



Praktikum und Masterarbeit zu *Bsal* im westlichen Ruhrgebiet und dem Potential der biologischen Kontrolle von *Bsal* durch *Daphnia*

Lara Gemeinhardt

# *Batrachochytrium salamandrivorans (Bsal)*

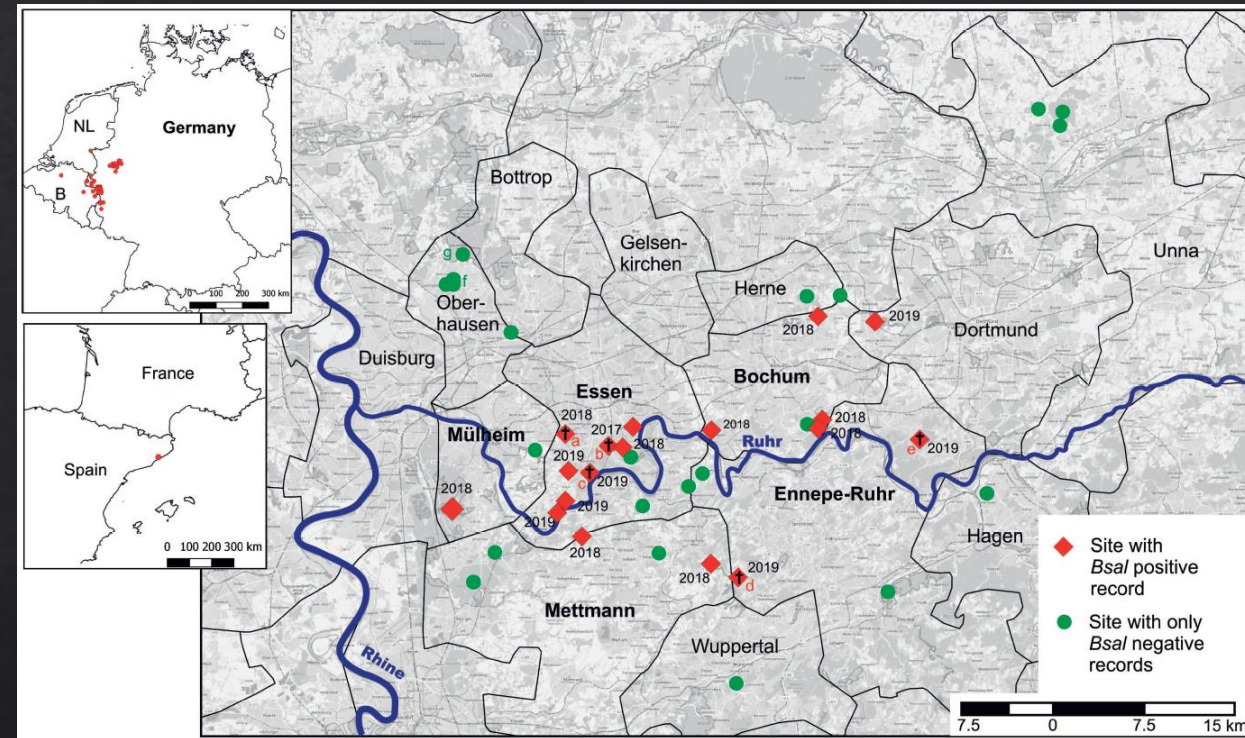
- ◇ Chytridpilz
- ◇ Schwesterart von *B. dendrobatidis (Bd)*
- ◇ Verursacht Läsionen der Haut
- ◇ Erstmals in den Niederlanden beschrieben in 2010



Foto: Sabino-Pinto et al. 2015

# *Batrachochytrium salamandrivorans (Bsal)*

- ◇ Chytridpilz
- ◇ Schwesterart von *B. dendrobatidis (Bd)*
- ◇ Verursacht Läsionen der Haut
- ◇ Erstmals in den Niederlanden beschrieben in 2010
- ◇ Seit 2014 im Ruhrgebiet bestätigt
- ◇ Befällt auch Molche → geringere Mortalität (Reservoir)



Karte: Schulz et al. 2020

◇ Erster Teil der Arbeit → Erweitertes *Bsal* Monitoring

◇ Feuersalamander (*Salamandra salamandra*)

◇ Kammmolch (*Triturus cristatus*)

◇ Teichmolch (*Lissotriton vulgaris*)

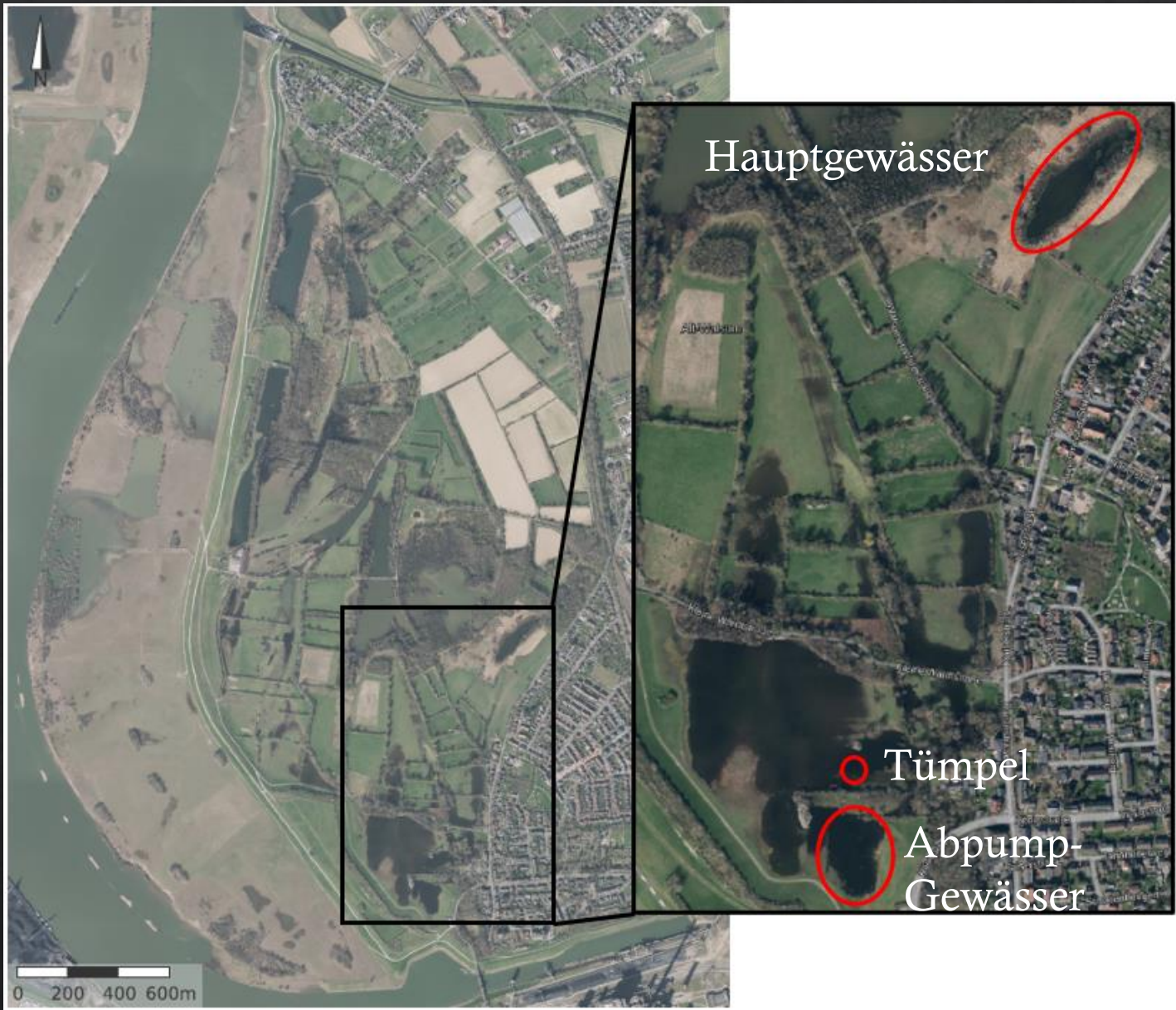


- ◇ Zweiter Teil der Arbeit → Potentielle biologische Kontrolle von *Bsal* durch *Daphnia*
  - ◇ *Daphnia magna*



The background image shows a wide, calm body of water, possibly a lake or a large pond, under a heavy, grey, overcast sky. The water's surface is dark and reflects the light from the sky. In the distance, a line of bare, leafless trees stands against the horizon. The overall mood is somber and quiet. The text 'Teil 1: *Bsal* Monitoring' is overlaid in the center of the image in a white, serif font.

