

Abstract

Diversity and novel species of fungal postharvest pathogens of apple in South Tyrol (Northern Italy)

Sanja BARIC & Greice AMARAL CARNEIRO

Apple (*Malus x domestica* Borkh.), the most important agricultural product of South Tyrol, can be stored over prolonged periods of time. However, the quantity and quality of the harvest can be considerably diminished by postharvest diseases, which are mainly caused by plant pathogenic fungi. In order to contain the damages or to implement effective plant protection strategies, the disease-causing pathogens need to be identified. This can be done by the observation of macroscopic symptoms, by the use of microscopic and microbiological approaches, and by the application of molecular genetic methods. Indeed, DNA barcoding has become an important diagnostic tool for identification of fungal species that cannot be easily distinguished by other means. The application of DNA barcoding in a recent research project has led to the identification of a much higher taxonomic diversity and the discovery of postharvest pathogen species of apple, so far unknown to occur in South Tyrol.

BARIC S. & AMARAL CARNEIRO G., 2020: Die Vielfalt und das Auftreten neuer Arten pilzlicher Nacherntepathogene des Apfels in Südtirol (Norditalien).

Der Apfel (*Malus x domestica* Borkh.) ist das wichtigste landwirtschaftliche Produkt Südtirols. Die geernteten Früchte können über längere Zeiträume gelagert werden, wobei Nacherntekrankheiten auftreten können. Diese werden in der Regel durch pflanzenpathogene Pilze verursacht, die sowohl die Erntemenge als auch die Fruchtqualität erheblich beeinträchtigen können. Eine effiziente Kontrolle dieser Krankheitserreger und die Umsetzung wirksamer Pflanzenschutzstrategien beruht auf der zuverlässigen Identifizierung der Krankheitserreger. Dafür kommen unterschiedliche Verfahren zum Einsatz, wie die Beobachtung makroskopischer Symptome, die Anwendung mikroskopischer und mikrobiologischer Arbeitsverfahren sowie der Einsatz molekulargenetischer Methoden. Inzwischen hat sich das DNA-Barcoding zu einem wichtigen diagnostischen Instrument zur Identifizierung von Pilzarten entwickelt, insbesondere, wenn diese mit anderen Verfahren nicht oder schwer zu unterscheiden sind. Die Anwendung des DNA-Barcodings im Rahmen eines Forschungsprojekts an der Freien Universität Bozen hat zur Identifizierung einer höheren taxonomischen Vielfalt und zum Nachweis neuer Arten von Nacherntepathogenen des Apfels beigetragen, deren Vorkommen in Südtirol bisher unbekannt war.

Keywords: postharvest diseases of apple, plant pathogenic fungi, DNA barcoding, diagnostic tools.

Addresses:

Prof. Sanja BARIC, E-Mail: Sanja.Baric@unibz.it

dott. Greice AMARAL CARNEIRO, E-Mail: Greice.AmaralCarneiro@natec.unibz.it

Free University of Bozen-Bolzano, Faculty of Science and Technology, Universitätsplatz 5, 39100 Bozen-Bolzano (BZ), Italy.

Abstract

Parasites and Vectors – DNA barcoding of parasitic helminths and dipterans in Austria

Hans-Peter FUEHRER & Carina ZITTRA

According to the WHO (World Health Organization), more than 17 % of all infectious diseases are caused by vector-borne pathogens, with more than 700,000 fatal cases annually.

Mosquitoes and other dipterans are of high importance as vectors for various disease-causing agents (e.g. human malaria parasites, various filarioid helminths) mainly in (sub-)tropical areas. However, in recent years dipteran-borne diseases of medical and/or veterinary relevance have also (re-)emerged in Europe, including Austria (e.g. West-Nile virus transmitted by *Culex* mosquitoes and blue tongue virus by *Culicoides* biting midges). Therefore, proper information on the species inventory of these vectors is urgently needed. Additionally, there is also a lack of DNA barcodes of parasitic helminths itself – especially of those which are mainly parasites in wildlife. The ABOL project “DNA barcoding of dipteran vectors and helminth parasites” is currently performed at the Institute of Parasitology, University of Veterinary Medicine Vienna. In cooperation with the NHM Vienna and other partners, the focus during the initial phase of the project was mainly set on Nematoda, Cestoda, Trematoda and Acanthocephala parasitizing freshwater fish and terrestrial vertebrates. In the second stage dipteran insects with the focus on vectors of vector-borne pathogens were investigated (e.g. mosquitoes, biting midges). Therefore, Standard Operating Procedures for DNA barcoding were elaborated (incl. specific primers for helminths and dipteran vectors).

An overview of the most relevant results will be given – including mosquitoes (e.g. ZITTRA et al. 2017, 2019), bot flies of red deer (LEITNER et al. 2016), an alien *Clogmia* species, but also helminth parasites like *Eucoleus boehmi* of foxes (HODŽIĆ et al. 2017) and *Onchocerca jakutensis* in red deer (FUEHRER et al. 2015).

FUEHRER H.P. & ZITTRA C., 2020: Parasiten und Vektoren – DNA-Barcoding von parasitischen Helminthen und Dipteren aus Österreich.

Nach Angaben der Weltgesundheitsorganisation (WHO) werden über 17 % aller Infektionskrankheiten von durch Vektoren übertragene Krankheitserreger verursacht. Davon enden jährlich über 700.000 Fälle tödlich. Stechmücken und andere zu den Dipteren zählenden Vektoren sind als Überträger diverser Krankheitserreger (z. B. Erreger der humanen Malaria) vor allem in den (Sub-)Tropen von Bedeutung. Allerdings gab es in den letzten Jahren vermehrt Fälle von durch Dipteren übertragene Erreger in Europa und auch Österreich (z. B. West-Nil Virus welches durch *Culex*-Stechmücken übertragen wird oder das Blue Tongue Virus das von *Culicoides*-Gnitenzen übertragen wird). Deswegen ist es außerordentlich wichtig, einen Überblick über das Arteninventar von Vektoren aufzubauen. Zusätzlich ist die Anzahl bekannter DNA-Barcodes parasitischer Helminthen limitiert – besonders bei jenen, die vorwiegend in Wildtieren parasitieren. Das ABOL-Projekt „DNA-Barcoding von Dipteren und parasitischen Helminthen“ wird am Institut für Parasitologie an der Veterinärmedizinischen Universität Wien in Zusammenarbeit mit diversen Partnern (z. B. dem Naturhistorischen Museum Wien) durchgeführt. Während das Hauptaugenmerk im initialen Projekt auf Nematoden, Bandwürmern, Trematoden und Kratzern von Süßwasserfischen und Landwirbeltieren gesetzt wurde, beschäftigt sich der zweite Teil mit Dipteren. Hier liegt der Fokus auf jenen, die als Vektoren von Krankheitserregern fungieren (z. B. Stechmücken und Gnitenzen). Hierfür wurden standardisierte Protokolle (SOPs) für das Barcoding etabliert (u. a. mit spezifischen Primern für Helminthen und Dipteren).

Es wird ein Überblick über die wichtigsten und spannendsten Ergebnisse dieses Teilprojekts von ABOL gegeben – wie Stechmücken (z. B. ZITTRA et al. 2017, 2019), Ra-

chenbremsen beim Rotwild (LEITNER et al. 2016), einer neobiotischen *Clogmia*-Art, aber auch von parasitischen Würmern wie *Eucoleus boehmi* bei Rotfüchsen (HODŽIĆ et al. 2017) oder *Onchocerca jakutensis* beim Rotwild (FUEHRER et al. 2015).

Keywords: Helminth parasites, vectors, DNA barcoding.

Literature

- FUEHRER H.P., SILBERMAYR K., GLAWISCHNIG W. & JOACHIM A., 2015: Barcoding parasitischer Würmer – eine Sammlung ungeliebter Tiere? Das Fallbeispiel *Onchocerca jakutensis*. *Acta ZooBot Austria* 152, 159–164.
- HODŽIĆ A., BRUCKSCHWAIGER P., DUSCHER G.G., GLAWISCHNIG W. & FUEHRER H.P., 2016: High prevalence of *Eucoleus boehmi* (syn. *Capillaria boehmi*) in foxes from western Austria. *Parasitology Research* 115(8), 3275–3278. DOI: 10.1007/s00436-016-5145-8.
- LEITNER N., SCHWARZMANN L., ZITTRA C., PALMIERI N., EIGNER B., OTRANTO D., GLAWISCHNIG W. & FUEHRER H.P., 2016: Morphological and molecular identification of nasopharyngeal bot fly larvae infesting red deer (*Cervus elaphus*) in Austria. *Parasitology Research* 115(11), 4417–4422. DOI: 10.1007/s00436-016-5206-z.
- ZITTRA C., OBWALLER A.G., WIMMER V., BERER D., EIGNER B. & FUEHRER H.P., 2017: First record of *Orthopodomyia pulcripalpis* (Rondani, 1872) (Diptera: Culicidae) in Austria. *Parasitology Research* 116(6), 1781–1783. DOI: 10.1007/s00436-017-5460-8.
- ZITTRA C., MOOG O., CHRISTIAN E. & FUEHRER H.P., 2019: DNA-aided identification of *Culex* mosquitoes (Diptera: Culicidae) reveals unexpected diversity in underground cavities in Austria. *Parasitology Research* 118(5), 1385–1391. DOI: 10.1007/s00436-019-06277-y.

Addresses:

Dr. Hans-Peter FUEHRER, Institut für Parasitologie, Department für Pathobiologie, Veterinärmedizinische Universität Wien, Veterinärplatz 1, A-1210 Wien.

E-Mail: hans-peter.fuehrer@vetmeduni.ac.at

Carina ZITTRA, PhD, Department für Limnologie und Bio-Ozeanografie, Althanstraße 14, Universität Wien, A- 1090 Wien. E-Mail: carina.zittra@univie.ac.at

Abstract

DNA barcoding of digenean trematodes and their intermediate hosts in Upper Austria

Susanne REIER, Florian BILLINGER, Hubert BLATTERER, Michael DUDA, Christopher GOROFKY, Hans-Peter GRASSER, Elisabeth HARING, Christoph HÖRWEIG, Luise KRUCKENHAUSER, Helmut SATTMANN, Nikolaus SZUCSICH & Wolfgang HEINISCH

Digenean trematodes comprise numerous species of medical and veterinary importance. They have complicated life cycles with molluscs serving as obligate first intermediate hosts, which they inhabit as sporocysts, rediae and cercariae. The aim of this study was to determine the trematode burden in freshwater snails collected in Upper Austria. Emphasis was given on bird schistosomes, which are of medical interest as they lead to annually recurring outbreaks of cercarial dermatitis (swimmer's itch) in summer. Furthermore, we wanted to establish a DNA barcode reference database of digenean trematodes for further applications, e.g. environmental DNA (eDNA) analysis. Overall, around 600 snails were collected of which 121 released cercariae. Thereof, 141 cercariae were further analyzed morphologically and genetically and among these cercariae we detected 15 trematode species of six families. Two species of *Trichobilharzia*, the causative agent of cercarial dermatitis, were detected: *T. szidati* parasitizing in *Lymnaea stagnalis* and *T. franki* from *Radix auricularia*. It was the first record of *T. franki* for Austria. Additionally, first attempts to establish an eDNA approach were implemented. Our study depicted the difficulties in the taxonomic assignment of digenean trematodes as they show a low interspecific anatomical variability. This issue highlights the importance of profound DNA barcode databases of parasitic organisms to allow for reliable epidemiological analyses, proper ecological evaluations, enhanced biodiversity data and significant medical risk assessments.

REIER S., BILLINGER F., BLATTERER H., DUDA M., GOROFKY C., GRASSER H.-P., HARING E., HÖRWEIG C., KRUCKENHAUSER L., SATTMANN H., SZUCSICH N.U. & HEINISCH W., 2020: DNA-Barcoding von Trematoden und deren Zwischenwirten in Oberösterreich.

Die Digenea, eine Unterklasse der Trematoda (Saugwürmer) umfassen zahlreiche Arten von (veterinär)medizinischer Bedeutung. Sie haben einen komplexen Lebenszyklus, mit Mollusken als ersten Zwischenwirt, in welchem sie als Sporozysten, Redien und Zerkarien auftreten. Das Ziel dieser Studie war es, die Trematodenbelastung von Süßwasserschnecken in Oberösterreich zu erfassen. Hierbei wurde das Hauptaugenmerk auf in Vögeln parasitierenden Schistosomen gelegt, welche die jährlichen Ausbrüche von Zerkariendermatitis im Sommer auslösen. Ein weiteres Hauptaugenmerk war die Etablierung einer DNA-Barcoding-Datenbank von Digenea für weiterführende Anwendungen, z. B. Umwelt-DNA Analysen (eDNA). Insgesamt wurden über 600 Schnecken gesammelt, von denen 121 Zerkarien entließen. Unter den 141 Zerkarien, die weiter morphologisch und genetisch untersucht wurden, wurden 15 Trematoden-Arten aus sechs Familien identifiziert. Zwei Zerkariendermatitis-auslösende *Trichobilharzia*-Arten wurden gefunden: *T. szidati*, welche in *Lymnaea stagnalis* parasitiert sowie *T. franki* aus *Radix auricularia*. Dies war der erste Fund von *T. franki* in Österreich. Ebenfalls wurden erste Versuche, eine e-DNA-Methodik zu etablieren, durchgeführt. Diese Studie zeigte die Schwierigkeiten in der taxonomischen Identifizierung von Digenea auf, da diese eine sehr geringe interspezifische, anatomische Variabilität aufweisen. Dieser Aspekt zeigt, wie wichtig eine vertrauenswürdige DNA-Barcoding Datenbank parasitischer Organismen ist, um glaubwürdige epidemiologische Analysen, angemessene ökologische Evaluierungen und medizinische Risikobeurteilungen zu ermöglichen.

Keywords: *Trichobilharzia*, Digenea, schistosomes, intermediate hosts, diversity, swimmer's itch.

