

UNIVERSITÄT
DUISBURG
ESSEN

Open-Minded



AQUATIC
ECOSYSTEM
RESEARCH

ZWU

ZENTRUM FÜR
WASSER- UND UMWELTFORSCHUNG



cost
EUROPEAN COOPERATION
IN SCIENCE AND TECHNOLOGY



Chancen & Herausforderungen genetischer Methoden für großflächige Biodiversitätserhebungen

Florian Leese, Universität Duisburg-Essen

ILTER-D Jahrestagung

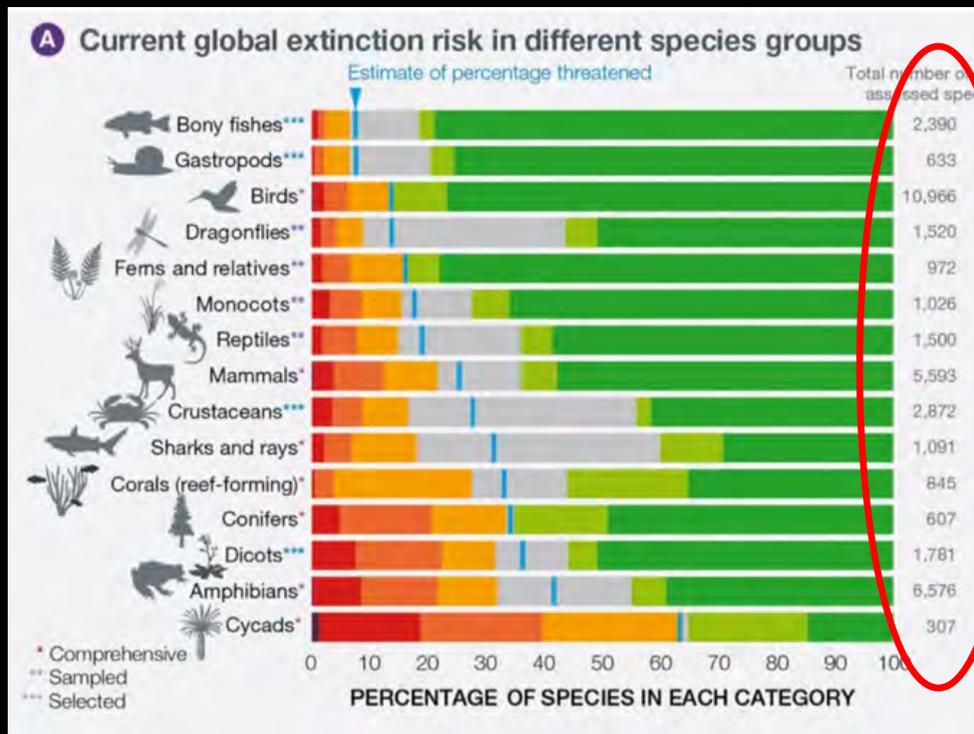
9. März 2020

Umweltforschungszentrum (UFZ)

Leipzig



Biologische Vielfalt verändert sich rasant – aber umfassende, harmonisierte Daten sind rar!



IPBES 2019



NY Times, 27.11.2018

Biodiversitätserhebungen national und international

Auswahl der internationalen, europäischen und nationalen Regelwerke und Strategien, die für das BM in Deutschland relevant sind
 Selected international, European and national regulations and strategies relevant to biodiversity monitoring in Germany

International	EU	Deutschland
<ul style="list-style-type: none"> • Globale Umweltabkommen, u. a. die völkerrechtlich bindende CBD mit ihrem Strategischen Plan und den Aichi-Biodiversitätszielen * 	<ul style="list-style-type: none"> • Fauna-Flora-Habitat-(FFH-)Richtlinie • EG-Vogelschutzrichtlinie • Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) • Meeresstrategie-Rahmenrichtlinie (MSRL) • Richtlinie über die absichtliche Freisetzung von genetisch veränderten Organismen (GVOs) • Verordnung über die Förderung der Entwicklung des ländlichen Raums (ELER) • EU-Biodiversitätsstrategie mit Aktionsplänen * 	<ul style="list-style-type: none"> • Nationale Strategie zur biologischen Vielfalt (NBS) mit Maßnahmenkatalog * • Bundesnaturschutzgesetz • Wasserhaushaltsgesetz • Bundesbodenschutzgesetz

* Regelwerk ohne Sanktionsmechanismus.

Marquard et al. (2013)

Wunsch: Großflächige, standardisierte, validierte, plausibilisierte, interkalibrierte, hoch-auflösende Echtzeitverfahren im Biomonitoring
 Daten für Wissenschaft von essentieller Bedeutung

Biodiversitätserhebungen z.B. im Rahmen der WRRL

- In Deutschland/EU gut etabliert
- Qualitätssicherung +/- eingeführt
- Relativ breite Basis von Experten
- Ergebnisse oft erst lange nach der Probennahme verfügbar
- Limitierte Beprobungen pro Jahr möglich
- Erfassung spez. Biokomponenten, nicht umfassend
- Taxonom. Expertise teils lückenhaft
- Für viele Länder keine präzisen Taxalisten / Referenzen, Bewertung nötig

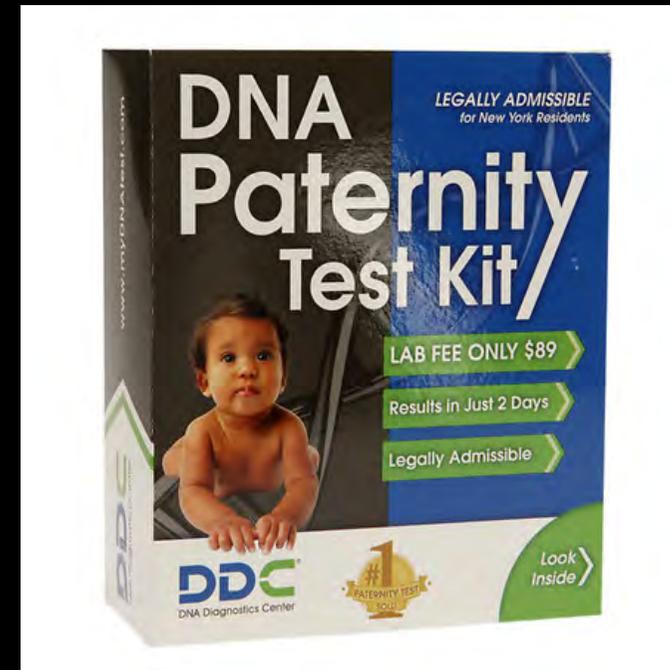
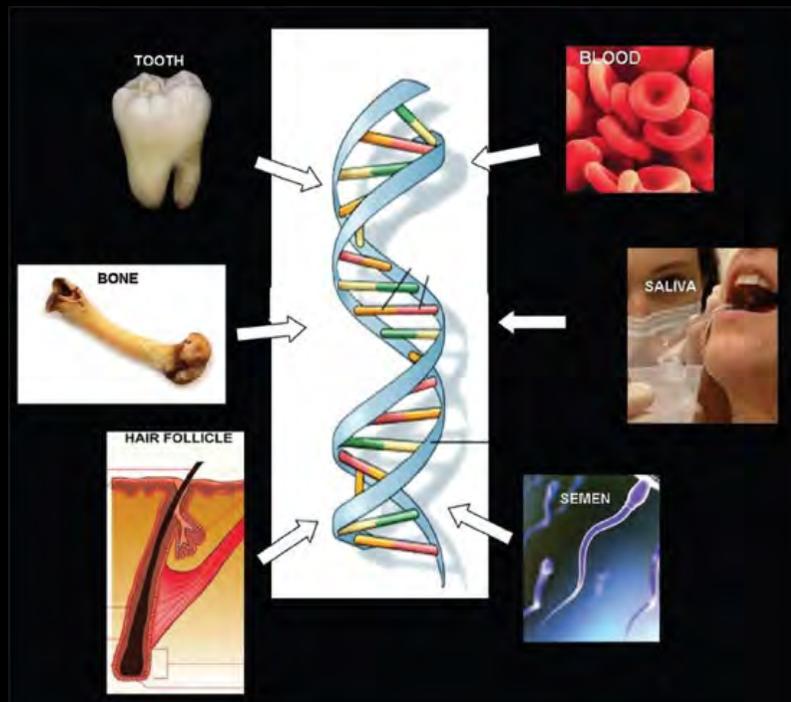
Prozesskette zur Erfassung des ökologischen Zustands



Leese, Hering & Wägele (2017) Wasserwirtschaft

Warum DNA?

@leeselab



In der behördlichen Praxis oft eingesetzt

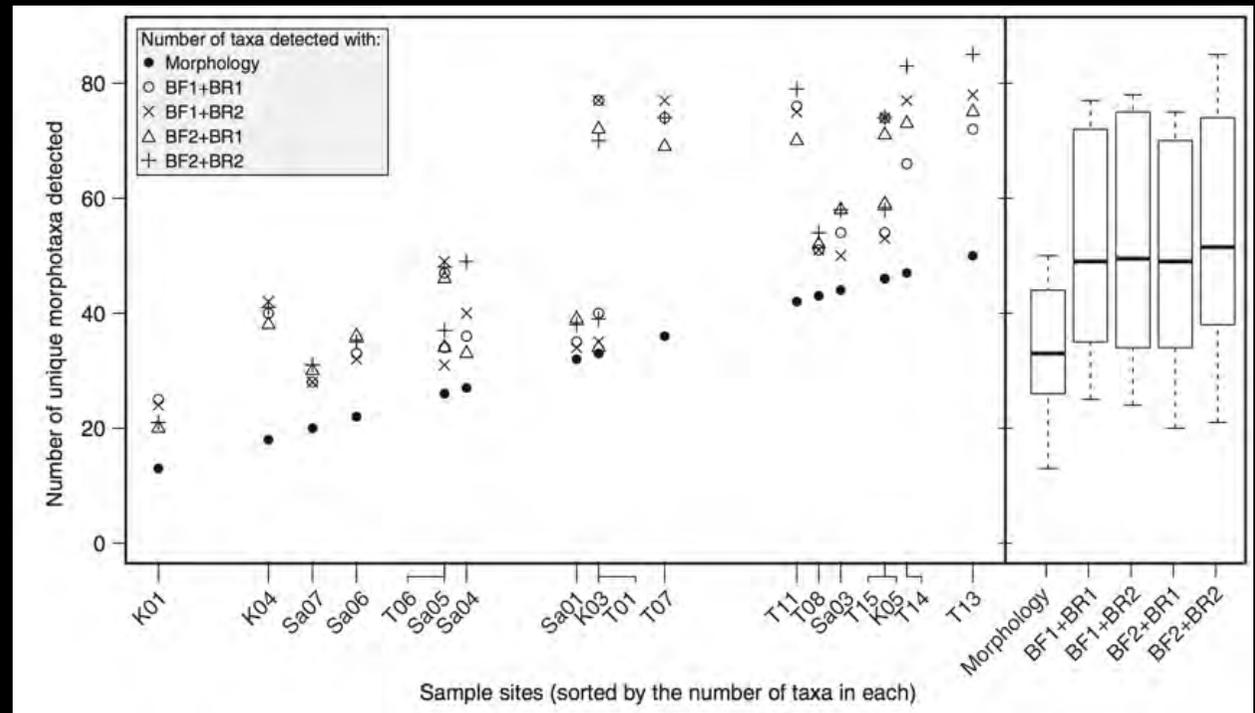
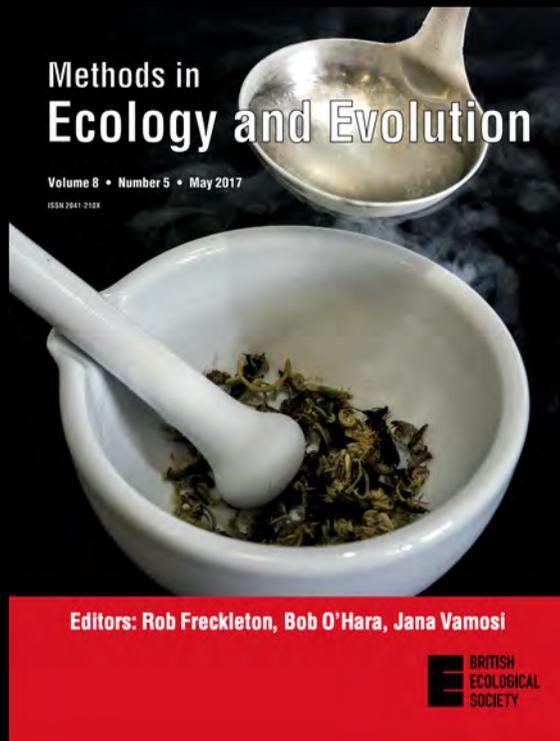
GULLY-ANSCHLAG AUF ZUG

DNA-Spur an den Seilen führte zum Lokführer!



