

# Veränderungen an den Extremitäten von Larven und Jungtieren der Erdkröte (*Bufo bufo*): Analyse möglicher Ursachen

MICHAEL VEITH & BRUNO VIERTTEL

Mit 2 Abbildungen

## Abstract

*Damaged hindlimbs of common toads (Bufo bufo): analysis of potential causes*

In 1989, numerous freshly metamorphosed common toads (*Bufo bufo*) with noticeable damages of their hindlimbs were found in a fish pond near Remagen-Oedingen (F.R.G., Rhineland-Palatinate). The damages of the hind limb Anlagen are described in detail. Several potential causes for this finding were taken into consideration: endogenous (mutation, hybridization) and exogenous (pollution of the breeding pond, predation) influences. Predatory leeches (*Erpobdella octoculata*) damaged the larval hind limbs. The degree of damage and regeneration and, therefore, its appearance after metamorphosis strongly depend on the time of injury during larval life of the common toads.

Key words: Anura: Bufonidae: *Bufo bufo*; Hirudinea: *Erpobdella octoculata*; predation; hind limb malformations.

## 1. Einleitung

### 1.1 Chronologie der Ereignisse

In der ersten Juli-Hälfte des Jahres 1989 wurden auf einem Waldweg bei Remagen-Oedingen (Kreis Ahrweiler, Rheinland-Pfalz, BRD) unmittelbar neben einem Fischteich frisch metamorphosierte Erdkröten (*Bufo bufo* LINNAEUS, 1758) mit zum Teil extremen Veränderungen an den Hinterextremitäten gefunden. Die befragten Wissenschaftler konnten keine befriedigende Erklärung für dieses Phänomen liefern. Dennoch wurden in den Medien immer wieder Teratogene oder Mutagen als Ursache diskutiert, zumal circa 500 m entfernt eine Mülldeponie liegt.

Die 1989 durchgeführten wasserchemischen Analysen des Rheinland-Pfälzischen Landesamtes für Wasserwirtschaft erbrachten kein Ergebnis. Daraufhin beauftragte das Rheinland-Pfälzische Landesamt für Umweltschutz und Gewerbeaufsicht uns mit der Klärung der Ursachen. Die Untersuchungen wurden im Herbst 1989 sowie im Frühjahr/Sommer 1990 durchgeführt.

### 1.2 Gewässerbeschreibung

Das Gewässer liegt in einem Eichen-Buchen-Mischwald circa 800 m nordöstlich von Remagen-Oedingen (circa 200 m NN). Es handelt sich um einen

nährstoffreichen Weiher in einer ehemaligen Kaolin-Abgrabung mit breiten Flachwasserstreifen im Osten und im Westen. Die Tiefe des Gewässers ist unbekannt. Bäume stehen bis nahe an das Ufer rund um das Gewässer. Der Uferstreifen ist folglich teilbeschattet, während die Wasserfläche weitgehend besonnt ist. Durch einen 10–15 m breiten Damm getrennt schließt sich im Norden ein zweiter Teich von geringerer Größe an.

Beide Gewässer werden in unbekannter Intensität (Angelbetrieb) genutzt. Die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Fischfauna ist dem Pächter nicht genau bekannt. Schleien (*Tinca tinca*) und Moderlieschen (*Leucaspis delineatus*), letztere in großer Zahl, wurden festgestellt.

### 1.3 Ähnliche Fälle aus der Literatur

In der Literatur fanden wir nur wenige Fälle mit vergleichbaren Befunden an Anuren:

1.) 1981 wurden in einem Steinbruch in Vaihingen-Roßwag (Baden-Württemberg) frisch metamorphosierte, verkrüppelte Wechselkröten (*Bufo viridis*) gefunden (RIMPP 1981). Im Gegensatz zu den Oedinger Kröten wurden dort jedoch auch zahlreiche Veränderungen an den Vorderextremitäten festgestellt. Zudem traten auch zusätzliche Extremitäten sowie weitere morphologische Mißbildungen und Farbanomalien auf. Eine Untersuchung des Phänomens (FLINDT 1985) ergab keine Klärung, jedoch diskutierte der Autor sowohl eine Mutation als auch Hybridisierungsdefekte durch Bastardierung mit weiteren Krötenarten (*B. calamita* oder *B. bufo*).

2.) In einem oberhalb des voranstehend genannten Steinbruchs gelegenen Tümpel fand FLINDT im Jahre 1982 bei etwa einem Drittel der dortigen jungen Wechselkröten Veränderungen fast ausschließlich der Hinterextremitäten (meist Verlust von Teilen der Extremitäten). Diese phänotypisch den Oedinger Mißbildungen vergleichbaren Schädigungen führte FLINDT (1985) auf die in hoher Zahl dort vorkommenden Libellenlarven sowie auf Kannibalismus zurück. Die weitgehende Beschränkung auf die Hinterextremitäten erklärt der Autor damit, daß die Vorderextremitäten bis kurz vor der Metamorphose unter der Epidermis liegen und daher geschützt sind.

3.) Im Oktober 1987 entdeckten GROSSE & BAUCH (1988) in einem Moorgewässer (pH zwischen 3,5–4,5) im Bezirk Leipzig neu metamorphosierte Laubfrösche (*Hyla arborea*), die nur eine Hinterextremität aufwiesen. Weitere Untersuchungen an 87 jungen Laubfröschen zeigten, daß auch Individuen mit verkrüppelten Hinterbeinen sowie in einem Fall einer Verdrehung im Gelenkbereich (Distorsion) auftraten. Somit gleichen die dort beobachteten morphologischen Veränderungen auffallend denen der Oedinger Kröten. Die Autoren schlossen Säurestreß als Schädigungsursache aus, da die in einem solchen Fall normalerweise auftretenden Anzeichen fehlten. Vielmehr vermuteten sie eine teratogene Wirkung auf die Ausbildung der Hinterextremitäten. Eine solche kann ihrer Meinung nach durchaus kurzzeitig gewirkt haben; sie muß dann aber in einer sensiblen Phase der Ontogenese der Larven stattgefunden haben. Eine prädatorische Einwirkung (z. B. durch die in dem Moorgewässer massen-

haft vorkommenden Libellenlarven) schließen die Autoren aus, da ihrer Meinung nach dann auch die Vorderextremitäten betroffen sein müßten.

4.) In Bayern tauchten an einem nicht näher genannten Gewässer frisch metamorphosierte verkrüppelte Erdkröten auf (ANONYMUS 1991). Das Schadbild entsprach auffallend dem der Oedinger Tiere. Der Autor nannte als potentielle Ursache Pestizideinwirkung.

