DNA-Barcoding, Pilze und das German Barcode of Life-Projekt (GBOL)

Ursula Eberhardt, Annemieke Verbeken, Jorinde Nuytinck

Eberhardt U, Verbeken A, Nuytinck J (2014): DNA-Barcoding, Fungi and the German Barcode of Life Project (GBOL). Zeitschrift für Mykologie **80**/2: 627-641.

Key words: internal transcribed spacer, reference data, databases, iBOL, GBOL

Abstract: The term DNA barcoding describes the identification of species using a short standardized DNA fragment. The article offers a review of the concept of DNA barcoding, its history and the organization of the German DNA barcoding project GBOL. The application of the ITS-region, the recognized DNA barcode of fungi, is discussed. In spite of some shortcomings, the ITS has become a well established and widely used tool for fungal identification.

Zusammenfassung: Der Begriff DNA-Barcoding wurde geprägt für die Artbestimmung von Organismen mit Hilfe eines kurzen, standardisierten DNA-Abschnitts. Dieser Artikel bietet eine Übersicht über das Konzept des DNA-Barcodings, seine Geschichte und die Organisation des deutschen DNA-Barcoding-Projekts GBOL. Außerdem werden verschiedene Aspekte der Verwendung der ITS-Region, dem anerkannten DNA-Barcode der Pilze, erläutert. Trotz einiger Schwächen hat sich die ITS als Bestimmungswerkzeug in der mykologischen Arbeit fest etabliert.

„Eine Weltgemeinschaft, die bereit ist, über Jahrzehnte hinweg viele Milliarden für Weltraumteleskope auszugeben, sollte doch Willens sein, eine viel kleinere Summe in die Erforschung der – schwindenden – Artendiversität auf ihrem eigenen Planeten zu stecken. Dafür brauchen wir ein Werkzeug, mit dem jeder „kinderleicht" Arten identifizieren kann. Und die Wissenschaft ist heute soweit, dass mit einer gemeinsamen Anstrengung ein solches Werkzeug geschaffen werden kann." Mit diesen und anderen eingängigen Botschaften warb Prof. Dr. Paul Hebert von der Universität Guelph für sein ehrgeiziges Projekt einer DNA-Barcoding-Initiative, über die weltweit sämtliche Arten von Lebewesen erfasst werden sollten. Hebert forderte Wissenschaftler weltweit auf, sich zu beteiligen und ein solches Projekt gemeinsam voranzutreiben. Die Werbung galt auch der Öffentlichkeit und der Politik, Mittel für ein solches Vorhaben zur Verfügung zu stellen.

Manche Begriffsprägungen sind so eingängig, dass sie sehr bald allgemein angewandt werden und nicht mehr ausschließlich im Sinne ihrer ursprünglichen Bedeutung. DNA-Barcoding ist ein solches Beispiel. Die direkte Übersetzung „DNS-Strichkodierung" hat sich als deutscher Begriff nicht durchgesetzt. Wer von DNA-Barcoding spricht, meint in den meisten Fällen die Artidentifizierung von Organismen mit Hilfe von DNA-Sequenzen. Manchmal wird der Begriff sogar so weit gefasst, dass andere Methoden der DNA-Analyse, eingesetzt zur Artbestimmung, als DNA-Barcoding bezeichnet werden. Landläufig wird darunter auch die Schaffung eines

Anschriften der Autoren: Ursula Eberhardt, Staatliches Museum für Naturkunde Stuttgart, Rosenstein 1, D-70191 Stuttgart, Deutschland und Gent Universiteit, K.L. Lededanckstraat 35, B-9000 Gent, Belgien. Email: ursula.eberhardt@smns-bw.de; Annemieke Verbeken, Gent Universiteit, K.L. Lededanckstraat 35, B-9000 Gent, Belgien; Jorinde Nuytinck, Naturalis Biodiversity Center, Darwinweg 4, P.O. Box 9517, 2300 RA Leiden, Niederlande.

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

Referenzdatensatzes verstanden, der zusammen mit geeigneten Softwareinstrumenten der Artidentifizierung dienen soll. So eingängig der Begriff DNA-Barcoding ist, ist er doch nicht zu wörtlich zu nehmen: Anders als der Strichcode im Supermarkt, wo gleiche Codes gleiche Produkte bezeichnen, zeigt der DNA-Barcode durchaus auch innerartliche Unterschiede, die aufgrund der allen Organismen innewohnenden genetischen Variation auftreten.

Das Konzept

Mit DNA-Barcoding im Sinne des Wortschöpfers Hebert wird die Artbestimmung auf der Basis von COI-Sequenzen beschrieben, einer Genregion, die bei praktisch allen Eukaryoten[1] vorkommt (Hebert et al. 2003). Um diese bestechend einfache Idee herum – mit einer einzigen DNA-Region alle auf der Welt befindlichen Organismen bestimmen zu können – wurde die DNA-Barcoding-Initiative begründet, die sich mit den verschiedenen Aspekten der Verwirklichung der DNA-Barcoding-Idee befasst. Ein zentraler Aspekt des Hebertschen Konzepts war, dass ein gemeinsamer Standard verwendet wird. Dies, so die Idee, bewirkt einen gewaltigen Synergie-Effekt. Binnen kurzer Zeit kann so eine große Datenmenge gesammelt werden, die dann die Identifikation eines jeden Organismus ermöglicht – unabhängig vom Vorwissen des Anwenders. In Guelph wurde deshalb die Datenbank BOLD (http://www.boldsystems.org, Ratnasingham & Hebert 2007) entwickelt, um die DNA-Barcoding-Daten aufzunehmen und mit ihnen zu arbeiten.

Eine weitere grundlegende Voraussetzung des DNA-Barcodings ist, dass die für die Erstellung des Referenzdatensatzes analysierten Organismen gut dokumentiert sein müssen. Sammeldaten, Foto und die Hinterlegung eines Beleges in einer öffentlich zugänglichen Sammlung sind Pflicht. Gleichermaßen sollen die Rohsequenzdaten der doppelseitigen Sequenzierung, die sogenannten Elektropherogramme, zugänglich gemacht werden. Aus den Rohsequenzdaten gewinnt der Bearbeiter durch Editierung die dann in der Datenbank abgelegte Sequenz. Damit hat jeder spätere Nutzer die Möglichkeit, subjektive Entscheidungen, sei es bei der Bestimmung oder Benennung der Art, sei es bei der Sequenzeditierung, kritisch zu hinterfragen. Es können auch nicht identifizierte Belege in DNA-Barcoding-Datensammlungen hinterlegt werden. Durch diese Setzungen ist das DNA-Barcoding von der Taxonomie und taxonomischen Meinungen abgekoppelt. Dies soll beispielsweise ermöglichen, dass beim DNA-Barcoding schnellere Fortschritte erfolgen können als bei der Neubeschreibung von Arten.

