

Island invaders: Patterns, Processes and nested invasions in an amphibian model



Project Proposal

Prepared by

Dr. habil. Raffael Ernst (SGN) & MSc Franziska Leonhardt (SGN & TU Dresden)

Island invaders: Patterns, Process and nested invasions in an amphibian model

Project Description

1 Background and preliminary work

Johnstone's Whistling Frog, *Eleutherodactylus johnstonei* Barbour, 1914, a native of the Lesser Antilles, presumably St. Lucia or the northern Lesser Antilles (Kaiser 1997), has a long history of human mediated range expansion, dating back to at least 1880 when it was first discovered on Bermuda (reviewed in Kaiser 1997; Kraus 2008). Subsequently the species became established on other Caribbean Islands and on the Middle and South American mainland. Given this broad distribution (Fig.1), *E. johnstonei* can be considered one of the most widely and successfully expanding invasive amphibian species, outperformed probably only by the cane toad *Rhinella marina* (Kaiser 2002, IUCN-GISD 2018) and the American bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Escoriza and Ruhí 2016). Earlier studies suggested that *E. johnstonei* actively disperses in a process of slow and steady migration events (e.g. Schwartz and Fowler 1973). It was therefore expected to spread into natural habitats on several Lesser Antillean islands, where it was assumed to compete with endemic species (Hedges et al. 2010). Macroecological models, mainly based on coarse-grained climate data even predict a very high invasion potential far beyond its natural Caribbean range (Rödder 2010) and the current distribution on the South American mainland seems to corroborate this notion. Despite this wide distribution, active dispersal beyond non-natural, human modified habitats could not convincingly be shown to be a realistic scenario (Kaiser 1997, 2002; Ernst et al. 2011, Leonhardt et al. 2019) and threats to native biota imposed by direct interactions with *E. johnstonei* appear to be limited.

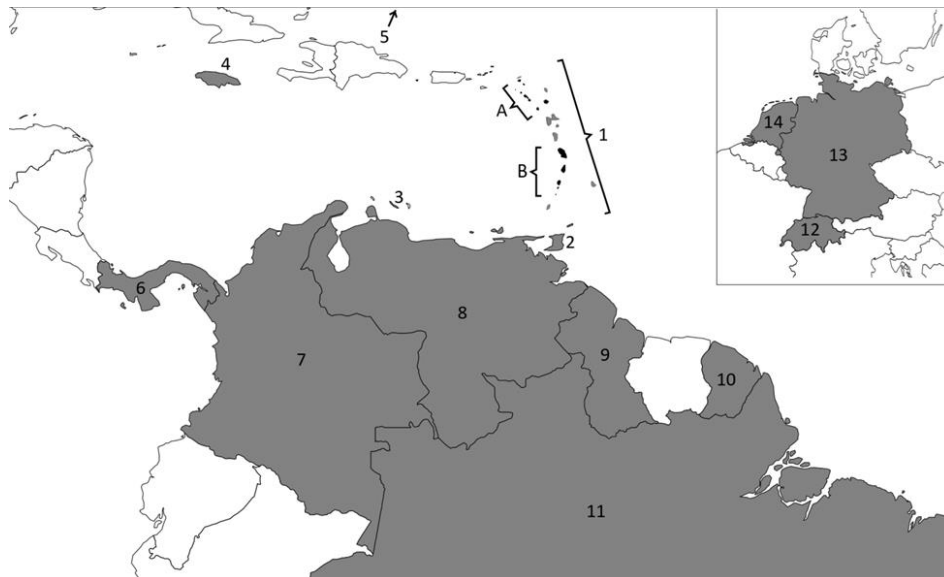


Figure 1. Global (country-level) distribution of *Eleutherodactylus johnstonei*. Black, Presumed native range (A or B); grey, introduced range (1–13). A St Maarten/St Martin, Saba, St Eustatius, St Kitts and Nevis, Antigua (Kaiser 1997) B Montserrat, Martinique, St Lucia, St Vincent (Kaiser 1997); 1: Anguilla, Barbuda, Guadeloupe, Dominica, Barbados, Grenadines, Grenada (Kaiser 1997); 2: Trinidad (Hardy and Harris 1979); 3: Curaçao (Hardy and Harris 1979); 4: Jamaica (Barbour 1910); 5: Bermuda (Pope 1917); 6: Panama (Ibáñez and Rand 1990); 7: Colombia (Ruiz-Carranza et al. 1996); 8: Venezuela (Hardy and Harris 1979); 9: Guyana (Hardy and Harris 1979); 10: French-Guiana (Lescure and Marty 1996); 11: Brazil (Melo et al. 2014); Inset top right: Greenhouse populations in Europe: 12: Switzerland (Leonhardt et al. 2019); 13: Germany (Leonhardt et al. 2019); 14: Netherlands (Leonhardt et al. 2019).