In keinem der vier voranstehend genannten Fälle wurde die Ursache für das Auftreten der Mißbildungen eindeutig geklärt. Lediglich Vermutungen wurden geäußert. Zusammengefaßt diskutieren die Autoren jedoch die meisten prinzipiell in Frage kommenden möglichen Schadfaktoren:

- Endogene Faktoren:
  - Mutation, wobei die Frage nach dem Ursprung derselben schwer zu beantworten ist,
  - Hybridisierung mit weiteren Arten der Gattung *Bufo*.
- Exogene Faktoren:
  - Schadstoffeinfluß, chemische Beeinflussung der Ontogenese,
  - Prädation, Verletzung der Larven durch Freßfeinde.

## 2. Auftreten und Beschreibung der Schädigung

### 2.1 Makroskopischer Befund

Am 22. 7. 1989 wurden im Uferbereich des Gewässers 62 frisch metamorphosierte Erdkröten gefangen. Die Abwanderung der Jungkröten war bereits nahezu abgeschlossen. Von den 62 gefangenen Jungkröten waren 53 (= 86%) geschädigt. Folgende Schädigungstypen konnten zu diesem Zeitpunkt beschrieben werden (vgl. auch Tab. 1):

Vollständiges Fehlen einer Hinterextremität (AMP) oder in Teilen (TAMP): 27mal fehlte eine komplette Hinterextremität (vgl. Abb. 1 a, b und e); das Fehlen von Extremitätenteilen in unterschiedlichem Ausmaß wurde in 37 Fällen beobachtet (Abb. 1 c–f).

Verwachsungen (VW): Bei insgesamt zwölf Hinterextremitäten wurden Verwachsungen beobachtet (Abb. 1 d). Sie betrafen sowohl den Bereich der Zehen als auch das ganze Bein (Verwachsung von Oberschenkel, Unterschenkel und Mittelfuß).

Miniaturisierung (MIN): Bei acht Individuen war je eine Hinterextremität vollständig oder in Teilen verkleinert. In drei Fällen war die Bewegungsfähigkeit der Extremität beeinträchtigt.

Deformationen (DEF): Nur zwei Tiere wiesen Deformationen auf. Diese betrafen in einem Falle beide Extremitäten (Abb. 1 f).

Gelenkversteifungen (GST): Bei ebenfalls nur zwei Tieren beeinträchtigten Versteifungen im Kniegelenk beziehungsweise im Bereich des Mittelfußknochens die Bewegungsfähigkeit der Individuen.

Distorsionen (DIS): Der einzelne Fall einer Distorsion betraf das linke Kniegelenk. Hierbei war das Bein ab dem Gelenk um 180° gedreht.

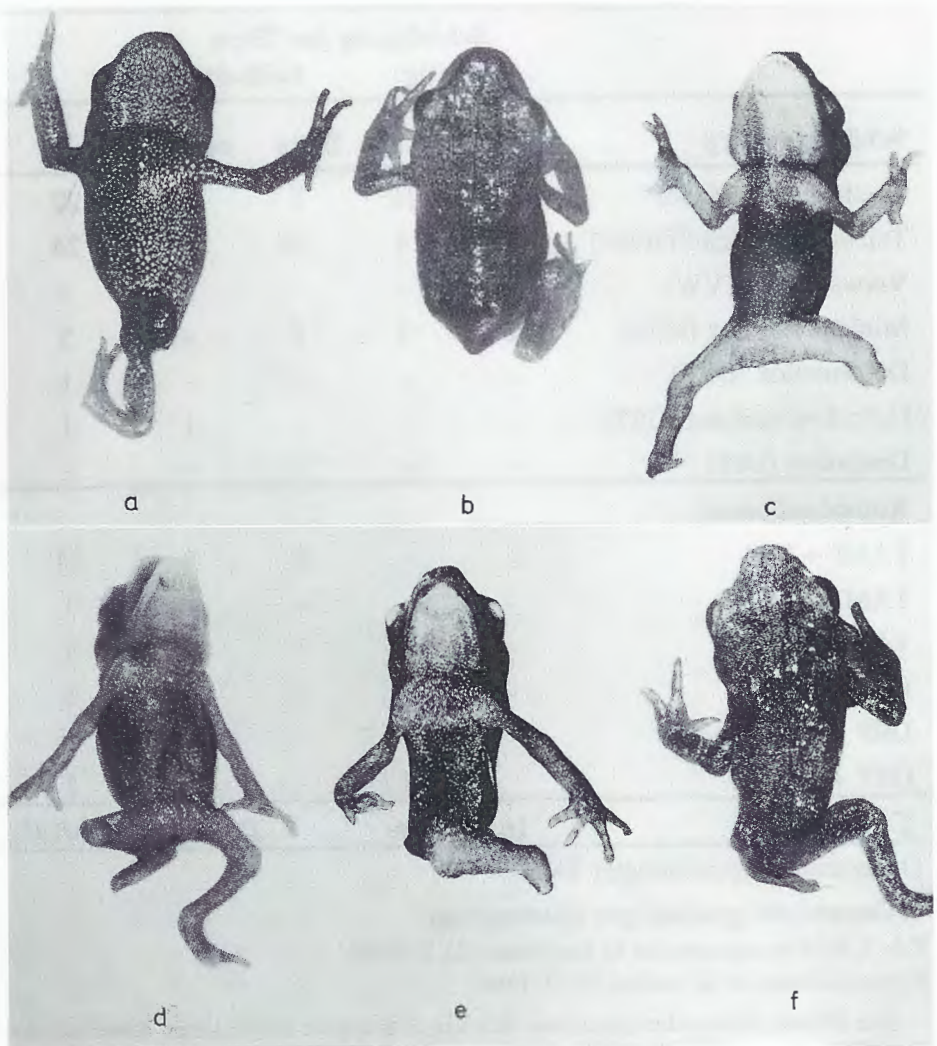


Abb. 1. Schädigungen von 62 Jungkröten am 22. Juli 1989. (a) linke Hinterextremität (HE) fehlt, Sicht von ventral; (b) gleiches Tier von dorsal; (c) linke HE fehlt ab Unterschenkel, rechte HE fehlt ab Fuß; (d) rechte HE fehlt, linke HE fehlt ab Unterschenkel; (e) mehrere Phalangen der linken HE fehlen, an der rechten HE fehlen alle Phalangen, Ober- und Unterschenkel sind verwachsen; (f) rechte HE ohne Phalangen, linke HE ohne Phalangen, verkürzt und deformiert.

