

## Extended abstract

**Plant DNA barcoding within the ABOL initiative**

Harald MEIMBERG, Andreas TRIBSCH, Manuel CURTO, Karl Georg BERNHARDT, Karin TREMETSBERGER, Christian BRAEUCHLER, Tobias GRASEGGER, Anette WIMMER, David HORNER, Eva DORNSTAUER-SCHRAMMEL, Leonid RASRAN, Barbara TURNER, Nora STOECKL, Monika KRIECHBAUM, Katharina SCHWEIKL, Matthias AFFENZELLER, Christoph MAYERHOFER & Matthias KROPF

The Austrian Barcode of Life (ABOL) initiative has the goal to sequence a certain region of DNA of all species known from Austria to construct a taxonomically proved DNA reference database for species identification. Within this consortium, we participate in by investigating plant species. Originally, DNA barcoding refers to the use of defined sequences as information about species assignment of a given sample. A number of projects have been undertaken to construct regional or national DNA barcode databases and some shortcomings of the original DNA barcoding concepts are obvious. For plants, these are in particular the difficulties of the scientific community to agree with a certain barcode region, which is complicated by the higher reluctance of botanists to use degenerated primers (Li et al., 2014; Coissac et al., 2016). In addition, the original concepts are difficult to incorporate into the ongoing increase in throughput of sequencing capacities with second and third generation sequencing technologies (Shokralla et al., 2014). Thus, barcoding regions for reference databases are frequently different from regions that are used in metabarcoding applications where these technologies are used for species identification from bulk samples.

Within our approach, we develop a multilocus barcoding system that might overcome some of these constraints. The parallel use of multiple markers results in a higher amount of variation to discriminate species provides clearly defined primer binding sites for unbiased amplification and allows the use of next generation sequencing for data collection. We utilize 22 plastid markers, including 14 published primer pairs that cover insert length of up to 700 base pairs. Twelve primer pairs cover markers shorter than 600 bp that can be sequenced for both directions with the Illumina technology generating overlapping sequences for most samples. A two-step analysis linking sequence length of merged reads to marker information results in a reduction of complexity of amplicon sequence output allowing the *de novo* determination of sequences (Curto et al., 2019). To date, 2,055 plant samples were collected, which belong to about 1,700 different species. 1,042 of these have been processed so far. The application to identify plant species composition in pollen samples using the multilocus marker set was tested. We can show differences in species numbers in collected pollen between poly- and oligolectic wild bees; therefore, verifying the suitability of this method.

**MEIMBERG H., TRIBSCH A., CURTO M., BERNHARDT K.G., TREMETSBERGER K., BRAEUCHLER C., GRASEGGER T., WIMMER A., HORNER D., DORNSTAUER-SCHRAMMEL E., RASRAN L., TURNER B., STOECKL N., KRIECHBAUM M., SCHWEIKL K., AFFENZELLER M., MAYERHOFER C. & KROPF M., 2018: DNA-Barcoding bei Pflanzen im Rahmen der ABOL-Initiative.**

Die *Austrian Barcode of Life* Initiative (ABOL) hat zum Ziel, eine bestimmte Region der DNA aller aus Österreich bekannten Arten zu sequenzieren, um eine taxonomisch überprüfte DNA-Referenzdatenbank für die Identifizierung von Arten zu erstellen. Innerhalb dieses Konsortiums beteiligen wir uns an der Untersuchung von Pflanzenarten. DNA-Barcoding bezieht sich ursprünglich auf die Verwendung definierter Sequenzen der Plastiden-DNA als Information über die Artzuordnung einer gegebenen Probe. Eine Reihe von Projekten wurde zum Aufbau regionaler oder nationaler Barcode-Datenbanken durchgeführt, und einige Unzulänglichkeiten der ursprünglichen DNA-Barcode-Konzepte sind dabei erkennbar. Für Pflanzen sind dies insbesondere die Probleme der wissenschaftlichen Gemeinschaft, sich auf eine bestimmte Barcode-Re-

gion zu einigen, was durch die größere Zurückhaltung in der Botanik bei der Verwendung von degenerierten Primern noch verstärkt wird (Li et al., 2014; Coissac et al., 2016). Darüber hinaus ist es schwierig, die ursprünglichen Konzepte mit der fortlaufenden Intensivierung des Durchsatzes in Sequenzierungstechnologien der zweiten und dritten Generation zu integrieren (Shokralla et al., 2014). Barcode-Regionen unterscheiden sich daher häufig von den Regionen, die in Metabarcoding-Anwendungen verwendet werden, die auf diesen Technologien zur Artbestimmung aus Mischproben beruhen.

