



Skin Fight: Könnten eigene Bakterien Amphibien vor dem Aussterben bewahren?

Symbiotischen Bakterien können helfen, das Aussterben der weltweiten Populationen von Fröschen und andere Amphibien abzuwehren.

von der Pest „Chytrid Pilz“ Von Erica Rex

Hilfe für Frösche: Die Gebirgs-Gelbschenkelfrosch (*Rana muscosa*) deren natürlich vorkommenden Bakterien welche Metaboliten sind, giftig auf *Batrachochytrium dendrobatidis* (BD) wirken, der Pilz der ganze Froschpopulationen weltweit auswischte. Dieses zeigten *R. muscosa* die mit BD infiziert wurden. Vance Vredenburg

Fast ein Drittel der weltweit 6260 bekannten Amphibienarten sind vom Aussterben gefährdet. Die Hauptursache - außerhalb der laufenden Zerstörung des Lebensraumes - ist eine Pilzkrankung, bekannt als chytrid (*Batrachochytrium dendrobatidis*). Jetzt haben Forscher in Kalifornien und Virginia symbiotische Bakterien auf der Haut der Amphibien entdeckt, die sie vor den tödlichen Pilzkrankung schützen, und später in diesem Sommer werden einige Wissenschaftler mikrobiellen Proben sammeln, im Labor kultivieren und dieses Produkt auf einige Frösche in der kalifornischen Sierra Nevada anwenden, um zu sehen, ob dieses Konzept Chytrid in der freien Wildbahn stoppt. Wenn ein Management-Plan entwickelt werden könnte, "die Schaffung eines Selbst-Verbreitung System im Kampf [gegen chytrid] wäre dies revolutionär", sagt Reid Harris, ein Biologe an der James Madison University (JMU) in Harrisonburg, Virginia, und einer der Wissenschaftler, deren Forschung zur Isolierung und Identifizierung dieser Bakterien-Gruppe führte, in einem Telefon-Interview.



1999 erstmals identifiziert, *B. dendrobatidis* oder BD, bekannt als Pilz Zoosporen, wurde als eine der Hauptursachen des Rückgangs der globalen Amphibien Populationen, einschließlich der Frösche und Salamander genannt. Wissenschaftler schätzen, dass die Ausrottung oder vom Aussterben von 200 Arten, darunter auch das Verschwinden des Gebirgs-Gelbschenkelfrosch aus mehreren Einzugsgebieten in den Sierras seit Mitte der 1990er Jahre, darauf zurückzuführen ist. Einst im Überfluss vorhanden, verschwanden beide Arten jetzt zu 93 Prozent ihrer historischen Vorkommens. In der Tat, der Biologe Vance Vredenburg an der San Francisco State University vergleicht Chytrids verheerende Ankunft mit der Entstehung von HIV beim Menschen. Er denkt, dass wie bei HIV, die Krankheit zu

einem bestimmten Zeitpunkt in der Vergangenheit auf eine umschriebene Bevölkerung endemisch war. Der afrikanische Krallenfrosch ist zum Beispiel bekannt als Träger des BD, der Pilz der Chytridiomykose verursacht - allgemein bekannt als Chytrid - aber nicht daran sterben. Einst als Schwangerschaftstests benutzt, wurde der afrikanische Krallenfrosch in den 40er Jahren in der Gefangenschaft gehalten. Nachdem sie durch die moderne Technik verdrängt wurden, wurden sie einfach freigelassen. Nun gibt es verwilderte afrikanische Krallenfrösche überall in den Vereinigten Staaten selbst in San Franciscos Golden Gate Park National Park.

Aber es gibt Hoffnung im Kampf gegen die tödliche Amphibien Krankheit. Die in den Wild Mountain beheimateten Gebirgs-Gelbschenkelfrösche (*Rana muscosa*) und Rotrückten Salamander (*Plethodon cinereus*) besitzen natürlich vorkommende Bakterien, deren Metaboliten giftig für BD sind, der Pilz der Chytrid verursacht. Metaboliten sind die Nebenprodukte der lebenserhaltenden chemische Reaktionen die kontinuierlich in lebenden Organismen stattfinden.