However, we cannot rule out indirect negative effects mediated through the co-introduction of pathogenic microbiota associated with *E. johnstonei* (nested invasions).

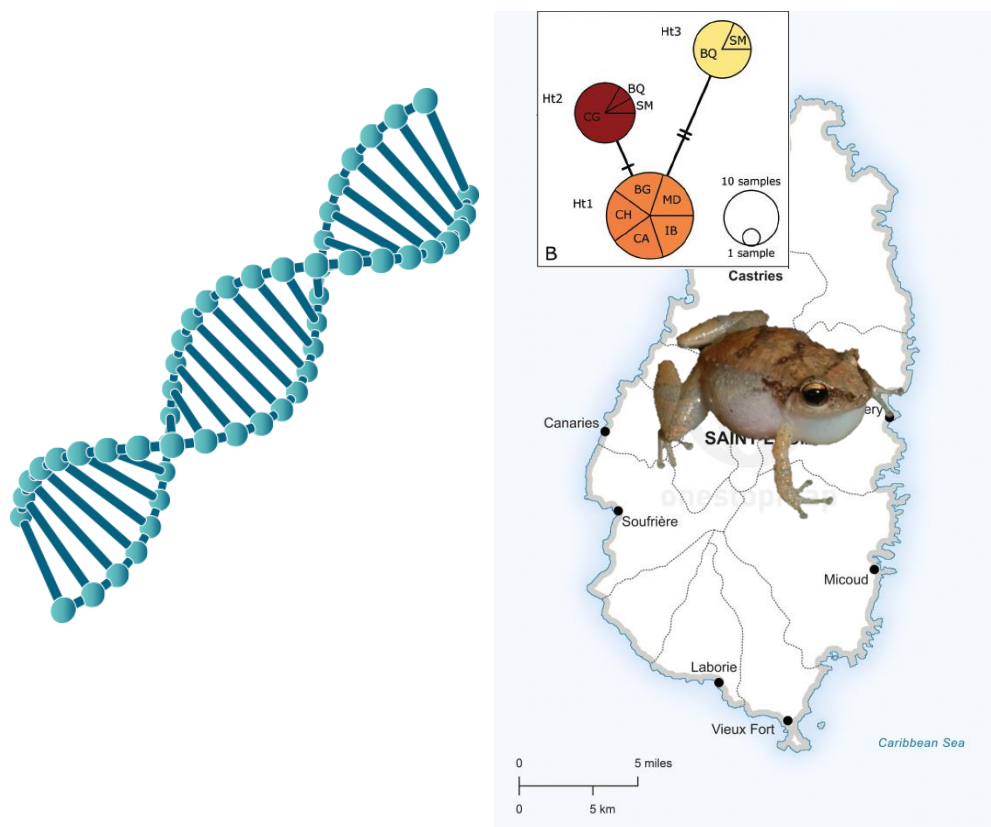
Amphibians are currently facing population declines and extinctions attributable to anthropogenic pressures and emerging diseases. In particular, the skin fungal-disease chytridiomycosis, caused by *Batrachochytrium dendrobatidis* and *Batrachochytrium salamandrivorans*, respectively, is thought to be the largest threat to amphibians and is responsible for a huge number of amphibian population declines (Lips et al. 2006; Skerratt et al. 2007; Fisher et al. 2012, Martel et al. 2014).). Chytrid has previously been detected in *E. johnstonei* populations on St. Vincent (Sweeney 2016) and it may have spread across other parts of the introduction range or even be prevalent in populations within the native range of the species. Understanding the set-up, variability and dynamics of the microbiome associated with *E. johnstonei* is therefore not only key to assess potential indirect threats to native biota in its introduced and native range it also yields crucial information on the invasion processes and potential establishment mechanisms in general. Invasion models that take into account these previously neglected aspects thus not only allow assessing the importance of (alien) amphibians as disease vectors they can also provide insights into the role of (symbiotic) microorganisms for successful establishment of alien taxa in novel habitats.

The project aims to **1. Reconstruct the origins and dispersal pathways** of the target species *E. johnstonei* by integrating data from native island populations into existing data sets from non-native areas and **2. To address the problem of nested-invasions** by comparing frog-specific **microbiomes** both within and across **native** and **non-native distribution** ranges.

