

Batrachochytrium dendrobatidis ietekmes uz Latvijas abinieku faunu novērtējums

LVAFA finansēta projekta Nr. 1-08/160 /2020 “Abiniekiem
nāvējošas slimības – hitrīdijmikozes ietekmes uz Latvijas
abinieku populācijām novērtēšana” gala atskaite



Dr.biol. Andris Čeirāns,
Dr.biol. Mihails Pupiņš, Dr.biol. Artūrs Škute



Batrachochytrium dendrobatidis ietekmes uz Latvijas abinieku faunu novērtējums

LVAFA finansēta projekta Nr. 1-08/160 /2020 “Abiniekiem nāvējošas slimības – hitrīdijmikozes ietekmes uz Latvijas abinieku populācijām novērtēšana” gala atskaite

Dr.biol. Andris Čeirāns,

Dr.biol. Mihails Pupiņš, Dr.biol. Artūrs Škute



Daugavpils Universitāte

2022

Čeirāns A., Pupiņš M., Škute A. 2022. *Batrachochytrium dendrobatidis* ietekmes uz Latvijas abinieku faunu novērtējums: LVAFĀ finansēta projekta Nr. 1-08/160 /2020 “Abiniekiem nāvējošas slimības – hitrīdijmikozes ietekmes uz Latvijas abinieku populācijām novērtēšana” gala atskaite. Daugavpils Universitāte, 28 lpp.

Ieteicamais citēšanas veids: Čeirāns A., Pupiņš M., Škute A. 2022. *Batrachochytrium dendrobatidis* ietekmes uz Latvijas abinieku faunu novērtējums: LVAFĀ finansēta projekta Nr. 1-08/160 /2020 “Abiniekiem nāvējošas slimības – hitrīdijmikozes ietekmes uz Latvijas abinieku populācijām novērtēšana” gala atskaite. Daugavpils Universitāte, 28 lpp.

How to cite this work: Čeirāns A., Pupiņš M., Škute A. 2022. Evaluation of the impact of *Batrachochytrium dendrobatidis* on amphibians of Latvia: Final report of the LVAFĀ financed projekt Nr. 1-08/160 /2020 “Evaluation of the impact of a deadly amphibian disease – chytridiomycosis on the population of Latvian amphibians”. Daugavpils University, 28 p. [In Latvian]

Fotogrāfija uz vākā: Zaļā varde (Pelophylax spp.) – Bd invāzijas izpētes objekts projektā
Fotogrāfijas autors: Andris Čeirāns

Kopsavilkums

Hitrīdijmikozes ierosinātājs *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) ir sastopams lielākajā Latvijas daļā. Inficēto īpatņu un ūdenstilpņu īpatsvars ir samērā zems, tā, pētījumā 87% Bd-pozitīvo paraugu inficēšanās intensitāte bija <10 zoosporu genomu ekvivalentu. Bd biežāk konstatēts Latvijas D, A un C daļās, novērojama tendence veidot ģeogrāfiskus klāsterus, kas nav atkarīgi no lokāla klimata īpatnībām. Augstāks inficēšanās līmenis bija nelielās, iegrimušiem makrofītiem bagātas ūdenstilpēs ar zemu dūņu īpatsvaru sedimentos. Salīdzinot Bd inficēšanās datus ar vokalizējošu tēviņu uzskaišu datiem, būtiska negatīva Bd ietekme uz zaļo varžu (*Pelophylax spp.*) populācijām nav konstatēta. Bd var potenciāli ietekmēt trīs īpaši aizsargājamās sugas: sarkanvēdera ugunskrupi (*Bombina bombina*), smilšu krupi (*Epidalea calamita*), lielo tritonu (*Triturus cristatus*) piecās Natura 2000 teritorijās, kur to atradnēs Bd ir konstatēts zaļajām vardēm.

Abstract

Batrachochytrium dendrobatidis (Bd) was found in a various regions of Latvia, more infected were the frogs from the southern, eastern, and central parts of the state. The prevalence and the proportion of infected waterbodies, however, were relatively low, and 87% of the Bd-positive samples had <10 zoospore genomic equivalents per sample. Infected populations tended to be geographically clustered, with no effect from the regional climate. A series of *PR*, *ZIP*, and *ZINB* regression analyses that were conducted to relate Bd infections with the green frog (*Pelophylax spp.*) vocalizing male count data, revealed only one statistically significant, but weak correlation, and, in general, the data analysis did not confirm significant adverse effect of Bd on the green frog population size at both plot and separate waterbody levels. Nevertheless, the Bd infection abundance and the intensity in green frogs were negatively correlated with the waterbody size and the presence of a mud in the bottoms, positively – with the submerged macrophyte coverage. A potential effect of the presence of Bd on other amphibian species is being discussed.

SATURA RĀDĪTĀJS

	lpp
1. Ievads	5
2. Metodika	9
2.1. <i>Paraugošana</i>	9
2.2. <i>Laboratorijas analīzes</i>	10
2.3. <i>Datu analīze</i>	11
3. Rezultāti	13
3.1. <i>Analīze parauglaukumu līmenī</i>	13
3.2. <i>Analīze ūdenstilpņu līmenī</i>	15
4. Diskusija un ieteikumi nākamā perioda monitoringam	17
5. Galvenie secinājumi	21
6. Literatūras saraksts	22
Pateicības	25
Pielikums	26

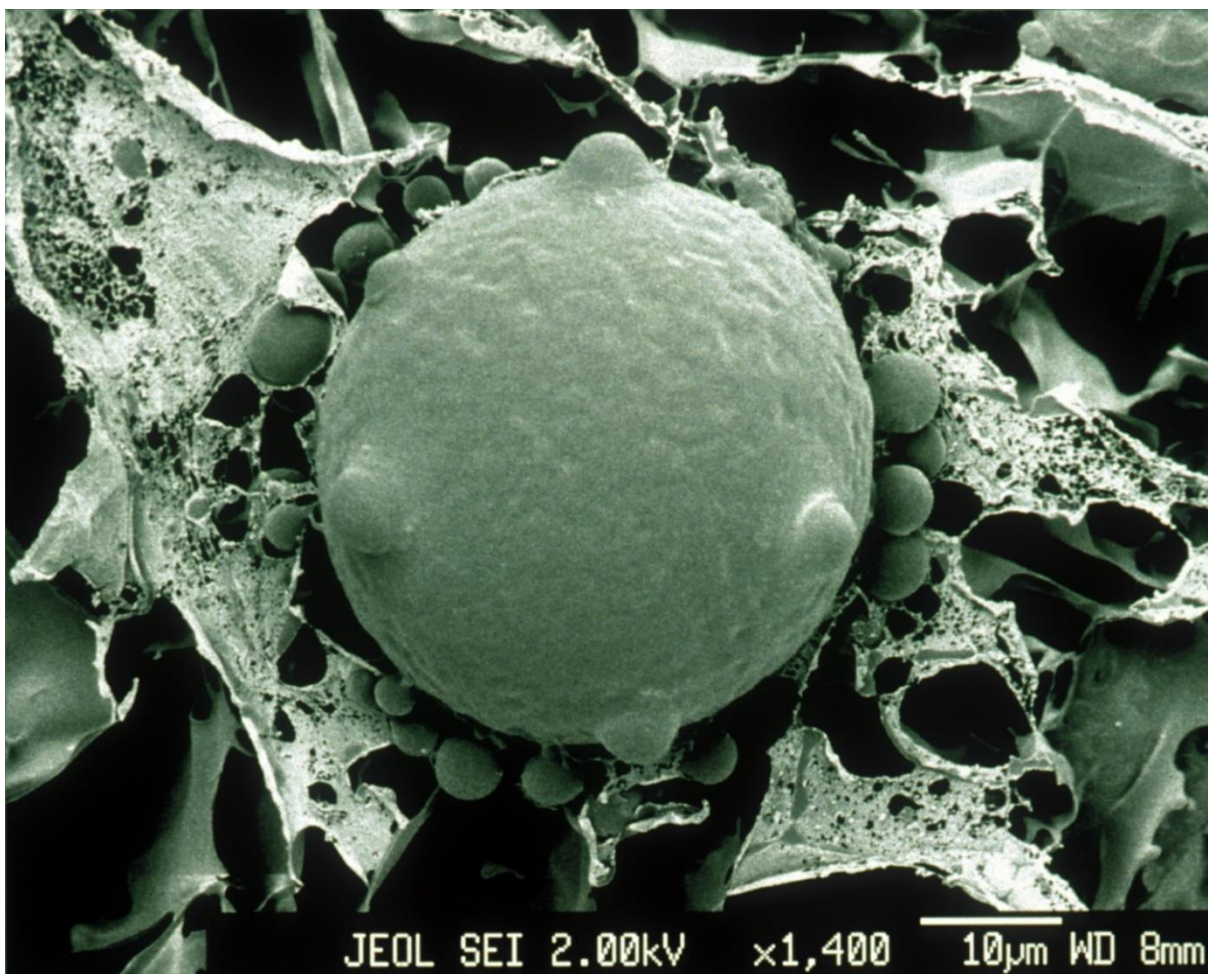
1.IEVADS

Hitrīdijmikozi izraisa Chytridiomycetes klases, Rhyzophydiales kārtas, *Batrachochytrium* ģints divu sugu parazitiskās sēnes. Pirmo sugu – *Batrachochytrium dendrobatidis* (Attēls 1.1), aprakstīja 1999. gadā (Longcore u.c. 1999), izdalot kultūrā no Vašingtonas zoodārzā mirušas zilās indiāņu bultu vardes (*Dendrobates azureus*), bet otro – *Batrachochytrium salamandrivorans* aprakstīja 2013. gadā (Martel u.c. 2013), izdalot no inficētu plankumaino salamandru (*Salamandra salamandra*) ādas kādā Nīderlandes populācijā. Abiem patogēniem zinātniskajā literatūrā pieņemti saīsinājumi – Bd priekš *Batrachochytrium dendrobatidis* un Bsal priekš *Batrachochytrium salamandrivorans*. Bsal Eiropā dabā konstatēta tikai Nīderlandē, Beļģijā un Vācijas rietumdaļā, kur inficē astainos abiniekus. Latvijā šis hitrīdijmikozes ierosinātājs nav konstatēts (Čeirāns u.c. 2018). Savukārt Bd ir konstatēts daudzās Eiropas valstīs, tai skaitā Latvijā (Čeirāns u.c. 2018), vairāk nekā 20 dažādām Eiropas abinieku sugām, gan astaino (Caudata), gan bezastaino (Anura) abinieku kārtu pārstāvjiem (Duffus, Cunningham 2010). Bd infekcijas pakāpe variē dažādām populācijām un sugām, visstiprāk inficētās parasti ir zaļās vardes (*Pelophylax sp.*) (Rasmussen u.c. 2012, Vojar u.c. 2017). Pētījumā, kas veikts Latvijas DA daļā, zaļajām vardēm Bd tika konstatēts 59% apsekoto ūdenstilpņu un 52% apsekoto īpatņu (Čeirāns u.c. 2018a).

