



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

Lara Gemeinhardt

Batrachochytrium salamandrivorans (Bsal)

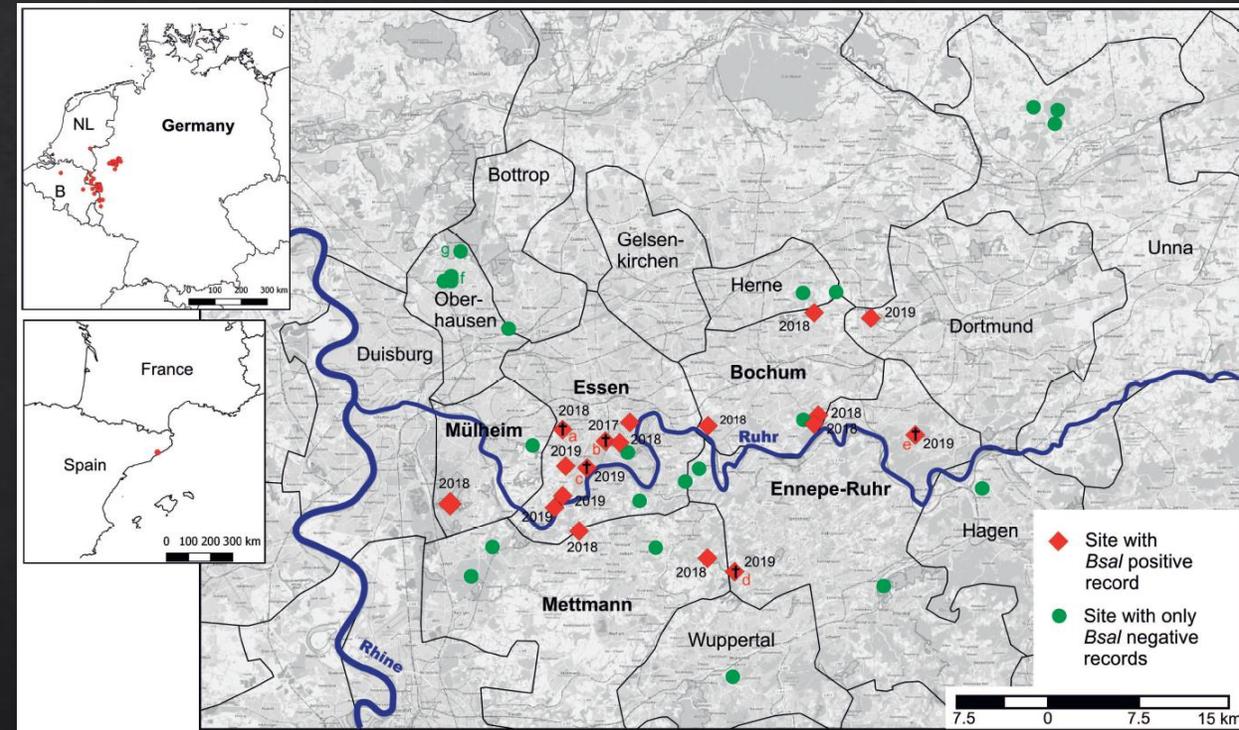
- ◇ Chytridpilz
- ◇ Schwesterart von *B. dendrobatidis* (Bd)
- ◇ Verursacht Läsionen der Haut
- ◇ Erstmals in den Niederlanden beschrieben in 2010



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*)

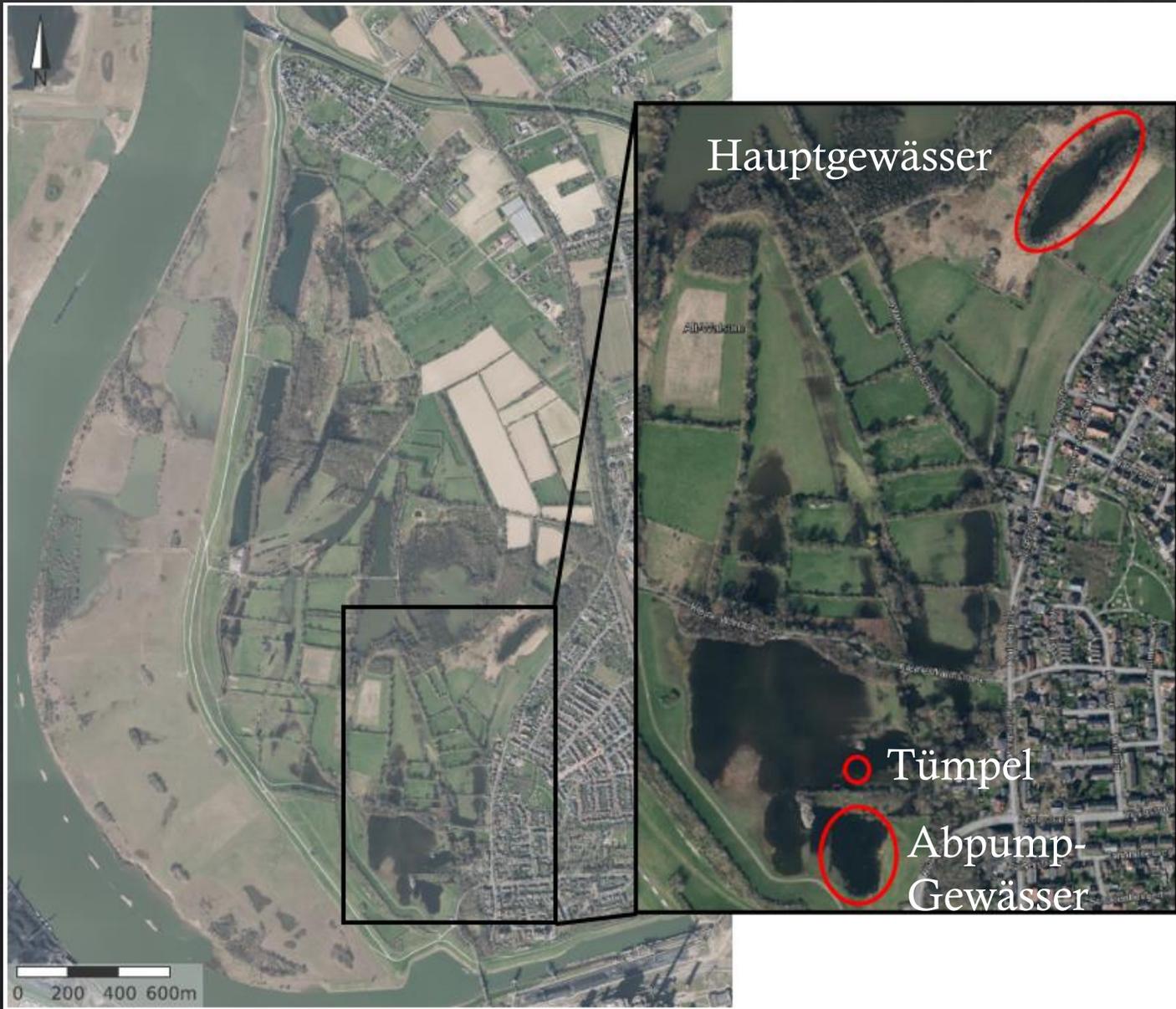


- ◇ Zweiter Teil der Arbeit → Potentielle biologische Kontrolle von *Bsal* durch *Daphnia*
 - ◇ *Daphnia magna*



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 stretches across 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.

