© Zool.-Bot. Ges. Österreich, Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Acta ZooBot Austria **152**, 2015, 167–172

Biodiversität im Auge der Öffentlichkeit: DNA-Barcoding der heimischen Wirbeltierfauna – Probleme & Herausforderungen

Stephan Koblmüller & Frank E. Zachos

DNA-Barcoding, die standardisierte genetische Analyse eines bestimmten Abschnitts aus dem Erbgut, ermöglicht eine rasche und kosteneffiziente Charakterisierung der Biodiversität mit einer Vielzahl von Anwendungen auch im Bereich von angewandter Forschung und Naturschutz. Ebenso wie im Naturschutz kommt Wirbeltieren als den in der Öffentlichkeit bekanntesten und beliebtesten Tieren auch im Rahmen großer Barcodingprojekte wie ABOL eine besondere Rolle als Zugpferde und PR-Aushängeschilder zu. Das Barcoding von Wirbeltieren hat gegenüber anderen taxonomischen Gruppen den Vorteil, dass die Artenzahlen relativ gering sind und die Abdeckung in öffentlichen Sammlungen hoch ist. Die Beschaffung gänzlich neuen Materials ist hingegen aufgrund des besonderen tierschutzrechtlichen Status von Wirbeltieren ungleich komplizierter als bei den meisten Wirbellosen, Pflanzen und Pilzen, weshalb Museumssammlungen für Barcodingprojekte wie ABOL einen unschätzbaren Wert darstellen, obwohl oftmals stark degradierte DNA in alten Museumsstücken einen erheblichen finanziellen und zeitlichen Mehraufwand je Probe bedeutet.

Koblmüller S. & Zachos F.E., 2015: Biodiversity in the public eye: DNA-barcoding of Austrian vertebrates – problems & challenges.
DNA-Barcoding, the standardized genetic analysis of a particular DNA fragment, facilitates the rapid and cost-effective genetic characterization of biodiversity, with numerous potential applications, not least in applied sciences and nature conservation. As vertebrates are undoubtedly the native animals best known to lay people, they are well suited as flagship taxa not only for conservation initiatives, but also for large barcoding projects like ABOL. Compared to other taxa, vertebrates comprise comparatively few species, and most species are available from museum collections, which is a huge advantage of barcoding vertebrates. However, collecting new samples is often much more difficult to (nearly) impossible due to the special federal animal welfare regulations that apply to vertebrates. This makes museum collections a particularly valuable source of tissue for DNA-barcoding, even if degraded DNA in old museum samples implies quite some extra cost and work.

Keywords: ABOL, Austrian Barcode of Life, degraded DNA, museum samples.

Einleitung

Unterschiedlichste klimatische und hydrologische Gegebenheiten bedingen eine hohe Vielfalt an Lebensräumen und dadurch auch eine hohe Biodiversität im verhältnismäßig kleinen Österreich (Zimmermann et al. 2013). Dies gilt auch für die Wirbeltiere, also Fische, Amphibien, Reptilien, Vögel und Säugetiere. Laut der aktuellen Roten Liste kommen in Österreich 460 Wirbeltierarten vor: 84 Fische, 20 Amphibien, 14 Reptilien, 241 Brutvögel (durch Wintergäste, Durchzügler und Irrgäste erhöht sich die Zahl der potentiell in Österreich anzutreffenden Vogelarten noch um etwa das Doppelte) und 101 Säugetiere. Leider sind ca. 10% der heimischen Wirbeltierarten vom Aussterben bedroht und viele weitere Arten als zumindest potentiell gefährdet zu betrachten.

Wirbeltiere sind sicher die auch Laien am besten bekannten Tiere der einheimischen Fauna und eignen sich daher hervorragend als Zugpferde für den Naturschutz. In ihrem Lebensraum kommt zugleich eine Unzahl an wirbellosen Tieren, Pflanzen und Pilzen vor, die vom

© Zool.-Bot. Ges. Österreich, Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Wirbeltierschutz profitieren. Als Beispiele wären hier der Wachtelkönig (*Crex crex*) zu nennen, dem als Flaggschiff des Wiesenvogelschutzes in ganz Europa besondere Aufmerksamkeit zuteil wurde, sowie der Huchen (*Hucho hucho*), der 2012 vom Österreichischen Naturschutzbund (und 2015 in Deutschland vom Angelfischerverband und dem Bundesamt für Naturschutz) zum Fisch des Jahres gewählt wurde und stellvertretend für eine durch Gewässerverschmutzung und vor allem Gewässerverbauung zunehmend gefährdete Fließwasserfauna steht.