# Teil 1: *Bsal* Monitoring

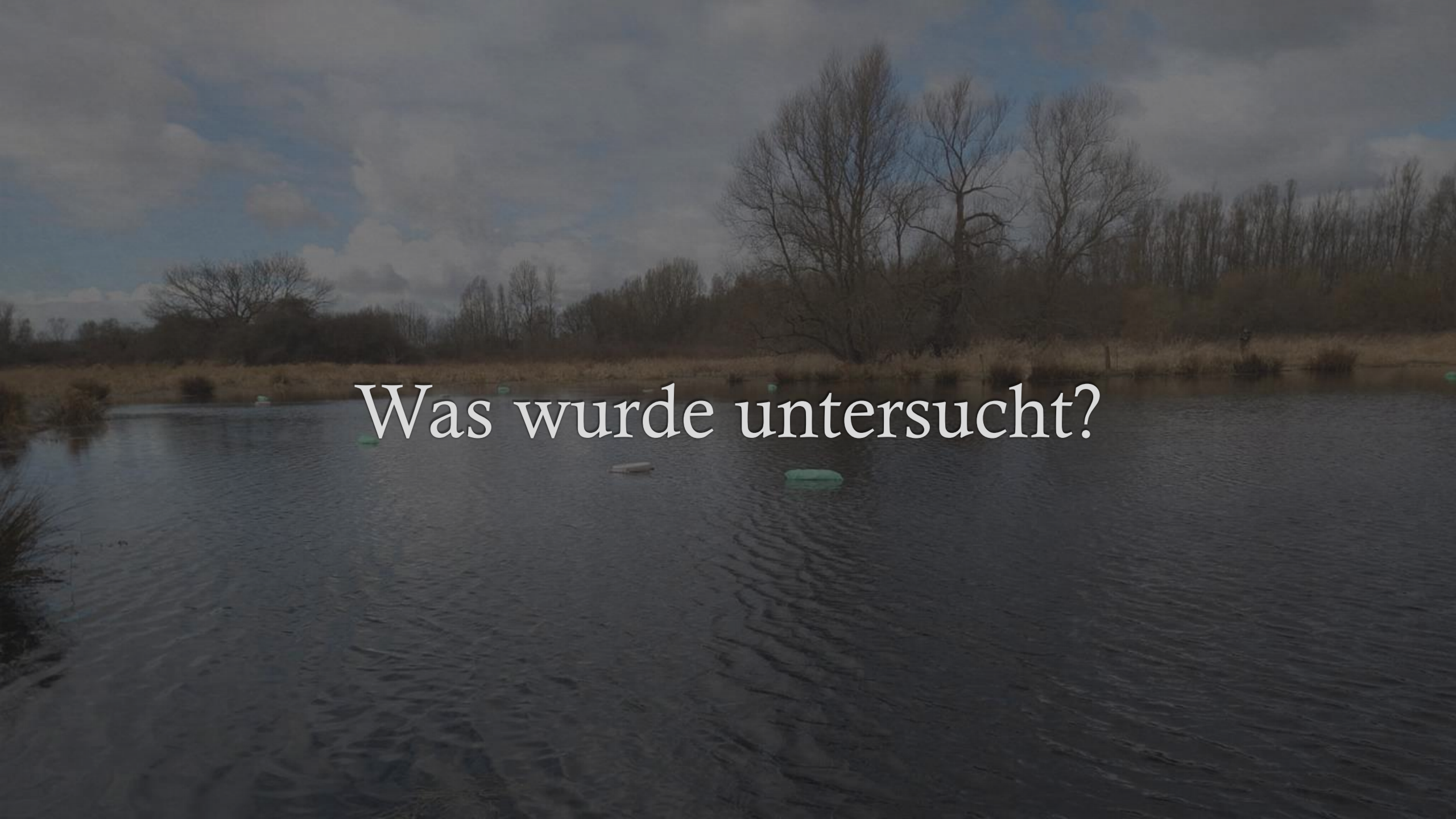


Rheinaue Walsum



Luftbild: Google Maps



A dark, overcast landscape with a body of water in the foreground and bare trees in the background. The text "Was wurde untersucht?" is overlaid in the center.

Was wurde untersucht?

1. Verbreitung von *Bsal* im westlichen Ruhrgebiet
2. Verbreitung von *Bsal* in der Rheinaue Walsum
3. Entwicklung der Molchpopulationen in den letzten Jahren
4. Infektionsraten von Teich- und Kammmolchen



A dark, overcast landscape with a body of water in the foreground, trees in the middle ground, and a cloudy sky. The word "Methoden" is overlaid in white text.

# Methoden

# Molche

## ◆ Reusenfallen



# Molche

- ◆ Reusenfallen

- ◆ Hauptgewässer → März bis Juni 2021 insg. 13 Nächte

- ◆ Alle anderen 2 Nächte



# Molche

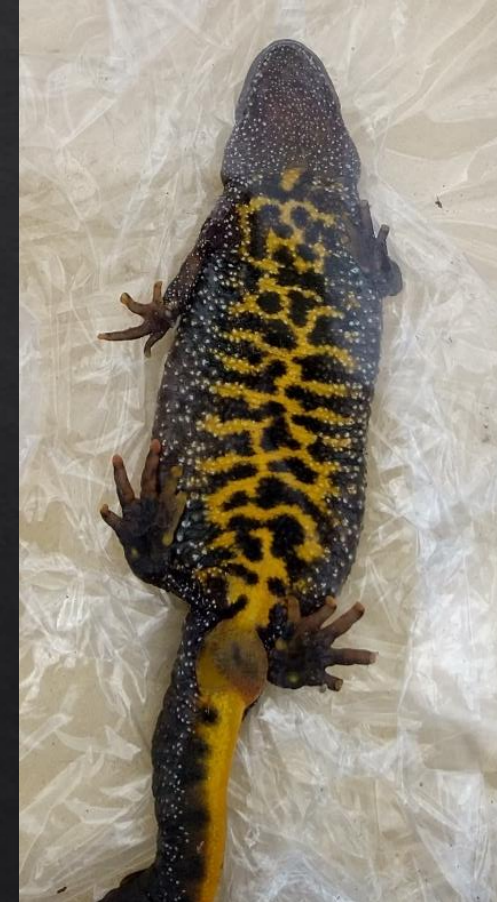
- ◆ Hautabstriche → alle Kammmolche, Subset von ca. 18 Teichmolche/Tag
- ◆ Foto der Bauchmuster → Identifikation



Aufbau im Feld



Männlicher Teichmolch



Weiblicher Kammmolch

# Feuersalamander

- ◊ Nächtliche Begehungen der Wälder → Adulte Tiere mit Taschenlampe suchen
- ◊ Hautabstriche → max. 10 Tiere/Wald
- ◊ Foto der Rückenmusterung → Identifikation



Hautabstriche nehmen



Rückenmusterung eines Feuersalamanders

# Analyse

- ◆ qPCR
- ◆ Alle Kammmolche
- ◆ Alle Feuersalamander
- ◆ Subset von 64 Teichmolchen aus Walsum
- ◆ Prävalenz Berechnung



Foto:

<https://diagnostics.roche.com/ch/de/products/instruments/lightcycler-96-instrument-ins-2691.html>



A dark, overcast landscape featuring a body of water in the foreground, bare trees in the middle ground, and a cloudy sky. The word "Ergebnisse" is overlaid in white text.

