



LUND
UNIVERSITY

Master's Degree Project in

Department of Biology
Lund University



Lökgrödan i Frihult, Skåne - en statusuppdatering med fokus på chytridiomykos



LUND
UNIVERSITY

Titel: Lökgrödan i Frihult, Skåne - en statusuppdatering med fokus på chytridiomykos

Författare: David Jönsson

Nivå: Masterexamensarbete i akvatisk ekologi (BIOM02), 45 hp

Intern handledare: Per Carlsson, Lunds universitet

Extern handledare: Per Nyström & Marika Stenberg, Ekoll AB

Omslagsbild: Frihult, Skåne. Foto: David Jönsson

Ansvarsfriskrivning: Denna rapport speglar författarens syn och institutionen ansvarar nödvändigtvis inte för synpunkter och åsikter som uttrycks i rapporten.

Tillkännagivande

Tack till mina fantastiska externa handledare Per Nyström och Marika Stenberg på Ekoll AB för all den kontinuerliga hjälp och support jag fått genom projektets gång. Tack till min interna handledare Per Carlsson och studievägleddare Lotta Persmark vid Lunds universitet som samordnat arbetet trots alla förändringar som uppstod på vägen. Tack till min pappa Thomas Jönsson och min vän Cornelia Jensen Sten för hjälpen med fältarbetet. Tack till min mamma Katalin Jönsson och min stödmentor Johanna Sjöstedt för korrekturläsning.

Utan er hade detta aldrig hänt.

Abstract

Amphibians are globally among the most endangered taxonomic groups of vertebrates. This is partly due to the chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*), which causes the disease chytridiomycosis, that have led to eradication of more than 90 species of amphibians worldwide. The spadefoot toad (*Pelobates fuscus*) is one of the Swedish red listed species (VU) that are at risk of being affected by *Bd*. The species is currently in the National Action Program for Endangered Species which is a step along the way to achieving the Environmental Quality Objectives. However, even though a lot of effort has been put into improving the circumstances for the spadefoot toad by the Swedish County Administrative Boards, the population has undergone a downward trend. Therefore, the purpose of this field study was to investigate possible reasons which was accomplished by performing an inventory of spadefoot toads as well as examining environmental factors in terms of pH and conductivity in Frihult, Scania County. It turned out to be a significant decline of spadefoot toad from 2010 to 2020 while other anurans in the area have been increasing. Meanwhile, there was no change in either pH or conductivity. After taking multiple aspects into consideration, including previously performed eDNA analyses, is it consequently reasonable to assume that chytridiomycosis has had an impact regarding the decline.

Keywords: *Batrachochytrium dendrobatidis*, chytridiomycosis, *Pelobates fuscus*, Frihult, action program

Innehållsförteckning

Introduktion	5
Chytridiomykos	5
Sveriges groddjur	6
Art- och statusbeskrivningar	7
Lökgroda	7
Klockgroda	8
Lövgroda	9
Ätlig groda	9
Miljöfaktorer	11
Syfte och frågeställningar	12
Material och metod	12
Områdesbeskrivning	10
Inventering av lökgroda	12
Inventering av klockgroda	13
Inventering av lövgroda	13
Inventering av ätlig groda	13
Miljöfaktorer	14
Statistik	14
Resultat	14
Diskussion	18
Referenser	21
Appendix	26

Introduktion

Chytridiomykos

Amfibier är globalt sett bland de mest hotade taxonomiska grupperna av ryggradsdjur. Detta beror delvis på ett flertal patogener som drabbar amfibier och det argumenteras för att svampen *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*), som ger upphov till sjukdomen chytridiomykos, är en av de allvarligaste (Stuart m. fl., 2004; Wake & Vredenburg, 2008). Church m.fl. (2007) beskrev situationen på följande vis; “Faktum är att det är en ökande enighet bland forskare att spridningen av chytridiomykos har drivit och kommer att fortsätta att driva amfibier till utrotning i en takt som aldrig tidigare skådats i någon taxonomisk grupp i mänsklighetens historia.” (s. 4, översatt). Sjukdomen har idag påträffats hos cirka 700 arter av amfibier och har orsakat massdöd och populationsminskningar världen över (Kilpatrick m. fl., 2010; Lips, 2016; Skerratt m. fl., 2007).

Tecken på en chytridininfektion varierar mellan bland annat livshistoriska stadier och miljöförhållanden, men inkluderar hos vuxna individer främst rodnad i huden, bortfall av hud, kramper, aptitlöshet, slöhet, och oförmåga att behålla kroppen i rätt position. I yngelstadiet är tecken på chytridiomykos framför allt depigmentering runt munnen, slöhet, och svårigheter att simma. Molekylärt påverkar *Bd* vävnader av keratin hos djuret vilket är orsaken till att framför allt huden hos vuxna individer och delarna runt munnen hos yngel påverkas (Nichols m. fl., 2001; van Rooij m.fl., 2015).

Den senaste forskningen tyder på att *Bd* härstammar från östra Asien och har sedan dess spridit sig över nästan hela världen och orsakat utrotning av minst 90 arter (O’Hanlon m. fl., 2018; Scheele m.fl., 2019; Wake & Vredenburg, 2008). Det har dock tidigare uppmärksammats att *Bd*-infektioner inte nödvändigtvis leder till sjukdomsutbrott i vissa områden i Europa. Även experimentella undersökningar har påvisat att några arter av stjärtlösa groddjur (*Anura*) har en tolerans mot chytridiomykos, medan andra arter är nästintill helt immuna (Berger m.fl., 1998).

I Sverige upptäcktes närvaron av *Bd* först 2010 vilket följdes av flera upptäckter i Stockholms- och Skåne län (Meurling, 2019). Efter detta gjordes undersökningar av museiexemplar från 1997 till 2004 i vilka *Bd* inte påträffades vilket troligtvis innebär att sjukdomen kommit till Sverige efter dess (Garner m. fl., 2005). *Bd* har även påträffats i Frihult. Prover som Ekdahl (2019) använt för att utvärdera eDNA som metod för biogeografisk uppföljning har i senare skede visat testa positivt för *Bd* i området efter analys hos Naturhistoriska riksmuseet (P. Nyström, personlig kommunikation, Mars 12, 2021; Rosquist, 2020). För övrigt är kunskapsläget om *Bd* i Sverige begränsat, men det finns ett visst underlag som tyder på att inrikes klockgroda och ätlig groda är bättre vektorer för chytridiomykos än lökgroda. Klockgroda och ätlig groda ökar även i utbredningen medan lökgrodan verkar minska, fastän alla dessa arters utbredning i dag överlappar i flera områden. (Kärvemo m. fl., 2018; Meurling, 2019).

