4.25 (3.9)	4.5 (4.3)
R.temporaria	4.75 (3.3×)	4.5 (4.2)
B.bufo	4.75 (4.0)	4.5 (4.3)

tabel 15: De kritieke pH-waarde en $L.D._{50}$-waarde van 4 amfibieën soorten.

Wegens het geringe aantal gevonden eilegsels van de overige soorten, kunnen van deze soorten geen kritische pH-waarden en $L.D._{50}$-waarden bepaald worden.

7. Het aantal gevangen larven per soort is vrij klein (behalve voor B.bufo). Kwantificeren van het aantal larven is niet zonder problemen, maar toch kan uit de waarnemingen een tendens afgeleid worden. Het aantal wateren waarin geen enkele larve gevangen wordt, neemt sterk toe beneden een bepaalde pH-waarde van het water. Boven deze pH-waarde van het water neemt het aantal wateren waarin wèl larven gevangen worden (sterk) toe terwijl ook het gemiddelde aantal gevangen larven per water dan toeneemt. In tabel 16 volgt een overzicht.

soort	aantal gevangen larven	pH-waarde van het water waarbij het aantal gevangen larven sterk toeneemt
R.arvalis	443	tussen 4.0 en 5.0
R.esculenta-k.	360	ongeveer 4.0
R.temporaria	1174	ongeveer 4.0
B.bufo	11803	ongeveer 4.5

tabel 16: Het aantal gevangen larven en de pH-waarde van het water waarbij het aantal waargenomen larven toeneemt.

Van de overige soorten zijn te weinig larven gevangen om over het voorkomen van larven in relatie tot de pH van het water uitspraken te kunnen doen.

8. Ten aanzien van de Al^{3+} -gevoeligheidstests onder lab.-condities het volgende: het pH-verloop van het water onder Al^{3+} toevoeging is beduidend groter dan zonder Al^{3+} toevoeging. Theoretisch gezien kan hierdoor het percentage beschimmeling der eieren, alleen rekening houdend met de pH-waarde van het water, lager zijn dan de 'nulwaarde'. Een duidelijk effect werd alleen waargenomen in water met een pH = 5.0 onder toevoeging van 5.0 mg Al^{3+}/1.
   Om een duidelijk beeld te krijgen van de invloed van aluminium op de ei-ontwikkeling van amfibieën zal verdergaand onderzoek nodig zijn.
9. Triturus-soorten werden weinig waargenomen. Alleen T.helveticus vormt hierop een uitzondering. Hoewel deze soort niet de meest algemene soort in Nederland is, blijkt deze in de bemonsterde laag alkaliene wateren het best vertegenwoordigd te zijn.

Uit bovenstaande punten blijkt dat de ontwikkeling van eilegsels pH-afhankelijk is. Beneden een bepaalde soortspecifieke pH-waarde neemt het percentage beschimmeling sterk toe. Deze pH-waarde wordt de kritieke pH-waarde genoemd. De kritieke pH-waarde en de $L.D._{50}$-waarde van een soort karakteriseren de relatie tussen het beschimmelingspercentage van de eilegsels en de pH van het water. In het veld blijken weinig eilegsels afgezet te worden in wateren met een pH lager dan de kritische pH-waarde, een uitzondering vormt R.arvalis. De meeste eiklompen van R.arvalis worden afgezet in wateren met een pH beneden de kritieke pH-waarde.
Een hoog percentage ei-mortaliteit resulteert in een klein aantal larven dat het vrijzwemmende stadium bereikt. Het is reeds opgemerkt dat kwantificeren van larven moeilijk is wegens mogelijke habitatkeuze der larven, mogelijke schoolvorming en de selectiviteit van de monstermethode. Toch is het duidelijk dat bij een hoog beschimmelingspercentage der eilegsels in wateren met een pH beneden de kritische pH-waarden het aantal larven sterk afneemt.

Tijdens het in 1983 uitgevoerde onderzoek, konden een aantal literatuurgegevens (zie inleiding) bevestigd worden:

10. Eieren in zuur water (pH 4.5) zwellen niet volledig op, waardoor eiklompen van de Rana-soorten kleiner zijn en compact, stevig aanvoelen. Beschimmeling van eieren treedt in het overgrote deel op tijdens de eerste ontwikkelingsstadia.Een deel van de eieren ontwikkelt wel maar door plaatsgebrek sterven de embryo's bij het lengen (stadium 18 tot 21), deze eieren worden dan alsnog door schimmels geïnfecteerd. Regelmatig is geconstateerd dat de buitenkant der eiklompen volledig door schimmel werd aangetast, maar dat de centraal gelegen eieren wèl ontwikkelden. Hierbij moet opgemerkt worden dat de centraal gelegen eieren later vaak alsnog aangetast werden. Waarschijnlijk zal slechts een klein gedeelte van deze eieren werkelijk het vrijzwemmende stadium bereiken. De zich wel ontwikkelende centraal gelegen eieren hebben een hogere pH dan het omringende water. Bij een twee-tal eiklompen van R.arvalis kon het volgende worden vastgesteld: het medium van de centraal gelegen eieren had een pH van respectievelijk 3.9 en 4.0, terwijk het omringende water een pH had van respectievelijk 3.5 en 3.4. De zich ontwikkelende eieren bevonden zich in stadium 18 à 19. Later moest echter vastgesteld worden dat de centraal gelegen eieren alsnog door schimmel werden aangetast met als gevolg dat geen enkele larve het vrijzwemmende stadium bereikte.
11. Het percentage beschimmeling der eilegsels is hoger wanneer deze zijn afgezet op een bed van Sphagnum spec..De pH in de omgeving van Sphagnum spec. is lager dan in het open water. Naast dit pH verschil zijn mogelijk ook afgescheide Sphagnum-zuren en de door Sphagnum spec. veranderde ionenbalans verantwoordelijk voor het hogere percentage beschimmeling.