# Ergebnisse

# qPCR

## ◆ Feuersalamander:

- ◆ Hiesfelder Wald (3) → negativ
- ◆ Sterkrader Wald (7) → negativ
- ◆ Revierpark Vonderort (10) → negativ\*
- ◆ Köllnischer Wald (1†) → positiv
- ◆ Rumbachtal → keine Tiere gefunden

\* 1 Tier uneindeutig

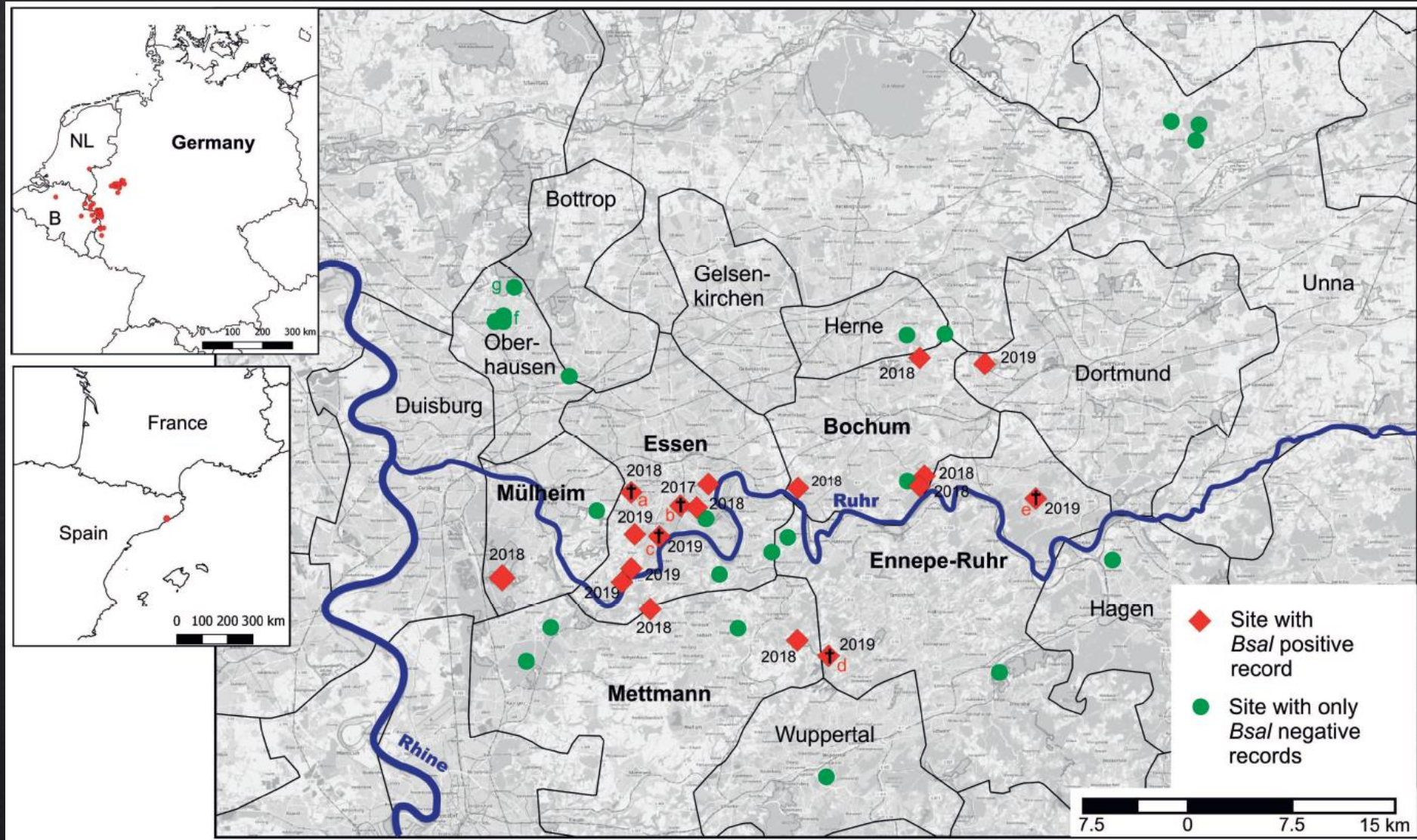
## ◆ Molche

- ◆ Hauptgewässer (KM&TM) → positiv
- ◆ Tümpel (TM) → positiv
- ◆ Abpumpgewässer (TM) → positiv
- ◆ Artenschutzgewässer (KM&TM) → positiv (KM)

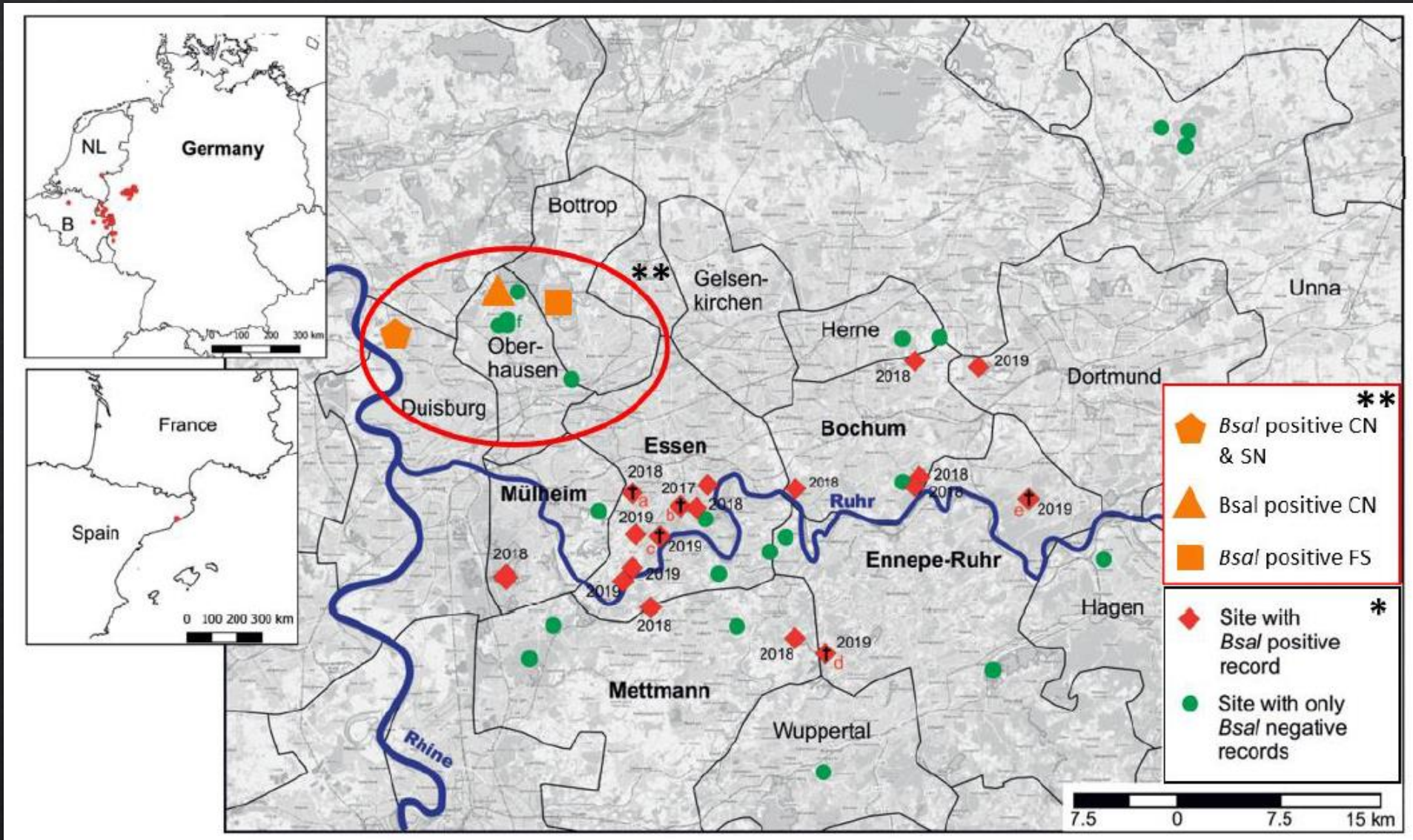


Totes Weibchen im Köllnischen Wald

# Verbreitung von *Bsal*



# Verbreitung von *Bsal*



Karte: Schulz et al. 2020 (bearbeitet)

