



Teil-Version

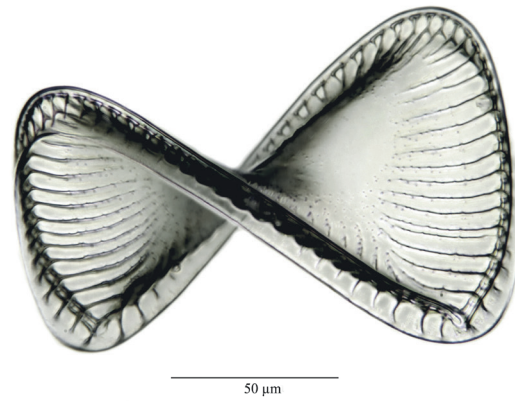
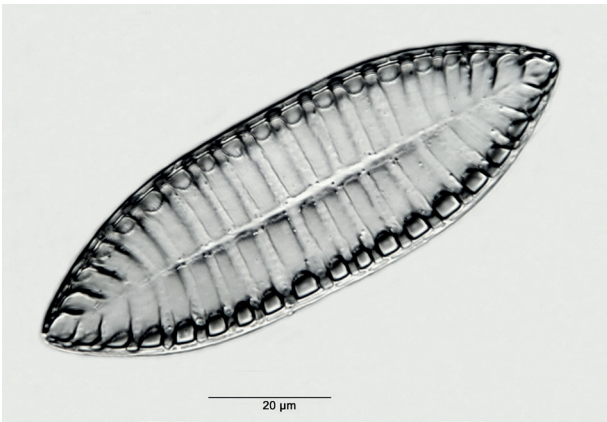


Umwelt-DNA (eDNA) – die revolutionierte Artensuche

Als Umwelt-DNA-Analyse wird ein neues Verfahren zum Nachweis von Arten bezeichnet. Das Verfahren basiert darauf, dass Lebewesen ständig eigenes artspezifisches Genmaterial in die Umwelt abgeben, indem sie Kot, Urin oder Speichel ausscheiden oder z.B. Körperzellen wie Haare und Schuppen verlieren. Mit heutigen molekularbiologischen Methoden kann diese in der Umwelt vorhandene DNA nachgewiesen werden. Da die DNA vieler Arten bereits analysiert vorliegt und im Internet in Referenzdatenbanken zur Verfügung steht, können

heute schon viele DNA-Sequenzen den Arten zugewiesen werden. Die Möglichkeiten der Anwendungen sind sehr zahlreich. Wie groß die Akzeptanz des Verfahrens in der angewandten Ökologie sein wird, muss sich zeigen. Sie hängt auch stark davon ab, ob der Artenschutz sich mit dem Nachweis der reinen eDNA von z.B. einer gefährdeten Art begnügt. Oder ob beispielsweise im Rahmen eines Umweltverträglichkeitsberichts der physische Nachweis von Individuen vorliegen muss.

Neue Erkenntnisse und Möglichkeiten



Surirella helvetica (links) und *Campylodiscus hibernica* (rechts), zwei seltene Kieselalgenarten. Mit eDNA-Metabarcoding kann das Vorkommen solcher Arten möglicherweise realistischer eingestuft werden.
Fotos: P.-R. Heck, Siegen (D)

DNA, die aus einer Umweltprobe und nicht aus einem einzelnen Individuum stammt, wird eDNA genannt (engl. environmental DNA, deutsch Umwelt-DNA). eDNA enthält Spuren von DNA verschiedener in der beprobten Umwelt vorkommender Lebewesen. DNA von Lebewesen kann z.B. über Speichel, Fäkalien, Hautschuppen, Haare, Fortpflanzungszellen und andere Gewebereste in die Umweltproben gelangen und so mittels DNA-Barcoding nachgewiesen werden.

Die Analyse der eDNA hat in der angewandten Biologie eine kleine Revolution ausgelöst. Neuartig ist die Analyse sämtlichen genetischen Materials, das z.B. in einer Gewässer-, Boden- oder Luftprobe enthalten ist. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse sind durchaus erstaunlich: So wurde die invasive Quagga-Muschel (*Dreissena rostri-*

formis bugensis) im Rhein bei Basel nachgewiesen, bevor man sie sichten konnte¹. Die kürzlich neu beschriebene Art eines Bachflohkrebses *Gammarus alpinus* in Schweizer Gewässern ist nur ein Beispiel, wie neue Arten dank DNA-Barcoding gefunden werden können². Auch konnte mittels eDNA-Metabarcoding die zeitliche Entwicklung von Blaualgenblüten während der letzten 200 Jahre in Sedimentkernen des Zürich- und Greifensees aufgezeigt werden³.