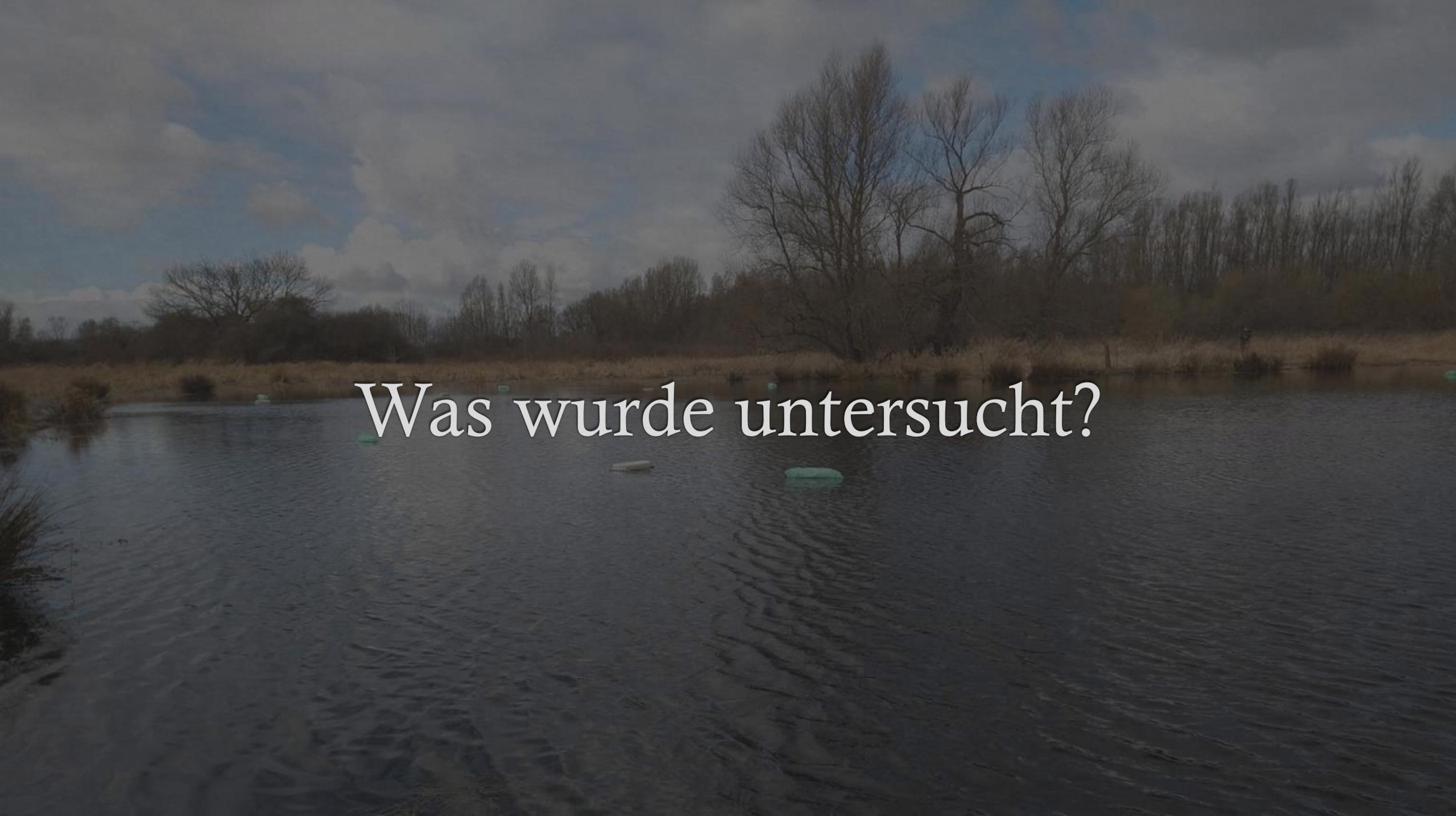
Teil 1: *Bsal* Monitoring



Rheinaue Walsum



Luftbild: Google Maps



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 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 trees and bushes, some of which are bare. The sky is filled with heavy, grey clouds, with a small patch of blue visible near the top center. The word "Methoden" is overlaid in the center of the image in a white, serif font.

Methoden

Molche

◆ Reusenfallen



Molche

- ◆ Reusenfallen

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

- ◆ Alle anderen 2 Nächte



Molche

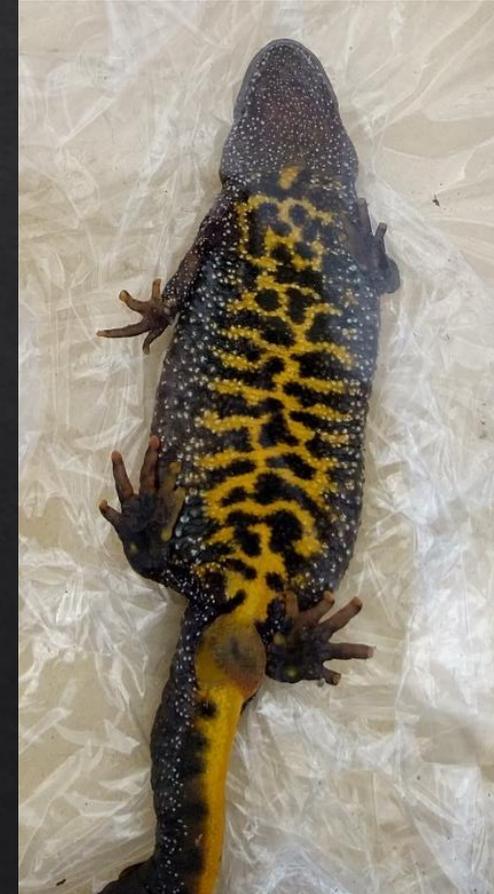
- ◆ Hautabstriche → alle Kammmolche, Subset von ca. 18 Teichmolche/Tag
- ◆ Foto der Bauchmuster → Identifikation



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 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