Sveriges groddjur

Sverige har 13 arter av groddjur. Av dessa är 2 salamandrar, 3 paddor, och resterande 8 är grodor. Alla är fridlysta. I Skåne finns alla utom gölgroda (*Pelophylax lessonae*) naturligt förekommande (Nyström m. fl., 2013). Lökgroda (*Pelobates fuscus*), klockgroda (*Bombina bombina*), lövgroda (*Hyla arborea*), och ätlig groda (*Pelophylax esculentus*) finns dessutom i Sverige bara naturligt i Skåne i egenskap av att vara värmeadapterade arter. Illegala inplanteringar av dessa arter i andra län i södra Sverige har visat sig att de kan etablera sig och föröka sig, och dessutom vara bärare av *Bd* (Rosquist, 2020). Kunskapsläget om arternas förekomst i Skåne är relativt god, delvis på grund av forskning kring bland annat ekologi men också till följd av riktade inventeringar och frivilliga insatser samt dokumentation om de olika arternas förekomst. Detta har lett till möjligheten att identifiera de olika aktuella hoten och även etablera åtgärdsprogram för att förbättra omständigheterna (Nyström m.fl., 2013). Ett av dessa åtgärdsprogram är det nationella åtgärdsprogrammet för hotade arter (ÅGP) som är en plan på hur en hotad art och dess miljö ska bevaras i enlighet med avdelningsprotokoll N77/08, 1 §. Detta är ett av flera verktyg för att uppnå miljö kvalitetsmålet *Ett rikt växt- och djurliv* (prop. 2004/05:150) och även andra miljömål relaterade till arternas ekosystem (prop. 2000/01:130). ÅGP har fastställts av Naturvårdsverket och samordnats mellan flera olika statliga myndigheter, kommuner, experter och intresseorganisationer (Länsstyrelsen Skåne, 2018).

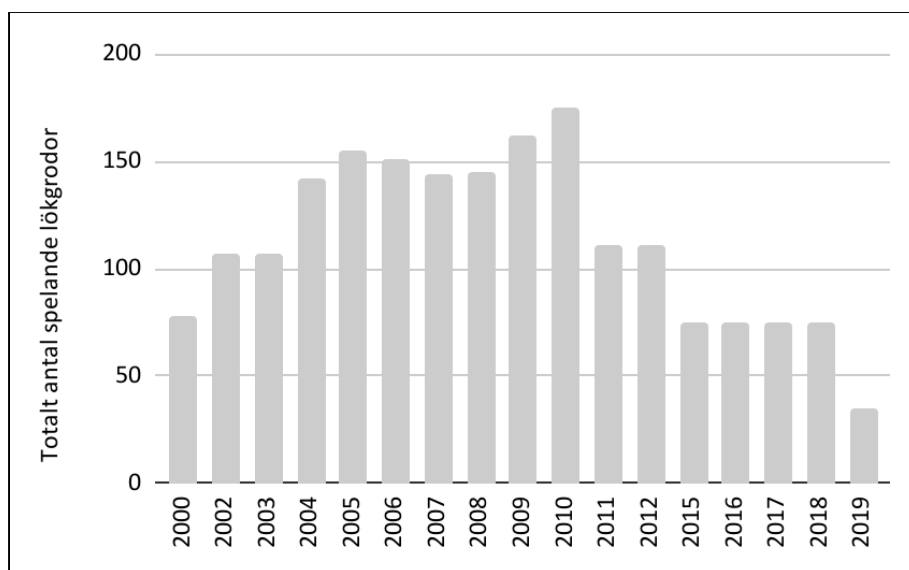
Art- och statusbeskrivningar

Lökgroda

Lökgrodan är främst prevalent inom skyddade områden i delar av södra Skåne och kallas för de öppna landskapens groda då dess föredragna miljö är just öppna områden med sandig mark. Lekperioden är förhållandevis kort och kulminerar vanligtvis i månadsskiftet april/maj.

Kroppen blir vanligtvis upp till 7 centimeter, och morfologiskt ser den ut som en blandning mellan groda och padda. Den har en framträdande grävknöl på bakfoten som används för att gräva ner sig under dagen och för att övervintra i marken. Färgen kan beskrivas som marmorerad och varierar mellan brunt, grått, och gult. Två utmärkande egenskaper för lökgrodan är att hanarna spelar under vattenytan, och att dess yngel blir stora jämfört med andra svenska arter (Nyström m.fl., 2013).

1996 blev arten klassad som akut hotad (CR). Naturvårdsverket fastställde då den första versionen av ÅGP som genomfördes 2001-2004, och efter flera insatser med gott resultat omklassificerades lökgrodan till missgynnad (NT). Grodan fanns då i 90 lokaler i Skåne med ungefär 2 400 spelande hanar. Den andra revisionen av ÅGP för lökgroda etablerades för 2008-2011 med målet att det skulle finnas minst 115 lokaler med minst 2 500 spelande lökgrodor. 2010 gjordes en total inventering och då hittades enbart cirka 85 lokaler med 1 500 spelande hanar. ÅGP blev därmed förlängt till 2016 och därefter ytterligare till 2021. Arten är idag klassad som sårbar (VU) då den fortfarande är i behov av fler åtgärder för att inte vara rödlistad i Sverige. Frihult är ett av områdena som innehar en av de få inhemska populationerna som fortfarande anses livskraftig men även här har antalet spelande lökgrodor minskat sedan 2010 (Fig. 1) (Länsstyrelsen Skåne, 2018).



Figur 1. Totalt antal spelande lökgrödor i alla vattenområden i Frihult 2000-2019 (P. Nyström, opubl. data).

Klockgroda

Klockgrodan trivs bäst i grunda kärr på betesmarker, strandängar men även i dammar i jordbrukslandskap och gamla stenbrott så länge vattnet är solbelyst och fiskfritt. Leken sker både dag- och kvällstid och kulminerar i regel i mitten av juni, men under varma år kan den höras mellan april och september.

Kroppen blir oftast inte längre än 5 centimeter och påminner i utseendet om en padda då den är relativt platt med vårtig hud och trubbig nos. Ovansidan varierar i färg från brunt till grönt. Dess främsta kännetecken som tydligt skiljer den från Skånes andra exklusiva arter av stjärtlösa groddjur är den klart orange och/eller guldfärgade undersidan som är en varningssignal om dess giftighet (Nyström m.fl., 2013).

Klockgrodan blev utrotad i Sverige på 1960-talet men återintroducerades 1982 av Naturvårdsverket med ekonomiskt stöd av Världsnaturfonden. När det första åtgärdsprogrammet upprättades för 2000-2002 var arten starkt hotad (EN) med en population på ca 200 individer fördelat på 4 lokaler. Ett gediget arbete gav mycket positivt resultat och 2010 blev klockgrodan klassificerad som livskraftig (LC). Idag finns flertalet livskraftiga populationer i nordvästra och sydöstra Skåne med cirka 7 500 spelande hanar i över 300 lekvatten (Stenberg & Nyström, 2010).

Lövgroda

Lövgrodan föredrar lövskogsområden och naturbetesmarker med träd och buskar som har blad från marken upp till trädkronorna och återfinns framför allt i de sydöstra delarna av Skåne. Leken kulminerar oftast i månadsskiftet mellan maj och juni.

Arten är Sveriges minsta groddjur och kan endast bli lite över 5 centimeter i längd. Dess mest framstående drag är en klargrön färg, extraordinär klätterförmåga på grund av speciella häftskivor på tå- och fingerspetsarna, och det högsta spelandet bland svenska grodor som under rätt omständigheter hörs på flera kilometers avstånd (Nyström m.fl., 2013).

Lövgrodans åtgärdsprogram gällde mellan 2001 och 2004. Arten var då klassificerad som missgynnad (NT) med en population på ca 14 000 spelande hanar i 410 lekvatten. 2005 blev grodan klassad som livskraftig (LC), då åtgärderna lett till att populationen ökat till intervallet 15 000-31 000 spelande individer i ca 800 lekvatten och därmed uppfyllde målsättningen i åtgärdsprogrammet (Nyström & Stenberg, 2006).