# Aktivitätsdichten Walsum

## Hauptgewässer

Jahr	Aktivitätsdichte	Aktivitätsdichte
	TM	KM
2019	182,1	7,2
2020	262,7	1,13
2021	171,4	1,03

## Abpumpgewässer

Jahr	Aktivitätsdichte	Aktivitätsdichte
	TM	KM
2019	65,1	9,7
2021	88,3	0



A: Abpumpgewässer April 2021; B: Mai 2020

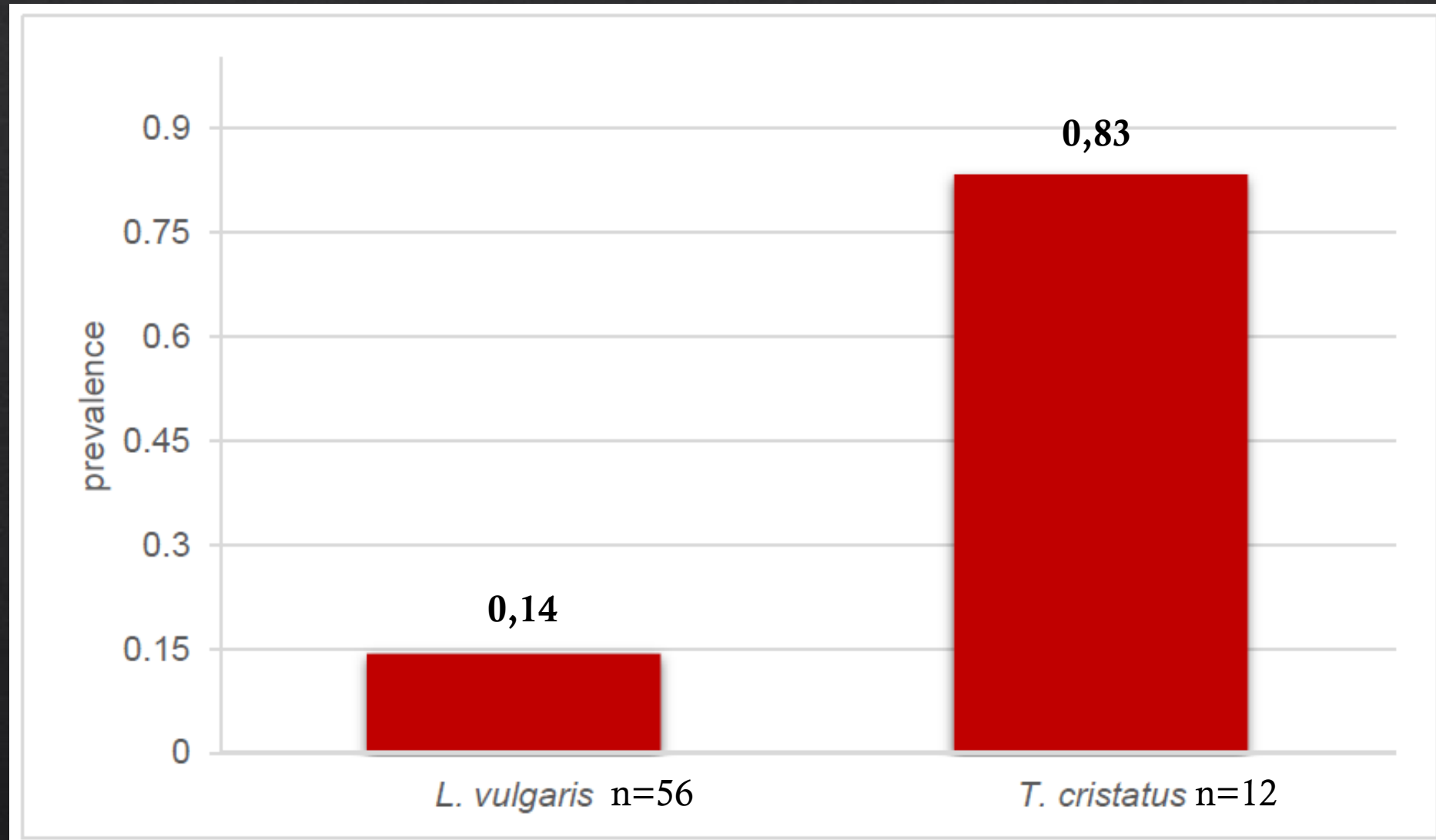
# Aktivitätsdichten Artenschutzgewässer

Jahr	Aktivitätsdichte KM
2017	14,52
2018	39,23
2019	20,8
2020	2,1
2021	2,19

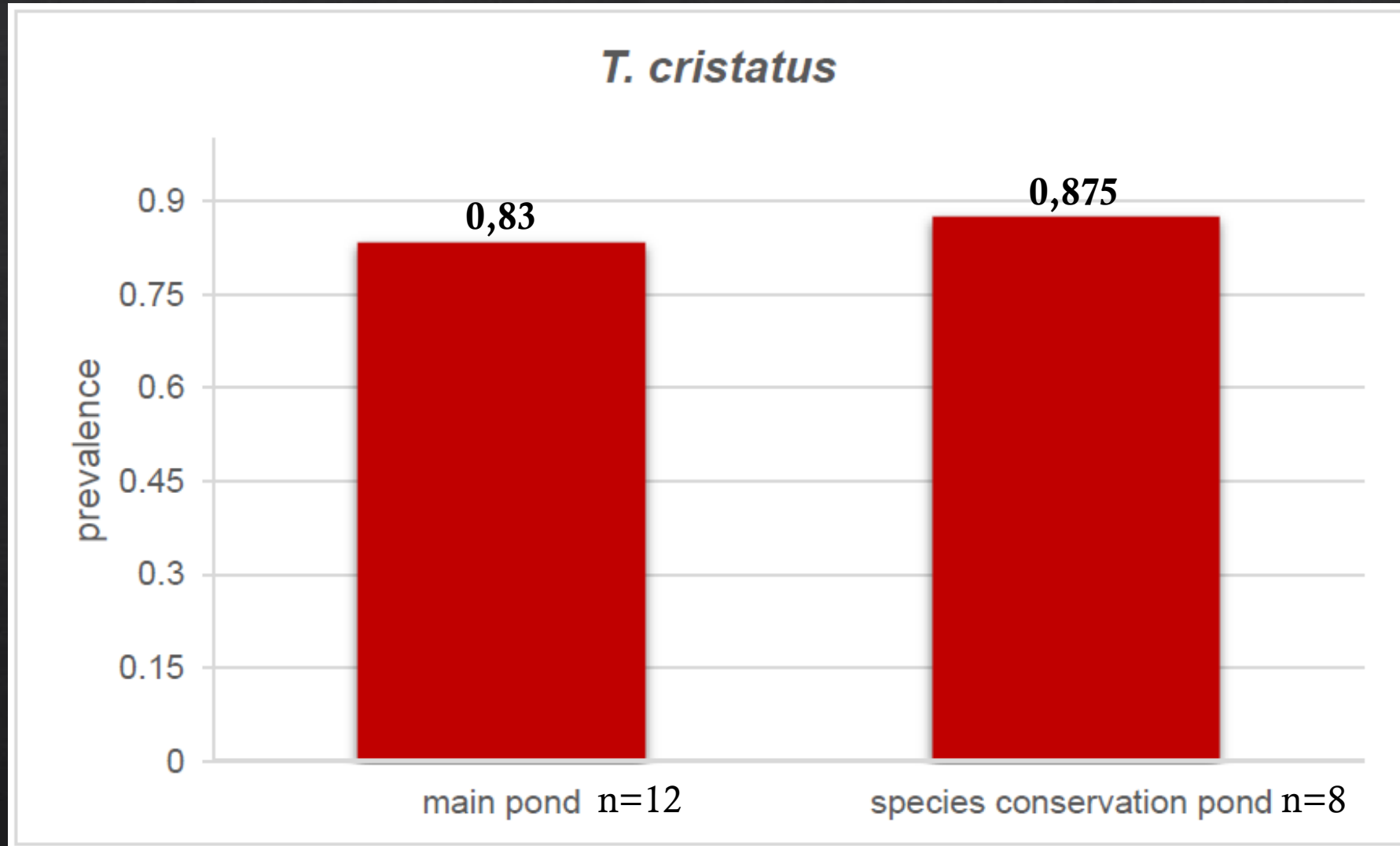


Artenschutzgewässer April 2018


# Prävalenz – Hauptgewässer



# Prävalenz Kammmolche





A dark, overcast landscape featuring a body of water in the foreground. The water is dark blue-grey with subtle ripples. In the middle ground, there is a line of bare, brownish-yellow grasses and shrubs. Behind this, a dense line of leafless trees stretches across the horizon. The sky is filled with heavy, grey clouds, with a small patch of blue visible near the top center. The overall mood is somber and quiet. The word "Diskussion" is overlaid in the center in a white, serif font.

# Diskussion

# 1. Verbreitung von *Bsal* im westlichen Ruhrgebiet

- ◇ Zwei neue *Bsal* positive Gebiete
  - ◇ Kölnische Wald Bottrop
  - ◇ Hiesfelder Wald Oberhausen