Addresses:

Susanne REIER, MSc, E-Mail: susanne.reier@nhm-wien.ac.at
Dr. Elisabeth HARING, E-Mail: elisabeth.haring@nhm-wien.ac.at
Dr. Luise KRUCKENHAUSER, E-Mail: luise.kruckenhauser@nhm-wien.ac.at
Dr. Nikolaus SZUCSICH, E-Mail: nikolaus.szucsich@nhm-wien.ac.at
Central Research Laboratories, Museum of Natural History Vienna, Burgring 7, A-1010 Vienna.

Florian BILLINGER, E-Mail: f.billinger@gmx.at
Dr. Hubert BLATTERER, E-Mail: Hubert.Blatterer@ooe.gv.at
Christopher GOROFKY, E-Mail: musti171717@gmail.com
Mag. Hans-Peter GRASSER, E-Mail: Hans-Peter.Grasser@ooe.gv.at
Mag. Wolfgang HEINISCH, E-Mail: Wolfgang.Heinisch@ooe.gv.at
Amt der oberösterreichischen Landesregierung, Abteilung Oberflächengewässermanagement, Kärntnerstraße 10-12, A-4021 Linz.

Dr. Michael DUDA, E-Mail: michael.duda@nhm-wien.ac.at
Mag. Christoph HÖRWEIG, E-Mail: Christoph.hoerweg@nhm-wien.ac.at
Dr. Helmut SATTMANN, E-Mail: helmut.sattmann@nhm-wien.ac.at
3. Zoological Department, Museum of Natural History Vienna, Burgring 7, A-1010 Vienna.

Abstract Lightning talk

First record of the hedgehog slug *Arion intermedius* Normand, 1852 (Eupulmonata: Arionidae) in Austria

Michael DUDA, Julia SCHINDELAR & Luise KRUCKENHAUSER

The hedgehog slug *Arion intermedius* was recorded for the first time in Austria in the course of the project "ABOL Mollusca". The native distribution range of this slug covers large parts of south-western Europe. Later on it was introduced to many parts of the world, including North America, South America, North and South Africa, Australia, New Zealand, and in the Pacific Islands. Two specimens were found 2018 and 2019 in the "Lainzer Tiergarten", a game park in the west of Vienna. Outer morphology and DNA barcodes (a DNA sequence of a fragment of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 gene) matched perfectly with published data on this species. 21 of the 23 sequences available in BOLD were identical with our sequences, the two remaining had more than 99% similarity. *A. intermedius* is known to be quickly dispersing species that became invasive in many countries during the last decades. Therefore, and because of the fact, that nearest records in Czech Republic are also of non-native origin, it should be rather suggested as non-native species in Austria.

DUDA M., SCHINDELAR J. & KRUCKENHAUSER L. 2020: Erstnachweis der Igel-Wegschnecke *Arion intermedius* Normand, 1852 (Eupulmonata: Arionidae) in Österreich.

Die Igel-Wegschnecke *Arion intermedius* wurde das erste Mal in Österreich nachgewiesen. Diese Nacktschnecke stammt ursprünglich aus dem Südwesten Europas, Von dort wurde sie in über weite Teile der Welt verschleppt, zum Beispiel nach Nord- und Südamerika, Neuseeland, Afrika, Australien und die Pazifischen Inseln. Zwei Exemplare wurden 2018 und 2019 im Lainzer Tiergarten, einem Wildpark im Westen Wiens, gefunden. Die äußere Morphologie sowie ihr DNA-Barcode (die DNA-Sequenz eines Fragments des mitochondrialen Cytochrom-C Oxidase Untereinheit 1-Gens) stimmten mit bereits publizierten Daten überein. Von den 23 in BOLD publizierten Sequenzen waren 21 identisch mit unseren, die anderen beiden wiesen mehr als 99% Ähnlichkeit auf. Bei *A. intermedius* handelt es sich um eine invasive Art, welche sich in vielen Ländern in den letzten Jahrzehnten ausgebreitet hat. Deshalb, und aufgrund der Tatsache, dass die nächstgelegenen Vorkommen in Tschechien ebenfalls eingeschleppt sind, ist es wahrscheinlich, dass die Art in Österreich nicht natürlich vorkommt.

Keywords: Gastropoda, *Arion intermedius*, first record, Austria, ABOL Mollusca.

Addresses:

Dr. Michael DUDA, E-Mail: michael.duda@nhm-wien.ac.at

Julia SCHINDELAR, E-Mail: julia.schindelar@nhm-wien.ac.at

Dr. Luise KRUCKENHAUSER, E-Mail: luise.kruckenhauser@nhm-wien.ac.at

Central research Laboratories, Natural History Museum Vienna, Burgring 7, A-1010 Vienna.

Abstract Lightning talk

First results of DNA barcoding of Plecoptera (Insecta) and Pseudoscorpiones (Arachnida) in Croatia

Dora HLEBEC, Martina PODNAR, Ignac SIVEC, Branko JALŽIĆ & Mladen KUČINIĆ

Croatia is a biodiversity hotspot because of different habitats, climatic and hydrological features and geological history. The project CroBarFauna (*DNA barcoding of biodiversity of Croatian fauna*, funded by Croatian Science Foundation, IP-06-2016-988) focuses on detection and identification of animal species, especially endemic, cryptic or undescribed ones. This will help improve our understanding of biogeography and provide a base of knowledge for taxonomy, phylogenetics and phylogeography. DNA barcoding of Plecoptera and Pseudoscorpiones from 400 different localities is part of the PhD thesis of the first author.

Plecoptera are the most endangered species in Croatia due to human activity (POPIJAČ & SIVEC 2011) with 80 species recorded so far. 200 samples of Plecoptera DNA bar-coded so far revealed several deeply divergent genetic lineages that may represent new species. In subfamilies Isoperlinae and Taeniopteryginae for example, two such candidates have been found for the genera *Isoperla* and *Taeniopteryx*. The former of those probably represents an endemic restricted to the small spring of the stream in Lika. Also, a few species which have already been DNA barcoded are going to be entered into the BOLD database for the first time.

99 species of Pseudoscorpiones have been recorded in Croatia so far and most of them are endemic (OZIMEC 2004). In last 15 years, 29 new species for science have been discovered in Croatia so it is expected that the number of newly discovered species will further increase by application of DNA barcoding.

HLEBEC D., PODNAR M., SIVEC I., JALŽIĆ B. & KUČINIĆ M., 2020: Erste Ergebnisse zum DNA-Barcoding von Plecoptera (Insecta) und Pseudoscorpiones (Arachnida) in Kroatien.

Das Gebiet von Kroatien ist aufgrund unterschiedlicher Lebensräume, klimatischer und hydrologischer Merkmale sowie der geologischen Geschichte ein Hotspot biologischer Vielfalt. Das Projekt CroBarFauna umfasst die Identifizierung von Arten und die Entdeckung neuer Arten (insbesondere endemischer, kryptischer und gefährdeter Arten). Dieses Projekt wird zum Verständnis der geografischen Verteilung der Fauna beitragen und auch eine wichtige Datenquelle für Taxonomie, Phylogenetik und Phylogeographie darstellen. Das Projekt *DNA barcoding of biodiversity of Croatian fauna* (IP-06-2016-988) wird von der Croatian Science Foundation finanziert.

DNA-Barcoding von Plecoptera und Pseudoscorpiones mit 3 Proben pro Art aus 200 verschiedenen Orten ist Teil der Doktorarbeit der Erstautorin.

In Kroatien wurden 80 Arten von Plecoptera nachgewiesen. Plecoptera sind aufgrund menschlicher Aktivitäten die am stärksten gefährdeten Arten in Kroatien (POPIJAČ & SIVEC 2011). 200 Proben von Plecoptera, die bisher analysiert wurden, zeigten mehrere stark divergierende genetische Linien, die möglicherweise neue Arten darstellen. In den Unterfamilien Isoperlinae und Taeniopteryginae wurden zwei potenziell neue Arten für die Wissenschaft (*Isoperla* sp. und *Taeniopteryx* sp.) gefunden, von denen *Isoperla* sp. wahrscheinlich eine endemische Art darstellt, mit Bezug zur kleinen Quelle des Baches in Lika. Außerdem werden für mehrere Arten alle relevanten Metadaten generiert und zum ersten Mal in die BOLD-Datenbank hochgeladen.

Bisher wurden in Kroatien 99 Arten von Pseudoscorpiones nachgewiesen, von denen die meisten endemisch sind. In den letzten 15 Jahren wurden in Kroatien 29 neue Arten für die Wissenschaft entdeckt, sodass man erwarten kann, dass die Anzahl der neu entdeckten Arten durch die Anwendung von DNA-Barcoding weiter zunimmt (OZIMEC 2004).

Keywords: DNA barcoding, CroBarFauna, Plecoptera, Pseudoscorpiones.

Literature

- POPIJAČ A. & SIVEC I., 2011: Stonefly (Plecoptera) fauna in the lower reach of the Una river in Croatia. *Entomologia Croatica* 15 (1–4), 131–143.
- OZIMEC R., 2004: List of Croatian pseudoscorpion fauna (Arachnida, Pseudoscorpiones). *Natura Croatica* 13 (4), 381–394.

Addresses:

Dora HLEBEC MSc, E-Mail: dora.hlebec@biol.pmf.hr

Univ.-Prof. Dr. Mladen KUČINIĆ, E-Mail: kucinic@biol.pmf.hr

Laboratory of Entomology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia.

Dr. Martina PODNAR, Croatian Natural History Museum, Demetrova 1, 10000 Zagreb, Croatia. E-Mail: mpodnar@hpm.hr

Dr. Ignac SIVEC, Department of Invertebrates, Slovenian Museum of Natural History, Prešernova cesta 20, 1000 Ljubljana, Slovenija. E-Mail: isivec@pms-lj.si

Branko JALŽIĆ, Croatian Biospeleological Society, Demetrova 1, 10000 Zagreb, Croatia. E-Mail: branko.jalzac@hpm.hr

Abstract Lightning talk

ABOL BioBlitz 2019 – a community-based initiative, making biodiversity expertise available to society

Sabine SCHODER, Oliver MACEK, Michaela SONNLEITNER & Nikolaus SZUCSICH

Days of Biodiversity (Tage der Artenvielfalt) in Austria are among the most important events to demonstrate a considerable variety of species and their importance to an interested general public. 2019, the organizers of these events supported the involvement of the initiative Austrian Barcode of Life (ABOL). ABOL thus was able to carry out its own small project during the Biodiversity Days, the ABOL BioBlitz, aiming to generate DNA barcodes from organisms collected by participating (private) experts. Altogether, about 2,000 tissue samples from six different events throughout Austria were sent to the Canadian Centre for DNA Barcoding (CCDB), with a main focus on various insect groups like Coleoptera, Hymenoptera, Diptera, Hemiptera, and Lepidoptera. The DNA barcodes gained are entered in a reference data base, which finally will allow for determining all species of animals, plants and fungi occurring in Austria. The ABOL BioBlitz thus again points at the invaluable importance of species knowledge held by private experts. The currently ongoing biodiversity loss implies an increasing importance of biodiversity expertise. Open access data on biodiversity thus becomes an utterly important societal goal. The public outreach achieved through the ABOL BioBlitz will help to increase the awareness of biodiversity research and environmental protection in the society.

SCHODER S., MACEK O., SONNLEITNER M. & SZUCSICH N., 2020: ABOL-BioBlitz 2019 – eine Initiative zur Bereitstellung von Biodiversitätsexpertise für die Gesellschaft.

Die Tage der Artenvielfalt (TdA) gehören zu den wichtigsten Veranstaltungen in Österreich, bei denen die Artenvielfalt und ihre Bedeutung interessierten Personen vermittelt werden. In diesem Jahr unterstützten die OrganisatorInnen dieser Events die Beteiligung der Initiative Austrian Barcode of Life (ABOL), sodass ABOL ein eigenes kleines Projekt im Rahmen der TdAs durchführen konnte: den ABOL-BioBlitz. In diesem Projekt bot ABOL an, DNA-Barcodes von Organismen zu generieren, die von den TeilnehmerInnen an den TdAs gesammelt wurden. Insgesamt wurden rund 2000 Gewebeprobe von sechs TdAs in ganz Österreich an das Canadian Center for DNA Barcoding (CCDB) geschickt, wobei der Schwerpunkt auf verschiedenen Insektengruppen wie Coleoptera, Hymenoptera, Diptera, Hemiptera und Lepidoptera lag. Die gewonnen DNA-Barcodes tragen zum Aufbau einer Referenzdatenbank bei, mit der schließlich alle darin gespeicherten österreichischen Tier-, Pflanzen- und Pilzarten bestimmt werden können. Somit unterstreicht der ABOL-BioBlitz die unschätzbare Wichtigkeit der Artenkenntnis von Privatpersonen. Dieses Wissen gewinnt angesichts des voranschreitenden Biodiversitätsverlusts mehr und mehr an Bedeutung. Öffentlich zugängliche Daten zur biologischen Vielfalt stellen daher ein äußerst wichtiges gesellschaftliches Ziel dar. Öffentlichkeitswirksame Aktionen wie der ABOL-BioBlitz tragen dazu bei, das Bewusstsein für Biodiversitätsforschung und Naturschutz in der Gesellschaft zu stärken.

Keywords: Days of Biodiversity, ABOL BioBlitz, private experts, biodiversity, DNA barcoding.

Addresses:

Sabine SCHODER MSc, E-Mail: sabine.schoder@nhm-wien.ac.at

Oliver MACEK BSc, E-Mail: oliver.macek@nhm-wien.ac.at

Dr. Michaela SONNLEITNER, E-Mail: michaela.sonnleitner@nhm-wien.ac.at

Dr. Nikolaus SZUCSICH, E-Mail: nikolaus.szucsich@nhm-wien.ac.at

ABOL Austrian Barcode of Life, Natural History Museum Vienna, Burgring 7, A-1010 Vienna, Austria.

