

## Extended Abstract

# Monitoring and DNA barcoding of dragonflies (Insecta: Odonata) in Vienna, Austria

Iris FISCHER, Marcia SITTENTHALER, Michael TRAUGOTT, Bettina THALINGER,  
Lukas ZANGL, Stephan KOBLMÜLLER, Gernot KUNZ, Andreas CHOVANEC,  
Helmut SATTMANN, Susanne RANDOLF & Elisabeth HARING

Surveys of dragonfly communities have become an important instrument for characterizing aquatic systems and assessing their ecological state (SAMWAYS 1993, BULÁNKOVÁ 1997, CHOVANEC & WARINGER 2001, OERTLI 2008, McGEOCH et al. 2011). Although dragonflies colonize a wide range of aquatic habitats, many species have specific habitat requirements concerning the morphology, hydrological dynamics and plant communities of their breeding waters and the riparian zones (CORBET 1999, SCHINDLER et al. 2003, KADOYA et al. 2004). In addition to their role as bioindicators, dragonflies are of conservation concern: 56 % of the 78 Austrian dragonfly species are classified as vulnerable, endangered or critically endangered (RAAB 2006). On a Europe-wide scale, 11 of them are listed in the Fauna-Flora-Habitat (FFH) directive by the European Union (KALKMAN et al. 2010). Hence, knowledge on distribution and abundance of these species is of relevance for both water management and conservation issues.

Molecular genetic methods have found their way into the field of biomonitoring: Environmental DNA (eDNA) for either single-species detection or for surveying whole species communities (metabarcoding) has proven to be a useful tool in biodiversity research to monitor aquatic organisms, e. g. fish and amphibians (THOMSEN et al. 2012, VALENTINI et al. 2016, DEINER et al. 2017). However, before setting up standardized protocols for the specific taxonomic group of interest, it is indispensable to evaluate the potential of such methods first (GOLDBERG et al. 2016). Moreover, the availability of extensive DNA reference databases based on correctly identified voucher specimens is crucial for the successful application of eDNA metabarcoding (TABERLET et al. 2018). In the light of this, a current study titled “Dragonflies in Vienna: DNA barcoding and survey, with focus on FFH species” includes a combination of traditional fieldwork via observation of imagines and molecular methods. The overall objective of the project is a complete dragonfly species inventory in the rural areas of Vienna with a special focus on two FFH species: *Cordulegaster heros* and *Leucorrhinia pectoralis*. Within the project, species-specific DNA barcodes are generated of collected dragonflies. Further, collecting and barcoding of dragonflies is extended to whole Austria, to setup a complete DNA reference database of Austrian dragonfly species within the Austrian Barcode of Life (ABOL) initiative. All voucher specimens are stored at the Natural History Museum Vienna. Based on this reference database, a pilot study on eDNA using filtered water samples from four running and six standing water bodies will be carried out. Both, protocols of single-species detection for rare species as well as metabarcoding approaches will be set up. The combination of traditional field surveys and DNA-based methods will allow a direct comparison between species inventories obtained by observation of imagines and detected via eDNA.

Within the first project year (2017), 47 species have been recorded in Vienna by observation so far, including both FFH species. Additionally, the first record of *Leucorrhinia albifrons*, also listed as FFH species, was obtained for Vienna (FISCHER et al. 2018). In total, 342 individuals of 51 Austrian dragonfly species have been collected during the field season in 2017 by sampling in Vienna, Styria and Burgenland. For amplifying the whole DNA barcoding region of the mitochondrial *cytochrome c oxidase subunit 1* (*COI*) gene as well as shorter sections of the gene a new set of Odonata primers has been designed. By now, 162 DNA barcodes have been generated for the Austrian dragonfly

DNA database and the subsequent pilot study on eDNA metabarcoding. The results of this study will contribute to the development and evaluation of eDNA approaches and will reveal their potential as an additional tool for monitoring aquatic macroinvertebrates in modern biodiversity research and habitat quality assessment.