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

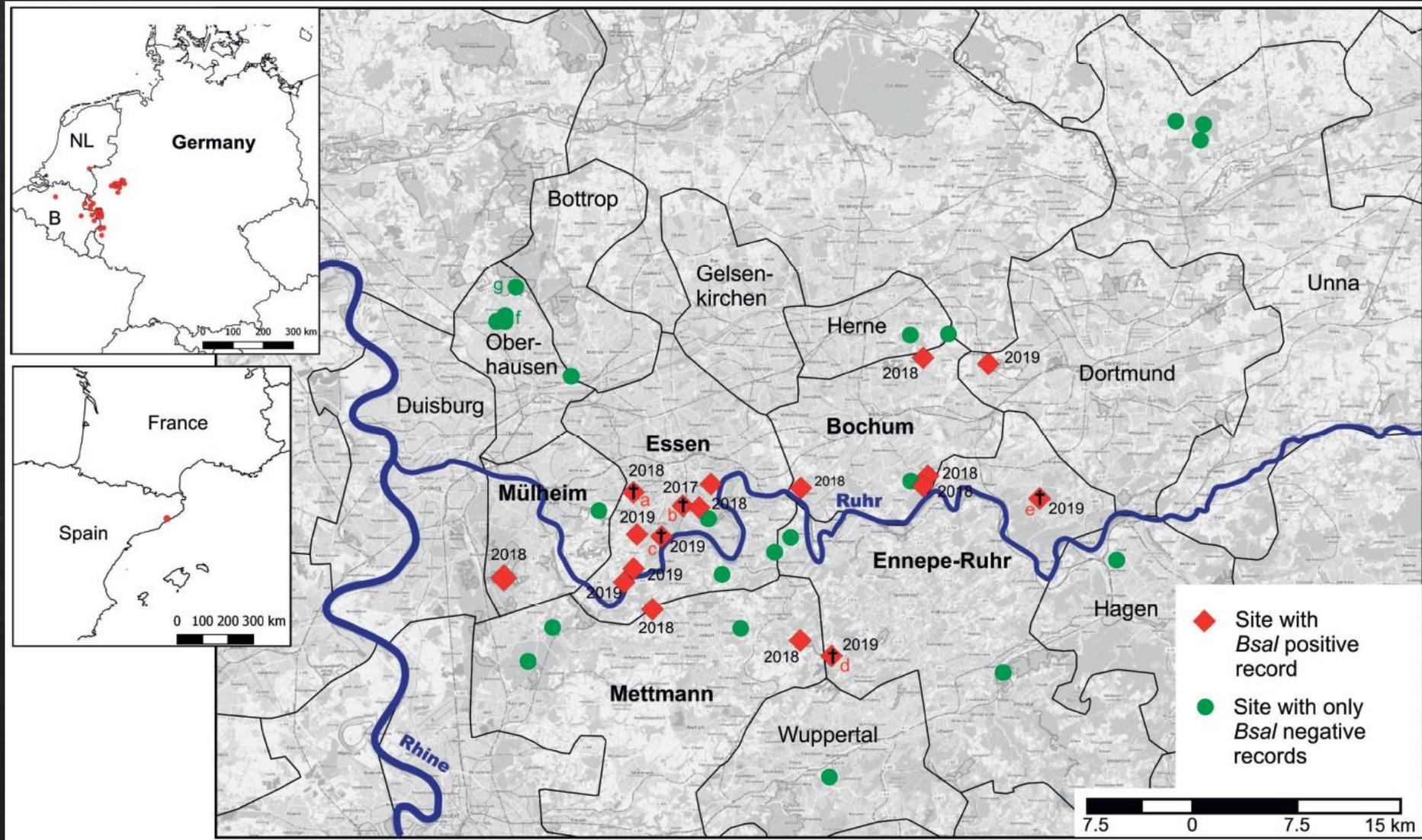
◆ Molche

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

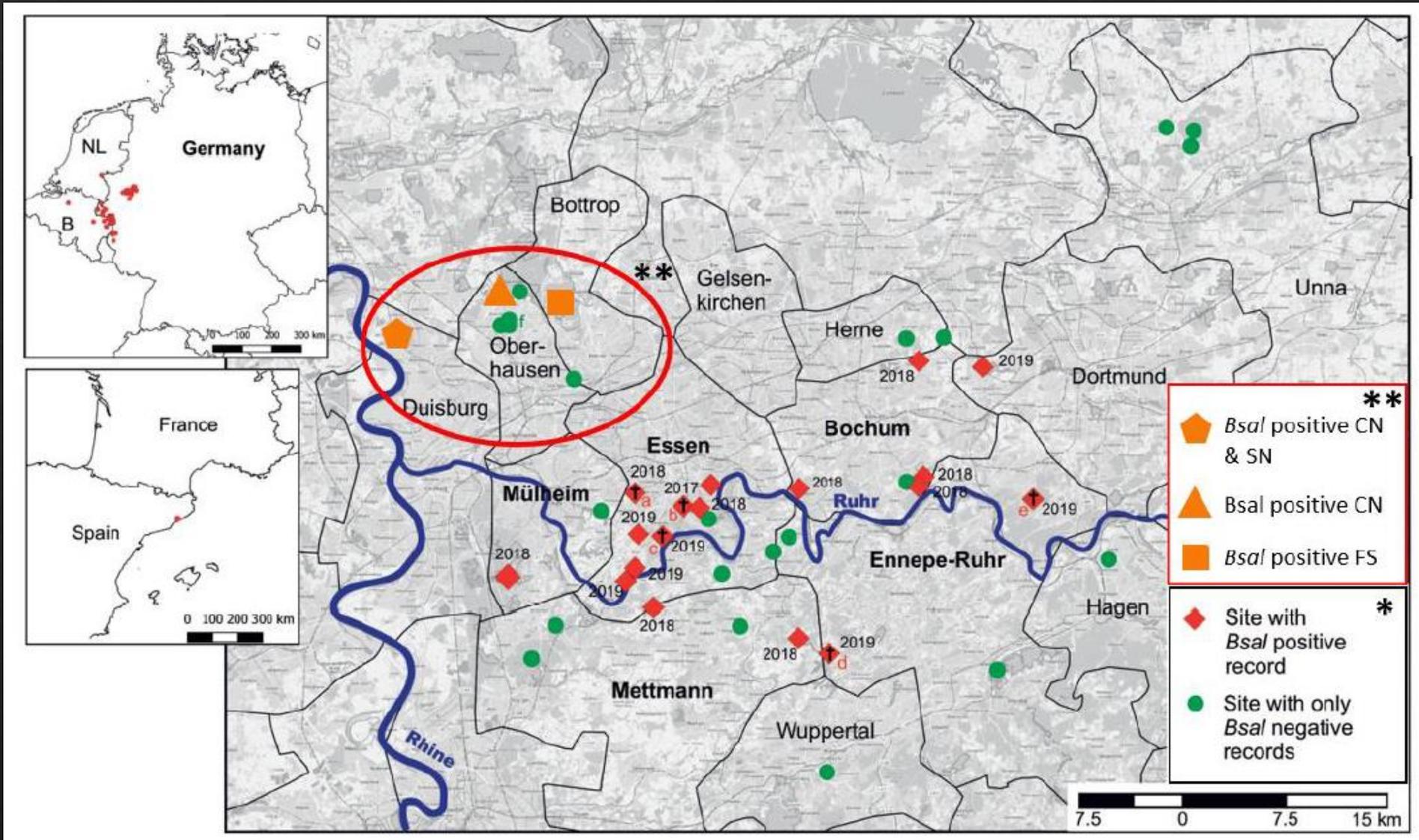


Totes Weibchen im Köllnischen Wald