Abstract Lightning talk

DNA barcoding of the spring snails (Hydrobiidae) from the Kalkalpen National Park

Hannah SCHUBERT, Michael DUDA, Anita ESCHNER,
Erich WEIGAND & Luise KRUCKENHAUSER

The Kalkalpen National Park, situated in Upper Austria and comprising about 209 km², contains more than 800 springs (STADLER 2017). The international importance of this park is, from the perspective of nature conservation directives, highly significant (European nature reserve Natura 2000, recognized wetland of the Ramsar convention). For the protection of the local endemics, the national park bears absolute responsibility. So far, two endemic spring snails (Hydrobiidae), which were described based on morphological and anatomical examination, are found in the Kalkalpen National Park and its close surroundings: *Belgrandiella aulaei* and *Bythiospeum nocki* (HAASE et al. 2000). Apart from that, the knowledge of the Hydrobiidae in the national park is incomplete. In the current study, the spring snails of the Kalkalpen National Park will be investigated in more detail. Snails have been collected from more than 50 springs and are examined by morphological determination, photographic documentation and genetic analysis by DNA barcoding. The data will be compared with hydrobiid sequences from the ABOL Mollusca project.

Until now, more than 60 individuals of the genus *Bythinella* (Moquin-Tandon, 1856), from 19 different springs were thoroughly investigated. The results suggest the occurrence of a single species: *Bythinella conica*. The investigation of Hydrobiids is especially desirable, as several species are threatened (for example by construction works for drinking water production or by grazing) and as they are important for water quality assessment. Species identification by DNA barcoding will help to generate a better knowledge of the species distribution, and hence provides the basis to protect unique species of Hydrobiidae from extinction.

SCHUBERT H., DUDA M., ESCHNER A., WEIGAND E. & KRUCKENHAUSER L., 2020: DNA-Barcoding der Quellschnecken (Hydrobiidae) des Nationalparks Kalkalpen.

Der in Oberösterreich gelegene Nationalpark Kalkalpen umfasst 209 km² und schließt über 800 Quellen mit ein (STADLER 2017). Der Nationalpark ist aus Sicht des Naturschutzes von hoher internationaler Bedeutung (Europaschutzgebiet nach Natura 2000, anerkanntes Feuchtgebiet der Ramsar Konvention) und trägt die Verantwortung für den Schutz der lokalen Endemiten.

Bisher sind zwei endemische Quellschnecken (Hydrobiidae) des Nationalparks Kalkalpen und seiner Umgebung bekannt: *Belgrandiella aulaei* und *Bythiospeum nocki* (HAASE et al. 2000). Diese wurden bis dato ausschließlich morphologisch und anatomisch beschrieben. Abgesehen davon ist das Wissen über die Hydrobiiden des Nationalparks noch lückenhaft.

In der laufenden Studie sollen die Quellschnecken des Nationalparks Kalkalpen genauer untersucht werden. Es wurden bereits Schnecken aus mehr als 50 Quellen gesammelt. Diese werden morphologisch bestimmt, fotografisch dokumentiert und mithilfe von DNA-Barcodes genetisch analysiert. Die Daten werden mit Hydrobiiden-Sequenzen des ABOL Mollusken Projektes verglichen.

Bis jetzt wurden mehr als 60 Individuen der Gattung *Bythinella* (Moquin-Tandon, 1856), aus 19 verschiedenen Quellen vollständig untersucht. Die Ergebnisse zeigen das Vorkommen einer einzigen Art: *Bythinella conica*.

Eine Untersuchung von Hydrobiiden ist, aufgrund der Gefährdung einiger Arten (z. B. durch Bauarbeiten an den Quellen zur Trinkwassergewinnung oder durch Beweidung)

und ihrer Bedeutung für die Beurteilung der Wasserqualität, sehr erstrebenswert. Die Artbestimmung mittels DNA-Barcoding erleichtert die Beurteilung der Verbreitung der Arten und schafft damit die Grundlage lokale Quellschneckenarten vor dem Aussterben zu schützen.

Keywords: DNA barcoding, spring snails, Kalkalpen National Park.

Literature

HAASE M., WEIGAND E. & HASEKE H., 2000: Two new species of the family Hydrobiidae (Mollusca: Caenogastropoda) from Austria. *The Veliger* 43(2), 179-189.

STADLER P., 2017: Karstquellen im Nationalpark Kalkalpen. Schriftenreihe Nationalpark Kalkalpen 17.

Addresses:

Hannah SCHUBERT, BSc, E-Mail: hannah.schubert@nhm-wien.ac.at

Dr. Michael DUDA, E-Mail: michael.duda@nhm-wien.ac.at

Dr. Luise KRUCKENHAUSER, E-Mail: luise.kruckenhauser@nhm-wien.ac.at

Central Research Laboratories, Museum of Natural History Vienna, Burgring 7, A-1010 Wien, Austria.

Mag. Anita ESCHNER, 3rd Zoological Department, Museum of Natural History Vienna, Burgring 7, A-1010 Wien, Austria. E-Mail: anita.eschner@nhm-wien.ac.at

Dr. Erich WEIGAND, Nationalpark Oö Kalkalpen Ges.m.b.H., Nationalpark Allee 1, A-4591 Molln, Austria. E-Mail: erich.weigand@kalkalpen.at

Abstract Lightning talk

Scrutinizing the reliability of standard methods in soil molecular microbial ecology: spotlight on DNA extraction and the assessment of microbial activity

Sophia F.A. STROBL, Judith ASCHER-JENULL, Magdalena NAGLER,
Heribert INSAM & Sabine M. PODMIRSEG

The soil microbial metagenome is defined as the totality of the microbial genomes, or as the entire genetic material recovered from soil samples. The total soil DNA pool (totDNA) is composed of its intracellular fraction (iDNA) – originating from intact cells – and its extracellular fraction (exDNA) – actively or passively released into the environment. exDNA can be further divided into free DNA (fDNA) and DNA that is weakly (wbDNA) or tightly (tbDNA) bound onto organic or mineral soil particles. Routinely, the soil microbiota is assessed by downstream analysis of directly extracted total DNA. However, these approaches based on totDNA, by definition environmental DNA (eDNA), are potentially biased by a masking of iDNA by exDNA. This might affect the gathered information on the current microbiome composition. Additionally, the recently established fine-tuning DNA approach (i.e., the sequential and comparative extraction and analysis of exDNA and iDNA) – in comparison to the directly extracted totDNA – revealed the recovered amount of exDNA and exDNA:iDNA ratio as powerful proxies for microbial activity (NAGLER et al. 2018).

Therefore, in order to i) test the accuracy of exDNA and exDNA:iDNA ratio as relative estimators of microbial activity in the complex ecosystem soil and ii) to confirm the masking effect of exDNA and thus, the iDNA as reliable target for soil microbial community studies, we sequentially extracted all aforementioned DNA fractions (differently strong bound exDNA vs. iDNA) from three soil types with different physico-chemical characteristics and performed a comparative analysis with the directly extracted totDNA. We performed high throughput NGS with all DNA types (exDNA vs. iDNA vs. totDNA) and correlated the respective results with RNA-cDNA-based and dehydrogenase-based microbial activity proxies.

Our results showed that the DNA types vary in their quantity and molecular weight, with totDNA and iDNA posing the highest yields, and the exDNA fractions the lowest. Nonetheless, exDNA makes up a quantitatively and qualitatively important part of the soil totDNA. The NGS results will be screened for a shared core microbiome of all DNA fractions and types, as well as unique specific information contained in each DNA fraction.

To the best of our knowledge, this is the first in-depth analysis and comparison of the different DNA types in various soils. As a result, our findings will contribute to the correct interpretation and understanding of results from previous and future NGS studies.

STROBL S.F.A., ASCHER-JENULL J., NAGLER M., INSAM H. & PODMIRSEG S.M., 2020: Kritische Betrachtung der Standard-Methoden in molekularer, mikrobieller Bodenökologie: Fokus auf DNA Extraktion und mikrobielle Aktivität.

Das mikrobielle Metagenom in Böden ist definiert als die Gesamtheit der mikrobiellen Genome, oder als das gesamte genetische Material, welches aus Bodenproben gewonnen wird. Der gesamte DNA-Pool (totDNA) besteht aus seiner intrazellulären Fraktion (iDNA) – welche ihren Ursprung in intakten Zellen hat – und seiner extrazellulären Fraktion (exDNA) – welche aktiv oder passiv in die Umgebung abgegeben wird. exDNA kann weiters aufgrund der Stärke der Haftung an organische oder mineralische Bodenpartikel in freie DNA (fDNA), schwach (weakly bound, wbDNA) oder stark (tightly bound, tbDNA) gebundene DNA klassifiziert werden. Routine Downstream-

Analysen des Bodenmikrobioms werden mit der direkt extrahierten, gesamten DNA (totDNA), definiert auch als Umwelt-DNA (environmental DNA, eDNA), durchgeführt. Allerdings sind derartige Versuchsansätze möglicherweise aufgrund maskierender Effekte der iDNA durch die exDNA verzerrt, mit Auswirkung auf die Information über die Zusammensetzung des Mikrobioms. Der kürzlich entwickelte „fine-tuning“-DNA-Ansatz (d. h. die sequentielle Extraktion und Analyse von exDNA und iDNA) – im Vergleich zur direkt extrahierten totDNA – hat die exDNA und das Verhältnis von exDNA:iDNA als potente Indikatoren für die mikrobielle Aktivität aufgezeigt (NAGLER et al. 2018).

Ziel dieser Studie war es i) die Aussagekraft dieser relativen Indikatoren (exDNA und exDNA:iDNA Verhältnis) der mikrobiellen Aktivität im komplexen Ökosystem Boden zu testen und ii) den Maskierungseffekt der exDNA und folglich die iDNA als verlässliche „targets“ für Bodenmikrobiom-Studien zu bestätigen. Dafür wurden die verschiedenen DNA Fraktionen – exDNA (wb; tb) vs. iDNA – aus drei Boden-Typen mit unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften sequentiell extrahiert und analysiert und mit der direkt extrahierten totDNA verglichen. Hochdurchsatz-NGS wurde für alle DNA-Typen (exDNA vs. iDNA vs. totDNA) angewandt und die Ergebnisse mit mikrobiellen Aktivitätsparametern basierend auf RNA-cDNA und Dehydrogenase korreliert.

Unsere Ergebnisse zeigten deutliche qualitative (Molekulargewicht) und quantitative Unterschiede der DNA Typen, in der Größenordnung: totDNA ~ iDNA > exDNA. Ungeachtet dessen macht die exDNA jedoch einen quantitativ und qualitativ wichtigen Teil der gesamten Boden-DNA aus. Die NGS-Ergebnisse der verschiedenen DNA-Fraktionen werden sowohl auf ein gemeinsames Core-Mikrobiom, sowie auf Fraktions-spezifische Informationen untersucht.

Die Erkenntnisse aus dieser detaillierten und vergleichenden Studie der unterschiedlichen Boden-DNA-Typen werden einen wichtigen Beitrag zur korrekten Interpretation von NGS-Mikrobiom-Studien leisten.

Keywords: extracellular DNA; intracellular DNA; sequential extraction; microbial activity; environmental DNA.

Literature

NAGLER M., PODMIRSEG S.M., GRIFFITH G.W., INSAM H., ASCHER-JENULL J., 2018: The use of extracellular DNA as a proxy for specific microbial activity. *Applied Microbiology and Biotechnology* 102(6), 2885–2898.

Addresses:

Sophia F.A. STROBL Bsc, Mag. E-Mail: Sophia.Strobl@student.uibk.ac.at

Dr. Judith ASCHER-JENULL, E-Mail: Judith.Ascher@uibk.ac.at

Magdalena NAGLER PhD, E-Mail: Magdalena.Nagler@uibk.ac.at

Univ.-Prof. Dr. Heribert INSAM, E-Mail: Heribert.Insam@uibk.ac.at

Mag. Dr. Sabine M. PODMIRSEG, E-Mail: Sabine.Podmirseg@uibk.ac.at

Institut für Mikrobiologie, Universität Innsbruck, Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck.

Abstract Lightning talk

DNA barcoding proves the presence of an alien Asian weatherfish (*Misgurnus*) species in Austria

Lukas ZANGL, Michael JUNG, Wolfgang GESSL,
Stephan KOBLMÜLLER & Clemens RATSCHAN

Loaches and weatherfishes of the genus *Misgurnus* are natively distributed across large parts of Eurasia. In the recent past, though, some species have been, facilitated by the aquarium trade, introduced in many countries, posing a potential threat to often already endangered native *Misgurnus* species that might be outcompeted by the alien invaders. Previously, the oriental weatherfish, *Misgurnus anguillicaudatus*, and the large-scaled loach, *Paramisgurnus dabryanus*, two species frequently imported as ornamental pond fishes, have been reported from several European countries, including Germany. Here, we provide a first record of alien *Misgurnus* in Austria from the river Inn. Based on DNA barcoding of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I gene (COI) in combination with sequencing of the nuclear RAG1 gene we found that the alien Austrian weatherfish specimens are neither *M. anguillicaudatus* nor *P. dabryanus*, but most likely *M. bipartitus*, a species native to China. As fish from further upstream of the Inn in Germany, previously identified as *M. anguillicaudatus*, share their COI haplotype with the Austrian samples and *M. bipartitus*, this suggests a previous misidentification of the German fish but also raises the alarm that alien *Misgurnus* might already be present in suitable habitats across large parts of the middle and lower Inn (ZANGL et al. 2020).

ZANGL L., JUNG M., GESSL W., KOBLMÜLLER S. & RATSCHAN C., 2020: Nachweis einer asiatischen, nicht-heimischen Schlammpeitzgerart (Gattung *Misgurnus*) in Österreich mittels DNA-Barcoding.