- ◇ Weitere Verbreitung sehr wahrscheinlich → aktuell keine Methode die Verbreitung zu stoppen → Spaziergänger, Mountainbikefahrer, Förstererifahrzeuge

# 2. Verbreitung von *Bsal* in der Rheinaue Walsum

- ◇ *Bsal* in allen drei untersuchten Gewässern gefunden
- ◇ Wahrscheinlich das ganze Gebiet betroffen → Wanderungsverhalten der Amphibien
  - Bedarf weiterer Untersuchungen der Gewässer

### 3. Entwicklung der Molchpopulationen

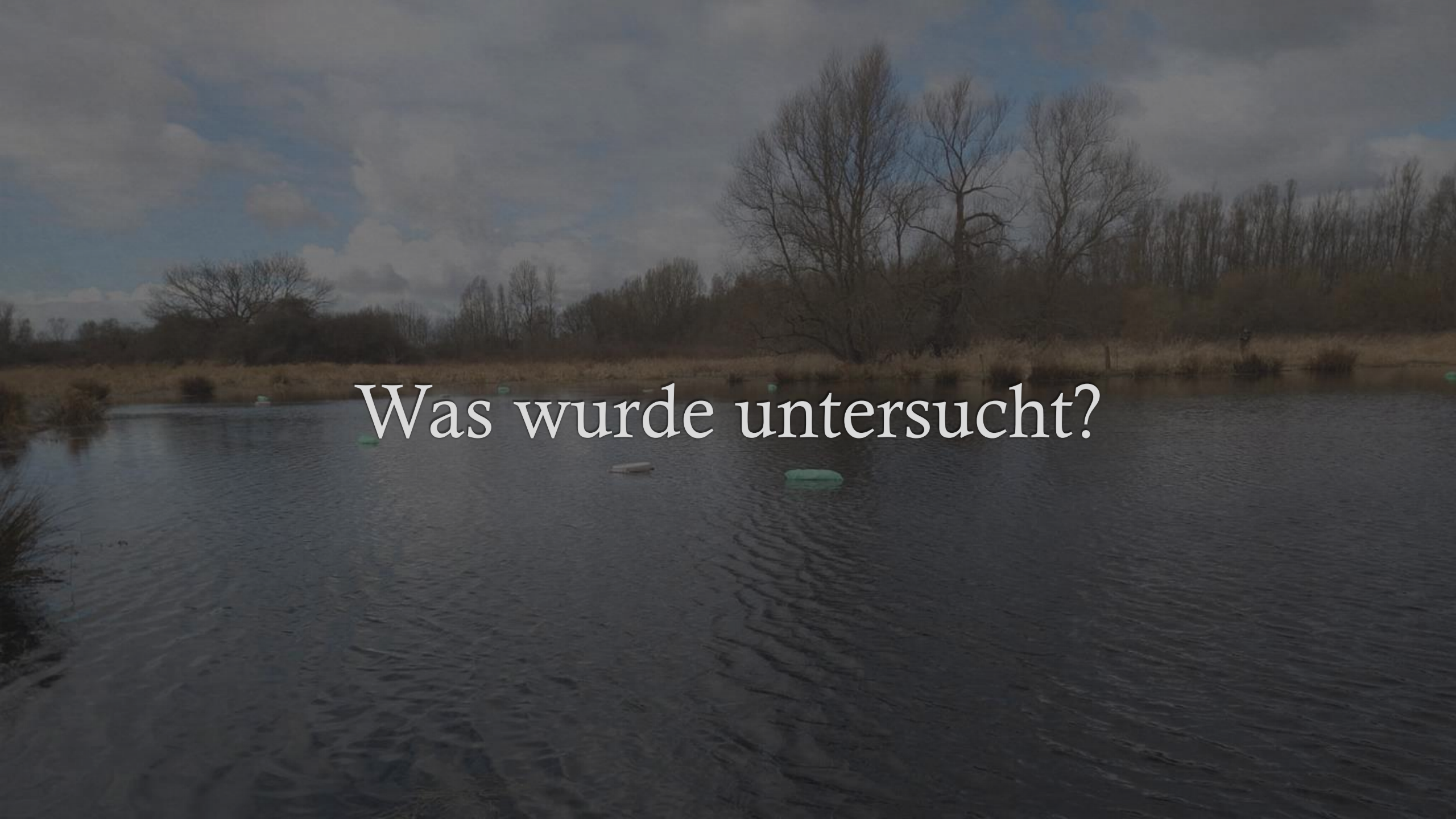
- ◇ Aktivitätsdichten teils stark zurückgegangen → vor allem Kammmolch
  - KANN in Zusammenhang mit *Bsal* sein
  - KANN in Zusammenhang mit trockenen und warmen Frühjahren sein
  - **Wahrscheinlich** ein Zusammenspiel aus beiden Faktoren

### 4. Infektionsraten von Teich- und Kammmolchen

- ◇ Kammmolche scheinbar stärker von *Bsal* betroffen als Teichmolche → Prävalenz
- ◇ ABER zu geringe Daten von Kammmolchen und nur Subset von Teichmolchen untersucht → weitere Untersuchungen notwendig für eine präzise Aussage

The background image shows a wide, calm body of water in the foreground, reflecting the overcast sky. The sky is filled with heavy, grey clouds, with a small patch of blue visible near the top center. In the middle ground, there is a line of bare, leafless trees and shrubs. The overall scene is dimly lit, suggesting a late autumn or winter setting.