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

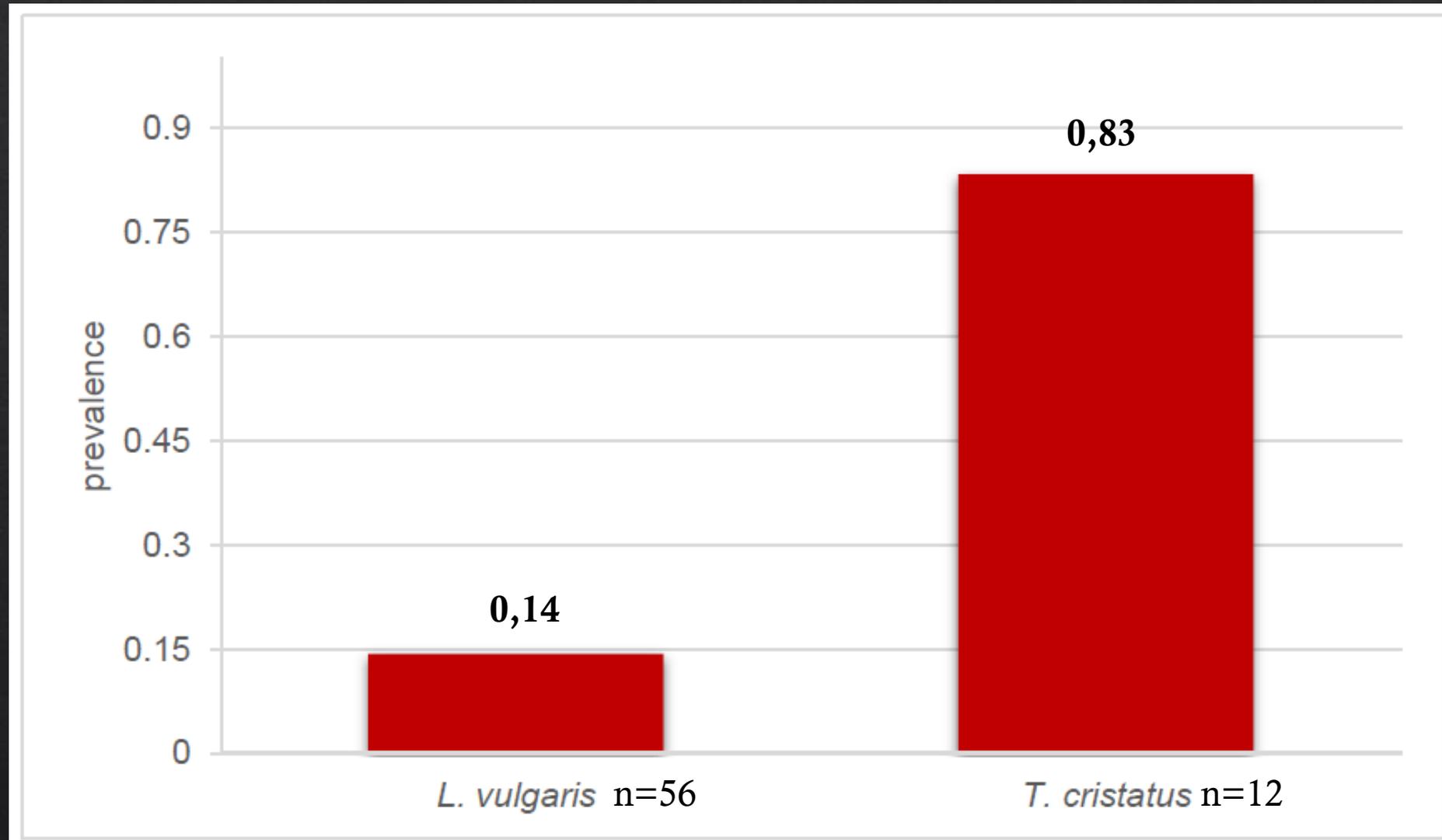
Aktivitätsdichten Artenschutzgewässer

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

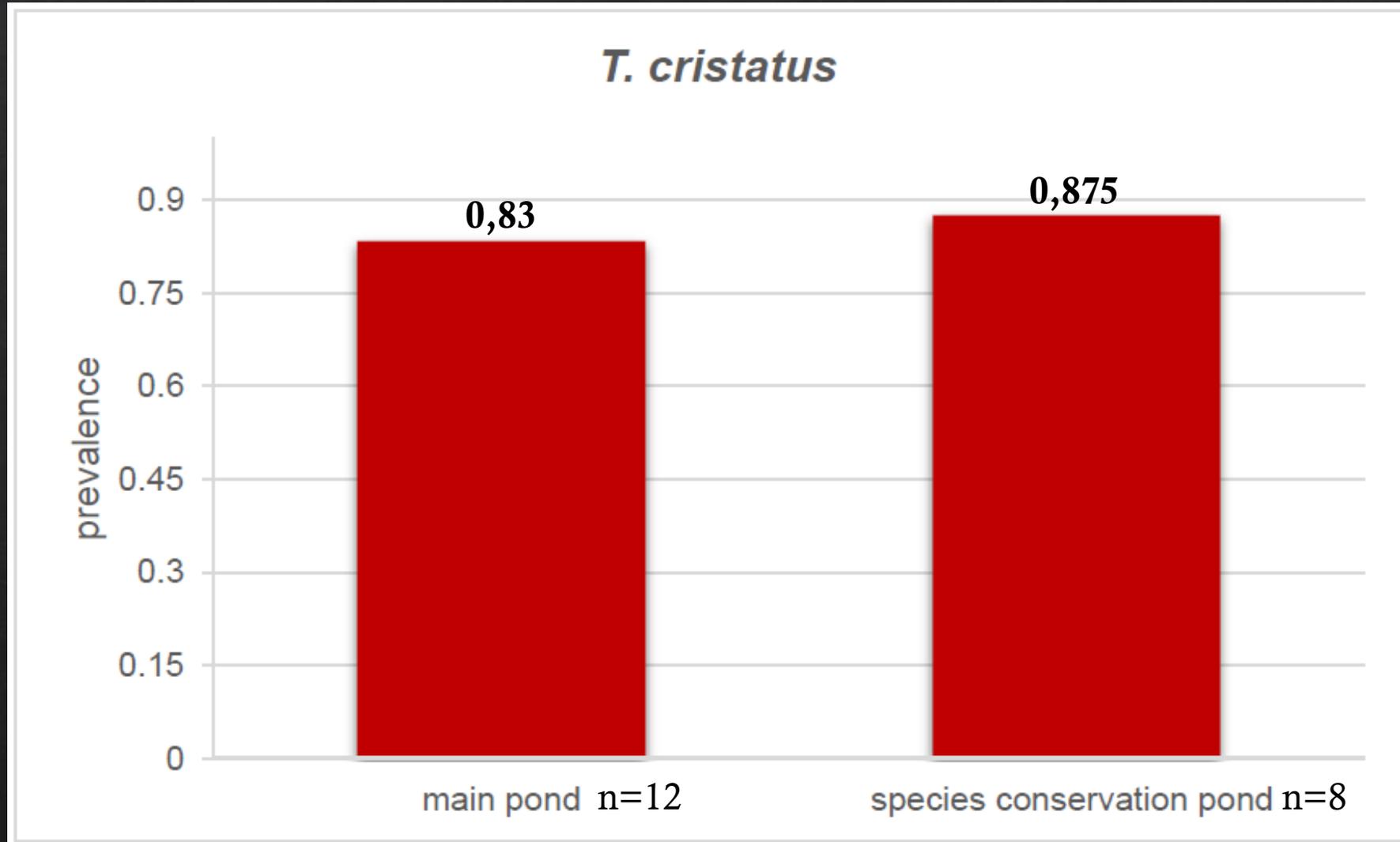


Artenschutzgewässer April 2018