Die Methodik des eDNA-Metabarcodings erlaubt im Vergleich zu den klassischen Verfahren völlig neue Einblicke in altbewährte Themen. Die Fortschritte sind zur Zeit enorm. Aus Sicht der Forschung erleichtert das Verfahren des eDNA-Metabarcodings die Erstellung eines robusten Katalogs des Lebens für Einzeller (wie Algen und Wimpertierchen), Tiere und höhere Pflanzen sowie lokale oder regionale Biodiversitätserfassungen. Außerdem ermöglicht die eDNA Fortschritte in der ökologischen und evolutionären Grundlagenforschung, weil es grundlegende Informationen zur Lebewesengesellschaft, deren Zusammensetzung, Verknüpfungen in der Nahrungskette, Energieflüssen, Verteilung und die Grundlagen ihrer Diversität liefern kann. Besonders Kleinstlebewesen (wie Einzeller, Pilze, Bakterien) können über dieses Verfahren einfacher und schneller erfasst werden, als es die traditionelle Untersuchung per Mikroskopie erlaubt. Generell kann nur auf Artniveau bestimmt werden, wenn die artspezifischen Barcodes (DNA-Sequenzen) bekannt sind.

Das Verfahren um die eDNA bietet eine grosse Anzahl an Möglichkeiten. Im Folgenden werden das Verfahren erläutert und die potentiellen Einsatzmöglichkeiten in der angewandten Gewässerökologie mit den Vor- und Nach-

Bild Titelseite: Bild eines Sequenzalignments (engl. alignment = Ableich, Anordnung). Jede Zeile stellt einen Ausschnitt einer DNA-Sequenz verschiedener Kieselalgen dar, wobei die Basen (Adenin, Cytosin, Guanin, Thymin) mit verschiedenen Farben eingefärbt sind. Dieser Genabschnitt ist ein häufig eingesetzter DNA-Barcode um Kieselalgenarten zu unterscheiden.

Quelle: J. Zimmermann

teilen diskutiert. Den Einsatzmöglichkeiten in weiteren Bereichen wie Lebensmittelherstellung, Gebäudetechnik, industriellen Produktionsverfahren oder Landwirtschaft sind kaum Grenzen gesetzt. Diese werden im vorliegenden Artikel aber nicht behandelt. Im Bereich der angewandten Gewässerökologie können heute schon und vermutlich in naher Zukunft standardmässig folgende Themen auch mittels eDNA angegangen werden. Artenspezifische Referenzen müssen aber gegeben sein.

- Artbestimmung äusserlich (morphologisch) schwierig zu bestimmender Artgruppen in Gewässerproben
- Artbestimmungen aufgrund von vorhandener, artspezifischer DNA im gesammelten Material (ganzer Organismen oder nur Organismenpartikel wie Exkremente (Urin, Kot, Speichel), Schuppen, Haare und Blut)
- Qualitätskontrolle im Sinne von Überprüfungen bei morphologischen Artbestimmungen
- Artenvielfalt einer Region (z.B. Einzugsgebiet eines Fließgewässers)

- Artenvielfalt in schwer zugänglichen Gebieten (wie Höhlen, Schluchten, grosse Flüsse, Tiefenwasser von Seen, Naturschutzgebiete)
- Verbreitung von Arten (wie Neobiota, geschützte Arten)
- Frühzeitiges Erkennen von Krankheitserregern, Parasiten, invasive Arten etc.
- Zeitliche Entwicklung von Arten (via Naturarchive wie Seesedimente, Moore)

Die neuartigen Verfahren werden es erlauben, die Untersuchungen in hoher Anzahl an Proben, mit schneller Verfügbarkeit der Resultate und grossräumig durchzuführen. Eine jetzt schon absehbare Weiterentwicklung der Verfahren dürfte die Möglichkeit bieten, Populationen voneinander zu unterscheiden und Aussagen zum physiologischen Zustand der Individuen zu machen. Im Bereich der Bakterien werden diese Verfahren schon eingesetzt. Für höher organisierte Organismen (Algen, Mehrzeller) bedarf es noch einige Jahre der Grundlagenforschung.