Obwohl Wirbeltiere die bei weitem am besten untersuchte Tiergruppe sind, gibt es immer wieder überraschende Erkenntnisse. Selbst in Europa stellt sich immer wieder heraus, dass eine Art in Wirklichkeit zwei oder mehrere Arten (sog. kryptische Arten) umfasst. Einen ersten entscheidenden Hinweis auf eine solche kryptische Biodiversität kann DNA-Barcoding, die standardisierte genetische Analyse eines bestimmten Abschnittes aus dem Erbgut (DNA), liefern. Durch ein flächendeckendes Screening mit DNA-Barcoding-Methoden können so neue Erkenntnisse gewonnen und damit auch neue Forschungsfragen generiert werden, deren Bearbeitung dann wiederum neue und tiefere Erkenntnisse über die einheimische Faunenvielfalt verspricht. So lieferte z. B. das DNA-Barcoding der deutschen Süßwasserfischfauna z.T. überraschende Ergebnisse bzgl. der beobachteten intraspezifischen genetischen Distanzen (Knebelsberger et al. 2015). Einige Arten beinhalten divergente, auf einzelne Flusssysteme beschränkte genetische Linien. Es kann durchaus sein, dass einige dieser Linien auch morphologische Unterschiede aufweisen, die in der Vergangenheit übersehen oder nicht beachtet wurden, so dass eine sorgfältige (Re-) Analyse der morphologischen Daten notwendig sein wird, um abzuklären, ob diese divergenten genetischen Linien tatsächlich kryptische Arten darstellen. Auch in Österreich wurde kürzlich anhand von DNA-Barcodes eine neue, bisher unbeschriebene und nach gegenwärtigem Wissensstand in der oberen Mur endemische Fischart bestätigt (Abb. 1; Friedrich et al. 2015). Morphologische Daten alleine lieferten in diesem Fall keinen Aufschluss darüber, ob diese Fische eine Hybridpopulation oder eine eigene Art darstellen. Anhand von DNA-Barcodes war es dann aber möglich, ein Hybridisierungsszenario auszuschießen (Friedrich et al. 2015). Außerdem ermöglicht DNA-Barcoding in Kombination mit nicht-invasiven Beprobungsmethoden und neuen DNA-Amplifizierungs- und -Sequenziertechnologien die rasche und kosteneffiziente Detektion von seltenen und/oder invasiven Arten sowie die Charakterisierung von Biodiversität und Nahrungsspektren (Bohmann et al. 2014, Kress et al. 2014).

Im Rahmen des Pilotprojektes „ABOL Wirbeltiere“ wurde unter der Federführung des Instituts für Zoologie der Karl-Franzens-Universität in Graz in Kooperation mit dem Naturhistorischen Museum Wien und anderen Institutionen landesweit im Jahr 2014 begonnen, die gesamte österreichische Wirbeltierfauna genetisch zu charakterisieren. Im Folgenden wird kurz auf die Probleme und Herausforderungen, mit denen wir im Rahmen dieses Pilotprojekts zu tun haben und die es zu lösen gilt, eingegangen.

Probleme und Herausforderungen

1. Datenlage

Die Menge an publizierten und in BOLD (Barcode of Life Database) verfügbaren DNA-Barcodes für österreichische Wirbeltiere ist erstaunlich dürftig, was verwunderlich ist, da doch viele phylogenetische, phylogeographische und populationsgenetische Arbeiten über österreichische Wirbeltiere (bzw. Arbeiten, die auch österreichisches Material inkludieren)