2 Objectives and expected outcome

Objective 1: Reconstruction of dispersal pathways

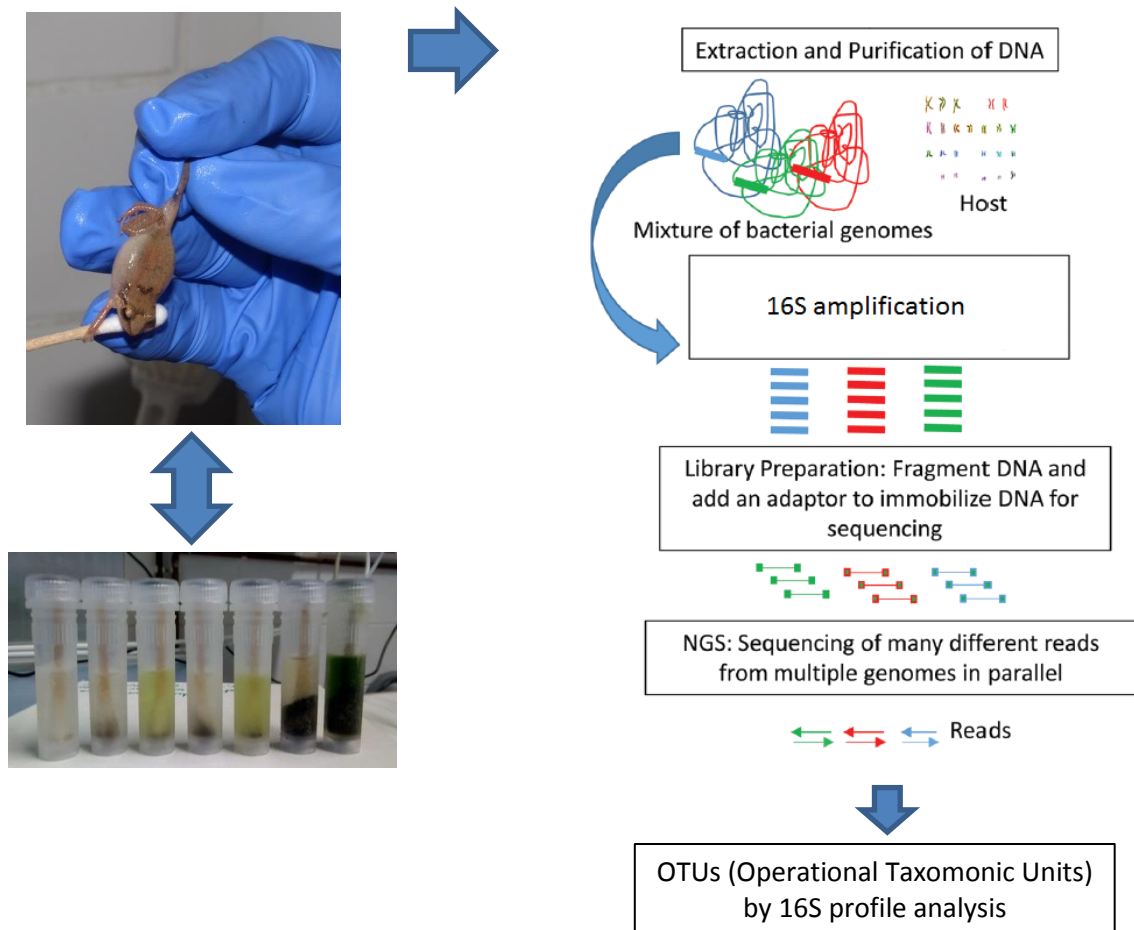
To reconstruct origins and possible invasion pathways of introduced populations haplotype networks will be constructed primarily using established mitochondrial markers (12S rRNA, D-loop/control region). Respective data sets are established for introduced populations in Colombia and in German botanical gardens (cf. Leonhardt et al. 2019) but important tissue samples from the assumed native populations on the Lesser Antilles, including St. Lucia and Guadeloupe are still missing yet urgently needed to fill this crucial gap in previous phylogeographic/population genetic analyses. This requires the acquisition of app. 10 independent genetic samples per locality/population using minimally invasive sampling methods described in Leonhardt et al. 2019. Localities to be sampled ideally include both natural as well as non-natural urban and peri-urban habitats. This will be crucial to assess genetic variability within and across native and exotic range populations. In an effort to refine previously establishes distribution and habitat suitability models (SDM and HSM), habitats will be characterized following standardized procedures and species occurrence and abundance will be assessed through visual and acoustic encounter surveys (VES and AES) following Rödel & Ernst (2004).



Expected output Guadeloupe: haplotype net-work for native populations & genetic variability assessment of native populations

Objective 2: Microbiome assessment

To analyze skin and gut associated microbiomes, a minimum of app. 20 skin swabs and 20 fecal pellets per locality/population will be collected following established minimally invasive field and lab protocols (e.g. Boyle et al. 2004). In addition, environmental matrix samples (swabs from plants and soil/substrate & water samples) will be collected as reference for environmental templet microbiota. These samples will be analyzed in a meta-barcoding approach and yield microbial community data sets.