Das DNA-Barcoding musste sich vor allem zu Beginn immer wieder Unwissenschaftlichkeit vorwerfen lassen (siehe zum Beispiel Will et al. 2005). Hypothesenfrei, zu vereinfachend, die Werbemethoden zu populistisch, so lauteten die Vorwürfe. Frühe DNA-Barcoding-Veröffentlichungen aus dem Hause Hebert vermeldeten vor allem Siege. Eine Reihe von klassisch arbeitenden Taxonomen, durchaus auch solche, die

[1] Bakteriologen haben sich schon lange darauf geeinigt, dass bei Prokaryoten eine andere Genregion, die Gene der 16S ribosomalen Untereinheit, als Standard für die Identifizierung und sogar Artabgrenzung verwendet werden (Stackebrandt & Goebel 1994, Clarridge 2004, Janda & Abbot 2007).

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

DNA-Daten für ihre Forschung verwendeten, fürchteten, dass die Taxonomie durch das DNA-Barcoding ersetzt werden könnte. Dies würde ihrer Ansicht zufolge der Komplexität der Organismenvielfalt nicht gerecht. Außerdem, so die Befürchtung, würde unterschiedlichen taxonomischen Auffassungen, die zu Recht nebeneinander bestehen, nicht Rechnung getragen. Natürlich hatten diese Befürchtungen auch einen finanziellen Hintergrund, nämlich die Sorge, dass Mittel für die Taxonomie zu Barcoding-Mitteln umgewidmet werden könnten. Inzwischen haben sich die Wogen etwas geglättet. Unter Wissenschaftlern ist mittlerweile akzeptiert, dass das DNA-Barcoding ein Werkzeug darstellt, das aber nicht mit der Taxonomie, also der Benennung und Beschreibung von Arten, verwechselt werden darf.

Die Umsetzung

Sequenzen sind nicht die einzigen Buchstabenfolgen, die beim DNA-Barcoding produziert werden. Eine Flut von Akronymen erschwert dem Einsteiger die Orientierung in der Szene. Forscher mit gleichen Forschungsinteressen aus unterschiedlichen Ländern (und mit unterschiedlichen Geldgebern) fanden sich in sogenannten DNA-Barcoding-Kampagnen zusammen, z. B. FISH-Bol (Fish Barcode of Life Initiative) oder ABBI (All Birds Barcoding Initiative). In Guelph, Kanada, gründete Paul Hebert das CCDB (Canadian Centre for DNA Barcoding), in dem zunächst Protokolle für die Massenproduktion von COI-Sequenzen erarbeitet und dann die Massenproduktion selbst in Angriff genommen wurden. Wissenschaftler aus aller Welt schickten Material für die fachgerechte Dokumentation, DNA-Extraktion und Sequenzierung. Bestimmte Kampagnen wie ABBI wurden gezielt unterstützt, um beispielhaft zu belegen, was DNA-Barcoding leisten kann. Ein Großteil der Aktivitäten fand in Kanada statt oder zumindest unter kanadischer Schirmherrschaft. Um der kanadischen DNA-Barcoding-Initiative (http://www.bolnet.ca) globale Unterstützung zu geben, wurde von 2007 an für iBOL (International Barcode of Life, http://www.ibol.org) geworben. Im Rahmen dieses Projekts konnten sich Staaten verpflichten, Mittel für das DNA-Barcoding bereitzustellen. Dahinter stand die Absicht ein einziges, allumfassendes Identifikationssystem zu schaffen. Die zweite Säule der DNA-Barcoding-Initiative bestand seit 2004 aus dem „Consortium for the Barcode of Life“, kurz CBOL (http://www.barcodeoflife.org), öffentlich vertreten durch Dr. David Schindel (CBOL secretary) vom Smithonian Institute in Washington. Das Konsortium wurde lange durch die amerikanische Alfred P. Sloan Foundation finanziert, die zum Beispiel auch Projekte des Craig Venter Institute unterstützt hat. CBOL hat sich als Dienstleister für die Verwirklichung von DNA-Barcoding-Projekten gesehen. Solche Dienste umfassen zum Beispiel die Formulierung von „Normen“, etwa dem Entwurf eines Barcode-Standards oder der Regelung, wie DNA-Barcoding-Kampagnen die Verwendung einer anderen DNA-Region beantragen können, wenn es gute Gründe gegen die Nutzung der COI-Sequenzen gibt. Inzwischen wird auch an Normen gearbeitet, die über den wissenschaftlichen Bereich hinausgehen, wie sie zum Beispiel notwendig sind, wenn Artidentifikationen gerichtlich verwertbar sein müssen. Die Hauptaufgabe von CBOL

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

war „outreach“, also alles, was man unter dem Begriff Lobbying zusammenfassen kann. Dabei ist „Lobbying“ in einem positiven Sinne gemeint. Solche Aktivitäten von CBOL und der iBOL-Initiative, weitergetragen von europäischen Wissenschaftlern, haben letztlich dazu geführt, dass in verschiedenen europäischen Ländern nationale DNA-Barcoding-Projekte initiiert wurden. Ein Beispiel ist das GBOL-Projekt (German Barcode of Life Project).

Die Organisation von GBOL

Das GBOL-Projekt (https://www.bolgermany.de), jetzt in seinem dritten Jahr, wird vom Bundesministerium für Bildung und Forschung finanziert. Als Projektleiter wurde der Direktor des Forschungsmuseums König in Bonn, Professor Wolfgang Wägele, bestimmt, der sich bereits vor Projektbeginn sehr für das DNA-Barcoding in Deutschland und Europa eingesetzt hat. Am Museum König wird das Projekt auch koordiniert. Für die Leitung und Koordination des GBOL-Projekts wurde das Museum im Oktober 2013 vom Wissenschaftsministerium des Landes Nordrhein-Westfalen ausgezeichnet. Über die weitere Entwicklung des Projekts wird in den kommenden Monaten entschieden.

Leitgedanke des laufenden GBOL-Projekts ist die Stärkung der taxonomischen Infrastruktur in Deutschland, was letztlich der Wirtschaftskraft des Landes und der Gesellschaft zugute kommen soll. Zu dieser Infrastruktur zählen erstens naturwissenschaftliche Sammlungen und Museen und andere akademische Forschungsinstitutionen, in denen taxonomisch gearbeitet wird. Zudem soll zweitens ein Instrument geschaffen werden, mit dem auch das in der Gesellschaft (und oft nur da!) vorhandene taxonomische Wissen genutzt und erhalten werden kann. Die in dem Projekt zu schaffenden Daten stellen drittens eine weitere Säule der taxonomischen Infrastruktur dar, die es dann ermöglichen soll, Anwendungen wie zum Beispiel Kartierungsmethoden oder Tests auf bestimmte Organismen zu entwickeln, die über rein wissenschaftliche Anwendungen hinausgehen. Dabei wurde auch das bayerische Projekt Barcoding Fauna Bavarica (http://www.faunabavarica.de) eingebunden und die internationale DNA-Barcoding-Initiative unterstützt. Eine vierte Säule der taxonomischen Infrastruktur stellt die Ergänzung und Vernetzung von elektronischen Datenbanken und Anwendungen dar, zum Beispiel BOLD oder die Diversity Work Bench (Triebel et al. 1999), die um das sogenannte GBOL-Portal ergänzt werden sollen. Hier soll dargestellt werden, welche Taxa in GBOL bereits in welcher Weise bearbeitet worden sind.