Schlammpeitzger (Gattung *Misgurnus*) sind über weite Teile Europas, Asiens und Nordafrikas verbreitet. In der jüngsten Vergangenheit wurden sie jedoch, angetrieben durch den Aquarienhandel und der Nahrungsmittelindustrie, in viele Länder importiert und stellen möglicherweise eine Gefahr für heimische *Misgurnus*-Arten dar. Diese Studie liefert den ersten Nachweis einer nicht-heimischen *Misgurnus*-Art aus dem Inn und somit für Österreich. Zuvor wurden bereits der ostasiatische Schlammpeitzger *Misgurnus anguillicaudatus* und der chinesische Schlammpeitzger *Paramisgurnus dabryanus*, zwei Arten, die regelmäßig als Zierfische importiert werden, in mehreren europäischen Ländern, darunter auch Deutschland nachgewiesen. Mittels DNA-Barcoding in Kombination mit Daten des nukleären RAG1-Gens wurde nachgewiesen, dass es sich bei den unbekannten österreichischen Schlammpeitzgern weder um *M. anguillicaudatus*, noch um *P. dabryanus* handelt, sondern sehr wahrscheinlich um *M. bipartitus*. Nachdem Exemplare, die weiter flussaufwärts im Inn in Deutschland gefangen und als *M. anguillicaudatus* bestimmt wurden, den gleichen COI-Haplotypen wie die österreichischen Tiere sowie Proben von *M. bipartitus* aufwiesen, liegt die Vermutung nahe, dass es sich bei diesen Fischen um eine Fehlbestimmung handelt. Zudem kann angenommen werden, dass allochthone *Misgurnus*-Arten bereits in passenden Habitaten entlang des mittleren und unteren Inns vorkommen (ZANGL et al. 2020).

Keywords: DNA barcoding, invasive species, COI, RAG1, *Misgurnus anguillicaudatus*, *Misgurnus bipartitus*.

Literature

ZANGL L., JUNG M., GESSL W., KOBLMÜLLER S. & RATSCHAN C., 2020: Oriental or not: First record of an alien weatherfish (*Misgurnus*) species in Austria verified by molecular data. *BioInvasions Records* 9(2): 375–383.

Addresses:

Lukas ZANGL Msc, E-Mail: lukas.zangl@uni-graz.at

Mag. Wolfgang GESSL, E-Mail: wolfgang.gessl@uni-graz.at

Dr. Stephan KOBLMÜLLER, E-Mail: stephan.koblmueeller@uni-graz.at

University of Graz, Institute of Biology, Universitätsplatz 2, A-8010 Graz, Austria.

Mag. Michael JUNG, E-Mail: jung@ezb-fluss.at

Mag. Clemens RATSCHAN, E-Mail: ratschan@ezb-fluss.at

ezb-TB Zauner GmbH, Marktstraße 35, A-4090 Engelhartzell, Austria.

Abstract Lightning talk

German Barcode of Life 2 (GBOL2) – building a diatom DNA barcoding reference library for eDNA metabarcoding for water quality assessments in the context of the EU Water Framework Directive

Jonas ZIMMERMANN, Nélida ABARCA, Jana BANSEMER, Juliane BETTIG, Gabriele DRÖGE, Wolf-Henning KUSBER, Katja LUTHER, Demetrio MORA, Sebastian PROFT, Oliver SKIBBE, Anh Tu VAN, Petra WERNER & Regine JAHN

The GBOL2-Project, funded by the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF) was the second project-phase of GBOL running from 2016-2019. It focused on the extension of DNA barcode reference libraries to integrate the genetic diversity of animals, fungi, algae and plants in Germany. GBOL is a national network of various natural history museums and other biodiversity research institutions. Within the framework of the GBOL2 diatom project at the Botanic Garden and Botanical Museum Berlin (BGBM) a reference library for diatom DNA barcodes (18SV4, *rbcl*) was established, which significantly expanded the range of features that can be used for species identification. The taxonomic validation of the barcodes was achieved by light microscopy (LM) and scanning electron microscopy (SEM) documentation and identification of the clonal cultures, which were specifically isolated from water body sites of different trophic and morphometry. This is of high relevance for the EU Water Framework Directive (EU WFD), since diatoms are one of the most important indicator groups for ecological assessment. Traditionally, mainly features visible under the light microscope were used for identification.

The GBOL2 diatom project at the BGBM aimed to obtain DNA barcodes for the 400 most important indicator species of the ca. 1900 diatom species in German freshwaters. To create a sustainable research infrastructure all DNA barcodes, vouchers and correlated information are being made publicly available via e.g. INSDC, GGBN, Alga-Terra and the connected DNA/eDNA stocks are stored in the BGBM DNA Bank at the Herbarium Berolinense (B). 1300 clonal strains have been established so far, belonging to 77 genera and >400 species. All strains have been documented via LM/SEM images and DNA-barcoded (18SV4, *rbcl*). Additionally, a fully automated, modular platform for eDNA metabarcoding data evaluation (<https://github.com/sproft/MetBaN>) has been developed. The project provides a best practice use case for documenting and displaying barcode reference libraries, environmental and eDNA data. This approach will enable diatom community composition analyses of environmental water samples via eDNA metabarcoding for ecological/water quality assessment.

It is equally suitable for biodiversity assessment, answering taxonomic questions and finding diatom species in environmental samples. Comparative analyses according to eDNA-metabarcoding and PHYLIP according to the EU WFD have been subsequently conducted.

ZIMMERMANN J., ABARCA N., BANSEMER J., BETTIG J., DRÖGE G., KUSBER W.-H., LUTHER K., MORA D., PROFT S., SKIBBE O., VAN A.T., WERNER P. & JAHN R., 2020: German Barcode of Life 2 (GBOL2) — Kieselalgen DNA-Barcoding und eDNA Metabarcoding im Kontext von Biodiversitätsforschung, Taxonomie und EU Wasserrahmenrichtlinie (2000/60/EC).

Das vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderte GBOL2-Projekt war die zweite Projektphase von GBOL mit einer Laufzeit von 2016–2019. Der Fokus lag auf der Erweiterung von DNA-Barcode-Referenzbibliotheken zur Integration der genetischen Vielfalt von Tieren, Pilzen, Algen und Pflanzen in Deutschland. GBOL

ist ein nationales Netzwerk verschiedener Naturkundemuseen und anderer Einrichtungen zur Erforschung der biologischen Vielfalt. Im Rahmen des GBOL2-Diatomeen-Projektes am Botanischen Garten und Botanischen Museum Berlin (BGBM) wurde eine Referenzbibliothek für Diatomeen-DNA-Barcodes (18SV4, *rbcl*) aufgebaut, die das Spektrum der Merkmale, die zur Artenbestimmung genutzt werden können, deutlich erweitert. Die taxonomische Validierung der DNA-Barcodes erfolgte durch lichtmikroskopische (LM) und rasterelektronenmikroskopische (REM) Dokumentation und Identifizierung der Klonkulturen, die spezifisch aus Gewässerstandorten unterschiedlicher Trophie und Morphometrie isoliert wurden. Dies ist von hoher Relevanz für die EU-Wasserrahmenrichtlinie (EU-WRRL), da Kieselalgen eine der wichtigsten Indikatorgruppen für die ökologische Bewertung sind. Traditionell wurden zur Identifizierung hauptsächlich unter dem Lichtmikroskop sichtbare Merkmale verwendet. Das GBOL2-Diatomeen-Projekt am BGBM hatte zum Ziel, DNA-Barcodes für die 400 wichtigsten Indikatorarten der ca. 1900 limnischen Diatomeenarten in deutschen Gewässern zu erhalten. Um eine nachhaltige Forschungsinfrastruktur zu schaffen, werden alle DNA-Barcodes, Belege und korrelierte Informationen öffentlich zugänglich gemacht, z. B. über INSDC, GGBN, AlgaTerra, und die damit verbundenen DNA/eDNA-Bestände werden in der DNA-Bank des BGBM am Herbarium Berlinense (B) vorgehalten. Bislang wurden 1300 klonale Stämme etabliert, die zu 77 Gattungen und >400 Arten gehören. Für alle Stämme wurden mit LM/SEM-Bildern dokumentiert und DNA-Barcodes (18SV4, *rbcl*) generiert. Zusätzlich wurde eine vollautomatisierte, modulare Plattform für die Auswertung von eDNA-Metabarcodingdaten (<https://github.com/sproft/MetBaN>) entwickelt. Das Projekt liefert ein Best-Practice-Anwendungsbeispiel für die Dokumentation und Anzeige von Barcode-Referenzbibliotheken, Umwelt- und eDNA-Daten. Dieser Ansatz ermöglicht die Analyse der Zusammensetzung der Diatomeengemeinschaft in Gewässermischproben mittels eDNA-Metabarcoding zur Bewertung der Ökologie/Wasserqualität. Er eignet sich gleichermaßen für die Bewertung der Biodiversität, die Beantwortung taxonomischer Fragen und das Auffinden von Kieselalgenarten in Umweltproben. Außerdem wurden vergleichende Analysen nach eDNA-Metabarcoding und PHYLIP gemäß der EU-WRRL durchgeführt.

Keywords: diatoms, reference library, DNA barcoding, metabarcoding, monitoring, EU WFD.

Addresses:

Dr. Jonas ZIMMERMANN, E-Mail: j.zimmermann@bgbm.org

Dr. Nélida ABARCA, E-Mail: n.abarca@bgbm.org

Jana BANSEMER, E-Mail: j.bansemer@bgbm.org

Juliane BETTIG, E-Mail: j.bettig@bgbm.org

Gabriele DRÖGE, E-Mail: g.droege@bgbm.org

Wolf-Henning KUSBER, E-Mail: w.h.kusber@bgbm.org

Katja LUTHER, E-Mail: k.luther@bgbm.org

Dr. Demetrio MORA, E-Mail: d.mora@bgbm.org

Sebastian PROFT, E-Mail: s.proft@bgbm.org

Dr. Oliver SKIBBE, E-Mail: o.skibbe@bgbm.org

Dr. Regine JAHN, E-Mail: r.jahn@bgbm.org

Research Group Diatoms, Botanic Garden and Botanical Museum Berlin, Freie Universität Berlin, Königin-Luise-Str. 6-8, 14195 Berlin, Germany.

Anh Tu VAN, M.Sc., Department of Applied Ecology & Phycology group, University of Rostock, Albert-Einstein-Str. 3, 18059 Rostock, Germany.

E-Mail: anh.van@uni-rostock.de

Dr. Petra WERNER, Diatoms as Bioindicators, Grainauer Str. 8, 10777 Berlin, Germany.

E-Mail: werner@bio-translations.de

Extended abstract

eDNA fish community monitoring in Czech reservoirs

Petr BLABOLIL, Lynsey HARPER, Štěpánka ŘÍČANOVÁ, Graham SELLERS,
Cristina DI MURI, Tomáš JÚZA, Mojmír VAŠEK, Zuzana SAJDLOVÁ,
Pavel RYCHTECKÝ, Petr ZNACHOR, Josef HEJZLAR, Rômulo DOS SANTOS,
Jiří PETERKA & Bernd HÄNFLING

Fish community monitoring in deep heterogeneous reservoirs is highly challenging and, therefore, a combination of different sampling methods has traditionally been used. However, traditional methods are usually relatively laborious, expensive, sometimes destructive, and taxonomically biased (KUBEČKA et al. 2009). Recently, environmental DNA metabarcoding has come to the fore as an innovative fully non-invasive method for aquatic biodiversity biomonitoring (RUPPERT et al. 2019).

In this study the three canyon-shaped reservoirs Klíčava, Římov and Žlutice in the Czech Republic were selected. A spatially distributed sampling design was developed for each reservoir to cover all major habitats, i.e. littoral, surface and deep open water and inflows on a longitudinal profile from tributary to dam (five to eight localities). In summer and autumn 2018, two litres of water were taken in each locality and pre-filtered to avoid large seston amounts. In the laboratory, one litre of each sample was filtered through open filters of 0.45 µm porosity. For each sampling campaign, two field and filtration blanks were used and processed together with field samples. DNA was extracted following the Mu-DNA water protocol with minor modifications (SELLERS et al. 2018). The sequencing library was generated from uniquely indexed PCR amplicons. Primer pair designed by RIAZ et al. (2011) to amplify a fragment of the mitochondrial 12S ribosomal RNA gene was used. Negative and positive PCR controls were included to detect possible PCR contamination and inhibition within each sub-library. Libraries sequencing was performed on an Illumina MiSeq using 2 × 300 bp V3 chemistry. Altogether 30 fish and one lamprey species were detected. More taxa were detected in the main inflow compared to side tributaries and samples in the main reservoir body. The number of detected taxa was different between reservoirs (number of taxa increased with reservoir area), localities (number of taxa increased in the direction from dam towards tributary) and habitats (more taxa in littoral and surface water compared to deep water), but not between seasons. The site occupancy was significantly correlated with the species score derived from gillnet sampling. In the list of non-target vertebrate taxa, three species were identified as false positive (species native in America and East Asia due to possible incorrect assignment), of which two bird species and six mammal species were categorised as domestic and four amphibian, nine bird and 21 mammal species as wild taxa.

This study provides further evidence that eDNA metabarcoding is suitable for ecological studies in heterogeneous environments and may complement current surveys by traditional methods, but more methodological improvements require further investigation before routine implementation.

The research was supported by the projects QK1920011 "Methodology of predatory fish quantification in drinking-water reservoirs to optimize the management of aquatic ecosystems" and MSM200961901 "The true picture of eDNA".

BLABOLIL P., HARPER L., ŘÍČANOVÁ Š., SELLERS G., DI MURI C., JÚZA T., VAŠEK M., SAJDLOVÁ Z., RYCHTECKÝ P., ZNACHOR P., HEJZLAR J., DOS SANTOS R., PETERKA J. & HÄNFLING B., 2020: eDNA-basiertes Fischgemeinschafts-Monitoring in tschechischen Talsperren.

Biomonitoring von Fisch-Gemeinschaften in tiefen heterogenen Talsperren stellt eine große Herausforderung dar und daher wurde bisher eine Kombination verschiedener

Beprobungs-Methoden eingesetzt. Allerdings sind herkömmliche Methoden üblicherweise recht arbeits- und kostenintensiv, erfordern manchmal, dass große Individuenzahlen getötet werden müssen, und hängen von der jeweiligen Art-Zusammensetzung ab (KUBEČKA et al. 2009). In letzter Zeit wurde Metabarcoding von Umwelt-DNA als innovative, nicht-invasive Methode für Biomonitoring von Gewässer-Biodiversität vorangetrieben (RUPPERT et al. 2019).