4. DISCUSSIE en CONCLUSIE

4.1. DISCUSSIE

Vergelijking van beschimmeling der eieren onder lab.-condities en eilegsels onder veld-condities wordt bemoeilijkt door een aantal uiteen lopende oorzaken, zoals:

- Het lab.-medium bestaat uit vijverwater aangezuurd met zwavelzuur. Door de kunstmatige zuurtoevoeging verandert het water op een andere manier dan onder 'natuurlijke zuurtoevoeging' in het veld. In het veld treedt een langzame verschuiving op tijdens welke interacties optreden met de in bodem zittende verbindingen. Naast de zuurtoevoeging veranderen vele waterparameters in concentratie. De verandering in de chemische samenstelling van het water heeft tot gevolg dat zowel kwalitatief als kwantitatief een verandering optreedt in de samenstelling van micro- en macroörganismen. De verandering in biota kan wederom veranderingen in de chemische samenstelling teweeg brengen (denk aan Sphagnum spec.). Onder lab.-condities wordt geen bodem gebruikt, terwijl het verzuringsproces zeer snel voltrokken wordt. Kortom: media gebruikt bij de lab.-experimenten zijn fysisch-chemisch verschillend van media onder veld-condities.
- Bepaalde monsterplaatsen werden bemonsterd tijdens het begin van de eiafzetperiode, waardoor de beschimmelingsgraad op dàt moment werd bepaald, m.a.w. de maximale beschimmeling in dat water is niet vastgesteld. Andere monsterplaatsen werden bemonsterd op het eind van de eiafzetperiode, het beschimmelingspercentage in deze wateren komt ongeveer overeen met de uiteindelijke maximale beschimmelingsgraad. Het beschimmelingspercentage zoals in de verschillende figuren (figuur 7, 11, 13, 15 en 16) is weergegeven, kan daardoor lager zijn dan de uiteindelijke percentages. In het laboratorium wordt echter altijd het maximale beschimmelingspercentage vastgesteld.
- Doordat in het laboratorium slechts weinig eieren gebruikt worden, kan een bescherming door andere eieren zoals in het veld gevonden wordt binnen één eiklomp of bij elkaar liggende eiklompen, niet optreden. Het in het laboratorium vastgestelde beschimmelingspercentage kan om deze reden groter zijn dan onder veldcondities gevonden percentages.
- Tijdens het vervoer naar het laboratorium van eilegsels kan schade aan de eieren ontstaan, bovendien kunnen eieren beschadigd zijn bij het uiteen halen van de eilegsels. Ook kan schade ontstaan tijdens het aanzuren.

Vergelijking van de kritieke pH-waarden en de $L.D._{50}$-waarden der verschillende soorten amfibieën zoals die onder veld- en lab.-condities in 1983 zijn bepaald en afgeleid zijn uit bijlage 1b (Strijbosch, 1979), geven het volgende beeld, tabel 17:

soort	lab.-condities '83 kritieke pH	LD_{50}	veldcondities '83 kritieke pH	LD_{50}	Strijbosch '79 kritieke pH	LD_{50}
R.arvalis	4.5	4.0	4.75	4.2*	4.75	4.4
R.esculenta-k.	4.5	4.3	4.25	3.9	4.5	4.3
R.temporaria	4.5	4.2	4.75	3.3*	4.5	4.3
B.bufo	4.5	4.3	4.75	4.0	<4.5	<4.5
B.calamita	--	--	--	--	4.75	4.15
P.fuscus	--	--	--	--	~5	4.3

tabel 17: De kritieke pH-waarde en de $L.D._{50}$-waarde van een aantal amfibieënsoorten. De met een * aangegeven $L.D._{50}$-waarden zijn bepaald m.b.v. SAS-probit-analysis; SAS, 1982.

De $L.D._{50}$-waarde voor R.temporaria onder veldcondities '83 zijn beduidend lager dan de $L.D._{50}$-waarde onder lab.-condities '83 en Strijbosch '79, wegens het geringe aantal gevonden eiklompen in wateren met een pH beneden de kritieke pH-waarde. Uit tabel 17 blijkt dat in het algemeen in wateren met een pH $<$ 4.75 het percentage ei-mortaliteit der onderzochte soorten amfibieën sterk toeneemt. De $L.D._{50}$-waarde der verschillende soorten ligt bij een pH tussen 4.0 en 4.4. Dit betekent theoretisch gezien dat wateren met een pH lager dan de kritieke pH-waarden minder larven bevatten. Kwantificeren van larven is moeilijk, o.a. wegens de toegepaste monstermethode, desondanks volgt uit de waarnemingen (zie 3.3) dat in wateren met een pH tussen 4.0 en 4.5 het aantal larven afneemt.

In de inleiding en in hoofdstuk 3.3. is reeds opgemerkt dat eieren gelegen in het centrum van een eiklomp (Rana-soorten) soms wel ontwikkelen, terwijl de aan de buitenkant gelegen eieren door schimmels worden aangetast. Deze bescherming door de aan de buitenkant gelegen eieren is alleen effectief wanneer de centraal gelegen eieren hebben kunnen opzwellen tot de normale grootte. Het opzwellen is afhankelijk van de pH van het water: bij een te lage pH kunnen ook de centraal gelegen eieren niet tot de normale grootte zwellen waardoor embryo's alsnog sterven rond stadium 18 tot 21. Mogelijk is er alleen sprake van een effectieve bescherming in wateren met een pH $>$ 4.0.