Uzskata, ka Bd izraisītā hitrīdijmikoze ir viens no nozīmīgākajiem globāla abinieku skaita samazināšanās cēloņiem (Kolby, Daszak 2016), kā arī, domājams, viens no galvenajiem populāciju samazināšanās slēptajiem cēloņiem, gadījumos, kad nav izdevies identificēt kādu konkrētu ekoloģisko vai antropogēno faktoru (Olson u.c. 2013). Slimības klīniskās izpausmes variē no pēkšņas nāves bez īpašām ārējām pazīmēm līdz redzamiem ādas bojājumiem; parastākās pazīmes ir intensīva ādas virskārtas atslāņošanās, ādas apsārtumi vai ķermeņa krāsojuma izbalēšana. Abiniekiem āda ir kaila un tādēļ tā ir ļoti svarīgs orgāns no osmoregulācijas un gāzu maiņas viedokļa; hitrīdijmikozes rezultātā ādas funkcija tiek sagrauta audu fizisku bojājumu rezultātā (van Rooij u.c. 2015).

Hitridijmikozes ierosinātāji Eiropā nav vietējs patogēns, abu (gan Bd, gan Bsal) izcelsmes reģions ir Austrumāzija (O’Hanlon u.c. 2018). Bd sācis izplatīties globāli sākot jau ar 1820tajiem gadiem, attīstoties tirdznieciskiem sakariem, kad ar inficētajiem abiniekiem dažādas šī patogēna ģenētiskās līnijas sāka pakāpeniski izplatīties visā pasaulē (O’Hanlon u.c. 2018). Izplatīšanās notikusi pateicoties tirdzniecībai ar inficētām, bet pret Bd rezistentām sugām, tādām kā Āfrikas piešu varde (*Xenopus laevis*) (kas plaši izmantota zinātniskiem mērķiem un (līdz 1960tajiem gadiem) grūtniecības testu veikšanai) un Z. Amērikas vērsa varde

(*Lithobates catesbeianus*) (ko izmanto pārtikā) (Fisher, Garner 2007). Salīdzinot ar daudzām rietumu puslodes valstīm, Eiropā Bd parādījies samērā vēlu. Senākie zināmie novērojumi attiecas uz Baleāru salām (Maljorka), kur pirmo reizi parādījies ne vēlāk kā 1991.gadā (Walker u.c. 2008), bet kontinentālajā daļā (C.Spānijā) - 1997. gadā (Garner u.c. 2005). Savukārt Bsal Eiropā parādījās 2008-2010 gados pateicoties zooveikalu tirdzniecībai ar inficētiem Austrumāzijas tritoniem (Spitzen-van der Sluijs u.c. 2016). Latvijā Bd pirmo reizi konstatēts 2017.gadā (Pupina u.c. 2019), lai gan, domājams, mūsu valstī parādījies ievērojami senāk; Bsal līdz šim Latvijā nav konstatēts.



Attēls 1.1

Batrachochytrium dendrobatidis zoosporangijs un zoosporas uz tā virsmas (attēls vietnē Wikipedia: https://en.wikipedia.org/wiki/Batrachochytrium_dendrobatidis).

Neskatoties uz potenciāli iznīcinošo ietekmi uz Latvijas abinieku populācijām, pētījumā, kas 2018. gadā tika veikts LVAFA finansēta projekta (Nr. 1-08/153 /2017) „Datu ieguve un vadlīniju izstrādāšana triju invazīvo, abiniekiem letālo, svešzemju organismu sugu

ierobežošanas pasākumu veikšanai Dienvidaustrumu Latvijā” ietvaros Latvijas DA daļā, Bd infekciju raksturoja kopumā augsts inficēto populāciju un īpatņu īpatsvars samērā vieglā patogēna invāzijas formā, kas varēja liecināt vai nu i) par ilgstošu Bd klātbūtni un abinieku populāciju adaptēšanos, vai arī ii) par patogēna invāzijas sākuma stadiju Latvijā (Čeirāns u.c. 2018a). Pirmajā gadījumā maz ticams, ka šis patogēns tuvākajā laikā varētu būtiski pasliktināt abinieku populācijas un no tiem atkarīgo dzīvnieku grupu bioloģisko daudzveidību, savukārt otrajā hitrīdijmikoze ir nopietns drauds Latvijas bioloģiskai daudzveidībai.

Atzīstot šo potenciālo draudu, abinieku hitrīdijmikozes monitorings tika iekļauts Valsts bioloģiskās daudzveidības monitoringa programmā kā speciālais monitorings ar izpildes biežumu reizi sešos gados. Latvijā tiek realizēta abinieku fona monitoringa programma, kuras ietvaros tiek iegūti vokalizējošu abinieku skaita dati, kas ir pietiekoši to populāciju stāvokļa raksturošanai. Vienkāršākais veids, kā novērtēt Bd reālo ietekmi uz abinieku populācijām Latvijas mērogā, ir saistīt augstāk minētos abinieku uzskaišu datus ar Bd klātbūtni monitoringa parauglaukumos.

Bd ietekmes noskaidrošanai 2021.gadā tika uzsākts LVAFA finansēts projekts (Nr. 1-08/160/2020) “Abiniekiem nāvējošas slimības – hitrīdijmikozes ietekmes uz Latvijas abinieku populācijām novērtēšana”. Šī projekta 1-3 darba uzdevumu (un atbilstošu aktivitāšu) ietvaros tika veikti pētījuma plānošanas darbi, paņemti paraugi abinieku monitoringa vietās un veiktas laboratorijas analīzes ar mērķi detektēt tajos hitrīdijmikozes izraisītāja DNS. Šādā veidā pētījuma gaitā tika veikts zaļo varžu (*Pelophylax spp.*) populāciju skrīnings, kas ietvēra visu Latvijas teritoriju. Zaļās vardes (Attēls 1.2) tika izvēlētas par Bd izpētes modeļtaksonu, jo ir viens no parastākajiem abinieku taksoniem, kas turklāt pastāvīgi uzturas ūdenstilpēs. Pēdējais ir būtisks faktors, kas atvieglo Bd klātbūtnes konstatēšanu, jo Bd inficē saimnieku zoosporas stadijā, kura izplatās ūdens vidē (van Rooij u.c. 2015), un abinieku sugām, kas, atšķirībā no zaļajām vardēm, pastāvīgi uzturas uz sauszemes, novērojama Bd pāriešana kriptiskā fāzē, kad šis ierosinātais netiek detektēts (Balaž u.c. 2013).

Dotā atskaite sagatavota Projekta 4.aktivitātes ietvaros, kuras darba uzdevums ir novērtēt hitrīdijmikozes ietekmi uz Latvijas abinieku populācijām, veikt datu analīzi abinieku uzskaišu un hitrīdijmikozes analīžu rezultātiem un sagatavot projekta gala atskaiti. Šāds darba uzdevums būtībā atbilst zinātniskam darbam, tādēļ Projekta atskaite izveidota izmantojot zinātniskās publikācijās vispārpieņemto pētījuma prezentācijas veidu, kad pētījuma apraksts sastāv no: i) ievaddaļas, ii) materiāla un metodikas apraksta, iii) rezultātu prezentācijas un to statistiskās analīzes daļas, iv) rezultātu novērtējuma un diskusijas daļas, v) secinājumiem. Šāda pieeja

nodrošina atkārtojamību un parāda ceļu, kā nonākt līdz projekta secinājumiem, kā arī ietver pārējo projekta aktivitāšu – paraugu ņemšanas un analīžu metodikas aprakstus.