**FISCHER I., SITTENTHALER M., TRAUGOTT M., THALINGER B., ZANGL L., KOBLMÜLLER S., KUNZ G., CHOVANEC A., SATTMANN H., RANDOLF S. & HARING E., 2018: Monitoring und DNA-Barcoding der Libellenfauna Wiens, Österreich (Insecta: Odonata).** Untersuchungen der Libellenfauna stellen eine essentielle Methode zur Charakterisierung und Beurteilung des ökologischen Zustandes aquatischer Systeme dar (SAMWAYS 1993, BULÁNKOVÁ 1997, CHOVANEC & WARINGER 2001, OERTLI 2008, McGEOCH et al. 2011). Libellen besiedeln ein breites Spektrum an Gewässern, und haben hohe, artspezifische Habitatansprüche betreffend Morphologie, hydrologische Dynamik sowie strukturelle Ausstattung der Gewässer und deren Uferbereiche (CORBET 1999, SCHINDLER et al. 2003, KADOYA et al. 2004). Neben ihrer Rolle als Bioindikatoren, sind sie auch naturschutzfachlich von Relevanz: 56 % der 78 in Österreich auftretenden Libellenarten sind als „gefährdet“, „stark gefährdet“ oder „vom Aussterben bedroht“ eingestuft (RAAB 2006). Elf Arten der österreichischen Libellenfauna stehen europaweit unter Schutz und sind Teil der europäischen Fauna-Flora-Habitat Richtlinie (FFH) (KALKMAN et al. 2010). Daher sind aktuelle Daten zur Verbreitungs- und Bestands situation dieser Spezies Grundvoraussetzung für Entscheidungen in Wasserwirtschaft und Naturschutz. Vor allem in aquatischen Lebensräumen haben molekulargenetische Methoden in der Biodiversitätsforschung und im Biomonitoring an Bedeutung gewonnen: via Umwelt-DNA (environmental DNA; eDNA) können sowohl einzelne Arten als auch Artgemeinschaften erfasst werden, z. B. Fische und Amphibien (THOMSEN et al. 2012, VALENTINI et al. 2016, DEINER et al. 2017). Bevor dieser Ansatz routinemäßig für eine Artengruppe angewendet werden kann, ist eine vorangehende Evaluierung unabdingbar (GOLDBERG et al. 2016). Zudem ist die Verfügbarkeit einer vollständigen DNA-Referenzdatenbank basierend auf taxonomisch korrekt bestimmten Individuen essenziell (TABERLET et al. 2018).

Vor diesem Hintergrund werden im Projekt „Die Libellenfauna Wiens: Erhebungen und Erfassung mittels DNA-Barcoding unter besonderer Berücksichtigung von FFH-Arten“ traditionelle Erhebungsmethoden mit DNA-basierten Methoden kombiniert. Ziel dieses Projektes ist die Erfassung der Libellenfauna in den ländlichen Gebieten Wiens mit Fokus auf die FFH-Arten *Cordulegaster heros* und *Leucorrhinia pectoralis*. Zudem werden artspezifische DNA-Barcodes der 62 Wiener Libellenarten generiert. Um eine vollständige DNA-Datenbank der 78 in Österreich vorkommenden Libellenarten im Rahmen der Initiative Austrian Barcode of Life (ABOL) aufzubauen, wird das Sammeln und DNA-Barcoding von Libellen auf ganz Österreich ausgedehnt. Alle gesammelten Referenztiere werden in die Sammlung des Naturhistorischen Museums Wien integriert. Darauf aufbauend wird im Rahmen des Projektes eine eDNA Pilotstudie durchgeführt. Als DNA Quelle hierfür dienen gefilterte Wasserproben von insgesamt vier Fließ- und sechs Stillgewässern. Die Methode soll sowohl für den Nachweis von Einzelarten, als auch für die Detektion von Artgemeinschaften etabliert werden. Die Kombination von traditionellen Erhebungen und molekulargenetischen Methoden erlaubt einen direkten Vergleich, zwischen den im Feld beobachteten Imagines und den via Umwelt-Barcoding nachgewiesenen Arten.