© Zool.-Bot. Ges. Österreich, Austria; download unter www.biologiezentrum.at

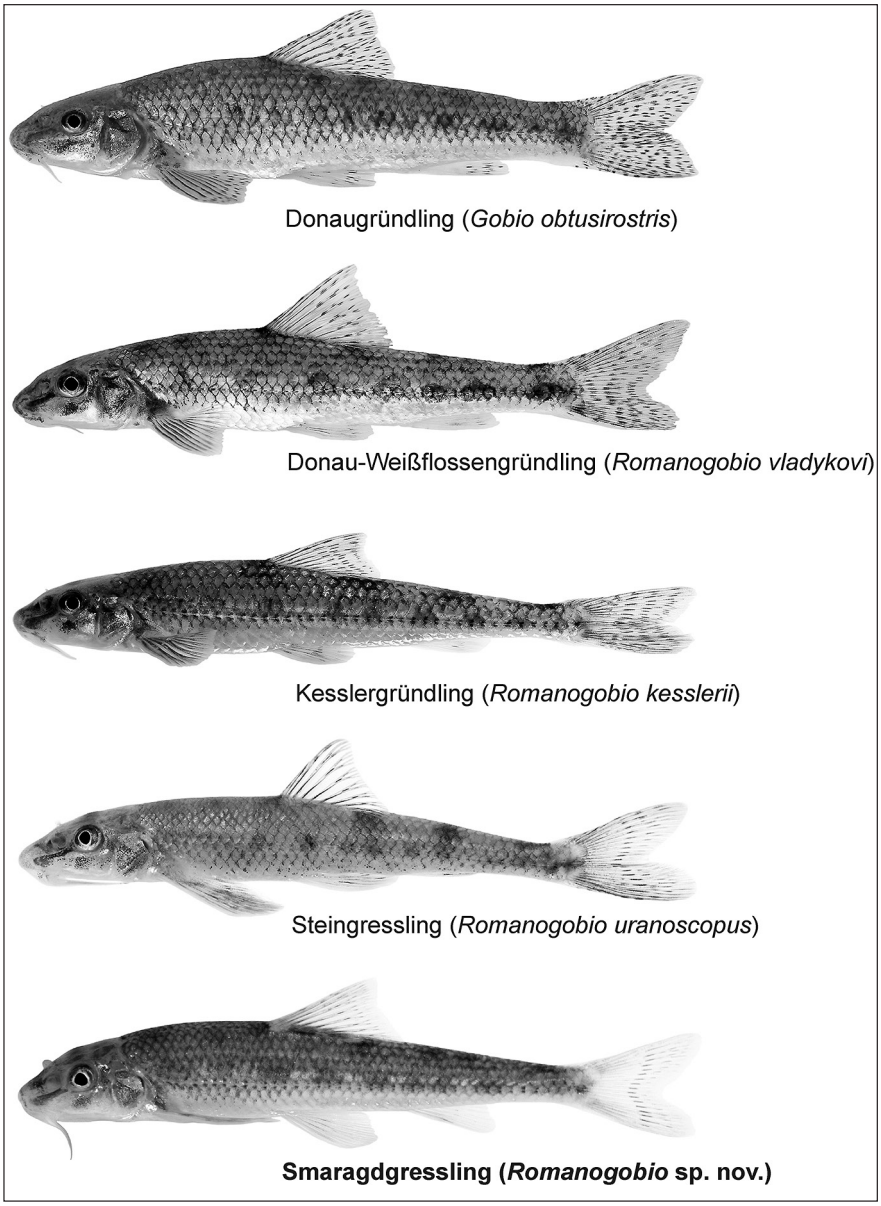

Abb. 1: Die vier bekannten heimischen Gründlingsarten aus den Gattungen *Gobio* (ob *Gobio* in Österreich nur durch *G. obtusirostris* vertreten ist oder ob auch *G. gobio* und Hybriden vorkommen, ist derzeit noch unklar) und *Romanogobio,* sowie die durch DNA-Barcodes bestätigte neue unbeschriebene, vermutlich in der oberen Mur endemische Art (letztere in fetter Schrift; Friedrich et al. 2015). Fischfotos: Wolfgang Gessl (www. Pisces.at). – Fig. 1: The four known Austrian gudgeon species of the genera *Gobio* (it is still not clear whether all Austrian *Gobio* are indeed *G. obtusirostris*) and *Romanogobio*, plus a new, thus far undescribed species from the upper Mur River, which has been recently confirmed by DNA-barcodes (the latter in bold lettering; Friedrich et al. 2015). Photographs courtesy of Wolfgang Gessl (www.pisces.at).