© Keystone (Tagesanzeiger.ch)

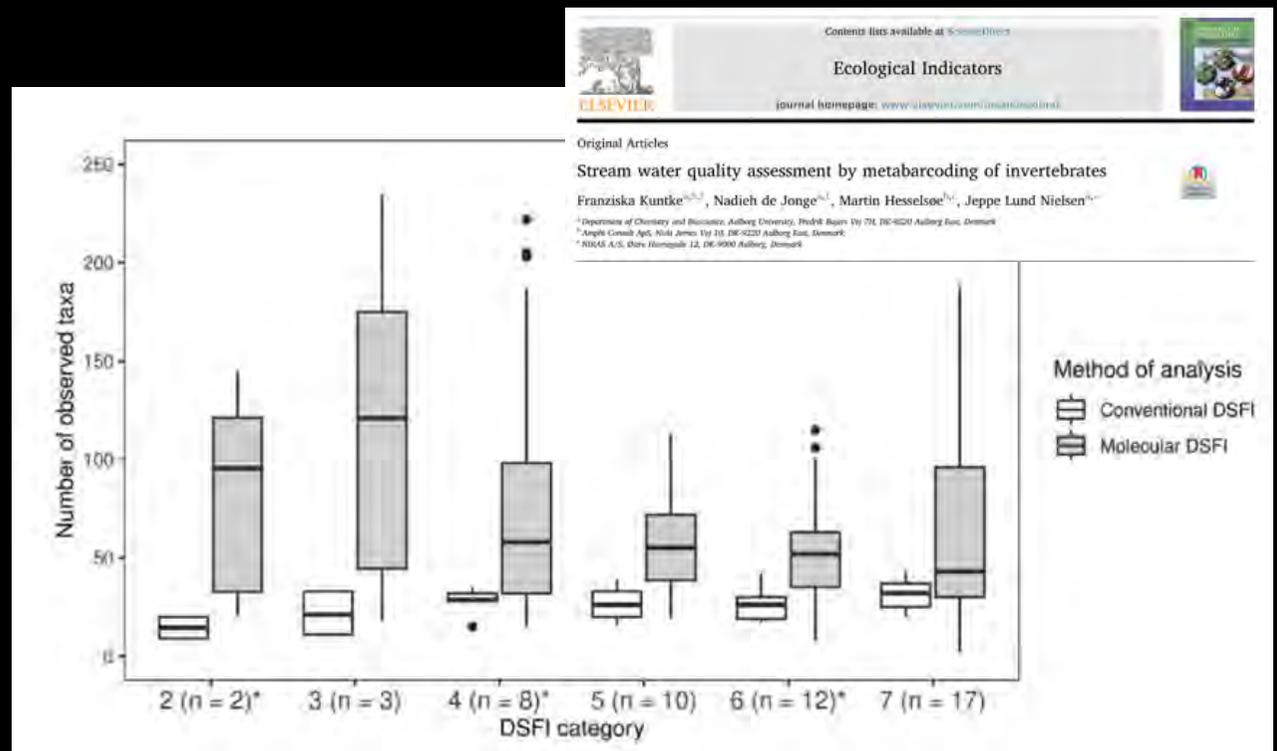
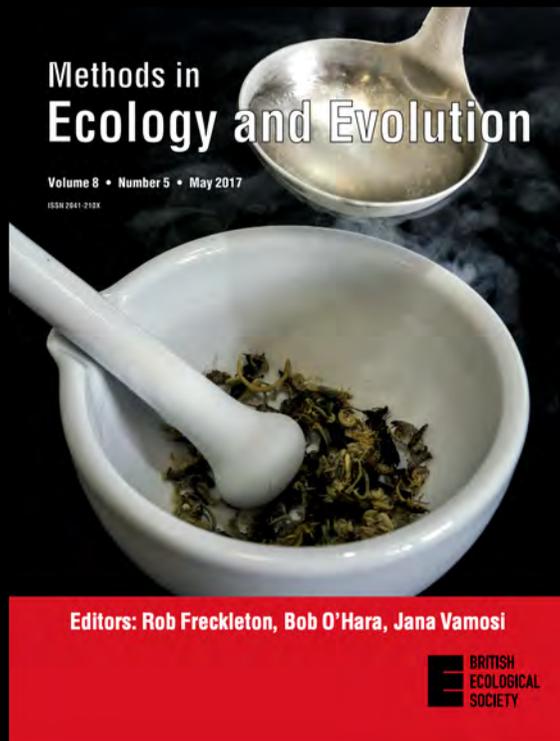
DNA-Barcoding & Metabarcoding



→ Standardisierte und hochauflösende Erfassung von Biodiversität

Elbrecht und Leese 2016; Elbrecht et al. 2017

DNA-Barcoding & Metabarcoding



→ Standardisierte & hochauflösende Erfassung von Biodiversität

Monitoring nicht-destruktiv

KgM

Kleingewässer
Monitoring

HELMHOLTZ
ZENTRUM FÜR
UMWELTFORSCHUNG
UFZ



- Tiermaterial bleibt erhalten – aus Lagerflüssigkeit (Ethanol) extrahieren
- Relativ schnell und einfach (237 Proben im März 2020)

Siehe Zizka et al. 2019

19/03/2020



Kleingewässermonitoring → >4000 OTUs

OTU Taxonomie COI-Sequenz Probestellen mit #Sequenzen / OTU

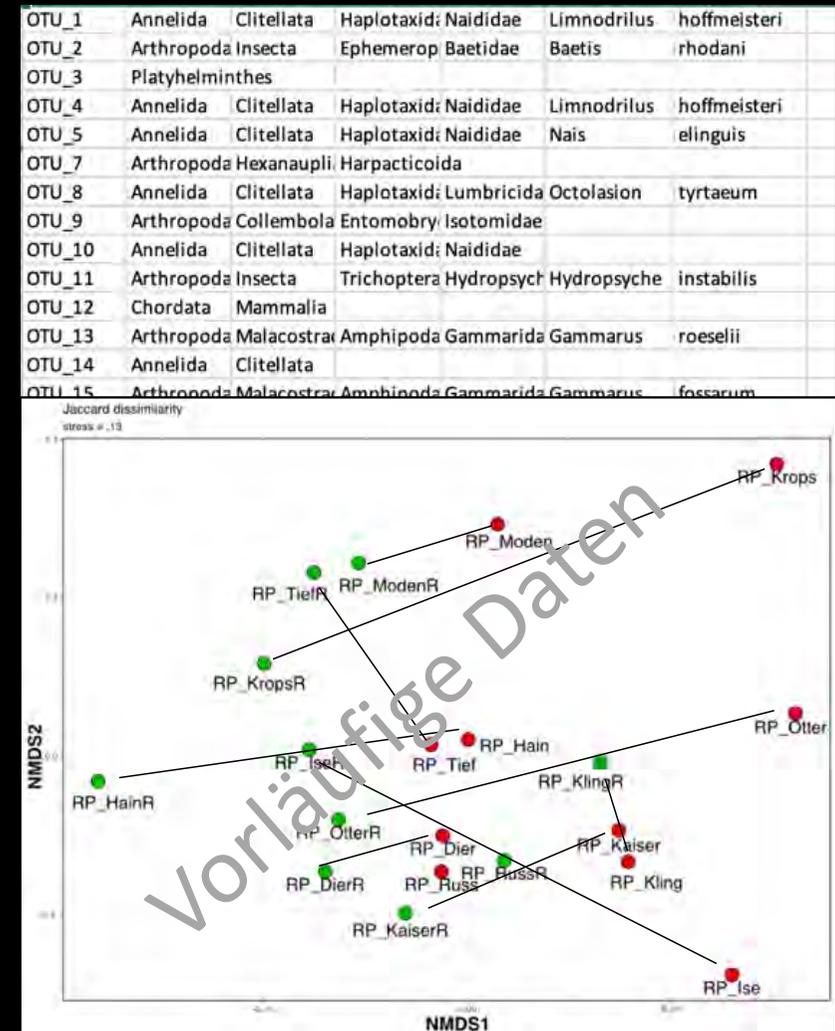
OTUs	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Similarity	seq	BB_Karwe	BB_Rod	BW_Gruen	BY_Aff	BY_Eis	BY_ForeilR	BY_Petz	MV_Au	NI_Alfr	NI_Aue	NI_Breit	NI_Hach	NW_Helm	RP_Dier	RP_DierR	RP_Hain	RP_HainR	RP_Ise	
1	OTU_1	Annelida	Clitellata	Haplotaxidi	Naididae	Limnodrilus	hoffmeister	100	CACCCTATACATAAATCTTTGGCCCTTGAGCAGGA	21722	5189	1986	6583	52	3276	21	224	23	1293	3051	95	18140	1983	6091	132702	0	18997
2	OTU_2	Arthropoda	Insecta	Ephemeroptera	Baetidae	Baetis	rhodani	100	TACTCTATATTTCAATTTTGGTCTGGGCGAGT	31	4825	0	846	77	0	255	657	22694	466	2926	27221	231	26932	1989	13544	29240	48
3	OTU_3	Platyhelminthes						75,07	AAGATTGATTTCAATTTTGGTATTTTGGGTT	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	113	49165	0	19609	0	
4	OTU_4	Annelida	Clitellata	Haplotaxidi	Naididae	Limnodrilus	hoffmeister	100	CACCCTATATAAATCTTTGGCCCTTGAGCAGGA	658	266	0	397	0	1118	0	17	0	2442	81	785	1870	19865	9371	0	14460	
5	OTU_5	Annelida	Clitellata	Haplotaxidi	Naididae	Nais	ellinguis	100	TACATTAATAAATCTTTGGCCCTTGAGCAGGA	27	81	13	1470	3885	0	11121	21	1142	52	1940	0	22217	825	122	141	0	0
6	OTU_6	Bacillariophyta	Bacillariophyceae					82,72	TACTTTATAATTTTGGTCAATTTCTGGTG	913	181	0	2186	256	0	428	260	23	16615	0	9	54703	0	0	0	0	2608
7	OTU_7	Arthropoda	Hexanauplia	Harpacticoida				86,67	TACTTTATAATTTTGGTCAATTTCTGGTG	0	738	0	153	1625	0	2090	0	980	29641	16966	348	123	0	0	0	0	55
8	OTU_8	Annelida	Clitellata	Haplotaxidi	Lumbricida	Octolasion	tyrtaeum	100	AACCCTTACTTTATCTTTGGAGTTGAGCCGGT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	OTU_9	Arthropoda	Collembola	Entomobrya	Isotomidae			100	TACATATAATTTAATTTTGGGTTGATCTGCTA	0	2758	0	0	0	65955	0	19	0	0	0	0	1776	1922	0	0	0	0
10	OTU_10	Annelida	Clitellata	Haplotaxidi	Naididae			100	CACCCTTACATAGTTTGGCTTATGAGCCGGA	0	0	0	152	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5832	0	0	
11	OTU_11	Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Hydropsychidae	Hydropsyche	instabilis	100	CACCTTTAATTTAATTTGGAACTGATCAGGT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	51	0	0	0	0	0
12	OTU_12	Chordata	Mammalia					77,78	AACACTTTAATTTTGGTCTATTTCTGGAC	0	1399	0	874	0	383	759	3193	0	61	1264	26	35513	0	0	0	0	340
13	OTU_13	Arthropoda	Malacostraca	Amphipoda	Gammarida	Gammarus	roeseli	100	GACTTTGACTTTATCTTAGTGCCCTGGGCTAG	0	0	1524	1719	0	0	681	0	0	0	0	0	92	61	0	0	0	0
14	OTU_14	Annelida	Clitellata					99,4	AACACTTTAATTTTGGTCAATTTCTGGTG	0	0	0	48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11110	0	0	
15	OTU_15	Arthropoda	Malacostraca	Amphipoda	Gammarida	Gammarus	fossarum	100	AACCTTGACTTCATCTTAGGCGCTGAGCTAGT	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	1510	98	3133	12564	35	
16	OTU_16	Annelida	Clitellata	Haplotaxidi	Lumbricida	Octolasion	tyrtaeum	100	AACCCTTACTTTATCTTTGGAGTTGAGCCGGT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60	0	0	0	354	256	0	0	0
17	OTU_17	Arthropoda	Insecta	Coleoptera	Carabidae	Limodromus	assimilis	100	AACCTTATATTTAATTTGGGCTGAGCAGGA	0	66	0	103	0	0	84	0	0	0	0	0	119	0	0	0	0	180
18	OTU_18	Arthropoda	Malacostraca	Isopoda	Asellidae	Asellus	aquaticus	100	TACTTTATAATTTTGGTCAATTTCTGGTG	0	47	0	31	0	0	0	0	0	1776	0	17	0	0	0	56154	0	317
19	OTU_19	Arthropoda	Insecta	Ephemeroptera	Heptageniidae	Electrogena	ujhelyi	99,21	TACTCTTATTTCAATTTTGGGCTTGGTCTGGT	0	14	0	0	1141	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	153	51346	41
20	OTU_20	Arthropoda	Malacostraca	Amphipoda	Gammarida	Gammarus	pulex	100	TACTTTATAATTTTGGTCAATTTCTGGTG	0	0	225	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37191	5026	0	0	0
21	OTU_21	Annelida	Clitellata	Haplotaxidi	Lumbricida	Eiseniella	tetraedra	100	AACCCTTACTTTAATTTGGGCTGAGCTGGC	0	8	0	21	0	11	0	17	0	0	0	0	0	38	12178	18910	0	0
22	OTU_22	Heterokont	Oomycota	Pythiales				85,06	TACTTTATAATTTTGGTCAATTTCTGGTG	0	441	0	9555	10192	237	10	36	0	502	0	4643	226	0	0	0	0	
23	OTU_23	Arthropoda	Insecta	Ephemeroptera	Ephemeriidae	Ephemera	danica	100	AACCTTTAATTTAATTTGGGCTGATCTGGAA	0	0	1803	0	0	1520	0	0	0	0	0	0	0	41	84	0	0	0
24	OTU_24	Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Limnephilidae	Potamophylax	cingulatus	100	AACCTTACTTTAATTTGGGCTGATCTGGAA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37741	0	2069	0
25	OTU_25	Amoebozoa	Discosoa					81,61	TACCCTTATATCAATTTTGGGCTATATCTGGTG	0	204	0	2234	3735	199	902	5823	1220	621	0	172	608	5851	118	8181	1200	1468
26	OTU_26	Annelida	Clitellata	Haplotaxidi	Naididae			100	CACCTCTACATAAATTTTGGCCCTTGAGCCGGA	0	0	372	12	0	0	0	0	0	0	0	0	104	0	4920	4199	0	2303
27	OTU_27	Arthropoda	Insecta	Diptera	Chironomidae	Micropsectra	atrofasciata	100	CTCTTTATATTTAATTTGGGCTGATCTGGAA	0	0	0	16	303	0	0	0	0	619	0	105	0	11468	19411	378	0	173
28	OTU_28	Annelida	Clitellata	Lumbriculi	Lumbriculi	Lumbriculus	variegatus	100	CACCTTATATTTAATTTGGGCTGAGCCGGC	0	10	138	0	0	0	0	0	0	717	0	0	0	0	9605	19096	0	0
29	OTU_29	Arthropoda	Insecta	Plecoptera	Nemouridae	Protonemura	auberti	100	AACCTTACTTTAATTTGGGCTGATCAGGA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35879	0	0	0
30	OTU_30	Annelida	Clitellata	Haplotaxidi	Naididae			100	CACACTATGTAATCTTTGGCCCTTGAGCCGGC	0	0	2899	0	7	0	0	0	0	0	0	0	6397	0	0	0	61476	
31	OTU_31	Arthropoda	Malacostraca	Amphipoda	Gammarida	Gammarus	pulex	100	TACTTTATAATTTTGGTCAATTTCTGGTG	0	5232	0	0	0	0	0	2885	4766	1528	5981	1990	0	0	0	0	0	0
32	OTU_32	Annelida	Clitellata	Haplotaxidi	Lumbricida	Dendrobaena	octaedra	100	AACCCTTATTTAATTTGGGCTTGGGCTGGG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4443	0	0
33	OTU_33	Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Hydropsychidae	Hydropsyche	pellucida	100	CACCCTTATTTAATTTGGGCTGATCAGGT	0	0	7095	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2927	0	0	0	0	0
34	OTU_34	Annelida	Clitellata	Haplotaxidi	Lumbricida	Dendrobaena	octaedra	100	AACCCTTATTTAATTTGGGCTTGGGCTGGG	0	0	0	0	0	0	0	0	149	0	0	0	0	0	0	0	0	
35	OTU_35	Annelida	Clitellata	Haplotaxidi	Naididae	Limnodrilus	plurisetus	100	AACCTTACTTCATTTTGGGCTGAGCCGGT	0	0	0	28	0	70	0	0	0	1901	5473	0	0	0	0	1148	0	2171
36	OTU_36	Arthropoda	Insecta	Ephemeroptera	Baetidae	Baetis	rhodani	100	TACTCTTATTTAATTTTGGGCTGAGCAGGT	0	0	0	0	23	0	0	0	13196	547	0	3104	0	214	0	1151	1917	
37	OTU_37	Arthropoda	Insecta	Plecoptera	Nemouridae	Nemoura	cinerea	100	AACCCTTATTTAATTTGGGCTGATCTGGTA	0	588	0	0	442	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
38	OTU_38	Annelida	Clitellata	Haplotaxidi	Naididae	Rhyacodrilus	coccineus	99,44	TACATTAATATCAATTTAGGTGTGAGCAGGA	0	119	0	0	0	113	0	0	1322	146	0	137	0	0	18052	0	0	
39	OTU_39	Mollusca	Bivalvia					84	GACTTTATAATCTTTGGGCTGATCTGGAA	0	544	0	376	358	157	0	23321	153	3898	160	83	1145	0	0	0	0	