Ätlig groda

Av de exklusivt skånska stjärtlösa groddjuren är ätlig groda den enda arten som inte haft ett åtgärdsprogram. Den är klassad som livskraftig även om dess naturliga utbredning enbart är i sydvästra Skåne. Det har dock förekommit flertalet illegala utsättningar i andra delar av landet. Arten anses vara mycket anpassningsbar till omkringliggande miljö, och kan till skillnad från de andra groddjuren i denna rapport samexistera i vatten med fisk och även predera på andra grodor. Ätlig groda befinner sig också i och intill lekvatten under en relativt lång period, vilket kan ha betydelse för predationsrisken. Leken sker vanligen mellan maj och juli.

Storleksmässigt kan den bli upp till 12 centimeter och är därmed en relativt kraftig groda. Färgen är vanligen en nyans av grön med svarta fläckar och den har ofta ett ljusare streck längs ryggraden. Arten är också tydligt igenkänningsbar i samband med leken då hanen blåser upp två vitaktiga strupsäckar i mungiporna (Nyström m.fl., 2013).

Miljöfaktorer

Det är välkänt att miljöfaktorer påverkar spridningsdynamiken av olika patogener (Crowl m.fl., 2008; Tompkins m.fl., 2011). På en mindre skala kan infektionsrisk influeras av kvalitet på habitatet och interaktioner mellan de olika värdarterna. På en större skala kan infektionsrisken även associeras med landskapets karaktär och klimatförhållanden (Arneberg m.fl., 1998; Daszak m. fl., 2000; Horwitz & Wilcox, 2005; Wilcox & Colwell, 2005). Därmed är det av vikt att inkludera omgärdande aspekter som innefattar vattenkemi för att på så sätt erhålla en så helhetlig bild av situationen som möjligt för att kunna etablera effektiva bevarandeprogram.

pH har stor inverkan på groddjurs livsmiljö då de flesta arter har svårt att klara av surt vatten. Den nedre gränsen för tolerans hos de undersökta arterna inom studien ligger runt pH 6 (Nyström m. fl., 2013). *Bd* är också begränsad av pH och tolererar 4-8 men föredrar 6-7 (Piotrowski m. fl., 2004)

Även konduktivitet, som indikator för närsalthalter, har i vissa mängder visat sig kunna ha detrimental effekter på groddjur i bland annat termer om försvårad osmoreglering, försvagat immunförsvar, och ökad känslighet för infektioner (Krynak m. fl., 2016). Toleransen för lökgradans reproduktion i Skåne har visat sig vara mellan 50 och 1470 $\mu\text{S}/\text{cm}$, med ett genomsnitt på 390 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Nyström m. fl. 2011).

Syfte och frågeställningar

Syftet med denna studie var att undersöka hur Frihults population av lökgrador stod sig 2020 i relation till 2010, och genom vattenanalyser och tidigare gjorda eDNA-analyser försöka dra en slutsats om miljöfaktorer eller chytridiomykos kan förklara utvecklingen och även om koloniseringen av klockgroda och ätlig groda i området skulle kunna vara en bidragande orsak. För att svara på detta behandlade projektet specifikt de följande tre frågorna:

1. Har antal vattenområden i Frihult med lökgroda minskat sedan klockgroda och ätlig groda tillkommit?

2. Har antalet spelande lökgrodor minskat i vattenområden i Frihult sedan klockgroda och ätlig groda tillkommit?
3. Har vattenområdenas kemi i form av pH och konduktivitet ändrats på ett sätt som kan förklara populationens nuvarande status?

Material och metod

Områdesbeskrivning

Studien genomfördes i Frihult, Sjöbo kommun, Skåne. I området finns totalt 51 mindre vattenområden över en yta på ca 250 hektar. 11 av dessa ligger i Frihults naturreservat, "Skånes eldorado för grodor", som förvaltas av Länsstyrelsen Skåne och omfattar ca 38 hektar. Syftet är att bevara ett öppet odlingslandskap med passande livsmiljöer för framför allt hotade groddjur. Lokalen anses vara ett viktigt kärnområde i Sverige, främst för den rödlistade lökgrodan på grund av dess solexponerade sandblottor (Granelli, 2014). Efter hand har dock även andra arter koloniserat området, så som den ätliga grodan 2011 och klockgrodan 2012 (P. Nyström, personlig kommunikation, Mars 12, 2021). I Frihult har flertalet vatten blivit anlagda eller restaurerade (Tabell 1, P. Nyström, opubl. data). Detta för att garantera fördelaktig geomorfologi och frånvaro av skuggande vegetation, fisk, och kräftor för att optimera förhållandena för bland annat hänsynskrävande groddjur (Granelli, 2014). Området har också väldigt lite trafik med mindre än 10 fordon per dygn (P. Nyström, personlig kommunikation, April 27, 2021). Trots dessa insatser har lökgrodan i området haft en nedåtgående utvecklingsriktning sedan 2010 (Fig. 1).

Tabell 1. Genomförda anläggningar och restaureringar av vattenområden i Frihult förvaltade av Länsstyrelsen Skåne (2000-2019).

Länsstyrelsen Skånes ID	Koordinater (RT90; X, Y)	Åtgärd(er)	År genomfört
65-025	1363408, 6161951	Rensad på vegetation	2001
65-230	1364015, 6161619	Rensad på vegetation	2001
65-287	1363548, 6161595	Anlagd	2001
65-067	1364396, 6161115	Fördjupad	2001
Inte tillgänglig	1363533, 6162255	Anlagd	2001

65-294	1363351, 6161762	Rensad på vegetation Förstorad och rensad	2001 2012
65-286	1363152, 6161330	Förstorad och rensad	2002
65-032	1363251, 6161335	Förstorad och rensad	2002
Inte tillgänglig	1363831, 6160872	Anlagd	2002
Inte tillgänglig	1363552, 6160714	Anlagd	2002
Inte tillgänglig	1364015, 6160762	Anlagd	2002
65-037	1363554, 6160974	Rensad på vegetation	2002, 2018
65-295	1363393, 6161731	Fördjupad	2012
Inte tillgänglig	1363512, 6162027	Fördjupad	2012
Inte tillgänglig	1363576, 6162056	Fördjupad	2012
Inte tillgänglig	1363327, 6160960	Anlagd	2012
Inte tillgänglig	1364177, 6161942	Anlagd	2012
Inte tillgänglig	1363328, 6161942	Anlagd	2012
Inte tillgänglig	1363148, 6161080	Anlagd	2012

Metoden beskriven nedan är baserad på rekommendationerna från *Manual för uppföljning i skyddade områden – Skyddsvärda däggdjur, samt grod- och kräldjur* (Naturvårdsverket, 2010), vilket i sin tur har sammanställts från framför allt ArtDatabankens artfaktablad och åtgärdsprogram, Cedhagen och Nilson (1991), Ahlén m.fl. (1995), Fog m.fl. (1997) och Nyström & Stenberg (2008). Av alla vattenområden i hela Frihult undersöktes de som fanns tillgängliga både 2010 och 2020, i och utanför naturreservatet.