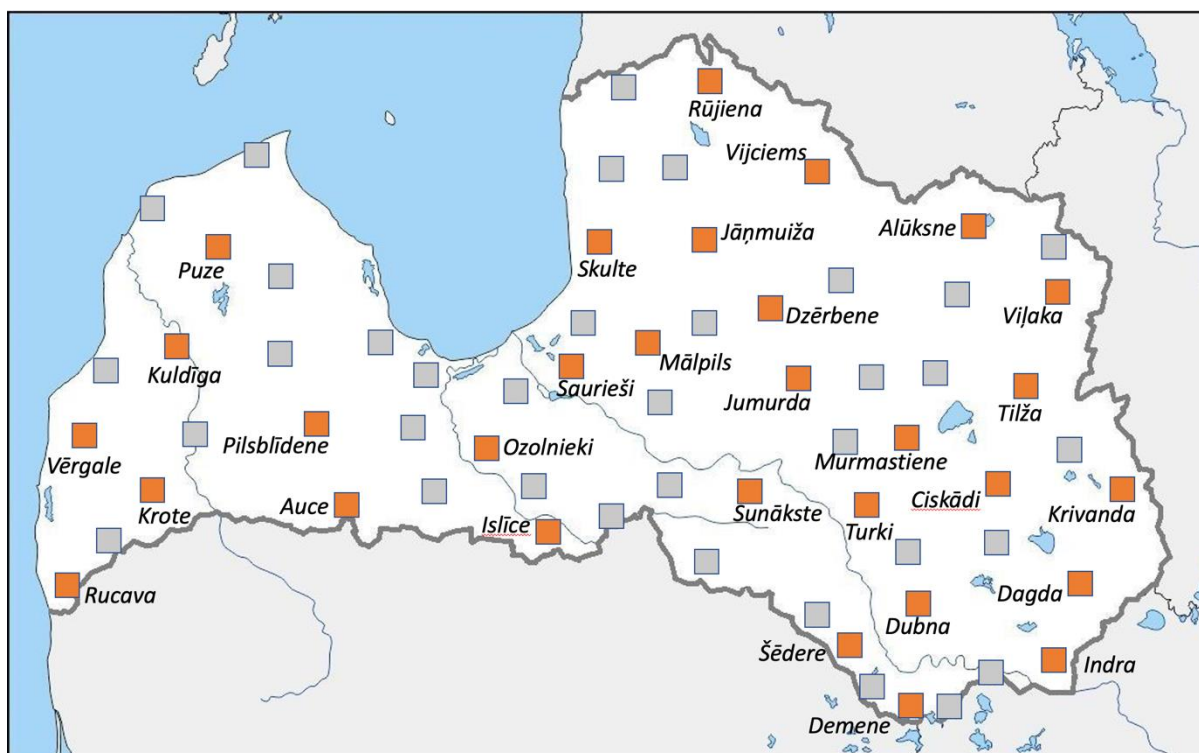


Attēls 1.2
Zaļā varde (*Pelophylax spp.*) – Bd invāzijas izpētes objekts projektā (A.Čeirāna foto)

2.METODIKA

2.1.Paraugošana

Paraugu ņemšana veikta 2021.gada maijā-septembrī, 30 abinieku 5x5 km fona monitoringa parauglaukumos (kvadrātos) (Attēls 2.1.). Katrā kvadrātā nejauši izvēlētas 6 ūdenstilpes, kurās monitoringa laikā ir tikusi konstatēta zaļo varžu (*Pelophylax spp.*) vokalizācija. Ja, apmeklējot ūdenstilpi, izrādījās, ka šī konkrētā ūdenstilpe nav piemērota varžu ķeršanai (staigni vai krūmaini krasti, kas neļauj pietuvoties un (vai) izmantot ķeramtīkliņu), tā tika aizvietota ar dotajai ūdenstilpei tuvāk esošo piemēroto. Katrā ūdenstilpē noķertas 5 vārdes, izmantojot taisnstūra formas ķeramtīkliņu, katra varde ievietota nelielā vienreizējas lietošanas plastikāta traukā, kurā izveidotas atveres gaisam. Ievietošana traukā notika nepieskaroties vardei ar rokām, bet apsedzot to ar trauku un pabīdot apakšā vāciņu, lai pēc iespējas mazinātu parauga ņēmēja saskarsmi ar vardi parauga kontaminācijas risku mazināšanas nolūkā. Veikti īsi ūdenstilpņu lauka apraksti (veģētācijas segumi, dziļums, platība, grunts sastāvs).

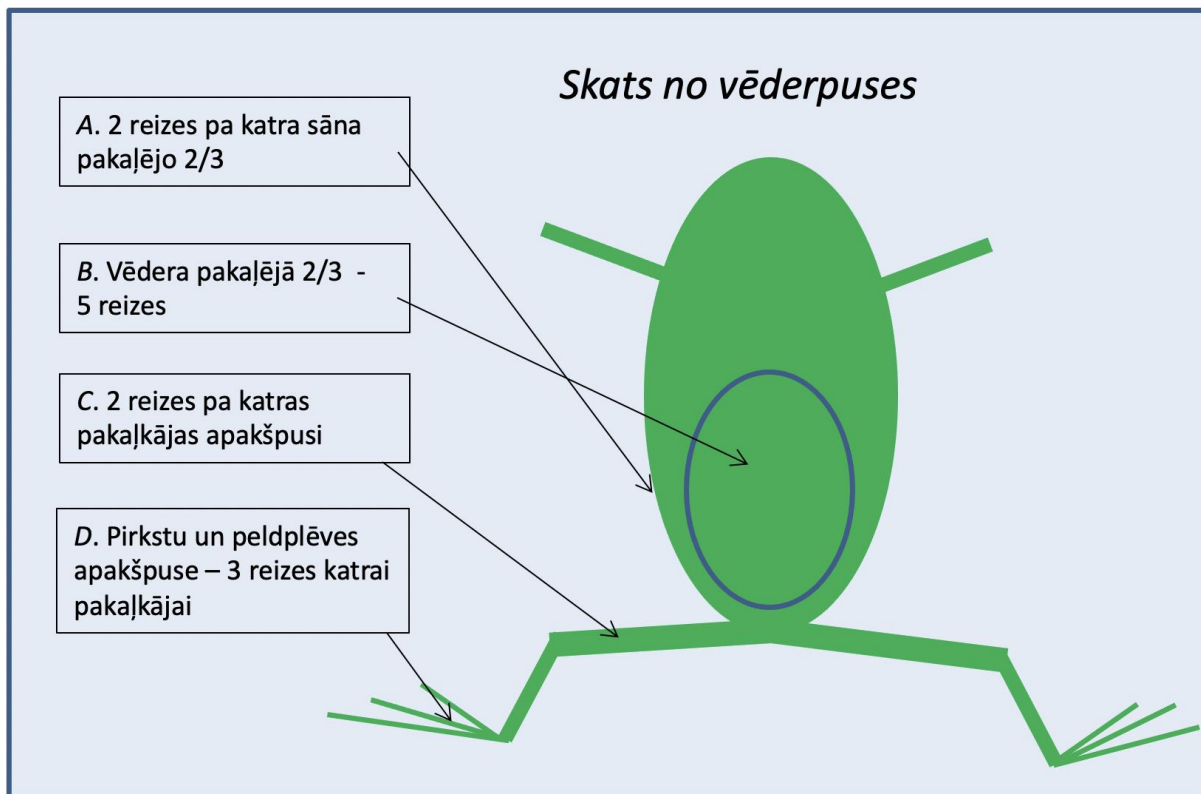


Attēls 2.1.

Bd pētīto (gaišbrūni kvadrāti, ar nosaukumiem) un pārējo (pelēki kvadrāti) abinieku fona monitoringa parauglaukumu atrašanās vietas.

Pēc tam paņemts paraugs vārdes epitēlija noberzuma veidā, ar kokvilnas kociņu veicot aptuveni 20 noberzējumus saskaņā ar vienotu shēmu un vārdes ķermeņa daļu apstrādes secību (Attēls

2.2.). Pēc tam paraugošanas kociņš 20-30 sekundes apžāvēts gaisā un ievietots atsevišķā plastmasas tūbiņā, 70% etanolā. Paraugu ņemšana veikta vienreizlietojamās cimdās, kas nomainīti pēc katras vārdes. Pēc katras ūdenstilpes rokas dezinficētas ar medicīnisku antiseptiķi. Katram paraugam piešķirts ID. Šādā veidā katrai vardei paņemts 1 paraugs. Pēc parauga ņemšanas varde izlaista dabā, noķeršanas vietā. Pavisam paņemti 900 varžu epitēlija paraugi no 180 ūdenstilpēm 30 fona monitoringa kvadrātos. Līdz analīžu veikšanai paraugi uzglabāti -20 °C temperatūrā.



Attēls 2.2.

Vārdes epitēlija noberzumu paraugu ņemšanas shēma; burti A-D norāda noberzēšanas secību.

2.2. Laboratorijas analīzes

Bd genoma klātbūtne epitēlija noberzumos tika noteikta akreditētā laboratorijā izmantojot kvantitatīvo reāllaika PCR testu saskaņā ar metodiku, kas izstrādāta tieši *Batrachochytrium dendrobatidis* detektēšanai, un ir pilnībā publicēta (Annis u.c. 2004; Boyle u.c. 2004, Bloii u.c. 2013). Visi paraugi analizēti duplikātu veidā. Amplifikācija un PCR reāllaika tests veikti izmantojot qTOWER³/G termālo cikleru. DNS ekstrahēšana veikta 100 μl Prepman Ultra (Applied Biosystems, Foster City, CA) šķīdumā, izmantojot proteīnāzi K, pēc ekstrahēšanas šķīdumiem pievienots albumīna serums (BSA), lai novērstu iespējamo PCR inhibēšanu. Visi

praimeri un paraugi tika pārbaudīti ar BLASTIN analīzi, lai pārlicinātos, ka netiek veikta citu organismu gēnu amplifikācija. Bd ITS1 rRNA gēna noteikšanai tika izmantoti praimeri ITS1-3 Chytr un TaqMan probe Chytr MGB2. DNS detektēšanā izmantoti CFX96 reāllaika sistēmas praimeri (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). Amplifikācija veikta 10 min garumā pie 95°C, kam sekoja 40 kušanas (15 sek pie 95°C) un atkausēšana/pieaudzēšanas (1 min pie 62°C) cikli. Paraugu koncentrācijas optimizētas ar iepriekš noteiktām praimeru optimālajām koncentrācijām. PCR šķīdumiem pievienots BSA (Sigma-Aldrich Inc., Bornem, Belgium) ar koncentrāciju 400 ng/l, kas ir optimāla PCR inhibēšanas novēršanai. Bd-pozitīviem paraugiem zoosporu genomu ekvivalentu (GE) skaits aprēķināts saskaņā ar esošiem kvantifikācijas standartiem. Analīzes rezultāts tika uzskatīts par pozitīvu, ja atbilda sekojošiem kritērijiem: i) duplikātiem vidējais Bd zoosporu genomu ekvivalents (GE) pārsniedza 0.1 un ii) analīze parādīja nepārprotamu sigmoīdu augšanas līkni abos atkārtojumos. Analīžu rezultāti sniegti kā vidējā GE vērtība duplikātā.