Für diese Studie wurden die drei tief eingeschnittenen Talsperren Klíčava, Římov und Žlutice in der Tschechischen Republik ausgewählt. Die räumliche Verteilung der Beprobungsstellen wurde so gewählt, dass in jeder Talsperre alle Haupthabitate erfasst wurden, d. h. Zufluss, oberflächlicher und tiefer offener Wasserkörper, sowie Litoral, entlang der Längsachse vom Einzugsgebiet zur Staumauer hin (fünf bis acht Probestellen). Im Sommer und Herbst 2018 wurden an jeder Stelle zwei Liter Wasser entnommen und noch im Gelände vorfiltriert, um Schwebstoffe zu entfernen. Im Labor wurde ein Liter jeder Probe durch offene Filter mit 0.45 µm Maschenweite filtriert. Bei jeder Beprobung wurden zwei Feld- und zwei Filtrationskontrollen einbezogen, die genauso behandelt wurden, wie die eigentlichen Proben. Die DNA wurde gemäß des (leicht abgeänderten) Mu-DNA-Wasser-Protokolls extrahiert (SELLERS et al. 2018). Die Sequenz-Library wurde mit probenspezifischen Amplikon-Indices erstellt. Um ein Fragment des mitochondrialen 12S ribosomalen RNA-Gens zu amplifizieren, wurden Primer-Paare gemäß RIAZ et al. (2011) eingesetzt. Um mögliche PCR-Kontaminationen und Inhibition innerhalb jeder Unter-Bibliothek auszuschließen, wurden negative und positive PCR-Kontrollen einbezogen. Die Bibliotheken wurden auf einer Illumina MiSeq Plattform mit 2 × 300 bp sequenziert.

Insgesamt wurden 30 Fischarten und eine Neunaugen-Art gefunden. Im Haupt-Zufluss wurden mehr Arten entdeckt, als in den seitlichen Zuflüssen, oder in der Talsperre selbst. Die Zahl der identifizierten Arten variierte zwischen den Talsperren (Talsperrengröße zunehmende Taxonzahl), zwischen Probestellen (von der Staumauer zu den Zuflüssen hin zunehmende Taxonzahl) und zwischen Habitaten (mehr Arten im Litoral und im oberflächlichen Wasser als in der Tiefe), aber nicht zwischen Beprobungszeiten. Die so gefundenen Artenzahlen waren signifikant mit der jeweiligen aus Kiemennetzfängen erhaltenen Artenzahl korreliert. Unter den non-target Wirbeltierarten hatten sich drei als falsch-positiv herausgestellt. Davon wurden zwei Vogel- und sechs Säugetiere als Haustiere kategorisiert, und vier Amphibienarten, neun Vogelarten, und 21 Säugetierarten als Wildtierarten eingeordnet.

Diese Untersuchung liefert weitere Hinweise darauf, dass eDNA-Metabarcoding für ökologische Studien in heterogenen Ökosystemen geeignet ist, und herkömmliche Methoden gut ergänzt. Bevor ein Routine-Protokoll erstellt werden kann, müssen jedoch noch weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um die Methodik zu verbessern. Diese Untersuchungen wurden gefördert durch QK1920011 „Methodik einer Quantifizierung von Raubfischen in Trinkwassertalsperren, um das Management der aquatischen Ökosysteme zu verbessern“ and MSM200961901 „Das wahre Bild der eDNA“.

Keywords: community ecology; environmental DNA; metabarcoding; reservoir; species detection

Literature

- KUBEČKA J., HOHAUSOVÁ E., MATĚNA J., PETERKA J., AMARASINGHE U.S., BONAR S.A., HATELEY J., HICKLEY P., SUONEN, P., TERESCHENKO V., WELCOMME R. & WINFIELD I.J., 2009: The true picture of a lake or reservoir fish stock: A review of needs and progress. *Fisheries Research*, 96, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2008.09.021>
- SELLERS G.S., DI MURI C., GÓMEZ A. & HÄNFLING B., 2018: Mu-DNA: a modular universal DNA extraction method adaptable for a wide range of sample types. *Metabarcoding and Metagenomics*, 2, e24556. <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/VRB4A>
- RIAZ T., SHEHZAD W., VIARI A., POMPANON F., TABERLET P. & COISSAC P., 2011: ecoPrimers: inference of new DNA barcode markers from whole genome sequence analysis. *Nucleic Acids Research* 39, e145. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr732>

RUPPERT, K.M., KLINE R.J. & RAHMAN M.S., 2019: Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding: A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA. *Global Ecology and Conservation*, 17, e00547. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00547>

Addresses:

Dr. Petr BLABOLIL, E-Mail: petr.blabolil@hbu.cas.cz

Dr. Štěpánka ŘÍČANOVÁ, E-Mail: stepankaricanova@seznam.cz

Dr. Tomáš JŮZA, E-Mail: tomas.juza@hbu.cas.cz,

Dr. Mojmír VAŠEK, E-Mail: mojmir.vasek@hbu.cas.cz

Dr. Zuzana SAJDLOVÁ, E-Mail: zuzana.sajdlova@hbu.cas.cz

Dr. Pavel RYCHTECKÝ, E-Mail: pavel.rychtecky@hbu.cas.cz

Ass.-Prof. Petr ZNACHOR, E-Mail: petr.znachor@hbu.cas.cz

Ass.-Prof. Josef HEJZLAR, E-Mail: hejzlar@hbu.cas.cz

Rômulo DOS SANTOS, E-Mail: romulo.ufsc@gmail.com

Dr. Jiří PETERKA, E-Mail: jiri.peterka@hbu.cas.cz

Biology Centre CAS, Institute of Hydrobiology, Na Sádkách 702/7, 370 05 České Budějovice, Czech Republic.

Dr. Lynsey HARPER, E-Mail: lynsey.harper2@gmail.com

Dr. Graham SELLERS, E-Mail: graham.s.sellers@gmail.com

Dr. Cristina DI MURI, E-Mail: C.Di-Muri@2016.hull.ac.uk

Dr. Bernd HÄNFLING, E-Mail: b.haenfling@hull.ac.uk

University of Hull, School of Biological, Biomedical and Environmental Sciences, EVO Hull, Hull HU6 7RX, UK.

Extended Abstract

DNA barcoding of Austrian dragonflies (Insecta: Odonata) – from the setup of a reference database to its application in identification of exuviae and eDNA analysis

Iris FISCHER, Marcia SITTENTHALER, Michael TRAUGOTT, Daniela SINT, Lukas ZANGL, Stephan KOBLMÜLLER, Andreas CHOVANEC & Elisabeth HARING

Dragonflies have proved to be important bioindicators for assessing the ecological state of aquatic systems (SAMWAYS 1993, CHOVANEC & WÄRINGER 2001, OERTLI 2008). Besides traditional monitoring methods, molecular genetic methods, like environmental DNA barcoding (eDNA barcoding) are considered as a useful tool for assessing biodiversity and monitoring aquatic systems (THOMSEN et al. 2012, VALENTINI et al. 2016, DEINER et al. 2017). Also, non-invasive DNA sampling methods, like collecting exuviae, have gained importance especially in conservation genetic studies. For a successful application of these molecular approaches, an extensive DNA reference database, based on correctly identified voucher specimens, is crucial (TABERLET et al. 2018). For Austrian dragonfly species, a DNA reference database has been established between 2017 and 2019. This reference data is an important contribution to the Austrian Barcode of Life (ABOL) initiative (HARING et al. 2015) and forms the basis of the study "Dragonflies in Vienna". The aims of this study are: (1) to establish a molecular-genetic identification system of exuviae and (2) to develop primers for the detection of dragonfly species via eDNA barcoding.

For identifying exuviae, protocols and primers covering all nine middle European dragonfly families were developed and a total of 85 exuviae were extracted non-destructively. PCR amplification was successful for all of them, while DNA sequencing and species identification was possible for 82 exuviae.

Within the eDNA pilot study we set up protocols of single-species detection for a set of two FFH-species (*Cordulegaster heros*, *Leucorrhinia pectoralis*) and three abundant species (*Calopteryx virgo*, *Sympetrum sanguineum*, *Erythromma viridulum*). To test the applicability of the developed systems, water samples of four running and six standing water bodies were selected, which were in parallel surveyed with traditional field methods. Environmental DNA barcoding provided evidence for various dragonfly species in running, as well as standing water bodies. All five species could be detected via eDNA in the course of this screening.

FISCHER I., SITTENTHALER M., TRAUGOTT M., SINT D., ZANGL L., KOBLMÜLLER S., CHOVANEC A. & HARING E., 2020: DNA-Barcoding der österreichischen Libellenarten (Insecta: Odonata) – vom Aufbau einer Referenzdatenbank bis zu deren Anwendung für die Bestimmung von Exuvien und eDNA-Analysen.

Libellen sind wichtige Bioindikatoren für die Bewertung von ökologischen Zuständen aquatischer Lebensräume (SAMWAYS 1993, CHOVANEC & WÄRINGER 2001, OERTLI 2008). Neben traditionellen Erhebungsmethoden haben sich ebenfalls molekulargenetische Ansätze, wie z. B. Umwelt-DNA Barcoding (eDNA barcoding), als nützliches Instrument zur Bewertung von Biodiversität und dem Monitoring aquatischer Systeme erwiesen (THOMSEN et al. 2012, VALENTINI et al. 2016, DEINER et al. 2017). Auch nicht-invasive Probenahmeverfahren zur Gewinnung von DNA, wie beispielsweise aus Exuvien, haben insbesondere in genetischen Untersuchungen zum Artenschutz an Bedeutung gewonnen. Für eine erfolgreiche Anwendung dieser Ansätze ist eine umfassende DNA-Referenzdatenbank, basierend auf korrekt identifiziertem Belegmaterial, von entscheidender Bedeutung (TABERLET et al. 2018). Für die in Österreich vorkommenden Libellenarten wurde in den Jahren 2017 bis 2019 eine DNA-Referenzdatenbank

aufgebaut. Diese Referenzdaten bilden einen wichtigen Beitrag für die österreichische Austrian Barcode of Life (ABOL) Initiative (HARING et al. 2015) sowie die Grundlage für die Studie „Libellen in Wien“. In dieser wurden (1) Ansätze zur molekulargenetischen Bestimmung von Exuvien etabliert und (2) Primer für das eDNA-Barcoding von Libellen entwickelt.

Für die molekulargenetische Bestimmung von Exuvien wurden Protokolle und Primer für alle neun mitteleuropäischen Libellenfamilien etabliert und insgesamt 85 Exuvien bearbeitet. Die DNA-Extraktion und PCR-Amplifikation waren bei allen Exuvien erfolgreich, die DNA-Sequenzierung und Bestimmung bei 82 Exuvien.

Im Rahmen der eDNA-Pilotstudie wurden Protokolle für den artspezifischen Nachweis von zwei FFH-Arten (*Cordulegaster heros*, *Leucorrhinia pectoralis*) und drei häufig auftretenden Arten (*Calopteryx virgo*, *Sympetrum sanguineum*, *Erythromma viridulum*) entwickelt. In einem ersten Versuch zur praktischen Anwendung wurden Wasserproben von vier fließenden und sechs stehenden Gewässern genommen, deren Libellenfauna ebenfalls mit traditionellen Erhebungsmethoden untersucht wurde. Alle fünf Arten konnten im Rahmen dieses Screenings mittels eDNA-Barcoding nachgewiesen werden.

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

Literature

- CHOVANEC A. & WÄRINGER J., 2001: Ecological integrity of river-floodplain systems –assessment by dragonfly surveys (Insecta: Odonata). *Regulated Rivers Research & Management* 17, 493–507.
- DEINER K., BIK H.M., MÄCHLER E., SEYMOR M., LACOURSIÈRE-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. *Molecular Ecology* 26, 5872–5895.
- HARING E., SATTMANN H. & SZUCSICH N.U., 2015: ABOL als Biodiversitätsnetzwerk – Struktur und Ziele taxonspezifischer Cluster. *Acta ZooBot Austria* 152, 149–156.
- 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.
- 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*. Intercept, Andover, 111–124.
- 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. *Molecular Ecology* 21, 2565–2573.
- VALENTINI A., TABERLET P., MIAUD C., CIVADE R., HERDER J., THOMSEN P.F., BELLEMAIN E., BERNARD 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: Nextgeneration monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology* 25, 929–942.

Addresses:

Iris FISCHER MSc, E-Mail: iris.fischer@nhm-wien.ac.at

Marica SITTENTHALER PhD, E-Mail: marcia.sittenthaler@nhm-wien.ac.at

Dr. Elisabeth HARING, E-Mail: elisabeth.haring@nhm-wien.ac.at

Central Research Laboratories, Museum of Natural History Vienna, Burgring 7, A-1010 Vienna.

Dr. Andreas CHOVANEC, Federal Ministry of Agriculture, Regions and Tourism, Marxergasse 2, 1030 Vienna. E-Mail: andreas.chovanec@bmlrt.gv.at

Ass.-Prof. Dr. Michael TRAUGOTT, E-Mail: michael.traugott@uibk.ac.at

Dr. Daniela SINT, E-Mail: danieala.sint@uibk.ac.at

Department of Zoology, University of Innsbruck, Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck.

Lukas ZANGL MSc, E-Mail: lukas.zangl@uni-graz.at

Dr. Stephan KOBLMÜLLER, E-Mail: stephan.koblmueeller@uni-graz.at

Institute of Biology, University of Graz, Universitätsplatz 2, A-8010 Graz.