4.2. CONCLUSIE

Uit de resultaten van het in 1983 uitgevoerde onderzoek blijkt dat in wateren met een pH $\leq$ 4.75 de ei-mortaliteit van eilegsels van R.arvalis, R.esculenta-k., R.temporaria en B.bufo toeneemt en het aantal larven afneemt.
In hoeverre het bovenstaande consequenties heeft voor het voortplantingssucces van een populatie amfibieën in een bepaald gebied is afhankelijk van de waterkwaliteit in dat gebied en van de geïsoleerdheid van dat gebied.
Amfibieën zetten relatief zeer veel eieren af, terwijl voor de instandhouding van een populatie weinig eieren het volwassen stadium hoeven te bereiken om zich vervolgens weer voort te planten, waardoor het voortbestaan van de populatie verzekerd is. Wanneer echter tijdens de ei-ontwikkeling een procentueel groot deel der eieren door schimmels wordt aangetast, kan dit zeker gevolgen hebben voor het voortbestaan van de populatie.
Populaties van R.arvalis (Clausnitzer, 1979; Cuppen, 1983) en R.temporaria (Hagström, 1977;1980) blijken in geïsoleerde terreinen ten gevolge van verzuring van oppervlakte-wateren uit te sterven. Strijbosch (1979) constateert dat amfibieën, in een gebied waarin meerdere vennen liggen die onderling verschillen in o.a. pH en watersamenstelling, een habitat-selectie vertonen waarbij een voorkeur voor wateren optreedt waarin de voortplanting min of meer verzekerd is.
Rekening houdend met de ruime biotoopkeuze van R.temporaria, R.esculenta-k. en B.bufo zullen deze soorten in Nederland over het algemeen niet door de invloed van zure depositie bedreigd worden. Plaatselijk kunnen echter geïsoleerde populaties van deze soorten in zwak gebufferde (en daardoor zure depositie gevoelige) terreinen een zodanige achteruitgang in voortplanting vertonen dat vergrijzing en zelfs uitsterven van een populatie kan optreden.
Er van uit gaande dat de bemonsterde wateren een representatieve steekproef van de in Nederland voorkomende laag alkaliene wateren vormt, dan blijkt ruim 50% van dit type water een pH $\leq$ 4.5 te hebben. In Nederland beperkt de biotoopkeuze van R.arvalis zich hoofdzakelijk tot terreinen waarin laag alkaliene wateren gelegen zijn. Het gevolg is dat R.arvalis zeker bij een verdergaande verzuring van oppervlaktewateren als gevolg van zure depositie, een bedreigde soort in Nederland geworden is.

Aan de overige amfibieënsoorten zijn te weinig waarnemingen verricht om een correlatie van de voortplanting en de pH van het water te bepalen. Toch kan gezien de resultaten van dit onderzoek verwacht worden dat ook geïsoleerde populaties van deze soorten in zure depositie gevoelige terreinen een negatieve invloed ondervinden van een verdergaande verzuring.

5. AANWIJZINGEN VOOR VERDERGAAND ONDERZOEK

Het voortplantingssucces van amfibieën is gerelateerd met de zuurgraad van het water (zie 4). Uit fysisch-chemisch onderzoek aan verzuurde wateren is gebleken dat bij verzuring niet alleen de pH verandert, maar ook concentraties van andere parameters. De exacte werking van de aantasting van de eilegsels is niet bekend, maar moet o.a. gezocht worden in de osmoregulatie van de eieren. De fysisch-chemische parameters die mogelijk verantwoordelijk zijn voor de veranderde osmoregulatie kunnen onder lab.-condities apart en in combinatie bestudeerd worden.

Naast gerichte kweekexperimenten is het ook nuttig in het veld de effecten van verzuring op populaties amfibieën te volgen. Het effectiefst kan dit middels populatie-dynamisch onderzoek plaats vinden. Uit een dergelijk onderzoek kan een beeld gevormd worden van het veranderde voortplantingssucces en de invloed hiervan op de opbouw van de verschillende populaties. Een dergelijk onderzoek is echter intensief en langdurig. Bovendien moeten daarvoor locaties gekozen worden waar de beïnvloeding op de verschillende soorten amfibieën te wijten is aan verzuring en niet aan andere invloeden (zoals invloed van landbouwtechnieken, veranderd beheer van het terrein, e.d.).

Het in 1983 uitgevoerde onderzoek had in eerste instantie een verkennend karakter. De resultaten leveren echter genoeg aanknopingspunten om binnen een combinatie van zowel laboratorium- als veldonderzoek de kennis omtrent de bedreiging van amfibieën door verzuring in belangrijke mate uit te breiden.

6. NAWOORD

Amfibieën behoren in Nederland sinds 1973 tot de wettelijk beschermde dieren. Daar zijn redenen voor. Amfibieën worden sinds de industriële en agrarische revolutie in het begin van de twintigste eeuw in ernstige mate beperkt in hun leefmogelijkheden. Ruilverkavelingen, grootschaligheid, intensivering van de landbouw, ontwatering, waterverontreiniging, recreatie e.d. zijn voor veel soorten amfibieën oorzaken waardoor hun verspeidingsgebied sterk is gereduceerd. In het verleden waren natuurgebieden terreinen waar de bedreigingen relatief klein waren in vergelijking met het gecultiveerde land. Door zure depositie welke de laatste decennia sterk is toegenomen, worden ook diverse natuurgebieden (m.n. zwak gebufferde milieus) bedreigd. Het is duidelijk dat niet alleen amfibieën maar ook diverse andere levensvormen de gevolgen hiervan niet kunnen ontlopen. De gevolgen van zure depositie worden in steeds sneller tempo zichtbaar, niet alleen in Nederland maar ook in andere Europese landen en Noord-Amerika. Door het grensoverschreidende karakter van deze problematiek is een snelle internationale aanpak vereist. Moge de resultaten van dit onderzoek mede bijdrage aan een snelle aanpak van dit probleem. Niet alleen de mens, maar ook andere levensvormen hebben het recht om op deze wereld te (over)leven.