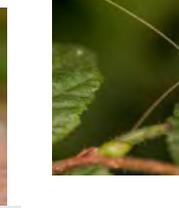
Vorläufige Daten

Übereinstimmung d. Treffers mit Datenbank in %

Kleingewässermonitoring

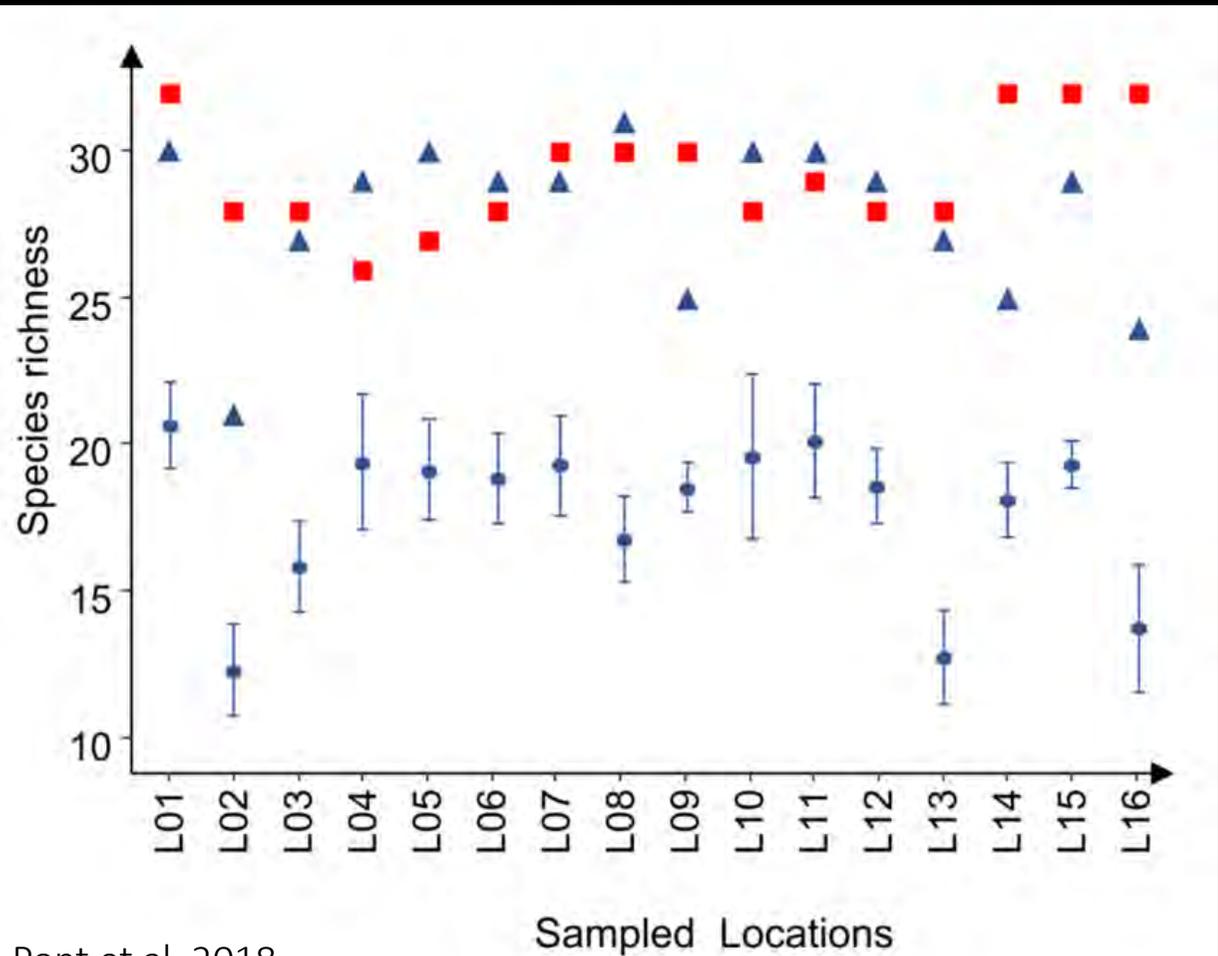
- Viel mehr Taxa, genauer bestimmt
- *Limnodrilus hoffmeisteri* → mehrere kryptische Arten werden gefunden!
- Unterschiedliche Sensitivität gegenüber Belastungen (OTU1 vs. OTU4)
- Neue Indikatoren für neue Stressoren
- OTU nicht unbedingt Art!





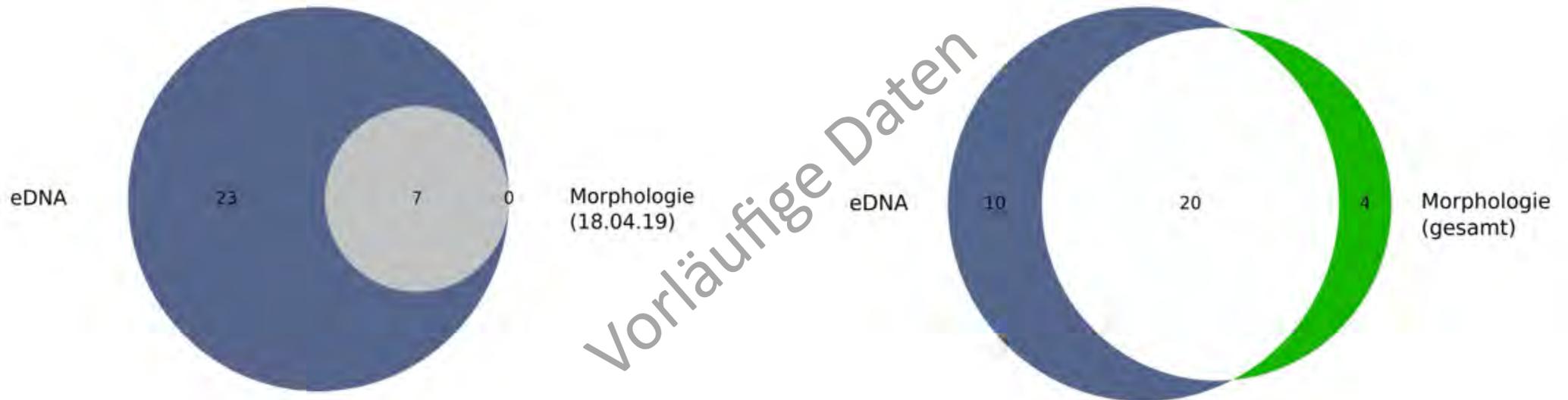
Monitoring nicht-invasiv: eDNA & Fische

- eDNA erfasst Fischfauna viel umfassender als Elektrofischung
- Hohe Konsistenz beider Methoden bei Langzeitvergleich



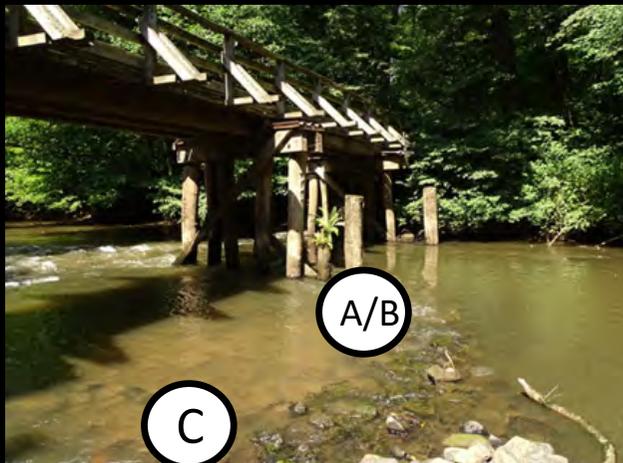
Pont et al. 2018

Monitoring nicht-invasiv: eDNA & Fische



LTER-D: Rhein-Main- Observatorium - eDNA

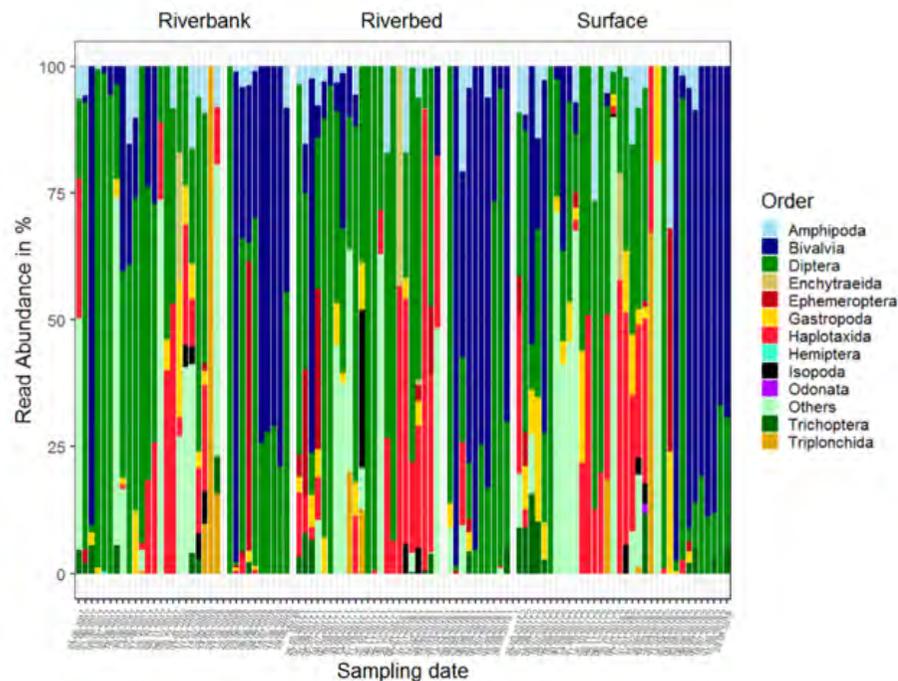
- Kinzig at this site as part of the RMO
- 3 microhabitats
→ A: surface; B: riverbed; C: riverbank



Sander et al. (in prep.)

ILTER-D: RMO - eDNA

- Strong effect of season and month on MZB diversity
- No effect of different microhabitats



	Microhabitat		Season		Month	
	R ²	p	R ²	p	R ²	p
All Taxa	0.007	0.997	0.34	0.001***	0.491	0.001***
Metazoa	0.01	0.999	0.254	0.001***	0.48	0.001***
MZB	0.01	0.995	0.235	0.001***	0.202	0.001***
Fish	0.014	0.552	0.279	0.001***	0.457	0.001***
Algae	0.008	0.995	0.355	0.001***	0.219	0.001***
Bacteria	0.007	1	0.327	0.001***	0.541	0.001***

Sander et al. (in prep.)