Extended abstract

Biodiversity Atlas Austria – An online platform for exploring Austria's biodiversity

Tanja LUMETSBERGER, Georg NEUBAUER & Andrea HÖRTL

The Biodiversity Atlas Austria (www.biodiversityatlas.at) is a new online platform for exploring the diversity of plants, animals and fungi in Austria, and was launched in December 2019. The portal aims at bringing together the various and vast amount of biodiversity data available in Austria and making it openly accessible for researchers, education institutions, administrative bodies, policy makers, conservation management, environmental planning, and the general public. It combines species occurrence data with other contextual and environmental information, such as climate and land use data, administrative and biogeographic boundaries, conservation status of species etc. The Atlas is made up of different tools that allow the users to research, analyse, and visualise biodiversity information on various levels depending on their needs: search for occurrence records, species information, data sets, and data providers (Biodiversity Information Explorer – BIE, Biocache-module), find species within the radius of a specific address (Explore your Area-module), explore pre-defined regions for their biological diversity (Regions-tool), and make advanced analyses and create maps in a geographic information system application (Spatial Portal). The Biodiversity Atlas Austria is based on the infrastructure of the Atlas of Living Australia (ALA), Australia's national biodiversity database (BELBIN & WILLIAMS 2015, www.ala.org.au). It was designed and developed as an open-source modular infrastructure and thus has been implemented by multiple other countries and institutions, like Canada, Costa Rica, France, Portugal, Spain, Sweden or the UK (LECOQ et al. 2017). The different national and institutional portals have formed themselves into the Living Atlases community, to actively improve the infrastructure and develop new functionalities together, enable and strengthen exchange between the platforms and support developments of new Living Atlases portals (LECOQ et al. 2017). Hence, the Biodiversity Atlas is a "living" portal, meaning, it can be continuously further developed, adapted, and modified to the needs of the Austrian community. As of July 2020, the Biodiversity Atlas Austria contained 365,647 occurrence records from 11 data partners, such as GBIF-Austria, 29 contextual and environmental spatial layers, and 32 species lists (e.g. Red Lists of Austria and Lower Austria). However, only a fragment of the biodiversity data available in Austria is currently included in the Atlas. Thus, the portal aims to increase the data stock over the next years by setting up cooperation with multiple data partners to allow for open access to their data. We hope that this new infrastructure for Austria will support decision makers, conservation management and planning, contribute to the understanding of biodiversity and make the knowledge on Austria's biodiversity visible and accessible for all.

LUMETSBERGER, T., NEUBAUER, G. & HÖRTL A., 2020: Biodiversitäts-Atlas Österreich – Ein Onlineportal zur Erforschung der Biodiversität Österreichs.

Der Biodiversitäts-Atlas Österreich (www.biodiversityatlas.at) ist eine neue Online-Plattform zur Erkundung der Vielfalt an Pflanzen, Tieren und Pilzen in Österreich und wurde im Dezember 2019 der Öffentlichkeit präsentiert. Das Portal zielt darauf ab, die verschiedenen und umfangreichen Daten zur biologischen Vielfalt in Österreich zusammenzuführen und für ForscherInnen, Bildungseinrichtungen, Verwaltungsbehörden, politische EntscheidungsträgerInnen, Naturschutzmanagement und Umweltplanung, sowie für die Öffentlichkeit frei zugänglich zu machen. Der Atlas kombiniert Funddaten von Arten mit anderen Kontext- und Umweltinformationen, wie Klima- und Landnutzungsdaten, administrative und biogeografische Daten, Erhaltungszustand von Arten usw. Bestehend aus unterschiedlichen Modulen ermöglicht der Atlas

den UserInnen, je nach Ihren Anforderungen, Informationen zur Biodiversität in Österreich auf unterschiedlichen Ebenen zu recherchieren, analysieren und visualisieren: Suche nach Funddaten, Artinformationen, Datensätzen und DatenpartnerInnen (Biodiversity Information Explorer – BIE, Biocache-Modul), Erkundung von Arten im Umkreis einer bestimmten Adresse (Explore your Area-Modul), Entdeckung der biologischen Vielfalt in definierten Regionen (Regions-Tool) und die Erstellung angewandter Analysen und Karten in einer GIS-Anwendung (Spatial Portal). Der Biodiversitäts-Atlas Österreich basiert auf der Infrastruktur des Atlas of Living Australia (ALA), der nationalen Biodiversitätsdatenbank von Australien (BELBIN & WILLIAMS 2015, www.ala.org.au). Der ALA wurde als modulare Open-Source-Infrastruktur konzipiert und entwickelt von mehreren weiteren Ländern und Institutionen, wie Kanada, Costa Rica, Frankreich, Portugal, Spanien, Schweden oder Großbritannien implementiert (LECOQ et al. 2017). Die verschiedenen nationalen und institutionellen Portale haben sich zur Living Atlases Community zusammengeschlossen, um einerseits gemeinsam die Infrastruktur zu verbessern und neue Funktionen zu entwickeln, andererseits den Austausch zwischen den Plattformen zu ermöglichen und zu stärken sowie die Entwicklung neuer Living Atlases-Portale zu unterstützen (LECOQ et al. 2017). Der Biodiversitäts-Atlas Österreich ist somit ein „lebendiges“ Portal, das heißt, es kann kontinuierlich weiterentwickelt, modifiziert und an die Bedürfnisse der österreichischen Community angepasst werden. Im Juli 2020 enthielt der Biodiversitäts-Atlas Österreich 365.647 Funddaten von Arten von 11 Datenpartnern, wie GBIF-Austria, 29 Geodatasets (Spatial Layers) und 32 Artenlisten (z. B. Rote Listen von Österreich und Niederösterreich). Derzeit ist jedoch nur ein Bruchteil der in Österreich verfügbaren Biodiversitätsdaten im Atlas enthalten. Ziel des Portals ist es daher, in Zusammenarbeit mit unterschiedlichen DatenpartnerInnen den Datenbestand in den nächsten Jahren zu erhöhen, um einen offenen Zugriff auf die Vielfalt der Biodiversitätsdaten zu ermöglichen. Wir hoffen, dass diese neue Infrastruktur EntscheidungsträgerInnen im Naturschutzmanagement und in der Umweltplanung unterstützt, zum Verständnis der biologischen Vielfalt in Österreich beiträgt und das Wissen über die Biodiversität in Österreichs für alle sichtbar und zugänglich macht.

Keywords: biodiversity database, Living Atlases, species occurrences, biodiversity informatics, environmental data.

Literature

- BELBIN L. & WILLIAMS K.J., 2015: Towards a national bio-environmental data facility: experiences from the Atlas of Living Australia. *International Journal of Geographical Information Science* 30/1, 108–125. DOI: 10.1080/13658816.2015.1077962
- LECOQ M., CAVIÈRE F., GENDREAU C., GOIMARD J., MARTINEZ DE LA RIVA S., SHAH M. & MARTIN D., 2017: Living Atlases Community. *Proceedings of TDWG 1*: e20290. DOI: 10.3897/tdwgproceedings.1.20290

Addresses:

Tanja LUMETSBERGER MSc, E-Mail: tanja.lumetsberger@donau-uni.ac.at
 Dipl.-Ing. Georg NEUBAUER BSc, E-Mail: georg.neubauer@donau-uni.ac.at
 Dr. Andrea HÖTL MBA M.E.S., E-Mail: andrea.hoeltl@donau-uni.ac.at
 Department für Wissens- und Kommunikationsmanagement, Donau-Universität Krems,
 Dr.-Karl-Dorrek-Str, 30, A-3500 Krems.

Extended abstract

GSSP – Monitoring fungi within the Global Spore Sampling Project – also in Austria

Otso OVASKAINEN, Nerea ABREGO, Panu SOMERVUO,
Natalia V. IVANOVA & Irmgard KRISAI-GREILHUBER

Global fungal diversity is poorly known due to limitations related to traditional fruit body surveys. This is overcome by eDNA-based surveys. eDNA air samples collected with cyclone samplers provide information on fungal diversity of tens of kilometres around the sampling location. To test the reliability of air sampling for investigating global fungal diversity patterns, the Global Spore Sampling Project (GSSP) was developed at the University of Helsinki (<https://www.helsinki.fi/en/researchgroups/spatial-food-web-ecology/research/gssp/about-gssp>). It currently involves more than 50 sampling locations distributed on all continents, among them two in Austria, each collecting two 24-h samples/week. The cyclone sampler orientates itself in wind direction and collects all particles with size $>1\ \mu\text{m}$ from the air with a single reverse flow cyclone directly into a sampling tube (spores, pollen grains, bacteria, small insects). Average air throughput is 16.5 l/min, i.e. 23800 l during 24-h. Sampling tubes are sterile 1.5 ml Eppendorf vials. Samples are stored at -20°C until shipped to the University of Helsinki where they are cleaned from visible arthropods and sent to University of Guelph, Canada, for DNA extraction and sequencing on Illumina MiSeq.

In two pilot studies (Abrego et al., 2018; Ovaskainen et al., 2020) raw Illumina data were paired using Geneious Prime 2019.0.4. The following bioinformatics workflow was used to process paired-end data: Cutadapt (v1.8.1) to trim primer sequences; Sickle (v1.33) for filtering ($<200\ \text{bp}$) and Uclust (v1.2.22q) to cluster OTUs with 98 % and minimum coverage 2. A probabilistic taxonomic placement was performed with PROTAX. The specific implementation of PROTAX to fungal identification is based on a taxonomy database that includes ca. 130000 species, and a reference database with about 420000 reference sequences that represent 22300 species.

In Ovaskainen et al. (2020) 73 (out of 75) samples from five locations (three in Europe, one in Australia, one in Greenland) yielded >10000 sequences with a median of 54000 sequences (range= 25000-67000) i.e. 3.8 million sequences. First results show highly consistent patterns, suggesting that GSSP is promising for systematic global fungal monitoring. It provides highly standardized sampling across space and time, enabling much-improved estimation of total fungal diversity, the global distribution of different fungal groups, fungal fruiting phenology, and the extent of long-distance dispersal in fungi. The longer the sampling time or the more samples during the year, the longer is the species list. The species accumulation curve does not flatten, as is expected when assessing fungal species richness either by eDNA or fruit-body surveys.

Abrego et al. (2018) recorded 1021 species in 134 samples: 572 Basidiomycota, 431 Ascomycota, 17 Zygomycota and 1 Chytridiomycota. The number of species varied among the samples from 14 to 206 (mean 69). Wood-inhabiting fungal richness varied from 3 to 117 (mean 33) species. Ordination analysis showed a strong signal of seasonal variation in community composition, the early and late season samples separating very clearly.

The GSSP project and its follow-up LIFEPLAN (<https://www.helsinki.fi/en/projects/lifeplan>) open great possibilities for generating comprehensive distribution maps and for future modelling how species respond to e.g. climate change, habitat loss or pollution on a global scale. The results are quantitative, one can ask how many times more common a species is in a sample from a particular location and time than in samples from another location and time.

OVASKAINEN O., ABREGO N., SOMERVUO P., IVANOVA N.V. & KRISAI-GREILHUBER I., 2020: GSSP – Pilzmonitoring im Rahmen des Global Spore Sampling Projektes – auch in Österreich.

Die globale Pilzvielfalt ist aufgrund von Einschränkungen im Zusammenhang mit traditionellen Fruchtkörperuntersuchungen kaum bekannt. Dies wird durch eDNA-basierte Erhebungen überwunden. Mit einem Zyklonsammler entnommene eDNA-Luftproben liefern Informationen über die Pilzvielfalt von mehreren zehn Kilometern um den Probensammelort. Um die Zuverlässigkeit der Luftprobenentnahme zur Untersuchung globaler Pilzdiversitätsmuster zu testen, wurde an der Universität von Helsinki das Global Spore Sampling Project (GSSP) konzipiert (<https://www.helsinki.fi/en/researchgroups/spatial-food-web-Ökologie/Forschung/gssp/about-gssp>). Derzeit nehmen mehr als 50 Probenahmestellen teil, die auf allen Kontinenten verteilt sind, darunter zwei in Österreich. Gesammelt werden jeweils zwei 24-Stunden-Proben pro Woche. Der Zyklonsammler orientiert sich in Windrichtung und sammelt alle Partikel mit einer Größe > 1 µm aus der Luft mit einem einzigen Rückflusszyklon direkt in ein Proberöhrchen (Sporen, Pollenkörner, Bakterien, kleine Insekten). Der durchschnittliche Luftdurchsatz beträgt 16,5 l / min, das sind 23.800 l während 24 Stunden. Die Probenröhrchen sind sterile 1,5-ml-Eppendorf-Tubes. Die Proben werden bei –20° C gelagert, bis sie an die Universität von Helsinki geschickt werden. Dort werden sichtbare Arthropoden gereinigt und danach entfernt, bevor die Proben zur DNA-Extraktion und Sequenzierung auf Illumina MiSeq an die Universität von Guelph, Kanada, geschickt werden.

In zwei Pilotstudien (Abrego et al., 2018; Ovaskainen et al., 2020) wurden Illumina-Rohdaten mit Geneious Prime 2019.0.4 bearbeitet. Um Paired-End-Daten zu verarbeiten wurde folgender Bioinformatik-Workflow verwendet: Cutadapt (v1.8.1) um Primersequenzen zu trimmen; Sickle (v1.33) zum Filtern (<200 bp) und Uclust (v1.2.22q) zum Clustering von OTUs mit 98 % und minimaler Abdeckung 2. Mit PROTAX wurde eine wahrscheinlichkeitsbasierte taxonomische Zuordnung durchgeführt. Die spezifische Implementierung von PROTAX zur Identifizierung von Pilzen basiert auf einer Taxonomiedatenbank, die ca. 130.000 Arten umfasst und einer Referenzdatenbank mit etwa 420.000 Referenzsequenzen von etwa 22.300 Arten.

In Ovaskainen et al. (2020) ergaben 73 (von 75) Proben von fünf Standorten (drei in Europa, eine in Australien, eine in Grönland) > 10000 Sequenzen mit einem Median von 54000 Sequenzen (Bereich = 25000-67000), d. H. 3,8 Millionen Sequenzen. Erste Ergebnisse zeigen sehr konsistente Muster, was darauf hindeutet, dass GSSP für ein systematisches globales Pilzmonitoring vielversprechend ist. Es bietet eine hoch standardisierte Probenahme über Raum und Zeit hinweg und ermöglicht eine deutlich verbesserte Abschätzung der gesamten Pilzvielfalt, der globalen Verteilung verschiedener Pilzgruppen, der Phänologie der Pilzfruchtkörper und des Ausmaßes der Fernausbreitung bei Pilzen. Je länger die Probenahmezeit ist oder je mehr Proben im Laufe des Jahres gesammelt werden, desto länger ist die Artenliste. Die Artenakkumulationskurve flacht nicht ab, wie dies bei der Beurteilung des Artenreichtums von Pilzen durch eDNA- oder Fruchtkörperuntersuchungen zu erwarten ist.