Teil 2: Potential der biologischen  
Kontrolle von *Bsal* durch *Daphnia*



Was wurde untersucht?

1. Fressen Daphnien (*D. magna*) die Zoosporen von *Bsal*?
2. Effektivität des Fraßes → Überleben die Zoosporen?
3. Werden die Zoosporen auch dann gefressen, wenn eine zweite Nahrungsquelle angeboten wird?



A dark, overcast landscape featuring a body of water in the foreground. The water is dark and shows ripples. In the middle ground, there is a line of trees and some green buoys floating in the water. The sky is filled with heavy, grey clouds, with a small patch of blue visible. The overall mood is somber and atmospheric.

# Methoden

## Fraßexperiment

- ◆ Fütterung von *Daphnia magna* mit gefärbten Zoosporen → Kongo-Rot & Nil-Rot
- ◆ 1 *D. magna* pro Well in 200  $\mu$ l gefiltertes Wasser und ca. 100 000 Zoosporen
- ◆ Fresszeit 3 Stunden
- ◆ Verdauungszeit 24 bzw. 48 Stunden
- ◆ *D. magna* wurden fixiert und fotografiert
- ◆ Exkrememente wurden mit einer Zählkammer analysiert → komplettes Volumen

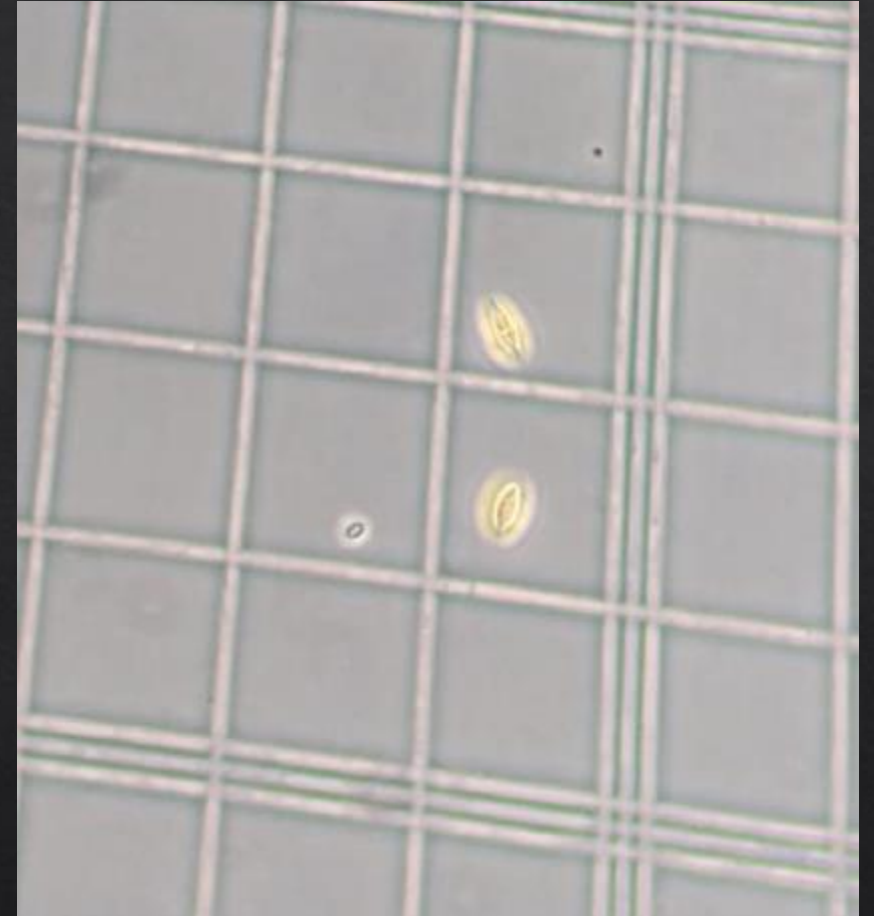


96-Well Platte für das Fraßexperiment



## Futter-Wahl-Experiment

- ◇ Fütterung von *Daphnia magna* mit Zoosporen und *Scenedesmus spec.*
- ◇ 1 *D. magna* per pro Well in 1 ml gefiltertes Wasser
- ◇ 4 verschiedene Ansätze
  - ◇ 50:50 Ansatz
  - ◇ Biovolumen Ansatz
  - ◇ Kontrollen → Entweder Alge oder Sporen
- ◇ Fresszeit 2 Stunden
- ◇ 2x60 µl wurde von jedem Ansatz mit einer Zählkammer gezählt
- ◇ Mann-Whitney U-Test (R-Studio)



Zoospore (links) und *Scenedesmus spec.* (rechts)

A dark, overcast landscape with a body of water in the foreground, bare trees in the middle ground, and a cloudy sky. The word "Ergebnisse" is overlaid in white text.