ILTER-D: RMO - eDNA

- >1000 Arthropoden-Taxa über eDNA
- >10.000 weitere OTUs (Protisten bis Fische)

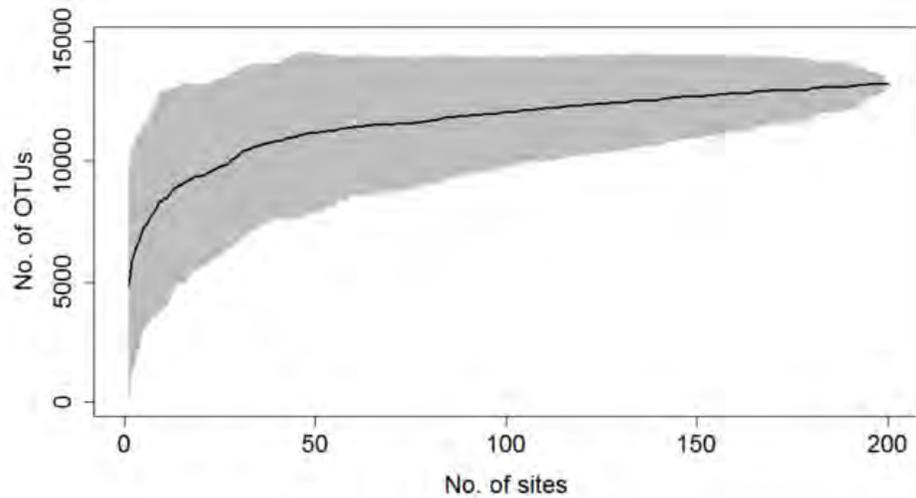
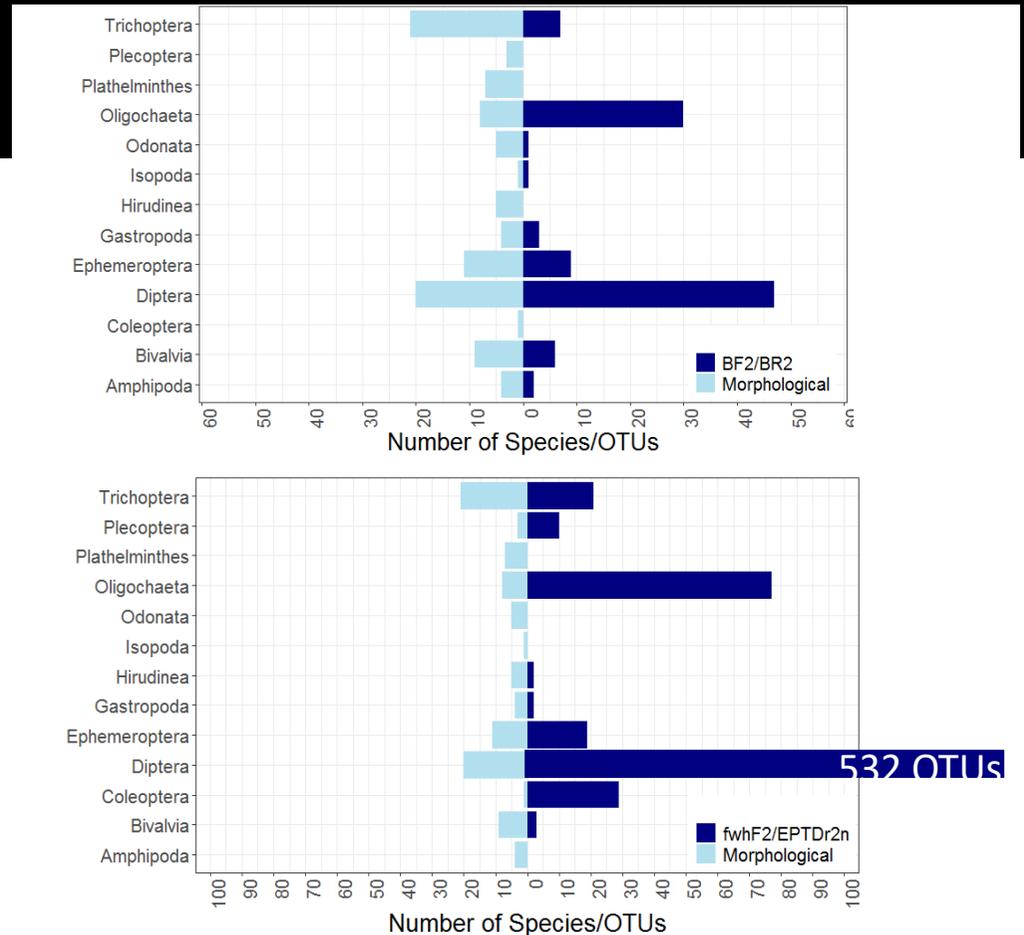


Figure 12. Accumulation curve for the primer combinations *fwfF2/EPTDr2n* (green) and *fwfF2/fwhR2n* (red) for the number of OTUs detected depending on the number of samples.

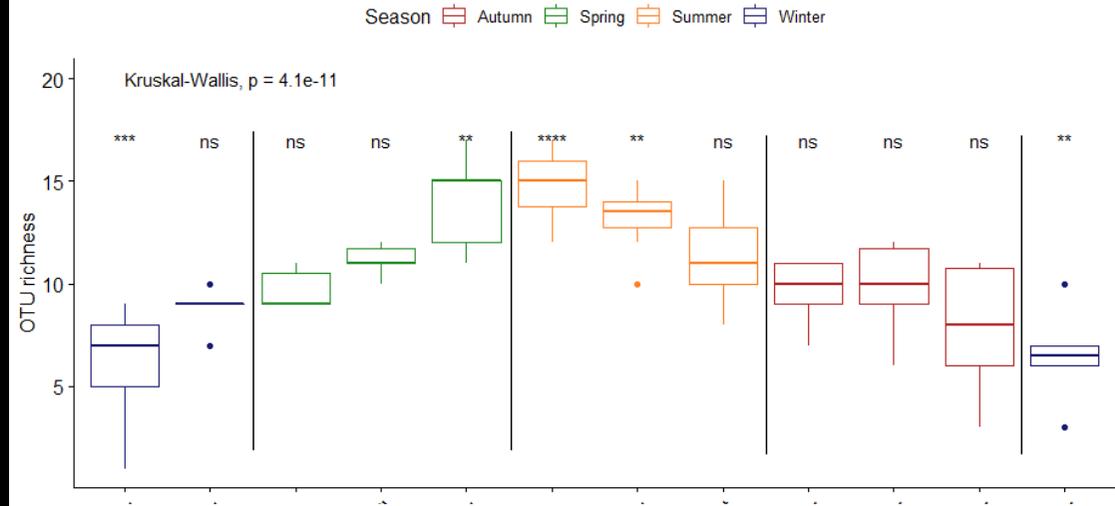
Sander et al. (in prep.)



ILTER-D: RMO - eDNA

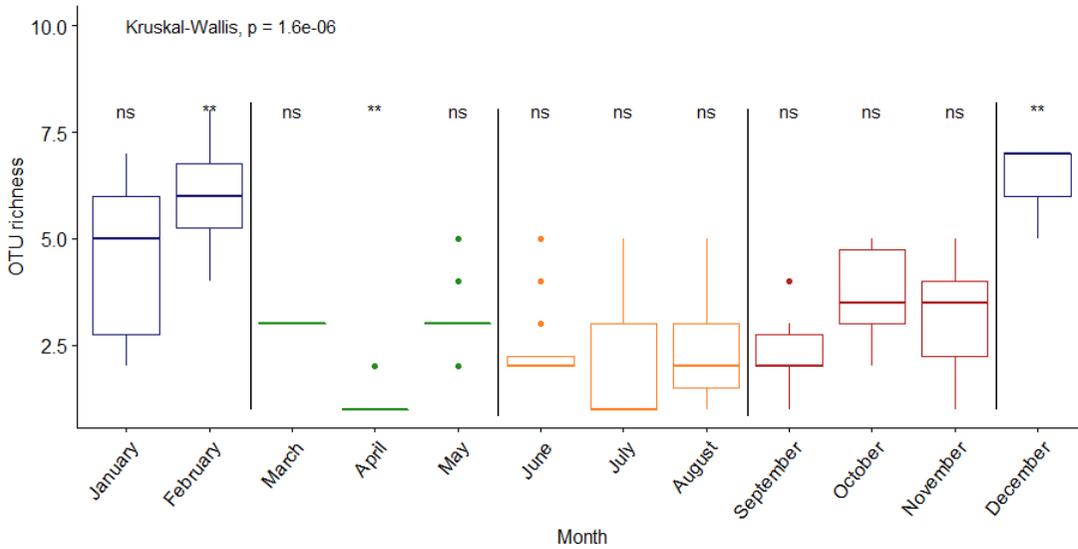


OTU richness for diatoms



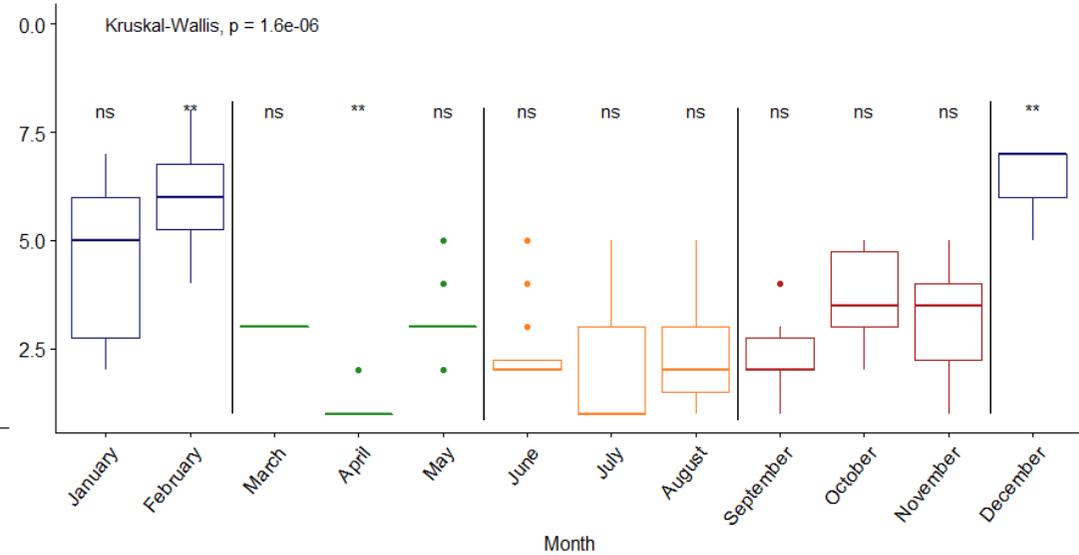
OTU richness for fish

Season ▢ Winter ▢ Spring ▢ Summer ▢ Autumn



OTU richness for fish

Season ▢ Winter ▢ Spring ▢ Summer ▢ Autumn



Referenzdatenbanken der Schlüssel zum Erfolg

- Für Fische und Makroinvertebraten Datenlage gut (WRRL: Dtl. 100%, 89% vollständig!)
- Priorisieren der Aktivitäten

- **GUTE AUSGANGSLAGE!**

Contents lists available at ScienceDirect
Science of the Total Environment
[journal homepage: www.elsevier.com/locate/scotenv]

Review

DNA barcode reference libraries for the monitoring of aquatic biota in Europe: Gap-analysis and recommendations for future work

Hannah Weigand^a, Arne J. Beermann^b, Fedor Ciampor^c, Filipe O. Costa^{d,e}, Zoltán Csabai^f, Sofia Duarte^{g,h}, Matthias F. Geiger^g, Michał Grabowski^g, Frédéric Rimetⁱ, Björn Rulik^g, Malin Strand^g, Nikolaus Szucsich^g, Alexander M. Weigand^{g,h}, Endre Willassenⁱ, Sofia A. Wyler^h, Agnès Bouchez^j, Angel Borja^k, Zuzana Ciamporová-Zat'ovičová^l, Sónia Ferreira^g, Klaas-Douwe B. Dijkstra^g, Ursula Eisendle^g, Jörg Freyhof^g, Piotr Gadawski^g, Wolfram Graf^g, Arne Haegerbaeumer^g, Berry B. van der Hoorn^g, Bella Japoshvili^g, Lujza Keresztes^g, Emre Keskin^g, Florian Leese^g, Jan N. Macher^g, Tomasz Mamos^g, Guy Paz^g, Vladimir Pešić^g, Daniela Maric Pfannkuchen^g, Martin Andreas Pfannkuchen^g, Benjamin W. Price^g, Buki Rinkevich^g, Marcos A.L. Teixeira^{d,e}, Gábor Várber^g, Torbjørn Ekrem^{g,h}

Referenzdatenbanken der Schlüssel zum Erfolg

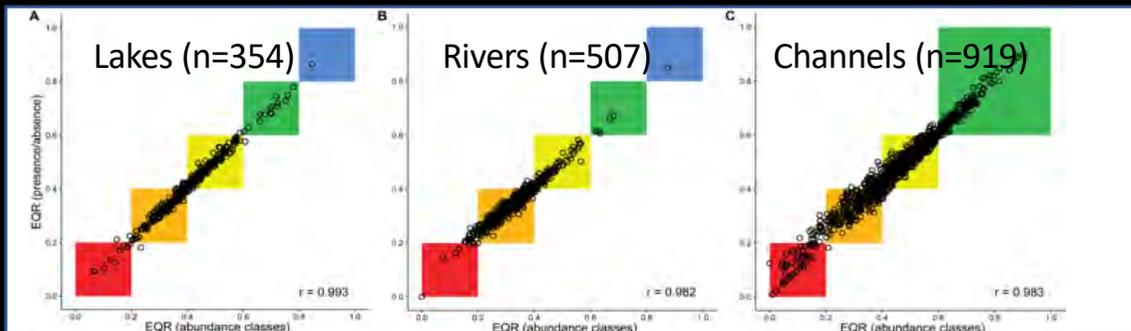
- Für Fische und Makroinvertebraten Datenlage gut (WRRRL: Dtl. 100%, 89% vollständig!)
- Priorisieren der Aktivitäten
- Insekten: >33.000 in Dtl. gelistet; davon >20.0000 erfasst (61%)
- 75% der Rote-Liste-Arten (Insekten) erfasst
- **GUTE AUSGANGSLAGE!**

Zahlreiche Herausforderungen

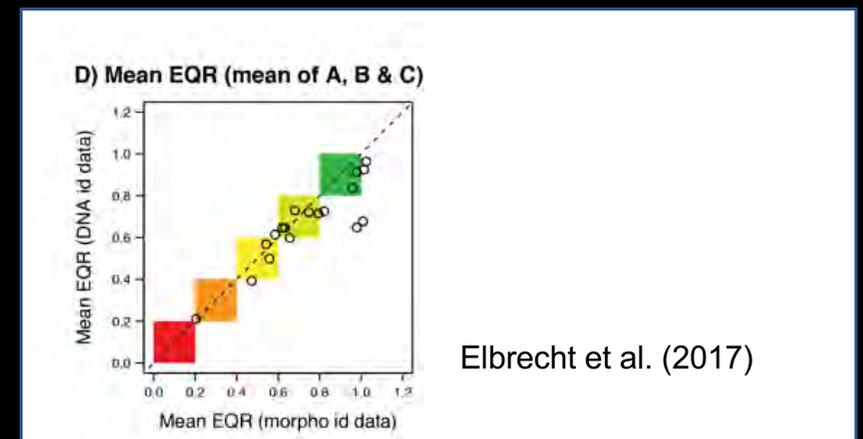
Tabelle 4. Referenzsequenzabdeckung aller Insektenarten Deutschlands (Quelle: GBOL) in der Barcode of Life Database (BOLD).