© Zool.-Bot. Ges. Österreich, Austria; download unter www.biologiezentrum.at

publiziert wurden. Der Grund dafür liegt v.a. darin, dass diese Arbeiten nur selten das „Barcoding-Gen" – das mitochondrielle Cytochrom Oxidase I-Gen (COI) – verwenden, und wenn doch, nur selten Belegexemplare der sequenzierten Proben in Museen deponiert wurden. Am besten ist die Datenlage noch bei Fischen, wobei auch hier nur ein Bruchteil der tatsächlich in Österreich vorkommenden Diversität abgedeckt ist. Von Amphibien, Reptilien, Vögeln und Säugetieren sind nur einige wenige Barcodes verfügbar, bei den Säugetieren nur vom Menschen und einigen Höhlenbären, also Arten die nicht unbedingt im Fokus von ABOL liegen.

2. Verfügbarkeit von Frischmaterial

Rechtlich und/oder logistisch ist es oft schwierig, an frisches Material von Wirbeltieren zu kommen. Dies gilt nicht nur für gefährdete, sondern auch für häufig vorkommende Arten. Die relevanten Gesetze werden zum Teil auf Bundes-, zum Teil auf Landesebene geregelt, was einen enormen bürokratischen Aufwand impliziert, um Fang- bzw. Sammelgenehmigungen für die einzelnen Wirbeltiertaxa in den einzelnen Bundesländern zu bekommen. Für jagdbares Wild und Fische ist zusätzlich die Unterstützung der Jagd- bzw. Fischereiberechtigten notwendig. Weiters bedingt das Beproben vieler, auch häufiger, Arten unter Umständen einen hohen logistischen und finanziellen Aufwand. Man denke hier nur an die vielen Fischarten, die aufgrund ihrer speziellen Lebensraumansprüche oder oft geringer Abundanzen mittels aufwendiger Befischungsstrategien (Tiefennetze, Elektrobefischungen von Booten aus, usw.) gesammelt werden müssen, sodass der notwendige Aufwand für einzelne bis wenige Proben je Art und geographischer Region enorm ist.

3. Belegexemplare

In der DNA-Barcode-Datenbank werden nur Barcodes von zuverlässig bestimmten Referenzorganismen gespeichert und zur weiteren Verwendung zur Verfügung gestellt. Das bedeutet, dass für jeden Barcode das zugehörige Belegexemplar in einer wissenschaftlichen Sammlung hinterlegt werden sollte, was für große bzw. seltene Arten aus naheliegenden Gründen oft nicht möglich ist. In solchen Fällen könnte man alternativ einen taxonomisch wichtigen Körperteil (z. B. Schädel) und/oder Fotos hinterlegen, um dem Gedanken der Nachprüfbarkeit und Qualitätskontrolle zu entsprechen.

4. Museumsmaterial

Aus den beiden letztgenannten Gründen und weil DNA nicht nur aus frischem Material, sondern auch aus Federn, Fellen, Knochen, Alkoholpräparaten, usw. extrahiert werden kann, stellen Museumssammlungen ein wichtige DNA-Quelle für Barcoding-Aktivitäten an Wirbeltieren dar. Glücklicherweise werden heutzutage in vielen, leider aber noch nicht allen, Museen schon standardmäßig DNA-Proben von neu eingegangenem Material genommen. In alten Museumsstücken ist die DNA durch Hydrolyse der Phosphodiesterbindungen oft stark degradiert, wodurch es in vielen Fällen unmöglich ist, das ca. 650 bp lange Barcoding-Fragment in einem Stück zu amplifizieren und zu sequenzieren. In diesen Fällen muss, sofern überhaupt möglich, dieses Fragment in mehreren Teilen analysiert werden, was natürlich die Kosten sowie den zeitlichen Aufwand je Probe drastisch erhöht, besonders wenn für die einzelnen Teilfragmente womöglich artspezifische Primer (Oligonukleotide, die als Startpunkt für die DNA-Amplifikation dienen) entwickelt werden müssen. Zusätzlich kann hydrolytische Desaminierung (v.a. von Cytosin) zur Modifikation einzelner Basen führen. Dieser Schaden wird *in vivo* enzymatisch repariert, bleibt *post mortem* aber als De-