2.3. Datu analīze

Bd klātbūtnes saistība ar vokalizējošu zaļo varžu skaitu tika analizēta divos līmeņos. Augstākajā, – parauglaukumu līmenī, Bd infekcija tika saistīta ar sekojošiem abinieku 2016-2018 gadu fona monitoringa datiem (Čeirāns u.c. 2018b): zaļo varžu pieaugušo īpatņu minimālo populācijas blīvumu (gab/km²), zaļo varžu apdzīvoto ūdenstilpņu īpatsvaru un vidējo vokalizējošo tēviņu skaitu ūdenstilpē. Zemākajā, – ūdenstilpņu līmenī bija ierobežots datu klāsts (n=54), jo, piemēram, veģetācijas dati bija pieejami tikai ūdenstilpēm, kas apmeklētas vasaras 2 daļā, kad makrofitu veģetācija bija pilnībā attīstījusies, un tika izmantoti dati tikai no parauglaukumiem, kur tika konstatēti Bd-pozitīvi paraugi, lai rezultātus neietekmētu ūdenstilpņu īpatnības vietās, kur Bd nav sastopams. Ūdenstilpņu līmenī BD infekcijas rādītāji tika saistīti ar sekojošiem neatkarīgiem mainīgiem: vokalizējošu tēviņu skaitu (dati no fona monitoringa), ūdenstilpes platību (izmērīta programmā *Google Earth Pro*), virsūdens, peldlapu, iegrimušās veģetācijas segumiem, substrātu (dūņainības kategorijās: 1– smilts, 2 – dūņaina smilts, 3 – dūņas) un ūdenstilpes dziļumu (noteikti dabā).

Bd invāzijas raksturošanai paraugkopās izmantoti sekojoši rādītāji, kas ir vispārpieņemti parazitoloģiskos pētījumos (Bush u.c. 1997): i) prevalence (*P*) – inficēto īpatņu īpatsvars, ii) infekcijas daudzums (aptuvenus latviskais tulkojums vispārpieņemtam angļu val. terminam *abundance*) (*A*) – vidējais Bd genomu ekvivalents paraugos, ieskaitot tos, kuros analīzes

rezultāts bija negatīvs, iii) infekcijas intensitāte (I) – vidējais Bd genomu ekvivalents pozitīvajos paraugos.

Dati neatbilda normālajam sadalījumam, kas noteica statistisko analīžu metožu izvēli. Datu kopā ar nulles novērojumiem saistības detektēšanai paralēli pielietotas divas regresijas metodes, kas tiek izmantotas datiem ar lielu skaitu nulles novērojumiem (kādi ir negatīvi analīžu rezultāti): *zero-inflated Poisson regression (ZIP)* un *zero-inflated negative binomial regression (ZINB)* ar konstantas inflācijas opciju. Datu kopām bez nulles novērojumiem pielietota *Poisson regression (PR)*. Izvēloties starp *nested* modeļiem ar atšķirīgu neatkarīgo mainīgo skaitu izvēlēts modelis ar zemāko *Akaike Information Criterion (AIC)* vērtību.

Bd-pozitīvu un Bd-negatīvu paraugkopu salīdzināšanai izmantots neparametrisks *Mann-Whitney (Wilcoxon) W* tests, kas ļauj salīdzināt datus, kas neatbilst normālam sadalījumam. Šādu paraugkopu datu vizualizēšanai izmantoti kvartiļu sadalījuma grafiki.

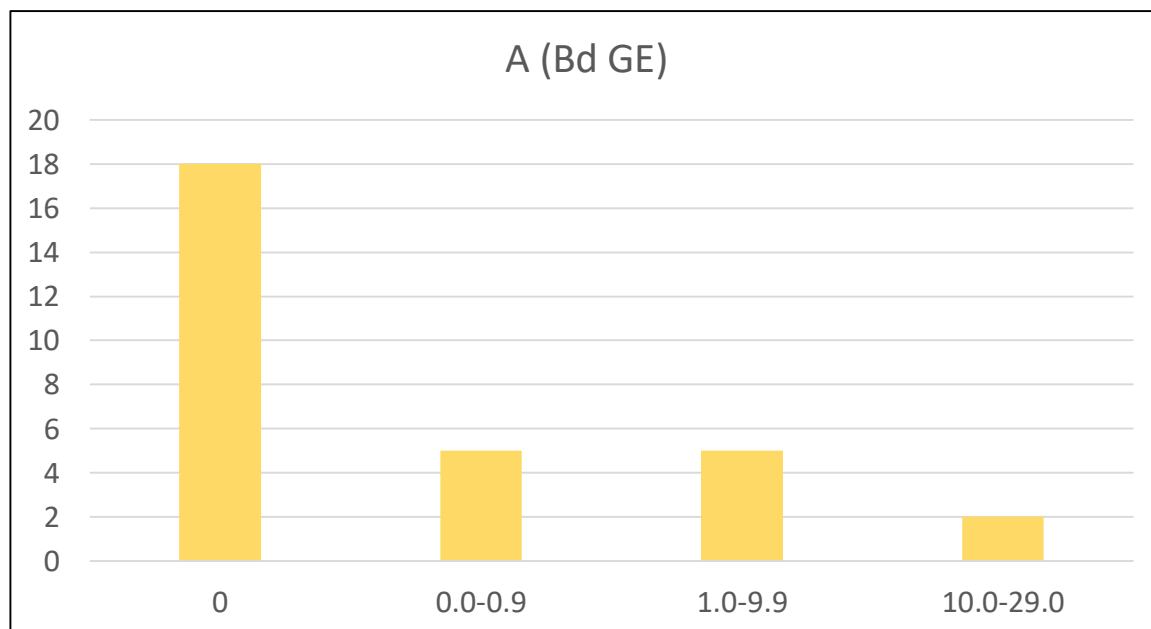
ZIP un *ZINB* regresijas analīzes veiktas STATA 14.2 (StataCorp LLC, College Station, Texas, USA) programmā ar the Stata Technical Bulletin pielikumu ‘Scalar measures of fit for regression models’, savukārt *W* testi un kvartiļu sadalījumu grafiki veikti programmā Statgraphics Plus 5.0 (Statgraphics Technologies, Inc., The Plains, Virginia, U.S.).

3.REZULTĀTI

No analizētajiem 900 varžu paraugiem Bd pozitīvs rezultāts bija 44 (jeb 4.9%) vārdēm, kur infekcijas intensitāte (I) variēja robežās 0.011–651.31, vidēji (\pm standartnovirze) 47.687 ± 131.781 Bd zoosporu genomu ekvivalentu. Dominēja zemas inficēšanās intensitātes gadījumi (<10 genomu ekvivalenti) un tādi, kuros genomu ekvivalentu skaits bija tikai nedaudz virs detektēšanas robežas (<2 genomu ekvivalentiem un pozitīvs rezultāts tikai vienā no diviem duplikātiem), kas atbilstoši sastādīja 57% un 30% no visiem paraugiem. Vidējas inficēšanās intensitātes gadījumi (10-1000 genomu ekvivalentu) bija 13% no pozitīvajiem paraugiem, bet augstas inficēšanās intensitātes gadījumi (>1000 genomu ekvivalentu) vārdēm netika konstatēti vispār. Bd klātbūtne konstatēta 12 no 30 parauglaukumiem (40%) un 22 no 180 apsekotajām ūdenstilpēm (12%), pie tam vidējas intensitātes inficēšanās gadījumi konstatēti tikai 3 parauglaukumos (Dzērbene, Indra, Islīce), bet vienā (Rūjiena) – tikai tādi, kas bija ap detektēšanas apakšējo robežu.

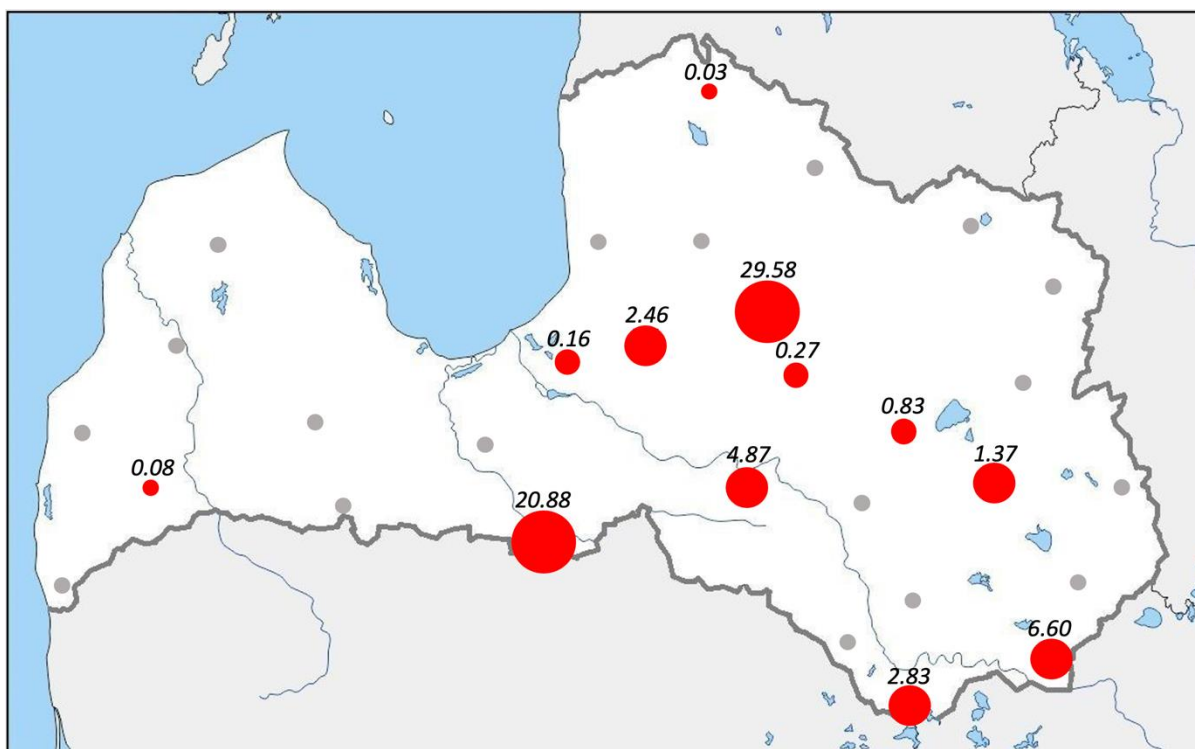
3.1. Analīze parauglaukumu līmenī

Bd invāzijas rādītāji un zaļo varžu populāciju relatīvā lieluma rādītāji parauglaukumos sniegti Pielikumā. Bd netika konstatēts 60% parauglaukumu, atlikušajos bija pārsvarā zemas intensitātes Bd infekcija, vidējas intensitātes (vid. >10 genomu ekvivalentu/paraugs) infekcija raksturoja tikai 2 parauglaukumus (Attēls 3.1.1).



