Zeitschrift: Wasser Energie Luft = Eau énergie air = Acqua energia aria

Herausgeber: Schweizerischer Wasserwirtschaftsverband

Band: 109 (2017)

Heft: 3

Artikel: Umwelt-DNA (eDNA) : Molekularbiologie erobert Arten-, Gewässer- und Naturschutz

Autor: Zimmermann, Jonas / Hürlimann, Joachim

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-941618

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 17.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Umwelt-DNA (eDNA) – Molekularbiologie erobert Arten-, Gewässer- und Naturschutz

Jonas Zimmermann, Joachim Hürlimann

Zusammenfassung

Die Analyse von Umwelt-DNA ist ein neues Verfahren zur Arterfassung. Dies wird dadurch ermöglicht, dass Organismen ständig eigene, artspezifische DNA in die Umwelt abgeben, indem sie Kot, Urin oder Speichel ausscheiden oder z. B. Körperzellen wie Haare oder Schuppen verlieren. Dank modernen molekularbiologischen Methoden kann diese in der Umwelt vorhandene DNA nachgewiesen werden. Da die DNA vieler Arten schon sequenziert vorliegt und diese via Internet in Referenzdatenbanken verfügbar ist, können heute schon viele DNA-Sequenzen den entsprechenden Arten zugewiesen werden. Das Spektrum der Anwendungen ist sehr weit. Ob das Verfahren in der angewandten Ökologie Akzeptanz findet, wird sich noch weisen. Dies hängt auch stark davon ab, ob im Artenschutz der indirekte Artnachweis durch eDNA von etwa einer gefährdeten Art als ausreichend erachtet wird, oder ob z. B. im Rahmen eines Umweltverträglichkeitsberichts (UVB) der physische Nachweis von Individuen dieser Art vorliegen muss.

1. Einleitung

Das Thema «Umwelt-DNA» (eDNA für environmental DNA) erscheint seit Kurzem vermehrt in Tagesmedien, Online-News oder anderen für Laien einfach zugänglichen und gut verständlichen Publikationen. In Fachzeitschriften wird diese Thematik schon seit rund einem Jahrzehnt diskutiert. Mit eDNA-Metabarcoding wird ein molekularbiologisches Verfahren zum Nachweis von Arten bezeichnet. Das Verfahren basiert darauf, dass Organismen ständig eigene, artspezifische DNA in die Umwelt abgeben, indem sie Kot, Urin oder Speichel ausscheiden oder z. B. Körperzellen wie Haare oder Schuppen verlieren. Im Wasser, im Boden, im Seesediment und in der Sohle eines Fliessgewässers befindet sich somit gelöst oder partikulär gebunden eine sehr grosse Zahl an eDNA unterschiedlichster Arten. Mit molekularbiologischen Methoden kann diese Vielfalt an eDNA als eine Abfolge von Basenpaaren (Sequenzen) nachgewiesen werden. Da die DNA vieler Arten bereits sequenziert vorliegt und im Internet in Referenzdatenbanken zur Verfügung steht, können heute schon viele DNA-Sequenzen den Arten zugewiesen werden. Das Verfahren wird in der Schweiz bereits bei einigen Themen (z. B. Finden von aquatischen gebietsfremden Arten, *Neobiota*) effizient und erfolgreich eingesetzt. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass das grosse Potenzial des Verfahrens der eDNA im Bereich der angewandten Ökologie, insbesondere der Gewässerökologie, schnell erkannt wird. Die Aussagekraft und damit die Akzeptanz dieses Verfahrens hängt neben methodischen Aspekten (Probenahme, Qualitätssicherung, Bioinformatik usw.) vor allem auch von der Qualität der verwendeten Referenzdatenbanken (Zahl und Regionalität der Arten), von der räumlichen und zeitlichen Verteilung artspezifischer eDNA (Probenahmedesign, Konservierung der Proben) sowie von weiteren Aspekten ab (Zahl und Qualität der Anbieter, Kosten, Akzeptanz bei Gesetzgeber, Justiz, Behörden, Auftraggeber). Im Folgenden wird auf diese Themen eingegangen. Die Ausführungen sollen dazu beitragen, das Verfahren im Grundsatz zu erläutern und das Potenzial der eDNA zu vermitteln. Der Gewässerökologie steht mit dem eDNA-Verfahren ein gewaltiger Werkzeugkasten zur Verfügung. Doch auch die besten Werkzeuge dienen nur, wenn sie auch verstanden und richtig eingesetzt werden.

Künftig wichtige Anwendungsbereiche in der aquatischen Ökologie werden zum Beispiel sein:

- das Finden von *Neobiota* in einem Gewässer
- der Nachweis von schwer auffindbaren Arten in einem Gewässer
- die Beschreibung von neu entdeckten Arten
- die Erfassung der Artenvielfalt eines Gewässers oder eines ganzen Wassereinzugsgebietes
- die Rekonstruktion der Artenvielfalt früherer Zeiten in Seesedimenten und anderen Archiven (Mooren, Gletschereis, Permafrost, Sedimenten in Höhlen usw.)
- die Auflistung der Artenzusammensetzungen verschiedener ökologisch relevanter Gruppen

Zum Beispiel konnte die Quagga-Muschel (*Dreissena rostriformis bugensis*) im Rhein bei Basel nachgewiesen werden, bevor man diese mit klassischen Methoden gefunden hat (*«Die Oberbadische»*, 2015, *«Tages Anzeiger»*, 2015, *de Ventura et al.* 2017). Ebenso konnte die Verbreitung von invasiven Grundeln (Schwarzmaulgrundel, *Neogobius melanostomus* und Kesslergrundel, *Ponticola kessleri*) im Hochrhein aufgezeigt werden (*Universität Basel* 2015, *Adrian-Kalchhauser & Burkhardt-Holm* 2016). Die kürzlich beschriebene Art eines Bachflohkrebses (*Gammarus alpinus*) aus Schweizer Gewässern ist ein Beispiel dafür, dass dank DNA-Barcoding Arten gefunden werden können, die neu für die Wissenschaft sind (*EAWAG* 2016, *Alther et al.* 2016). Diese neue Art wurde bisher übersehen, obwohl sie mit Sicherheit von vielen Leuten und auch Expertinnen und Experten gesehen und fehlbestimmt wurde. Der Fund dieser neuen Art dank DNA-Barcoding macht aber auch deutlich, dass der auf morphologischer Ebene basierende Artbegriff allenfalls kritisch reevaluiert und ggf. durch integrative Studien (Morphologie und Molekularbiologie) neu definiert werden muss. Auch die Möglichkeit, Naturarchive neu zu entdecken, wird durch eine Studie aufgezeigt, in welcher dank eDNA-Metabarcoding die zeitliche Entwicklung von Blaualgenblüten während der letzten 200 Jahren in Sedimentkernen des Zürich- und Greifensees aufgezeigt werden konnte (*Schürmann* 2016, *Monchamp et al.* 2016).

Die Methodik des eDNA-Metabarcodings erlaubt aber auch Einblicke in Themen, die bis anhin, wenn überhaupt, nur mit aufwendigen Spezialuntersuchungen möglich waren. Mit der Voraussetzung, dass die benötigten artspezifischen Gensequenzen in Referenzdatenbanken verfügbar sind, ist aus heutiger Sicht von Interesse:

