

Beitrag zur Tiefentemperatur-Markierung von Amphibien im Freiland

ARNO GEIGER, REINER KLEWEN & MANFRED NIEKISCH

Mit 3 Abbildungen

1. Einleitung

Bei vielen feldbiologischen Untersuchungen ist es unabdingbar, das einmal erfaßte Einzeltier eindeutig wiederzuerkennen. Anhand natürlicher Zeichnungsmerkmale lassen sich aber die Individuen nur weniger Amphibien-Arten wiedererkennen; individuell verschieden und deutlich unterscheidbar sind das Farbkleid des Feuersalamanders (*Salamandra salamandra*) sowie die Bauchzeichnung von Kammolch (*Triturus cristatus*) und Teichmolch (*Triturus vulgaris*), die durch zeichnerische oder fotografische Verfahren festgehalten werden können (FELDMANN 1964, GLANDT 1980, HAGSTRÖM 1973, KLEWEN, in Vorbereitung.).

Eine positive Identifizierung anhand solcher Merkmale scheidet für Anuren weitgehend aus. Daher galt es hier, Methoden der Markierung zu finden, die folgende Kriterien erfüllen müssen:

- Die Markierung muß eindeutig sein.
- Die Markierung muß zumindest für den Untersuchungszeitraum dauerhaft sein.
- Die Methode muß möglichst schmerzlos sein
- Das Tier darf durch die Markierung in seinem natürlichen Verhalten nicht behindert werden.
- Die Überlebenschancen des Tieres dürfen durch die Markierung keine Minderung erfahren.
- Die Methode muß einfach anwendbar und am Untersuchungsort durchführbar sein.

Von der Vielzahl bisher angewandter Methoden der Amphibienmarkierung, über die HEUSSER (1958) und HONEGGER (1979) umfassende Übersichten geben, hat sich die der Amputation von Endphalangen als am ehesten geeignet erwiesen und die größte Verbreitung gefunden (BLAB 1978, BOGERT 1947, CLARKE 1972, FLINDT & HEMMER 1967, FÖLSCH 1976, HEUSSER 1958, MARTOF 1953, NIEKISCH 1982 and andere). Bei der Ausnahme funktionell besonders wichtiger Zehen von der Amputation erlaubt dieses Verfahren wegen des geringen Regenerationsvermögens, insbesondere der Anuren, sehr gute Wiedererkennung, ohne die Tiere merklich zu beeinträchtigen.

Farbtupfer haften auf der drüsenreichen Haut der Amphibien schlecht und sind ohnehin nur bis zur Häutung erkennbar; Metall- oder Plastikringe und Meerschweinchen-Ohrenmarken führen zu Verletzungen und behindern unter anderem bei der Häutung.

Die Erfahrungen von CLARKE (1972), der bei zehenamputierten *Bufo woodhousei fowleri* Behinderungen beim Fraßvorgang, allgemeine Beeinträchtigungen der lokomotorischen Fähigkeiten und ein Ansteigen der Todesrate feststellte, und die Beobachtungen von UNDERHILL (zitiert nach DAUGHERTY 1976), wonach zehenamputierte *Rana pipiens* an Gewicht verloren, belegen aber, daß diese Markierungsmethode keinen völlig unbedenklichen, risikofreien Eingriff darzustellen braucht, wenn auch von einheimischen Amphibien negative Erfahrungen bisher nicht bekannt wurden.

Wie KLEWEN feststellen konnte, reagieren Feuersalamander, Alpensalamander, Erd- und Kreuzkröten bei der bloßen Annäherung heißer Gegenstände mit deutlichen Flucht- und Abwehrgebärden; der Versuch einer Markierung vermittelt „Brandzeichen“ scheidet somit wegen des offenbar damit verbundenen Schmerzes für die Amphibien aus. Bei Annäherung sehr kalter Gegenstände zeigten die Amphibien dagegen keine Reaktion. Die Markierung von Anuren durch lokale Unterkühlung von Hautstellen wurde von DAUGHERTY (1976) erstmals beschrieben. Durch Versuche an einheimischen Amphibien wollten wir zunächst herausfinden, inwieweit diese Methode zur möglichst schmerzfreien, dauerhaften Markierung von Amphibien im Freiland tauglich ist.