In Laborexperimenten mit in Gefangenschaft gezüchteten Gebirgs-Gelbschenkelfrösche deren Eier in der Natur gesammelt, stellten Harris und seine Kollegen fest, dass das Bakterium *Janthinobacterium lividum*, von diesen Nachkommen der wilden Frösche, auch weiterhin positiv gegen Chytrid sind. Harris fand heraus, dass wenn Frösche mit einer Lösung von *J. lividum* geimpft wurden, bevor sie mit BD infiziert wurden, überlebten sie. Das Frosch-Experiment verwendet eine anfängliche Konzentration von $26,25 \times 10^6$ *J. lividum* Zellen pro Milliliter und eine erste BD Zoosporen Konzentration von 20 pro Milliliter. Die Anzahl vorhandener BD stieg exponentiell in einem fortgeschrittenem 20-Wochen-Experiment, bis ihre Populationen in Reaktion auf die Wirkungen der Bakterien zusammenfiel. Ein ähnliches Experiment mit Salamander mit $6,7 \times 10^7$ *J. lividum* Zellen pro Milliliter und die gleiche Konzentration an Bd Zoosporen gestartet.

Die Anwesenheit von *J. lividum* in beliebiger Konzentration war der ausschlaggebende Faktor für das Überleben. Weder die Konzentration von BD Zoosporen noch die Konzentration von *J. lividum* noch deren Verhältnis, per se, korreliert mit dem Überleben. Frösche, die nicht geimpft worden waren sind alle gestorben, nachdem sie Chytrid ausgesetzt waren. Der eine Faktor, der zu den wichtigsten zu sein schien war die Konzentration eines *J. lividum* Metabolit, das Peptid *Violacein*. Harris fand heraus, daß die Menge der *Violacein* auf der Froschhaut proportional zur Bevölkerungsdichte von *J. lividum* war. Das Salamander Experiment ergab ebenfalls eine direkte Korrelation zwischen dem Überleben und der *Violacein* Konzentration. Die Höhe an *Violacein* die von *J. lividum* produziert wird, variiert stark zwischen den Bakterienkolonien. Wenn es um den Schutz gegen Chytrid geht, zeigte eine Studie von Harris, Vredenburg und Kollegen im Jahr 2009 in *ISME Journal* (Internationale Gesellschaft für Mikrobielle Ökologie) veröffentlicht, dass mehr *Violacein* definitiv besser war: Frösche mit höheren Konzentrationen des Peptids erliegen BD nicht.

In Feldversuchen ergab eine Studie von Brianna Lam, ein Student in der JMU Fachbereich Biologie, in der Fachzeitschrift *Biological Conservation* im Jahr 2009 (sowie Ergebnisse von Vredenburg und Harris im Jahr 2008 veröffentlichte Abstrakt in der Hauptversammlung der American Society for Microbiology), dass Gebirgs-Gelbschenkelfrosch Populationen in den Sierras sich sehr stark in ihrer Höhe von kutanen *J. lividum* unterscheiden. Das Vorhandensein und die Menge der Bakterien war der Schlüssel zu ihrem Überleben nach einem Ausbruch BD. Das auftreten Chytrids in Teichen mit fehlendem *J. lividum* führte zur raschen Vernichtung der Frösche. Diese Art von Mutualismus zwischen den Arten, weist Harris darauf hin, tritt überall in der Natur auf. "Vorteilhafte Beziehungen wie diese in fluoreszierenden Pseudomonaden Arten, welche zum Beispiel Pflanzenwurzeln vor pathogenen Pilzen schützen. In festsitzenden, [oder immobile] marinen Organismen, verhindern epiphytischen Bakterien das Meersalat fault, bemerkte er. Bioaugmentation – vorhandene nützlichen Bakterien nehmen, sie kultivieren und dann mehr