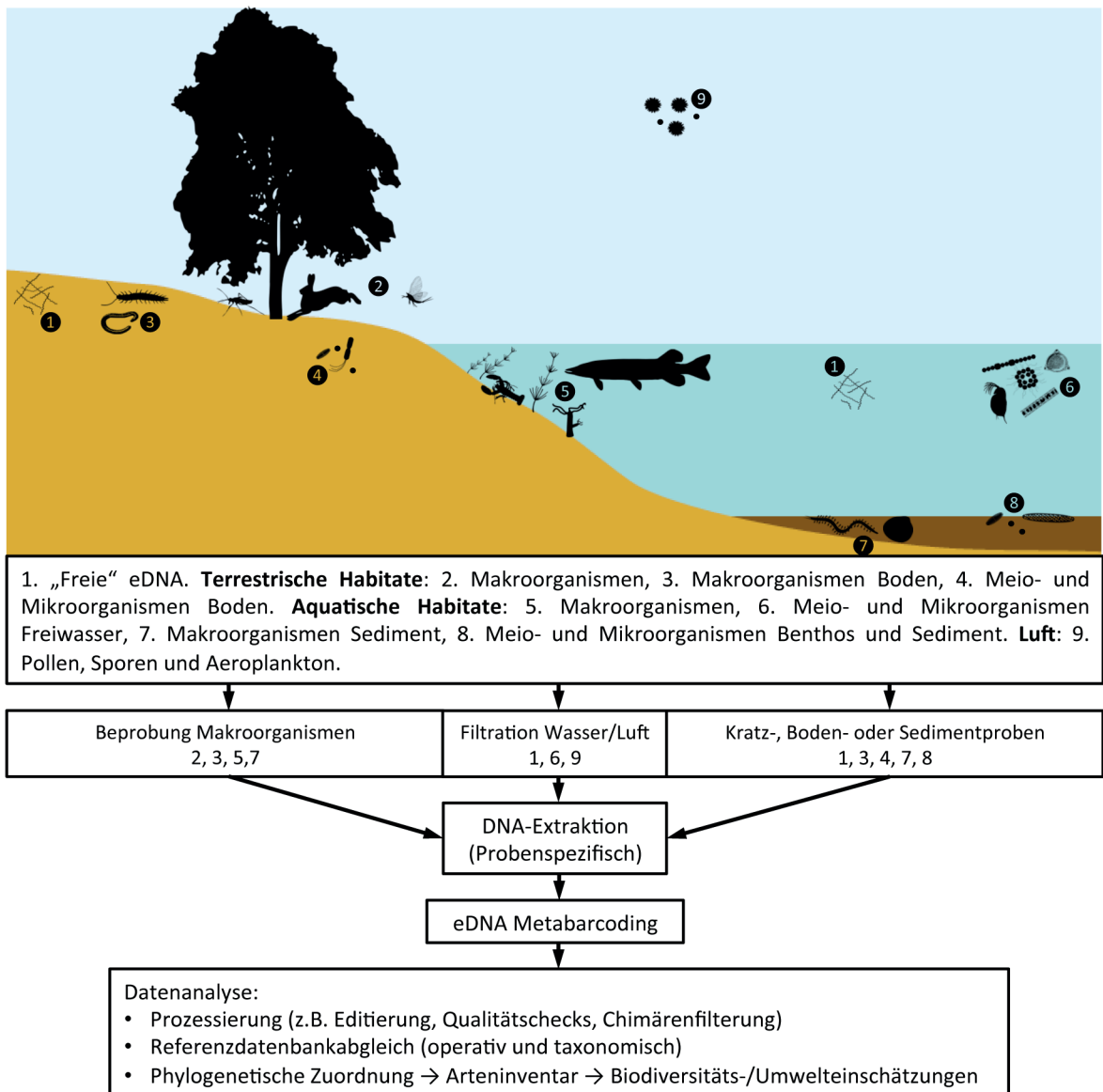
Die Quagga-Muschel (*Dreissena rostriformis bugensis*) stammt ursprünglich aus dem Schwarzen Meer (unten). Von dort breitete sie sich zunächst in osteuropäischen Gewässern aus und machte sich dann nach Westen auf. Mit Schiffen wurde sie bis nach Nordamerika verschleppt (links). Diese Art ist fähig, ganze Oekosysteme zu verändern, weshalb ein früher Nachweis ihres Vorkommens wichtig ist.
Fotografien: NPS & NOAA Great Lakes Environmental Research Laboratory