Im ersten Projektjahr (2017) konnten inklusive der beiden FFH-Arten insgesamt 47 Libellenarten in den bisher untersuchten Gebieten Wiens beobachtet werden. Darunter gelang der Erstnachweis einer weiteren FFH-Art, *Leucorrhinia albifrons*, für Wien (FISCHER et al. 2018). Insgesamt wurden im Zuge von Aufsammlungen in den Bundesländern Wien, Steiermark und Burgenland bisher 342 Individuen aus 51 Arten gesammelt. Um sowohl die komplette DNA-Barcoding-Region des mitochondrialen *Cytochrome c Oxidase Untereinheit 1*-Gens (*COI*), als auch kürzere Abschnitte dieses Gens zu amplifizieren, wurde ein Set libellenspezifischer Primer entwickelt. Mit diesen wurden bislang 162 DNA-Barcodes für die Datenbank österreichischer Libellen und die anschließende Umwelt-Barcoding-Pilotstudie generiert. Die Ergebnisse der Studie tragen somit einerseits zur Entwicklung und Evaluierung von eDNA-Ansätzen bei, andererseits zeigen sie das Potential dieser Methode für ein ergänzendes Monitoring

von Makrozoobenthos im Sinne moderner Biodiversitätsforschung und Zustandsbewertungen von Habitaten auf.

**Keywords:** dragonflies, bioindication, Austrian Barcode of Life, environmental DNA, metabarcoding.

## Acknowledgements

Das Projekt „Die Libellenfauna Wiens – Erhebungen und Erfassung mittels DNA-Barcoding unter besonderer Berücksichtigung der FFH-Arten *Cordulegaster heros* und *Leucorrhinia pectoralis*“ wird finanziert durch die Wiener Magistratsabteilung 22 (Umweltschutz) und den Europäischen Landwirtschaftsfonds für die Entwicklung des ländlichen Raumes 2014–2020.

## Literatur

- BULÁNKOVÁ E., 1997: Dragonflies (Odonata) as bioindicators of environmental quality. *Biológia (Bratislava)* 52, 177–180.
- CHOVANEC A. & WARINGER J., 2001: Ecological integrity of river-floodplain systems – assessment by dragonfly surveys (Insecta: Odonata). *Regul. Rivers: Res. Mgmt.* 17, 493–507.
- CORBET P.S., 1999: Dragonflies. Behaviour and Ecology of Odonata. Colchester, Harley Books.
- DEINER K., BIK H.M., MÄCHLER E., SEYMORE M., LACOURSIERE-ROUSSEL A., ALTERMATT F., CREER S., BISTA I., LODGE D.M., DE VERE N., PFRENDER M.E. & BERNATCHEZ L., 2017: Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities. *Mol. Ecol.* 26, 5872–5895.
- FISCHER I., SITTENTHALER M. & CHOVANEC A., 2018: Zum Vorkommen von drei Arten der Gattung *Leucorrhinia* in Wien (Österreich) mit Erstnachweis von *L. albifrons* (Odonata: Libellulidae). *Libellula* 37(1/2): 79–90.
- 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., PILLOD 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 Ecol. Evol.* 7, 1299–1307.
- KADOYA T., SUDA S. & WASHITANI I., 2004: Dragonfly species richness on man-made ponds: effects of pond size and pond age on newly established assemblages. *Ecol. Res.* 19, 461–467.
- KALKMAN V.J., BOUDOT J.P., BERNARD R., CONZE K.-J., DE KNIJF G., DYATLOVA E., FERREIRA S., JOVIĆ M., OTT J., RISERVATO E. & SAHLÉN G., 2010: European Red List of Dragonflies. IUCN Species Programme Publications Office of the European Union, Luxembourg, 1–38.
- MCGEOCH M.A., SITHOLE H., SAMWAYS M.J., SIMAIKA J.P., PRYKE J.S., PICKER M., UYS C., ARMSTRONG A.J., DIPPENAAARSCHOEMAN A.S., ENGELBRECHT I.A., BRASCHLER B. & HAMER M., 2011: Conservation and monitoring of invertebrates in terrestrial protected areas'. *Koedoe* 53(2), Art. #1000, 13 pages. doi:10.4102/koedoe.v53i2.1000.
- OERTLI B., 2008: The use of dragonflies in the assessment and monitoring of aquatic habitats. In: CÓRDOBA-AGUILAR A. (Ed.): Dragonflies and Damselflies. Model Organisms for Ecological and Evolutionary Research. New York, Oxford University Press, 79–95.
- RAAB R., 2006: Rote Liste der Libellen Österreichs. In: RAAB R., CHOVANEC A. & PENNERSTORFER J.: Libellen Österreichs. Wien, New York, Springer, 325–334.
- SCHINDLER M., FESL C. & CHOVANEC A., 2003: Dragonfly associations (Insecta: Odonata) in relation to habitat variables: a multivariate approach. *Hydrobiologia*, 497, 169–180.