Attēls 3.1.1.

Parauglaukumu ($n=30$) frekvenču histogramma pēc vidējā Bd genoma ekvivalentu skaita (A) parauglaukuma vārdēs



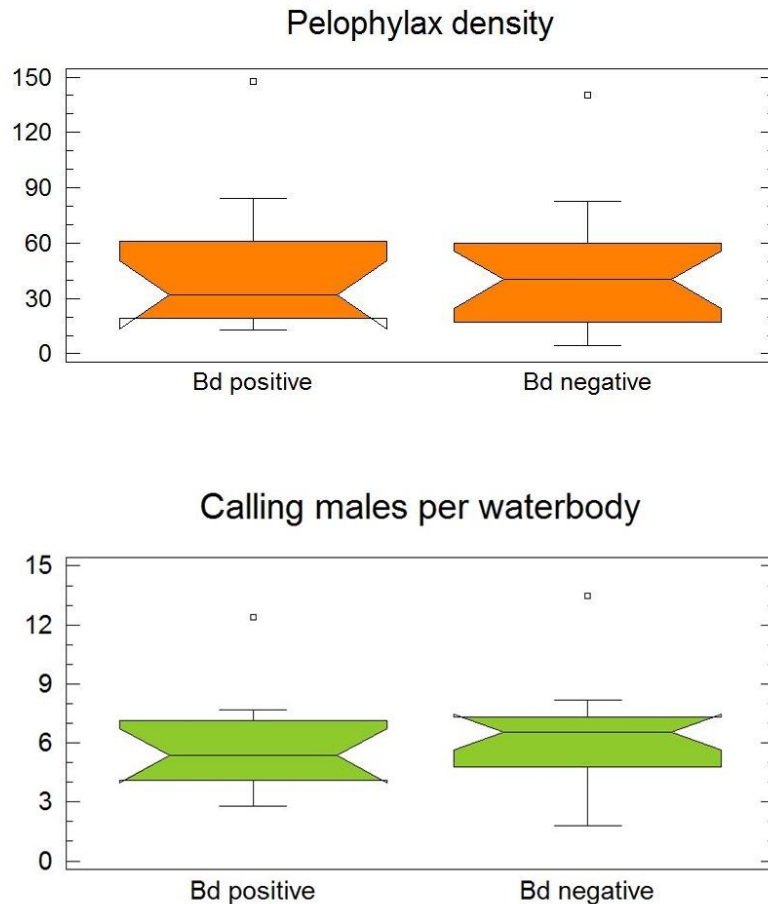
Attēls 3.1.2.

Bd vidējā daudzuma (A) (sniegts vidējais genoma ekvivalentu skaits vardē) telpiskais izvietojums Latvijā; ar pelēkiem punktiem atzīmēti parauglaukumi bez pozitīviem Bd analīžu rezultātiem.

Parauglaukumos ar pozitīviem Bd analīžu rezultātiem prevalence (P) variēja robežās 0.07–0.30 vidēji (\pm standartnovirze) 0.12 ± 0.08 , vid. infekcijas daudzums (A) 0.03–29.58 un 5.83 ± 9.47 , bet vid. intensitāte (I) attiecīgi 0.40–98.85 un 33.17 ± 38.92 . Biežāk ar Bd inficētas bija vārdes no Latvijas centrālās un austrumu daļām, parauglaukumiem ar inficētām vardēm vērojama tendence veidot ģeogrāfiskus klāsterus (Attēls 3.1.2.).

Regresijas analīzes uzrādīja vāju, bet statistiski ticamu negatīvu Bd daudzuma (A) korelāciju ar zaļo varžu apdzīvoto ūdenstilpņu īpatsvaru parauglaukumā (ZIP analīze: $LR \chi^2 = 6.92$, $z = -2.58$, McFadden's $R^2 = 0.035$, $p = 0.0085$). Citas statistiski ticamas korelācijas netika konstatētas.

Lai gan parauglaukumos, kur netika konstatēts Bd, caurmērā bija nedaudz augstāks zaļo varžu blīvums un vidējais vokalizējošu tēviņu skaits ūdenstilpē (Attēls 3.1.3.), atšķirības starp Bd pozitīvu un Bd negatīvu parauglaukumu paraugkopām nebija statistiski būtiskas ($Mann-Whitney$ ($Wilcoxon$) W testos $p > 0.1$).



Attēls 3.1.3.

Zaļo varžu blīvuma (augšējais attēls) un vidējais vokalizējošo tēviņu skaita ūdenstilpē (apakšējais attēls) kvartiļu sadalījumu salīdzinājums Bd-pozitīviem (n=12) un Bd-negatīviem (n=18) parauglaukumiem

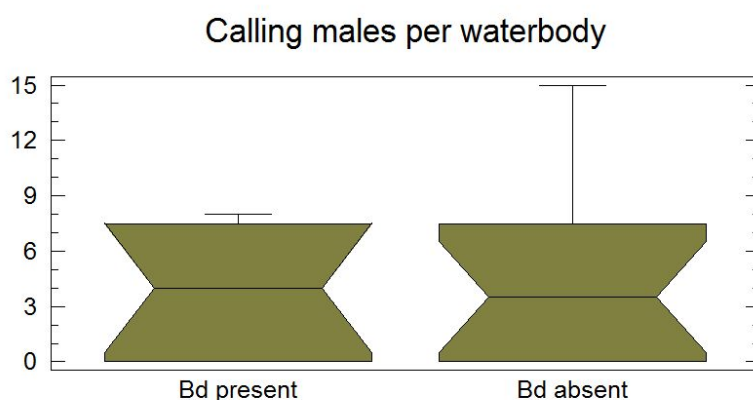
3.2. Analīze ūdenstilpņu līmenī

Regresijas analīzes parādīja Bd daudzuma (A) un invāzijas intensitātes (I) atkarību no ūdenstilpes īpatnībām. Tā, Bd daudzums (A) bija augstāks mazāka izmēra ūdenstilpēs ar mazāk eitroficētu dibenu, ko raksturoja zemāka dūņainība; pie tam šādu sakarību uzrādīja modeļi divos regresijas analīžu veidos – gan tādā, kas ir nosacīti jutīgāks, bet ar risku uzrādīt kļūdaini-positīvu rezultātu (ZIP : $LR\ chi^2 = 376.8$, Z ūdenstilpes platība = -3.04 , Z substrāta dūņainība = -13.36 , McFadden's $R^2 = 0.363$, $p < 0.0001$), gan tādā, kas ir nosacīti mazāk jutīgs ar risku uzrādīt kļūdaini-negatīvu rezultātu ($ZINB$: $LR\ chi^2 = 12.73$, Z ūdenstilpes platība = -1.78 , Z substrāta dūņainība = -2.46 , McFadden's $R^2 = 0.073$, $p = 0.0017$). Arī invāzijas intensitāte (I) parādīja analogisku korelāciju ar ūdenstilpes izmēru un dibena dūņainību, un turklāt parādīja arī pozitīvu korelāciju

ar iegrimušās makrofitu veģetācijas segumu (PR : $LR\ chi^2 = 1110.10$, z ūdenstilpes platība = -7.53 , Z substrāta dūņainība = -21.02 , Z iegrimusī veģetācija = 3.97 , McFadden's $R^2 = 0.461$, $p < 0.0001$)

Bd prevalence (P) paraugos nekorelēja ar ūdenstilpes parametriem.

Abinieku populāciju relatīvā lieluma rādītājs – vokalizējošu zaļo varžu tēviņu skaits, nevienā no regresijas analīzēm nekorelēja ar Bd inficēšanās rādītājiem konkrētajā ūdenstilpē; netika konstatētas arī atšķirības vokalizējošu tēviņu skaitā starp ūdenstilpēm, kurās Bd tika konstatēts, un tādām, kurās BD konstatēts netika (*Mann-Whitney (Wilcoxon) W* testā $p > 0.1$) (Attēls 3.2.1.).



Attēls 3.2.1.

Vokalizējošu tēviņu skaita kvartiļu sadalījuma salīdzinājums Bd-pozitīvām ($n=22$) un Bd-negatīvām ($n=38$) ūdenstilpēm (ūdenstilpes no parauglaukumiem bez pozitīviem BD gadījumiem nav iekļautas).