Damages of hindlimbs of 62 toadlets on 22<sup>nd</sup> July 1989. (a) left hindlimb missing (ventral view); (b) dorsal view of the same specimen; (c) left hindlimb, distal part missing; (d) right hindlimb missing, left hindlimb distal part missing; (e) several phalanges of the left hindleg missing, all phalanges of the right hindleg missing, thigh and shank fused; (f) phalanges of the right hindlimb missing, left hindleg deformed, shortened, and without toes.

| Schädigungstyp          | Schädigung der Tiere |           |            |                       | Σ                     |
|-------------------------|----------------------|-----------|------------|-----------------------|-----------------------|
|                         | einseitig            |           | beidseitig |                       |                       |
|                         | links                | rechts    | links      | rechts                |                       |
| Totales Fehlen /AMP     | 9                    | 10        | 1          | 7                     | 27                    |
| Teilweise Fehlen (TAMP) | 4                    | 4         | 10         | 6                     | 24                    |
| Verwachsung (VW)        | -                    | -         | -          | -                     | -                     |
| Miniaturisierung (MIN)  | 2                    | 1         | 2          | -                     | 5                     |
| Deformation (DEF)       | -                    | -         | 1          | -                     | 1                     |
| Gelenkversteifung (GST) | -                    | -         | -          | 1                     | 1                     |
| Distorsion (DIS)        | -                    | -         | -          | -                     | -                     |
| <b>Kombinationen:</b>   |                      |           |            |                       |                       |
| TAMP + VW               | 1                    | -         | 5          | 5                     | 11                    |
| TAMP + MIN              | -                    | -         | -          | 1                     | 1                     |
| TAMP + DIS              | -                    | -         | 1          | -                     | 1                     |
| DEF + MIN               | -                    | -         | 1          | -                     | 1                     |
| DEF + VW                | -                    | -         | -          | 1                     | 1                     |
| GST + MIN               | -                    | 1         | -          | -                     | 1                     |
| <b>Σ</b>                | <b>16</b>            | <b>16</b> | <b>21</b>  | <b>53<sup>1</sup></b> | <b>74<sup>2</sup></b> |

1) Gesamtzahl geschädigter Tiere

2) Gesamtzahl geschädigter Extremitäten

Tab. 1. Schädigungstypen bei 62 Jungkröten (22. 7. 1989).

Types of damages in 62 toadlets (22. 7. 1989).

Die Häufigkeiten der einzelnen Schädigungstypen sowie ihrer Kombinationen (Tab. 1) machen deutlich, daß beide Körperseiten in gleichem Maße von den Veränderungen betroffen waren. Es traten keine signifikanten Unterschiede in der Schädigung der linken oder der rechten Hinterextremität auf ( $\chi^2$ -Test:  $\alpha > 0,05$ ).

## 2.2 Histologischer Befund

Zur lichtmikroskopischen Darstellung (Mikroanatomie und Histologie) wurden 25 geschädigte Jungkröten sowie ein Kontrolltier in Bouin fixiert, mit dem Mikrotom geschnitten (8  $\mu$ m Schnittdicke) und mit Azan gefärbt (ROMEIS 1989). Der histologische Befund deutete auf Regenerate traumatisierter Knochen-, Muskel- und Bindegewebe hin (Trauma = Verletzung). Insbesondere an den distalen Enden der verkürzten Extremitäten deuten zelluläre Veränderungen auf wachsendes Gewebe hin.

### 2.3 Schädigungsrate der Adultpopulation 1990

An zwei Abenden (16. 3. und 19. 3. 1990) wurden aus dem Bereich des Gewässers mit der höchsten Individuendichte zufallsbedingt Erdkröten gefangen. Da am ersten Fangabend nur vier Weibchen (bei 336 Männchen) gefangen werden konnten, wurden zur Ermittlung der Schädigungsrate an diesem und am darauffolgenden Abend nur männliche Erdkröten herangezogen (336 am 16. 3. und 287 am 19. 3.). Diese wurden makroskopisch auf Schädigung der Vorder- und Hinterextremitäten untersucht und die Kopf-Rumpf-Länge wurde mit einer Schieblehre gemessen. Am 19. 3. wurden von diesen 205 ungeschädigte und sieben geschädigte Erdkröten vermessen. Alle Tiere des ersten Fangabends wurden mittels Zehenamputation markiert (Zehen 2 und 7 nach BLAB 1986), um unerkannte Wiederfänge am zweiten Fangabend auszuschließen.

Von den 623 untersuchten Erdkrötenmännchen der Zufallsstichprobe wiesen vier Schädigungen an den Extremitäten auf. Hierbei fehlten bei zwei Exemplaren lediglich einzelne Zehen an den Vorder- und Hinterextremitäten, wobei es sich um solche Phalangen handelte, die vermutlich zu Markierungszwecken durch eine Forschergruppe der Universität Bonn amputiert wurden. Der Anteil geschädigter Erdkröten an der Adultpopulation lag demnach 1990 bei 0,32%.

Bei der gezielten Suche nach geschädigten Erdkröten wurden an beiden Abenden fünf weitere Männchen gefunden. Insgesamt wurden somit neun geschädigte Erdkrötenmännchen erfaßt. In der am 16. 3. am Nachbarteich gefangenen Zufallsstichprobe von 251 Männchen befanden sich keine geschädigten Tiere. Sieben geschädigte *Bufo-bufo*-Männchen wurden vermessen. Sie traten nur in den Größenklassen 63–69 mm der 205 ungeschädigten Erdkrötenmännchen auf (Größenklassen 54–79 mm, Modalwert bei 70 mm). Eine grobe Schätzung der Populationsgröße am 16. 3. 1990 ergab, daß sich circa 2500 Erdkröten in dieser Nacht am Gewässer aufhielten.

Unter der Annahme, daß Erdkrötenmännchen erst mit drei Jahren geschlechtsreif werden (siehe z. B. HEUSSER 1972, HEMELAAR 1981), sind die geschädigten Männchen vier bis fünf Jahre alt. Bei vorsichtiger Interpretation der Größenklassenverteilung läßt sich demzufolge festhalten, daß vermutlich seit mindestens 1985 die 1989/90 in der Population beobachteten Schädigungen aufgetreten sind. Nach GRUSCHWITZ (mündl. Mitteilung) haben Mitarbeiter des Zoologischen Instituts der Universität Bonn bereits 1985 einen hohen Anteil geschädigter Jungkröten beobachtet und untersucht.

### 2.4 Schädigung anderer Amphibienarten

Bei der Erfassung der *B. bufo*-Adultpopulation am 16. 3. wurden auch die gezielt oder zufällig gefangenen Adulti anderer Amphibienarten auf Schädigungen untersucht. Insgesamt wurden 30 Ex. *Rana dalmatina*, 7 Ex. *Rana temporaria*, 35 Ex. *Triturus helveticus* und 21 Ex. *Triturus vulgaris* untersucht. Bei keiner dieser Arten wurden makroskopisch erkennbare Schädigungen gefunden. Im Rahmen quantitativer Erfassungen der Begleitfauna wurden insgesamt



14 Larven der Gattung *Rana* gefangen. Eine dieser Larven (gesammelt am 4. 7.) wies an der linken Hinterextremität den Schädigungstyp TAMP auf.