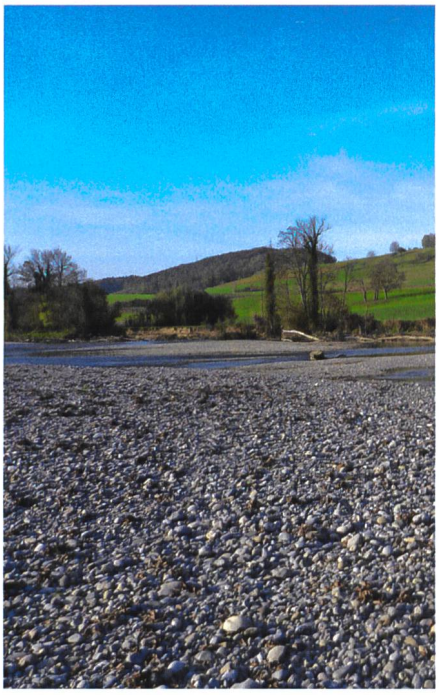
- Artbestimmung schwieriger Artgruppen
- Gezielte Artbestimmung relevanter Mikroorganismen (Pro- und Eukaryoten)
- Gezielte Artbestimmungen und Artnachweise aufgrund von Exkrementen (Urin, Kot, Speichel) oder anderen makroskopisch erkennbaren, aber nicht bestimmbaren artspezifischen Partikeln wie Schuppen, Haare, Blut, Darm- und Mageninhalt oder Entwicklungsstadien (Eier, Larven, Puppen usw.)
- Qualitätskontrolle bei klassischen Artbestimmungen
- Artenvielfalt einer Region (z. B. Einzugsgebiet eines Fliessgewässers)
- Artenvielfalt in schwer zugänglichen Gebieten (Höhlen, Schluchten, grossen Flüssen, Tiefenwasser von Seen, schwer zugänglichen oder störungsempfindlichen Naturschutzgebiete usw.)
- Erkennen von Krankheitserregern und Parasiten

Die weiteren Möglichkeiten in Bereichen wie der Lebensmittelherstellung (Qualitätskontrolle, Krankheitserreger, Biosicherheit usw.), der Gebäudetechnik (Früherkennung und Typologisierung von Schimmelpilz, Verkeimung von Wärmetauschern oder Leitungen, Biofilmbildung, usw.), der industriellen Prozessverfahren (Kontaminationen, Effizienz von Biozideinsätzen, Trink- und Abwasseraufbereitung usw.) oder der Landwirtschaft (Tierhaltung mit Krankheitserregern, Parasiten usw. und Pflanzenanbau mit dem Aufkommen von Schädlingen) dürften gross sein.

Aus Sicht der Forschung erleichtert das Verfahren des eDNA-Metabarcodings die Erstellung eines robusten Katalogs des Lebens für Protisten (z. B. Algen, Wimpertierchen usw.), Tiere und höhere Pflanzen sowie lokale oder regionale Biodiversitätserfassungen. Ausserdem ermöglicht eDNA-Metabarcoding Fortschritte in der ökologischen und evolutionären Grundlagenforschung, weil es essenzielle Informationen zur Organismengesellschaft, zu deren Zusammensetzung, trophischen Verknüpfungen, Energieflüssen, Verteilung und den Grundlagen ihrer Diversität liefern kann. Besonders Mikroorganismen (Protisten, Pilze, Bakterien usw.) können über dieses Verfahren einfacher und schneller erfasst werden, als es die traditionelle Untersuchung per Kulturen oder Mikroskopie erlaubt. Auf diese umfassende Thematik wird hier aber nicht tiefer eingegangen. Im Zentrum der folgenden Überlegungen steht die angewandte Gewässerökologie.

Die Beurteilung der Umweltverträglichkeit von Wasserbauprojekten (Hochwasserschutz, Revitalisierungen, Seeregulierungen, Schüttungen, Hafenanlagen, Wasserstrassen, Kiesabbau, Wasserkraftwerke, Stauseen, Wasserentnahmen usw.) beinhaltet oft auch projektspezifische Auswirkungen auf aquatische Organismen. In diesem Zusammenhang werden die entsprechenden Lebensräume durch Artspezialisten kartiert und beprobt. Diese Erhebungen haben das Ziel, Aussagen zur Grösse der Populationen, zur Verbreitung im Gebiet, zur Sensibilität gegenüber projektspezifischen Einflussfaktoren und zum Gefährdungsgrad generell von im Gebiet vorhandenen Arten zu machen. Diese Aufnahmen sind aufwendig und benötigen Fachwissen, je nach Organismen eine spezielle Infrastruktur (Elektrofischerei, Lichtfänge, Kescher, Tauchausrüstung usw.) und den richtigen saisonalen Zeitpunkt. Die gefundenen Arten müssen dann im Feld oder im Labor wiederum mit artspezifischen Fachkenntnissen bestimmt, gezählt und allenfalls deren Vitalität beurteilt werden. Mittels des Verfahrens des eDNA-Metabarcodings besteht nun die Hoffnung, dass diese aufwendigen Erhebungen und Bestimmungsarbeiten wegfallen oder zumindest stark minimiert werden könnten. Infolge vieler offener

Exkurs zum Vorkommen einer Art:



Im Rahmen einer Untersuchung der Artenvielfalt an den beiden Fliessgewässern Thur und Töss wurden Kieselalgen von unterschiedlichsten Substraten (Stein, Sand, Schlamm, Moose, Laub, Algen usw.) mittels eDNA wie auch klassisch im Lichtmikroskop untersucht. Die molekulare Analyse von vier eDNA-Proben pro Gewässer ergab, dass alle acht untersuchten Proben die Kieselalgenart Rhopalodia gibba enthielten. Dieses Taxon ist sehr gut bekannt, lichtmikroskopisch einfach zu erkennen und unseren Erfahrungen nach typisch für stehende Gewässer mit Wasserpflanzen. Die Nachkontrolle der eDNA-Analysen ergab, dass es sich bei diesem Nachweis nicht um einen Artefakt oder eine Kontamination oder sonst einen labortechnischen oder bioinformatorischen Fehler handelt. Der molekularbiologische Nachweis dieser Art in den acht Proben ist damit mit grosser Sicherheit gegeben. Bei der mikroskopischen Durchsicht dieser acht analysierten Proben konnte diese Art trotz gezielter und intensiver Suche aber nicht gefunden werden. Trotz Ausdehnung der Suche in sämtlichen uns verfügbaren Artenlisten der in den letzten 20 Jahren entnommen Proben der Töss (176 Proben) wie auch der Thur (193 Proben) konnte diese Art in keinem der beiden Fliessgewässer gefunden werden. Selbst die Nachkontrolle in insgesamt weiteren 762 Fliessgewässerproben, welche während der letzten 20 Jahre in anderen Fliessgewässern der beiden Einzugsgebiete von Thur und Töss gesammelt wurden, trat diese Art nie auf. Generell ergab die Suche in mehr als 6000 Artenlisten von Fliessgewässerproben der Schweiz, dass diese Art nie in Fliessgewässern auftritt. Selbst Seeausflüsse wiesen dieses Taxon nicht auf. Infolge dieser Tatsache kann davon ausgegangen werden, dass die eDNA dieser Art von einem stehenden Gewässer aus den Einzugsgebieten der Thur und der Töss eingeschleppt wurde. Die Annahme, das Taxon käme in den beiden Fliessgewässern regelmässig vor, wäre daher mit Sicherheit falsch. Das Beispiel zeigt einerseits die hohe Sensitivität des eDNA-Metabarcodings, andererseits verdeutlicht dieses Beispiel auch, dass zur Interpretation mittels eDNA gefundener Arten nach wie vor sehr gute Artenkenntnisse nötig sind. Ohne Wissen um die Ökologie und Verbreitung von Arten, würden Resultate aus eDNA-Untersuchungen öfters falsch interpretiert.

Fragen, gehen wir davon aus, dass eDNA-Metabarcoding wohl in einer Übergangsphase ergänzend eingesetzt wird. Bis für die Feld- (Probenahme) und Laborarbeit (Analytik) sowie die Auswertung pro Organismengruppe standardisierte Methoden vorliegen, die nachweislich zielführende Anwendungen zulassen, ist noch viel Grundlagenforschung nötig. Im Folgenden werden daher die Methode generell vorgestellt, Begriffe erläutert und auf die Arbeitsschritte «Probenahme», «Laborarbeit» und «Datenanalyse» eingegangen.

2. Methoden und Begriffe

Umweltanalysen, Biodiversitätsuntersuchungen sowie die gesamte Bioindikation werden durch die relativ jungen Methoden des DNA-Barcodings und eDNA-Metabarcodings bereichert. DNA-Barcoding und eDNA-Metabarcoding bestimmen die Identität des zu untersuchenden Organismus anhand eines kurzen spezifischen Sequenzabschnitts (DNA-Barcode) im Abgleich mit Referenzbarcodes in Datenbanken. Vergleichbar ist diese Zuordnung mit dem Verfahren des Produktstrichcodes (Global Trade Item Number, GTIN) im weltweiten Warenhandel. Die Voraussetzung aller molekularen DNA-basierten Verfahren ist ein DNA-Biomarker, der die eindeutige Bestimmung auf mindestens Artniveau ermöglicht. Im DNA-Barcoding wird statt des Strichcodes die für eine Art spezifische Basenpaarabfolge in einem definierten DNA-Abschnitt zur Artbestimmung genutzt. Beim sogenannten DNA-Barcoding werden nur einzelne Organismen und ihre DNA-Barcodes analysiert und bestimmt. Das Verfahren des DNA-Barcodings dient also der Zuordnung von Individuen der Art in einer nicht gemischten Probe. Dieses Verfahren hat sich bewährt, mit der Voraussetzung, dass es die gesuchte artspezifische Referenz gibt.