Wie das eDNA-Verfahren funktioniert

Zu Beginn wird in der Umwelt eine Probe entnommen. Im Fall der Gewässerökologie kann das beispielsweise eine Gewässer- oder Sedimentprobe sein. Auch Kotproben von Wasservögeln wären unter den vielen Möglichkeiten der Probeentnahme denkbar. Anschliessend wird aus den Proben das vorhandene genetische Material herausgelöst und dann mit dem neuartigen eDNA-Metabarcoding analysiert. Ein DNA-Barcode ist ein kurzer Sequenzabschnitt

des gesamten DNA-Strangs, der in allen zu untersuchenden Lebewesen vorkommt und in der Regel zur Artunterscheidung nutzbar ist: Die DNA eines Lebewesens besteht aus mehreren bestimmten Abschnitten und diese werden wiederum aus bestimmten Abfolgen von Basenpaaren gebildet. Mit genetischen Analyseverfahren können Abschnitte und Abfolgen von Basenpaaren bestimmt werden, die typisch für eine Art sind.



Alle Lebewesen geben laufend Partikel an ihre Umwelt ab, die zur eDNA beitragen: von den Mikroorganismen, deren Grösse gerade mal ein tausendstel Millimeter beträgt, über die bis ein Millimeter grossen (Meio-) Organismen, die in und auf den Böden von Land und Gewässern (Benthos) oder im freien Wasser leben bis zu den grösseren und grossen Arten. All diese Quellen an Land und in Gewässern, werden aber auch mit der Luft herangeweht wie etwa Gewittertieren und Baldachinspinnen als Aeroplankton. Je nach Lebensraum und Grösse der Lebewesen müssen andere Methoden der Probenahme gewählt werden. Bei Makroorganismen nimmt man die Probe am Tier. Die eDNA wird aus den Proben herausgelöst und anschliessend im eDNA-Metabarcoding verwendet. In der Datenanalyse werden die Daten bereinigt und dem Untersuchungsgrund zugeführt. Die letzten beiden Schritte haben ihre Tücken und enthalten viel «methodischen Zündstoff». Mehr dazu im Haupttext.

Quellen: Organismenabbildungen nach PhyloPic 2017, T. M. Keesey Open source (MIT License) & J Zimmermann

Liebe Leserin, lieber Leser

Dieses Teil-PDF ist der erste Teil des 12-seitigen Artikels. Über Ihre Bestellung des kompletten Artikels in unserem Shop würden wir uns sehr freuen.

Ihr Wildtier Schweiz-Team

Was macht nun das neue Verfahren mit dem DNA-Barcode? Es bestimmt die Artzugehörigkeit des Lebewesens anhand des DNA-Barcodes, indem sie diesen mit Referenzbarcodes in Datenbanken abgleichen. Vergleichbar ist diese Zuordnung mit dem Verfahren des Produktstrichcodes im weltweiten Warenhandel.

Beim eDNA-Metabarcoding wird die aus den Proben extrahierte eDNA sequenziert, indem das genetische Material gezielt in Barcodes zerstückelt wird. Da in einer eDNA-Probe DNA von sehr vielen verschiedenen Lebewesen enthalten ist, muss der Sequenzierungsvorgang paral-

lel laufen (High-Throughput-Sequencing, HTS), sodass viel Zeit gespart werden kann. Derart werden hunderttausende Sequenzen generiert, die dann Referenzbarcodes in wissenschaftlichen Datenbanken zugeordnet werden⁴. So können alle in der Probe befindlichen Lebewesen oder deren genetische Spuren Einträgen in den Datenbanken zugeordnet werden - soweit es einen Referenzbarcode der jeweiligen Art in den entsprechenden Datenbanken gibt.

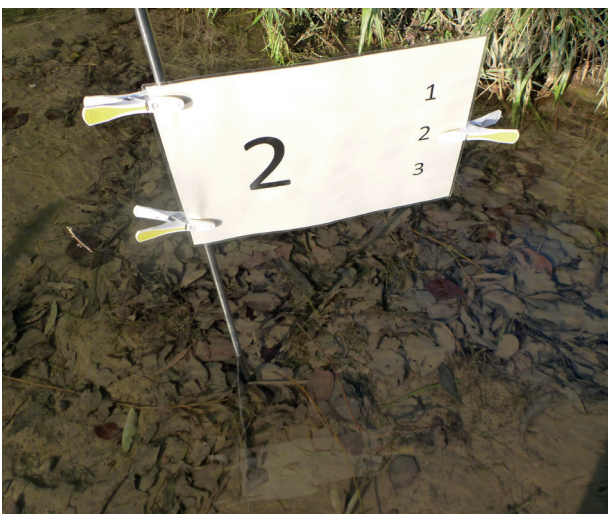
Dieses Verfahren ist nur möglich, weil lebende Organismen in der Umwelt laufend genetische Spuren hinterlassen. So befindet sich auch bei geringer Individuendichte