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

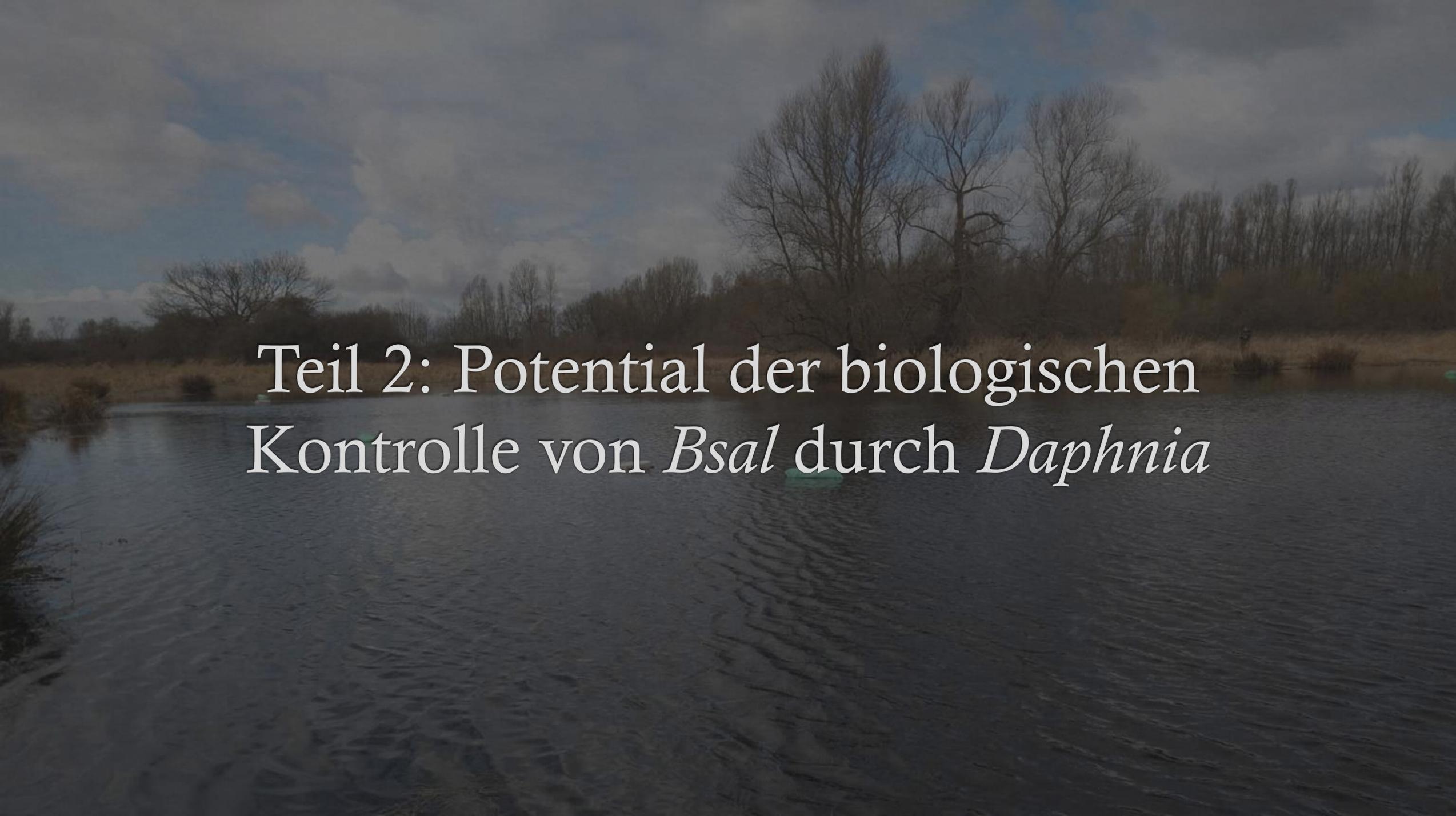
- ◇ *Bsal* in allen drei untersuchten Gewässern gefunden
- ◇ Wahrscheinlich das ganze Gebiet betroffen → Wanderungsverhalten der Amphibien
 - Bedarf weiterer Untersuchungen der Gewässer