Das GBOL-Projekt ist organismisch und geografisch aufgeteilt. Bearbeitet werden neben einigen angewandten Projekten mit Pilotcharakter die Fauna und Flora Deutschlands. Von den Pilzen werden nur die Rostpilze unter der Leitung von Dr. Markus Scholler, Naturkundemuseum Karlsruhe, bearbeitet. Wie viele Arten pro Teilprojekt beziehungsweise, wie viele Individuen pro Art durch DNA-Barcoding erfasst werden, ist durch die vorhandenen Mittel, Vorgaben des Geldgebers und interne Abmachungen festgelegt. Die beteiligten Forschungseinrichtungen entscheiden, für welche Organismengruppen sie Beiträge leisten können. Sogenannte Taxonkoordinatoren, in der

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

Regel an naturkundlichen Museen beschäftigte Wissenschaftler, bestimmen, welches Material und welche Arten bearbeitet werden. Von jeder Art sollen mehrere Individuen möglichst unterschiedlicher geografischer Herkunft untersucht werden. Formal werden die Taxonkoordinatoren dabei von einem in Bonn entwickelten System (siehe GBOL Web Portal) unterstützt, das zwischen interessierten Bürgern und Taxonkoordinatoren vermittelt. Wird ein Bürgertaxonom von dem betreffenden Taxonkoordinator als GBOL-Sammler akzeptiert, bekommt er eine Vergütung von 3 Euro pro Beleg, der fürs DNA-Barcoding verwendet wird. In geringem Maß sind auch Mittel für Sammelfahrten vorhanden, deren Verwendung innerhalb der Teilprojekte bestimmt wird. An den beteiligten Museen werden GBOL-Belegsammlungen angelegt. Die molekulare Arbeit ist zwischen verschiedenen Institutionen aufgeteilt. Die erhobenen Daten sollen im sogenannten GBOL-Portal dargestellt und auch in die globale DNA-Barcoding-Datenbank BOLD überführt werden. Überdies wir die extrahierte DNA in an verschiedenen Institutionen gegründeten DNA-Banken gesichert, die auch einen Teil der taxonomischen Infrastruktur bilden.

Möglicherweise soll in einem Nachfolgeprojekt die Entwicklung von DNA-Barcoding-Anwendungen für den nicht-wissenschaftlichen Bereich eine größere Rolle spielen als im laufenden Projekt. Somit würden dann anteilig weniger Mittel für die Schaffung von Referenzdaten zur Verfügung stehen

DNA-Barcoding von Pilzen

Die molekulare Artbestimmung war in der Mykologie bereits etabliert, bevor es den Begriff DNA-Barcoding gab (Chen et al. 2001, Horton & Bruns 2001). Bei Hefen wurde allgemein die LSU (Large Subunit bzw. 26S der ribosomalen RNA Gene, Kurtzman & Robnet 1998, Fell et al. 2000) verwendet. Bei anderen Pilzen, zum Beispiel zur Identifizierung von Ektomykorrhizapilzen, war schon vor etwa zehn Jahren die etwas variablere ITS (internal transcribed spacer) etabliert (Kõljalg et al. 2005, Peay et al. 2008). Die ITS besteht aus zwei nicht kodierenden Regionen der ribosomalen RNA-Gene, ITS1 und ITS2. Sie ist eingeschlossen von den Genen für die kleine (SSU, 16S bzw. 18S rDNA) und die große ribosomale Untereinheit (LSU, 26S bzw. 28S rDNA); ITS1 und ITS2 werden durch das 5.8S rDNA-Gen getrennt. Die ITS als DNA-Barcode schließt das Ende der SSU, die 5.8S und den Beginn LSU mit ein. Die kodierenden Bereiche sind ungleich konservativer als die ITS-Regionen. Die Länge der Sequenz variiert, ist aber in vielen Arten zwischen 500 und 750 Basenpaaren lang.

Erst 2012 wurde die ITS als DNA-Barcode-Region für Pilze durch CBOL anerkannt, da COI beziehungsweise mitochondriale Gene allgemein bei Pilzen nicht geeignet sind. Der entsprechende Antrag (Schoch et al. 2012) wurde von einer breiten wissenschaftlichen Öffentlichkeit getragen. Dabei wurde gezeigt, dass unter allen Barcode-Kandidaten die ITS den besten Kompromiss zwischen Praktikabilität und Trennschärfe zwischen Arten darstellt. Es gab allerdings damals und bis heute auch Kritik an der Regelung, da sich in einigen Pilzgruppen nicht alle Arten über die ITS unterscheiden lassen.

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

Ob in einer gegebenen Gruppe alle Arten unterschieden werden können und müssen, hängt selbstverständlich von der Fragestellung, dem Artkonzept (morphologisch, biologisch, phylogenetisch etc.) und vom taxonomischen Konzept ab. Zunehmend setzt sich die Vorstellung durch, dass verschiedene Artkonzepte nebeneinander verwendet werden können (De Queiroz 2007). Auch die Analysekriterien können eine Rolle dabei spielen (siehe unten), wo und wie Artgrenzen in der Praxis gezogen werden. Dennoch scheint es allgemein so zu sein, dass häufiger zwei Arten dieselbe ITS-Sequenz besitzen, als dass innerhalb einer Art sehr unterschiedliche ITS-Sequenzen (mehr als fünf Prozent Unterschiede) vorkommen (Hughes et al. 2009). Dieses Bild ergibt sich jedenfalls in den besser untersuchten Pilzgruppen. In den weniger gut bekannten Pilzgruppen mit weniger gut etablierten Artdefinitionen kommen auch größere innerartliche Unterschiede vor (Schoch et al. 2012). Bei ökologischen und biogeografischen Untersuchungen hat sich ein Wert von drei Prozent etabliert (Begerow et al. 2010): Wenn also zwei Sequenzen mehr als drei Prozent Unterschiede aufweisen, werden sie verschiedenen „ITS-Arten", OTUs (operational taxonomic units), BINs (Barcode Index Number, Ratnasingham & Hebert 2013) oder „species hypotheses" (SH, Kõljalg et al. 2013, zugeordnet. Dieser Richtwert ist so gewählt, um die Artenzahlen nicht inflationär in die Höhe zu treiben. In Gruppen nah verwandter Arten betragen die Unterschiede zwischen Arten manchmal nur etwa ein Prozent, während die Unterschiede innerhalb einer Art einen ähnlichen Wert annehmen oder sogar darüber liegen können (siehe zum Beispiel Garnica et al. 2009, Stockinger et al. 2010, Walther et al. 2013).