2. Material und Methode

Das Verfahren beruht auf einer partiellen Schädigung der Haut durch lokale Unterkühlung mittels in Trockeneis gekühlter Metallstempel.

Die Markierungsstempel wurden aus einem Kupferlotrundstab von 6 mm Durchmesser hergestellt, die Länge des Stabes betrug 10 cm. Das eine Ende des Kupferlotrundstabes wurde spitz gefeilt und in ein Holzfeilenheft eingeschlagen, das andere Ende zu einem einfachen Punkt-, Strich- oder Kreissymbol gefeilt; dies wurde mit Hilfe von feinen Schlüsselfeilen bewerkstelligt.

Trockeneis, ein Kühlmittel aus festem Kohlendioxid (Kohlensäureschnee), das wie Wassereis zur einmaligen Kälteerzeugung verwandt wird, jedoch keine Rückstände hinterläßt, kann leicht im Freiland mittels eines Schnee-Erzeugers hergestellt werden (Bezeichnung „Carboneige“; Hersteller: La Carbonique Française, 91 rue du Faubourg Saint-Honoré, Paris 8^e, oder, bei gleicher Bezeichnung, AGEFKO-Kohlensäure-Industrie GmbH, Postfach 1240, 4000 Düsseldorf 1). Das Gerät wird an eine handelsübliche CO₂-Stahlflasche mit Steigrohr angeschlossen. Bei kurzer Anfahrt zum Untersuchungsort ist es einfacher, das Trockeneis fertig in Styropor-Behältern über den Chemiehandel zu beziehen; hierbei ist aber zu berücksichtigen, daß zwei Liter Trockeneis (im Styropor-Kasten mit Deckel) bei 20°C Außentemperatur in etwa fünf Stunden verdampfen. Das Trockeneis hat eine Temperatur von -79°C.

Im vorliegenden Experiment wurde für das Trockeneis ein Styropor-Kasten mit fest schließendem Styropor-Deckel benutzt. In den Deckel wurden entsprechend der Anzahl und dem Durchmesser der Markierungsstempel Löcher

eingearbeitet, so daß alle Stempel, mit einigem Abstand zum nächsten, in das Trockeneis gesteckt werden konnten, ohne daß hierzu das Gefäß geöffnet werden mußte. Die Stempel-Enden hingen frei im Trockeneis und waren somit von allen Seiten den gleichen tiefen Temperaturen ausgesetzt, was eine gleichmäßige Kühlung gewährleistete. (Es ist unbedingt darauf zu achten, daß die Stempel keinesfalls bis auf den Boden des Styropor-Behälters durchgedrückt werden!) Mit der Kühlung der Stempel wurde ca. 15 Minuten vor der Markierung begonnen. Hierzu wurden 2,5 kg Trockeneis eingesetzt und, zwecks besseren Kälteübergangs, mit 0,5 l Methanol versetzt, wodurch eine Konsistenz erreicht wurde, die eine optimale Kühlung der Stempel gewährleistet.

Als Versuchstiere wurden folgende Arten ausgewählt: Erdkröte (*Bufo bufo*), Kreuzkröte (*Bufo calamita*) und Wechselkröte (*Bufo viridis*).

Die Tiere wurden entweder auf der Rückenseite, dann zwischen den Hinterbeinen rechts oder links der Wirbelsäule oder auf der Bauchseite im Bereich des Sternums durch leichtes Aufdrücken der Stempel markiert. Die Versuchstiere wurden hierzu fest in der Hand gehalten, um eine Veränderung der Auflagedruckstelle während der Markierung zu verhindern. Die Einwirkungsdauer der gekühlten Stempel auf die Haut wurde variiert zwischen 10, 15 und 20 Sekunden. Anschließend wurden die Geräte wieder für ca. drei Minuten zur Kühlung in das Trockeneis gesteckt. (Es empfiehlt sich daher, bei einer größeren Zahl zu markierender Tiere mehrere Stempel von jedem Symbol bereitzustellen, um Verzögerungen während der Markierung zu verhindern.)