3. Entwicklung der Molchpopulationen

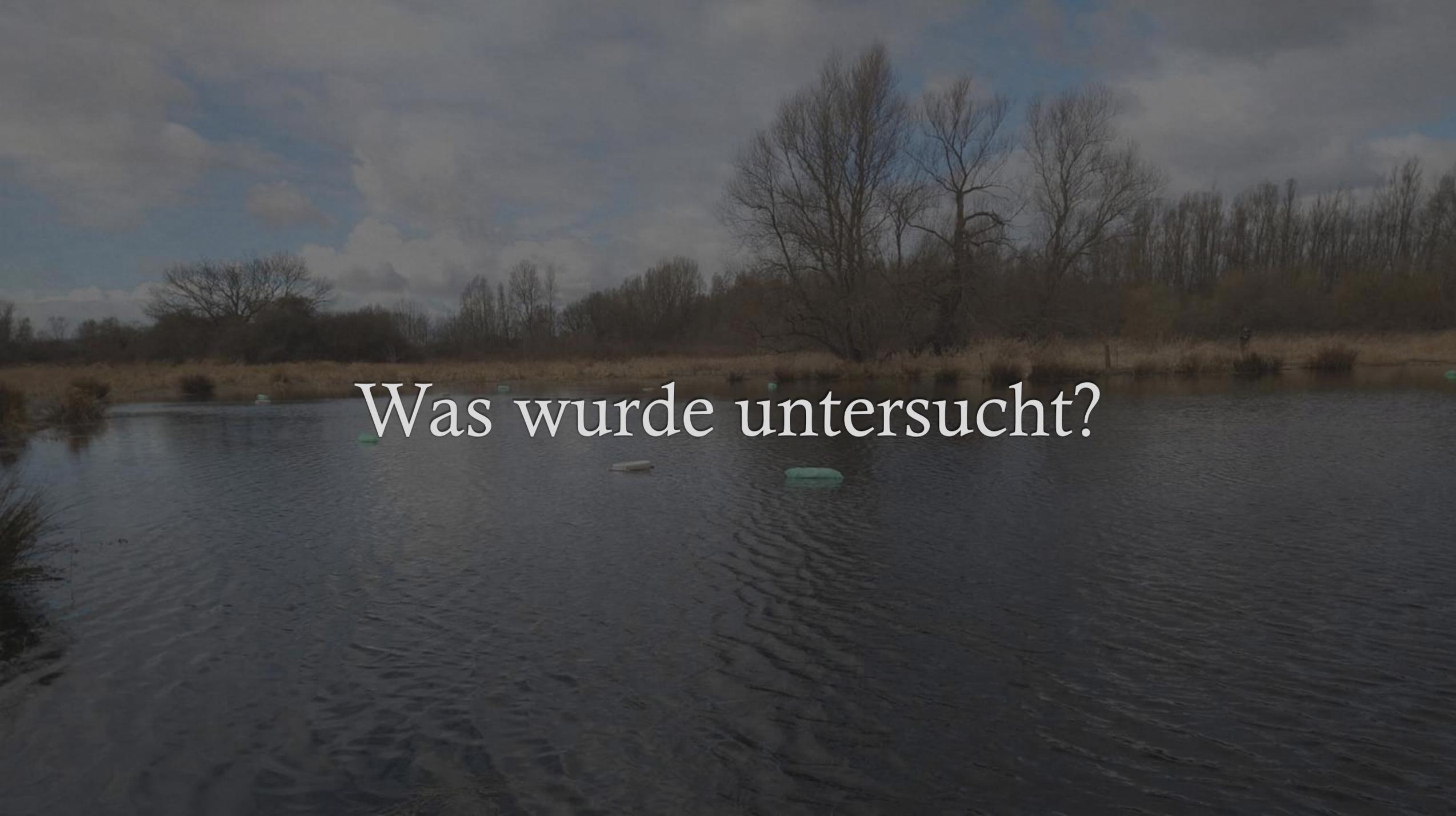
- ◇ Aktivitätsdichten teils stark zurückgegangen → vor allem Kammmolch
 - KANN in Zusammenhang mit *Bsal* sein
 - KANN in Zusammenhang mit trockenen und warmen Frühjahren sein
 - **Wahrscheinlich** ein Zusammenspiel aus beiden Faktoren

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 blue-grey with subtle ripples. In the middle ground, there is a line of trees and bushes, some of which are bare. The sky is filled with heavy, grey clouds, with a small patch of blue visible near the top center. The word "Methoden" is overlaid in the center of the image in a white, serif font.

Methoden

Fraßexperiment

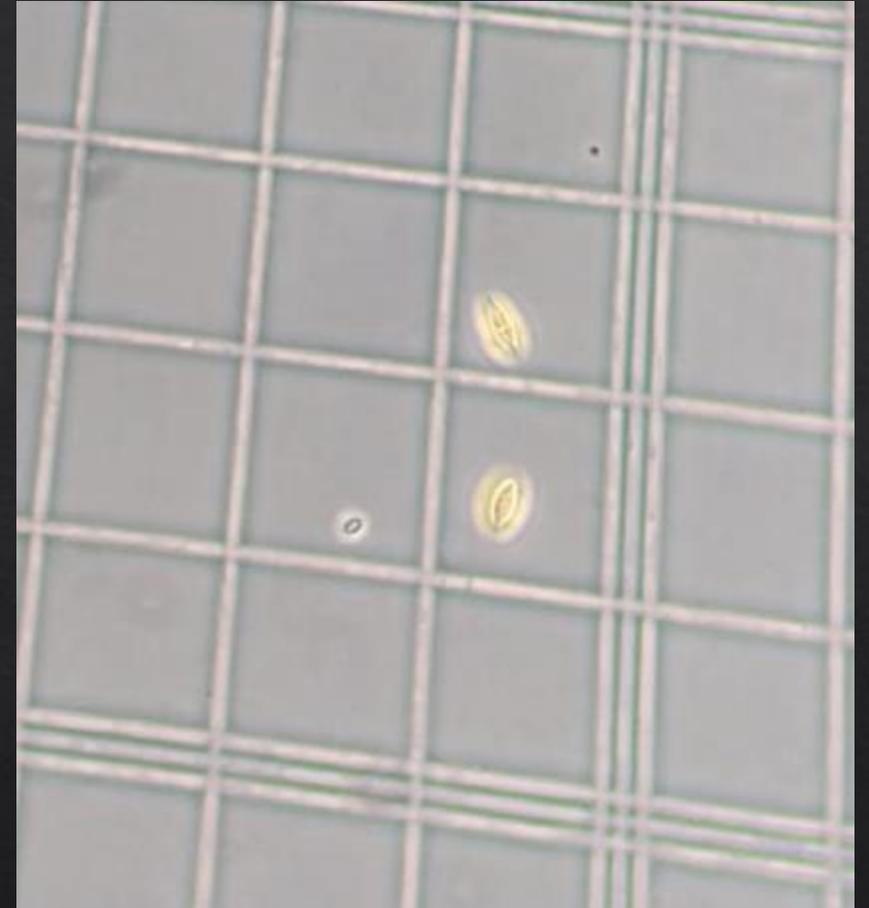
- ◆ Fütterung von *Daphnia magna* mit gefärbten Zoosporen → Kongo-Rot & Nil-Rot
- ◆ 1 *D. magna* pro Well in 200 μ l gefiltertes Wasser und ca. 100 000 Zoosporen
- ◆ Fresszeit 3 Stunden
- ◆ Verdauungszeit 24 bzw. 48 Stunden
- ◆ *D. magna* wurden fixiert und fotografiert
- ◆ Exkreme wurden mit einer Zählkammer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