Von der Probenahme ins Labor

Die Probenahme ist abhängig von den zu untersuchenden Lebewesen, Ökosystemen und Artbestimmungsverfahren. Entsprechend müssen das Probenvolumen und die Häufigkeit der Probenahme angepasst werden. Die Probenahme für die verschiedenen Probenarten ist noch nicht standardisiert. Dennoch gibt es entsprechende Bemühungen z.B. in der CEN EU-Wasserrahmenrichtlinie. Das ist insbesondere bei übergeordneten (z.B. länderübergreifen-

den) Studien oder bei Langzeitüberwachungen sehr wichtig. Nur standardisierte Verfahren gewährleisten die Vergleichbarkeit verschiedener Sammelkampagnen.

Am Beispiel der Europäischen Sumpfschildkröte (*Emys orbicularis*) konnte festgestellt werden, dass der Nachweis in kleinen, künstlichen Gewässern oder in natürlichen Flachgewässern besser gelang als in natürlichen, grossen Gewässern. Die Nachweiswahrscheinlichkeit der Art war



Systematische Beprobung, kontaminationsfreies Arbeiten, Kennzeichnung und Dokumentation der Probenahmestellen (links). Je nach Fragestellung werden Wasserproben analysiert oder gezielt Substrate entnommen (rechts).

Fotografien: AquaPlus AG

Links

- www.swissbol.ch
- www.insdc.org
- www.boldsystems.org
- dnaqua.net

Zu den Autoren

Jonas Zimmermann ist Biologe im Bereich der molekularen und evolutionären Taxonomie am Botanischen Garten und Botanischen Museum, Freie Universität Berlin. Im Rahmen seiner Dissertation an der Justus-Liebig-Universität Giessen beschäftigte er sich mit dem Vergleich von eDNA Metabarcoding und mikroskopischer Bioindikation bei Kieselalgen. Der Fokus seiner Arbeit liegt auf der Verbesserung/Implementierung des eDNA Metabarcodings für Gewässergüteeinschätzungen im Rahmen der EU WRRL und die Erstellung und Kuratierung von Referenzdatenbanken.

Joachim Hürlimann ist Biologe mit langjähriger Erfahrung im Bereich Limnologie und Gewässerökologie. Im Rahmen seiner Dissertation an der Universität Zürich beschäftigte er sich mit dem Thema Bioindikation. Er ist Mitbegründer und seit 1990 Mitinhaber der Firma AquaPlus AG in Zug. Im Auftrag führt er umweltspezifische Gutachten und Monitoringprogramme durch.

Kontakt Autoren

Jonas Zimmermann: j.zimmermann@bgbm.org
Joachim Hürlimann: joachim.huerlimann@aquaplus.ch

Dank

Wir danken allen, die bei der Entstehung dieser Publikation mitgeholfen haben; sei es durch wertvolle Diskussionen, Gegenlesen von Texten (Wolf-Henning Kusber, Neela Enke, Ernst Roth, Matthias Sturzenegger) oder zur Verfügung gestellten Grafiken (phylopic.org/), Fotos und Daten (Botanischer Garten und Botanisches Museum, Freie Universität Berlin, AquaPlus AG, Zug, Zürcher Hochschule für angewandte Wissenschaften, Wädenswil).

Impressum

Herausgeber: Wildtier Schweiz, Winterthurerstrasse 92, CH-8006 Zürich, Tel. +41 (0)44 635 61 31, info@wildtier.ch, www.wildtier.ch

Redaktion: Elisa Mosler, *Administration:* Patrik Zolliker, *Satz und Layout:* Elisa Mosler, *Gestaltungskonzept:* Rosa Guggenheim, *Druck:* Käser Druck AG, Stallikon

Jahresabonnement: Print (inkl. PDF) CHF 74.–
(Ausland: EUR 79.–), nur PDF CHF 54.–
(Ausland: EUR 54.–)

Kündigungen: auf Ende eines Kalenderjahres.

Erscheint: viermal jährlich, mit acht Beiträgen pro Jahr.
erhältlich auf: www.wildtier.ch/shop



Wildtier
Schweiz