Inventering av lökgroda

För lökgroda gjordes en audiell inventering i vattenområdena. Eftersom lökgrodan spelar under vattnet störs den inte av rörelse bredvid vattnet. För att få en uppfattning om antalet spelande hanar avlyssnades vattenområdet under 1 minut varje 20 meter. Hydrofon (stereo, 250-1000 Hz, 20 m räckvidd) användes vid inventeringen eftersom lökgrodans läte kan vara svårt att urskilja i djupa och/eller stora dammar, alternativt i vatten där även lövgroda spelar. Inventeringen påbörjades strax efter skymning runt 22.00 och höll på till sent inpå natten. Uppföljningen av lökgroda i området gjordes med tre besök för att hitta kulmen av leken den

29/4, 7/5 och 12/5 (2020). Det största antalet registrerade spelande individer per vattenområde och inventeringstillfälle kom att utgöra resultatet för året. Om inga lökgrödor registrerades under dessa tillfällen antecknades resultatet som noll.

Inventering av klockgroda

En audiell inventering kom att genomföras för klockgroda genom att avlyssna 1 minut varje 20 meter. Då denna art är relativt lättskrämmd och kan sluta spela vid närmande innebar det att pauser gjordes på flertalet platser runt vattnet i väntan på att spelandet återupptod.

Inventeringen gjordes mellan 15.00 och 19.00 på eftermiddagen den 10/6, 16/6 och 25/6 (2020). Det största antalet registrerade spelande individer per vattenområde och dag kom därefter att utgöra resultatet för året. Om inga klockgrödor registrerades under dessa tillfällen antecknades resultatet som noll.

Inventering av lövgroda

Lövgrodan inventerades audiellt genom att uppskatta antalet spelande hanar från ca 20 meters avstånd till vattenområdet. Om inget spel pågick vid närmande togs en paus på minst 20 meters avstånd från vattnet för att vänta på att spelet skulle komma i gång. Om inget spel hördes under 10 minuter, inklusive den tid man inom hörhåll gått till dammen, antecknades resultatet som noll. Inventeringen startade efter skymning den 21/5, 10/6 och 16/6 (2020), dagar med en lufttemperatur på minst 8°C och utan stark vind eller störande ljud. Det högsta antalet registrerade hanar per vattenområde och dag utgjorde resultatet för året. Om inga lövgrodor registrerades under dessa tillfällen antecknades resultatet som noll.

Inventering av ätlig groda

Till skillnad från de andra arterna var tillvägagångssättet att inventera ätlig groda inte beskriven i journalen med anledning av dess klassificering som livskraftig (LC). Arten inventerades dock samtidigt som klockgrodan, med tillägget att en promenad gjordes runt vattenområdet i största möjliga mån för att visuellt identifiera och räkna antal individer. Det högsta antalet registrerade individer per vattenområde och dag utgjorde resultatet för året. Om inga ätliga grodor registrerades under dessa tillfällen antecknades resultatet som noll.

Miljöfaktorer

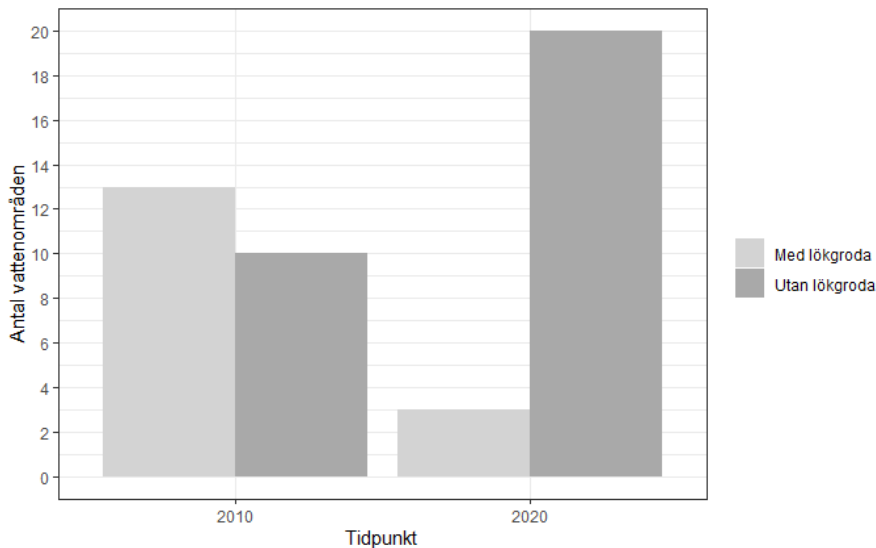
I alla vattenområden som inventerades mättes också pH och konduktivitet en gång (8/8 och 9/8, 2020). pH mättes med HI-8424 (HANNA instruments) och konduktivitet med HI-8633 (HANNA instruments). Metodiken skedde i enlighet med standardrekommendationerna från instruktionsmanualen till vardera instrument.

Statistik

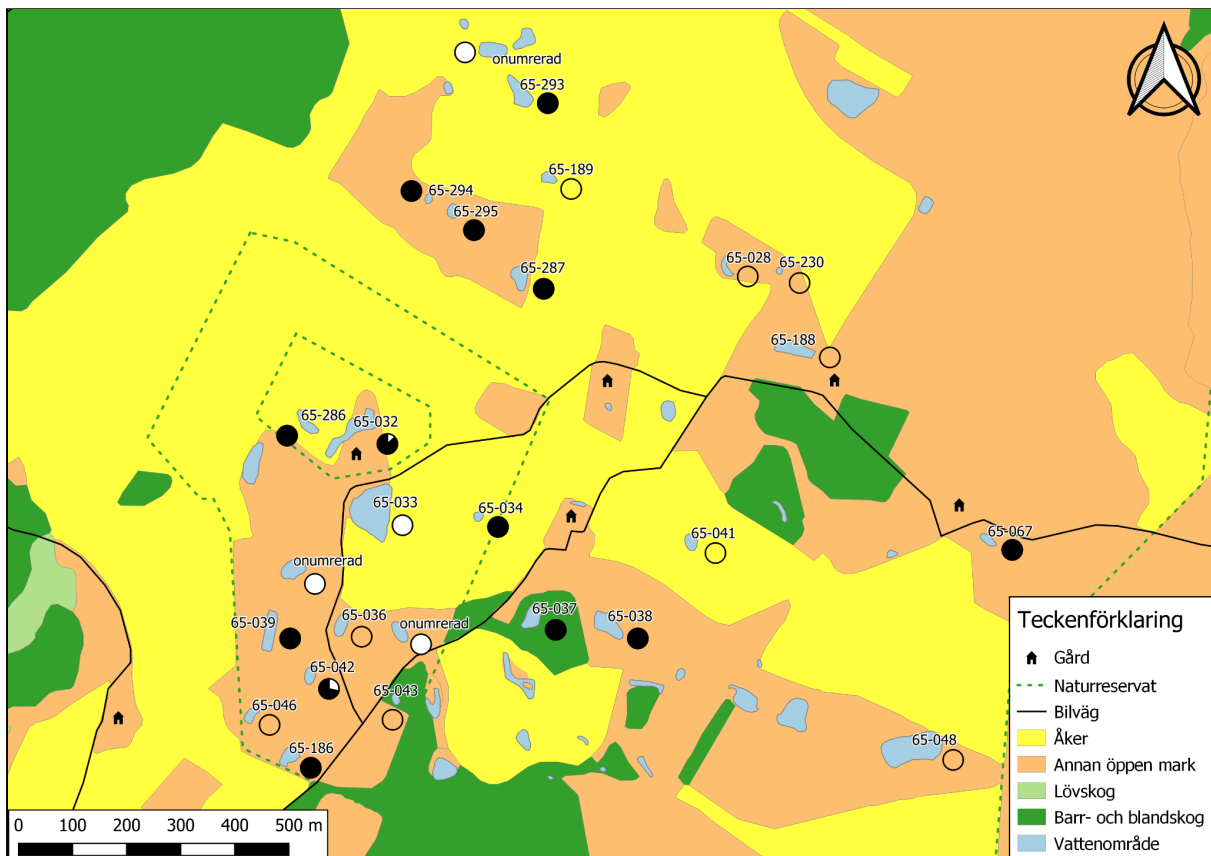
Statistiken till studien genomfördes i RStudio, version 3.6.1. För antal vattenområden med lökgröda genomfördes ett Pearsons χ^2 -test med Yates kontinuitetskorrigering med uppfyllt kriterium av förväntat antal per kategori > 5 . Till antal spelande lökgrödor gjordes ett konfidensintervall (95 %). På vattenområdenas kemi utfördes en MANOVA på pH respektive konduktivitet, där båda faktorerna hade uppfyllda kriterier i form av multivariat normalitet (Mardia's skewness and kurtosis test) och homogenitet av varianser (Levene's test).