Möchte man die in Umweltproben (Wasser, Sediment, Erde, Luft, Darminhalte, Mikroorganismen usw.) vorhandene eDNA untersuchen, wird dies durch die Anwendung der in den letzten Jahren entwickelten sogenannten Hochdurchsatz-Sequenzierungs-Verfahren (engl. High-Throughput-Sequencing, HTS) und dem dadurch realisierten sogenannten eDNA-Metabarcoding ermöglicht (*Bilder 1* und *2*). Beim eDNA-Metabarcoding wird die aus den Proben extrahierte eDNA via HTS sequenziert und werden so Hunderttausende Sequenzen generiert, die mithilfe von bioinformatorischen Verfahren Referenzbarcodes in wissenschaftlichen Datenbanken zugeordnet werden (*Zimmermann et al.* 2015). So können alle in der Probe befindlichen Organismen oder Organismenpartikel, soweit es einen Referenzbarcode der jeweiligen Art in den entsprechenden Datenbanken gibt, zugeordnet werden *(Bild 3)*.

3. Probenahme

Über die Verteilung der DNA in der Umwelt fehlen noch umfassende Daten. Auch hinsichtlich der Art der Probenahme (in Wasser, Boden, Sediment, Luft), der Probenahmemenge und bezüglich der räumlichen und zeitlichen Verteilung der Probenahmen ist noch Grundlagenforschung nötig. Je nach Thematik mangelt es auch an methodischen Vorgaben und offiziellen Standardisierungen. Es befindet sich auch bei geringer Individuendichte eine beachtliche Zahl an eDNA-Einheiten in der Umwelt. Mikroskopisch kleine Organismen (Bakterien, Protisten, Parasiten, Krankheitserreger, Wirbellose, Algen usw.) geben ebenfalls eDNA in die Umgebung ab. Ein Individuum des Blauen Sonnenbarsches (*Lepomis macrochirus*) gab gemäss Tests von *Maruyama et al.* (2014) pro Stunde 10 Millionen Einheiten an eDNA ins Wasser ab (zitiert in *Schmidt* & *Ursenbacher* 2015). Experimente mit Amphibien zeigten, dass eDNA innert wenigen Tagen nach Einsetzen in Mesokosmen nachweisbar war (*Thomsen et al.* 2012). Nach dem Entfernen der Amphibien war die eDNA im Wasser nur 1–2 Wochen lang vorhanden (*Dejean et al.* 2011, *Thomsen et al.* 2012). Andere Studien zeigen aber, dass insbesondere in Seesedimenten eDNA sehr lange konserviert vorliegen kann (*Pedersen et al.* 2015). Die in Wasser und Boden vorhandene eDNA kann somit ein mehr oder weniger exaktes Abbild der im Gebiet physisch vorhandenen Arten sein. In aquatischen Lebensräumen ist die Verbreitung der eDNA im Vergleich zu terrestrischen Lebensräumen infolge des Transports von Partikeln und Wasser mit der fliessenden Welle (Fliessgewässer) und von Mischungsprozessen (Seen) wie auch durch Tiere (Kot) speziell gut. eDNA-Analysen aquatischer Proben umfassen daher nicht nur Arten des Probenahmestandorts sondern des Einzugsgebiets des beprobten Gewässers. Das Beispiel im Kastentext «Exkurs zum Vorkommen einer Art» illustriert das Eindriften von DNA einer Art sehr eindrücklich.

Das Probenahmekonzept ist in seiner räumlichen und zeitlichen Auslegung stark abhängig von der Fragestellung. Die Probenahme selber ist dann bezüglich

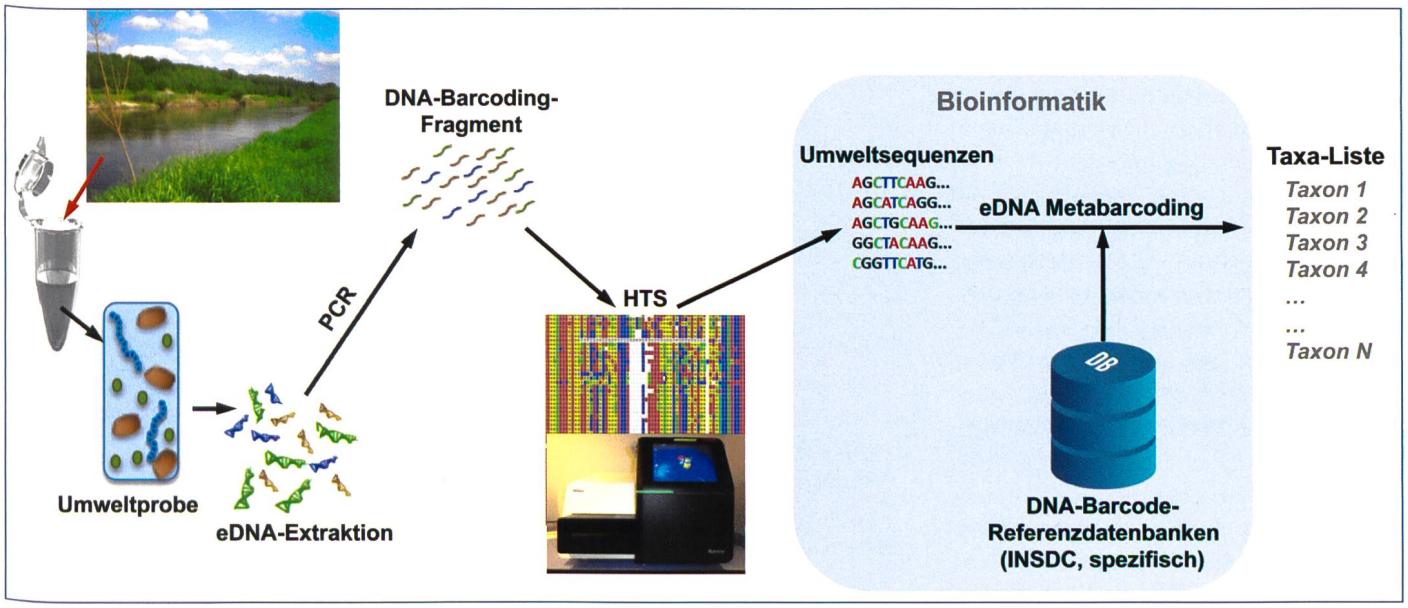


Bild 1. In der Umwelt vorhandene eDNA, die Beprobung unterschiedlicher Kompartimente sowie die Probenaufbereitung und Datenanalyse im Labor.

des Probenvolumens und der -häufigkeit pro Jahr spezifisch abhängig von den zu untersuchenden Organismen, Ökosystemen und Bioindikationsverfahren. Die Standardisierung (z. B. CEN-EU-Wasserrahmenrichtlinie) der Probenahme für die verschiedenen Bereiche (Bodenproben, Sedimente, Wasser, Kratzproben, Luft usw.) ist insbesondere bei übergeordneten (z. B. länderübergreifenden) Studien oder bei Langzeitüberwachungen sehr wichtig. Nur standardisierte Verfahren gewährleisten die Vergleichbarkeit verschiedener Sammelkampagnen.

Am Beispiel der Europäischen Sumpfschildkröte (*Emys orbicularis*) konnte festgestellt werden, dass der Nachweis in kleinen, künstlichen Gewässern oder in natürlichen Flachgewässern besser gelang als in natürlichen grossen Gewässern. Die Nachweiswahrscheinlichkeit der Art war anhand des eDNA-Verfahrens höher als durch die direkte Beobachtung, aber niedriger als mit Keschernetzen, mit welchen auch versteckte Tiere gefunden wurden. Die Zahl der Individuen konnte aber mittels eDNA nicht eruiert werden (*Raemy* 2016).