Der große Vorteil der ITS (und anderer ribosomaler Gene) ist, dass in jeder einzelnen Zelle viele Kopien dieser Genregion vorhanden sind. Dadurch ist es möglich, diese Region auch aus biologischem Material zu amplifizieren, in dem Gene, die nur einmal pro Chromosomensatz vorkommen, nicht mit Standardmethoden amplifizierbar sind. Daher hat es sich in der Pilzbestimmung allgemein etabliert, zunächst die ITS zu amplifizieren und dann zu entscheiden, ob und welche anderen Gene für die gegebene Fragestellung benötigt werden (zum Beispiel Geiser et al. 2007, Seifert et al. 2007, Quadvlieg et al. 2014).

Selbst die europäische Funga, die sicher die bestuntersuchte der Welt ist, ist noch immer voll von Überraschungen. Morphologische Unterschiede, die zur Artunterscheidung herangezogen werden, werden oft nicht molekular bestätigt, während andererseits innerhalb von bekannten Arten neue entdeckt werden. In vielen Fällen werden zunächst keine morphologischen Unterschiede gesucht oder gefunden. Diese Arten werden dann als ‚kryptisch' bezeichnet (Bickford et al. 2007). Wegen der Unmöglichkeit aufgrund der schieren Menge allen molekular gefundenen ‚Arten' binomiale Namen zu geben, gibt es zunehmend Diskussionen über Parallelnomenklaturen, um eine Verständigung über solche Einheiten (Cluster, BINs, SHs, OTUs, siehe oben) zu ermöglichen.

Bei internationalen Sequenzdatenbanken (NCBI = GenBank, EMBL, DDBJ; die Datenbanken tauschen untereinander ihre Daten aus) besteht im Detail kein Interesse

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

daran, wie Sequenzen zu ihren Taxonnamen kommen. GenBank enthält viele pilzliche ITS-Sequenzen, und vergibt auch die sogenannte barcode flag, die anzeigt, dass die Daten gewissen Vollständigkeits- und Qualitätskriterien (festgelegt im DNA Barcode Standard, Hanner et al. 2009) entsprechen. Es wird jedoch nicht beurteilt, ob die taxonomische Zuordnung richtig ist. Tatsächlich wird es zunehmend leichter, ähnliche Sequenzen (Matches) zu einer zu benennenden Sequenz zu finden, da immer mehr Sequenzen in den Datenbanken versammelt sind. Zugleich sind inzwischen viele der Matches selbst unbenannt oder nur durch Sequenzvergleich benannt. Es gibt eine Reihe von kuratierten Datenbanken, die in vielen Fällen zuverlässigere Pilzbestimmungen zulassen als GenBank. Daher ist es unter Umständen sinnvoller, eine Identifikation mit einer dieser Datenbanken zu versuchen. In einigen (BOLD, s. o.; UNITE, http://unite.ut.ee) werden Sequenzen, darunter auch GenBank-Sequenzen, unabhängig vom originalen Namen versuchsweise taxonomisch eingeordnet. Da ITS-Sequenzen in der BOLD-Datenbank lange nicht unterstützt wurden, gibt es bis heute dort nur verhältnismäßig wenige eigene Pilzsequenzen. Das niederländische KNAW Fungal Diversity Centre – Centraalbureau voor Schimmelcultures betreut eine Reihe von Datenbanken (http://www.cbs.knaw.nl/collections/BioloMICSSequences.aspx). Weiterhin gibt es eine von Experten betreute Datenbank für die Gattung *Trichoderma/Hypocrea* (http://www.isth.info, die ISHAM (Internatioanl Society for Human and Animal Mycology) Datenbank für medizinisch relevante Pilze (ITS reference database for human and animal pathogenic fungi, http://its.mycologylab.org), eine Datenbank für Barcodes von *Saccharomycotina*-ex Typusstämmen (http://genome.jouy.inra.fr/yeastip/, Weiss et al. 2013) und die bereits genannte UNITE-Datenbank, die ursprünglich vor allem Ektomykorrhizapilzen gewidmet war, jetzt aber die gesamten Pilze bedient. Außerdem wurde auch im europäisch finanzierten QBOL-Projekt eine Datenbank mit pilzlichen ITS-Sequenzen von Quarantäne-Organismen (Arten, die aus phytosanitären Gründen nicht in die EU eingeführt werden dürfen) und ihren nahen Verwandten angelegt (http://www.q-bank.eu/Fungi/). Diese Liste der Datenbanken erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

Analog zu Deutschland haben auch einige Nachbarländer nationale DNA-Barcoding-Projekte auf die Beine gestellt. Nicht in allen Projekten wird deutlich, welche Organismen bearbeitet werden; nicht immer sind Pilze darunter. Im finnischen Barcoding-Projekt (http://www.finbol.org/eng/ENG_hankkeet.html) ist eine ausführliche Liste von Zielorganismen zu finden. Es scheint das einzige europäische Projekt zu sein, aus dem bereits in größerem Umfang Pilzdaten in BOLD hinterlegt wurden (ca. 3.700 Sequenzen), die aber möglicherweise noch nicht vollständig freigegeben sind. Estnische Wissenschaftler der Universität Tartu haben viele ITS-Sequenzen von heimischen Pilzen in die UNITE-Datenbank eingetragen, allerdings ohne den Rückhalt eines expliziten nationalen DNA-Barcoding-Projekts. In den Niederlanden wurde das DNA-Barcoding der CBS-Sammlung (CBS-KNAW Fungal Diversity Centre, früher Centraalbureau voor Schimmelcultures) finanziert; die Daten sind, beziehungsweise werden zunächst in der CBS-eigenen Datenbank veröffentlicht. Zudem wurde bei

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

Naturalis in Leiden ein Pilz-Barcoding-Programm unter Einbindung der NMV (Nederlandse Mykologische Vereniging) aufgelegt. Zielgruppen waren in erster Linie saprotrophe Gattungen (*Clitocybe*, *Omphalina*, *Mycena*, *Entoloma*, *Hygrocybe*, *Marasmius*, *Melanoleuca*, *Lepista*, *Lyophyllum*, *Gymnopilus*, *Galerina*, aber auch *Russula* und *Cortinarius*). Die Sequenzen werden zurzeit ausgewertet. Auch auf den Webseiten des norwegischen Projekts „NORBOL" und des entsprechenden Schweizer Projekts „SWISSBOL" werden Pilze erwähnt. Auch diese Projekte befinden sich noch in der Datenerhebungsphase. In Belgien und in Österreich gibt es nationale DNA-Barcoding-Projekte; Pilze sind aber anscheinend nicht auf der Zieltaxaliste.