Resultat

Resultatet från inventeringen av lökgröda i Frihults undersökta vattenområden visade en signifikant skillnad mellan det totala antalet dammar med lökgrödor 2010 jämfört med 2020 ($p = 0.005$, $\chi^2 = 7.8$, $N = 23$). Från att det 2010 fanns 13 vattenområden med lökgröda och 10 utan, fanns det 2020 enbart 3 vattenområden med lökgröda och därtill 20 utan (Fig. 2, Fig 3). Observera att det utöver detta fanns ytterligare 3 vattenområden med lökgröda som inte inkluderades i studien (Fig. 3, markerade med "onummerad"; Tabell 2a, Appendix) då dessa anlades 2012 och därmed inte kunde ingå i dataunderlaget till 2010-kategorin.

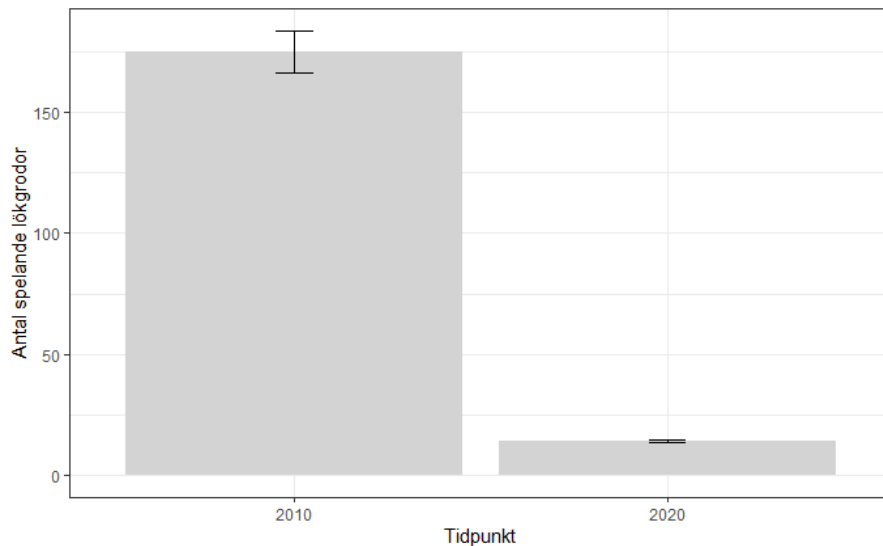


Figur 2. Antal vattenområden med och utan lökgröda 2010 respektive 2020.

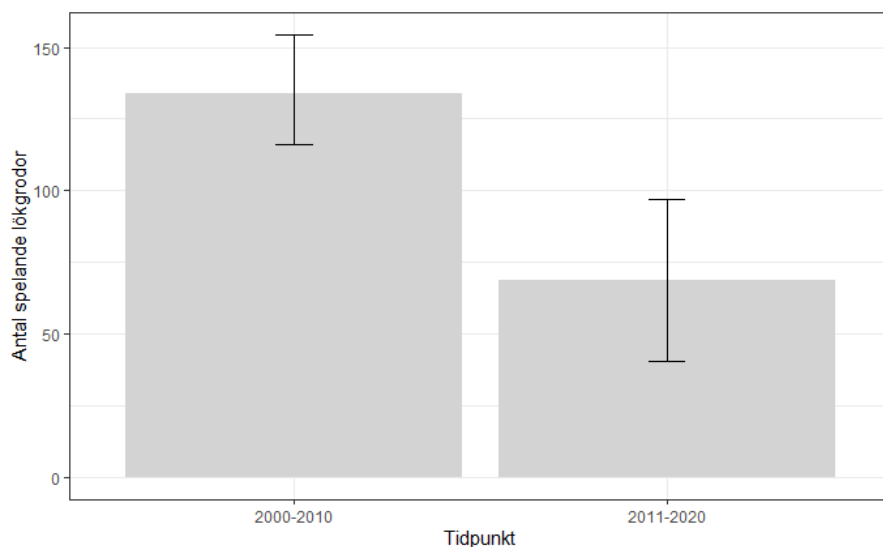


Figur 3. Resultatet av inventeringen i de 23 undersökta vattenområdena i Frihult 2020 jämfört med 2010. Tomma cirklar är vattenområden utan lökgröda 2010 och 2020. Svarta cirklar är vattenområden med lökgröda 2010 och utan lökgröda 2020. Vita cirklar är vattenområden utan lökgröda 2010 och med lökgröda 2020. Svartvita cirklar är vattenområden med lökgröda 2010 och 2020, där andelen lökgrödor 2010 är svart i relation till 2020 som är vitt. Notera att vattenområdena markerade med "onummerad" exkluderades från studien (QGIS 3.4, Madeira; Open Source Geospatial Foundation 2020).

I linje med med antal vattenområden med lökroda skiljde sig även antalet spelande lökrodor i de undersökta vattenområdena mellan 2010 (N = 175) och 2020 (N = 14) signifikant (Fig. 4). Likaså var skillnaden i medelvärde signifikant över ett längre tidsspann, mellan 2000-2010 (N = 134) och 2011-2020 (N = 76) (Fig. 5).

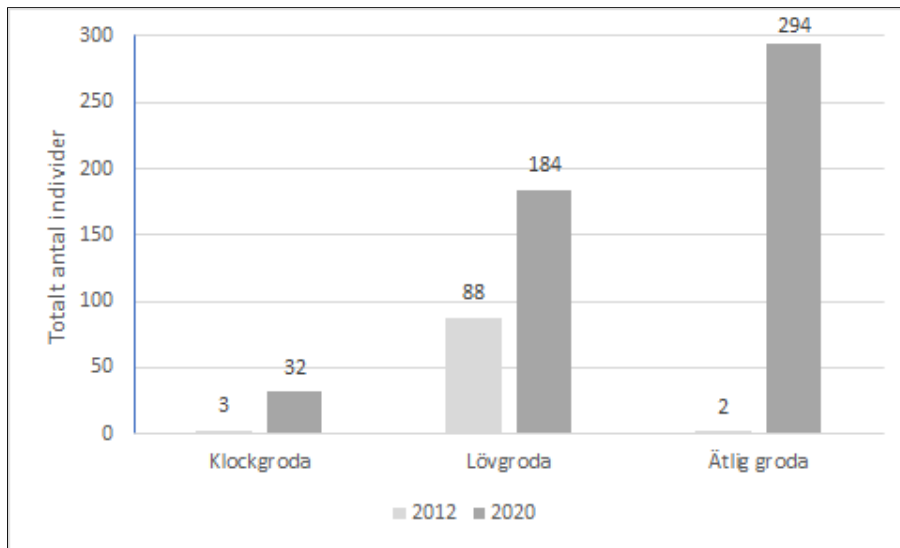


Figur 4. Antal spelande lökrodor i de undersökta vattenområdena 2010 respektive 2020. Felstaplarna är 95 % konfidensintervall.