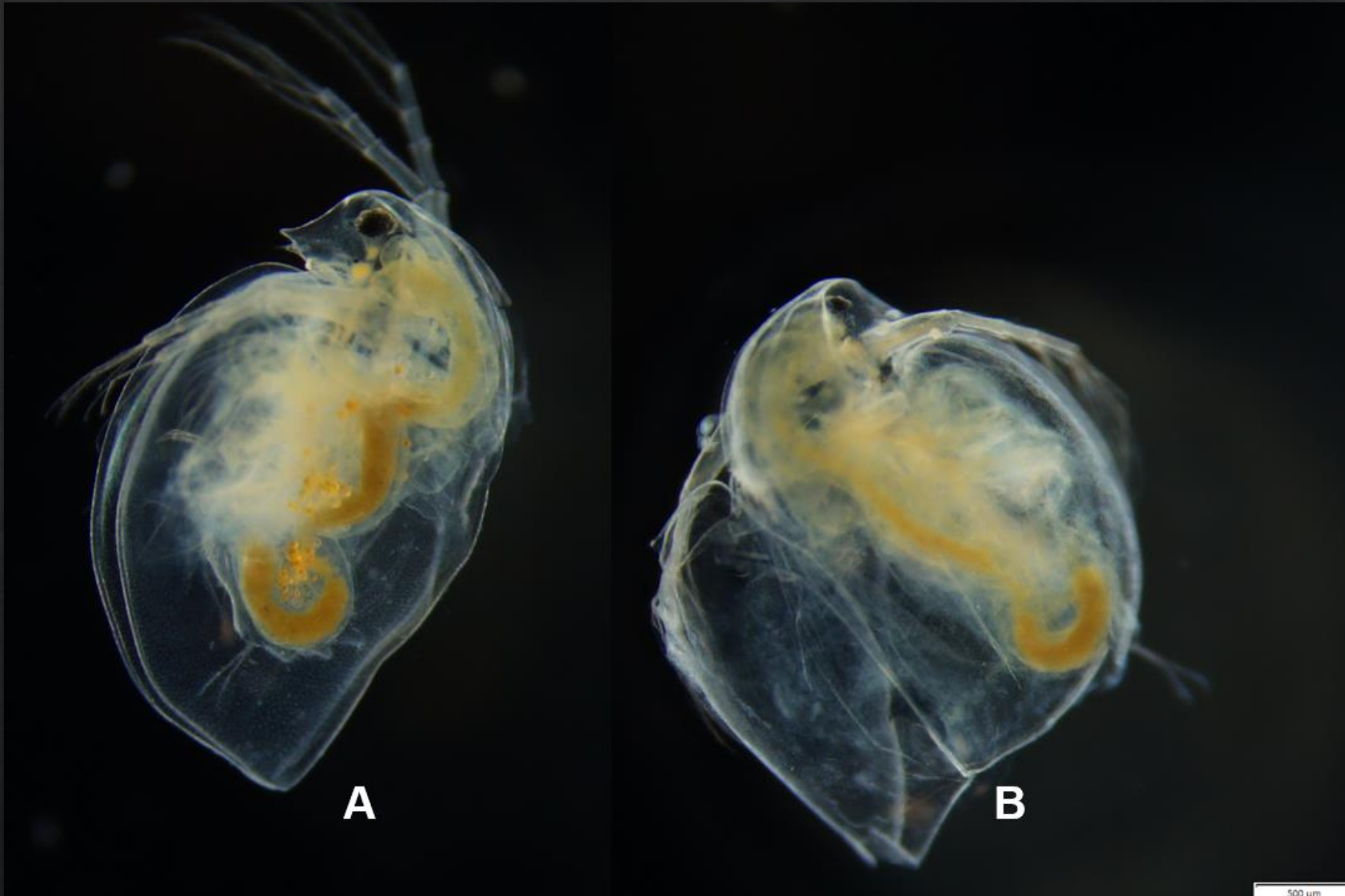
# Ergebnisse

# Kongo-Rot



A: 3 Stunden in Suspension mit Kongo-Rot gefärbten Zoosporen

# Kongo-Rot



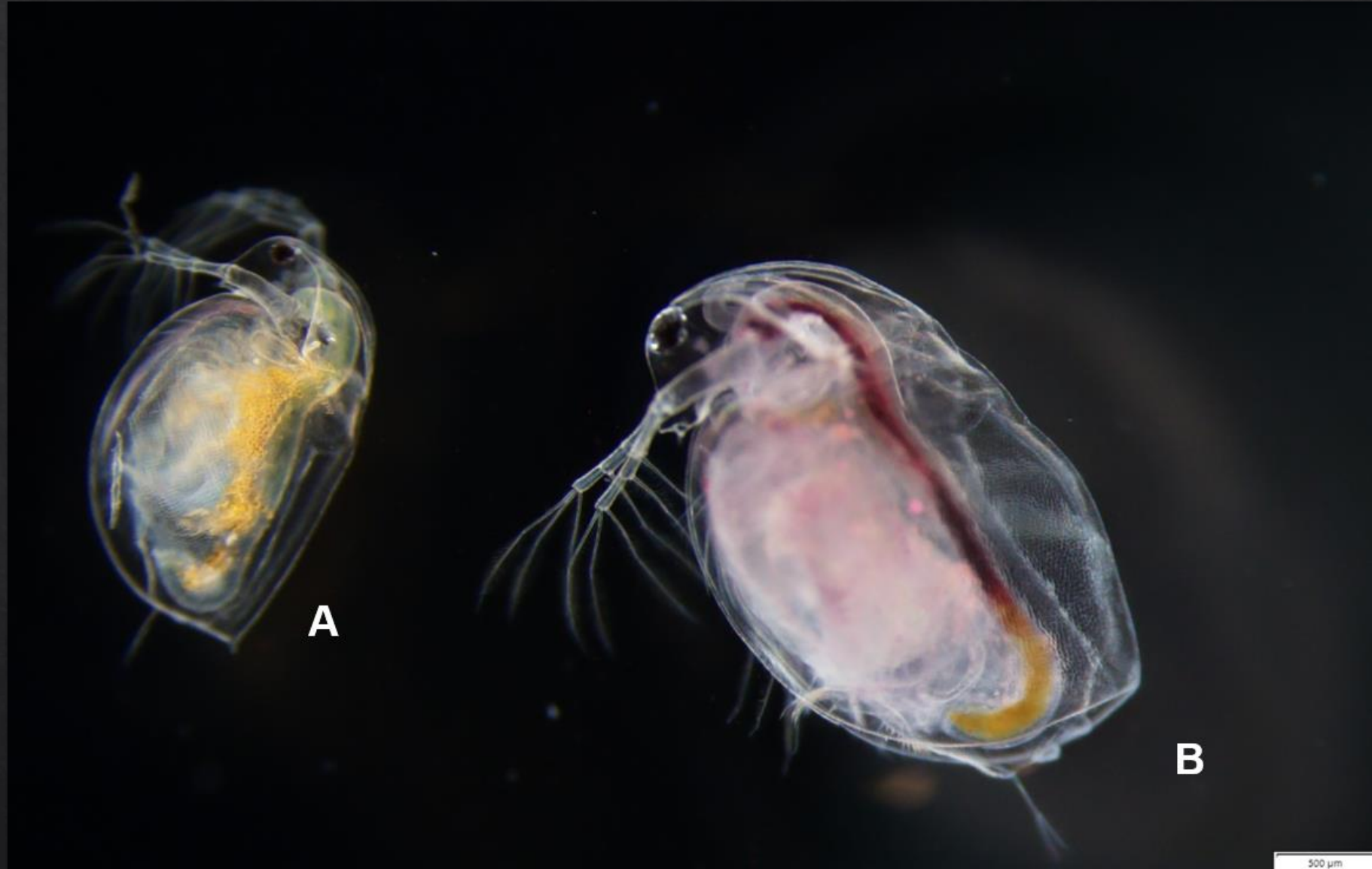
**A:** 3 Stunden in Suspension mit Kongo-Rot gefärbten Zoosporen; **B:** 3 Stunden in Wasser (Kontrolle)

# Nil-Rot



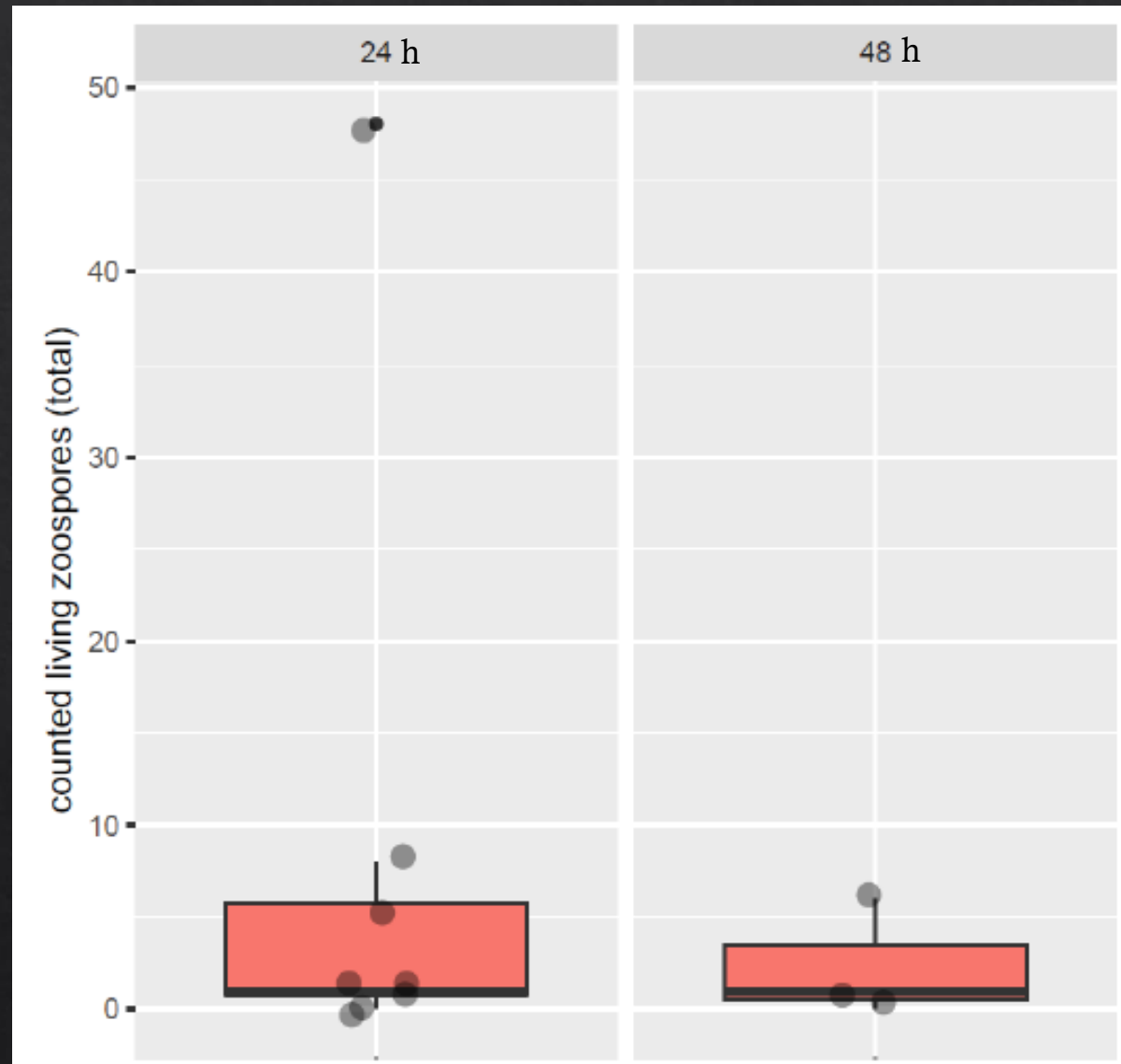
A: 3 Stunden in Wasser (Kontrolle)