4. Laborarbeiten und Datenanalyse

Für verschiedene Organismengruppen und auch ökologische Fragestellungen werden DNA-Barcodes verschiedener Gene genutzt. Die spezifischen Genabschnitte werden vor der HTS mithilfe von Primern und der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) aus dem gesamten Genom selektiert und, um genug DNA-Material für die Analyse zu haben, gleichzeitig vermehrt. Bei diesem Prozess kann es zu systeminhärenten Verzerrungen der Mengenverhältnisse der DNA-Barcodesequenzen im Verhältnis zur reellen Häufigkeit der Individuen kommen. Dies hat zur Folge, dass zumindest zurzeit Individuendichten nicht korrekt eruiert werden können.

Derzeit werden zahlreiche Softwaremodule zur Auswertung von eDNA-Metabarcoding-Ergebnissen eingesetzt. Dabei gilt es, mittels rechnerischen Verfahren die gefundenen Sequenzen mit artspezifischen Sequenzen von Referenzdatenbanken zu vergleichen. Dabei werden je nach Verfahren und Anspruch an die Genauigkeit Hochleistungsrechner benötigt oder entsprechende Cloud-Computing-basierte Onlinelösungen. Das Ziel dieser Vergleiche ist, eindeutige Artzuordnungen der gefundenen Sequenzen vorzunehmen. Diese Artzuordnungen sind je nach verwendeten Algorithmen unterschiedlich genau (verschiedene heuristische Verfahren) und für Fehler anfällig (Sequenzierfehler, Übersehen von Chimären, zu wenig präzise Grenzwerte zur Bestimmung der Ähnlichkeit zweier Sequenzen, ungeeignete Referenzdatenbanken). Die Datenanalyse ist daher ein zentrales Element beim eDNA-Metabarcoding und verlangt ein hohes Mass an Standardisierung, Kalibrierung und Qualitätsüberprüfung.

Ein weiterer grundlegender Faktor für das eDNA-Metabarcoding und dessen Potenzial für erfolgreiche Bioindikation und Biodiversitätserfassungen sind Qualität und «Vollständigkeit» der verfügbaren Referenz-/Biodiversitätsdatenbanken (*Zimmermann et al.* 2014). Diese Datenbanken müssen so umfassend wie möglich sein, ständig erweitert und die integrierten Daten gepflegt und regelmässigen Qualitätskontrollen unterzogen werden. Dies verlangt teilweise enormen Aufwand. So können nicht alle genetischen Referenzdatenbanken (z. B. International-Nucleotide-Sequence-Database-Collaboration [INSDC], Barcode of Life Data Systems [BOLD]), auch bei grösster Sorgfalt ihrerseits, immer eine eindeutige taxonomische Validierung ihrer Referenzbarcodes gewährleisten. Um diesem Problem zu begegnen, haben Forschende und Fachleute aus vielen EU-Staaten Standards und Voraussetzungen für die Qualitätsanforderungen, die an Referenzbarcodes gestellt werden, erarbeitet und diese beim Europäischen Komitee für Normung (CEN; Comité Européen de Normalisation) eingereicht und erfolgreich registrieren lassen.

Diese neuen molekularbiologischen und bioinformatorischen Verfahren

Wichtige Begriffe

- ***Chimären:*** *Im Zusammenhang mit DNA-Sequenzierung durch systeminhärente Fehler künstlich erzeugte Verschmelzungen verschiedener Sequenzen zu einer neuen, in der Natur nicht vorkommenden Sequenz.*
- ***DNA*** *(engl. DesoxyriboNucleic Acid; deutsch Desoxyribo-Nuklein-Säure, Abk. DNS): Trägermolekül der Erbinformationen (u. a. Gene), aufgebaut aus einer Sequenz verschiedener Basen (Adenin, Cytosin, Guanin, Thymin), deren Abfolge je nach Organismus/Individuum unterschiedlich bzw. spezifisch sein kann.*
- ***DNA-Barcode:*** *kurzes Stück des Genoms (Gesamtheit aller Gene), das in allen zu untersuchenden Organismen vorkommt und i. d. R. zur Artunterscheidung nutzbar ist.*
- ***DNA-Barcoding:*** *Identifikation eines Organismus über einen DNA-Barcode. Voraussetzung für eine erfolgreiche Identifikation ist die eindeutige Zuordnung zu einem in einer öffentlich zugänglichen und wissenschaftlich kuratierten Datenbank hinterlegten Referenzbarcode, der idealerweise aus einem wissenschaftlich dokumentierten Belegexemplar der Art gewonnen wurde.*
- ***eDNA*** *(engl. environmental DNA, deutsch Umwelt-DNA): DNA, die aus einer Umweltprobe (z. B. Boden-, Wasser- oder Luftprobe) und nicht aus einem einzelnen Individuum stammt. eDNA enthält Spuren von DNA verschiedener in der beprobten Umwelt vorkommender Organismen. DNA verschiedener Organismen können z. B. über Speichel, Fäkalien, Hautschuppen, Haare, Fortpflanzungszellen und andere Gewebereste in die Umweltproben gelangen und so nachgewiesen werden.*
- ***eDNA-Metabarcoding:*** *High-Through-put-Methode (deutsch Hochdurchsatz, HTS) zur DNA-basierten Identifikation von Organismen in einer Umweltprobe, über die die Zuordnung einer Vielzahl von Sequenzen (DNA-Barcodes) in dieser Umweltprobe zu Referenzdaten in einer Datenbank funktioniert. So kann verhältnismässig schnell die Diversität in Ökosystemen nachgewiesen und/oder evaluiert werden.*
- ***PCR*** *(Polymerase Chain Reaction) bedeutet Polymerase-Kettenreaktion und beschreibt eine Methode zur Vervielfältigung der DNA.*
- ***Phylogenetische Zuordnung:*** *Zuordnung der erzeugten Umweltsequenzen zu den Referenzsequenzen mithilfe der genetischen Stammbaumanalyse, um durch das Hinzuziehen der evolutionären Stammesgeschichte eine verfeinerte Arterkennung zu gewährleisten.*
- ***Primer*** *sind Oligonukleotide (<20 Basenpaare), die als Startsequenz für DNA-Replikation und die PCR benötigt werden. Sie können so designt werden, dass sie an gewünschten Abschnitten (z. B. DNA-Barcodingmarker) binden und nur dieser Abschnitt vermehrt wird.*
- ***Taxonomie:*** *Wissenschaft der Entdeckung, Beschreibung, Klassifizierung und Benennung von Organismen.*

sind sehr sensitiv und benötigten daher ein hohes Mass an Qualitätssicherung. Dies, weil einerseits die Gefahr von Kontamination im Feld und im Labor gross ist und andererseits, weil die gefundenen Arten nur noch in unsichtbaren Spuren und nicht mehr physisch als ganze Organismen vorhanden sein müssen. Die gefundenen Arten können somit nicht mehr zum Beweis z. B. mittels Fotos dokumentiert werden, sondern liegen nur noch als digitale Sequenzen vor, welche ohne Beizug eines leistungsfähigen Computers und des Internets (Referenzdatenbanken) nicht einer Art zugewiesen werden können. Der Gesetzgeber und die Vollzugsbehörden werden somit gefordert sein, entsprechende Standards, Methoden und Wegleitungen zu erarbeiten und deren Umsetzung zu prüfen. Die Labors andererseits sind gefordert, ihre angewandten Verfahren laufend dem neusten Stand der Technik anzupassen und die Schritte der Qualitätssicherung wie auch die beigezogenen Softwaretools, Referenzdatenbanken und Laborstandards festzuhalten und deren Fehleranfälligkeiten aufzuzeigen. *Tabelle 1* enthält mögliche Hinweise und Empfehlungen zu solchen zwingend nötigen Standardisierungen. Die angewandte Gewässerökologie wird diese neuen Verfahren nur dann erfolgreich einsetzen können, wenn das Vertrauen in die Methode generell und in die Resultate (Artbestimmungen) gegeben ist.