7. SUMMARY

In 1983 96 soft water ecosystems (alkalinity ≤ 1.0 mq/l) in the south eastern part of The Netherlands were examined for the possible effects of acid rain on amphibians. These poorly buffered waters are highly sensitive to cultural acidification.

In this study nine amphibian species were encountered: R.arvalis, R.esculenta-c., R.temporaria, B.bufo and T.helveticus occur in a great percentage of soft waters, B.calamita, T.alpestris, T.cristatus and T.vulgaris occur only in a small number of the investigated waters.

R.esculenta-c., R.temporaria, B.bufo and T.helveticus have a rather wide range of occurence when correlated with pH (between 3.0 and 10.0). Most waters in which R.arvalis occur have a pH between 3.5 and 6.0.

Egg clumps/strings become heavily infested with fungi in waters with pH below 4.75. Infection with fungi means egg-mortality. In waters with pH below 4.5 only a small amount of larvae was caught. These results indicate that the reproductionsuccess of amphibians is negatively effected by low pH.

Because most frogs, toads and newts have a rather wide range of occurrence with respect to pH, acidification of the soft waters means to them a shrinkage of the available area. R.arvalis has its mean distribution in the low alkaline waters. Acidification of the enviroment of this frog may lead to its local extinction.

DANKWOORD

Allereerst bedank ik Rob Leuven voor de begeleiding van dit onderzoek. Prof. Dr. C. den Hartog bedank ik voor het beschikbaar stellen van de doctoraalplaats op zijn afdeling en het kritisch doorlezen van dit verslag. Het meedenken en de raadgevingen van de stafleden van de afdeling Aquatische Oecologie hebben bijgedragen aan de resultaten van dit onderzoek. Voor de hulp bij het analyseren van de watermonsters op het Gemeenschappelijk Instrumentarium bedank ik Leo Meuffels. Verder blijf ik prettige herinneringen houden aan mijn mede-studenten en de heer Pauwels met wie ik de bemonsteringen uitvoerde.
Zonder financiële steun en de nodige ontheffingen en vergunningen zou het onmogelijk zijn geweest dit onderzoek uit te voeren. De volgende instanties zou ik willen noemen: Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, Ministerie van Landbouw en Visserij, Vereniging tot behoud van Natuurmonumenten, Staatsbosbeheer, Stichting het Limburgs Landschap, Brabants Landschap, Stichting het Overijssels Landschap, It Fryske Gea en de Gemeenten Beers, Ravenstein, Schayk, Valkenswaard en Vlijmen. Naast deze instanties denk ik ook aan de diverse terreinbeheerders omdat ik regelmatig onderdak bij hen genoten heb.
In dit dankwoord horen verder thuis: fam. Oyen, Marjan en mijn huisgenoten.

Marius Christiaans.

GERAADPLEEGDE LITERATUUR

Bergmans, W. & A. Zuiderwijk, 1980. Amfibieën en reptielen in Nederland. Wet. Meded. K. ned. naruurh. Vern., 139. 74 pp.

Bie, J.E.G.M. de & M.M.J. Maenen, 1984. Een onderzoek naar de effecten van zure neerslag op microflora en microfauna in zwak gebufferde wateren op kalkarme zandgronden. Lab. Aq. Oecologie, K.U. Nijmegen (in prep.).

Bloemendaal, F. & R. Schuurkes, 1982. Een onderzoek naar de verspreiding van waterplanten in relatie tot het abiotisch milieu, met name in matig- en hoog-alkaliene wateren. Verslag No. 136. Lab. Aq. Oecologie, K.U. Nijmegen. 60 pp.

Claus, G. & H. Ebner, 1972. Grundlagen der Statistik für Psychologen, Pädagogen und Soziologen. Deutsch, Frankfurt a/M.

Clausnitzer, H.J., 1979. Durch Umwelteinflüsse gestörte Entwicklung beim Laich des Moorfrosches (Rana arvalis L.). Beitr. Naturk. Niedersachsens 32: 67-78.

Coesel, P.F.M., R. Kwakkestein & A. Verschoor, 1978. Oligotrophication and eutrophication tendencies in some Duth moorland pools, as reflected in their desmid flora. Hydrobiologia 61: 21-31.

Cuppen, H.P.J.J., 1983. Een onderzoek naar de flora en fauna van een aantal vennen en leemkuilen bij Hoog Soeren (Gem. Apeldoorn). Regionale Milieuraad Oost Veluwe. 12 pp.

Dam, H. van, G. Suurmond & C.J.F. ter Braak, 1980. Impact of acid precipitation on diatoms and chemistry of Dutch moorland pools. Proc. Int. conf. ecol. impact acid precip., Norway, 1980, SNSF-project: 298-299.

Dam, H. van, G. Suurmond & C.J.F. ter Braak, 1981. Impact of acidification on diatoms of Dutch moorland pools. Hydrobiologia 83: 425- 459.

Dam, H. van & H. Kooijman-van Blokland, 1978. Man-made changes in some Dutch mmorland pools as reflected by historical and recent data about diatoms and macrophytes. Int. Rev. ges. Hydrobiol. 63: 587-607.