# Nil-Rot



**A:** 3 Stunden in Wasser (Kontrolle); **B:** 3 Stunden in Suspension mit Nil-Rot gefärbten Zoosporen

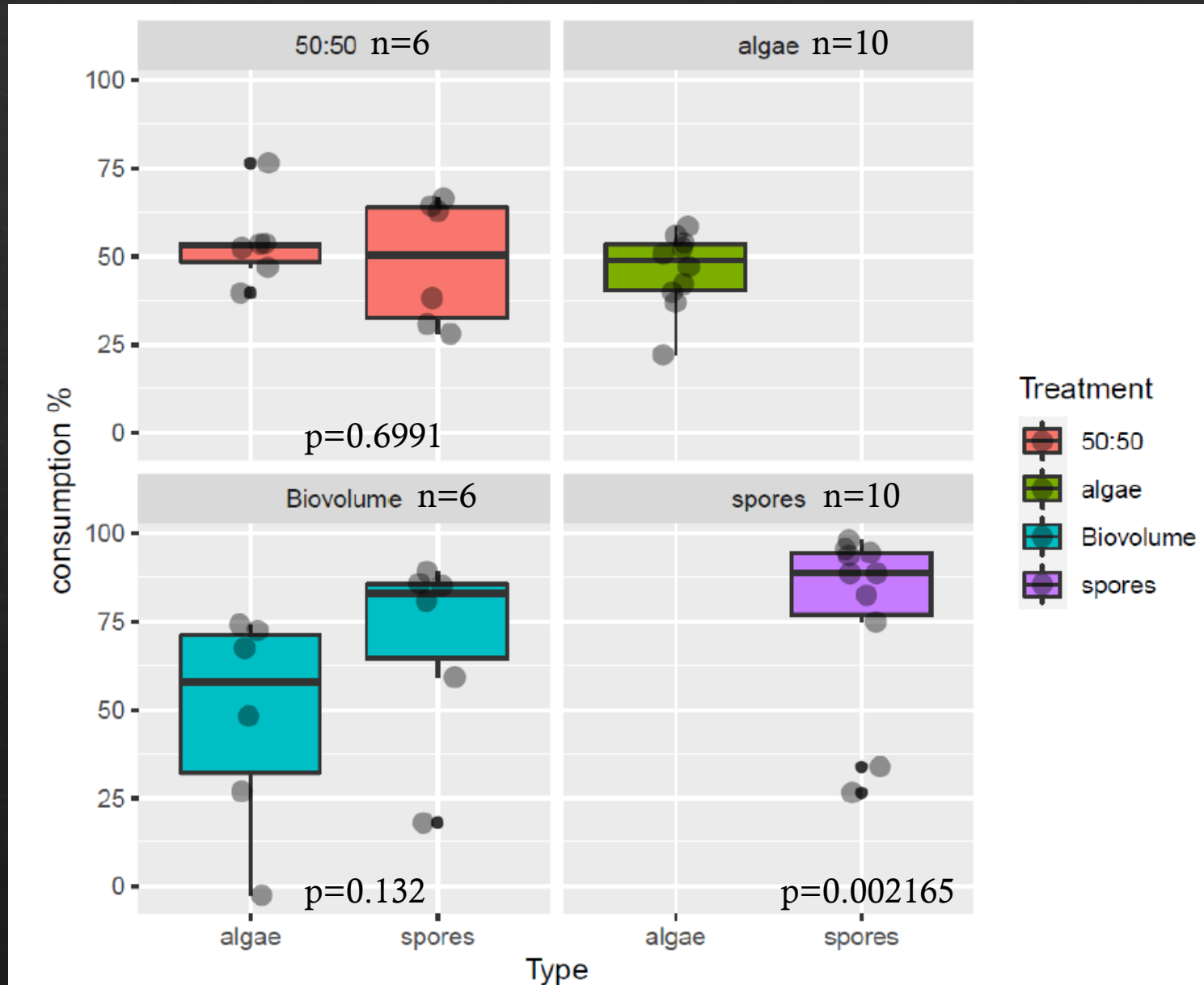
# Lebende Sporen in den Exkrementen




$n_{24h}=8$

$n_{48h}=3$

# Futter-Wahl-Experiment– Konsum %





A dark, overcast landscape featuring a body of water in the foreground. The water is dark blue-grey with subtle ripples. In the middle ground, there is a line of bare, brownish-yellow grasses and shrubs. Behind this, a dense line of leafless trees stretches across the horizon. The sky is filled with heavy, grey clouds, with a small patch of blue visible near the top center. The overall mood is somber and quiet. The word "Diskussion" is overlaid in the center in a white, serif font.

# Diskussion

# 1. Fressen Daphnien (*D. magna*) die Zoosporen von *Bsal*?

- ◇ Zoosporen wurden gefressen
- ◇ Färbung am besten mit Nil-Rot → Foto

# 2. Effektivität des Fraßes → Überleben die Sporen?

- ◇ Nur wenige lebende Sporen gefunden → überlebt oder transferiert
- Sporenreduktion des Wasservolumens im Experiment → Potential der Sporenreduktion in Gewässern

### 3. Werden die Zoosporen auch dann gefressen, wenn eine zweite Nahrungsquelle angeboten wird?

- ◇ Zoosporen wurden auch mit einer zweiten Nahrungsquelle gefressen
- ◇ Keine Bevorzugung zu erkennen
  - Potential der biologischen Kontrolle von *Bsal* → weitere Untersuchungen benötigt



# Fazit und Ausblick

- ◇ *Bsal* verbreitet sich weiterhin
- ◇ Teichmolche scheinbar weniger anfällig für *Bsal* als Kammolche → Daten jedoch nicht aussagekräftig genug → weitere Untersuchungen nötig
- ◇ Weitere *Bsal* Monitorings sind sinnvoll → Verbreitung überblicken → Aufschluss auf Auswirkungen auf die Populationen
- ◇ *Daphnia* hat das Potential zur biologischen Kontrolle von *Bsal* in Stehgewässern → inwiefern das zutrifft gilt es noch zu untersuchen
- ◇ Durch Fraß der Zoosporen von *Daphnia* → Potential als *Bsal* Monitoring → Analyse von Planktonproben → Hypothetisch
- ◇ Ergebnisse unterstreichen die ökologische Relevanz von gesunden Zooplankton Gesellschaften in Stehgewässern



**Vielen Dank für  
die  
Aufmerksamkeit!**

**Gibt es Fragen?**