4. DISKUSIJA, NATURA 2000 TERITORIJAS UN IETEIKUMI NĀKAMĀ PERIODA MONITORINGAM

Dotā pētījuma rezultāti parādīja, ka Bd ietekme uz pētīto abinieku populāciju lielumu vērtējama kā vāja vai nenozīmīga. Lai gan parauglaukumos, kuros Bd ierosinātais netika konstatēts, vidējais pētījuma modeļtaksona – zaļo varžu (*Pelophylax spp.*) populācijas blīvums un vokalizējošu īpatņu skaits ūdenstilpēs bija nedaudz augstāks, atšķirības no parauglaukumiem ar Bd klātbūtni nebija statistiski būtiskas. Netika konstatētas atšķirības zaļo varžu relatīvā populācijas lielumā (vokalizējošu īpatņu skaitā) arī konkrētu ūdenstilpņu līmenī, salīdzinot tādas ūdenstilpes, kuru vardēm analīzes parādīja Bd infekcijas klātbūtni, un tādas, kurās Bd analīžu rezultāti bija negatīvi. Vienīgais, kas liecināja par iespējamu Bd ietekmi uz zaļo varžu populācijām, bija vāja, taču statistiski būtiska negatīva Bd vidējā daudzuma parauglaukumā korelācija ar ūdenstilpņu īpatsvaru, kurās tika konstatēta tēviņu vokalizēšana. Šādu sakarību var izraisīt zemāka inficēto populāciju varžu vokalizēšanas aktivitāte un zemāka detektēšanas varbūtība abinieku uzskaišu laikā, jo Bd var pazemināt abinieku vokalizēšanas intensitāti (Roznik u.c. 2015).

Lai gan mūsu pētījumam analogisks pētījums (respektīvi, ģeogrāfiski plaša aptvēruma abinieku populāciju relatīvā blīvuma salīdzinājums ar Bd infekcijas pakāpi), cik mums zināms, nekur citur nav veikts, Latvijas gadījumā varētu būt tipisks Eiropas mērenai joslai, kur Bd ir plaši izplatīts infekcijas aģents ar samērā zemu inficēšanas līmeni dabiskās populācijās (Balaž u.c. 2013, Voros u.c. 2018). Neskatoties uz to, ka Bd izraisītā hitrīdijmikoze tiek uzskatīta par vienu no abinieku globālās skaita samazināšanās cēloņiem (Kolby, Daszak 2016), patreiz trūkst liecību par tās būtisku negatīvu ietekmi uz vietējo abinieku sugu stāvokli un populāciju lieluma trendiem tieši Eiropā (Karvemo u.c. 2018, Scheele u.c. 2019, Bosch u.c. 2021; Taugbol u.c. 2021), lai gan Bd izraisa augstu abinieku mirstība atsevišķās populācijās arī šeit (Harmos u.c. 2021). Dokumentētas liela mēroga ietekmes trūkums var būt saistīts arī ar vietējo populāciju pielāgošanos un atbilstošu pētījumu trūkumu 20.g.s otrajā pusē, kad Bd ienāca Eiropas faunā un bija Eiropas abinieku faunai jauns patogēns ar maksimālu negatīvas ietekmes potenciālu.

Mūsu pētījumā konstatēts zemāks Bd inficēšanās līmenis, nekā iepriekš veiktā pētījumā Latvijas DA daļā (Čeirāns u.c. 2018a). Tā, mūsu pētījumā Bd prevalence (*P*) bija 5% paraugu, 12% ūdenstilpņu, bet vidējā invāzijas intensitāte (*I*) bija 47.7 GE, salīdzinot attiecīgi ar 51%, 59% un 17.4 pētījumā Latvijas DA daļā. Tas var būt saistīts ar diviem faktoriem: i) mūsu pētījums apvēra arī teritorijas bez Bd, un ii) stingrākiem pasākumiem “tīru” paraugu nejaušas kontaminācijas novēršanu pētījuma parauga ņemšanas stadijā.

Mūsu pētījums parādīja, ka Latvijā Bd ir izplatīts nevienmērīgi. Bd inficētas populācijas veidoja ģeogrāfiskus klāsterus, pie tam šie klasteri ietvēra parauglaukumus ar (Latvijas mērogā) ļoti atšķirīgiem klimatiskiem apstākļiem, kādi ir Vidzemes centrālā augstienē, Zemgales līdzenumā un Latvijas DA daļā. Telpisku agregāciju veidošana ir parazitāriem kā tādiem ir ļoti raksturīga pazīme (Pullan u.c. 2012, Cohen u.c. 2016, McVinish un Lester 2020), pie tam Bd Latvijas gadījumā to maz ietekmēja vietējie klimatiskie apstākļi. Šis ir nozīmīgs atklājums, jo līdz šim, veicot matemātisko modelēšanu, tika uzskatīts, ka tieši lokālā klimata īpatnības nosaka Bd inficēšanās riskus vārdēm un, piemēram, augstākā Bd inficēšanās varbūtība ir Latvijas R daļā (Tytar u.c. 2021), kur Bd patiesībā izrādījās ļoti rets.

Pieejamās literatūras studija parādīja, ka mūsu pētījums ir pirmais, kura rezultāti liecina par ūdenstilpņu īpatnību nozīmi Bd infekcijas līmenim dabā. Augstāks inficēšanās līmenis bija nelielās ūdenstilpēs ar zemu dūņu saturu dibenā un iegrimušo makrofitu klātbūtni. Neliels ūdenstilpņu izmērs, kā būtisks Bd inficēšanās riska faktors, saskan ar Latvijas abinieku helmintu datiem, kur nelielās ūdenstilpēs ir augstāks trematožu kāpura stadiju inficēšanās līmenis (Čeirāns u.c. 2021). Bd dzīves cikla zoosporu aktīvas pārvietošanās fāze ūdenī vairumā gadījumu ir īsāka par 24h (Piotrowski u.c. 2004). Tādējādi, Bd gadījumā, līdzīgi kā tas ir trematožu kāpura stadijām, augstāks inficēšanās līmenis mazākās ūdenstilpēs varētu būt saistīts ar augstāku saimniekorganismu blīvumu, kas palielina brīvi peldoši, bet īslaicīgi dzīvojošu parazitāru stadiju (attiecīgi cercāriji un zoosporas) kontakta varbūtību ar abiniekiem.

Līdz šim ir maz pētījumu par Bd zoosporu dzīves īpatnībām dabā, tādēļ ir sarežģīti interpretēt mūsu pētījumā novēroto Bd inficēšanās līmeņa korelāciju ar substrātu un makrofitu segumu. Negatīva korelācija ar dūņu klātbūtni mūsu pētījumā statistiskā ziņā bija labi pamatota. Ir zināms, ka tīrā, dejonizētā ūdenī Bd ilgāk saglabā savu aktivitāti (Johnson, Speare 2003), Bd ir jutīgs pret baktēriju metabolītu ietekmi un pakļauts mikrofaunas plēsēju (infuzorijas, virpotāji u.c.) ietekmei (Van Rooij u.c. 2015), bet tā fermentu aktivitātes pīķis ir vāji sārmainos apstākļos (Piotrowski u.c. 2004), kas var izskaidrot to, kāpēc dūņainā vidē, ar daudziem mikroorganismiem un vāji skābu pH, inficēšanās līmenis ar Bd bija zemāks.

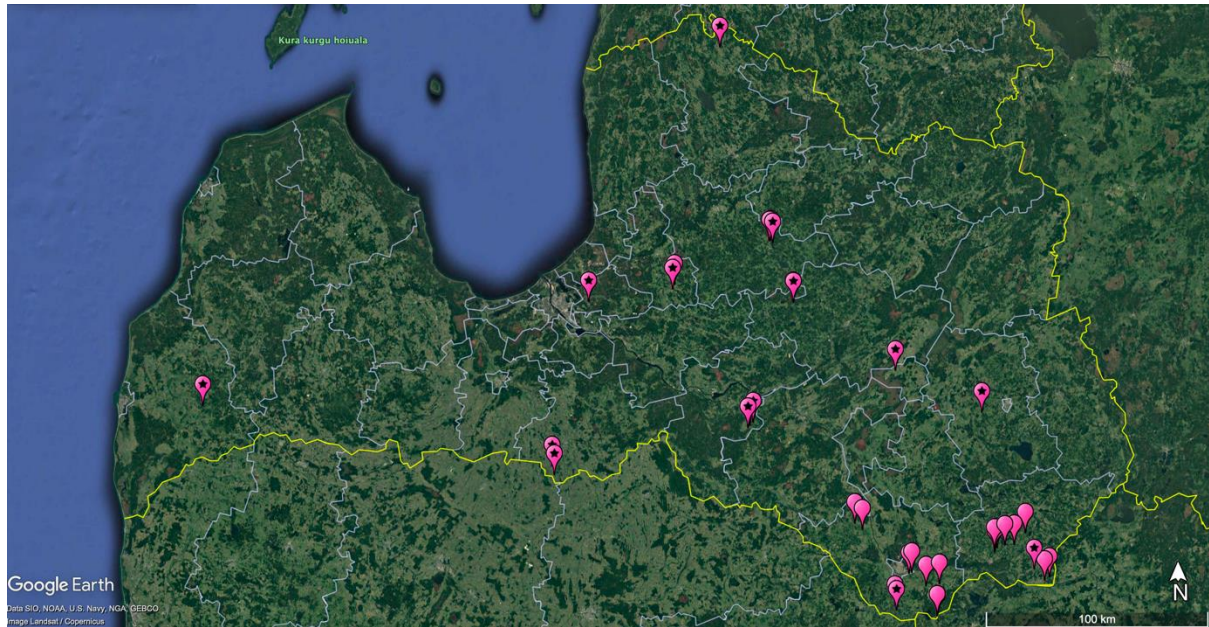
Neskatoties uz visumā nelielu ietekmi uz pētītajiem abiniekiem, novērotās Bd ūdenstilpņu preferences rada papildus riskus lokālu populāciju aizsardzības pasākumu sekmīgai ieviešanai, jo šādas nelielas, maz eitroficētas ūdenstilpes ar augstu iegrimušo makrofitu segumu ir optimāls abinieku vairošanās biotops un vairošanās biotopu atjaunošanas pasākumu mērķis (Rannap u.c. 2009; Baker u.c. 2011).