5. Anwendungen im Bereich Artenschutz und in verwandten Themen

Im Folgenden wird beim Aufzeigen von Möglichkeiten mehrheitlich auf aquatische Systeme eingegangen. Viele der Beispiele sind aber noch nicht routinemässig verfügbar. Die Anwendungen, die sich mit dem Verfahren des eDNA-Metabarcodings mittels Hochdurchsatzsequenzierung für die angewandte Ökologie eröffnen, sind sehr vielfältig. In der *Tabelle 2* befindet sich eine Auswahl mit Hinweisen zu Vor- und Nachteilen der neuen Methode im Vergleich zu klassischen Verfahren. Das Finden von gebietsfremden Arten zu einem möglichst frühen Zeitpunkt der Besiedlung scheint

Tätigkeit	Metainformation (Mindestanforderung)	Empfehlungen
Experimentaldesign	• Fragestellung	• Pilotstudien • Fragestellung bestimmt Verfahren
Probenahme	• Methode (Filter, Substrat, Kratzprobe, etc.) • Probenahmeutensilien, Gefässe • Probevolumen • Saisonalität • Konservierung (Methode, Temperatur) • Chemie/Physik (pH, Temperatur, Leitfähigkeit, etc.) • Georeferenzierung • Probestellencharakterisierung (Fließgeschwindigkeit, Habitat, etc.) • Kontaminationsvermeidung/Negativkontrollen	• Strikte Dekontaminationsverfahren für alle relevanten Utensilien • Replikate/Negativkontrollen • Hohen Grad an Standardisierung anstreben und mit entsprechenden Normenausschüssen (SNV oder CEN) abstimmen und entwickeln
DNA-Extraktion und PCR	• DNA-Extraktionsmethode (Hersteller, Abweichung von Herstelleranleitung, etc.) • Menge an DNA Extrakt • DNA Barcoding-Marker (*cox*1, *rbc*L, 18S V4, etc.) • Primer • PCR-Bedingungen • Länge des Amplikons (Sequenzlänge) • Zahl und Art der Replikate (technisch/biologisch) • Kontaminationsvermeidung/Negativkontrollen	• Extraktionsverfahren an Probetyp (ggf. Vortests) anpassen • Extraktion und PCR in strikt getrennten Laborräumen • Strikte Dekontaminationsverfahren für alle relevanten Utensilien • Probenarchivierung (-20 C°/-80 C°) • Replikate/ Negativkontrollen • Hohen Grad an Standardisierung anstreben und mit entsprechenden Normenausschüssen (SNV oder CEN) abstimmen und entwickeln
Hoch-Durchsatz-Sequenzierung (HTS)	• Probenvorbereitung (Library-Typ, Library-Präparation, Primer, Adaptoren, Index-Tags, etc.) • Plattform (Hersteller, Chemie, etc.) • Sequenzlänge	• Fragestellung bestimmt Verfahren • Replikate/Negativkontrollen
Bioinformatik/Datenanalyse	• Referenzdatenbanken (INSDC, eigene Datenbank) • Standardpipeline oder selbstentwickelte Pipeline • Pipeline-Settings (Denoising/Fehlerfilter, Thresholds, etc.) • Heuristische Verfahren/phylogenetische Artzuordnung • Zahl und Art der Replikate (technisch/biologisch) • Kontaminationsvermeidung/Negativkontrollen	• Fragestellung bestimmt Verfahren • Standardisierte Anforderungen an Referenzdatenbanken (Kuratierung und taxonomische Validierung)

Tabelle 1. Komponenten, Mindestdokumentation und Empfehlungen zur Standardisierung für eDNA-Metabarcoding-Studien. In Anlehnung an Goldberg et al. (2016) und erweitert.

Bild 2. HTS-Plattform Illumina MiSeq. Pipettiervorgang, ein typischer Arbeitsschritt.

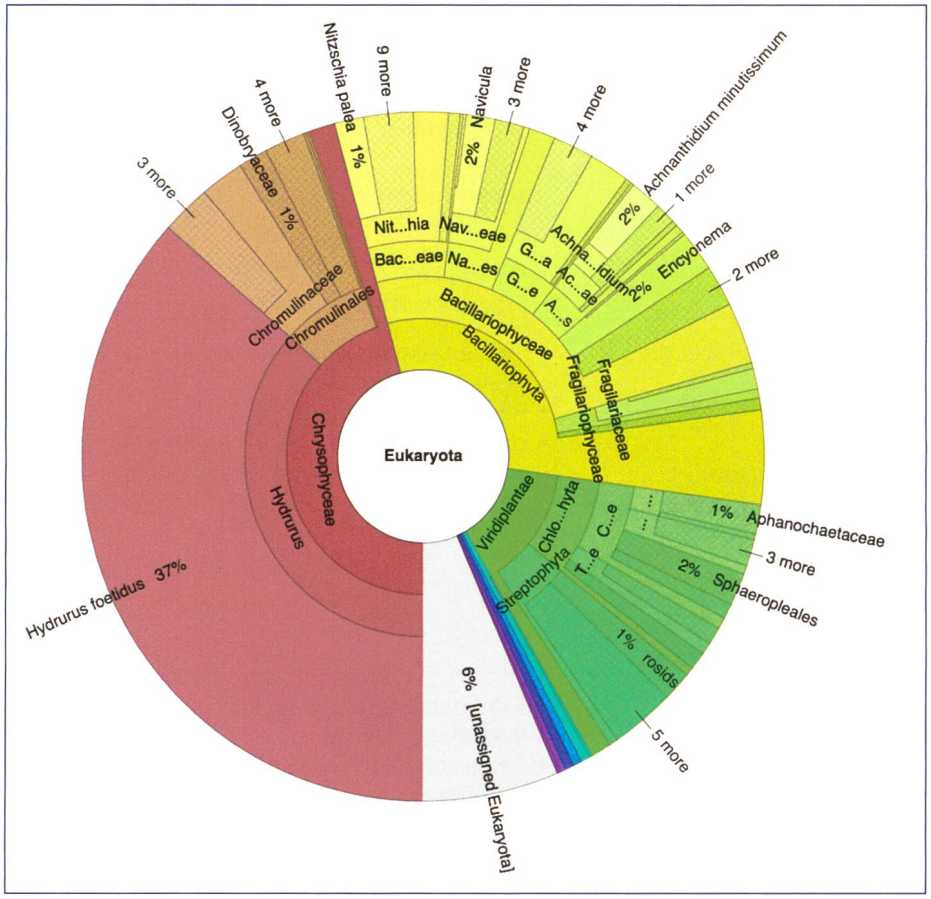


Bild 3. Mittels eDNA-Metabarcoding gefundene Algen und höhere Pflanzen in der Töss bei Kyburg, Kanton Zürich. Die Anteile entsprechen der Anzahl analysierter Sequenzen. Diese Häufigkeiten entsprechen aber nicht der im Feld vorhandenen Individuen.

Bild 4. Systematische Beprobung, Kennzeichnung und Dokumentation der Probenahmestellen. Je nach Fragestellung werden mehrmals Wasserproben analysiert oder gezielt Substrate entnommen.

eine geeignete und zum Teil bereits etablierte Anwendung zu sein. Dazu müssen aber die entsprechenden Referenzsequenzen vorhanden sein. In *Bild 5* sind exemplarisch Fragestellungen aufgeführt, die nur dank eDNA zugänglich werden.

Mit diesen Beispielen wird auch deutlich, dass das Verfahren des eDNA-Metabarcoding die klassische Artbestimmung nicht zwingend konkurriert, sondern weitere bis anhin nicht mögliche Anwendungen erschliesst.

Mit den neuen Verfahren der eDNA ergeben sich aber auch neue Fragen. So gilt aus Sicht der Arten- und Naturschutzbehörden, der betroffenen Gesetzgebung und der damit verbundenen Gerichtspraxis zu klären, ob künftig, wenn es um das Vorkommen von z. B. gefährdeten Arten (Rote-Liste-Arten) geht, ein eDNA-Nachweis genügt oder ob Individuen dieser Art physisch vorliegen müssen. Im Wissen um fehlerhafte Artzuordnungen und, dass eDNA insbesondere bei Fliessgewässern via Drift an den Untersuchungsort eingeschleppt werden kann, wird es bei der Einschätzung der Umweltverträglichkeit eines Projekts heikel sein, sich bloss auf eDNA abzustützen. Dies allenfalls auch desshalb, weil die Möglichkeit der Fauna- und Floraverfälschung, also das bewusste Einbringen von eDNA in einen Projektperimeter, grundsätzlich besteht.