Abrego et al. (2018) haben 1021 Arten in 134 Proben erfasst: 572 Basidiomycota, 431 Ascomycota, 17 Zygomycota und 1 Chytridiomycota. Die Anzahl der Arten variierte zwischen den Proben von 14 bis 206 (Mittelwert 69). Die Anzahl holzbewohnender Pilzarten variierte von 3 bis 117 (Mittelwert 33). Die Ordnungsanalyse zeigte ein starkes Signal für saisonale Unterschiede in der Zusammensetzung der Gemeinschaft, wobei sich die Proben der frühen und späten Saison sehr deutlich trennten.

Das GSSP-Projekt und das nachfolgende LIFEPLAN (<https://www.helsinki.fi/en/projects/lifeplan>) Projekt eröffnen großartige Möglichkeiten zur Erstellung umfassender Verbreitungskarten und zur zukünftigen Modellierung der Reaktion von Arten auf z. B. Klimawandel, Verlust von Lebensräumen oder Umweltverschmutzung auf globaler Ebene. Die Ergebnisse sind quantitativ. Man kann fragen, wieviel häufiger eine Art in einer Probe von einem bestimmten Ort und zu einer bestimmten Zeit vorkommt als in Proben von einem anderen Ort und zu einer anderen Zeit.

Keywords: fungal diversity, fungal sampling method, fungal survey, molecular genetic identification, eDNA

Literature

- ABREGO N., NORROS V., HALME P., SOMERVUO P., ALI-KOVERO A. & OVASKAINEN O., 2018: Give me a 414 sample of air and I will tell which species are found from your region: molecular identification of 415 fungi from airborne spore samples. *Molecular Ecology Resources* 18, 511–524.
- OVASKAINEN, O., ABREGO, N., SOMERVUO, P., PALORINNE, I., HARDWICK, B., PITKÄNEN, J.-M., ANDREW, N.R., NIKLAUS, P.A., NIELS MARTIN SCHMIDT, N.M., SEIBOLD, S., JULIANE VOGT, J., EVGENY V. ZAKHAROV E.V., HEBERT, P.D.N., ROSLIN, T. & IVANOVA, N.V., 2020: Monitoring fungal communities with the Global Spore Sampling Project. *Frontiers in Ecology and Evolution* 7: article 511. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00511>

Addresses:

Prof. Dr. Otso OVASKAINEN, E-Mail: otso.ovaskainen@helsinki.fi

Dr. Panu SOMERVUO, E-Mail: panu.somervuo@helsinki.fi

Organismal and Evolutionary Biology Research Programme, PO Box, 65, FI-00014 University of Helsinki, Finland.

Dr. Nerea ABREGO, Spatial Foodweb Ecology Group, Department of Agricultural Sciences, University of Helsinki, P.O. Box 27, FI-00014 Helsinki, Finland.

E-Mail: nerea.abrego@helsinki.fi

Dr. Natalia V. IVANOVA, Centre for Biodiversity Genomics & Department of Integrative Biology, University of Guelph, 50 Stone Road East, Guelph, ON, N1G 2W1, Canada.

E-Mail: nivanova@uoguelph.ca

Dr. Irmgard KRISAI-GREILHUBER, Department of Botany and Biodiversity, University of Vienna, Rennweg 14, 1030 Wien, Austria. E-Mail: irmgard.greilhuber@univie.ac.at

Extended abstract

DNA metabarcoding data analysis of fish populations in Czech reservoirs

Rômulo DOS SANTOS & Petr BLABOLIL

Environmental DNA (eDNA) is increasingly popular for biodiversity monitoring as a non-invasive and affordable approach. So far most of the research is focusing on the improvement of field sampling schemes and laboratory methods (Ruppert et al., 2019). The crucial parts bioinformatics and statistical analyses are often neglected and, therefore, in different studies different bioinformatics methods and algorithms are used, making the results hardly comparable. The aim of this study is to make a comparison of five distinct pipelines considering the detection rate, false negative and positive species detection.

In three reservoirs in the Czech Republic, water samples were collected in the summer and autumn periods of 2018. For each reservoir and season twenty-seven, twenty-five and thirty-six samples, plus filter blank, extraction blank, PCR negative and positive controls, from Klíčava, Žlutice and Římov respectively, were filtered, DNA extracted, the target region 12S rRNA gene amplified, and the sequencing library was prepared (Blabolil et al., this issue). A custom mitochondrial 12S rRNA gene reference library was prepared by updating a reference database developed by colleagues at the University of Hull (Hänfling et al., 2016) by adding sequences from GenBank (Clark et al., 2016). In addition, *de novo* sequences were included for species not present in GenBank or only represented there by low-quality sequences (e.g. for maraena whitefish *Coregonus maraena* and asp *Leuciscus aspius*).

Sequencing the libraries with Illumina Miseq generated 22.46 million raw sequence reads. We are analyzing the fastq files using metaBEAT, MiFish, Barque, Anacapa and SeqMe pipelines, each one with different approaches for the quality trimming, for removing adapters, chimeric, and redundant sequences, and for taxonomic annotation. The analyses are being conducted in a Linux Ubuntu Mate Server computer with Intel Xeon CPU E5-2620 v2 2.10 GHz x 12 and 24 GB RAM. MetaBEAT (metaBarcoding and Environmental DNA analysis Tool) is a pipeline developed at the University of Hull, UK, for the analysis of metabarcoding data (<https://github.com/HullUni-bioinformatics/metaBEAT>). The version 0.97 is being used with the data processing workflow from Handley et al. (2019). MiFish is a set of primers and a pipeline created to be used with them. It was developed at the University of Tokyo, Japan (Miya et al., 2015). Barque pipeline was developed at Laval University, Canada. It annotates reads, instead of Operational Taxonomic Unit, as the main difference (<https://github.com/enormandeau/barque>). Anacapa is a toolkit created with the aim to build comprehensive reference databases and assign taxonomy to raw multilocus sequences. It was developed at the University of California (Curd et al., 2019). Finally, SeqME was created by a private company, where the demultiplexing step is applied after joining paired-ends and quality filtering, different to the other pipelines used in the analyses, where the initial files were already demultiplexed (SeqME, 2018).

The sequences are being compared to the reference database and being assigned to the lowest taxonomic level. The final results will be summarized as the amount of sequence reads by species at each site and the proportion of sampling sites in which a given species is detected. The detected communities will be compared by analysis of similarity and Constrained Correspondence Analysis with visualization by ordination plots in R (R Development Core Team, 2020).

This study was supported by the projects QK1920011 "Methodology of predatory fish quantification in drinking-water reservoirs to optimize the management of aquatic ecosystems" and MSM200961901 "The true picture of eDNA".

DOS SANTOS R. & BLABOLIL P., 2020: DNA-Metabarcoding-Datenanalyse für Fischgemeinschaften in tschechischen Talsperren.

Umwelt-DNA (englisch: "environmental DNA", abgekürzt eDNA) für Biodiversitäts-Monitoring einzusetzen, erfreut sich wachsender Beliebtheit als nicht-invasiver und kostengünstiger Ansatz. Bisher konzentrierte sich die Forschung vor allem auf die Verbesserung der Feldbeprobungs-Methodik und der Labor-Methoden (Ruppert et al., 2019). Die wichtigen Schritte der Bioinformatik und statistischen Analyse wurden bisher oft vernachlässigt und in verschiedenen Studien wurden unterschiedliche Bioinformatik-Methoden und Algorithmen benutzt, was dazu führte, dass die Ergebnisse kaum vergleichbar sind. Das Ziel der vorliegenden Studie ist, fünf distinkte Pipelines, die sich durch Detektionsraten, falsch-negative und falsch-positive Art-Bestimmungen unterscheiden, zu vergleichen.

In drei Talsperren in der Tschechischen Republik wurden Wasserproben in Sommer und Herbst 2018 genommen. Für jede Talsperre und Jahreszeit wurden 27, 25, und 36 Proben, sowie Filter-Kontrollen, Extraktions-Kontrollen, PCR-Negativ- und -Positiv-Kontrollen, aus den Talsperren Klíčava, Zlutice und Římov entnommen und gefiltert. Anschließend wurde die DNA extrahiert, der Zielabschnitt des mitochondrialen 12S rRNA-Gens amplifiziert, und die Sequenz-Library vorbereitet (Blabolil et al., dieser Band). Eine auf das Referenz-Library von mitochondrialen 12S rRNA-Gen-Sequenzen wurde erstellt, indem eine Referenz-Library, die von Kollegen der Universität von Hull, Großbritannien, entwickelt wurde (Hänfling et al., 2016), durch das Hinzufügen von Sequenzen von GenBank (Clark et al., 2016) aktualisiert wurde. Zusätzlich wurden *de novo*-Sequenzen für Arten einbezogen, die nicht, oder nur in schlechter Qualität in GenBank vorliegen (z. B. für die Maräne *Coregonus maraena* und für den Rapfen *Leuciscus aspius*).

Beim Sequenzieren der Libraries mit Illumina Miseq wurden 22.46 Millionen Roh-Sequenz-Abschnitte generiert. Wir analysieren die fastq-Dateien mit metaBEAT-, MiFish-, Barque-, Anacapa- und SeqMe-Pipelines, wobei jede Pipeline einen eigenen Ansatz für Qualitätssicherung, für das Entfernen von Adaptoren, Chimären- und redundanten Sequenzen sowie für die taxonomische Annotation verfolgt. Die Analysen werden auf einem Linux Ubuntu Mate Server Computer mit Intel Xeon CPU E5-2620 v2 2.10 GHz x 12 und 24 GB RAM durchgeführt. MetaBEAT („metaBarcoding and Environmental DNA analysis Tool“) ist eine Pipeline, die an der Universität in Hull, UK, für die Analyse von Metabarcoding-Daten entwickelt wurde (<https://github.com/HullUni-bioinformatics/metaBEAT>). Die Version 0.97 wird derzeit mit dem Datenverarbeitungs-Arbeitsablauf von Handley et al. (2019) eingesetzt. MiFish ist eine Zusammenstellung von Primern, die mit einer eigens dafür geschaffenen Pipeline an der Universität in Tokio, Japan, entwickelt wurde (Miya et al., 2015). Die Barque-Pipeline, an der Laval-Universität, Kanada, entwickelt, unterscheidet sich von den anderen hauptsächlich dadurch, dass sie Gen-Abschnitte anstelle von OTUs (englisch: „Operational Taxonomic Unit“, svw. operative taxonomische Einheit) annotiert (<https://github.com/enormandeau/barque>). Anacapa ist eine Softwareumgebung, die mit dem Ziel hergestellt wurde, umfassende Referenz-Datenbanken zu erstellen und den rohen Multilocus-Sequenzen taxonomische Einheiten zuzuordnen, und wurde an der Universität von Kalifornien entwickelt (Curd et al., 2019). SeqME schließlich wurde von einer privaten Firma hergestellt – der Demultiplexierungs-Schritt folgt nach dem Verbinden der gepaarten Enden und dem Qualitäts-Filtern, im Unterschied zu den anderen hier angewandten Pipelines, bei denen die Ausgangs-Dateien schon demultiplexiert waren (SeqME, 2018).

Die Sequenzen werden mit einer Referenz-Datenbank verglichen und es wird die niedrigste taxonomische Ebene zugewiesen. Die Endergebnisse werden als Zahl der Sequenz-Abschnitte pro Art und Stelle, und als Anteil der Probestellen, an denen eine bestimmte Art erfasst wurde, zusammengefasst. Die so erfassten Gemeinschaften werden über eine Ähnlichkeitsanalyse und „Constrained Correspondence Analysis“ (svw. Kanonische Korrespondenzanalyse) verglichen und in Ordinationsabbildungen in R dargestellt (R Development Core Team, 2020).

Diese Untersuchung wurde gefördert durch QK1920011 „Methodik einer Quantifizierung von Raubfischen in Trinkwassertalsperren, um das Management der aquatischen Ökosysteme zu verbessern“ und MSM200961901 „Das wahre Bild der eDNA“.

Keywords: community ecology, eDNA, environmental DNA, bioinformatics; pipeline

Literature

- BLABOLIL P., HARPER L., ŘÍČANOVÁ Š., SELLERS G., DI MURI C., JÚZA T., VAŠEK M., SAJDLOVÁ Z., RYCHTECKÝ P., ZNACHOR P., HEJZLAR J., DOS SANTOS R., PETERKA J. & HÄNFLING, B., 2020: eDNA fish community monitoring in Czech reservoirs. *Acta ZooBot Austria* 157.
- CLARK K., KARSCH-MIZRACHI I., LIPMAN D.J., OSTELL J. & SAYERS E.W., 2016: GenBank. *Nucleic Acids Research* 44, D67–D72.
- HÄNFLING B., LAWSON HANDLEY L., READ D.S., HAHN C., LI J., NICHOLS P., BLACKMAN R.C., OLIVER A. & WINFIELD I.J., 2016: Environmental DNA metabarcoding of lake fish communities reflects long-term data from established survey methods. *Molecular Ecology* 25, 3101–3119.
- HAHN C. & LUNT D.H.: metaBEAT - metaBarcoding and Environmental DNA analysis Tool. <https://github.com/HullUni-bioinformatics/metaBEAT>. Accessed 23 July 2020.
- LAWSON HANDLEY L., READ, D.S. WINFIELD I.J., KIMBELL H., JOHNSON H., LI J., HAHN C., BLACKMAN R., WILCOX R., DONNELLY R., SZITENBERG A. & HÄNFLING B. 2019: Temporal and spatial variation in distribution of fish environmental DNA in England's largest lake. *Environmental DNA* 1, 26–39.
- MIYA M., SATO Y., FUKUNAGA T., SADO T., POULSEN J.Y., SATO K., MINAMOTO T., YAMAMOTO S., YAMANAKA H., ARAKI H., KONDOH M. & IWASAKI W., 2015: MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society open science*, 2, 150088.
- NORMANDEAU E.: Environmental DNA metabarcoding analysis. <https://github.com/enormandeaubarque>. Accessed 23 July 2020.
- CURD E.E., GOLD Z., KANDLIKAR G.S., GOMER J., OGDEN M., O'CONNELL T., PIPES L., SCHWEIZER T.M., RABICHOV L., LIN M., SHI B., BARBER P.H., KRAFT N., WAYNE R. & MEYER R.S., 2019: Anacapa Toolkit: An environmental DNA toolkit for processing multilocus metabarcode datasets. *Methods in Ecology and Evolution* 10, 1469–1475.
- SEQME, 2018: Microbiome and Metagenome data analysis workshop, coursebook, conference centre South Bohemian Science and Technology Park, 4–8 June.
- R DEVELOPEMENT CORE TEAM, 2020. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing.
- RUPPERT K.M., KLINE R.J. & RAHMAN Md.S. 2019: Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding: A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA. *Global Ecology and Conservation* 17, e00547.