Die gleiche Schädigungsrate wie bei *Bufo bufo* vorausgesetzt, war die Wahrscheinlichkeit, unter den wenigen untersuchten Adulti der Gattung *Rana* geschädigte Individuen zu finden, äußerst gering. Der Fund einer geschädigten *Rana*-Larve zeigt jedoch eindeutig, daß diese Arten von den Schädigungen ebenfalls betroffen sind. Bei Molchen (Gattung *Triturus*) ist das Regenerationsvermögen der Larven und Adulti so hoch, daß während der Larvalphase amputierte Extremitäten bis zur Geschlechtsreife wieder regeneriert werden. Daher war bei dieser Gattung nicht mit Befunden zu rechnen.

### 3. Untersuchungen zur Klärung potentieller Ursachen – Methoden, Ergebnisse, Diskussion

#### 3.1 Wasserchemische Untersuchungen

1990 wurden zu allen Sammelzeitpunkten (Ausnahme 8. 5.) Wasserproben zur Bestimmung der folgenden Parameter entnommen: Wassertemperatur [°C], pH, Gesamthärte [°dH],  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{PO}_4^{2-}$ , Gesamtphosphat,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ , Cl<sup>-</sup>, BSB [alle in mg/l]. Da in der Larvenstichprobe vom 5. 6. erstmals eine erhöhte Zahl geschädigter Larven auftrat, wurde am 20. 6. 1990 eine Wasserprobe entnommen, die vom Rheinland-Pfälzischen Landesamt für Wasserwirtschaft auf 15 Metalle, 89 organische Einzelstoffe und den Summenparameter AOX untersucht wurde. Zusätzlich wurden Biotests (Fisch-, Daphnien- und Leuchtbakterientest) sowie Tests auf Gentoxizität (DIT<sup>-</sup>, umu- und Visko-Test) durchgeführt.

Keine der durchgeführten Analysen erbrachte Hinweise auf eine Gewässerunreinigung. Die ermittelten wasserchemischen Werte lassen somit keinerlei Schlüsse auf eine chemisch bedingte Schädigung der Erdkrötenlarven zu. Allerdings wird bei solchen Routineuntersuchungen nur ein Standardsatz von Stoffen und Parametern getestet.

#### 3.2 Kreuzungsversuche

Von den am 16. 3. und 19. 3. gefangenen und geschädigten Männchen wurden sechs im Labor mit gesunden Weibchen in Plastikwannen verpaart. Zur Kontrolle wurden zwei Pärchen ungeschädigter Erdkröten zusammengesetzt. Vier Pärchen laichten nicht ab; die Eier einer weiteren Verpaarung verpilzten bis auf wenige, so daß zur Auswertung nur drei Kreuzungen zur Verfügung standen. Von diesen wurden jeweils 100 Larven in Aquarien (60 l) bis zur Metamorphose gehältert. Die restlichen Larven wurden ausgesetzt.

Weder in den Kreuzungsversuchen mit geschädigten Männchen noch in den Kontrollen traten geschädigte Larven auf. Da aus den geschilderten Kreuzungsversuchen keine geschädigten Larven hervorgingen, scheidet eine dominante Mutation als Verursacher der Schädigung aus. Einen rezessive Mutation kann hingegen nicht ausgeschlossen werden.

Unter der Annahme, daß die Schädigung durch ein rezessives Allel an nur einem Genort hervorgerufen wurde, müßte bei einem 1989 beobachteten Anteil von 86 % geschädigter Jungtiere die Häufigkeit dieses Allels in der Jungkrötenpopulation knapp 93 % betragen haben. Nimmt man zudem an, daß Larven, die dieses Allel tragen würden (sowohl homo- als auch heterozygot), zumindest keinen Vitalitätsvorteil gegenüber genetisch normalen Larven haben und die Verpaarungswahrscheinlichkeit erwachsener geschädigter Kröten nicht wesentlich vermindert ist, so müßte 1989 theoretisch auch die Adultpopulation einen sehr hohen Anteil an geschädigten Tieren aufgewiesen haben. Das fast völlige Fehlen geschädigter Tiere 1990 steht dem jedoch entgegen. Folglich kann auch eine rezessive Mutation weitgehend ausgeschlossen werden.

### 3.3 Elektrophoretische Untersuchungen zum Nachweis von Hybridisierung

Eine Hybridisierung zweier Arten (*B. bufo* könnte mit den in einer benachbarten Kaolingrube potentiell vorkommenden Arten *B. viridis* und *B. calamita* hybridisiert haben) läßt sich durch den Einsatz der Isoenzymelektrophorese sehr leicht nachweisen. An Enzym-Genorten, die für die beiden hybridisierenden Arten diagnostische Allele aufweisen (für die mitteleuropäischen Vertreter der Gattung *Bufo* vgl. SHERIF 1990), besitzen die F<sub>1</sub>-Hybride beide Elternallele. Ihre Heterozygotie läßt sich folglich am Allozym-Muster eindeutig nachweisen.

Im vorliegenden Fall wurden mittels Stärkegelelektrophorese bei sechs geschädigten Jungkröten die folgenden Enzyme untersucht: Phosphoglucomutase (PGM, EC 5.4.2.2), Kreatinkinase (CK, EC 2.7.3.2), Mannosephosphat-Isomerase (MPI, EC 5.3.1.8), Dipeptidase (PEP, EC 3.4.13.11), Laktatdehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27), Malatdehydrogenase (MDH, EC 1.1.1.37), Isocitratdehydrogenase (IDH, EC 1.1.1.42), 6-Phosphogluconatdehydrogenase (6-PGD, EC 1.1.1.44), Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT, EC 2.6.1.1), Pyruvatkinase (PK, EC 2.7.1.40) (siehe HILLIS & MORITZ 1990 zur Methodik allgemein, sowie BARZ 1990 für *Bufo bufo*).

Bei allen untersuchten Enzymen entsprachen die resultierenden Bandenmuster denen homozygoter Individuen. Zudem stimmten sie, abgesehen von Intensitätsunterschieden, mit denen von *Bufo-bufo*-Larven aus der Saarpfälzischen Moorniederung überein (vgl. BARZ 1990). Demnach scheidet Hybridisierung als Ursache für die beobachteten Mißbildungen aus.

### 3.4 Schädigungsraten der Larven und Jungkröten 1990 im Freiland

Zur Klärung, ob innere oder äußere Faktoren die Veränderungen der Hinterbeine bedingen, wurden die Freilandfänge später Embryonalstadien und früher Larvenstadien (ab Stadium 22, keine makroskopisch sichtbaren Hinterbeinanlagen) bis zur Metamorphose von mindestens 75 % der Individuen gehältert (n = 100, in 60 l Tümpelwasser, Aquarienmaße: L = 78,5 cm, B = 35 cm, H = 29 cm).