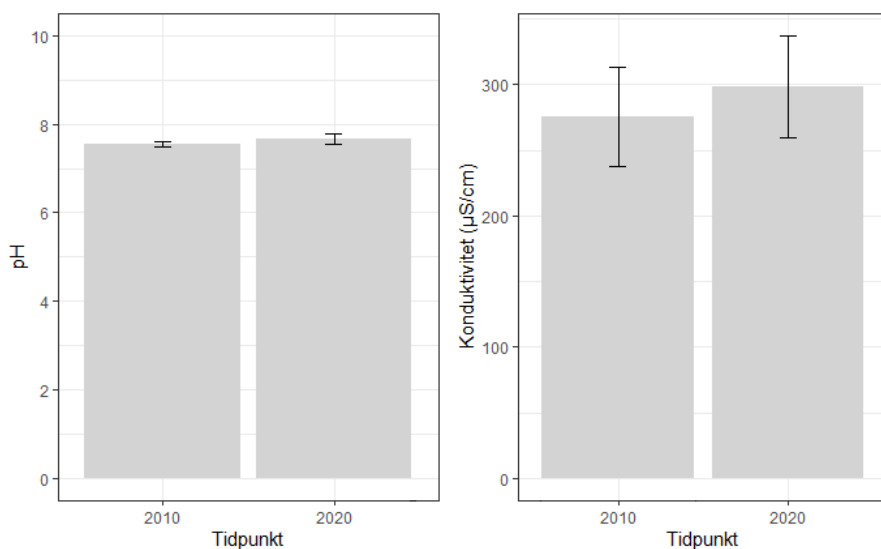
Figur 5. Medelvärde av antal spelande lökrodor i de undersökta vattenområdena 2000-2010 respektive 2011-2020. Felstaplarna är 95 % konfidensintervall.

De resterande arterna utöver lökgrodan har till synes ökat markant sedan 2012 i alla Frihults vattenområden (Tabell 2a, Appendix). Från att klockgrodan koloniserade området 2012 med 3 spelande hanar (Artportalen) fanns det 32 spelande hanar 2020. Lövgrodan, som befunnit sig i området sedan längre tillbaka i tiden, har ökat från 88 spelande hanar 2012 (studentinventeringar) till 184 spelande hanar 2020. Den ätliga grodan koloniserade Frihult 2011 med 2 individer (Artportalen) och har ökat till 294 individer 2020 (Fig. 6).



Figur 6. Utvecklingen av antal spelande hanar av klockgroda och lövgroda, och totalt antal ätliga grodor i alla vattenområden i Frihult från 2012 till 2020.

Varken pH eller konduktivitet har förändrats signifikant i de undersökta vattenområdena i Frihult (N = 23) från 2010 till 2020 (MANOVA: $p_{\text{pH}} > 0.41$, $p_{\text{kond.}} > 0.51$) (Fig. 7).



Figur 7. Miljöfaktorerna pH och konduktivitet i de undersökta vattenområdena (N = 23) 2010 respektive 2020. Felstaplarna är standardfel.

Diskussion

Det har skett en tydlig ökning av lökgroda i Frihult mellan 2000 och 2010 (Fig. 1) som kan tillgodoses av de flertalet åtgärder som gjordes för att underlätta lökgrodans etablering (Tabell 1) (Nyström m. fl., 2011). Trots dessa åtgärder som genomförts i området har lökgrodan minskat signifikant sedan 2010 jämfört med 2020 i både antal individer och i antal vatten (Fig. 2, Fig. 4, Fig. 5) och detta har skett utan en förändring i vattenområdenas pH eller konduktivitet (Fig. 7). Det finns heller ingen uppenbar förändring i markanvändning mellan dessa perioder. Eftersom båda dessa miljöfaktorer ligger, och har legat, på en nivå som är acceptabel för lökgrodans krav på livsmiljö går det därmed att utesluta att minskningen av lökgroda i Frihult beror direkt på dessa faktorer. Detta har också skett trots att de tre andra arterna i området tycks ha ökat (Fig. 6). Det här tydliggör att det enbart är specifikt lökgrodans utveckling som är problematisk, och att de övriga arterna antingen inte är lika påverkade av orsaken till nedgången alternativt är orsaken till nedgången.

Ett utdrag av den övergripande situationen är vattenområde 65-032 och 65-042 (Fig. 3), de undersökta vattenområdena med lökgroda 2020. Här återspeglas mönstret som iakttagits i det mer helhetliga perspektivet (Fig. 6). I 65-032 spelade 13 lökgrodor och inga andra arter 2010, och 2 lökgrodor tillsammans med 27 individer av de övriga arterna 2020. Detta skedde utan en påtaglig skillnad i vare sig konduktivitet (260 µS/cm 2010, 248 µS/cm 2020) eller pH (7.4

år 2010, 7.75 år 2020) (Tabell 2b, Appendix). Även i 65-042 minskade antalet spelande lökgrödor från 10 år 2010 till 4 år 2020, samtidigt som de övriga arterna (klockgroda lövgroda och ätlig groda) under samma period ökade från 0 till 46 individer. Konduktiviteten förändrades inte märkbart, från 80 till 86 $\mu\text{S}/\text{cm}$, emellertid sjönk pH från 7.4 till 5.86 mellan 2010 och 2020 (Tabell 2b, Appendix). 65-042 är därtill det enda vattenområdet som undersökts i denna studien som testat positivt för *Bd* (P. Nyström, personlig kommunikation, Mars 12, 2021). Att konduktiviteten i detta vattenområde är betydligt lägre än genomsnittet på 390 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Nyström m. fl., 2011), samtidigt som det är etablerat att olika konduktivetsvärden sammanfaller med olika immunresponser för chytridiomykos (Krynak m. fl., 2016), kan vara en indikator på att lägre nivåer av konduktivitet skulle kunna vara fördelaktigt för lökrodans överlevnad i detta fallet eftersom den återfunnits i vattenområdet sedan 2010. Samtidigt tycks det minskade pH-värdet inte ha spelat så stor roll för lökrodans närvaro trots att det ligger vid den nedre gränsen för tolerans (Nyström m. fl., 2013). Detta värde går även väl ihop med att det dessutom är strax intill optimalt för tillväxten av *Bd* (Piotrowski m. fl., 2004). Dessa två vattenområden är för övrigt ännu ett exempel på att det är specifikt lökrodans utveckling som är problematisk, och att de övriga arterna antingen inte är lika påverkade av orsaken till nedgången alternativt är orsaken till nedgången.

För att kunna säkra populationen av lökgrödor i Frihult blir det nödvändigt att hitta anledningen till dess signifikanta minskning. En orsak som skulle kunna ha bidragit till detta är koloniseringen av ätlig groda 2011 och klockgroda 2012 (P. Nyström, personlig kommunikation, Mars 12, 2021), det vill säga precis när lökgrodepopulationen började minska (Fig. 1). Det som är känt sedan tidigare är att båda dessa arter är i relativa termer mycket effektiva vektorer för chytridiomykos, samtidigt som de inte tycks ha lika hög dödlighet av sjukdomen jämfört med lökgroda (Kärvemo m. fl., 2018; Meurling, 2019). Det blir därför inte orimligt att anta att dessa arter har spridit sig från bland annat Baldringeområdet, som har en sedan tidigare känt hög andel smittade individer, till Frihult och därmed fört med sig sjukdomen dit (Meurling, 2019; Nyström m. fl., 2013).