Im Rahmen unseres Ansatzes entwickeln wir ein Multilocus-Barcode-System, das einige dieser Einschränkungen überwinden könnte. Die parallele Verwendung mehrerer Marker erhöht die Variation, die zur Unterscheidung von Arten zur Verfügung steht, liefert klar definierte Primer-Bindungsstellen für eine gleichmäßige Amplifikation und ermöglicht die Verwendung der Next-Generation-Sequenzierung zur Datenerfassung. Wir verwenden 22 Marker der Plastiden-DNA, darunter 14 veröffentlichte Primerpaare, die eine Insertlänge von bis zu 700 Basenpaaren abdecken. Zwölf Primerpaare amplifizieren Marker von unter 590 bp, die für beide Richtungen sequenziert werden können und die Illumina-Technologie überlappende Sequenzen für die meisten Proben erzeugt. Eine zweistufige Analyse, bei der die Sequenzlänge mit Markierungsinformationen verknüpft wird, führt zu einer Verringerung der Komplexität der Ergebnisse der Amplicon-Sequenzen, was die *de novo* Bestimmung von Sequenzen ermöglicht (Curto et al., 2019). Bis jetzt wurden 2.055 Pflanzenproben gesammelt, die ungefähr 1.700 verschiedenen Arten angehören. Von diesen wurden 1.042 bearbeitet. Die Anwendung zur Identifizierung der Zusammensetzung von Pflanzenarten in Pollenproben mit dem Multilocus-Markerset wurde getestet. Wir können Unterschiede in der Artenzahl in gesammeltem Pollen zwischen poly- und oligolektischen Wildbienen zeigen, was die Eignung dieser Methode unterstreicht.

**Keywords:** multilocus DNA barcoding, plants, pollen

## Literature

- COISSAC E., HOLLINGSWORTH P.M., LAVERGNE S. & TABERLET P., 2016: From barcodes to genomes: extending the concept of DNA barcoding. *Molecular Ecology* 25, 1423–1428.
- CURTO M., WINTER S., SEITER A., SCHMID L., SCHEICHER K., BARTHEL L.M.F., PLASS J. & MEIMBERG H., 2019: Application of a SSR-GBS marker system on investigation of European Hedgehog species and their hybrid zone dynamics. *Ecology and Evolution* 9, 2814–2832.
- LI X., YANG Y., HENRY R.J., ROSSETTO M., WANG Y. & CHEN S., 2015: Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biological Reviews* 90, 157–166.
- SHOKRALLA S., GIBSON J.F., NIKBAKHHT H., JANZEN D.H., HALLWACHS W. & HAJIBABAEI M., 2014: Next-generation DNA barcoding: using next-generation sequencing to enhance and accelerate DNA barcode capture from single specimens. *Molecular Ecology Resources* 14, 892–901.

### Addresses:

Univ.-Prof. Dr. Dipl.-Biol. Harald MEIMBERG, Dr. Manuel CURTO, MSc David HORNER, DI Eva DORNSTAUDER-SCHRAMMEL, Ao. Prof. Dr. DI Monika KRIECHBAUM, PD Dr. Dipl.-Biol. Matthias KROPF, Institut für Integrative Naturschutzforschung, Universität für Bodenkultur Wien (Boku), Gregor-Mendel-Str. 33, A-1180 Wien.

E-Mail: meimberg@boku.ac.at; manuel.curto@boku.ac.at; david.horner@boku.ac.at; eva.dornstauder@boku.ac.at; monika.kriechbaum@boku.ac.at; matthias.kropf@boku.ac.at

Dr. Christian BRÄUCHLER, Naturhistorisches Museum Wien (W), Abteilung Botanik, Burgring 7, A-1010 Wien. E-Mail: Christian.Braeuchler@nhm-wien.ac.at

Univ.-Prof. Dr. Dipl.-Geogr. Karl GEORG BERNHARDT, PD Dr. Mag. Karin TREMETSBERGER, Dr. Dipl.-Biol. Leonid RASRAN, Mag. Barbara TURNER Ph.D., DI Nora STOECKL, Institut für Botanik, Universität für Bodenkultur Wien (Boku), Gregor-Mendel-Str. 33, A-1180 Wien.

E-Mail: karl-georg.bernhardt@boku.ac.at; karin.tremetsberger@boku.ac.at;  
leonid.rasran@boku.ac.at; barbara.turner@boku.ac.at; nora.stoeckl@boku.ac.at

PD Dr. Andreas TRIBSCH, Dr. Mag. Matthias AFFENZELLER, Tobias GRASEGGER BSc., Anette WIMMER BSc, Katharina SCHWEIKL BSc, Christoph MAYERHOFER BSc, Fachbereich für Biowissenschaften & Herbarium SZU, Paris Lodron Universität Salzburg, Hellbrunnerstrasse 34, A-5020 Salzburg. E-Mail: andreas.tribsch@sbg.ac.at; matthias.affenzeller@sbg.ac.at; tobias.grasegger@stud.sbg.ac.at; anette.wimmer@stud.sbg.ac.at, katharina.schweikl@stud.sbg.ac.at, christoph.mayerhofer@stud.sbg.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: 2019

Band/Volume: [156](#)

Autor(en)/Author(s): Diverse Autoren

Artikel/Article: [Extended abstract. Plant DNA barcoding within the ABOL initiative 250-252](#)