- SAMWAYS M.J., 1993: Dragonflies (Odonata) in taxic overlays and biodiversity conservation. In: GASTON K.J., NEW T.R. & SAMWAYS M.J. (Eds.): Perspectives on insect conservation 111–124, Intercept, Andover.
- TABERLET P., BONIN A., ZINGER L. & COISSAC E., 2018: Environmental DNA for biodiversity research and monitoring. Oxford University Press, Oxford.
- THOMSEN P., KIELGAST J., IVERSEN L. L., WIUF C., RASMUSSEN M., GILBERT M.T., ORLANDO L. & WILLERSLEV E., 2012: Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Mol. Ecol.* 21, 2565–2573.
- VALENTINI A., TABERLET P., MIAUD C., CIVADE R., HERDER J., THOMSEN P. F., BELLEMAIN E., BESNARD A., COISSAC E., BOYER F., GABORIAUD C., JEAN P., POULET N., ROSET N., COPP G.H., GENIEZ P., PONT D., ARGILLIER C., BAUDOIN J.-M., PEROUX T., CRIVELLI A.J., OLIVIER A., ACQUEBERGE M., LE BRUN M., MOLLER P.R., WILLERSLEV E. & DEJEAN T., 2016: Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Mol. Ecol.* 25, 929–942.

**Adresses:**

Iris FISCHER, MSc, Mag. Marcia SITTENTHALER, Priv.-Doz. Dr. Elisabeth HARING, Central Research Laboratories, Natural History Museum Vienna, Burgring 7, 1010 Vienna. E-Mail: iris.fischer@nhm-wien.ac.at, marcia.sittenthaler@nhm-wien.ac.at, elisabeth.haring@nhm-wien.ac.at

Assoz.-Prof. Dr. Michael TRAUGOTT, MMMag. Bettina THALINGER, PhD, Institute of Ecology, University of Innsbruck, Technikerstraße 25, 6020 Innsbruck.  
E-Mail: michael.traugott@uibk.ac.at, bettina.thalinger@uibk.ac.at

Lukas ZANGL, MSc, Assoz.-Prof. Dr. Stephan KOBLMÜLLER, Mag. Gernot KUNZ, Institute of Biology, University of Graz, Universitätsplatz 2, 8010 Graz.  
E-Mail: lukas.zangl@uni-graz.at, stephan.koblmueler@uni-graz.at, gernot.kunz@gmail.com

Univ.-Doz. Dr. Andreas CHOVANEC, Federal Ministry of Sustainability and Tourism, Marxergasse 2, 1030 Vienna. E-Mail: andreas.chovanec@bmnt.gv.at

Dr. Helmut SATTMANN, 3rd Zoological Department, Natural History Museum Vienna, Burgring 7, 1010 Vienna. E-Mail: helmut.sattmann@nhm-wien.ac.at

Dr. Susanne RANDOLF, 2nd Zoological Department, Natural History Museum Vienna, Burgring 7, 1010 Vienna. E-Mail: susanne.randolf@nhm-wien.ac.at

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://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: 2018

Band/Volume: [155\\_2](#)

Autor(en)/Author(s): Fischer Iris, Sittenthaler Marcia, Thalinger Bettina, Traugott Michael, Zangl Lukas, Koblmüller Stephan, Kunz Gernot, Chovanec Andreas, Sattmann Helmut, Randolph Susanne, Haring Elisabeth

Artikel/Article: [Extended Abstract Monitoring and DNA barcoding of dragonflies \(Insecta: Odonata\) in Vienna, Austria 39-42](#)