Tab. 2. Schädigungsrate von Larven und Jungkröten im Freiland 1990.  
Rate of damages in larvae and toadlets in the field 1990.

| Sammel-<br>Datum | ausgewertet als |                  | ungeschädigt | geschädigt         | Anteil geschädigter<br>Tiere (%) |
|------------------|-----------------|------------------|--------------|--------------------|----------------------------------|
|                  | Jungkröten      | Larven (Stadium) |              |                    |                                  |
| 19.03.           | 90              | 5 (32-42)        | 95           | 0                  | 0                                |
| 30.03.           | 75              | 19 (32-44)       | 94           | 0                  | 0                                |
| 24.04.           | 166             | 12 (34-41)       | 177          | 1 <sup>1)</sup>    | 0,6                              |
| 08.05.           | 99              | 0                | 98           | 1                  | 0                                |
| 22.05.           | 96              | 0                | 92           | 8                  | 8,0                              |
| 05.06.           | -               | 259 (36-39)      | 216          | 43 <sup>2)</sup>   | 16,6                             |
| 20.06.           | -               | 186 (40-41)      | 135          | 51 <sup>3)4)</sup> | 27,0                             |
| 04.07.           | 100             | 118 (40-42)      | 147          | 69                 | 31,9                             |

1) Verkrümmung der Wirbelsäule (Chordom)

2) davon 2 Larven frisch geschädigt

3) davon 11 Larven frisch geschädigt

4) hierbei 2 Larven mit geschädigten Vorderextremitäten

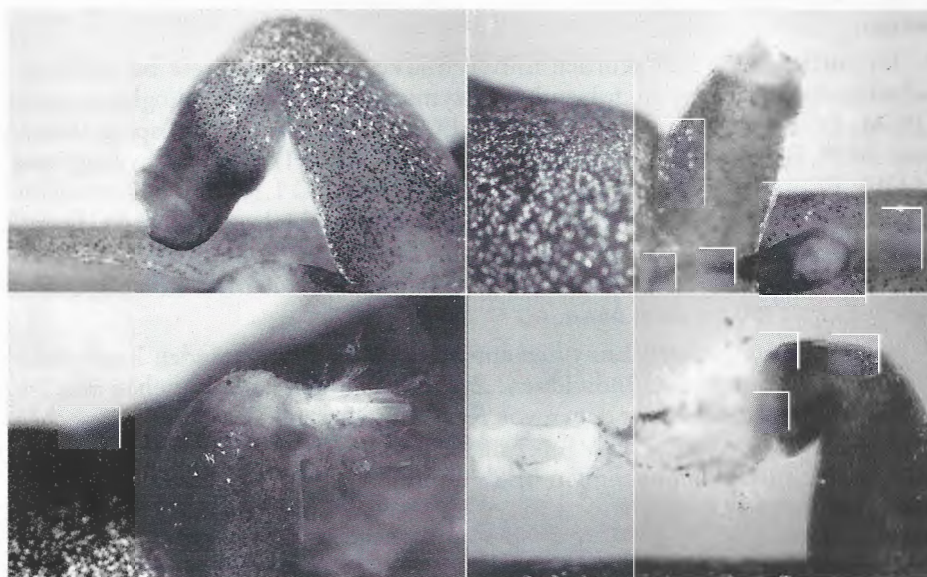


Abb. 2. Frisch traumatisierte, späte Larvenstadien von *Bufo bufo* aus dem Freiland. (a) Amputation am Unterschenkel, (b) Amputation am Unterschenkel mit freistehender Tibio-Fibula, (c) Amputation am Oberschenkel, (d) Amputation zwischen Mittelfuß und Unterschenkel, Femur und Tibio-Fibula freistehend.

Recently damaged late larval stages of *Bufo bufo* from the field. (a) amputation of the shank, (b) amputation at the shank, tibio-fibular without flesh, (c) amputation at the thigh, (d) amputation between middle foot and shank, femur and tibio-fibula without flesh.

Für die älteren Larvenstadien (ab Stadium 36, mit bereits gut entwickelten Hinterbeinanlagen) wurden die Schädigungsraten direkt im Freiland ermittelt.

Die Jungkröten, die sich aus den ab den späten Embryonalstadien 22–23 im Labor gehälterten Larven entwickelten, zeigten praktisch keine Schädigungen. Ab dem 22. 5. wurden Larven ab Stadium 35 (Hinterbeinanlagen fast gänzlich ausgewachsen) ins Labor gebracht, bei denen die Schädigungsrate mit der vorherigen Verweildauer der Larven im Biotop deutlich anstieg (Tab. 2). Dies läßt den Schluß zu, daß es sich hier um vor dem Fang bereits geschädigte Tiere handelte. Auffällig ist die hohe Zahl der durch blutige und haematosierte Traumata als frisch geschädigt ausgewiesenen Larven (Freilandfänge vom 5. 6. und 20. 6.; vgl. Abb. 2).

Die Tatsache, daß im Falle der früh (Stadien 22–28) vom Freiland zur Haltung ins Labor verbrachten Embryonen beziehungsweise Larven keine Hinterbeinschädigungen der Jungkröten zu beobachten sind, beweist, daß der Schädigung keine genetischen Faktoren (Mutationen, Hybridisierung) zugrunde liegen können. Die Schädigungen müssen folglich während der Larvalphase erworben worden sein. Die mit dem Alter und der Verweildauer der Larven steigende Schädigungsrate läßt auf einen im Freiland ständig einwirkenden Faktor schließen.

Die am 4. 7. 1990 beobachtete Schädigungsrate der Jungkröten von 36% liegt deutlich unter der Rate von 1989 (86%). 1990 wurden die Jungkröten bereits in

Tab. 3. Überlebens- und Schädigungsrate der exponierten Erdkrötenlarven (Anzahl überlebender Ind./Anzahl geschädigter Ind.).

Survival rate and rate of damages in exposed *Bufo bufo* larvae (number of surviving individuals/number of individuals with damages).

| Expos. | Kontrolle am |        |        |                    |                    |
|--------|--------------|--------|--------|--------------------|--------------------|
|        | 08.05.       | 22.05. | 05.06. | 20.06.             | 04.07.             |
| 24.04. | 35/0         | 1/0    | 1/0    | 1/0 <sup>1)</sup>  | -                  |
| 08.05. |              | 48/0   | 44/0   | 44/6 <sup>3)</sup> | 2/0 <sup>2)</sup>  |
| 22.05. |              |        | 44/0   | 44/6 <sup>3)</sup> | 17/3 <sup>2)</sup> |
| 05.06. |              |        |        | 50/1               | 0/0 <sup>2)</sup>  |
| 20.06. |              |        |        |                    | 3/0 <sup>2)</sup>  |

<sup>1)</sup> Versuch abgebrochen;

<sup>2)</sup> infolge starker Regenfälle wurden die Käfige überflutet und die Metamorphosestadien ertranken; zahlreiche Ex. von *Erpobdella octoculata* waren in die Käfige eingedrungen;

<sup>3)</sup> 1 Ex. *Erpobdella octoculata* war in den Käfig eingedrungen.

der ersten Woche der Metamorphose der gesamten Larvenpopulation erfaßt. Die vorjährige Schädigungsrate hingegen wurde praktisch nach Abschluß der Metamorphose der Gesamtpopulation ermittelt. Sie wurde daher 1989 sicherlich aus mehreren Gründen zu hoch geschätzt:

- Möglicherweise benötigen Wundheilung und/oder Teilregeneration Energien, was zu einer Entwicklungsverzögerung führen könnte. Ein Anstieg des Anteiles an geschädigten metamorphosierenden Larven zum Ende der Metamorphosezeit wäre die Folge.
- Die Mobilität geschädigter Jungkröten ist vermindert; sie halten sich demnach im ufernahen Substrat länger auf. Ihr Anteil an der hier nachweisbaren Teilpopulation steigt somit an.