Bei dem vorliegenden Experiment wurden die oben erwähnten Symbole auf ihre Einsetzbarkeit getestet. Die behandelten Tiere wurden im Anschluß an die Markierung zur Beobachtung in Terrarien gehalten.

Eine vorherige Narkotisierung der Tiere war nicht erforderlich, da sie kaum Abwehrreaktionen gegen die Behandlung zeigten. Vermutlich wird durch die plötzliche starke Unterkühlung ein lokal anästhesierender Effekt erzielt. Auch nach der Markierung zeigten die Tiere keine Reaktion, die auf irgendwelche Schmerzempfindungen hindeutete.

3. Ergebnisse und Diskussion

Die Markierung wurde in allen Fällen erst nach einigen Stunden (im vorliegenden Experiment, unabhängig von der Art, nach 10 bis 18 Stunden) als dunkles Zeichen erkennbar, das in seiner Form dem eingesetzten Stempel entsprach. Die Einwirkungsdauer hatte keinen Einfluß auf die Dauerhaftigkeit der Markierung, wohl aber auf die Abbildungstreue des eingesetzten Symbols. Bei allen eingesetzten Arten war die Markierung am 16. I. 1982, sieben Monate nach ihrer Anbringung, noch zweifelsfrei erkennbar, wenn auch nach dem dritten Monat ein deutlich zunehmendes Verblässen registriert wurde.

Das eingesetzte Kreissymbol war bei *Bufo viridis* nach einer Einwirkungsdauer von 10 Sekunden scharf abgebildet, während es bei *Bufo calamita* nach 20 Sekunden Einwirkungsdauer nur als Punkt von größerem Durchmesser als der des eingesetzten Symbols erkennbar war. Offensichtlich wurde hier die Konturenschärfe durch Schädigung der Haut in den Randzonen des Stempel-

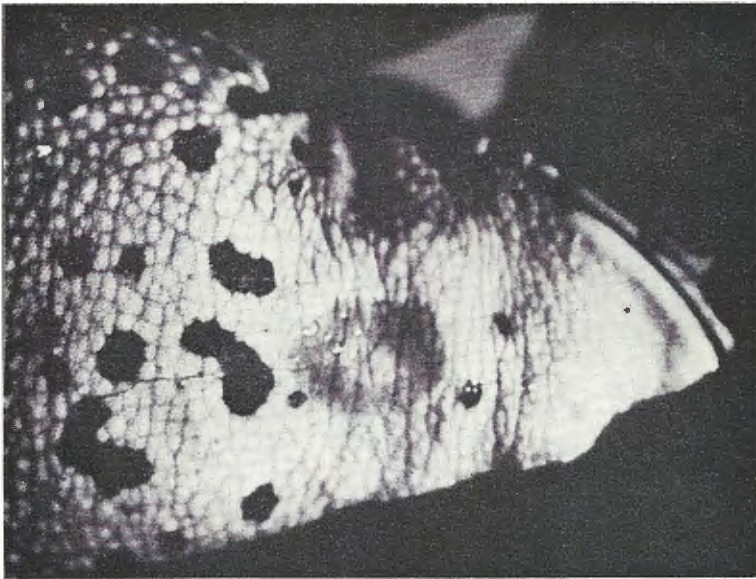


Abb. 1. Bei einer Einwirkungsdauer von zehn Sekunden war das eingesetzte Stempelsymbol (Kreis) scharf abgebildet. — Aufn. M. NIEKISCH.

If the "markiron" is removed within ten seconds, the mark is clearly visible.