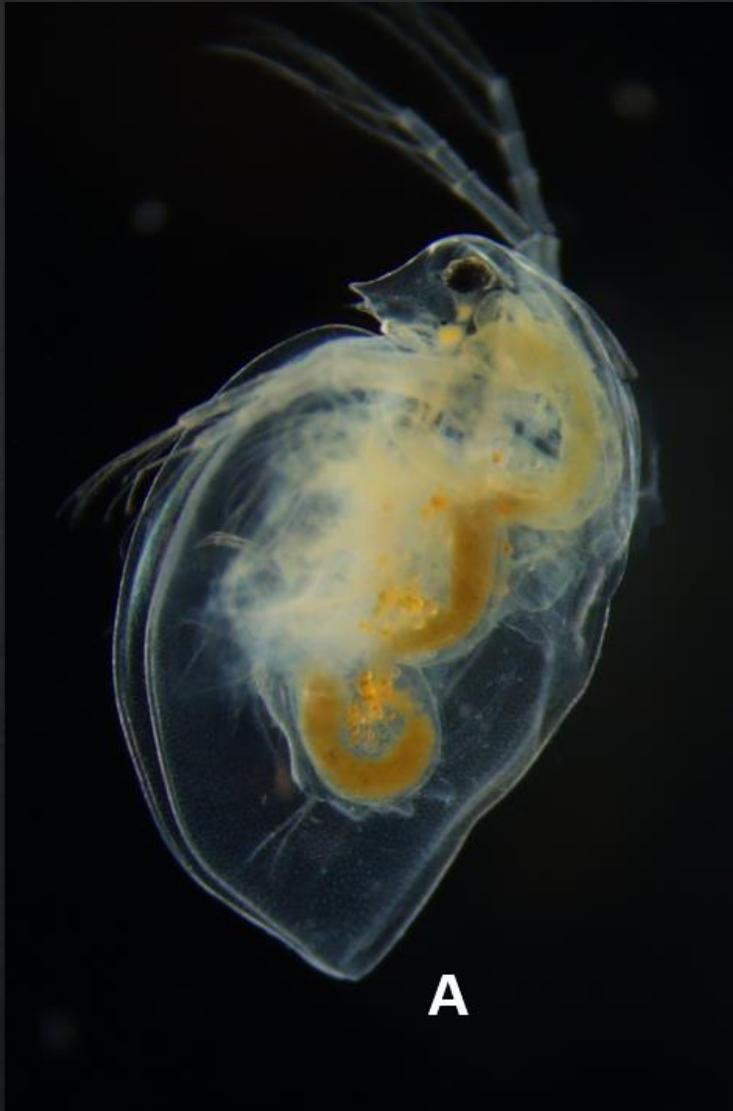


Zoospore (links) und *Scenedesmus spec.* (rechts)

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.