Expected output Guadeloupe: microbial assessment including potential pathogens (e.g. Bd)

3 Programme

Le travail de terrain nécessaire au projet se déroulera pendant quatre semaines dont deux en Guadeloupe. Les premières campagnes de terrain débuteront en Guadeloupe (populations introduites dont l'origine supposée proviendrait de serre) puis à Ste Lucie (populations autochtones). Ces campagnes seront réalisées entre début Janvier et Février 2020. Les dates exactes dépendront des vols disponibles et de l'obtention des autorisations (Permit, ect.)

Equipe

Les participants à ce travail seront Dr. Raffael Ernst (PI) ; MSc. Franziska Leonhardt (doctorante et Co-PI) et potentiellement un assistant bénévole, MSc. Clara Arranz qui a une grande expérience en conservation des Amphibiens et des Reptiles (CV résumé ci-dessous). Sur place nous collaborerons et harmoniserons le travail de terrain avec Mr. Baptiste Angin d'Ardops Environnement et l'équipe du parc national (Mr. Mathieu Jegu)

Terrain et méthodologie

Localités

Nous avons présélectionné certaines localités d'après des données de présence issues de la littérature : Grand-Terre: Point a Pitre (airport) à Le Gosier; Basse-Terre: Plage de bananier à Trois-Rivières. Cependant, l'échantillonnage pourrait nécessiter d'être étendu à d'autres zones en fonction de la présence réelle de l'espèce. L'échantillonnage au sein du Parc National a été discuté avec Mr. Mathieu Jegu et sera circonscrit au réseau officiel de sentiers. Dans l'éventualité où l'échantillonnage devrait être étendu au-delà, il s'effectuera en accord avec le Parc National.

Methodologie et depot du materiel (specification)

L'échantillonnage se déroulera comme suit, d'abord principalement par recherche active visuelle à l'aide de lampe entre 18 et 22h et recherche audio afin de détecter les individus, puis par capture manuelle (gants latex) et prélèvement d'écouvillons cutanés et des substrats, des pelotes fécales et de tissus des individus. En fonction des préconisations éventuelles, nous pouvons limiter ces prélèvements de tissus à des « toe-clip » et ainsi relâcher les individus. Cependant, s'agissant d'une espèce introduite, nous souhaiterions préférentiellement prélever tissus et spécimens. Ces recherches se limiteront aux sentiers et sont non destructives (sauf en ce qui concerne l'espèce cible) et ne nécessite aucune installation ou équipement autre que les lampes frontales. Elle n'interfèrent aucunement avec d'autres espèces que l'espèce cible.

L'échantillonnage requis pour étudier la génétique des populations est d'environ 10 individus par localité/population, en utilisant les méthodes ayant un impact minimum décrite par Leonhardt et al. (2019) et suivant des recommandations éthiques générales. Les spécimens seront euthanasiés à l'aide de Benzocaïne 20% puis fixés dans l'éthanol 70 %. Les tissus seront quant à eux fixés dans l'éthanol 95%.

Les microbiomes cutanés et intestinaux seront échantillonnés par au moins 20 écouvillons et 20 pelotes fécales par localité/population. Ces prélèvements se feront en suivant un protocole standard (e.g. Boyle et al. 2004) ayant un impact négligeable. Les échantillons environnementaux sont collecté

de manière non invasive, i.e. écouvillons sur les plantes et petits prélèvements de substrat (tubes Eppendorf).

Ces spécimens seront déposés dans la collection herpétologique de Senckenberg puis mis à disposition.

L'échantillonnage au sein du Parc National suivra le même protocole. Cela signifie aussi que nous ne prélèverons aucune plante (ou partie) mais uniquement des écouvillons de la surface des plantes. Nous collecterons de très petits échantillons (tubes Eppendorf) de substrats (sol/débris) afin de caractériser le microbiome du sol et de la surface des plantes. Par conséquent, ces échantillonnages ne sont invasifs qu'en ce qui concerne notre espèce cible *E. johnstonei*.

Respect du protocole de Nagoya (PIC/MAT)

Nous avons initié les démarches relatives au respect du Protocole de Nagoya (Déclaration pour l'accès aux ressources génétiques sur le territoire national et le partage des avantages découlant de leur utilisation lorsque le déclarant est une personne physique) sous le Dossier n° 653624 et sommes en contact avec Mr. Guillaume Poirier et Mme. Hélène Kerisit, qui attendent une autorisation éventuelle du CSPRN et de la DEAL Guadeloupe afin d'engager la procédure.

4 Academic CV and publications of PI

CV

Attached as separate file

For publications:

https://www.researchgate.net/profile/Raffael_Ernst