Erstellung von Referenzdaten

Beim DNA-Barcoding ist die eigentliche Sequenzierung oft vergleichsweise einfach. Viel aufwendiger sind in vielen Fällen die Beschaffung von geeignetem Material, die Logistik und der administrative Aufwand vor und nach der Sequenzierung. In vielen DNA-Barcoding-Projekten, so auch GBOL, wird wenig Kapazität für eine taxonomische Bearbeitung der Ergebnisse vorgesehen. Tatsächlich ist die Namensgebung beim DNA-Barcoding nicht zwingend vorgesehen. Dennoch erscheint es vielen DNA-Barcodern, die aus der biologischen Systematik oder Taxonomie kommen, unangemessen, Sequenzen keine Namen zuordnen zu können. Auch viele Nutzer dürften einen Artnamen einer OTU- oder BIN-Nummer bevorzugen. Um DNA-Barcoding und Taxonomie miteinander zu vereinen, wären die Sequenzierung und das Studium von Typen und Artbeschreibungen notwendig. Das kostet Zeit, die in der Regel in den Projekten nicht vorgesehen ist. So erklärt sich unter anderem der häufig unangemessen lang erscheinende Zeitraum zwischen dem Projektbeginn und der Datenveröffentlichung.

Verwendung von DNA-Barcodes zur Identifizierung

Beim DNA-Barcoding braucht man außer Referenzdaten auch Verfahren für den Sequenzvergleich und Kriterien zur Beurteilung der Ergebnisse. Beides wird durch die Anwendung diktiert. Es ist eine Vielzahl von Verfahren entwickelt worden, die hier nicht aufgeführt werden können. Einige Hinweise finden sich beispielsweise auch bei (Collins & Cruickshank 2013) oder (Casiraghi et al. 2010). Hier sind nur die einfachsten Verfahren kurz zusammengefasst.

Eine Voraussetzung zur Interpretation von DNA-Barcodes ist, dass man sowohl die innerartliche wie auch die zwischenartliche Variation des Barcodes einschätzen kann. Das geht beispielsweise über den Vergleich des Maximums der innerartlichen Variation mit dem Minimum der zwischenartlichen Variation. Ist für eine gegebene Art das Maximum der innerartlichen Variation kleiner als das Minimum der zwischenartlichen Variation, dann ist die Bestimmung dieser Art mit DNA-Barcodes unproblematisch. Dieser Vergleich entspricht einer Abschätzung des „worst case". Ergeben sich aus der Masse der Daten für eine Art stark abweichende Minima oder Maxima, kann die Wahrscheinlichkeit einer korrekten Identifizierung viel größer sein als diese Werte

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

nahe legen. Deshalb sind Verfahren, die sich auf die Masse der Daten und nicht auf die Extreme stützen, unter Umständen aussagekräftiger. Der Unterschied zwischen der innerartlichen und der zwischenartlichen Variation wird auch „barcode gap“ (Meyer & Paulay 2005) genannt. Will man einen sinnvollen Schwellenwert zur Variation für die Unterscheidung von Arten festlegen, so lassen sich für einen Datensatz mit einer Vielzahl von Arten Häufigkeitsverteilungen der beiden Werte (innerartliche und zwischenartliche Variation) für alle sequenzierten Belege erstellen oder ein dynamisches Verfahren anwenden wie zum Beispiel das von Puillandre et al. (2011).

Eine in allen Datenbanken implementierte Methode ist BLAST (Altschul et al. 1999, siehe auch Schmidt-Stohn & Oertel 2010). Zu beachten ist, dass in die Sortierung der Ergebnisse neben der Qualität des Matches (Zahl der übereinstimmenden Basenpaare) auch die Sequenzlänge eingeht. Es lohnt auf jeden Fall zu überprüfen, ob ein guter Match auch die variablen Bereiche der ITS mit einschließt. Wenn allein die kodierenden Bereiche übereinstimmen, handelt es sich mit Sicherheit nicht um dieselbe Art, wahrscheinlich noch nicht einmal um dieselbe Gattung oder Familie. Obwohl BLAST eine rein quantitative Methode darstellt und Fehler in der Sequenz das Ergebnis stark beeinflussen können, lassen sich mit BLAST bei einer guten Referenzdatenbank erstaunlich gute Trefferquoten erzielen. Dies gilt selbst bei sehr nah verwandten Arten, deren intraspezifische Variabilität nicht stark unterschiedlich ist von der zwischenartlichen Variation. Selbst schlecht lesbare Sequenzen oder Sequenzfragmenten (eigene unveröffentlichte Ergebnisse) lassen sich oft richtig bestimmen. Eine gute „Trefferquote“ soll heißen, dass die Matches mit den besten Kennzahlen komplett oder in der überwiegenden Mehrheit einer einzelnen Art angehören und dass sich diese Bestimmung auch durch morphologische Untersuchungen bestätigen lässt.

Da allgemeine Schwellenwerte, wie der oben genannte Wert von drei Prozent, nie allen Taxa gerecht werden, sind für die Unterscheidung besonders nah verwandter Arten qualitative Verfahren entwickelt worden (character based barcode analysis, zum Beispiel Sarkar et al. 2008, Weitschek et al. 2013). Diese Verfahren basieren auf Sequenzalignments. Verwendet werden die konstanten Alignmentpositionen innerhalb von Arten und die konstanten Unterschiede zwischen Arten zur Identifizierung. Bei Genregionen von konstanter Länge, wie dem COI-Abschnitt des tierischen DNA-Barcodes, ist dies einfach zu bestimmen. Durch die Längenvariation der ITS ist aber das Alignment der Sequenzen weniger eindeutig. Bei einer dynamisch wachsenden Referenzdatenbank ist es daher nicht einfach, solche Verfahren zu implementieren.

Vielfach werden auch baumgebende Verfahren zur Identifikation verwendet. Im besten Fall bilden alle Sequenzen eines Taxons ein Monophylum, sprich einen einzelnen monopodialen Ast oder Clade (Klade), der alle Sequenzen enthält, die dem betreffenden Taxon zugeschrieben werden, aber keine Sequenzen eines anderen Taxons. Durch Bootstrap oder andere Tests kann man die Monophylie absichern. Voraussetzung für das Funktionieren eines solchen Verfahrens ist, dass mehrere Sequenzen pro Art vorhanden sind. Auch ist es sinnvoll, Rechenmethoden und Darstellungsweisen zu wählen, in denen die Astlängen proportional zur Sequenzdivergenz angezeigt

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

werden. Sonst ist kaum einzuschätzen, ob eine zu identifizierende Sequenz den anderen Sequenzen in einem Clade tatsächlich ähnelt. Eine zu bestimmende Sequenz kann sonst auch einem Clade zugeordnet werden, weil die tatsächlichen Artgenossen in der Referenzdatenbank fehlen; mit anderen Worten: die Artidentifizierung der Sequenz ist mit den vorhandenen Referenzdaten nicht möglich.