Dilling, W.J. & C.W. Healey, 1926. Influence of lead and the metallic ions of copper, zinc, thorium, beryllinm and thallium on the germination of frogs' spown and on the growth of tadpoles. Ann. Appl. Biol. 13: 177-188.

Drabløs, D. & A. Tollan (Eds.), 1980. Ecological impact of acid precipitation Proc. Int. conf. ecol. impact acid precip., Norway, 1980, SNSF-project. 383 pp.

Eeken, R.L.J., 1 84. Effecten van water- en bodemverzuring op benthos. Doctoraalverslag Afd. Aquat. Oec., K.U. Nijmegen (in prep.).

Elteren, Ph. van, 1970. Syllabus van een elementaire cursus statistiek voor biologen en medici. U.R.C. Statistische Afdeling, K.U. Nijmegen. 134 pp.

Geelen, J.F.M., R.S.E.W. Leuven, J.E.G.M. de Bie & M.M.J. Maenen, 1983. Impact of acidification and eutrophication on microflora and microfauna assemblages of "littorellion"-dominated systems. Proc. Int. Symp. Aquat. Macrophytes, Nijmegen, 18-23 September, 1983: 68-72.

Gosner, K.L. & I. H. Black, 1957. The effects of acidify on the development and hatching of New Jersey Frogs. Ecol. 38: 256-262.

Hagström, T., 1977. Grodornas försvinnande i en försurad sjö. Serviges Natur 11: 367-369.

Hagström, T., 1980. Reproductive strategy and success of amphibians in waters acidified by atmospheric pollution. Proc. European. Herp. Symp. Oxford, 1981: 55-57.

Hartog, C. den, J.G.M. Roelofs, J.A.A.R. Schuurkes & R.S.E.W. Leuven, 1983. Effects of acid precipitation on fresh water systems in The Netherlands. Proc. NATO-panel III, Chapel Hill, June 1983.

Higler, L.W.G., 1979. Limnological data on a Dutch moorland pool through sixty years. Hydrobiol. Bull. 13: 138-143.

Lee, R.M. & S.D. Gerking, 1980. Sensitivity of fish eggs to acid stress. Researth 13: 1679-1681.

Leivestad, H., I.P.Muniz & B.O. Rosseland, 1980. Acid stress in throut from a dilute mountain stream. In: Drabløs, D. & A. Tollan (eds.); Ecological impact of acid precipitation, p. 318-319, SNSF-project.

Leuven, R.S.E.W., C. den Hartog, M.M.C. Christiaans & F.G.F. Oijen, 1984. Effects of acid precipitation on amphibians and fish. Proc. Zure Regen Symp., 's Hertogenbosch, 17-18 november. Pudoc, Wageningen: 184-186.

Overrein, L.N., H.M. Seip & A. Tollan, 1981. Acid precipitation-effects on forest and fish. Final report of the SNSF-project 1972-1980. Fagrapport FR 19/80. 175pp.

Ploegmakers, J.H.W.M. & A.J.M. de Man, 1971. De rol van Saprolegniaceae bij de infectie van eieren van Anura. Verslag No. 51. Zoöl. Lab. afd. Dieroecologie, K.U. Nijmegen. 44 pp.

Pough, F.H., 1976. Acid Precipitation and Embryonic Mortality of Spotted Salamanders, Ambystoma maculatum. Science 192: 68-70.

Pough, F.H. & R.E. Wilson, 1974. The effects of temperature and pH combinations on amphibian embryonic development. Physiologist, Wash. 17: 388.

Roelofs, J.G.M., 1983a. Toenemende gevolgen van zure neerslag in Nederland. Natuur en Milieu 7/5: 13-15.

Roelofs, J.G.M., 1983b. Impact of acidification and eutrophication on macrophyte communities in soft waters. I. Field observations. Aquat. Bot. 17:139-155.

Roelofs, J.G.M. & J.A.A.R. Schuurkes, 1983. Impact of acidi cation and eutrophication on macrophyte communities in soft waters. Proc. Int. Symp. Aquat. Macrophytes, 18-23 September, Nijmegen, 1983: 197-202.

S.A.S. Institute Inc., 1982. S.A.S. User's Guide: Statistics, 1982 Edition. 584 pp.

Sparreboom, M., 1981. De Amfibieën en Reptielen van Nederland, België en Luxemburg. Balkema, Rotterdam, 1981. 283 pp.

Staatsbosbeheer, 1981. Inventarisatieatlas voor flora en fauna van Nederland. S.B.B., 1981.

Strijbosch, H., 1979. Habitat selection of amphibians during their aquatic phase. Oikos 33: 363-372.