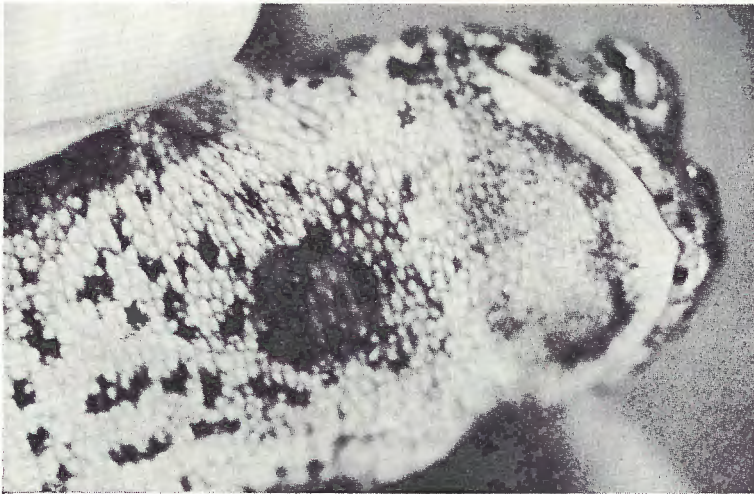


Abb. 2. Eine längere Einwirkungsdauer (hier 20 Sekunden) führt durch Schädigung benachbarter Hautbereiche zu unscharfer Abbildung. — Aufn. R. KLEWEN.

Application of the "markiron" for about 20 seconds leads to a mark slightly blurred due to damaged neighbouring cells.

symbols gemindert. Eine Einwirkungsdauer von 10 Sekunden scheint nach den vorliegenden Ergebnissen bei Bufoniden besonders günstig zu sein.

Das 8förmige Symbol war auch nach 10 Sekunden Einwirkungsdauer nur als ovale Marke abgebildet. Es empfiehlt sich somit der Einsatz möglicher einfacher Zeichen (Strich, Punkt, Winkel); strukturierte Symbole erscheinen ungeeignet, da die Abbildungstreue nicht mehr gewährleistet ist.

Die auf der heller pigmentierten Bauchseite im Brustbereich angebrachten Marken waren aufgrund eines stärkeren Kontrastes zur Umgebung deutlicher abgesetzt als solche, die auf der dunkleren Rückenseite angebracht worden waren. Hier besteht zudem die Gefahr der Verwechslung mit natürlichen dunklen Pigmentflecken, insbesondere bei einsetzendem Verblässen der Markierung.

Als Sichtmarkierung ist das beschriebene Verfahren nicht geeignet. Die Markierung hält hinreichend lange, um auf diese Weise zumindest Laichplatzbestände oder Sommerpopulationen erfassen zu können.

4. Vorgänge in der Haut

Welche Auswirkungen die lokale Unterkühlung im einzelnen auf die physiologischen Vorgänge in der Haut hat, konnte bislang nicht geklärt werden. Die

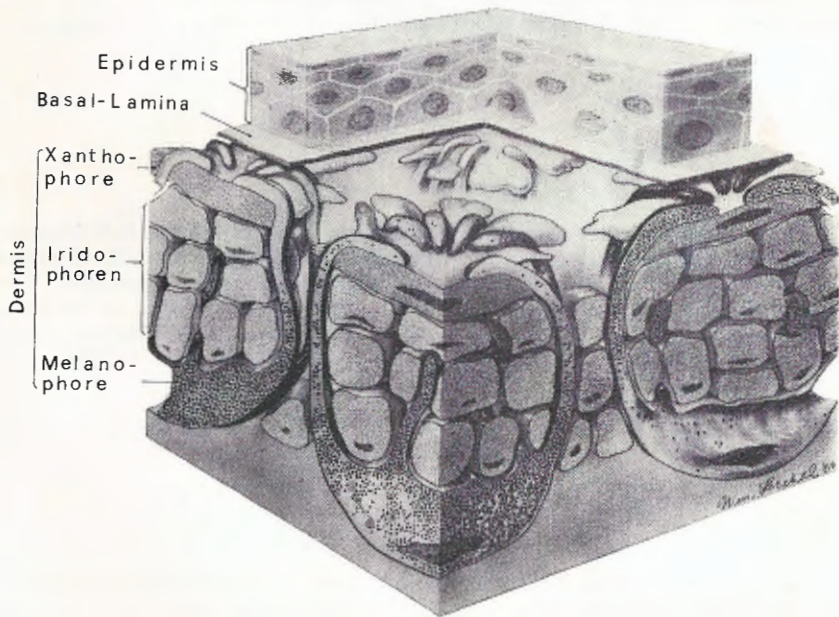


Abb. 3. Block-Schema vom Aufbau der Chromatophoren-Einheiten in der Haut (nach BAGNARA & HADLEY 1973).