### 3.5 Expositionsversuche

Zur Klärung der Frage, ob ein im Teichwasser befindlicher Faktor die Veränderungen verursacht, wurden ab dem 24. 4. 1990 im Abstand von jeweils zwei Wochen 50 *B. -bufo*-Larven aus einer Kontrollpopulation im Hunsrück im Gewässer exponiert. Dies erfolgte in allseitig mit Kunststoffgaze (Maschenweite: 1 mm) bespannten Käfigen mit einer Größe von 30 × 30 × 20 cm. An den jeweils folgenden Expositionstagen wurden die an früheren Tagen exponierten Käfige kontrolliert und die Überlebensrate der Larven sowie gegen Ende der Expositionszeit die Schädigungsrate bestimmt.

Alle in den Käfigen beobachteten Schädigungen (Tab. 3) betrafen die Hinterextremitäten. In allen Käfigen fanden sich bei den Kontrollen *Triturus*-Larven unterschiedlicher Altersstufen. Sie sind als junge Larven in die Käfige eingedrungen und konnten diese nach ihrem Wachstum nicht mehr durch die zu engen Maschen verlassen, so daß ihre Zahl im Käfiginnern mit der Zeit anstieg. *Erpobdella octoculata* (Rollegel) kann auch ausgewachsen jederzeit in die Käfige eindringen beziehungsweise sie wieder verlassen, wie mehrfach beobachtet werden konnte.

Das Auftreten geschädigter Erdkrötenlarven in den Expositions Käfigen kann durch (1) Einwirkung eines im Teichwasser gelösten Schadfaktors, (2) durch die Exposition bereits geschädigter Larven oder (3) durch in die Käfige eingedrungene Prädatoren erklärt werden.

Auf die Anwesenheit eines chemischen Schadfaktors gibt es keine Hinweise (siehe oben). Die Exposition bereits geschädigter Larven kann hingegen nicht ausgeschlossen werden, da am 4. 7. im Fanggewässer der Expositionslarven (Hunsrück) unter 400 kurz vor der Metamorphose stehenden Larven 35 geschädigte Individuen beobachtet wurden (Schädigungsrate 8,8%). Die Schädigungen entsprachen zudem in ihrem makroskopischen Erscheinungsbild den in Remagen-Oedingen beobachteten.

Das am 20. 6. beobachtete Auftreten einer einzelnen geschädigten Larve im Expositions Käfig vom 5. 6. kann mit dieser vergleichsweise niedrigen Schädigungsrate erklärt werden. Der am gleichen Kontrolltag demgegenüber stark erhöhte Anteil (6 von 44) geschädigter Larven in den Körben vom 8. 5. und 22. 5. könnte jedoch auch auf einen Prädatör zurückgeführt werden, der durch

die Käfigmaschen eindringen kann und durch seine Ernährungsweise die beobachteten Schädigungen hervorruft. In Frage kommen sowohl *Triturus*-Larven als auch Rollegel (*Erpobdella octoculata*; siehe oben).

### 3.6 Prädationsversuche

Als potentielle Prädatoren wurden aufgrund der bislang beschriebenen Ergebnisse im Oedinger Erdkrötenlaichgewässer Molchlarven (*Triturus* sp.) und Rollegel (*Erpobdella octoculata* L.) vermutet. Da im Gewässer Moderlieschen (*Leucaspis delineatus* Heckel) in hoher Abundanz vorkamen, wurden auch sie in die Prädationsversuche einbezogen. Begleituntersuchungen zur Dichte weiterer, als potentielle Prädatoren in Frage kommender Invertebraten wiesen keine weitere Art für die Prädationsversuche aus.

Der Versuchsaufbau und die Ergebnisse wurden bereits an anderer Stelle detailliert beschrieben (VIERTEL & VEITH 1992). Erwähnt sei lediglich, daß die Dichteverhältnisse zwischen Rollegeln und Erdkrötenlarven unterschiedlich gewählt wurden, um gegebenenfalls dichteabhängige Schädigungsraten ermitteln zu können.

Die Befunde zeigen, daß Moderlieschen und Molchlarven weder als Prädatoren in Frage kommen noch die Erdkrötenlarven verstümmeln. Ein ganz anderes Bild ergaben die Versuche mit den Rollegeln. Die Rollegel packten die Erdkrötenlarven mit dem Mundsaugnapf und umschlangen sie. Meist versuchten sie sich dabei mit dem hinteren Saugnapf an der Aquarienwand festzuhalten. In zwei Fällen war dieses Beutefangverhalten bereits etwa fünf beziehungsweise 15 min nach Versuchsbeginn zu beobachten. Der Beutefang eines Egel bewirkt das Herbeieilen der anderen Egel, so daß die große und bewegliche Beute gemeinsam festgehalten, angefressen und in einigen Fällen getötet wird. Die beobachteten Verletzungen und ihre Regenerate betreffen Erdkrötenlarven, die sich wieder befreien konnten. Überaus häufig sind prominente Organe wie der Schwanz und ab dem Stadium 32 die Hinterextremitäten verletzt. Wie an frisch verletzten Erdkrötenlarven beobachtet werden kann, ist die Traumatisierung der Hinterbeine meist erheblich und liegt in der Regel im Knie- oder Fußbereich. Die Tatsache, daß ab dem Stadium 42 auch Vorderbeine verletzt sind, beweist zusätzlich die Einwirkung der Rollegel. Diese Erdkrötenlarven wurden im Stadium 41 oder davor in den Versuch eingesetzt; bis zum Stadium 41 entwickeln sich die Vorderbeine jedoch unter der Epidermis.

Die Prädationsexperimente weisen somit *Erpobdella octoculata* (Rollegel) eindeutig als den Verursacher aus. Die Tatsache, daß nur in einem Versuch eine deutliche ‚Dosis-Wirkungs-Beziehung‘ unterschiedlicher Prädatorendichten auf die Schädigungsrate beobachtet wurde, überrascht nicht (siehe hierzu VIERTEL & VEITH 1992): (1) Die Rollegel wurden mit unterschiedlichen Hungerzuständen, das heißt mit unterschiedlichen Beutefangappetenzen in den Versuch eingebracht; (2) es ist zu vermuten, daß nicht alle Rollegel in gleicher Weise beim Beutefang erfolgreich sind; (3) ist ein Rollegel erfolgreich, so partizipieren Artgenossen an der Beute. Dies bedeutet, daß nicht jeder Rollegel zum Überleben selbst eine Erdkrötenlarve erbeuten muß. Somit bleibt besonders die Zahl großer Beutetiere relativ zur Anzahl der Rollegel klein. Es kann angenommen werden,

daß dies besonders bei älteren und damit größeren Erdkrötenlarven der Fall ist. Bei der Anwesenheit nur eines Rollegels im Versuch treten diese Faktoren aufgrund des erheblichen Dichteunterschiedes zu den 15 Rollegeln in den Hintergrund und wirken nicht mehr nivellierend auf Prädations- und Schädigungsrate.