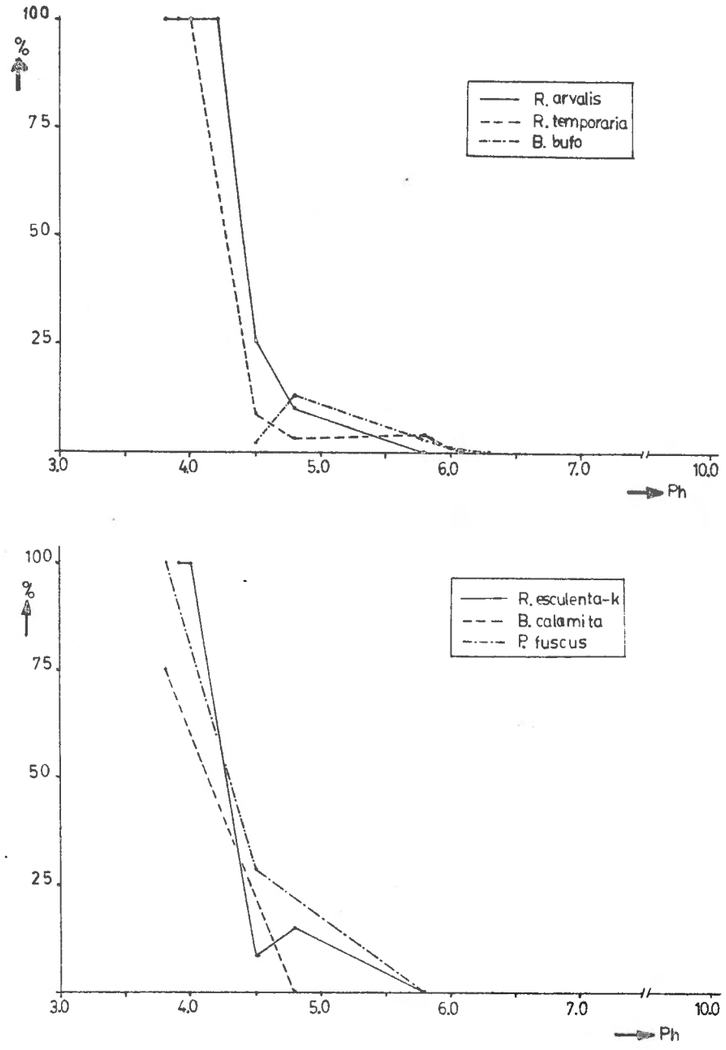
Wijnands, H.E.J., 1977. Distribution and habitat of Rana esculenta complex in the Netherlands. Neth. J. Zool., 27: 277-286.

Witschi, E., 1956. Development of Vertebrates. Saunders Company London: 78-84.

Bijlage 1a,b

ven	S	Ri	B	T	L	U	Ba	O	E	M	Kr	K	Ro	St	H
pH	3.7	3.8	3.9	3.9	3.9	4.0	4.2	4.5	4.5	4.5	4.8	5.8	6.0	6.1	6.3
trofie-volgorde	1	8	2	4	7	3	5	6	9	11	10	13	12	14	15
R.arvalis															
adulten	10	135	35	61	95	54	62	314	234	211	320	568	520	479	168
eikl.	-	3	0.4	8	3	3	6	4	48	50	93	253	144	85	31
besch.	-	100	100	100	100	100	100	100	27	18	10	0	1	0	0
R.temporaria															
adulten	-	6	3	18	12	7	2	-	111	130	226	966	330	117	369
eikl.	-	-	-	-	-	1	-	-	26	37	71	523	135	64	178
besch.	-	-	-	-	-	100	-	-	4	12	3	4	1	0	0
R.esculenta-k.															
adulten	-	14	6	3	40	15	9	76	177	165	289	1332	770	851	605
eikl.	-	-	2	-	21	16	-	18	285	284	412	2097	1400	851	1003
besch.	-	-	100	-	100	100	-	100	5	6	15	0	1	0	3
P.fuscus															
adulten	-	18	-	6	7	-	-	-	4	7	9	69	110	106	162
eistr.	-	9	-	-	-	-	-	-	0.4	1	-	13	9	32	24
besch.	-	100	-	-	-	-	-	-	100	0	-	0	4	0	0
B.bufo															
adulten	-	-	-	2	-	1	-	4	0.4	148	33	27	407	-	128
eistr.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	82	11	-	178	-	26
besch.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	13	-	1	-	0
B.calamita															
adulten	-	29	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	14	170	-
eistr.	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	-	3	64	-
besch.	-	75	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0	0	-

Bijlage 1a: De pH (jaargemiddelden) en de trofie-volgorde van een 15-tal van nature zure vennen alsmede de dichtheid van adulten als gemiddelde maximale aanwezigheid (in individuen per ha.) en het aantal eiklompen/eisnoeren en hun beschimmelings-percentage.
Bron: Strijbosch, 1979.



Bijlage 1b: De relatie tussen het beschimmelings-percentage van eiklompen/eisnoeren van een zes-tal soorten amfibieën en de pH van het water in een 15-tal van nature zure vennen afgeleid uit bijlage 1a.
Bron: Strijbosch, 1979.

Bijlage 2

Op de volgende vier bladzijden wordt een overzicht gegeven van de waargenomen amfibieënsoorten in de bemonsterde wateren.

Legenda:

kolom 1 : Naam van het bemonsterde water.

kolom 2 : Amersfoortcoördinaat van het bemonsterde water (SBB, 1981).

kolom 3 : De pH van het bemonsterde water tijdens respectievelijk 'voorjaarsperiode', 'zomerperiode' en het hele monsterseizoen.

kolom 4 t/m 8 : Waarnemingen aan respectievelijk eilegsels (e.), larven (l.), juvenielen (j.) en (sub)adulten (a.) van R.arvalis, R.temporaria, R.esculenta-k., B.bufo en B.calamita.

kolom 9 : Waarnemingen aan eilegsels van Triturussoorten.

kolom 10 t/m 13: Waarnemingen aan larven (l.) en (sub)adulten (a.) van T.alpestris, T.cristatus, T.helveticus en T.vulgaris.
(x) = T.helveticus-larven en/of T.vulgaris-larven.