Ytterligare underlag för detta är att sjukdomen förmodligen har kommit till Sverige efter 2004 (Garner m. fl., 2005), och 2019 bekräftades den finnas i Frihult (Rosquist, 2020). Detta tidsperspektiv ger stöd för att chytridiomykos skulle kunna vara en del av orsaken till

lökrodans nedgång, även om det för närvarande på grund av bristande underlag inte går att säga i vilken utsträckning.

För framtida studier bör fler miljöfaktorer inkluderas för att över tid kunna avgöra om några av dessa har förändrats på ett sätt som antingen skulle visa sig vara direkt detrimental för groddjuret, alternativt skulle kunna underlätta spridningen eller infektionsprevalensen av *Bd*, som eventuellt förklarar nedgången. Omfattande provtagningar på individer i området som testas för infektion är imperativt att genomföra för att få en faktisk överblick om hur omfattande prevalensen är. Kopplat till detta hade det även varit givande att ha bättre förståelse om den regionala lökrodans sensitivitet av infektion av chytridiomykos vilket saknas helt varför kontrollerade experimentella studier är nödvändiga. Slutligen bör även påverkan av ätlig grodas predation undersökas närmare då det i nuläget inte går att fastställa att minskningen av lökroda i Frihult skett på grund av att den ätliga grodan agerat som vektor för *Bd* eller har prederat på lökrodan.

Att genomföra dessa åtgärder hade varit ett steg i processen att uppfylla målen i åtgärdsprogrammet för lökroda för att i förlängningen också komma närmare miljö kvalitetsmålen. Samtidigt hade det förhindrat chytridiomykos från att minska den svenska lökrodepopulationen och från att bli ytterligare en av de redan 90 arterna som globalt blivit utrotade av sjukdomen.

Referenser

Ahlén, I., Andrén, C., & Nilsson, G. (1995). *Sveriges grodor, ödlor och ormar* (2 rev.). Naturskyddsföreningen och Artdatabanken.

Allain, S. J. R., & Duffus, A. L. J. (2019). Emerging infectious disease threats to European herpetofauna. *Herpetological Journal*, 29(4), 189-206. <https://doi.org/10.33256/hj29.4.189206>

Arneberg, P., Skorping, A., Grenfell, B., & Read, A. F. (1998). Host densities as determinants of abundance in parasite communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 265(1403), 1283-1289. <https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0431>

Berger, L., Speare, R., Daszak, P., Green, D. E., Cunningham, A. A., Goggin, C. L., Slocombe, R., Ragan, M. A., Hyatt, A. D., McDonald, K. R., Hines, H. B., Lips, K. R., Marantelli, G., & Parkes, H. (1998). Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(15), 9031-9036. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.15.9031>

Cedhagen, T., & Nilson, G. (1991). *Grod- och kräldjur i Norden: en fälthandbok om vattensalamandrar, grodor, paddor, sköldpaddor, ödlor och ormar* (4 uppl.). Fältbiologerna.

Church, D. R., Collins, J. P., Gascon, C., McKay, J. E., Mendelson, J. R. III, Moore, R. D. (2007). Amphibian Conservation Action Plan. Gascon, C., Collins, J. P., Moore, R. D., Church, D. R., McKay, J. E., & Mendelson, J. R. III (Red.). Amphibian Conservation Summit, Washington, D. C., 17-19 September 2005. (s. 4) IUCN/SSC Amphibian Specialist Group. <https://portals.iucn.org/library/node/9071>

Crowl, T. A., Crist, T. O., Parmenter, R. R., Belovsky, G. & Lugo, A. E. (2008). The spread of invasive species and infectious disease as drivers of ecosystem change. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(5), 238-246. <https://doi.org/10.1890/070151>

Daszak, P., Cunningham, A. A., & Hyatt, A. D. (2000). Emerging infectious diseases of wildlife-threats to biodiversity and human health. *Science*, 287(5452), 443-449. <https://doi.org/10.1126/science.287.5452.443>

Ekdahl, B. (2019). Analyser av eDNA i småvatten inom biogeografisk uppföljning – detekterbarhet och tidpunkt för provtagning. [Masterexamensarbete, Lunds Universitet]. LUP Student Papers. <https://lup.lub.lu.se/student-papers/search/publication/8972472>

Fog, K., Schmedes, A., & Rosenørn de Lasson, D. (1997). *Nordens padder og krybdyr*. E.C. Gads Forlag.

Garner, T. W. J., Walker, S., Bosch, J., Hyatt, A. D., Cunningham, A. A., & Fisher, M. C. (2005). Chytrid fungus in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, *11*(10), 1639-1641.
<https://doi.org/10.3201/eid1110.050109>

Gervasi, S. S., Stephens, P. R., Hua, J., Searle, C. L., Xie, G. Y., Urbina, J., Olson, D. H., Bancroft, B. A., Weis, V., Hammond, J. I., Relyea, R. A., & Blaustein, A. R. (2017). Linking Ecology and Epidemiology to Understand Predictors of Multi-Host Responses to an Emerging Pathogen, the Amphibian Chytrid Fungus. *PLoS ONE*, *12*(1), Artikel e0167882.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167882>

Graneli, B. (2014). Välkommen till Frihults naturreservat – ett eldorado för grodor. Länsstyrelsen Skåne.
<https://www.lansstyrelsen.se/download/18.2e0f9f621636c84402728940/1581508724875/Frihult-web.pdf>

Holgerrson, L. (2011) Anlagda våtmarkers betydelse för klockgrodan – analys av landmiljön med hjälp av GIS. [Masterexamensarbete, Lunds Universitet]. LUP Student Papers.
<https://lup.lub.lu.se/student-papers/search/publication/2366302>

Horwitz, P., & Wilcox, B. A. (2005). Parasites, ecosystems and sustainability: an ecological and complex systems perspective. *International Journal for Parasitology*, *35*(7), 725-732.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.03.002>

Kilpatrick, A. M., Briggs, C. J., & Daszak, P. (2010). The ecology and impact of chytridiomycosis: an emerging disease of amphibians. *Trends in Ecology and Evolution*, *25*(2), 109-118.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.07.011>

Krynak, K., Burke, D. J., & Benard, M. F. (2016). Landscape and water characteristics correlate with immune defense traits across Blanchard's cricket frog (*Acris blanchardi*) populations. *Biological Conservation* *193*, 153-167. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.11.019>

Kärvemo, S., Meurling, S., Berger, D., Höglund, J., & Laurila, A. (2018). Effects of host species and environmental factors on the prevalence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in northern Europe. *PLoS ONE*, *13*(10), Artikel e0199852. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199852>