Die Art der Verletzungen ist durch die saugende Nahrungsaufnahme der Rollegel bedingt. Wie die blutsaugenden Arten erzeugen sie mit dem muskulösen Egelpharynx einen Unterdruck. Der Mundsaugnapf dichtet um die Körperpartien der Beute herum das Unterdrucksystem gegen die Außenwelt ab. Durch den Unterdruck werden Gewebestücke von der Beute abgelöst, oberflächennahe Gefäße zerreißen und eine Haematomisierung tritt ein. Nach den Beschreibungen der Nahrungsaufnahme der Gattung *Erpobdella* durch HERTER (1932) ist anzunehmen, daß die Rollegel die Larvenextremitäten auch direkt oral aufnehmen und dann erst durch Saugen von der lebenden Erdkrötenlarve ablösen.

#### 4. Schlußbetrachtung

Die voranstehend beschriebenen und diskutierten Ergebnisse lassen den eindeutigen Schluß zu, daß Prädation durch Rollegel (*Erpobdella octoculata*) die Ursache für die beobachteten Schädigungen ist. Diese Egelart ernährt sich normalerweise von Tubificiden und Chironomiden, sofern diese in ausreichender Menge vorhanden sind (vgl. z. B. YOUNG & IRONMONGER 1979, SCHÖNBORN 1985, BRADLEY & REYNOLDS 1987). Die Zusammensetzung der Oedinger Zoozönose gibt alleine jedoch keinen Aufschluß darüber, ob die hohe Dichte *Erpobdella octoculata* dazu zwingt, neue Nahrungsressourcen (hier: *Bufo-bufo*-Larven) zu erschließen. Zwar steigt ab Mai das Angebot an Chironomiden stark an, parallel hierzu dürfte jedoch auch der Nahrungskonsum der Egel steigen (z. B. YOUNG & PROCTER 1975). Natürliche Feinde von *Erpobdella octoculata*, wie zum Beispiel Großinsektenlarven oder andere Großegelarten (SCHÖNBORN 1985), fehlen weitgehend.

Die Beobachtung frisch traumatisierter Hinterbeine bei einigen Freilandfängen läßt den Schluß zu, daß sich die Egel entweder mit abgebissenen Hinterbeinen begnügen, oder daß ihnen die Erdkrötenlarven in einigen Fällen beim Freßakt entkommen sind. Die „verheilten“ Hinterbeinschäden sind Regenerate unterschiedlichen Grades, wie dies bereits die histologischen Befunde belegen. Die Ausprägung des Beinregenerates zum Zeitpunkt des Fanges der Erdkrötenlarven und damit die Möglichkeit, überhaupt eine Schädigung zu erkennen, hängt von zwei Faktoren ab. Die Regenerationsfähigkeit nimmt bei Anurenlarven während der Prämetamorphose in der Extremität von distal nach proximal ab (DENT 1962, GOSS 1974). Daher sind (1) das Larvenstadium zum Zeitpunkt der Schädigung und (2) die Lage des Traumas von Bedeutung. Der Zeitpunkt des Freilandfanges und seine Auswertung hat in Verbindung mit dem Zeitpunkt und dem Umfang des Traumas somit einen indirekten Einfluß auf die Diagnose einer Schädigung und daher auf die beobachtete Schädigungsrate.

Der gravierende Unterschied der Schädigungsraten zwischen der Juvenilpopulation (ca. 80% 1985 und 1989, 36% 1990) und der Adultpopulation (< 1%) wird auf eine starke Minderung der Überlebensrate geschädigter Tiere und damit auf ein ständiges Absinken des Anteils in höheren Alters-(und Größen-)klassen zurückgeführt. Eine Wachstumsverlangsamung infolge einer solchen Vitalitätsminderung muß zusätzlich in Betracht gezogen werden. Die Überlebensrate geschädigter Larven sinkt demnach im Vergleich zu ungeschädigten Individuen drastisch. Der Einfluß von *Erpobdella octoculata* auf die Dynamik der Population ist somit potentiell groß. Trotzdem konnte sich auch über Jahre hinweg eine individuenstarke Population etablieren.

Ein Vergleich der vorliegenden Befunde mit den bei FLINDT (1985), GROSSE & BAUCH (1988) und ANONYMUS (1991) beschriebenen Schadbildern legt nahe, daß es sich auch bei diesen Fällen um prädationsbedingte Schädigungen handelt. FLINDT (1985) bemerkt hierzu treffend, daß eine Schädigung der Vorderextremitäten, wie sie von GROSSE & BAUCH (1988) bei der Einwirkung eines Prädatoren gefordert wurde, relativ unwahrscheinlich ist, da diese bis kurz vor der Metamorphose unter der Haut verborgen und damit vor Fraß geschützt sind. Die Tatsache, daß auch in der Kontrollpopulation des Hunsrücks circa 9% der metamorphosierenden Erdkröten vergleichbare Schädigungen aufwiesen, zeigt, daß die Befunde in der Oedinger Population keine Einzelfälle sind.

Die vorliegende Untersuchung macht deutlich, wie schwierig es sein kann, die Ursachen für Mißbildungen von Amphibien in Freilandpopulationen zu ermitteln. Die Bearbeitung eines solchen Problems erfordert zum Teil eine fast detektivische wissenschaftliche Kleinarbeit. Um so problematischer erscheint es uns, wenn aufgrund ungenügend oder gar nicht durchgeführter Untersuchungen Ursachen für ein beobachtetes Phänomen präjudiziert werden, wie im vorliegenden Falle durch Wissenschaftler gegenüber der Presse – und damit der Öffentlichkeit – geschehen. Gleiches gilt für publizierte Berichte wie in zwei der oben beschriebenen Fälle (GROSSE & BAUCH 1988, ANONYMUS 1991). Da sich die geschilderte Problematik in dem sensiblen und leicht zum Politikum aufsteigenden Bereich der Umweltverschmutzung und ihrer Folgen für die Umwelt bewegt (auch im vorliegenden Falle, da sich in unmittelbarer Nachbarschaft des Gewässers eine Mülldeponie befindet), ist eine wissenschaftlich einwandfreie Untersuchungsweise sowie ein behutsamer Umgang mit der Bekanntgabe potentieller Ursachen in jeder Hinsicht unbedingt erforderlich.