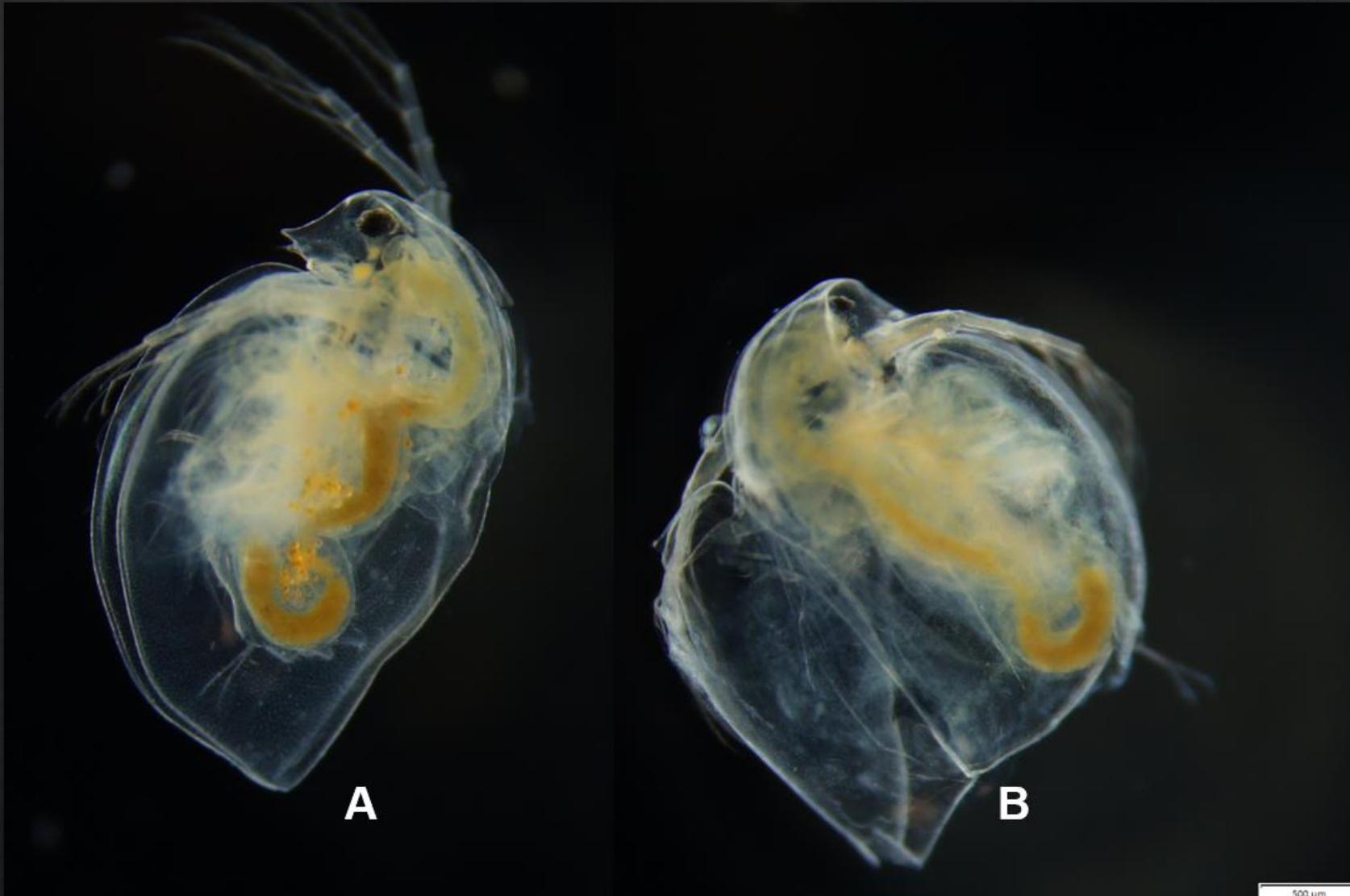
Ergebnisse

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



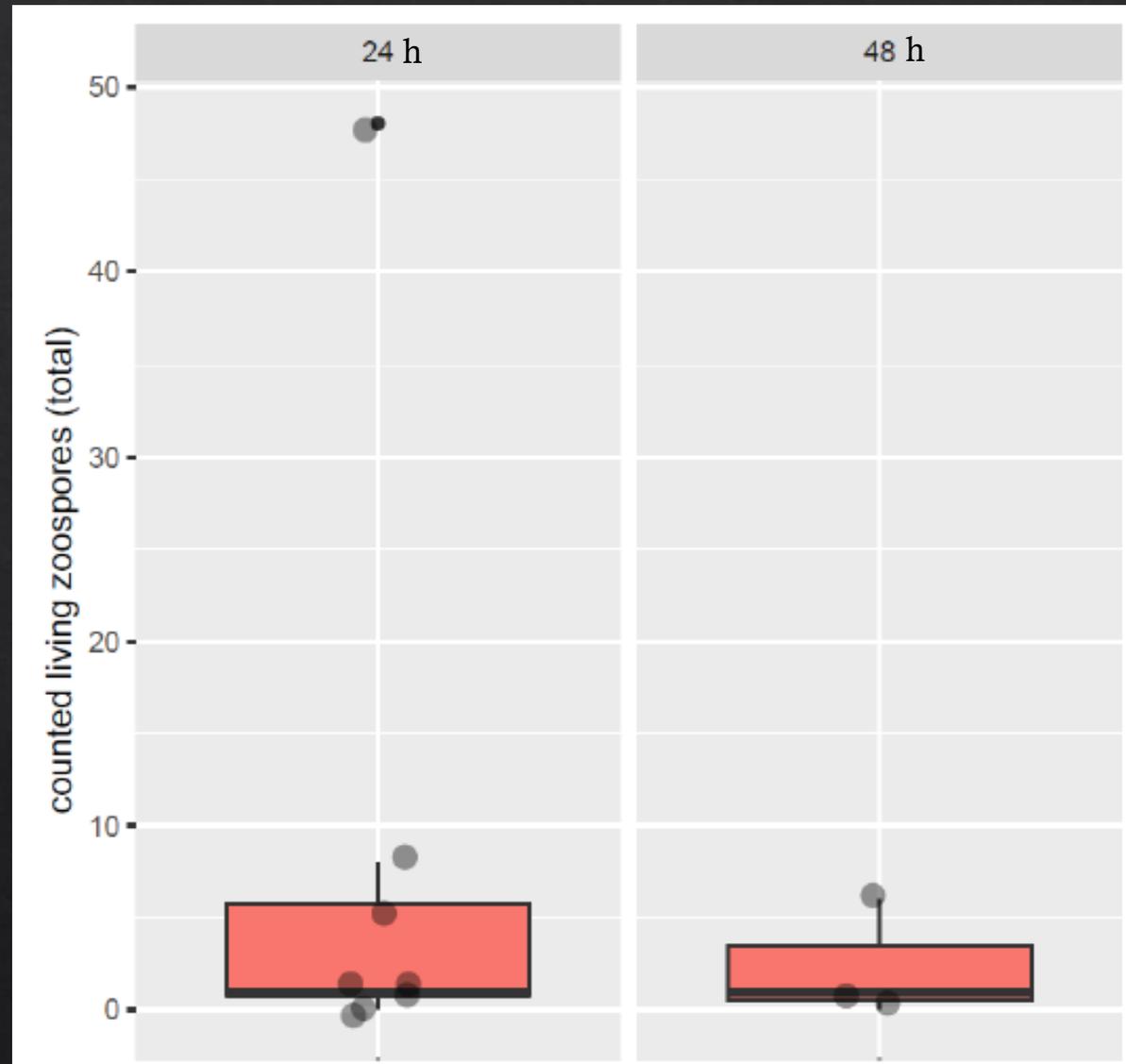
A: 3 Stunden in Wasser (Kontrolle)

Nil-Rot



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

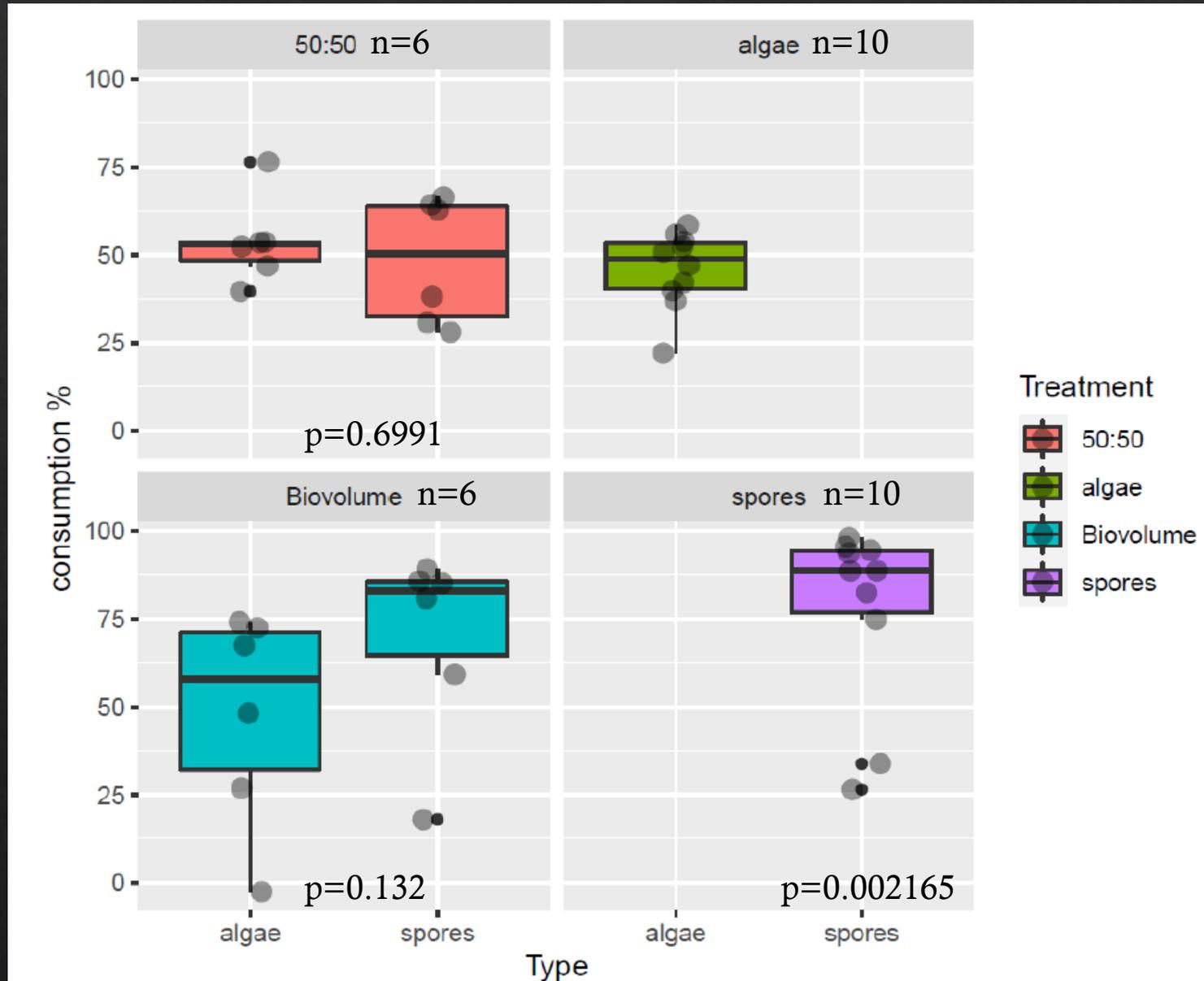
Lebende Sporen in den Exkrementen



$n_{24h}=8$

$n_{48h}=3$

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?