	coördinaat	pH	R.arvalis e.l.j.a.	R.temp. e.l.j.a.	R.esc-k. e.l.j.a.	B.bufo e.l.j.a.	B.cal. e.l.j.a.	T. e.	T.alp. l.a.	T.cris. l.a.	T.helv. l.a.	T.vulg. l.a.
Nieuw Kuykse Wiel	141.0/411.0	7.1/7.6/7.4					x x x x					
Ven bij Schayk	168.4/417.3	4.1/3.5/3.9	x x								(x)x	(x)
Rouwkuilen	191.4/390.1	3.8/3.9/3.8	x x x	x x	x x x x					x x	(x)x	(x)
Brandput Rouwkuilen	191.6/390.2	6.1/6.4/6.3			x x x x						x	
Staalbergven	143.5/398.2	4.2/4.1/4.2	x x x x		x	x						
van Esschenven	142.7/397.8	5.5/5.9/5.7	x x		x x x x							
Voorste Choorven	142.5/397.2	3.8/3.9/3.8	x x	x	x	x					x	
Achterste Choorven	142.8/397.3	4.0/4.0/4.0	x									
Witven	142.7/397.6	4.0/4.0/4.1				x x						
Broekse Wiel 5+6	181.0/415.6	6.6/6.9/6.8		x x x	x x x x	x x x						
Vogelvijver Gassel	181.3/417.1	4.2/4.1/4.2		x x x	x			x	x			
Diaconieven	141.6/396.8	4.1/3.9/4.1	x x		x x x x							
Heiven	142.2/397.1	5.2/4.9/5.2	x x x	x x x	x x x x							
Groot Huisven	146.3/398.6	4.0/5.0/4.5			x x x							
Ganzenven Kampina	146.4/399.1	4.4/3.4/3.7			x							
Meeuwenven II ,,	146.1/399.1	3.9/3.3/3.7										
Geul Winkelsven	146.3/396.0	5.3/5.4/5.4	x x x x	x x x x	x x x x	x x x					(x)x	(x)x
Defensiekanaal	193.4/379.3	3.6/3.4/3.5	x x								x	
Leikeven	130.9/402.1	4.0/3.7/3.8		x x	x x x x							
Sloot bij Leikeven	131.0/402.0	6.0/--/6.0				x x x						
Plakkeven	131.2/402.9	4.1/--/4.1	x x x	x x	x x x x	x x x		x		x	(x)	(x)x
Roelofsven I	184.3/421.0	4.8/5.4/5.1	x x x	x x x	x x	x x x		x	x	x		x
Kogelvangersven I	146.9/398.8	4.3/4.5/4.0	x									
Kogelvangersven II	146.7/399.0	4.2/3.7/3.9			x							
Palingven	145.4/398.9	4.2/4.2/4.2	x x x		x						x	

	coördinaat	pH	R.arvalis e.l.j.a.	R.temp. e.l.j.a.	R.esc-k. e.l.j.a.	B.bufo e.l.j.a.	B.cal. e.l.j.a.	T. e.	T.alp. l.a.	T.cris. l.a.	T.helv. l.a.	T.vulg. l.a.
Bosven I	145.7/399.2	4.4/4.2/4.3	x x x		x			x			(x) x	(x)
Bosven II	145.5/399.2	5.2/5.2/5.1	x x x		x x x x						x	
Kampinaven	145.2/399.2	4.3/3.8/4.1	x x x x		x x x x						x	
'Beerzeven'	146.7/395.9	7.8/--/7.8		x x x x		x x x						
Winkelsven II	146.2/396.0	4.5/--/4.5	x x x	x x x	x x x x	x x x						
Klokketorenven	145.0/395.8	5.2/4.1/4.7			x							
Klein Aderven	143.4/397.7	4.6/4.2/4.4	x x	x x		x x x						
Groot Aderven	143.6/398.0	4.4/4.7/4.6	x x x	x x x	x x x	x x x					x	
Brandven	141.7/396.4	3.8/3.9/3.9										
'Ven 96'	141.9/396.3	3.5/3.6/3.5										
Galgenven Moergestel	138.7/396.1	3.7/3.5/3.6	x x									
Bankven	133.2/390.7	9.5/9.7/9.6		x x x	x	x x x					x	
Gat van Klerkx	192.6/378.9	3.6/3.5/3.5										
Mariaven II	191.8/381.8	3.7/3.6/3.7	x x		x							
Mariaven III	190.4/392.6	4.3/--/4.3	x x x x	x x x x				x				
Mariaven IV	190.2/382.2	4.2/5.1/4.8		x x	x x x x	x x						
Mariaven V	192.6/379.4	3.7/3.6/3.6										
Mariaven VII	194.4/379.3	3.5/3.6/3.5										
Beuven	173.9/378.9	9.8/8.4/8.9	x x x	x x x	x x x x	x x x	x x x					
Peetersven	160.5/375.3	4.0/3.8/3.9			x	x x x x						
Ven tzv Peetersven	160.7/375.2	4.0/3.9/3.9	x x		x	x						
Galgenven Valkenswaard	161.1/375.3	4.9/5.6/5.2		x x x x	x x x x	x x x x						
Melickerven	203.3/354.2	4.1/4.2/4.1	x x	x x	x x	x x		x	x		x	
'Simonsven'	203.8/353.2	5.8/6.6/6.3		x x	x	x						
Rolven 04	205.2/353.8	4.1/3.7/3.9	x x	x x	x	x x x		x			(x) x	(x)