#### Danksagung

Die vorliegende Untersuchung wurde durch das Landesamt für Umweltschutz und Gewerbeaufsicht mit Mitteln des Landes Rheinland-Pfalz ermöglicht. Das Rheinland-Pfälzische Landesamt für Wasserwirtschaft stellte uns in dankenswerter Weise die Ergebnisse der Wasseranalysen vom 6. 11. 1989 und 20. 6. 1990 zur Verfügung.

Herr Diplom-Biologe J. BARZ führte die elektrophoretischen Untersuchungen durch. Folgende Personen unterstützten uns bei der Freilandarbeit: Dipl.-Biol. G. ERPELDING, A. KIEFER, M. NIEDLING, A. WEBER, K. WEBER, K. ZIMMERMANN. Herr Diplom-Biologe G. ERPELDING half uns bei der Bestimmung der Invertebraten und nannte uns wertvolle Literaturzitate. Frau S. RIEDER führte die Wasseranalysen durch. Frau I. KRUMMEL fertigte die histologischen Präparate an, und Frau M. NIEDLING führte die Fotoarbeiten aus.



Die Herren Prof. Dr. A. SEITZ und Prof. Dr. A. FISCHER stellten Laboreinrichtungen zur Verfügung. Herr. Dr. M. GRUSCHWITZ informierte uns über die 1985 aufgetretenen Schädigungen. Allen genannten Personen danken wir für die gute Zusammenarbeit.

### Zusammenfassung

1989 wurden in einem Fischteich bei Remagen-Oedingen frisch metamorphosierte Erdkröten (*Bufo bufo*) mit massiven Schädigungen der Hinterextremitäten beobachtet. Vier mögliche Schädigungsursachen wurden untersucht.

- (1) Eine Hybridisierung mit anderen *Bufo*-Arten wurde aufgrund isoenzymatischer Untersuchungen definitiv ausgeschlossen.
- (2) Eine dominante Mutation als Verursacher der Schadbilder konnte ebenfalls ausgeschlossen werden.
- (3) Weder eigene Untersuchungen noch die Wasseranalysen des Rheinland-Pfälzischen Landesamtes für Wasserwirtschaft ließen auf einen Fremdstoff schließen. Dennoch konnte eine Kontamination des Gewässers mit einer die Mißbildungen verursachenden Substanz nicht direkt ausgeschlossen werden. Indirekt konnte jedoch dieser Ausschluß vorgenommen werden (siehe Punkt 4).
- (4) Durch Freiland- und Prädationsversuche wurde *Erpobdella octoculata* eindeutig als Verursacher der Schädigungen ausgewiesen.

### Schriften

- ANONYMUS (1991): Amphibien am Scheideweg. – Natur und Umwelt, Bonn, 71: B4–B5.
- BARZ, J. (1990): Populationsgenetische Untersuchungen an der Erdkröte (*Bufo bufo* L.; Amphibia: Anura: Bufonidae) in der Saarpfälzischen Moorniederung. – Unveröff. Diplomarbeit, Mainz, 63 S.
- BLAB, J. (1986): Biologie, Ökologie und Schutz von Amphibien. – Bonn (Kilda-Verlag), 150 S.
- BRADLEY, M. K. D. & J. D. REYNOLDS (1987): Diet of leeches *Erpobdella octoculata* (L.) and *Helobdella stagnalis* (L.) in a lotic habitat subject to organic pollution. – Freshwater Biol., Oxford, 18: 267–275.
- DENT, J. N. (1962): Limb regeneration in larvae and metamorphosing individuals of the South African clawed toad. – J. Morphol., New York, 110: 61–78.
- FLINDT, R. (1985): Untersuchungen zum Auftreten von mißgebildeten Wechselkröten (*Bufo viridis*) in einem Steinbruch in Vaihingen-Roßwag. – Jh. Ges. Naturkde. Württemberg, Stuttgart, 140: 211–233.
- GOSNER, K. L. (1960): A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. – Herpetologica, Austin, 16: 183–190.
- GOSS, R. J. (1974): Regeneration, Probleme – Experimente – Ergebnisse. – Stuttgart (Georg Thieme).
- GROSSE, W. R. & I. BAUCH (1988): Fehlentwicklung beim Laubfrosch *Hyla arborea* L. – Feldherpetologie, Erfurt, 1988: 25–28.
- HEMELAAR, A. (1981): Age determination of *Bufo bufo* (Amphibia, Anura) from the Netherlands, based on year rings in phalanges. – Amph.-Rept., Wiesbaden, 1 (3/4): 223–233.
- HERTER, K. (1932): Hirudinea, Egel. – In: SCHULZE P.: Biologie der Tiere Deutschlands. Lieferung 35, Teil 12 b, Berlin (Verlag Gebrüder Borntraeger).
- HEUSSER, H. (1972): Die Lebensweise der Erdkröte, *Bufo bufo* (L.): Größenfrequenzen und Populationsdynamik. – Mitt. Naturforsch. Ges. Schaffhausen, 29: 33–61.
- HILLIS, D. M. & C. MORTZ (1990): Molecular Systematics. – Sunderland (Sinauer).

- RIMPP, K. (1981): Bericht über den Fund mißgebildeter Wechselkröten (*Bufo viridis*). – herpetofauna, Weinstadt, 3 (Heft 11): 25–28.
- ROMEIS, B. (1989): Mikroskopische Technik. – München und Wien (R. Oldenburg).
- SCHÖNBORN, W. (1985): Die ökologische Rolle von *Erpobdella octoculata* (L.) (Hirudinea: Erpobdellidae) in einem abwasserbelasteten Fluß (Saale). – Zool. Jb. Syst., Jena, 112: 477–494.
- SHERIF, N. M. M. M. (1990): Electrophoretic analysis of species of the genus *Bufo*: Taxonomy, phylogeny, and population genetics. – Dissertation, Kairo, 94 S.
- VIERTEL, B. & M. VEITH (1992): Predation by leeches and regeneration, a factor in larval development of *Bufo bufo* (L.). – In: KORSÓS, Z. & I. KISS (Hrsg.): Proc. Sixth Ord. Gen. Meet. Soc. Europ. Herpetol., Budapest 1991: 479–484.
- YOUNG, J. O. & J. W. IRONMONGER (1979): The natural diet of *Erpobdella octoculata* (L.) (Hirudinea: Erpobdellidae) in British lakes. – Arch. Hydrobiol., Stuttgart, 87: 483–503.
- YOUNG, J. O. & R. M. PROCTER (1985): Oligochaetes as a food resource of lake-dwelling leeches. – J. Freshwater Ecol., Holmen, 3 (2): 181–187.

Eingangsdatum: 25. September 1992

Verfasser: Dr. MICHAEL VEITH, PD Dr. BRUNO VIERTEL, Institut für Zoologie, Universität Mainz, Saarstraße 21, D-55099 Mainz.