Schematic depiction of the skin with chromatophores.

cytologischen Grundlagen des beschriebenen Markierungsverfahrens bleiben ebenfalls unklar und beschränken sich bislang auf ein Denkmodell, mit dem die beobachteten Veränderungen erklärt werden könnten. Danach wäre die einige Stunden nach Einwirkung des unterkühlten Stempels auftretende, dunkel erscheinende Veränderung der Haut auf eine partielle Zerstörung der dermalen Chromatophoren-Einheiten zurückzuführen. In der Haut sind, bedeckt von Basal-Lamina und Epidermis, von außen nach innen Xanthophoren, Iridophoren und Melanophoren in der Dermis angeordnet. Hierbei sind die genannten Strukturen jeweils zu Einheiten zusammengeschlossen (siehe BAGNARA & HADLEY 1973). Die Fortsätze der Melanophoren umgreifen die jeweiligen Einheiten und enden oberhalb der Xanthophoren. Sie werden unter natürlichen Bedingungen, bei Bedarf, mit Melanin gefüllt und bewirken so, durch Überdeckung der übrigen Farbstoffe, ein Verdunkeln der Haut. Dieser Vorgang spielt beim Farbwechsel der Amphibien eine wichtige Rolle. Im vorliegenden Experiment werden vermutlich die Xanthophoren und Iridophoren zerstört, so daß man direkt auf die Melanophoren schaut, die das schwarze Pigment Melanin enthalten. Dieses Denkmodell würde erklären, warum der Stempelabdruck dunkel erscheint. Das allmähliche Verblässen der Markierung nach dem dritten Monat könnte auf Regenerationsvorgänge zurückzuführen sein. Zur Klärung der offenen Fragen sind Anschlußexperimente mit histologischer Auswertung geplant.

Eventuell zu erwartende Häutungsschwierigkeiten blieben aus. Alle Versuchstiere haben sich während des Beobachtungszeitraumes mehrfach gehäutet.

Zusammenfassung

Es wurden verschiedene Bufoniden (Erdkröte, *Bufo bufo*; Kreuzkröte, *Bufo calamita*; Wechselkröte, *Bufo viridis*) mittels in Trockeneis auf -80°C gekühlter Metallstempel markiert. Die auf einer Hautschädigung durch lokale Unterkühlung beruhende Markierung ist mindestens sieben Monate erkennbar. Unter Berücksichtigung der vorliegenden Ergebnisse sollte es sich bei den Stempelsymbolen um einfache Zeichen handeln (Punkt, Strich, Winkel) und die Einwirkungsdauer der Stempel auf der Haut zehn Sekunden betragen.

Summary

Several toads (Common Toad, *Bufo bufo*; Natterjack, *Bufo calamita*; Green Toad, *Bufo viridis*) have been marked with metal stamps, which were cooled in dry ice about -80°C . The marking depends on a local skin damage as the result of local undercooling. The marks are recognizable at least seven months. In consideration of the results there should be used simple stamp symbols (points, lines, angles). The influence should last ten seconds.

