

DNA-Barcoding zur Gewässergüteanalyse mit Kieselalgen

Verleihung des Horst-Wiehe-Förderpreises

Die Deutsche Botanische Gesellschaft verlieh ihren diesjährigen Horst-Wiehe-Förderpreis auf der Botanikertagung in München am 31. August 2015 an Jonas Zimmermann, dessen Dissertation von der GfBS-Vize-Präsidentin Birgit Gemeinholzer an der Justus-Liebig-Universität Gießen betreut und in Kooperation mit der Universität zu Köln und dem Botanischen Garten und Botanischen Museum Dahlem der Freien Universität Berlin durchgeführt wurde.

Die lichtmikroskopische Bewertung der Diversität von Kieselalgen (Diatomeen) ist seit Jahrzehnten eine erfolgreich praktizierte Methode zur Gewässergüteanalyse, die z.B. auch in der Wasserrahmenrichtlinie der Europäischen Union umgesetzt wird. In seiner Dissertation testete Zimmermann das environmental DNA (eDNA) Metabarcoding als Alternative zur lichtmikroskopischen Analyse, er identifizierte einen Abschnitt auf der Erbsubstanz, der sich als zuverlässiger Marker für das DNA-Barcoding eignet, und entdeckte vier neue Arten von Kieselalgen in Berliner Gewässern bei der Erstellung einer Referenz-Datenbank. „Die auf dem 18S rRNA Gen befindliche V4 Region ist ein adäquater Marker für Diatomeen DNA Barcoding, denn sie zeigt auf einem relativ kurzen Sequenzabschnitt (ca. 390 bp) ausreichend Variation für die Unterscheidung verschiedener Taxa. Die geringe Abschnittslänge ermöglicht zusätzlich die Sequenzierung durch Next-Generation-Sequencing-Technologien. Die 18S V4 Region wurde von der CBOL Protist Working Group (ProWG) als Pre-Barcode für alle Gruppen der Protisten vorgeschlagen.“ schreibt Zimmermann.



Jonas Zimmermann erhält den Horst-Wiehe-Förderpreis | Foto: Natalie Kowalski

Die Arbeit beinhaltet außerdem ein Standardprotokoll für die Amplifizierung der 18S V4 Region sowohl aus Kulturmateriel als auch aus Umweltproben. Beim eDNA Barcoding werden unidentifizierte Sequenzen aus einer Umweltprobe identifizierten Sequenzen einer Referenzdatenbank zugeordnet, um die Sequenzen aus der Umweltprobe einem entsprechenden Taxon zuzuweisen. Die vorgestellte Untersuchung prüfte die Unterschiede von Lichtmikroskopie und eDNA Barcoding hinsichtlich ihrer Möglichkeiten der taxonomischen Differenzierungen und Biodiversitätserfassung. Dabei zeigte sich, dass

die sequenzbasierte Methodik - bei Einsatz einer phylogenie-basierten Taxonzuordnung - eine feinere taxonomische Auflösung als die Lichtmikroskopie lieferte. Zusätzlich wurde der direkte Zusammenhang von der Qualität der Sequenzzuordnung zu taxonomischen Bearbeitungen von Referenzsequenzen aufgezeigt. In der gebräuchlichsten Referenzdatenbank INSDC (International Nucleotide Sequence Database Collaboration; inkl. Genbank, EMBL/ENA and DDBJ) ist die vorhandene taxonomische Information zu Diatomeensequenzen teilweise fragwürdig. Deshalb schlägt die Arbeit Richtlinien zur Hinterlegung von Referenzsequenzen in taxonomischen Referenzdatenbanken vor. Referenzsequenzen werden bei Diatomeen aus klonalen Kulturen erzeugt, die eine umfangreiche Dokumentation ermöglicht. Neben der Sequenzinformation sollten Herbarbelege und physische DNA-Proben in wissenschaftlich betreuten Sammlungen hinterlegt werden. Minimalanforderungen für begleitende Metadaten werden ebenfalls vorgestellt; hierzu gehören neben Sammlungsdaten, Daten zur Kultivierung, Information zu Primern und PCR sowie den Pherogrammen auch die fotografische Dokumentation zur Bestimmung relevanter Mikrostrukturen.

Regine Jahn, BGBM Freie Universität Berlin

Literatur

Zimmermann J, Jahn R, Gemeinholzer B 2011: *Barcoding diatoms: evaluation of the V4 subregion on the 18S rRNA gene, including new primers and protocols.* – *Organisms Diversity & Evolution* 11: 173-192.

Zimmermann J, Glöckner G, Jahn R, Enke N & Gemeinholzer B 2014: *Metabarcoding vs. morphological identification to assess diatom diversity in environmental studies.* *Molecular Ecology Resources* DOI: 10.1111/1755-0998.12336.

Zimmermann J, Abarca N, Enke N, Skibbe O, Kusber WH, Jahn R (2014) *Taxonomic Reference Libraries for Environmental Barcoding: a Best Practice Example from Diatom Research.* *PlosOne* DOI: 10.1371/journal.pone.0108793.

Pawlowski J, Audic S, Adl S, Bass D, Belbahri L, Berney C, Bowser S, Cepicka I, Decelle J, Dunthorn M, Fiore-Donno AM, Gile GH, Holzmann M, Jahn R, Jirku M, Keeling PJ, Kostka M, Kudryavtsev A, Lara E, Lukeš J, Mann DG, Mitchell EAD, Nitsche F, Romeralo M, Saunders GW, Simpson AGB, Smirnov AV, Spouge JL, Stern RF, Stoeck T, Zimmermann J, Schindel D, de Vargas C (2012) *CBOL Protist Working Group: Barcoding Eukaryotic Richness beyond the Animal, Plant, and Fungal Kingdoms.* *PLoS Biol* 10(11): e1001419. doi:10.1371/journal.pbio.1001419