Allerdings bilden nicht alle Arten Monophyla, selbst wenn sich alle Mitglieder der Art in ihren Sequenzen stark ähneln und sich von ihren nächstverwandten Arten deutlich unterscheiden. Beispielsweise kann eine andere monophyletische Art in einem Baum in einer anderen Art nesten, die dann paraphyletisch ist (Abbildungen zur Erläuterung siehe Meyer & Paulay 2005). Stehen Sequenzen, die derselben Art zugeschrieben werden, an unterschiedlichen Positionen in einem Baum, kann es sich um Bestimmungsfehler, unterschiedliche Interpretation des Namens oder unerkannte, kryptische Arten handeln. Sind einzelne terminalen Äste in einem Clade sehr lang oder ein Art-Clade spaltet sich deutlich auf, können dies Hinweise auf unentdeckte Arten sein. Ob das tatsächlich so ist, sollte man jedoch mit Hilfe von anderen Methoden (Morphologie, Untersuchung andere Gene) verifizieren.

Identifizierung kinderleicht?

Es wäre naiv zu glauben, man könnte mit einer einzelnen Genregion alle Pilzarten unterscheiden. Für einige Pilzgruppen (Schoch et al. 2012) ist bereits seit längerem bekannt, dass eine Artidentifizierung mit ITS allein nicht möglich ist. Es ist immer ratsam, sich nicht auf einen einzelnen Merkmalskomplex zu verlassen, sondern alle zur Verfügung stehenden Daten in die Bestimmung mit einfließen zu lassen. Die Ergebnisse einer molekularen Identifizierung sollten immer unter Berücksichtigung der Datenlage und der verwendeten Methode interpretiert werden. Allgemein sind DNA-basierte Identifikationen besser reproduzierbar als konventionelle.

Wer sich daran gewöhnt hat, ITS-Barcodes in unklaren Fällen als Identifikationshilfe bei der Hand zu haben, wird ungern auf das Werkzeug verzichten wollen. Daher ist der Einsatz von DNA-Barcodes heute in der Wissenschaft wie auch außerhalb verbreitet. Die Verwendung von ITS-Daten zur Identifizierung von Pilzen ist in amtlichen Nachweislabors zugelassen (Unterausschuss Methodenentwicklung der LAG 2011). In der medizinischen Diagnostik werden ITS-Sequenzen verwendet. Andere Anwendungsgebiete sind beispielsweise die Erkennung von Holzzersetzern am Bau sowie die Analyse von Pilzen in Raumluft oder in Nahrungsmitteln. Die Verwendung von DNA-Barcodes im Naturschutz, etwa dem Nachweis von Arten an Stellen, an denen sie seit Jahren nicht beobachtet wurden, ist nur in Ansätzen erforscht (van der Linde et al. 2008). Vor allem in wissenschaftlichen Anwendungen (Metagenomics) wird bereits vielfältig ausgenutzt, dass man mit Hilfe von DNA-Barcodes auch Substrate untersuchen kann, in denen sich eine Vielzahl von Organismen aufhält, ohne dass man diese kennen oder zuvor zeitaufwendig trennen müsste (Lindahl et al. 2013). Ein solches Werkzeug ermöglicht es, neben Zeigerarten ganze Organismengemeinschaften zu untersuchen und zu benennen, unabhängig von der Saison und aktuellen Fruktifikationsbedingungen.

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

Auch im systematisch-taxonomischen Bereich wird viel auf ITS-Sequenzen zurückgegriffen, um sicherzustellen, dass morphologisch bestimmte Arten natürlichen Verwandtschaftsgruppen entsprechen. Für die Klärung der Verwandtschaftsverhältnisse nicht nah verwandter Arten ist die ITS weniger gut geeignet. Denn die dem Alignment zugrunde liegende Abschätzung der homologen Sequenzpositionen ist bei größerer evolutionärer Entfernung unsicherer. Im wissenschaftlichen Bereich hat sich mittlerweile durchgesetzt, dass mindestens ITS-Daten für neue Arten generiert werden. Für phylogenetische Untersuchungen wird heute jedoch – wenn möglich – auf mehr als ein Gen zurückgegriffen.

Die größten Vorteile der Identifizierung mit DNA-Barcodes sind 1. die allgemeine Anwendbarkeit auf Organismen in allen Lebensstadien, 2. die Ergebnisoffenheit, man muss einen Organismus nicht kennen, um aussagekräftige Daten zu erhalten, und 3. dass Organismen auch aus Mischproben identifiziert werden können. Noch findet ein gewichtiger Anteil aller beobachteten Pilzsequenzen aus metagenomischen Studien keine Entsprechung (Match) in Referenzdatenbanken (Nilsson et al. 2011). Eine Verbesserung der Referenzdatenlage könnte gezielt durch klassisches DNA-Barcoding von Belegexemplaren erreicht werden. Andere Organismengruppen sind erst in Folge von metagenomischen Studien entdeckt worden. In Umkehrung des klassischen Prozesses lernte man manche davon erst nachträglich, nachdem die Sequenzen gefunden wurden, auch als Organismen kennen (James & Berbee 2010 und Referenzen). Andere sind bis heute nur durch ihre Sequenzen bekannt.

Beim heutigen Stand der Technik ist DNA-Barcoding nicht unbedingt die Methode der Wahl, wenn es sehr schnell gehen muss. Ein mit Standardtechnologie ausgestattetes Labor braucht einen halben Tag, um einen DNA-Barcode zu generieren und auszuwerten. In der Praxis kostet es mehr Zeit, da nicht jede Probe einzeln ausgewertet werden kann. Man kann auf der Grundlage von DNA-Barcodes gezielt für bestimmte Arten oder Verwandtschaftsgruppen Sonden entwickeln, die dann mit PCR- oder hybridisierungsbasierten Methoden schnellere Ergebnisse liefern können. Solche Methoden haben dann aber den Nachteil, dass man vorher wissen muss, was man finden will – und auch nichts anderes entdecken kann.