Ordnung	# Arten	# Arten mit Referenzsequenzen	% Arten mit Referenzsequenzen
Archaeognatha	15	11	73,33
Blattodea	14	11	78,57
Coleoptera	6659	4963	74,53
Dermaptera	11	9	81,82
Diptera	9381	5297	56,47
Ephemeroptera	116	98	84,48
Hemiptera	2521	1390	55,14
Hymenoptera	9629	4497	46,70
Lepidoptera	3767	3640	96,63
Mantodea	1	1	100,00
Mecoptera	9	6	66,67
Megaloptera	4	3	75,00
Neuroptera	101	84	83,17
Odonata	81	74	91,36
Orthoptera	91	88	96,70
Plecoptera	123	95	77,24
Psocodea	507	115	22,68
Raphidioptera	10	8	80,00
Siphonaptera	70	17	24,29
Strepsiptera	15	5	33,33
Thysanoptera	231	51	22,08
Trichoptera	320	294	91,88
Zygentoma	4	3	75,00
Insgesamt	33.680	20.760	61,64

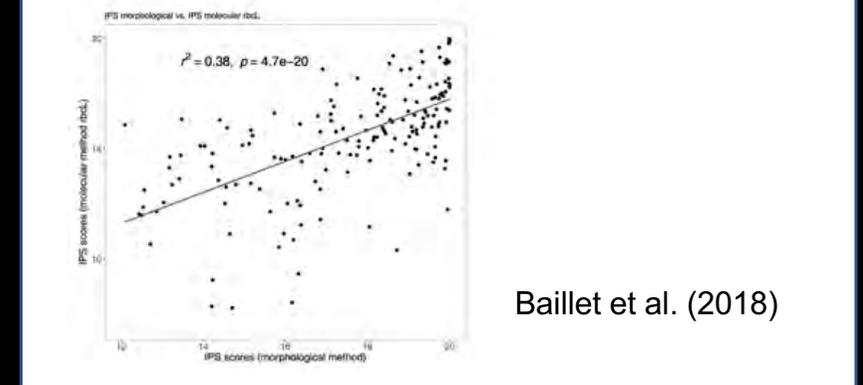
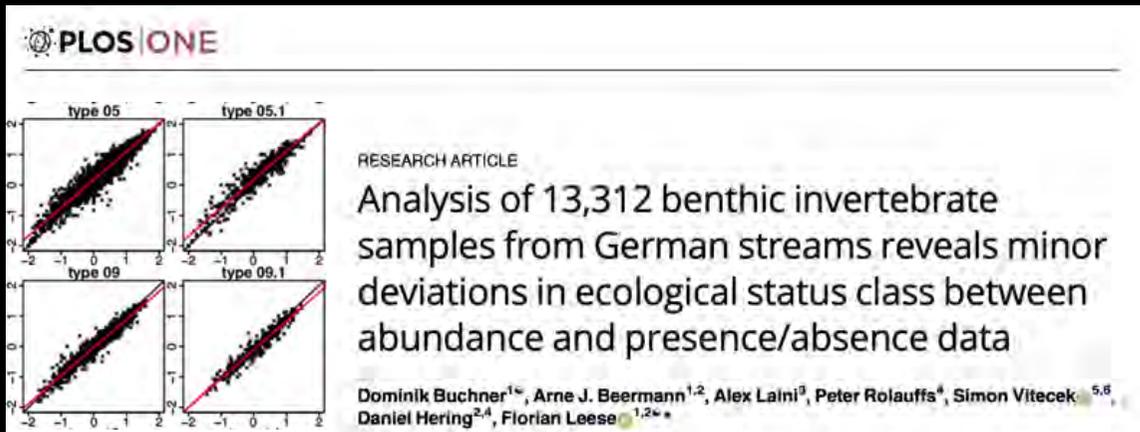
Abundanz – es geht ohne, sollte aber nicht Ziel sein



Beentjes et al. (2018) MBMG



Elbrecht et al. (2017)



Baillet et al. (2018)

eDNA in der naturschutzfachlichen Erfolgskontrolle

→ eDNA-Untersuchung zeigt erfolgreiche Ausbreitung genauer/weniger invasiv als Elektrofischfang



Hempel et al. (2019)



Kooperation mit Gunnar Jacobs (EGLV)

Ähnliche Ergebnisse sind $\gg 100x$ belegt



- Gesetzlich geregelt
- Klare Richtlinien
- Gutes, spezifisches eDNA Primer-Paar
- Ringtests für Laboratorien für Zertifizierung
- *Citizen-Science* kompatibel (Einsenden vieler Hundert Proben)

Weitere Chancen:

→ Nicht invasive / nicht-destruktive Erfassung auch terrestrisch



Projekt: Fabian Roger

ORIGINAL RESEARCH

WILEY Ecology and Evolution

Environmental DNA metabarcoding of wild flowers reveals diverse communities of terrestrial arthropods

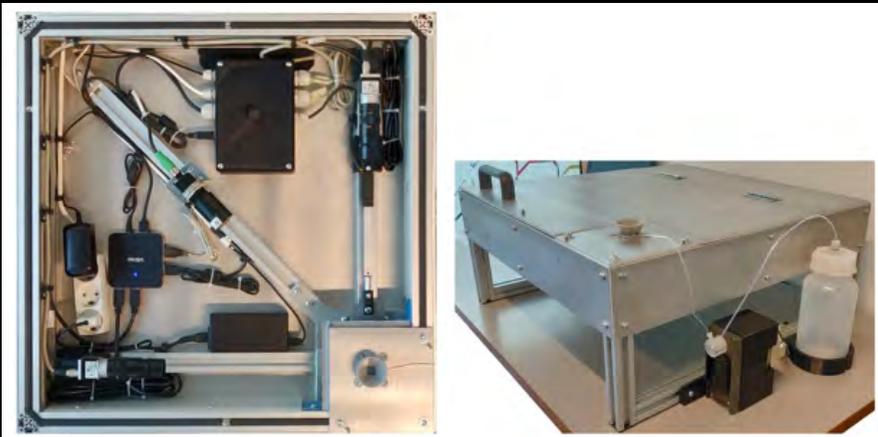
Philip Francis Thomsen | Eva E. Sigsgaard

56 Blumen auf eDNA analysiert
→ 135 Arthropodenarten



Weitere Chancen:

- Künstliche Intelligenz + eDNA
- Viel genauere Detektion von Stressoreffekten
- Abundanz über Hochdurchsatz-Optikmethoden



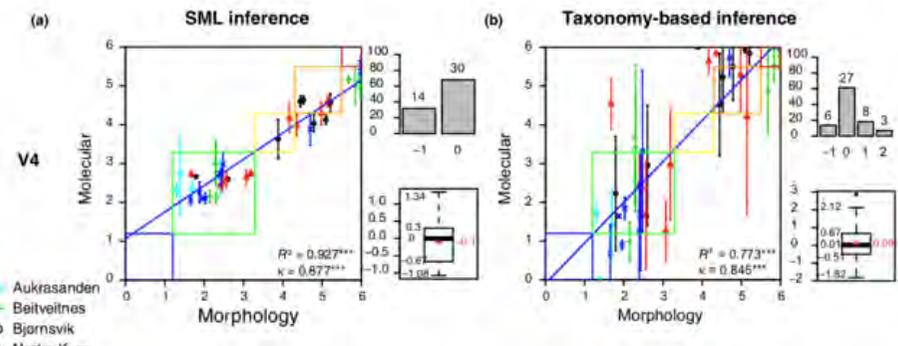
Ärje et al. (2020)

RESOURCE ARTICLE

WILEY MOLECULAR ECOLOGY RESOURCES

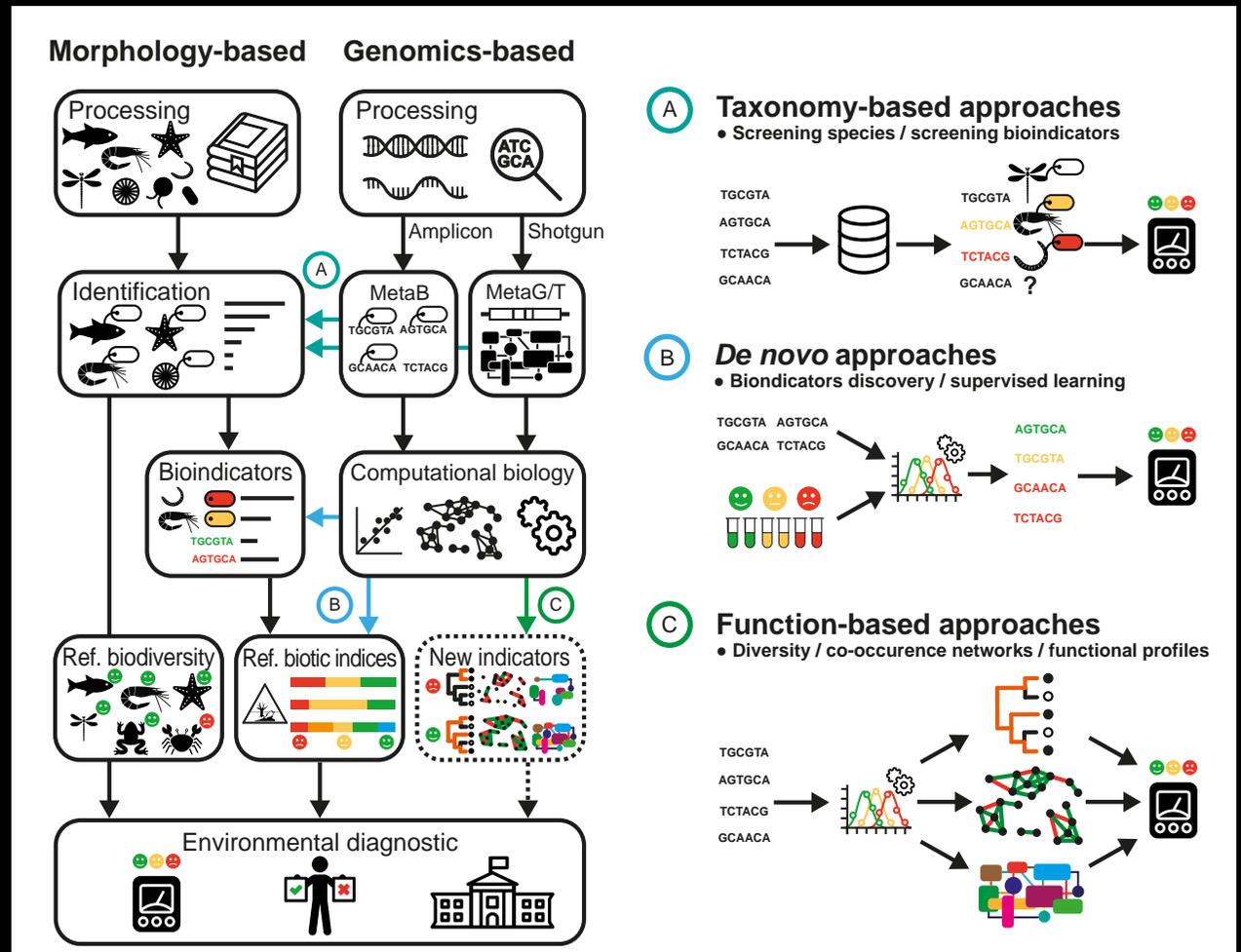
Supervised machine learning outperforms taxonomy-based environmental DNA metabarcoding applied to biomonitoring

Tristan Cordier¹ | Dominik Forster² | Yoann Dufresne^{1,3} | Catarina I. M. Martins⁴ | Thorsten Stoeck² | Jan Pawlowski^{1,5}



- „unused“ groups as indicators!
- Train to detect new pressures!

Die Reise geht weiter: Biodiversität - Funktion



Cordier et al. (in review)

Weitere Chancen:

→ Zeit und Preis

→ Schneller und günstiger,
wenn viele Proben nötig

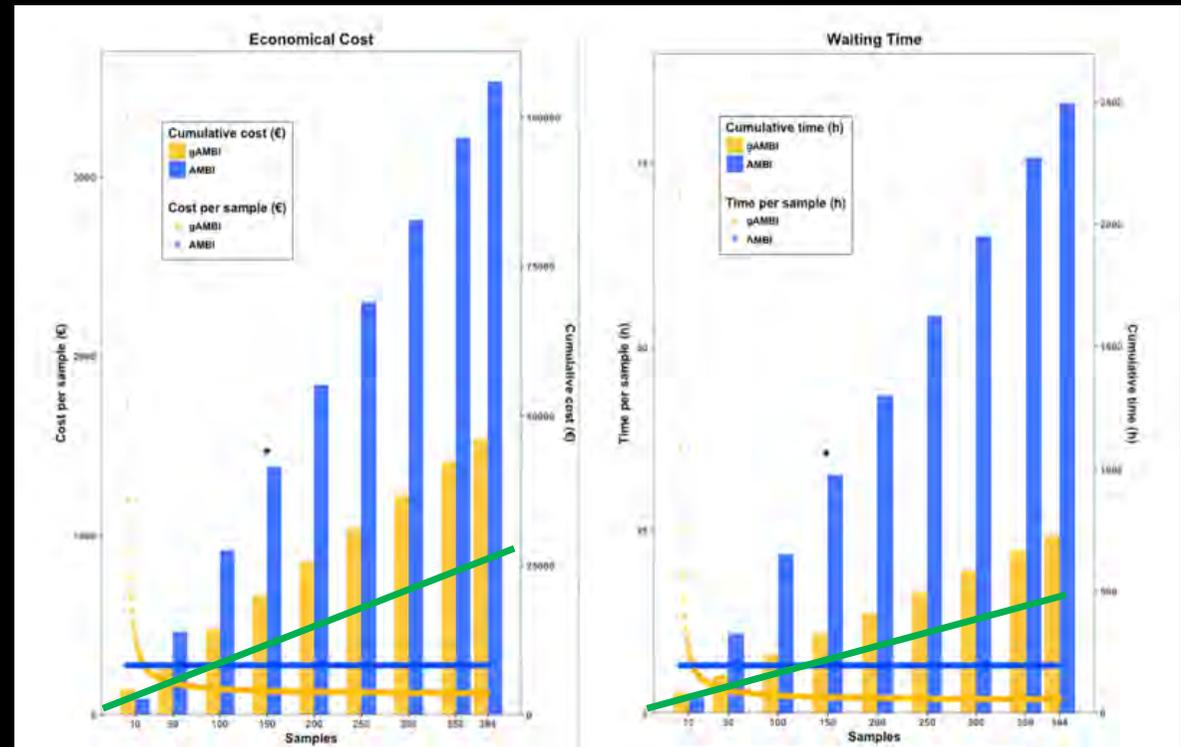
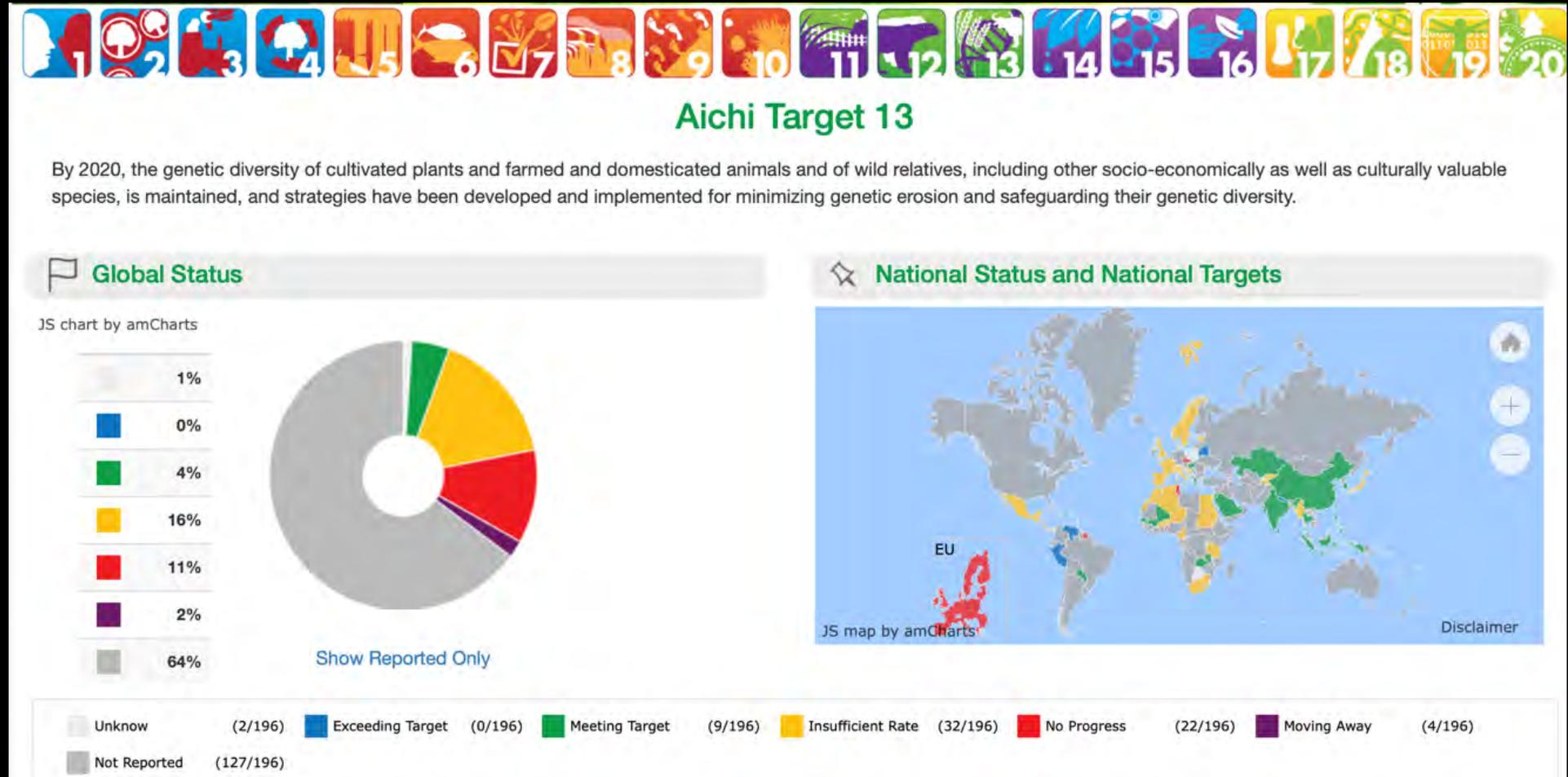


Abbildung 10. Die Kosten (links) sowie die Zeit (rechts) je Probe bleiben bei traditionell morphologisch bestimmten Proben (blau) bei zunehmender Probenzahl gleich (blauer Strich). Für DNA-Metabarcoding (gelb) sinken Kosten und Zeitaufwand je Probe rasant (gelbe Punkte) und sind bereits ab 10 Proben geringer als bei klassischer Analyse. Die kumulativen Werte sind als Säulen aufgetragen. Für deutlich einfacher zu erhaltene Insektenproben z.B. aus Fallen sind der zeitliche Aufwand geringer als am hier dargestellten Beispiel (marine Wirbellose). Quelle: Aylagas *et al.* (2018).

Weitere Chancen: Genetische Diversität



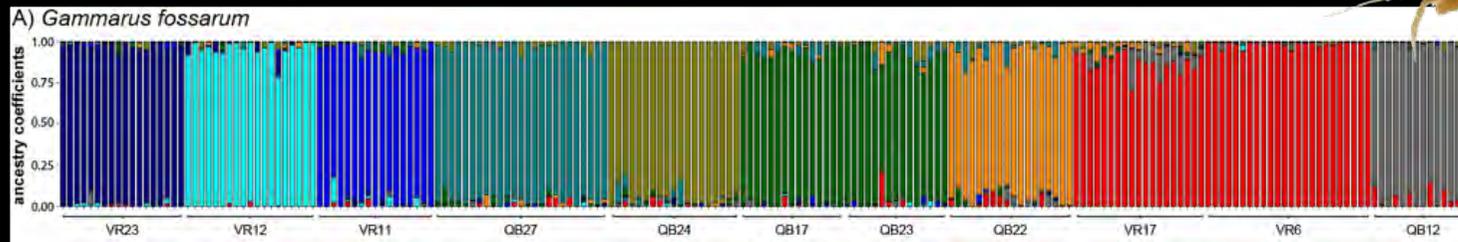
Populationsgenetik – Genfluss möglich?



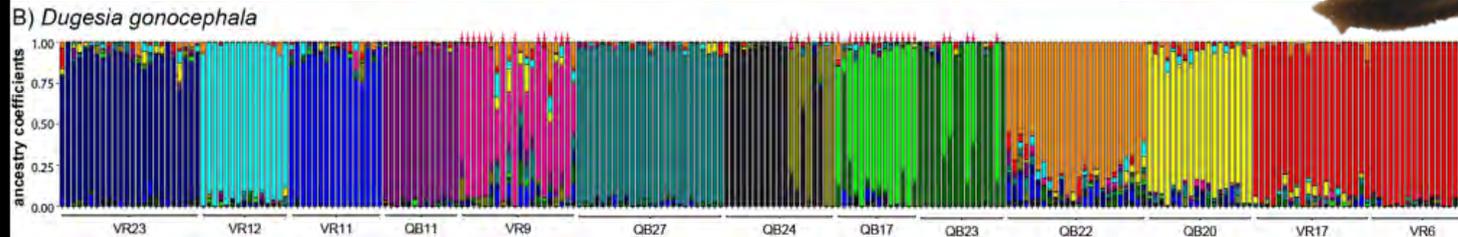
Kooperation mit Ruhrverband

Populationsgenetik – Genfluss möglich?

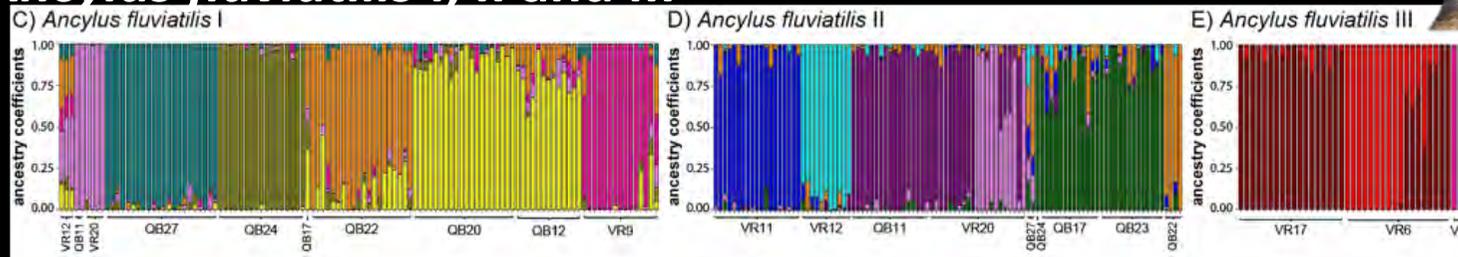
Gammarus fossarum (cl. 11)



Dugesia gonocephala



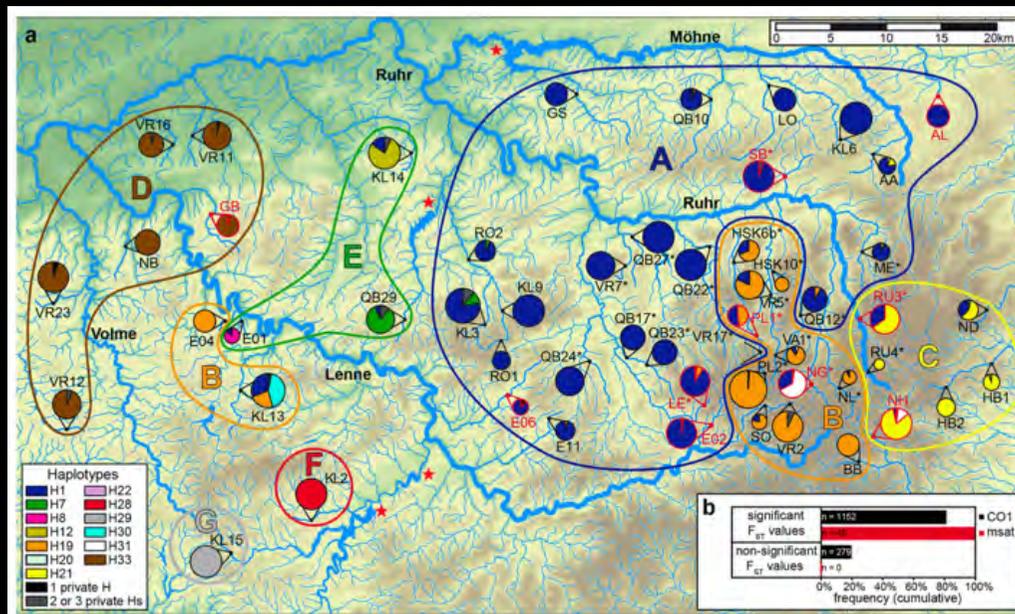
Ancylus fluviatilis I, II and III



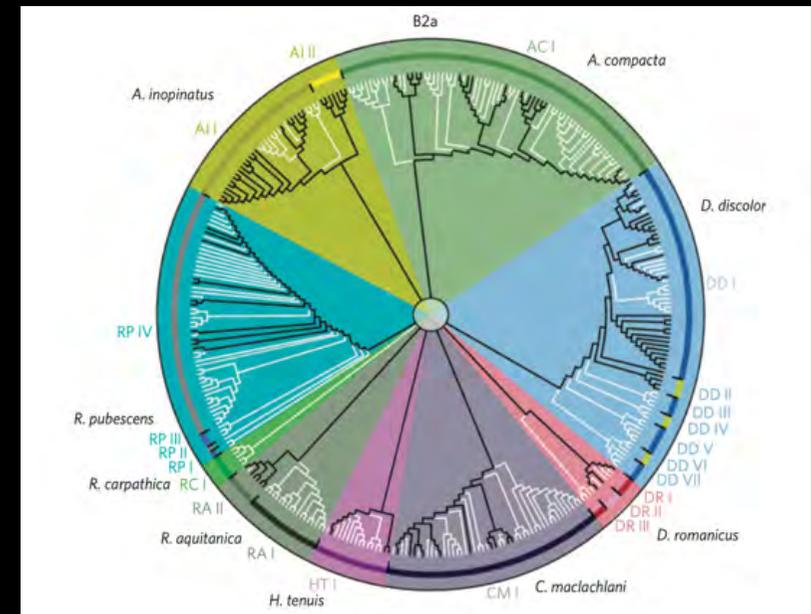
Ein Forschungsschwerpunkt von uns; mehrere laufende Projekte im Sauerland, Emscher-/Ruhrgebiet, Sizilien, Antarktis

Ganz oder gar nicht? Es geht auch anders!