Latvijai saistošos normatīvos aktos noteikti Biotopu direktīvas pielikumos esošu sugu stāvokļa ziņojumi atbilstoši **17. panta prasībām**. Saskaņā ar 17. panta ziņojuma ietekmju klasifikatoru, Bd izraisītas hitridijmikozes riski atbilst ietekmēm I02 (“Invazīvas un citas problemātiskas sugas: Citas invazīvas sugas”) un (vai) L06 (“Dabiski procesi: Starpsugu attiecības (konkurence, plēsonība, parazitisms, patogēni”). Bd pašlaik ir konstatēts vienai Biotopu direktīvas IV pielikuma abinieku sugai – dīķa vardei (*Pelophylax lessonae*) piecās Natura 2000 teritorijās: DL “Īslīce” (dotā projekta ietvaros konstatēts ūdenstilpē 30 m attālumā no DL robežas), DP “Dvietes paliene” (Čeirāns u.c. 2018), DP “Silene” (Čeirāns u.c. 2018a), DP “Dridža ezers” (Čeirāns u.c. 2018a) un AAA “Augšdaugava” (Čeirāns u.c. 2018a). Visos gadījumos Bd ietekme vērtējama kā negatīva, bet ietekmes pakāpe ir zema; ietekmes avots atrodas konkrētajā Natura 2000 teritorijā. Potenciāli negatīvs faktors tas ir arī sekojošām īpaši aizsargājamu abinieku sugām, kuru konkrētajās vairošanās ūdenstilpēs Bd ir konstatēts zaļajām vardēm: smilšu krupim (*Epidalea calamita*) DP “Dvietes paliene”, lielajam tritonam (*Triturus cristatus*) un ugunskrupim (*Bombina bombina*) DP “Silene”, AAA “Augšdaugava”, DL “Īslīce”. Bd potenciālās ietekmes pakāpe uz šīm sugām variē. Tā, eksperimentā parādīts, ka citi ugunskrupju ģints pārstāvji ir samērā jutīgi pret Bd (Gabor u.c. 2017), ir zināmi Bd izraisīti to mirstības gadījumi dabā (Hamos u.c. 2021) un Bd infekcijas līmenis ugunskrupjos ir līdzīgs kā zaļajām vardēm (Balaž u.c. 2013, Hamos u.c. 2021). Savukārt gan smilšu krupis (Minting 2012), gan lielais tritons (Taugbol u.c. 2021) tiek uzskatīti par rezistentām sugām, kuru populācijas Bd neietekmē.

Dotais projekts turpina LVAFA finansēta projektā Nr. 1-08/153/2017 („Datu ieguve un vadlīniju izstrādāšana triju invazīvo, abiniekiem letālo, svešzemju organismu sugu ierobežošanas pasākumu veikšanai Dienvidaustrumu Latvijā”) iesākto (Čeirāns u.c. 2018a), paplašinot Bd atradņu ģeogrāfisko pārklājumu līdz visas valsts mērogam (Attēls 4.1) un sniedzot provizorisku Bd ietekmes novērtējumu uz abinieku modeļtaksona – zaļo varžu (*Pelophylax spp.*) Latvijas populāciju.

Ieteikumi nākamā perioda monitoringam, Vadoties pēc mūsu rezultātiem, var izdarīt secinājumu, ka Bd kā abinieku hitridijmikozes izraisītājs Latvijā ir kopumā maznozīmīgs negatīvs faktors, kas, domājams, ienācis Latvijā jau samērā sen un vietējās abinieku populācijas tam ir adaptējušās. Šī iemesla dēļ valsts mēroga, regulārs Bd monitorings nav lietderīgs. Tajā pašā laikā, paredzot abinieku biotopu atjaunošanas darbus un populāciju uzlabošanu/atjaunošanu ar nebrīvē audzētiem īpatņiem, dažos gadījumos var būt lietderīgi

veikt Bd analīzes, jo šādi atjaunoti abinieku biotopi var palielināt Bd inficēšanās riskus. Populācijas parasti tiek uzlabotas ar nesenu metamorfozi izgājušiem īpatņiem, šādā stadijā šīgadeņi ir īpaši uzņēmīgi pret Bd (Bradley u.c. 2019; Harnos u.c. 2021), tādēļ Bd klātbūtne to izlaišanas vietā var izraisīt to bojāeju.



Attēls 4.1.

Lokalitātes, kurās bija Bd-positīvi analīžu rezultāti 2017 (tukši rozā pilienvēida simboli, LVAFAs projekts Nr. 1-08/153 /2017) un 2022 (rozā pilienvēida simboli ar zvaigznīti, dotais projekts) gados

5. GALVENIE SECINĀJUMI

1. Bd klātbūtni Latvijā kopumā raksturo samērā zems inficēšanas līmenis; tā, inficētu zaļo varžu (*Pelophylax spp.*) īpatsvars pētījumā bija 5%, inficētas vārdes konstatētas 12% apsekoto ūdenstilpņu, bet 87% Bd-pozitīvu paraugu invāzijas intensitāte bija <10 zoosporu genomu ekvivalenti.
2. Bd sastopams lielākajā Latvijas daļā, vairāk inficētas populācijas Latvijas D, A un C daļās.
3. Bd savā sastopamībā veido ģeogrāfiskus klāsterus, kas nav atkarīgi no lokāla klimata īpatnībām.
4. Bd ietekme uz projektā pētītā abinieku modeļtaksona – zaļo varžu (*Pelophylax spp.*) populācijas lielumu vērtējama kā zema vai nenozīmīga.
5. Augstāki Bd inficēšanās riski abiniekiem ir nelielās, iegrimušiem makrofītiem bagātās ūdenstilpēs ar zemu dūņu īpatsvaru sedimentos.
6. Bd konstatēts piecās ĪADT Latvijas DA un D daļās (DL “Īslīce”, DP “Dvietes paliene”, DP “Silene”, DP “Dridža ezers” un AAA “Augšdaugava”), kur tā ietekme vērtējama kā negatīva zema (dīķa vardei *Pelophylax lessonae*) vai potenciāli negatīva (smilšu krupim *Epidalea calamita*, lielajam tritonam *Triturus cristatus*, ugunskrupim *Bombina bombina*).
7. Regulārs Bd monitorings valsts mērogā nav lietderīgs. Tomēr atsevišķos gadījumos ir lietderīgi veikt Bd skrīningu lokālu abinieku aizsardzības pasākumu ieviešanas ietvaros.

LITERATŪRAS SARAKSTS

- Annis S.L., Dastoor F.P., Ziel H. u.c. 2004. A DNA- based assay identifies *Batrachochytrium dendrobatidis* in amphibians. *J. Wildl. Dis.* 40:420 – 428.
- Baker J., Beebee T., Buckley J. u.c. 2011. *Amphibian Habitat Management Handbook. Amphibian and Reptile Conservation*, Bournemouth. 69 lpp.
- Balaž V., Kubečková M., Civiš P. u.c. 2013. Assessing risk and guidance on monitoring of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Europe through identification of taxonomic selectivity of infection. *Conservation Biology* 28: 213–223.
- Blooi M., Pasmans F., Longcore J.E. u.c. 2013. Duplex Real-Time PCR for Rapid Simultaneous Detection of *Batrachochytrium dendrobatidis* and *Batrachochytrium salamandrivorans* in Amphibian Samples. *Journal of Clinical Microbiology* 51 (12): 4173-4177.
- Bosch J., Mora-Cabello de Alba A., Marquinez S. u.c. 2021. Long-Term Monitoring of Amphibian Populations of a National Park in Northern Spain Reveals Negative Persisting Effects of Ranavirus, but Not *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Front. Vet. Sci., Sec.Zoological Medicine*: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.645491>.
- Boyle D.G., Boyle D.B., Olsen V. u.c 2004. Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-time Taqman PCR assay. *Dis. Aquat. Organ.* 60:141–148.
- Bradley P.W., Snyder P.W., Blaustein A.R. 2019. Host age alters amphibian susceptibility to *Batrachochytrium dendrobatidis*, an emerging infectious fungal pathogen. *PLoS ONE* 14(9): e0222181.
- Bush A., Lafferty K.D., Lotz J.M. un Shostak A.W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. Revisited. *Journal of Parasitology* 83, 575–583.
- Čeirāns A., Pupiņš M., Pupiņa A. un Škute A. 2018a. Vadlīnijas invazīvo organismu – rotana (*Perccottus glenii*) un abinieku patogēnu *Batrachochytrium spp.*, ierobežošanas pasākumu veikšanai Daugavpils, Ilūkstes un Krāslavas novados. Izstrādātas LVAF finansēta projekta „Datu ieguve un vadlīniju izstrādāšana triju invazīvo, abiniekiem letālo, svešzemju organismu sugu ierobežošanas pasākumu veikšanai Dienvidaustrumu Latvijā” (1-08/153 /2017) ietvaros. Daugavpils Universitāte, 48 lpp.