	coördinaat	pH	R.arvalis e.l.j.a.	R.temp. e.l.j.a.	R.esc-k. e.l.j.a.	B.bufo e.l.j.a.	B.cal. e.l.j.a.	T. e.	T.alp. l.a.	T.cris. l.a.	T.helv. l.a.	T.vulg. l.a.
Rolven 02	205.3/353.7	4.4/4.0/4.2		x x	x	x x x					(x) x	(x)
Amfibieënpoel	207.9/354.4	5.7/5.9/5.9			x x x x	x x x		x	x x	x x	(x) x	(x) x
'Duitslandven'	208.1/354.3	6.8/6.8/6.9		x x x	x x x x	x x x					x	x
Vossekop	206.5/354.8	4.0/4.2/4.1		x x	x x	x x					(x) x	(x)
Elfenmeer 10	206.8/354.8	4.0/3.7/3.9	x x	x x	x	x x		x			(x)	(x)
Eendenpoel	206.6/351.5	4.4/4.0/4.3	x x x	x x	x x x x	x x x		x	x	x	(x) x	(x)
'Suntjesplas'	201.0/356.9	5.2/4.7/5.1		x x x x	x x x x	x x x						
Elzenbroekplasje	193.1/356.8	7.1/--/7.1		x x x		x x						x
Gerritsfles	184.5/463.6	4.5/4.1/4.3	x x	x x x		x x						
Ganzenpoel Diever	216.5/547.2	4.1/4.0/4.0			x	x x x x						
Bergven	265.2/494/6	3.6/4.2/3.9	x x x x		x x							
Ven bij Eibergen	240.0/454.0	6.8/7.4/7.1		x x		x						
Zwarte Water Venlo	210.6/379.3	5.5/6.0/5.5		x x x	x x	x x x						x
Kleine Vilt	189.0/411.0	6.5/6.8/6.8		x x x		x x x						
Broekse Wiel 1	180.9/415.4	8.2/7.0/7.4		x x x x	x x x x	x x x					x	
Broekse Wiel 3	180.9/415.6	6.1/6.3/6.3		x x x	x x x x	x x x					(x) x	(x)
Grote Moost	188.1/368.6	5.4/6.2/5.7		x x x	x x x x	x x x		x	x			
Geistersven	200.9/395.0	5.7/5.7/5.7		x x	x	x x x						
Kriekeputten I	65.9/365.2	7.2/6.6/6.9				x x x						
Kriekeputten II	65.9/365.3	6.5/6.2/6.4				x x x x						
Zwarte Water Turnhout	123.4/375.7	5.4/5.4/5.4			x	x x						
Uiversnest	183.1/422.4	4.0/3.9/3.9	x x x		x x			x				
Lobeliabaai	172.5/379.2	3.7/4.1/4.0	x x		x x x x	x x x					(x)	(x)
Kleine Schaapsloop	161.6/373.1	4.1/4.4/4.3			x x x x	x x x		x			(x)	(x)
Grote Schaapsloop	161.4/373.1	6.6/6.6/6.6		x x x x	x x x x	x x x						

	coördinaat	pH	R.arvalis e.l.j.a.	R.temp. e.l.j.a.	R.esc-k. e.l.j.a.	B.bufo e.l.j.a.	B.cal. e.l.j.a.	T. e.	T.alp. l.a.	T.cris. l.a.	T.helv. l.a.	T.vulg. l.a.
Sarsven-Banen	183.7/364.5	7.4/7.0/7.4	x x x	x x x	x x x x	x x x						
Voor de Banen	183.4/364.3	5.7/--/5.7	x x x	x x x		x x x						
Kiezelven	169.9/380.3	4.0/3.5/3.8										
Beeldven	144.2/399.4	4.8/4.6/4.7		x x x	x x x x	x x x						
v.Huneplak	144.5/599.0	4.6/4.7/4.7		x x x x			x x x x				(x)	(x) x
Grieltjesplak	143.4/600.1	6.8/7.0/7.0		x x x x			x x x x	x				x
Bakkeveen	212.0/566.0	4.2/4.4/4.4	x	x x x x		x x x x						x
Voor Grote Moost	188.1/369.1	6.3/5.9/5.9		x x x x	x x x x	x x x		x			(x)	(x)
Sloot bij Gr.Moost	188.2/368.8	3.6/--/3.6										
Plasje Asselt	198.5/359.7	7.4/--/7.4		x x x		x x x						
Rouven	160.6/375.8	3.9/4.5/4.5			x x x x							
Kersjensven	182.8/422.1	--/3.8/3.8			x							
Meeuwenven	183.6/421.3	--/3.6/3.6			x							
Talingenven	183.3/422.4	--/3.7/3.7			x x							
Bavoven	183.4/422.1	--/3.7/3.7			x							
Eendenven	183.4/421.9	--/4.1/4.1			x							
Roelofsven II	184.3/421.1	--/7.2/7.2			x x							
Badhuiskuil	146.2/601.1	--/9.5/9.5					x					x

Bijlage 3

Fysisch-chemische parameters van het kweekmedium.

pH	8.4	SO_4^{2-}	700
Alk.	1.3	Cl^-	640
Ca^{2+}	660	NO_3^-	6
Mg^{2+}	200	PO_4^{3-}	0.4
Mn^{2+}	0.9		
Na^+	350		
K^+	340		
Si^{4+}	3		
Fe^{2+}	5.0		
NH_4^+	40		

De alkaliniteit is uitgedrukt in meq/l, alle overige parameters zijn uitgedrukt in /umol/l.

Bijlage 4

Het gemiddeld aantal eisnoeren van B.bufo per water in relatie tot de pH van het water.

pH	aantal wateren	aantal eisnoeren per water (spreiding)
3.5-4.0	2	0 (--)
4.0-4.5	16	1.4 (0 - 16)
4.5-5.0	7	44.9 (0 - 250)
5.0-5.5	5	0.8 (0 - 1)
5.5-6.0	4	11.8 (0 - 40)
6.0-6.5	3	3.3 (0 - 10)
6.5-7.0	5	16.8 (0 - 50)
7.0-10.0	10	12.4 (0 - 75)