6. Individuendichte

Resultate des eDNA-Metabarcodings geben aktuell vor allem Auskunft über Präsenz oder Absenz einer Art, nicht aber über die genaue Grösse der Population. Somit ist die Frage des Nachweises der Häufigkeit (Biomasse, Individuendichte) bis heute nicht geklärt. Auch Angaben zu Vitalität (lebte die Art zum Zeitpunkt der Untersuchung), Geschlecht, Alter und Entwicklungsstadium sind zurzeit nicht möglich. Hierzu wird aber die Forschung mit Sicherheit neue Verfahren entwickeln, sodass angenommen werden kann, dass diese demografischen und physiologischen Aspekte künftig besser aufgezeigt werden können.

7. Künftige Akzeptanz

In Zukunft wird das Verfahren des eDNA-Metabarcodings mit Sicherheit an Bedeutung zunehmen. Die intensive Forschung weltweit, die Veröffentlichungen in Alltagsmedien über Erfolge, die laufende Automatisierung sowie die enormen Verbesserungen im Bereich der Bioinformatik wie auch die Senkung der Kosten für gezielte Artanalysen sind Gründe, dass das Verfahren noch stark an Akzeptanz gewinnen wird. Inwieweit diese Möglichkeit der Verwendung des eDNA-Metabarcodings im Rahmen der Umweltabklärungen (z. B. UVB) genutzt werden wird, ist noch unklar. Es wird mit Sicherheit stark davon abhängen,

Thema	Kurzbeschrieb	Vorteile	Nachteile
Artenvielfalt	• Artenvielfalt eines ganzen Gewässers/Gewässersystemes • Artenvielfalt in unzugänglichen Gebieten (Tiefenwasser, Flüsse, Schluchten, Höhlen, Naturschutzgebiete) • Artenvielfalt in Magen und Darm von Tieren (Nahrung, Parasiten, Mikroorganismen)	• schnell und einfach • objektives Verfahren • keine spezielle organismenspezifische Infrastruktur nötig • für Probenahme kein organismenspezifisches Expertenwissen nötig • Nachweis von geschützten Arten • Nachweis von gebietsfremden Arten (Neobiota) • Prüfen auf toxische Arten • Finden von kaum auffindbaren Arten	• unvollständige Artenlisten • unklar, ob die gefundenen Arten noch lebten und/oder die eDNA eingeschleppt wurde • keine Angaben zur Populationsgrösse, zur Individuendichte, zur Vitalität oder zur Altersverteilung • fehlende geografische Lokalisierung • keine Belegexemplare • schlecht visualisierendes, emotionsloses Verfahren ohne Bezug zum Organismus • Gefahr, dass angewandtes Feld- und Bestimmungswissen verloren geht, ist gross
Artbestimmungen	• Verifizierung von bereits erfolgten klassischen Artbestimmungen • Artbestimmung anhand von Kot, Urin, Federn, Haaren, Schuppen, Eier, Larven etc. • Qualitätsüberprüfung (QS)	• Bestimmung schwieriger Arten (Wenigborster, Zuckmücken, Kriebelmücken etc.) • Analyse von Stadien mit fehlenden morphologischen Bestimmungsmerkmalen (kleine Larven, Eier, etc.) • Bestimmung von Arten mit wenig lokal verfügbaren SpezialistInnen • eDNA kann konserviert und die Sequenzen in Datenbanken öffentlich verfügbar gemacht werden	• ein Teil des Organismus wird zerstört, indem Material für die Analyse entnommen werden muss • keine Angaben zu Alter, Geschlecht, Stadium etc. • Bestimmung nur möglich, wenn eine (lokale) Referenz vorhanden ist • genetische Bestimmung muss nicht der morphologischen Bestimmung entsprechen • Problematik der Chimärenbildung • Gefahr, dass klassische Bestimmungsbücher nicht mehr mit Neuauflagen überarbeitet werden • Gefahr, dass in der Bildung weniger Mittel zur Verfügung stehen zur Vermittlung von klassischen Artenkenntnissen • Fotografische Dokumentation von gefundenen Arten ist nicht möglich
Finden neuer Arten	• genetische Vielfalt versus klassische Vielfalt	• einfache, kostengünstige Suche nach unbekannten Arten • eruieren der Zahl der unbekannten Arten einer Region	• Eine genetische „Art" muss nicht zwingend eine Art im klassischen Sinne sein • Suche nach den artspezifischen Merkmalen • Hohe Anforderungen an die Referenzdatenbanken • sehr rechenintensiv (Bioinformatik)
Krankheitserreger / Neobiota	• Verbreitung von für die Umwelt schädlicher Organismen und Neobiota durch anthropogene Tätigkeiten (z. B. Krebspest, Saprolegnaerreger etc.) • Wirkung von Desinfektion	• keine speziellen Artenkenntnisse nötig • einfache Handhabung (Labortest)	• Test zur Prüfung der Qualität der Desinfektion sind noch nicht verfügbar, • Kontaminationsmöglichkeit im Labor • persistente (lange haltbar) DNA-Sequenzen, d.h. Vorhandensein von DNA, obwohl der Organismus nicht mehr vorhanden ist
Persistente DNA (sedaDNA, dirtDNA)	• eDNA in Naturarchiven (Seesedimente, Moore, Eis, Boden etc.)	• Rekonstruktion der Artenvielfalt früherer Zeiten • Definition von Referenzzuständen • Verbreitung einer Art in früheren Zeiten	• Alter der eDNA unklar (muss nicht dem Alter des Archivs entsprechen, Problem der Bioturbation etc.)

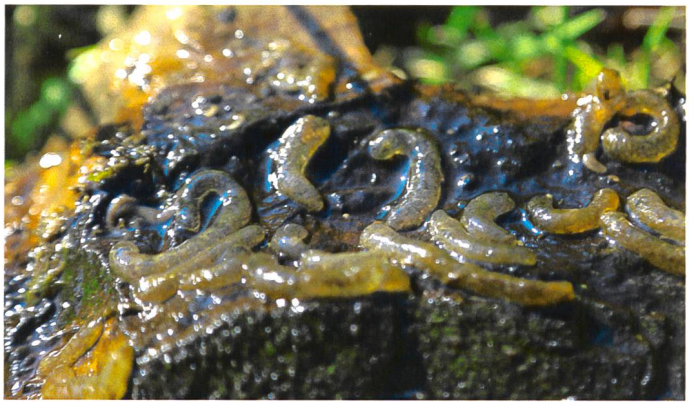
Tabelle 2. Anwendungsmöglichkeiten des eDNA-Metabarcodings in der angewandten Ökologie mit Angabe der Vor- und Nachteile.

inwieweit die Behörden dieses Verfahren akzeptieren und wie schnell qualifizierte Labors diese Dienste in der Schweiz anbieten. Aus Sicht der angewandten Ökologie wird eDNA-Metabarcoding vermutlich in einem ersten Schritt im Sinne von Screenings eingesetzt werden. In Abhängigkeit der Resultate könnten dann gezielt mit klassischen Verfahren die Aussagen vor Ort verifiziert werden.

Reine Monitoringprogramme, welche sich in kantonale oder schweizweite Routineprogramme integrieren lassen (z. B. Wasser-, Boden- oder Luftproben), dürften in Zukunft an Bedeutung zuneh-

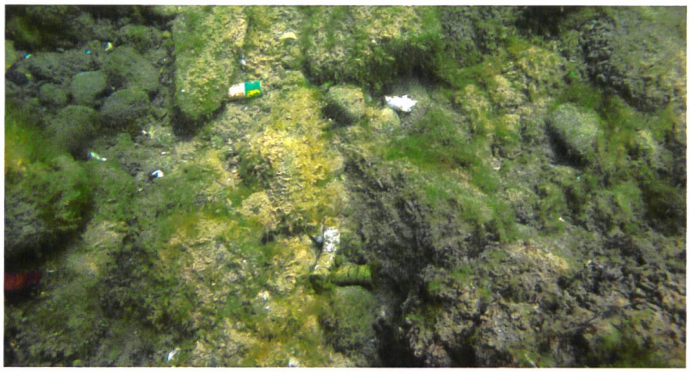
Ist das der Abwasserpilz Sphaerotilus natans?