- Schweiz: Monitoring von 50 Schlüsselarten über alle Habitate
- Millionenschweres Monitoringprogramm
- Ideal: Individuelle Organismen, Genotypisierung
- **Aber:** Proxies können auch über Einzelmarker erhalten werden

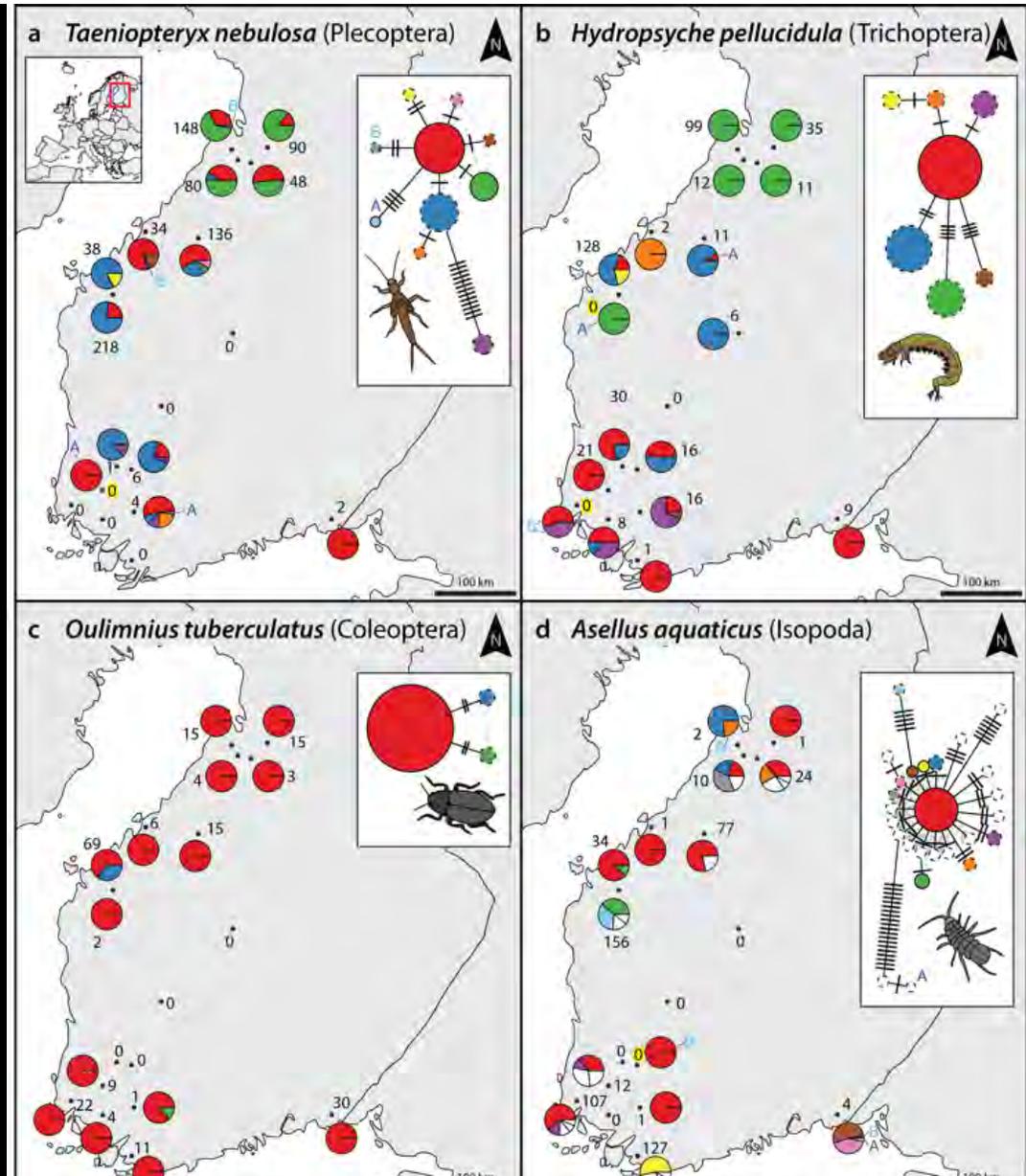


Weiss & Leese 2016



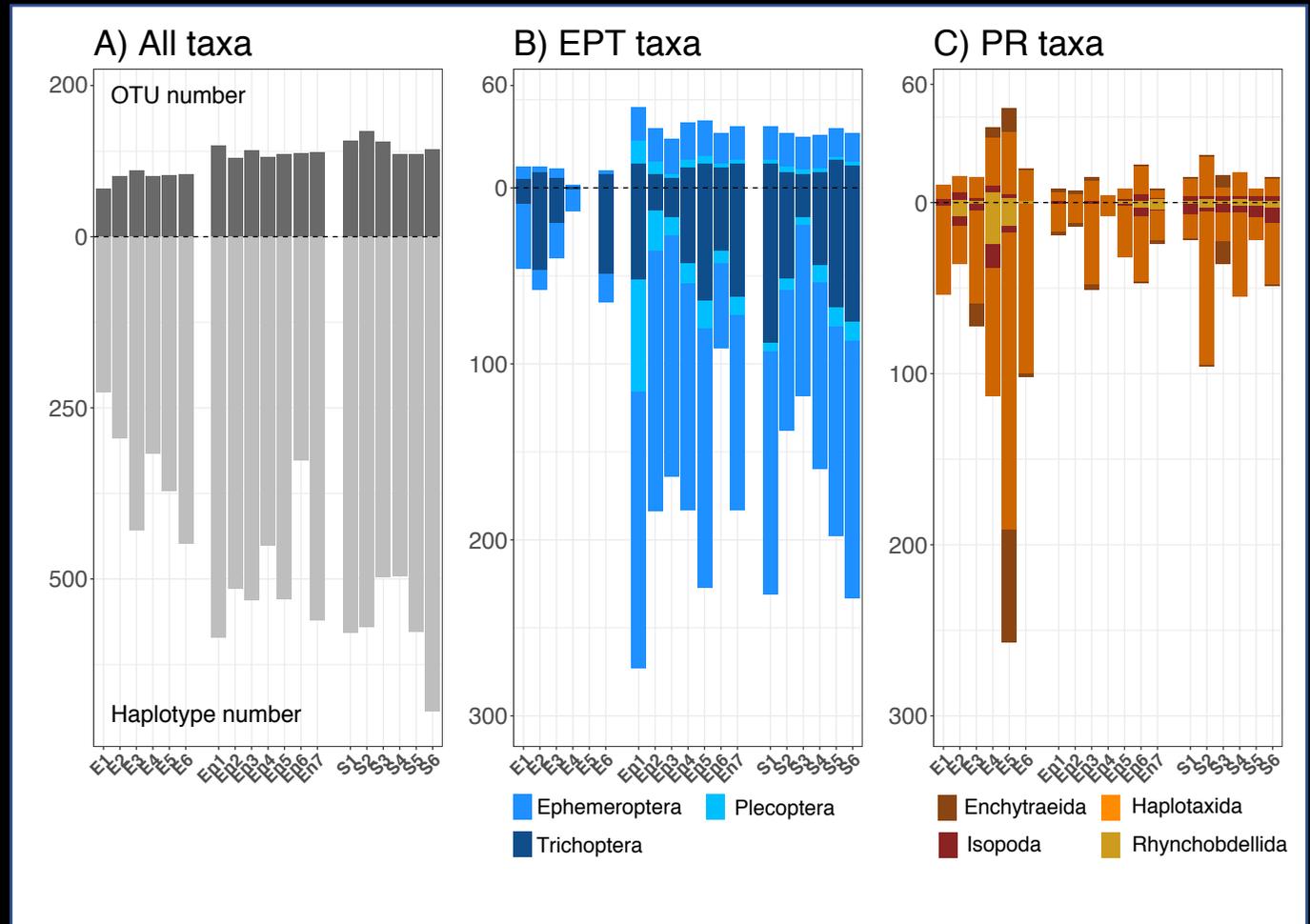
Balint et al. 2011

Metabarcoding – ESVs (exact sequence variants)

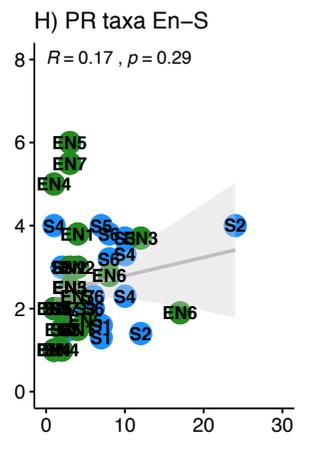
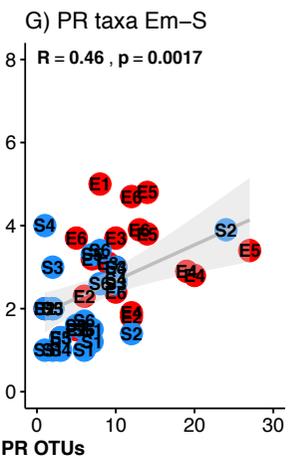
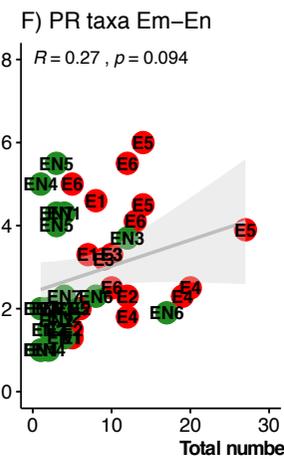
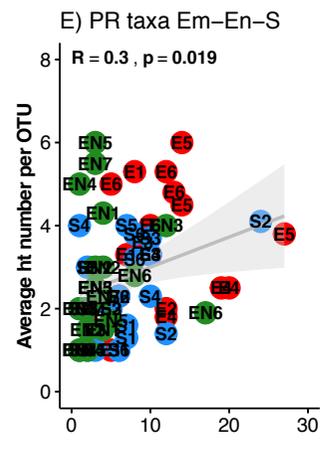
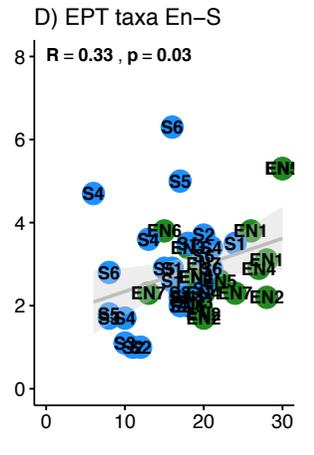
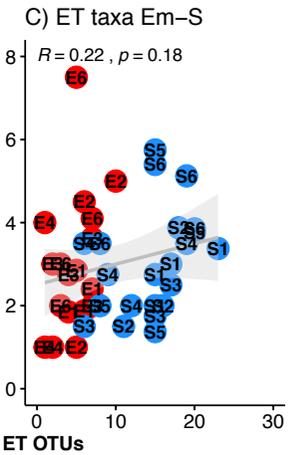
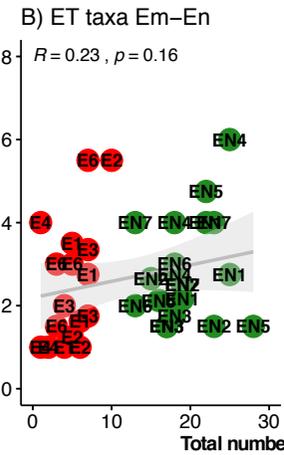
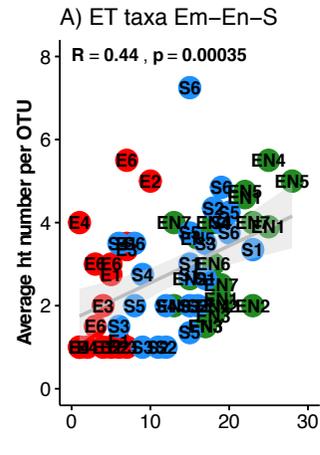
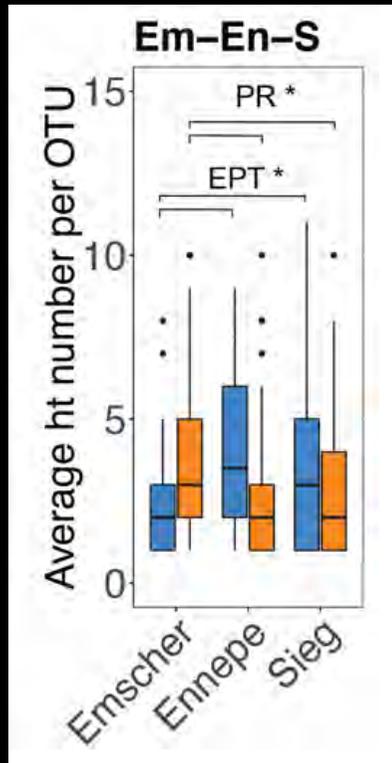


Elbrecht et al. (2018)

Genetische Diversität



Bulk samples



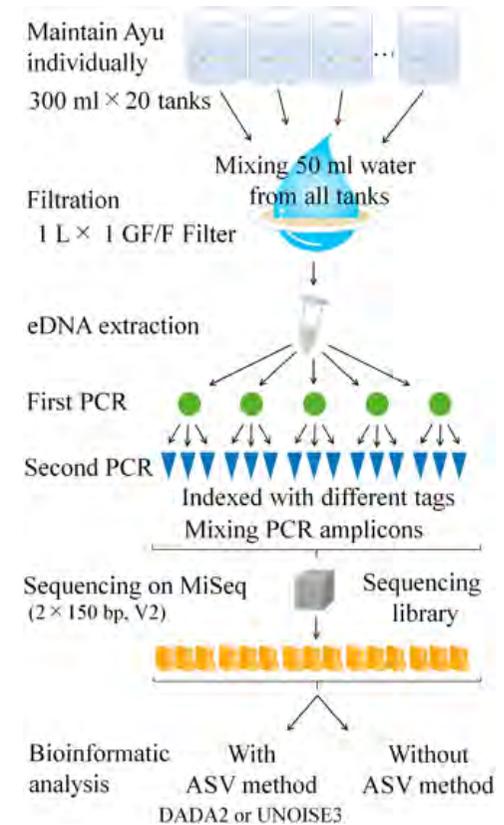
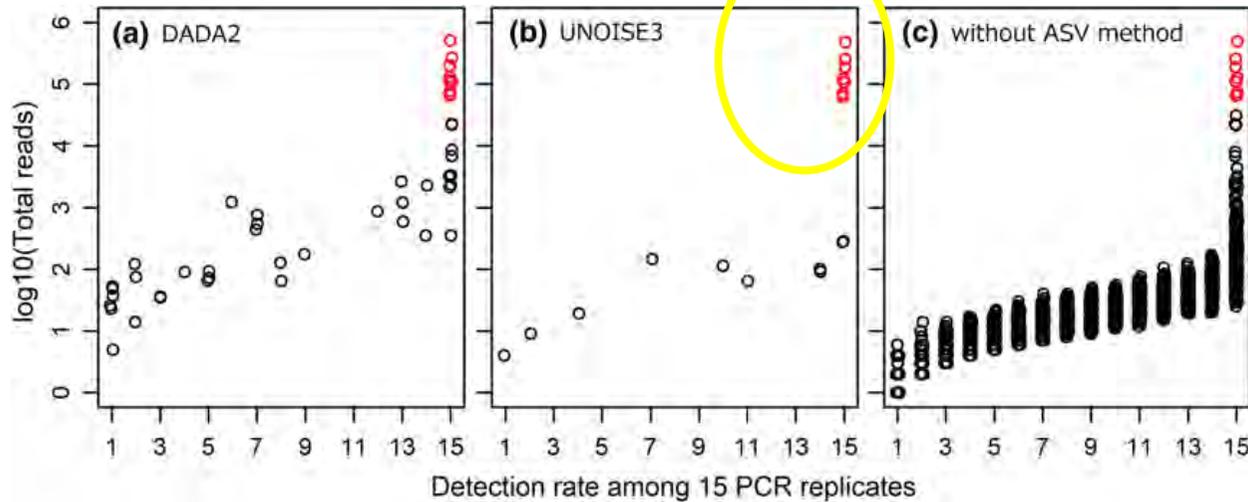
● Emscher ● Ennepe ● Sieg