Für Bakterien sind für alle beschriebenen Arten 16S-Sequenzen hinterlegt (Federhen 2011). Von einer solchen Abdeckung ist man bei Pilzen weit entfernt. Nur knapp drei Prozent der beschriebenen Arten sind auch mit ITS-Sequenzen in Datenbanken vertreten (Blackwell 2011, Bass & Richards 2011, Kõljalg 2013). Für alle anderen Loci sind es noch weniger. Angesichts der Tatsache, dass wir noch immer einen beträchtlichen Anteil der pilzlichen Diversität nicht kennen, wäre es eine große vertane Chance, in Zukunft nur in die Entwicklung gezielter Anwendungen zu investieren, statt in die weitere Erforschung der Diversität – was der eigentliche Leitgedanke des DNA-Barcoding ist.

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

Danksagung:

Für Ihre Mühe danken wir herzlich Janna Eberhardt, unserer fachfremden Gegenleserin des Manuskripts.

Literaraturverzeichnis:

Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990): Basic local alignment search tool. - Journal of Molecular Biology **215**: 403-410.

Bass D, Richards TA (2011): Three reasons to re-evaluate fungal diversity 'on Earth and in the ocean'. - Fungal Biology Reviews **25**: 159-164. doi:10.1016/j.fbr.2011.10.003

Begerow D, Nilsson H, Unterseher M, Maier W (2010): Current state and perspectives of fungal DNA barcoding and rapid identification procedures.- Applied Microbiology and Biotechnology **87**: 99-108. DOI 10.1007/s00253-010-2585-4

Bickford D, Lohman DJ, Sodhi NS, Ng PKL, Meier R, Winker K, Ingram KK, Das I (2007): Cryptic species as a window on diversity and conservation. - Trends in Ecology and Evolution **22**: 148-155. doi:10.1016/j.tree.2006.11.004

Blackwell M (2011): The Fungi: 1, 2, 3 … 5.1 million species? - American Journal of Botany **98**: 426-438. doi:10.3732/ajb.1000298

Brock PM, Döring H, Bidartondo MI (2009): How to know unknown fungi: the role of a herbarium. - New Phytologist **181**: 719-724.

Casiraghi M, Labra M, Ferri E, Galimberti A, De Mattia F (2010): DNA barcoding: a six-question tour to improve users' awareness about the method. - Briefings in Biosystematics **11**: 440-453.

Chen Y-C, Eisner JD, Kattar MM, Rassoulian-Barrett SL, Lafe K, Limaye AP, Cookson BT (2001): Polymorphic Internal Transcribed Spacer region 1 DNA sequences identify medically important yeasts. - Journal of Clinical Microbiology **39**: 4042-4051. doi:10.1128/JCM.39.11.4042-4051.2001

Clarridge III JE (2004): Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. - Clinical Microbiology Reviews **17**: 840-862. doi: 10.1128/CMR.17.4.840-862.2004

Collins RA, Cruickshank RH (2013): The seven deadly sins of DNA barcoding. - Molecular Ecology Resources **13**: 969-975. doi: 10.1111/1755-0998.12046

Federhen S (2012): The NCBI Taxonomy database. - Nucleic Acids Research **40**, Database Issue: D136-D143. doi:10.1093/nar/gkr1178

Fell JW,Boekhout T,Fonseca A,Scorzetti G, Statzell-Tallman A (2000): Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large-subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. - International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology **50**: 1351-1371.

Garnica S, Weiss M, Oertel B, Ammirati JF, Oberwinkler F (2009): Phylogenetic relationships in *Cortinarius*, section *Calochroi*, inferred from nuclear DNA sequences. - BMC Evolutionary Biology **9**: 1. doi:10.1186/1471-2148-9-1.

Geiser DM, Klich MA, Frisvad JC, Peterson SW, Varga J, Samson R (2007): The current status

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

of species recognition and identification in *Aspergillus*. - Studies in Mycology **59**: 1–10. 2007. doi:10.3114/sim.2007.59.01

Hanner R, CBOL Database Working Group (2009): Data Standards for BARCODE Records in INSDC (BRIs). http://barcoding.si.edu/pdf/dwg_data_standards-final.pdf

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, de Waard JR (2003): Biological identifications through DNA barcodes. - Proceedings of the Royal Society London Series B **270**: 313-321.

Horton TR, Bruns TD (2001): The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: Peeking into the black-box. - Molecular Ecology **10**: 1855-1871.

Hughes KW, Petersen RH, Lickey EB (2009): Using heterozygosity to estimate a percentage DNA sequence similarity for environmental species' delimitation across basidiomycete fungi. - New Phytologist **182**: 795-798.

James TY, Berbee ML (2011): No jacket required – new fungal lineage defies dress code. Recently described zoosporic fungi lack a cell wall during trophic phase. - Bioessays **34**: 94–102. doi: 10.1002/bies.201100110

Janda JM, Abbott SL (2007): 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: Pluses, perils, and pitfalls. - Journal of Clinical Microbiology **45**: 2761-2764. doi:10.1128/JCM.01228-07

Kõljalg U, Larsson K-H, Abarenkov K, Nilsson HR, Alexander IJ, Eberhardt U, Erland S, Kjøller R, Larsson E, Pennanen T, Sen R, Taylor AFS, Tedersoo L, Vrålstad T, Ursing BM (2005): UNITE - a database providing web-based methods for the molecular identification of ectomycorrhizal fungi. - New Phytologist **166**: 1063-1068.

Kõljalg U, Nilsson RH, Abarenkov K, Tedersoo L, Taylor AFS, Bahram M, Bates ST, Bruns TD, Bengtsson-Palme J, Callaghan TM, Douglas B, Drenkhan T, Eberhardt U, Dueñas M, Grebenc T, Griffith GW, Hartmann M, Kirk PM, Kohout P, Larsson E, Lindahl BD, Lücking R, Martín MP, Matheny PB, Nguyen NH, Niskanen T, Oja J, Peay KG, Peintner U, Peterson M, Põldmaa K, Saag L, Saar I, Schüssler A, Scott JA, Senés C, Smith ME, Suija A, Taylor DL, Telleria MT, Weiss M, Larsson K-H (2013): Towards a unified paradigm for sequence-based identification of Fungi. -Molecular Ecology **22**: 5271-5277. doi: 10.1111/mec.12481

Kurtzman CP, Robnett CJ (1998): Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. - Antonie van Leeuwenhoek **73**: 331-371.

Lindahl BD, Nilsson RH, Tedersoo L, Abarenkov K, Carlsen T, Kjøller R, Kõljalg U, Pennanen T, Rosendahl S, Stenlid J, Kauserud H (2013): Fungal community analysis by high-throughput sequencing of amplified markers – a user's guide. - New Phytologist **199**: 288-299. doi: 10.1111/nph.12243

Meyer CP, Paulay G (2005): DNA barcoding: Error rates based on comprehensive sampling. - PLoS Biology **3**: e422.

Nilsson RH, Abarenkov K, Larsson K-H, Kõljalg U (2011): Molecular identification of Fungi: Rationale, philosophical concerns, and the UNITE database. - The Open Applied Informatics Journal **5** (Suppl 1-M9): 81-86.