Ist dies die gebietsfremde Alge Didymosphenia geminata?

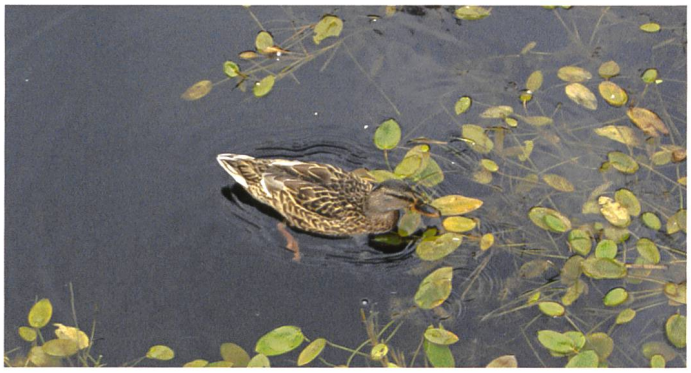


Welche Schnecke legt solche Eigelege?

Welche weiteren Parasiten hat dieser Stichling noch? Sind diese Parasiten verbreitet oder nur lokal vorhanden?



Enthält Entenkot die Artenvielfalt der Wasserpflanzen eines Gewässers?



Welche Arten befinden sich im Gefieder von Wasservögeln? Sind sie ein Abbild der Artenvielfalt des Planktons oder gar eines Gewässers?

Welche Arten befinden sich in diesem schwer zugänglichen Naturschutzgebiet?

Stammt dieses Trinkwasser aus einer Quelle mit spezieller Quellfauna?

Bilder 5.1 bis 5.8. Fragestellungen und Anwendungen, welche dank eDNA angegangen werden könnten und eine Ergänzung der klassischen Artbestimmung darstellen.

men. Die Integration von eDNA-Metabarcoding in solche Überwachungsprogramme hat den Vorteil, dass es möglicherweise keinen wesentlichen zusätzlichen Feldaufwand bedingt. Der Nachweis dafür muss aber noch erbracht werden. Das eDNA-Metabarcoding hat auch den Vorteil, dass der Check auf gewisse Arten hin (z. B. invasive Arten, geschützte Arten, toxische Arten usw.) optimiert werden könnte. Für die Definition der Fragestellungen, die Wahl des Probenahmedesigns und der anzuwendenden Laborverfahren, die Interpretation der Resultate sowie die Qualitätssicherung wird aber weiterhin das Wissen der Taxonomie benötigt.

Im Bereich des Artnachweises dürfte das DNA-Barcoding im Sinne der Artverifizierung (Qualitätssicherung) ebenfalls schnell Eingang finden, sofern die DNA-Labors über entsprechend qualifiziertes Personal und entsprechendes Fachwissen verfügen. Dazu werden aber auch regionale Referenzdatenbanken nötig sein und nach wie vor das Wissen von Taxonominnen und Taxonomen. Dies nicht zuletzt auch daher, weil die Resultate dieser DNA-Labors regelmässig durch Personen mit Artenkenntnissen überprüft werden müssen.

Die sich in Entwicklung befindenden Verfahren werden es erlauben, die Untersuchungen standardisiert an einer hohen Zahl an Proben und mit schneller Verfügbarkeit der Resultate sowie hoher räumlicher Auflösung durchzuführen. Eine jetzt schon absehbare Weiterentwicklung der Verfahren dürfte auch die Möglichkeiten bieten, Populationen zu unterscheiden und mittels RNA- und Proteinanalysen Aussagen zum physiologischen Zustand der Individuen zu machen. Im Bereich der Bakterien werden diese Verfahren schon eingesetzt. Für Eukaryoten bedarf es noch spezifischer Grundlagenforschung.

8. Zukunftsvisionen

Themen wie die Ausbreitung von Parasiten und anderen Arten infolge Klimawandels, die Verbreitung von Krankheitserregern wie auch Nachweise von invasiven Arten stellen Einsatzmöglichkeiten mit viel Potenzial dar. Auch die Entwicklung von allenfalls artunabhängigen Indizes, sei es für gezielte Teillebensräume, ganze Gewässer oder ganze Gebiete, wird an Bedeutung zunehmen. Diese neuen Ansätze bieten auch die Chance, ganze Regionen übergeordnet hinsichtlich verschiedener Aspekte zu bewerten.

Es ist anzunehmen, dass verschiedene Personengruppen, Institutionen und Wirtschaftszweige sich vermehrt um Arten und deren Vorkommen interessieren. In der angewandten Ökologie wird sich dies ebenfalls positiv auswirken. eDNA-Metabarcoding ist ein Laborprodukt, welches stark automatisiert werden kann. Das Verfahren stützt sich auf kleinste Einheiten (DNA), welche überall vorhanden sind, und es kann angenommen werden, dass gewisse Verfahren so vereinfacht angeboten werden, dass für die Erhebung und die Durchführung vergleichsweise wenig Zeit- und Personalressourcen benötigt werden und damit diesbezüglich nur geringe Kosten pro Bestimmungsnachweis anfallen. Die benötigte Labor- und IT-Infrastruktur sowie die Verfügbarkeit von geeigneten lokalen Referenzdatenbanken werden jedoch ein bedeutender Kostenfaktor bleiben. Die Qualität der Resultate und damit die Akzeptanz des Verfahrens werden insbesondere vom betriebenen IT-Aufwand (Bioinformatik) sowie von der Verfügbarkeit und Qualität von regionalen Referenzdatenbanken abhängig sein. Die laufenden Arbeiten und damit die Kosten zur Unterhaltung und Sicherstellung von lokalen Referenzdatenbanken werden intensiv sein. Es gilt einerseits, die Referenzdatenbanken laufend zu aktualisieren (Arten mutieren, neue Arten wandern ein usw.), die Art der Datenhaltung den IT-Entwicklungen und neuen Softwareprodukten anzupassen und anderseits den Zugang öffentlich zu gewährleisten und gleichzeitig aber die Datenbanken vor Cyberkriminalität zu schützen. Dieser nicht zu unterschätzende Aufwand dürfte künftig möglicherweise durch die öffentliche Hand (Bundesstellen, Kantone, Forschung, gezielte Auftragserteilungen an Firmen, Verbände usw.) finanziert und betrieben werden. Alternativ wäre auch denkbar, dass z. B. private Unternehmen spezielle Referenzdatenbanken auf eigene Kosten entwickeln und den Nutzern gegen Verrechnung einer Lizenzgebühr anbieten. Spezielle Referenzdatenbanken könnten Arten umfassen, welche vorwiegend im Bereich der Industrie oder der Medizin und Pharmazie von Bedeutung sind.

Die neuen molekularbiologischen Verfahren werden das Wissen um die Verbreitung von Arten deutlich erhöhen. Insofern wird die Biogeografie profitieren, wenn die erhobenen Daten z. B. im Sinne von Verbreitungskarten öffentlich zugänglich sein werden.

Es ist aber zu befürchten, dass mit diesen Verfahren das Thema Arten- und Naturschutz vermutlich längerfristig emotionsloser angegangen wird. Dies, weil unserer Meinung nach die Vermittlung blosser Sequenzen schwieriger sein wird als die physisch gefundenen Arten. Die reine digitale Sequenz einer farbenprächtigen Libelle löst kaum Emotionen aus. Auch die eingeschränktere Dokumentationsmöglichkeit und der fehlende physische Nachweis der gefundenen Arten (als Belegexemplar) erachten wir als grosse Nachteile. Es versteht sich von selbst, dass auch ein Teil der eDNA-Probe sowie die Sequenzdaten archiviert werden sollten.