Schriften

- BAGNARA, I. T. & HADLEY, M. E. (1973): Chromatophores and color change. — Englewood Cliffs, New Jersey (Prentice Hall, Inc.).
- BLAB, J. (1978): Untersuchungen zu Ökologie, Raum-Zeit-Einbindung und Funktion von Amphibienpopulationen. — Schr.-R. Landschaftspflege Naturschutz, 18: 1-146. Bonn-Bad Godesberg.
- BLANKENHORN, H. (1974): Sozial-Organisation einer Mischpopulation von *Rana lessonae* CAMERANO und *Rana esculenta* LINNAEUS. — Diss. Zürich.
- BOGERT, C. M. (1947): A field study of homing in the Carolina toad (*Bufo t. terrestris*). — Amer. Mus. Novit., 1355: 1-24. New York.
- BREDER, C. M., BREDER, R. B. & REYMOND, C. (1927): Frog tagging: a method of studying anuran life habits. — Zoologica, 9: 201-229. New York.
- CLARK, D. R. (1971): Branding as a marking technique for amphibians and reptiles. — Copeia, 1971: 148-151.
- CLARKE, R. D. (1972): The effect of toe clipping on survival in Fowler's Toad (*Bufo woodhousei fowleri*). — Copeia, 1972: 182-185.
- DAUGHERTY, C. H. (1976): Freeze-branding as a technique for marking anurans. — Copeia, 1976: 836-838.
- DELY, O. G. (1954): Markierungsversuche an Fröschen. — Ann. hist.-nat. Mus. natn. hung., N. S., 5: 457-464. Budapest.
- EIBL-EIBESFELDT, I. (1950): Ein Beitrag zu Paarungsbiologie der Erdkröte (*Bufo bufo* L.). — Behaviour, 2: 217-233. Leiden.
- EMLEN, S. T. (1968): A technique for marking anuran amphibians for behavioral studies. — Herpetologica, 24: 172-173. Lawrence, Kansas.
- FELDMANN, R. (1964): Ökologie und Verbreitung des Feuersalamanders, *Salamandra salamandra*, in Westfalen. — Bonn. zool. Beitr., 15: 78-89. Bonn.
- FLINDT, R. & HEMMER, H. (1967): Ökologische und variationsstatistische Untersuchungen an einer *Bufo viridis*/*Bufo calamita*-Population. — Zool. Jb., Syst., 94: 162-186. Jena.
- FÖLSCH, E. (1976): Untersuchungen zur Fortpflanzungsbiologie von Kreuz- und Erdkröte im Auengebiet des Niederrheins. — Unveröff. Staatsexamensarb. Univ. Köln.
- GLANDT, D. (1980): Naßkopierverfahren: eine preiswerte Schnellmethode zur Registrierung des ventralen Fleckenmusters bei *Triturus cristatus*. — Salamandra, 16 (3): 181-183. Frankfurt am Main.
- HAGSTRÖM, T. (1973): Identification of newt specimens (Urodela, *Triturus*) by recording the belly pattern and a description of photographic equipment for such registrations. — Brit. J. Herpetol., 4: 321-326. London.
- HEUSSER, H. (1958): Markierungen an Amphibien. — Vjschr. naturforsch. Ges. Zürich, 103: 304-320. Zürich.
- HONEGGER, R. E. (1979): Marking amphibians and reptiles for future identification. — Internat. Zoo Yearb., 19: 14-22. London.
- JAMESON, D. (1957): Population structure and homing responses in the Pacific Tree Frog (*Hyla regilla*). — Copeia, 1957: 221-228.
- JUNGFER, W. (1943): Beiträge zur Biologie der Erdkröte (*Bufo bufo* L.) mit besonderer Berücksichtigung der Wanderung zu den Laichgewässern. — Z. Morphol. Ökol. Tiere, 40: 117-157. Berlin.
- KAPLAN, H. M. (1958): Marking and branding frogs and turtles. — Herpetologica, 14: 131-132. Lawrence, Kansas.
- MARTOF, B. S. (1953): Territoriality in the green frog *Rana clamitans*. — Ecology, 34: 165-174. Durham, N. C.

- NIEKISCH, M. (1982): Beitrag zu Biologie und Schutz der Kreuzkröte (*Bufo calamita* LAUR.). — Ducheniana, 135. Bonn. [Im Druck.]
- RAFINSKI, J. N. (1977): Autotransplantation as a method for permanent marking of urodele amphibians (Amphibia, Urodela). — J. Herpetol., 11: 241-242.
- RANEY, E. C. (1940): Summer movements of the bullfrog, *Rana catesbeiana* SHAW, as determined by the jaw-tag method. — Amer. Midl. Nat., 23: 733-745. Notre Dame, Ind.
- RANEY, E. C. & INGRAM, W. M. (1941): Growth of tagged frogs (*Rana catesbeiana* SHAW and *Rana clamitans* DAUDIN) under natural conditions. — Amer. Midl. Nat., 26: 201-206. Notre Dame, Ind.

Verfasser: ARNO GEIGER, Forellstraße 25 H, 4350 Recklinghausen. — REINER KLEWEN, Zoologisches Institut der Universität Köln, I. Lehrstuhl, Weyertal 119, 5000 Köln 41. — MANFRED NIEKISCH, Hauptstraße 423, 5200 Siegburg-Seligenthal.