Peay KG, Kennedy PG, Bruns TD (2008): Fungal community ecology: A hybrid beast with a molecular master. - BioScience **58**: 799-810. doi:10.1641/b580907

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

Puillandre N, Lambert A, Brouillet S, Achaz G (2012): ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. - Molecular Ecology **21**: 1864-1877. doi: 10.1111/j.1365-294X.2011.05239.x

Quaedvlieg W, Binder M, Groenewald JZ, Summerell BA, Carnegie AJ, Burgess TI, Crous PW (2014): Introducing the consolidated species concept to resolve species in the *Teratosphaeriaceae*. - Persoonia **33**: 1-40. doi: 10.3767/003158514X681981

Ratnasingham S, Hebert PDN (2007): BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). - Molecular Ecology Notes **3**: 355-364. doi: 10.1111/j.1471-8286.2006.01678.x

Ratnasingham S, Hebert PDN (2013): A DNA-based registry for all animal apecies: The Barcode Index Number (BIN) System. - PLoS ONE **8**: e66213. doi:10.1371/journal.pone.0066213

Sarkar IN, Planet PJ, DeSalle R (2008): CAOS software for use in character-based DNA barcoding. - Molecular Ecology Resources **8**: 1256-1259. doi: 10.1111/j.1755-0998.2008.02235.x

Schmidt-Stohn G, Oertel B (2010): Methodik und Anwendung von DNA-Analysen in der Pilz-Taxonomie. - Zeitschrift für Mykologie **76**: 101-120.

Seifert KA, Samson RA, deWaard JR, Houbraken J, Lévesque CA, Moncalvo J-M, Louis-Seize G, Hebert PDN (2007): Prospects for fungus identification using CO1 DNA barcodes, with *Penicillium* as a test case. - Proceedings of the National Academy of Sciences USA **104**: 3901-3906. doi: 10.1073/pnas.0611691104

Stackebrandt E, Goebel BM (1994): Taxonomic note: A place for DNA–DNA reassociation and 16S rDNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. - International Journal of Systematic Bacteriology **44**: 846-849.

Stockinger H, Krüger M, Schüssler A (2010): DNA barcoding of arbuscular mycorrhizal fungi. - New Phytologist **187**: 461-474. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03262.x

Triebel D, Hagedorn G, Jablonski S, Rambold G. (Hrsg.) (1999- heute): Diversity Workbench – A virtual research environment for building and accessing biodiversity and environmental data. - http://www.diversityworkbench.net

Unterausschuss Methodenentwicklung der Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Gentechnik (LAG) (2011): Molekularbiologische Identifizierung von Pilzen mittels ITS- PCR und nachfolgender Sequenzierung. März 2011. AM028. - http://www.lag-gentechnik.de/methoden.html#pilze

Walther G, Pawlowska J, Alastruey-Izquierdo A, Wrzosek M, Rodriguez-Tudela JL, Dolatabadi S, Chakrabarti A, de Hoog GS (2013): DNA barcoding in *Mucorales*: an inventory of biodiversity. - Persoonia **30**: 11–47. doi: 10.3767/003158513X665070

Weiss S, Samson F, Navarro D, Casaregola S (2013): YeastIP: a database for identification and phylogeny of Saccharomycotina yeasts. - FEMS Yeast Research **13**: 117-25. doi: 10.1111/1567-1364.12017

Weitschek E, Van Velzen R, Felici G, Bertolazzi P (2013): BLOG 2.0: a software system for character-based species classification with DNA Barcode sequences. What it does, how to use it. - Molecular Ecology Resources **13**: 1043-1046. doi: 10.1111/1755-0998.12073

Will KW, Mishler BD, Wheeler QD (2005): The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy. - Systematic Biology **54**: 844–851. doi: 10.1080/10635150500354878

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

Ursula Eberhardt

gehört zur Gründungsgruppe der UNITE-Datenbank, hat 2007 die erste europäische DNA-Barcoding-Konferenz mitorganisiert und war von 2009-2011 für die DNA-Barcode-Produktion des CBS-KNAW in Utrecht verantwortlich. Sie ist die Ansprechpartnerin für GBOL Pilze. Sie beschäftigt sich mit der Systematik, Taxonomie und Phylogenie von verschiedenen Ektomykorrhizapilzgruppen.

Annemieke Verbeken

lehrt Mykologie an der Universität Gent. Sie beschäftigt sich mit der Systematik, Evolution und Taxonomie der Gattungen *Lactarius* und *Lactifluus*.

Jorinde Nuytinck

arbeitet zur Zeit am Naturalis Biodiversity Center in Leiden. Dort untersucht sie die Phylogenie und Evolution von Milchlingen. Jorinde ist auch am niederländischen DNA-Barcoding-Projekt beteiligt.

© 2014 – Deutsche Gesellschaft für Mykologie

Deutsche Gesellschaft für Mykologie e.V.
German Mycological Society

Dieses Werk stammt aus einer Publikation der **DGfM**.

www.dgfm-ev.de

Über Zobodat werden Artikel aus den Heften der pilzkundlichen Fachgesellschaft kostenfrei als PDF-Dateien zugänglich gemacht:

- **Zeitschrift für Mykologie**
  Mykologische Fachartikel (2× jährlich)
- **Zeitschrift für Pilzkunde**
  (Name der Heftreihe bis 1977)
- **DGfM-Mitteilungen**
  Neues aus dem Vereinsleben (2× jährlich)
- **Beihefte der Zeitschrift für Mykologie**
  Artikel zu Themenschwerpunkten (unregelmäßig)

Dieses Werk steht unter der Creative Commons Namensnennung - Keine Bearbeitungen 4.0 International Lizenz (CC BY-ND 4.0).

- **Teilen:** Sie dürfen das Werk bzw. den Inhalt vervielfältigen, verbreiten und öffentlich zugänglich machen, sogar kommerziell.
- **Namensnennung:** Sie müssen die Namen der Autor/innen bzw. Rechteinhaber/innen in der von ihnen festgelegten Weise nennen.
- **Keine Bearbeitungen:** Das Werk bzw. dieser Inhalt darf nicht bearbeitet, abgewandelt oder in anderer Weise verändert werden.

Es gelten die vollständigen Lizenzbedingungen, wovon eine offizielle deutsche Übersetzung existiert. Freigebiger lizenzierte Teile eines Werks (z.B. CC BY-SA) bleiben hiervon unberührt.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Zeitschrift für Mykologie - Journal of the German Mycological Society

Jahr/Year: 2014

Band/Volume: 80_2014

Autor(en)/Author(s): Eberhardt Ursula, Verbeken Annemieke, Nuytinck Jorinde

Artikel/Article: DNA-Barcoding, Pilze und das German Barcode of Life-Projekt (GBOL) 627-641