- Čeirāns A., Pupiņš M., Pupiņa A. 2018b. Abinieku un rāpuļu fona monitorings un monitorings Natura 2000 teritorijās (2016.- 2018.gadam). Gala atskaite saskaņā ar Dabas aizsardzības pārvaldes iepirkuma līgumu Nr. 7.7/77/2016-P. Daugavpils Universitāte, 81 lpp.
- Čeirāns A., Gravele E., Gavarane I. u.c. 2021. Helminth communities in amphibians from Latvia, with an emphasis on their connection to host ecology. *Journal of Helminthology* 95, e48, 1–17.
- Cohen J.E., Poulin R., Lagrue C. 2016. Linking parasite populations in hosts to parasite populations in space through Taylor's law and the negative binomial distribution. *PNAS* 114 (1): E47-E56.
- Duffus A.L.J., Cunningham A.A. 2010. Major disease threats to European amphibians. *Herpetological Journal* 20: 117-127.
- Fisher M.C., Garner T.W.J. 2007. The relationship between the emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis*, the international trade in amphibians and introduced amphibian species. *Fungal Biol Rev* 21: 2–9.
- Garner T.W.J., Walker S., Bosch J. u.c. 2005. Chytrid Fungus in Europe. *Emerg Infect Dis.* 11(10): 1639–1641.
- Gabor C., Forsburg Z., Voros J. u.c. 2017. Differences in chytridiomycosis infection costs between two amphibian species from Central Europe. *Amphibia-Reptilia* 38: 250-256.
- Harmos K., Bosch J., Thumsova B. u.c. 2021. Amphibian mortality associated with chytridiomycosis in central Eastern Europe. *Herpetology Notes*, volume 14: 1213-1218
- Johnson M.L., Speare R. 2003. Survival of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Water: Quarantine and Disease Control Implications. *Emerg Infect Dis.* 9(8): 922–925.
- Kärvemo S., Meurling S., Berger D. u.c. 2018. Effects of host species and environmental factors on the prevalence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in northern Europe. *PLoS ONE* 13: e0199852.
- Kolby J., Daszak P. 2016. The Emerging Amphibian Fungal Disease, Chytridiomycosis: A Key Example of the Global Phenomenon of Wildlife Emerging Infectious Diseases. *Microbiol Spectrum* 4(3), EI10-0004-2015. doi:10.1128/microbiolspec.EI10-0004-2015.
- Longcore J.E., Pessier A.P. un Nichols D.K. 1999. *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia* 91(2): 219-227.

- Martel A., Spitzen-van der Sluijs A, Blooi M. u.c. 2013. *Batrachochytrium salamandrivorans* sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians. PNAS, 110 (38): 15325-15329.
- McVinish R., Lester R.J.G. 2020. Measuring aggregation in parasite populations. Journal of the Royal Society Interface. 17 (165). <https://doi.org/10.1098/rsif.2019.0886>.
- Minting P.J. 2012. An investigation into the effects of *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) on natterjack toad (*Bufo calamita*) populations in the UK. Presented for the degree of Doctor of Philosophy in the School of Life Sciences at the University of Sussex. 89 lpp.
- O'Hanlon S.J. u.c. 2018. Recent Asian origin of chytrid fungi causing global amphibian declines. Science 360: 621–627.
- Olson D.H., Rieux A., Farrer R. u.c. 2013. Mapping the Global Emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis*, the Amphibian Chytrid Fungus. PLoS ONE 8(2): e56802.
- Piotrowski J.S., Annis S.L., Longcore J.E. 2004. Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a chytrid pathogen of amphibians. Mycologia 96 (1): 9-15
- Pullan R.L., Sturrock H.J.W., Soares Magalhaes R.J. u.c. 2012. Spatial parasite ecology and epidemiology: a review of methods and applications. Parasitology 139(14): 1870–1887.
- Pupina Ai., Pupins M., Čeirāns A., Pupina Ag. 2019. Decline and conservation of amphibians in Latvia. Grāmatā: Amphibian Biology, Volume 11: Status of Conservation and Decline of Amphibians: Eastern Hemisphere, Part 5: Northern Europe. Pelagic Publishing. 122-141.
- Rannap R., Lohmus A., Briggs L. 2009. Restoring ponds for amphibians: a success story. Hydrobiologia (2009) 634:87–95.
- Rasmussen C., Eisenberg T., Alfermann D. un Kohler J. 2012. Presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in amphibians from central and southern Hesse, central Germany: results from a preliminary regional screening. Salamandra 48 (3): 166-172.
- Roznik E.A., Sapsford S.J., Pike D.A. u.c. 2015. Condition-dependent reproductive effort in frogs infected by a widespread pathogen. Proc Biol Sci. 282(1810): 20150694.
- Scheele B., Pasmans F., Skerratt L. u.c. 2019. Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. Science 363(6434): 1459–1463.

- Spitzen-van der Sluijs A., Martel A., Asselberghs J. u.c. 2016. Expanding Distribution of Lethal Amphibian Fungus *Batrachochytrium salamandrivorans* in Europe. *Emerging Infectious Diseases* 22 (7): 1286-1288.
- Sztatecsny M., Glaser F. 2011. From the eastern lowlands to the western mountains: first records of the chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in wild amphibian populations from Austria. *Herpetological Journal*: 21: 87-90.
- Taugbøl A., Bærum K.M., Dervo B.K., Fossøy, F. 2021. The first detection of the fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* in Norway with no evidence of population declines for great crested and smooth newts based on modeling on traditional trapping data. *Environmental DNA* 3 (4): 760-768.
- Tytar V., Nekrasova O., Pupins M. u.c. 2021. Identifying environmental refuges ("coldspots") from infection by *Batrachochytrium dendrobatidis* of amphibians in Eastern Europe. *Biology and Life Sciences Forum*. 2(1):36. <https://doi.org/10.3390/BDEE2021-09505>
- Van Rooij P., Martel A., Haesebrouck F. un Pasmans F. 2015. Amphibian chytridiomycosis: a review with focus on fungus-host interactions. *Vet Res*: 46:137 DOI 10.1186/s13567-015-0266-0.
- Vojar J., Havlikova B., Solsky M. u.c. 2017. Distribution, prevalence, and amphibian hosts of *Batrachochytrium dendrobatidis* in the Balkans. *Salamandra* 53 (1): 44-49.
- Vörös J., Herczeg D., Fülöp A. u.c. 2018. *Batrachochytrium dendrobatidis* in Hungary: a review of recent and historical occurrence. *Acta Herpetologica* 13(2): 125–140.
- Walker S.F., Bosch J., James T.Y. u.c. 2008. Invasive pathogens threaten species recovery programs. *Current Biology* 18 (18): R853-R854.

Pateicības

Pateicāties par sadarbību projektam “*Ecological and socioeconomic thresholds as a basis for defining adaptive management triggers in Latvian pond aquaculture*” (Nr. lzp-2021/1-0247), un projektam “*Daugavpils Universitātes dīķu akvakultūras zinātnisko laboratoriju pārvietojamais komplekss*” (Nr. 16-00-F02201-000002) par iespēju izmantot akvakultūras dīķu ekosistēmu aizsardzības un izpētes mērķiem Dīķu akvakultūras zinātnisko laboratoriju pārvietojamo kompleksu.

PIELIKUMS

Bd invāzijas rādītāji un zaļo varžu (*Pelophylax spp.*) populāciju relatīvais lielums parauglaukumos. Bd rādītāji: *P*–prevalence, *A*–vidējais daudzums (genoma ekvivalentes), *I*–vidējā intensitāte (genoma ekvivalentes). Zaļo varžu populāciju parametri: *B*–pieaugušo īpatņu blīvums (gab/km²), *U*–apdzīvoto ūdenstilpņu īpatsvars, *V*–vidējais vokalizējošu tēviņu skaits ūdenstilpē (gab).

Parauglaukums	Hitridijmikozes ierosinātājs (Bd)			Saimnieka (<i>Pelophylax spp.</i>) populācija		
	<i>P</i>	<i>A</i>	<i>I</i>	<i>B</i>	<i>U</i>	<i>V</i>
Alūksne	0.00	0.00	-	81.4	0.80	7.3
Auce	0.00	0.00	-	48.3	0.77	13.5
Ciskādi	0.07	1.37	20.61	77.4	0.43	7.7
Dagda	0.00	0.00	-	36.0	0.50	4.9
Demene	0.17	2.83	16.97	84.3	0.73	7.3
Dubna	0.00	0.00	-	36.2	0.33	7.0
Dzērbene	0.30	29.58	98.60	38.7	0.43	4.8
Indra	0.07	6.60	98.95	43.1	0.60	6.1
Isļice	0.23	20.88	89.47	13.8	0.47	4.1
Jāņmuiža	0.00	0.00	-	10.5	0.47	1.8
Jumurda	0.07	0.27	4.02	20.3	0.70	2.8
Krivanda	0.00	0.00	-	5.8	0.50	3.9
Krote	0.07	0.08	1.27	44.1	0.60	7.0
Kuldīga	0.00	0.00	-	82.8	0.61	8.2
Mālpils	0.10	2.46	24.62	22.2	0.52	5.7
Murmastiene	0.07	0.83	12.39	17.9	0.87	5.0
Ozolnieki	0.00	0.00	-	39.4	0.45	6.5

Paugauglaukums	Hitridijmikozes ierosinātājs (Bd)			Saimnieka (<i>Pelophylax spp.</i>) populācija		
	<i>P</i>	<i>A</i>	<i>I</i>	<i>B</i>	<i>U</i>	<i>V</i>
Pilsblīdene	0.00	0.00	-	140.5	0.58	6.5
Puze	0.00	0.00	-	17.1	0.44	4.1
Rucava	0.00	0.00	-	55.9	0.53	6.8
Rūjiena	0.07	0.03	0.40	13.1	0.30	3.3
Saurieši	0.10	0.16	1.55	25.1	0.27	4.1
Skulte	0.00	0.00	-	59.9	0.70	7.7
Sunākste	0.17	4.87	29.20	147.9	0.63	12.4
Šēdere	0.00	0.00	-	42.7	0.32	3.9
Tilža	0.00	0.00	-	71.5	0.58	6.9
Turki	0.00	0.00	-	13.3	0.43	4.8
Vērgale	0.00	0.00	-	41.1	0.54	6.6
Vijciems	0.00	0.00	-	4.7	0.50	5.8
Viļaka	0.00	0.00	-	35.9	0.58	7.3



Čeirāns A., Pupinš M., Škute A. 2022. *Batrachochytrium dendrobatidis* ietekmes uz Latvijas abinieku faunu novērtējums: LVAFA finansēta projekta Nr. 1-08/160 /2020 “Abiniekiem nāvējošas slimības – hitrīdijmikozes ietekmes uz Latvijas abinieku populācijām novērtēšana” gala atskaite. Daugavpils Universitāte, 28 lpp.