© Zool.-Bot. Ges. Österreich, Austria; download unter www.biologiezentrum.at

gradierungsartefakt bestehen, was ein potentielles Problem beim Barcoding von Balg-, Fell- oder Knochenproben darstellt. Dies gilt nicht nur für sehr altes Material, wo dieses Phänomen schon lange bekannt ist, sondern auch für relativ rezentes Material (Sefc et al. 2007). Da diese Desaminierungssubstitutionen nur sporadisch auftreten, können sie durch wiederholte DNA-Amplifizierung und Sequenzierung erkannt werden, was allerdings sowohl den zeitlichen als auch finanziellen Aufwand je Probe abermals erhöht. Auf Artidentifikationen haben einzelne Desaminierungssubstitutionen keine Auswirkung, sehr wohl jedoch auf die Analyse raumzeitlicher Muster intraspezifischer genetischer Diversität mit unter Umständen beträchtlicher Relevanz für natur- oder artenschutzbezogene Fragestellungen. Da die DNA-Barcodes in einer öffentlich zugängigen Datenbank zur Verfügung gestellt werden und somit von jedermann verwendet werden können, sollte tunlichst darauf geachtet werden, dass Artefakte durch Desaminierungssubstitutionen ausgeschlossen werden können.

5. Nationales Netzwerk von Institutionen und ExpertInnen

Der Erfolg von DNA-Barcoding-Initiativen wie ABOL hängt sehr stark davon ab, dass Institutionen und ExpertInnen, die sich mit Biodiversitätsforschung befassen, in einem nationalen Netzwerk zusammenarbeiten. Dies gilt insbesondere für das Barcoding von Wirbeltieren, wo, wie bereits erwähnt, Museen eine unschätzbare Quelle darstellen.

Conclusio

Das DNA-Barcoding von Wirbeltieren hat gegenüber anderen taxonomischen Gruppen den Vorteil, dass die Artenzahlen relativ gering sind und die Abdeckung in öffentlichen Sammlungen hoch ist. Die Beschaffung gänzlich neuen Materials ist hingegen aufgrund des besonderen tierschutzrechtlichen Status von Wirbeltieren ungleich komplizierter als bei Wirbellosen, Pflanzen und Pilzen. Im Rahmen großer Barcodingprojekte wie ABOL kommt Wirbeltieren als den in der Öffentlichkeit bekanntesten und beliebtesten Tieren eine besondere Rolle als PR-Aushängeschilder zu.

Literatur

Bohmann K., Evans A., Gilbert M.T.P., Carvalho G.R., Creer S., Knapp M., Yu D.W. & de Bruyn M., 2014: Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. Trends Ecol. Evol. 29, 358–367.

Friedrich T., Wiesner C., Unfer G., Pinter K., Daill D., Zangl L. & Koblmüller S., 2015: Eine neue, unbeschriebene Gründlingsart der Gattung *Romanogobio* in der oberen Mur – eine erste Beschreibung andhand morphologischer Merkmale und DNA-Barcodes. Österr. Fisch. 68, 91–99.

Knebelsberger T., Dunz A.R., Neumann D. & Geiger M.F., 2015: Molecular diversity of Germany's freshwater fishes and lampreys assessed by DNA barcoding. Mol. Ecol. Res. 15, 562–572.

Kress W.J., García-Robledo C., Uriarte M. & Erickson D.L., 2014: DNA-barcodes for ecology, evolution, and conservation. Trends Ecol. Evol. 30, 25–35.

Sefc K.M., Payne R.B. & Sorenson M.D., 2007: Single base errors in PCR products from avian museum specimens and their effect on estimates of historical genetic diversity. Conserv. Genet. 8, 879–884.

Zimmermann D., Sattmann H. & Haring E., 2013: DNA-Barcoding – Von iBOL zu ABOL. Entomol. Austr. 20, 207–213.

© Zool.-Bot. Ges. Österreich, Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Anschriften:

Dr. Stephan KOBLMÜLLER, Institut für Zoologie, Karl-Franzens-Universität Graz, Universitätsplatz 2, A-8010 Graz, Österreich. Email: stephan.koblmueller@uni-graz.at

PD Dr. Frank E. ZACHOS, Naturhistorisches Museum Wien, Säugetiersammlung, Burgring 7, A-1010 Wien, Österreich. Email: frank.zachos@nhm-wien.ac.at

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Verhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien. Frueher: Verh.des Zoologisch-Botanischen Vereins in Wien. seit 2014 "Acta ZooBot Austria"

Jahr/Year: 2015

Band/Volume: 152

Autor(en)/Author(s): Koblmüller Stephan, Zachos Frank

Artikel/Article: Biodiversität im Auge der Öffentlichkeit: DNA-Barcoding der heimischen Wirbeltierfauna - Probleme & Herausforderungen 167-172