Addresses:

Rômulo DOS SANTOS, Dr. Petr BLABOLIL, Biology Centre CAS, Institute of Hydrobiology, Na Sádkách 702/7, 370 05 České Budějovice, Czech Republic & University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Science, Branišovská 1645/31a, 370 05 České Budějovice, Czech Republic.

E-Mail: romulo.acacio.dos.santos@gmail.com, petr.blabolil@hbu.cas.cz

Extended abstract

Mind the gap-analysis! – How complete are DNA barcode reference libraries for monitoring-relevant aquatic species in Europe?

Hannah WEIGAND

Molecular species identification by DNA metabarcoding has the potential to accelerate, streamline, and standardise routines of biological monitoring. How this new technique can be implemented in daily monitoring routines for a multitude of countries and taxa is currently in focus for aquatic ecosystems under the European Water Framework Directive (WFD) and the European Marine Strategy Framework Directive (MSFD). An essential requirement to link metabarcoding data with the results from current monitoring initiatives is an extensive and high-quality DNA barcode reference library. Hence, a gap analysis was carried out as part of the EU COST Action DNAqua-Net using the Barcode of Life Data System (BOLD). On the one hand, it was intended to record the current coverage of species used in WFD and MSFD monitoring lists in BOLD. On the other hand, it aimed to identify general issues in the utilisation of BOLD. Data from BOLD were complemented by the MitoFish database for freshwater fish and the Diat.barcode database for Diatoms.

Although many countries do not use species-level identification for all biological quality elements they monitor, several thousand marine and freshwater species were targeted throughout Europe. Identifying the barcode coverage for different taxonomic groups of these species showed a large variation. For example, fish (marine and freshwater) and freshwater plants were well covered (> 80 %), while diatoms and freshwater Platyhelminthes had only few species with barcodes (< 15 %). In general, barcodes were often present for species monitored in several countries, while they were frequently absent for species monitored in only one country.

Besides the pure presence of a barcode, a high-quality reference library should allow the evaluation of a barcode by accessing its metadata (e.g. geographical origin of the specimen or determiner). Hence it was analysed if barcodes were stored public in BOLD (i.e. with accessible metadata), private in BOLD (i.e. metadata not available yet) or were mined from GenBank (i.e. metadata might be present but not easily accessible via BOLD). Although a large proportion of species have data stored publicly (e.g. 43 % of freshwater macroinvertebrate species and 21 % of AMBI marine species), the proportion of species with only non-public barcodes is not neglectable (22 % of freshwater macroinvertebrate species and 22 % of AMBI marine species). Similar to the general coverage, the proportion of public, private and data mined from GenBank varied strongly per taxonomic group.

Another issue identified during the gap analysis was reverse taxonomy (RT), i.e. a specimen is determined by DNA barcoding and then deposited in BOLD. This deposition of specimens with RT-identification can be problematic. For example, if the morphological identification of a specimen is wrong, other specimens might be misidentified by RT. If the barcodes are not marked as originating by RT and a user gets several high-ranking hits for its specimen resulting from the RT-based specimens, he might have a high confidence in the incorrect species identification assuming that they are based on identification by a taxonomic expert. Hence, it is important that specimens identified by RT can be distinguished from those determined morphologically by a taxonomic expert, and potentially excluded for species identification using the BOLD engine. However, currently it is difficult to identify if a specimen was identified through RT by the normal user interface and barcodes based on RT cannot be excluded from species identification.

To evaluate the extent of RT in BOLD, the data for freshwater macroinvertebrates were analysed in detail. At least 39 % of all barcodes and 65 % of all public barcodes originated from RT. It impacted 11 % of the species and 25 % of the species with public data available. A large proportion of barcodes identified through RT was found for Annelida (13 % of all barcodes, 61 % of public barcodes), Coleoptera (20 % of all barcodes, 29 % of public barcodes) and Diptera (59 % of all barcodes, 82 % of public barcodes). On the species level, the impact was not high on Coleoptera (3 % of all species, 4 % of species with public data), while it was very pronounced for Annelida (10 % of all species, 76 % of species with public data) and Diptera (16 % of all species, 43 % of species with public data). As the information about RT is only available for publicly accessible data, it might be even more pronounced.

To summarise, the gap analysis allowed to identify future targets for barcoding initiatives in aquatic biomonitoring. Here, especially taxonomic groups with low coverage (e.g. diatoms and marine invertebrates) and species monitored in several countries lacking barcodes should be prioritised. Additionally, it showed the need for a well curated database or dataset with all information stored easily accessible. Only this allows an informed judgment on the quality of the taxonomic information associated to the barcodes and hence a good link between current aquatic biomonitoring and DNA metabarcoding based results.

WEIGAND H., 2019: Mind the gap-analysis! – Wie vollständig sind DNA-Barcode-Referenzdatenbanken für Biomonitoring-relevante aquatische Arten in Europa.

Molekulare Artidentifikation mittels DNA-Metabarcoding hat das Potential Routinen im Biomonitoring zu beschleunigen, zu rationalisieren und zu standardisieren. Wie die neue Technik dabei im Routinemonitoring verschiedener Länder für unterschiedlichste Taxa implementiert werden kann, wird zurzeit für die Europäische Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) und die Meeresstrategie-Rahmenrichtlinie (MSRL) erprobt. Damit die Ergebnisse des Metabarcodings mit den Ergebnissen des heutigen Monitorings verknüpft werden können, ist eine umfangreiche und hochqualitative DNA-Barcode-Referenzdatenbank eine notwendige Grundvoraussetzung. Daher wurde im Rahmen der EU-COST Action DNAqua-Net eine Gap-Analyse mit dem Barcode of Life Data System (BOLD) durchgeführt. Diese sollte zum einen die Abdeckung von BOLD für Arten der WRRL- und MSRL-Monitoringlisten zeigen, zum anderen aber auch generelle Probleme bei der Verwendung von BOLD als Referenzdatenbank identifizieren. Die Daten von BOLD wurden mit der MitoFish Datenbank für Süßwasserfische und der Diat.barcode Datenbank für Diatomeen komplementiert.

Auch wenn viele Länder nicht für alle biologischen Qualitätselemente eine Identifikation auf Artniveau vornehmen, wurden in der Gap-Analyse insgesamt mehrere tausend Meeres- und Süßwasserarten untersucht. Die Abdeckung der Arten mit Barcodes verschiedener taxonomischer Gruppen wies eine starke Varianz auf. So waren zum Beispiel Fische (Marin und Süßwasser) sowie Süßwasserpflanzen sehr gut abgedeckt (> 80 %), wohingegen Diatomeen und Süßwasser-Plathelminthen nur wenige Arten mit Barcodes aufwiesen (< 15 %). Auch waren im Allgemeinen Barcodes bei Arten, die in mehreren Ländern erfasst wurden, häufig vorhanden, während sie bei Arten, die nur in einem Land erfasst wurden, oftmals fehlten.

Neben dem reinen Vorhandensein von Barcodes sollte eine hochqualitative Referenzdatenbank auch eine Bewertung der Barcodes anhand ihrer Metadaten (z. B. geografische Herkunft des Individuums, Bestimmer) erlauben. Daher wurde analysiert, ob die Barcodes als öffentliche (mit Zugang zu Metadaten) oder private Einträge (ohne Zugang zu Metadaten) hinterlegt waren oder bei GenBank hinterlegt und durch BOLD hinzugefügt wurden (Metadaten möglicherweise vorhanden, aber nicht einfach zugänglich). Für einen großen Teil der Arten waren die Daten öffentlich gespeichert (z. B. 43 % der Süßwassermakrovertebraten und 21 % der AMBI marinen Arten). Jedoch war der Anteil an Arten, die ausschließlich Barcodes ohne öffentliche Daten besaßen, nicht vernachlässigbar (z. B. 22 % der Süßwassermakrovertebraten und 22 % der AMBI marinen Arten). Ähnlich wie die generelle Abdeckung der Arten mit Barcodes unterschied sich der Anteil der öffentlichen und privaten Barcodes sowie derer, die von GenBank stammten, stark für die taxonomischen Gruppen.

Bei der Gap-Analyse fiel weiterhin auf, dass ein Teil der Individuen mittels reverser Taxonomie (RT) identifiziert wurden, d. h. die Bestimmung der Individuen erfolgte

mittels DNA-Barcodes und sie wurden selbst in BOLD als Barcodes hinterlegt. Die Hinterlegung der so bestimmten Individuen in BOLD kann problematisch sein. Zum Beispiel kann eine anfänglich falsche morphologische Bestimmung eines Individuums zu falschen RT-Bestimmung anderer Individuen führen. Wenn diese dann nicht als RT-Bestimmungen erkennbar sind und ein Nutzer für sein Individuum beim Abgleich mit BOLD sieht, dass die falsche Art durch mehrere Individuen bestätigt wird, kann dies zu einem hohen Vertrauen in die Fehlbestimmung führen. Daher ist es wichtig, dass RT-Barcodes von solchen unterschieden werden können, die auf der morphologischen Bestimmung eines taxonomischen Experten beruhen, und potentiell von der Art-Identifikation mittels BOLD ausgeschlossen werden können. Jedoch ist es zurzeit für den Nutzer schwierig, die Information über die Art der Bestimmung über das normale User-Interface zu erhalten und RT-Barcodes können nicht von der Analyse ausgeschlossen werden.

Um das Ausmaß an RT in BOLD zu bestimmen, wurden die öffentlichen Daten für Süßwassermakroevvertebraten im Detail untersucht. Mindestens 39 % aller Barcodes und 65 % aller öffentlichen Barcodes stammten von RT. Dies beeinflusste 11 % aller Arten und 25 % der Arten mit öffentlichen Daten. Ein großer Anteil der Barcodes bei Annelida (13 % aller Barcodes, 61 % der öffentlichen Barcodes), Coleoptera (20 % aller Barcodes, 29 % der öffentlichen Barcodes) und Diptera (59 % aller Barcodes, 82 % der öffentlichen Barcodes) wurde mittels RT bestimmt. Während dies nicht viele der Coleoptera-Arten beeinflusste (3 % aller Arten, 4 % der Arten mit öffentlichen Barcodes), war ein großer Teil der Annelida- (10 % aller Arten, 76 % der Arten mit öffentlichen Barcodes) und Diptera-Arten (16 % aller Arten, 43 % der Arten mit öffentlichen Barcodes) betroffen. Da die Information über RT nur für öffentliche Daten verfügbar ist, könnte der Anteil an RT-Barcodes noch deutlich größer sein.

Zusammenfassend erlaubte die Gap-Analyse zukünftige Ziele für Barcoding-Initiativen im aquatischen Biomonitoring zu identifizieren. Besonders taxonomische Gruppen mit geringer Abdeckung (z. B. Diatomeen und marine Evertrebraten) und Arten, die in mehreren Ländern erfasst werden und keine Barcodes aufweisen, sollten hierbei eine hohe Priorität erhalten. Zusätzlich zeigte die Gap-Analyse die Notwendigkeit eine gut kuratierte Datenbank bzw. einen Datensatz bei dem alle Metadaten leicht zugänglich sind aufzubauen. Nur dies erlaubt die informierte Beurteilung der taxonomischen Informationen, die mit den Barcodes assoziiert sind, und somit eine gute Verbindung zwischen dem aktuellen aquatischen Biomonitoring und Ergebnissen, die auf DNA-Metabarcoding beruhen.

Keywords: gap-analysis, reference library, biological monitoring, DNAqua-Net, metabarcoding.

Literature

- WEIGAND H., BEERMANN A.J., ČIAMPOR F., COSTA F.O., CSABAI Z., DUARTE S., GEIGER M.F., GRABOWSKI M., RIMET F., RULIK B., STRAND M., SZUCSICH N., WEIGAND A.M., WILLASSEN E., WYLER S.A., BOUCHEZ A., BORJA A., ČIAMPOROVÁ-ZAŤOVIČOVÁ Z., FERREIRA S., DIJKSTRA K.D., EISENDLE U., FREYHOF J., GADAWSKI P., GRAF W., HAEGERBAEUMER A., HOORN B.B. van der, JAPOSHVILI B., KERESZTES L., KESKIN E., LEESE F., MACHER J., MAMOS T., PAZ G., PEŠIĆ V., PFANNKUCHEN D.M., PFANNKUCHEN M.A., PRICE B.W., RINKEVICH B., TEIXEIRA M.A.L., VÁRBÍRÓ G. & EKREM T., 2019: DNA barcode reference libraries for the monitoring of aquatic biota in Europe: Gap-analysis and recommendations for future work. *Science of the total environment* 2019 678, 499–524.

Address:

Dr. Hannah WEIGAND, Musée National d'Histoire Naturelle, Rue Münster 26, L-2160 Luxembourg, Luxembourg. E-Mail: Hweigand@mnhn.lu

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: 2020

Band/Volume: [157](#)

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

Artikel/Article: [ABOL meeting 2019 - Abstracts 345-379](#)