Evaluating intraspecific genetic diversity using environmental DNA and denoising approach: A case study using tank water

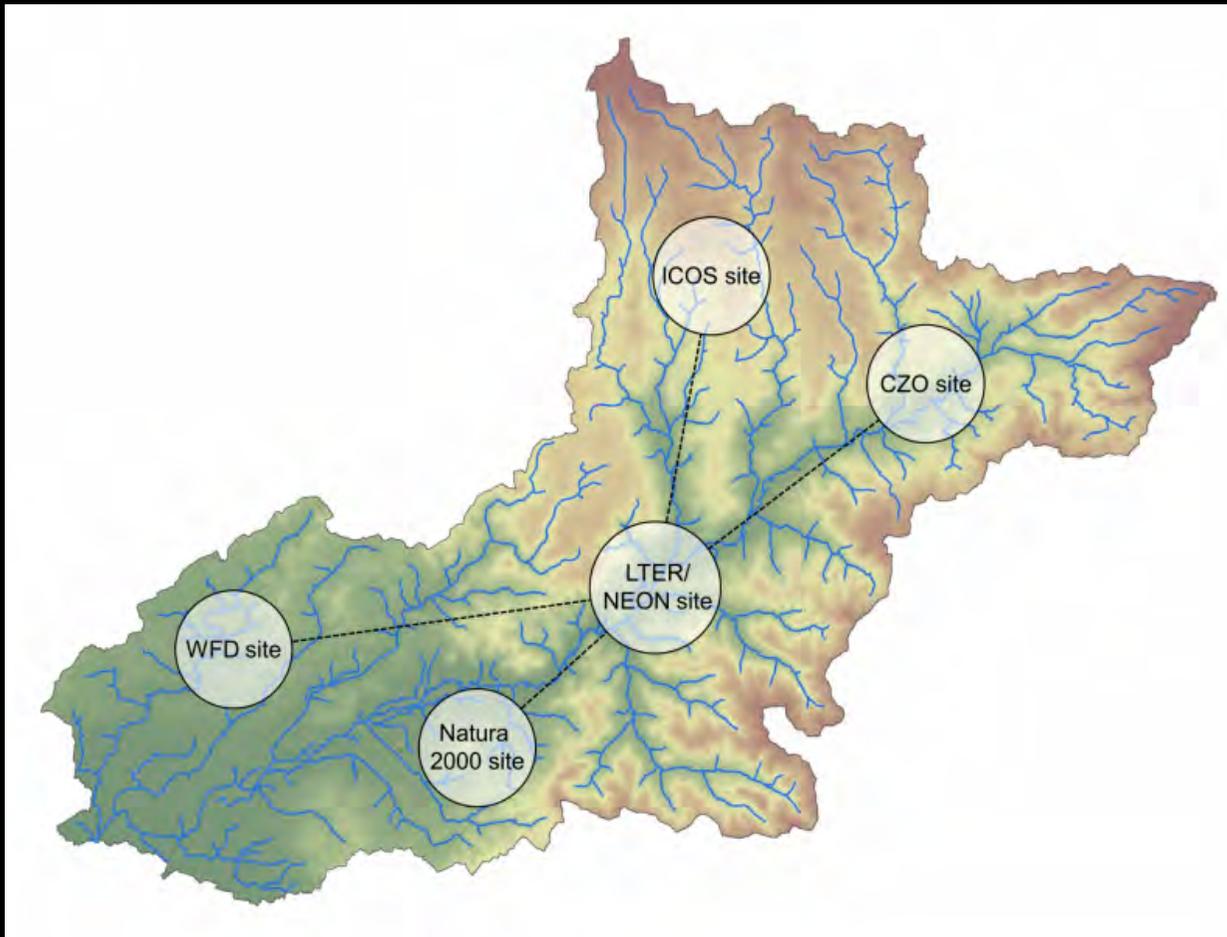
Satsuki Tsuji^{1,2} | Masaki Miya³ | Masayuki Ushio^{4,5,6} | Hirotooshi Sato⁷ |
Toshifumi Minamoto⁸ | Hiroki Yamanaka^{9,10,11}

Geht das auch mit eDNA?

Viel Hoffnung!



Großflächiges Biodiversitätsmonitoring



- Genetische Methoden vereinfachen vieles (taxonomische Zuordnung, skalierbarkeit, umfassendere Erhebung) – aber kaum etabliert
- Behördliche Kontext: Pilotphasen, vereinzelt
- LTER / GEO bieten gute Ansätze: Site-based → Ideal genetische Methoden dort implementieren

Vergleich

Tabelle 6. Vorteile (grün) und Nachteile (rot) der DNA-basierten Identifikationsmethoden.

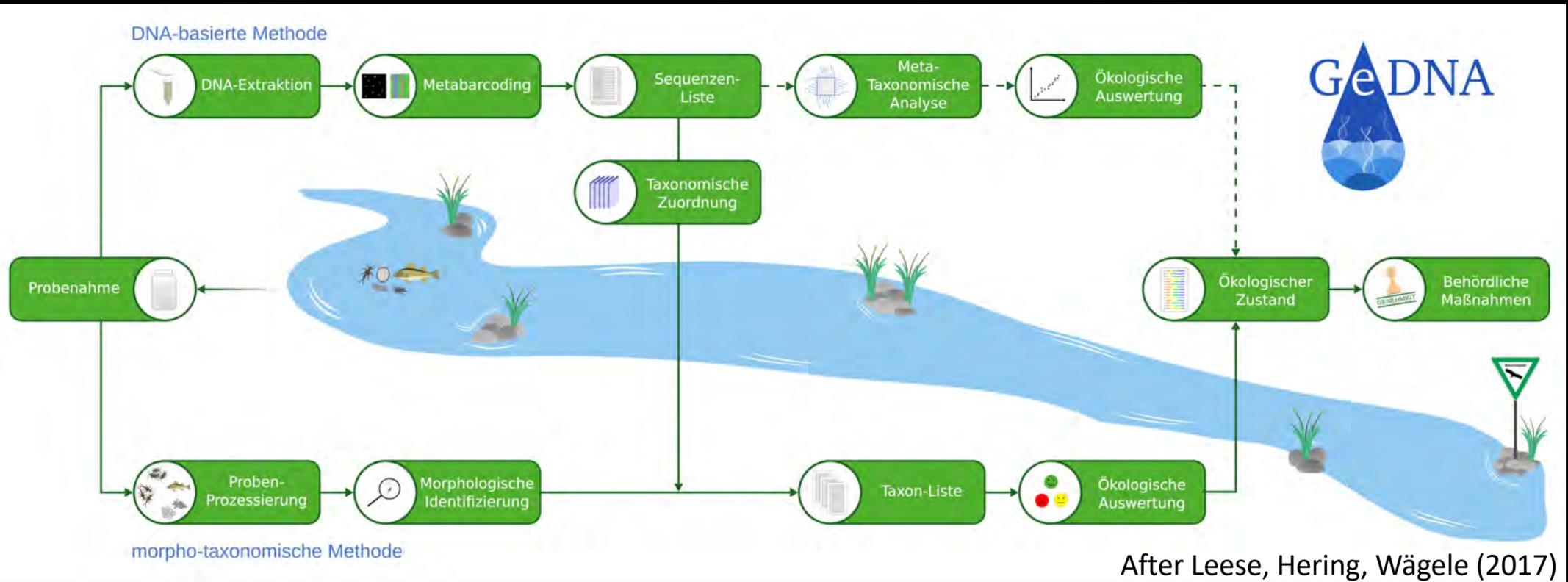
	Morphologie	DNA-Barcoding	DNA-Metabarcoding		
	Einzelindividuen	Einzelindividuen	Sammelprobe Homogenisierte Organismen	Sammelprobe Fixierungs- mittel	Umweltprobe eDNA
Taxonomische Auflösung	Niedrig-hoch	Hoch	Hoch	Hoch	Hoch
Abundanzdaten	Absolute Individuen-abundanz***	Absolute Individuen-abundanz	Relative Read-abundanz	Relative Read-abundanz	Relative Read-abundanz
Erhalt der Individuen	Ja	Ja (bis auf kleines Gewebestück)	Nein	Ja	Nein (nicht gesammelt)
Standardisierte Artidentifikation möglich?	Abhängig vom Probenbearbeiter	Ja*	Ja*	Ja*	Ja*
Zeitaufwand	Hoch	Hoch	Niedrig	Niedrig	Niedrig
Kosten	Hoch	Hoch	Niedrig	Niedrig	Niedrig
Anzahl erfasster Zielarten	Niedrig-mittel	Hoch	Hoch	Mittel-hoch	Mittel-hoch
Etablierung	Hoch	Hoch	Hoch	Niedrig	Niedrig**

*Taxonomische Zuweisung abhängig von Referenzdatenbank (siehe Abschnitt 4b)

**eDNA-Metabarcoding ist für Fische und Diatomeen gut etabliert, nicht jedoch für Insekten/Makroinvertebraten aus z.B. Boden- oder Luftproben

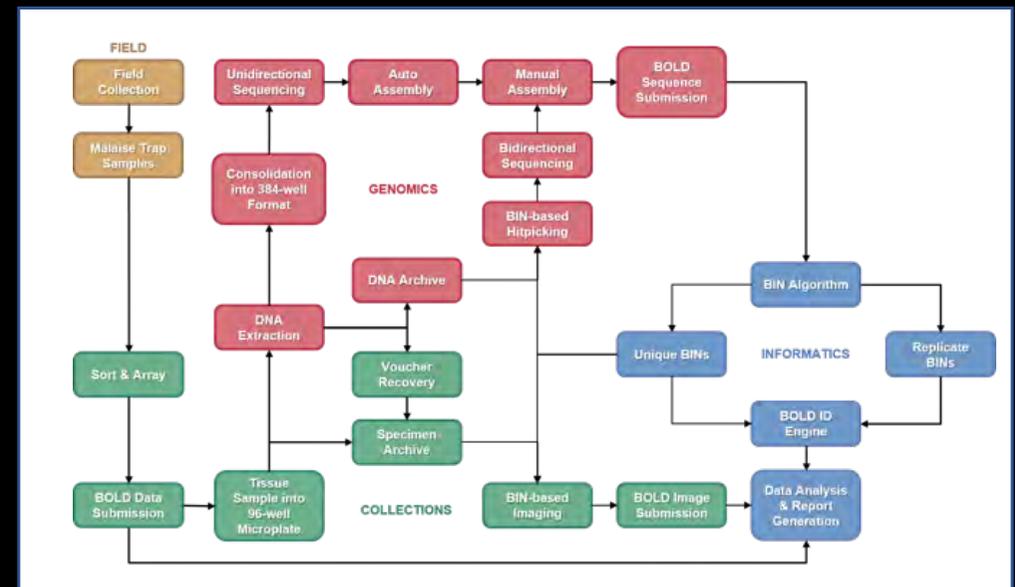
***Im Vergleich zu DNA-basierten Methoden, ggf. nicht bei allen Geschlechtern und Lebensstadien

Pilotstudien! Automatisierung! Standardisierung!



Global Malaise Trap Program, Sweden Monitoring etc

- Hunderte Malaisefallen stehen bereits in Dtl. Und international im Einsatz
- Genetische Analyse weit fortgeschritten, geeignete Primer einsetzbar
- Automatisierbar und skalierbar

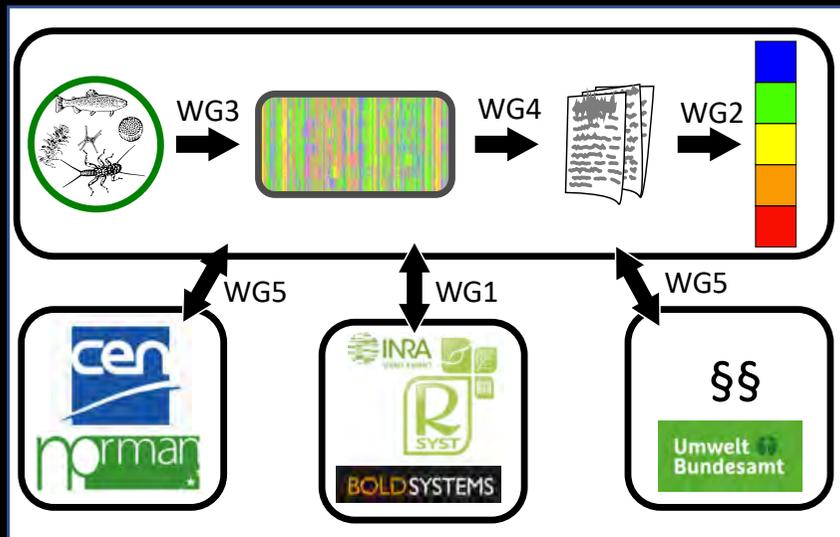


<https://biodiversitygenomics.net/projects/gmp/>

Harmonisierung, Implementierung



@dnaquanet



- ~600 Mitglieder
- 49 offizielle Mitgliedsstaaten
- >60 Veröffentlichungen und Berichte
- Labore, Länder, Generationen, Traditionen verbinden
- >50 wiss. Austausche, >45 Treffen / Runde Tische
- Förderung zunächst bis Ende 2020



Wir brauchen Standards!!!

Tabelle 9. Bewertung des aktuellen Grads der Standardisierung sowie der prinzipiellen Standardisierbarkeit von Arbeitsschritten der genetischen Analyse im Biomonitoring basierend auf Sammelproben. Aspekte der Standardisierung von Standorten oder Sammelgerät ist nicht Teil des vorliegenden Berichts.

Arbeitsschritt	Aspekt	Grad der Standardisierung*	Standardisierbarkeit**	Kommentar
Probenahme	Fangflüssigkeit (Art, Menge)	hoch	hoch	Siehe z.B. