

Extended Abstract

Molekulare Detektion aquatischer Organismen anhand von Wasserproben

Bettina THALINGER, Urban AUFSCHNAITER, Dominik KIRSCHNER,
Christian MORITZ, Andreas SAPELZA, Richard SCHWARZENBERGER,
Josef WANZENBÖCK & Michael TRAUGOTT

Die Bestimmung der Verbreitungsgebiete einzelner Arten sowie der Gesamtbiodiversität aquatischer Lebensräume ist für das Gewässermanagement seit jeher von zentraler Bedeutung. So sind z. B. das Ausbreitungsgebiet bzw. die Eindämmung invasiver Arten oder die Bestimmung des Gewässerzustandes durch EU-weites Monitoring zentrale Punkte des Natur- und Artenschutzes (EU-WRRL 2000, GZÜV 2006). Mittels konventioneller, morphologischer Identifikationsmethoden kann diese Zustandsüberwachung der europäischen Binnengewässer durch den zeitlichen Aufwand bei der Probenbearbeitung und auch aufgrund von Schonzeiten nur punktuell und zeitlich begrenzt durchgeführt werden (SIGSGAARD et al. 2015).

Molekularbiologische Methoden eröffnen durch kürzere Bearbeitungszeiten und nicht invasive Beprobungen völlig neue Möglichkeiten im Bereich des Gewässer-Monitorings. Die Artbestimmung und der -nachweis erfolgt hierbei über „Umwelt-DNA“ (englisch: „environmental DNA“, kurz: „eDNA“). Dabei handelt es sich um von Organismen an das Umgebungswasser in der Form von Zellen und Zellbestandteilen abgegebene DNA (TABERLET et al. 2012). Seit dem ersten Nachweis des Nordamerikanischen Ochsenfrosches (*Rana catesbeiana*) mittels eDNA (FICETOLA et al. 2008) wurden molekulare Artnachweise in aquatischen Ökosystemen zur Beantwortung verschiedenster Fragestellungen herangezogen. So konnte mittels eDNA bereits das Vorkommen gefährdeter Fischarten bestimmt (LARAMIE et al. 2015, SIGSGAARD et al. 2015) und die aquatische Gesamtbiodiversität an verschiedenen Standorten untersucht werden (DEINER et al. 2016).

Sowohl für stehende und fließende Gewässer der temperierten Regionen (VALENTINI et al. 2016) und der Tropen (ROBSON et al. 2016) als auch für marine Ökosysteme (THOMSEN et al. 2012) wurde der eDNA Ansatz besonders in der jüngsten Vergangenheit beständig weiterentwickelt. Insbesondere bei der Wasserprobenahme, DNA-Gewinnung (mittels Ausfällung oder Filtration), Extraktion sowie dem eigentlichen Nachweis und der Artbestimmung mittels Sequenzanalysen oder diagnostischer PCR bestand bzw. besteht nach wie vor vielfach Optimierungsbedarf (REES et al. 2014, EICHMILLER et al. 2016). Zudem wurde der Einfluss von Umweltvariablen wie pH-Wert, UV-Strahlung und Temperatur, die einen wesentlichen Einfluss auf die Persistenz von eDNA in Gewässern haben, genauso wie die räumliche Verteilung der eDNA in Wasserkörpern untersucht (BARNES et al. 2014, MOYER et al. 2014, STRICKLER et al. 2015). Nach wie vor stellen allerdings falsch positive Ergebnisse (Nachweis, obwohl der Organismus nicht vorhanden ist), falsch negative Ergebnisse (kein Nachweis trotz Vorhandensein des Organismus) sowie die Abschätzung von Biomasse bzw. Abundanz die größten Herausforderungen dieses noch jungen Forschungsfeldes dar (GOLDBERG et al. 2016).

Im Rahmen des FFG Projektes „eDNA – AlpFisch: Detektion und semiquantitative Bestandserhebungen alpiner Fischarten mittels eDNA“ der Universität Innsbruck in Zusammenarbeit mit der ARGE Limnologie GesmbH wird aktuell der eDNA Ansatz für Fische in alpinen Fließgewässern optimiert, um in Zukunft ein Monitoring mittels molekularer Methoden zu ermöglichen.

THALINGER et al., 2017: Molecular detection of aquatic organisms from water samples.

The assessment of species distribution and total biodiversity in aquatic environments is long-since crucial for the management of marine and freshwater ecosystems. For example, monitoring of invasive species and the assessment of water conditions are cornerstones of EU-wide nature- and species-protection regulations (EU-WRRL 2000, GZÜV 2006). Via conventional methods based on morphological identification European freshwaters can only be selectively monitored due to the great effort associated with sample handling, identification of individual specimens and closed seasons (SIGSGAARD et al. 2015).

Molecular methods have the potential to revolutionize aquatic monitoring enabling the cost effective processing of large sample numbers independent of season and protection status. The molecular species detection and identification itself is thereby based on “environmental DNA” (short: “eDNA”), which is DNA contained in cells or cell components constantly released into the surrounding water (TABERLET et al. 2012). Since FICETOLA et al. (2008) reported the first detection of the American bullfrog (*Rana catesbeiana*) via eDNA the approach has been diversely applied and was for example used to assess the distribution of endangered fish species (LARAMIE et al. 2015, SIGSGAARD et al. 2015) or the total aquatic diversity at various locations (DEINER et al. 2016).

For stagnant and flowing waters from temperate (VALENTINI et al. 2016) to tropic regions (ROBSON et al. 2016) as well as marine ecosystems (THOMSEN et al. 2012), species detection via eDNA has been adapted and applied in recent years. Sample volume, DNA capture, extraction, and species detection via sequencing or diagnostic PCR have thereby been continuously optimized (REES et al. 2014, EICHMILLER et al. 2016). Additionally, the influences of environmental variables such as pH-value, UV-radiation, and temperature which strongly affect DNA persistence have been investigated besides the spatial distribution of eDNA in different waterbodies (BARNES et al. 2014, MOYER et al. 2014, STRICKLER et al. 2015). Despite all methodological advances, false positive (detection without species presence) and false negative (no detection despite species presence) results as well as the estimation of biomass and abundance prove difficult for this young area of research (Goldberg et al. 2016).

Within the FFG Project “eDNA – AlpFish: detection and semi-quantitative population estimations of Alpine fish species via eDNA.” of the University of Innsbruck in cooperation with the ARGE Limnologie GesmbH the eDNA approach is currently optimized for the detection of fish in Alpine streams and rivers to enable future monitoring based on molecular methods.

Keywords: eDNA, aquatic ecosystem, fish, DNA-based identification.

Literatur

- BARNES M.A., TURNER C.R., JERDE C.L., RENSHAW M.A., CHADDERTON W.L. & LODGE D.M., 2014: Environmental conditions influence eDNA persistence in aquatic systems. Environ. Sci. Technol. 48, 1819–1827.
- DEINER K., FRONHOFER E.A., MÄCHLER E., WALSER J.-C. & ALTERMATT F., 2016: Environmental DNA reveals that rivers are conveyor belts of biodiversity information. Nat. Commun. 7, 12544.
- EICHMILLER J., MILLER L. & SORENSEN P., 2016: Optimizing techniques to capture and extract environmental DNA for detection and quantification of fish. Mol. Ecol. Resour. 1, 56–68.
- EU-WRRL, 2000: Richtlinie 2000/60/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpoltik. 72 pp.

- FICETOLA G.F., MIAUD C., POMPANON F. & TABERLET P., 2008: Species detection using environmental DNA from water samples. *Biol. Lett.* 4, 423–425.
- GOLDBERG C.S., TURNER C.R., DEINER K. et al., 2016: Critical considerations for the application of environmental DNA methods to detect aquatic species. *Methods Ecol. Evol.* 7(11), 1299–1307.
- GZÜV, 2006: Verordnung des Bundesministers für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserrwirtschaft über die Überwachung des Zustandes von Gewässern (Gewässerzustandsüberwachungsverordnung – GZÜV). BGBl. II Nr. 479/2006. 18 pp + 13 Anlagen.
- LARAMIE M.B., PILLIOD D.S. & GOLDBERG C.S., 2015: Characterizing the distribution of an endangered salmonid using environmental DNA analysis. *Biol. Conserv.* 183, 29–37.
- MOYER G.R., DIAZ-FERGUSON E., HILL J.E. & SHEA C., 2014: Assessing Environmental DNA Detection in Controlled Lentic Systems. *Plos One* 9, 10.1371/journal.pone.0103767.
- REES H.C., MADDISON B.C., MIDDLEDITCH D.J., PATMORE J.R.M. & GOUGH K.C., 2014: The detection of aquatic animal species using environmental DNA - a review of eDNA as a survey tool in ecology. *J. Appl. Ecol.* 51(5), 1450–1459.
- ROBSON H.L., NOBLE T.H., SAUNDERS R.J., ROBSON S.K., BURROWS D.W. & JERRY D.R., 2016: Fine-tuning for the tropics: application of eDNA technology for invasive fish detection in tropical freshwater ecosystems. *Mol. Ecol. Resour.* 16(4), 922–932.
- SIGSGAARD E.E., CARL H., MOLLER P.R. & THOMSEN P.F., 2015: Monitoring the near-extinct European weather loach in Denmark based on environmental DNA from water samples. *Biol. Conserv.* 183, 46–52.
- STRICKLER K.M., FREMIER A.K. & GOLDBERG C.S., 2015: Quantifying effects of UV-B, temperature, and pH on eDNA degradation in aquatic microcosms. *Biol. Conserv.* 183, 85–92.
- TABERLET P., COISSAC E., HAJIBABAIEI M. & RIESEBERG L.H., 2012: Environmental DNA. *Mol. Ecol.* 21, 1789–1793.
- THOMSEN P.F., KIELGAST J., IVERSEN L.L. et al., 2012: Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples. *Plos One* 7, 10.1371/journal.pone.0041732.
- VALENTINI A., TABERLET P., MIAUD C. et al., 2016: Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Mol. Ecol.* 25(4), 929–942.

Anschriften:

- MMMag. Bettina THALINGER, PhD., Institut für Ökologie, Universität Innsbruck, Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck. E-Mail: Bettina.Thalinger@uibk.ac.at
- Urban AUFSCHNAITER, Institut für Ökologie, Universität Innsbruck, Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck. E-Mail: Urban.Aufschnaiter@student.uibk.ac.at
- Dominik KIRSCHNER, BSc., Institut für Ökologie, Universität Innsbruck, Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck. E-Mail: Dominik.Kirschner@student.uibk.ac.at
- Mag. Christian MORITZ, ARGE Limnologie GesmbH, Hunoldstr. 14, A-6020 Innsbruck. E-Mail: christian.moritz@limnologie.at
- Andreas SAPELZA, BSc., Institut für Ökologie, Universität Innsbruck, Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck. E-Mail: Andreas.Sapelza@student.uibk.ac.at
- Mag. Richard SCHWARZENBERGER, ARGE Limnologie GesmbH, Hunoldstr. 14, A-6020 Innsbruck. E-Mail: richard.schwarzenberger@limnologie.at
- Univ.-Doz. Dr. Josef WANZENBOCK, Forschungsinstitut für Limnologie der Universität Innsbruck, Mondseestraße 9, A-5310 Mondsee. E-Mail: Josef.Wanzenboeck@uibk.ac.at
- Assoz.-Prof. Dr. Michael TRAUGOTT, Institut für Ökologie, Universität Innsbruck, Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck. E-Mail: Michael.Traugott@uibk.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: 2017

Band/Volume: [154](#)

Autor(en)/Author(s): Thalinger Bettina, Aufschnaiter Urban, Kirschner Dominik, Moritz Christian, Sapelza Andreas, Schwarzenberger Richard, Wanzenböck Josef, Traugott Michael

Artikel/Article: [Molekulare Detektion aquatischer Organismen anhand von Wasserproben 209-211](#)