Das Verfahren des eDNA-Metabarcodings birgt vordergründig das Potenzial, klassische Untersuchungsverfahren zu verdrängen. Es wird befürchtet, dass das Wissen um Arten in die Molekularlabors verschoben wird. Beides schürt bei den klassisch ausgebildeten Biologinnen und Biologen eine gewisse Angst. Unserer Meinung nach aber zu Unrecht. Taxonomisch Forschende und artspezifisches autökologisches Fachwissen wird kaum ersetzt oder – wie zum Teil befürchtet – gar nicht mehr benötigt. Taxonominnen und Taxonomen werden viel eher vermehrt nötig sein, denn nur schon die Definition der artspezifischen Referenzen, welche pro Region erhoben werden sollten, bedingt das Wissen der Taxonomie. Auch die regelmässigen Qualitätssicherungen der Labors und die mit Sicherheit auftretenden neuen Fragen und Unsicherheiten benötigen Fachwissen. Möglicherweise löst das vermehrte Anwenden des eDNA-Metabarcodings hinsichtlich Notwendigkeit von Artenkenntissen einen gewissen Rebound-Effekt aus. Dies daher, weil wohl das eDNA-Metabarcoding-Verfahren die Artbestimmungen effizienter und kostengünstiger macht und von von taxonomisch versierten Fachleuten losgelöst durchgeführt werden kann. Die Menge der Analysen und die neuen Fragestellungen werden aber vermutlich mehr auf das Wissen der Taxonomie und auf Fachgebiete wie Molekularbiologie, Automatisation und Bioinformatik angewiesen sein. Insofern wird das Verfahren des eDNA-Metabarcodings eine Erweiterung der Tätigkeiten klassischer Taxonominnen und Taxonomen bedingen.

Deshalb sollte eDNA-Metabarcoding für den Einsatz in der Bioindikation und in der Wissenschaft nicht als ein Ersatz für die bisher verwendeten Verfahren gesehen werden. Eher befähigt es uns, eine Verbindung zwischen traditionellen Methoden der Ökologie, Taxonomie und Evolutionsforschung mit den sich sehr schnell entwickelnden molekularen Techniken, ermöglicht durch die moderne

Bioinformatik, zu schaffen. Daher ist das eDNA-Metabarcoding vor allem komplementär zu den traditionellen Methoden und als weiteres Werkzeug im Werkzeugkasten der Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler sowie der Experteninnen und Experten in den entsprechenden Feldern zu verstehen.

Dank

Wir danken allen, die zum Entstehen dieser Publikation beigetragen haben; sei es durch wertvolle Diskussionen, Gegenlesen von Texten (*Wolf-Henning Kusber, Neela Enke, Ernst Roth, Matthias Sturzenegger, Isabella Hegglin Blumenthal, Tino Stäheli, Lukas Taxböck*) oder durch das zur Verfügungstellen von Grafiken, Fotos und Daten (Botanischer Garten und Botanisches Museum, Freie Universität Berlin, AquaPlus AG, Zug, Zürcher Hochschule für angewandte Wissenschaften, Wädenswil, Kantone der Einzugsgebiete Thur und Töss).

Links

Swiss-Bol (Swiss Barcode Of Life): http://www.swissbol.ch
INSDC (International Nucleotide Sequence Database Collaboration): http://www.insdc.org
BOLD: http://www.boldsystems.org
EU COST-Action DNAqua-Net: http://dnaqua.net

Literatur

Adrian-Kalchhauser, I., Burkhardt-Holm, P. (2016). An eDNA assay to monitor a globally invasive fish species from flowing freshwater. Plos One 11 (1), doi: 10.1371/journal.pone.0147558.

Alther, R., Fišer, C., Altermatt, F. (2016). Description of a widely distributed but overlooked amphipod species in the European Alps. Zool J Linn Soc. doi:10.1111/zoj.12477.

Dejean, T., Valentini, A., Duparc, A., Pellier-Cuit, S., Pompanon, F., Taberlet, P., Miaud, C. (2011). Persistence of Environmental DNA in Freshwater Ecosystems. PLoS ONE 6(8): e23398. doi: 10.1371/journal.pone.0023398.

De Ventura, L., Kopp, K., Seppälä, K., Jokela, J. (2017). Tracing the quagga mussel invasion along the Rhine river system using eDNA markers: early detection and surveillance of invasive zebra and quagga mussels. Management of Biological Invasions (2017) Volume 8, Issue 1: 101–112.

«Die Oberbadische» (2015). Quagga-Muschel ist angekommen. «Die Oberbadische», online Ausgabe vom 3.7.2015.

EAWAG (2016). Neu entdeckt und schon gefährdet. EAWAG News vom September 2016 (http://www.eawag.ch/de/news-agenda/news-plattform/newsletter/).

Goldberg, C. S., Turner, C. R., Deiner, K., Klymus, K. E., Thomsen, P. F., Murphy, M. A., Spear, S. F., McKee, A., Oyler-McCance, S. J., Cornman, R. S., Laramie, M. B., Mahon, A. R., Lance, R. F., Pilliod, D. S., Strickler, K. M., Waits, L. P., Fremier, A. K., Takahara, T., Herder, J. E., Taberlet, P. (2016). Critical considerations for the application of environmental DNA methods to detect aquatic species. Methods in Ecology and Evolution 2016, 7, 1299–1307. doi: 10.1111/2041-210X.12595

Maruyama, A., Nakamura, K., Yamanaka, H., Kondoh, M., Minamoto, T. (2014). The Release Rate of Environmental DNA from Juvenile and Adult Fish. PLoS ONE 9(12): e114639. doi:10.1371/ journal.pone.0114639

Monchamp, M. E., Walser, J. C., Pomati, F., Spaak, P. (2016). Sedimentary DNA reveals cyanobacterial community diversity over 200 years in two perialpine lakes. Appl. Environ. Microbiol. 82: 6472–6482.

Pedersen, M. W., Overballe-Petersen, S., Ermini, L., Sarkissian, C. D., Haile, J., Hellstrom, M., Spens, J., Thomsen, P. F., Bohman, K., Capellini, E., Bærholm-Schnell, I., Wales, N. A., Carøe, C., Campos, P. F., Schmidt, A. M. Z., Gilbert, M. T. P., Hansen, A. J., Orlando, L., Willerslev, E. (2015). Ancient and modern environmental DNA. Phil. Trans. R. Soc. B 370: 20130383. http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2013.0383

Raemy, M. (2016). Nachweis der Europäischen Sumpfschildkröte (Emys orbicularis) anhand von Umwelt-DNA (eDNA). Kurzfassung der Vorträge am 23. Herpeto-Kolloquium der Koordinationsstelle für Amphibien- und Reptilienschutz der Schweiz (karch), 3. Dezember 2016.

Schmidt, B. R., Ursenbacher, S. (2015). Umwelt-DNA als neue Methode zum Artnachweis in Gewässern. Zeitschrift für Feldherpetologie, 22(1): 1–10.

Schürmann, M. (2016). Blaualgenblüten der vergangenen 200 Jahre rekonstruiert. EAWAG, Dübendorf.

Tages-Anzeiger (2015). Neue Muschelinvasion steht bevor. Tages-Anzeiger online Ausgabe vom 12.7.2015.

Thomsen, P. F., Kielgast, J., Iversen, L. L, Wiuf, C., Rasmussen, M., Gilbert, M. T. P., Orlando, L., Willerslev, E. (2012). Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. Molecular Ecology 21: 2565–2573.

Universität Basel (2016). Neuer Test für Grundel-Invasion. Website: https://www.unibas.ch/de/Aktuell/News/Uni-Research/Neuer-Test-fuer-Grundel-Invasion.html

Zimmermann, J., Abarca, N., Enke, N., Skibbe, O., Kusber, W. H., Jahn, R. (2014). Taxonomic reference libraries for environmental barcoding: a best practice example from diatom research. PLoS ONE 9(11): e114758. doi: 10.1371/journal.pone.0114758.

Zimmermann, J., Glöckner, G., Jahn, R., Enke N, Gemeinholzer, B. (2015). Metabarcoding vs. morphological identification to assess diatom diversity in environmental studies. Molecular Ecology Resources 15: 526–542. doi:10.1111/1755-0998.12336.

Anschrift der Verfasser

Jonas Zimmermann, Botanischer Garten und Botanisches Museum, Freie Universität Berlin, Königin-Luise-Str. 6–8, D-14195 Berlin,
Tel. +49 30 838 71 835
j.zimmermann@bgbm.org
Joachim Hürlimann, AquaPlus AG
Gotthardstrasse 30, CH-6300 Zug
Tel. +41 41 729 30 00
joachim.huerlimann@aquaplus.ch