- Lips, K. R. (2016). Overview of chytrid emergence and impacts on amphibians. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 371(1709), 20150465. <http://doi.org/10.1098/rstb.2015.0465>
- Länsstyrelsen Skåne (2018). Uppdaterad åtgärdstabell för lökgröda, 2017 – 2021. Naturvårdsverket. <https://www.naturvardsverket.se/Documents/publ-kompl/Uppdaterad-atgardstabell-lokgroda-5826-2018dec.pdf>
- Nichols, D. K., Lamirande, E. W., Pessier, A. P., & Longcore, J. E. (2001). Experimental transmission of cutaneous chytridiomycosis in dendrobatid frogs. *Journal of Wildlife Diseases*, 37(1), 1–11. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-37.1.1>
- Nyström, P., & Stenberg, M. (2006). Utvärdering av åtgärdsprogram för bevarande av lövgröda (*Hyla arborea*). Länsstyrelsen Skåne. <http://www.rana.se/Rapporter/er012.pdf>
- Nyström, P., & Stenberg, M. (2008). Forskningsresultat och slutsatser för bevarandearbetet med hotade amfibier – En litteraturgenomgång. Länsstyrelsen Skåne. <https://docplayer.se/85030275-Forskningsresultat-och-slutsatser-for-bevarandearbetet-med-hotade-amfibier-en-litteraturgenomgang.html>
- Nyström, P., Stenberg, M., & Hertonsen, P. (2011). Lökgrödan i Skåne - status och rekommendationer för framtida bevarandearbetet. Länsstyrelsen Skåne. <http://www.rana.se/Rapporter/er080.pdf>
- Nyström, P., Stenberg, M., Hertonsen, P., & Hallengren, A. (2013). Grodor ur ett skånskt perspektiv. Länsstyrelsen Skåne. <https://www.lansstyrelsen.se/download/18.6ae610001636c9c68e5322f5/1582108275234/Grodor%20ur%20ett%20sk%C3%A5nskt%20perspektiv%20grodobok.pdf>
- Meurling, S. (2019). The response in native wildlife to an invading pathogen: Swedish amphibians and *Batrachochytrium dendrobatidis*. [Doktorsavhandling, Uppsala Universitet]. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology 1879. <http://uu.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2%3A1369696&dswid=1376>
- O'Hanlon, S. J., Rieux, A., Farrer, R. A., Rosa, G. M., Waldman, B., Bataille, A., Kosch, T. A., Murray, K. A., Brankovics, B., Fumagalli, M., Martin, M. D., Wales, N., Alvarado-Rybak, M., Bates, K. A., Berger, L., Böll, S., Brookes, L., Clare, F., Courtois, E. A., ... Fisher, M. C. (2018). Recent Asian origin of chytrid fungi causing global amphibian declines. *Science*, 360(6389), 621-627. <https://doi.org/10.1126/science.aar1965>

Piotrowski, J., Annis, S., & Longcore, J. (2004). Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a Chytrid Pathogen of Amphibians. *Mycologia*, 96(1), 9-15. <https://doi.org/10.2307/3761981>

Rosquist, G. (2020). COORDINATED ACTIONS AGAINST CHYTRIDIOMYCOSIS IN THE NORDIC COUNTRIES. Länsstyrelsen Skåne.

<https://www.lansstyrelsen.se/download/18.52ea1660172a20ba65c89b1/1592830478809/Actions%20against%20chytridiomycosis.pdf>

Scheele, B. C., Pasmans, F., Skerratt, L. F., Berger, L., Martel, A., Beukema, W., Acevedo, A. A., Burrowes, P. A., Carvalho, T., Catenazzi, A., De la Riva, I., Fisher, M. C., Flechas, S. V., Foster, C. N., Frías-Álvarez, P., Garner, T. W. J., Gratwicke, B., Guayasamin, J. M., Hirschfeld, M., ... & Canessa, S. (2019). Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. *Science*, 363(6434), 1459-1463. <https://doi.org/10.1126/science.aav0379>

Skerratt, L. F., Berger, L., Speare, R., Cashins, S., McDonald, K. R., Phillott, A. D., Hines, H. B., & Kenyon, N. (2007). Spread of chytridiomycosis has caused the rapid global decline and extinction of frogs. *EcoHealth*, 4, 125-134. <https://doi.org/10.1007/s10393-007-0093-5>

Stenberg, M., & Nyström, P. (2010). Åtgärdsprogram för klockgroda 2010-2014. Naturvårdsverket. <https://www.naturvardsverket.se/Documents/publikationer/978-91-620-6363-4.pdf?pid=3670>

Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E., Rodrigues, A. S. L., Fischman, D. L., & Waller, R. W. (2004). Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, 306(5702), 1783-1786. <https://doi.org/10.1126/science.1103538>

Tompkins, D.M., Dunn, A.M., Smith, M.J., & Telfer, S. (2011). Wildlife diseases: from individuals to ecosystems. *Journal of Animal Ecology*, 80(1), 19-38. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2010.01742.x>

Van Rooij, P., Martel, A., Haesebrouck, F., & Pasmans, F. (2015). Amphibian chytridiomycosis: a review with focus on fungus-host interactions. *Veterinary Research*, 46(137). <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0266-0>

Wake, D. B., & Vredenburg, V. T. (2008). Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(1), 11466–11473. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801921105>

Wilcox, B. A., & Colwell, R. R. (2005). Emerging and Reemerging Infectious Diseases: Biocomplexity as an Interdisciplinary Paradigm. *EcoHealth* 2, 244. <https://doi.org/10.1007/s10393-005-8961-3>

Appendix

Tabell 2a. Insamlad data från inventeringarna 2020.

Länsstyrelsen Skånes ID	Lökgroda (högst antal hanar)	Lövgroda (högst antal hanar)	Klockgroda (högst antal hanar)	Ätlig groda (totalt antal)
65-293	0	15	1	15
65-189	0	0	3	8
65-295	0	8	1	10
65-294	0	0	0	0
65-028	0	0	0	3
65-230	0	0	0	10
65-188	0	0	0	5
65-286	0	10	0	10
65-032	2	10	2	15
65-034	0	0	0	0
65-041	0	0	0	10
65-067	0	0	0	3
65-039	0	11	0	10
65-042	4	15	1	30
65-046	0	0	0	0
65-186	0	10	0	0
65-036	0	0	0	1
65-043	0	1	0	1
65-037	0	7	10	15
65-038	0	30	1	25
65-048	0	1	0	2
65-287	0	1	2	25
onummerad, norr	4	10	0	15
onummerad, center	10	10	0	20
onummerad, söder	8	15	2	20

Tabell 2b. Insamlad data av abiotiska faktorer 2020.

Länsstyrelsen Skånes ID	pH	Konduktivitet (1999 µS/cm)	Turbiditet (FNU/FTU)	Täcknings- grad (%)	Beskuggnings- grad (%)
65-293	7.09	162	3	25	5
65-189	7.95	502	22	20	50
65-295	7.77	462	16	10	0
65-294	N/A	N/A	N/A	10	90
65-028	9.29	N/A	N/A	10	5
65-230	7.58	387	21	50	0
65-188	7.61	175	3	15	50
65-286	N/A	N/A	N/A	25	10
65-032	7.75	248	N/A	30	50
65-034	7.36	307	7	50	40
65-041	8.4	285	11	10	0
65-067	N/A	N/A	N/A	75	0
65-039	9.25	230	82	10	0
65-042	5.86	86	11	50	0
65-046	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
65-186	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
65-036	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
65-043	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
65-037	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
65-038	7.55	380	8	10	0
65-048	N/A	250	219	5	0
65-287	7.66	307	6	20	0
onummerad, norr	8.41	180	148	10	0
onummerad, center	7.56	230	5	90	0
onummerad, söder	7.43	120	9	75	0