von ihnen zurück in ein biologisches System (nichts anderes als das Essen probiotischer Joghurts, bekannt für seine angeblichen positiven Wirkungen auf den menschlichen Darm) - ist der Schlüssel zur Wiederherstellung der Amphibien-Populationen. Doch der wahre Test des Ansatzes der Bioaugmentation unter Verwendung von *J. lividum* wird von seinem sicheren und wirksamen Einsatz in der Natur abhängen. Zum Glück für die Frösche, beginnt die Arbeit in der kalifornischen Sequoia und Kings Canyon National Park in den Sierras unter der Schirmherrschaft des National Park Service führt vielleicht zum mikrobiellen Aufschwung in dem Ökosystem. Vredenburg und seine Kollegen führen noch in diesem Sommer einen Test durch, der die Anwendung von *J. lividum* auf die Population des Gebirgs-Gelbschenkelfrosch in einem Gebiet, wo Chytrid ist jetzt gerade auftritt, prüft.

Harris weist darauf hin, dass mit den bestehenden Management-Tools dort für die Bewältigung des Chytrid Problems beschränkt sind. Das Sammeln einzelner Frösche aus Teichen mit Senknetzen und die Anwendung antimykotische Medikamente an Einzelnen ist nicht einfach zu praktizieren. So vielversprechend wie Bioaugmentation auch sein mag, es ist ein Gebiet, wo die Forschung mit Vorsicht vorgehen muss, sagt Louise Rollins-Smith an der Vanderbilt University Medical Center der Abteilung für Mikrobiologie und Immunologie. Sie weist darauf hin, dass Bioaugmentation routinemäßig in der Landwirtschaft durchgeführt wird: "*Bacillus thuringiensis* wurde eingeführt, um Raupen zu kontrollieren. Es schädigt auch andere Schmetterlinge, darf aber weiterhin kommerziell verwendet werden. Es wird als sicher erachtet - eine" umweltfreundliche "Lösung für ein Schädling-Problem" weil es die Notwendigkeit für die Anwendung von Chemikalien vermeidet. *J. lividum*, bemerkt sie, ist eine natürlich vorkommender Organismus auf der Froschhaut. Die unerwarteten, negativen Ergebnisse die folgen könnten, wenn nicht-heimische Arten auf heimische Populationen treffen - wie das jetzt mit verpesteten Kudzu (*Pueraria lobata*), eine Hülsenfrucht heimisch in Japan, die in den Süden der USA während des späten 19. Jahrhunderts eingeführt wurde, passierte – lässt sich hoffentlich nicht auf gleiche Weise auf das Konzept für die Bioaugmentation mit dem Chytrid Problem übertragen. Die Mikrobe und der Frosch existieren bereits als natürliche Symbionten in der Natur. Und in jedem Fall sollte die Wiedereinführung von Fröschen deren bakteriellen Gemeinschaften geändert worden sind, zunächst nur in geschützten Teichen in isolierten Gebieten durchgeführt werden, sagt Rollins-Smith.

Vredenburg entwickelt ein Projekt, genau dies zu tun. Beginnend in drei Wochen werden er und seine Kollegen Hautbakterien aus Berg-Gelbeinfrösche sammeln in den isolierten Dusy Einzugsgebiet der Sierras: "Wir werden mit Tupfern der Haut Proben entnehmen, Bakterienkulturen anlegen, sie im Labor an der San Francisco State züchten, dann eine Woche warten, zurückkehren und ein Haufen Frösche impfen", sagt Vredenburg. Es ist unmöglich, über die Ergebnisse zu spekulieren, fügt er hinzu, denn die Forschung über den Schutz wurde bisher nur im Labor durchgeführt. "Das Ziel für Wissenschaftler ist es, die natürlich vorkommenden Bakterien zu vermehren", so dass diese hilfreichen Symbionten sich auf noch mehr Frösche und andere Amphibien verbreiten können, sagt Harris.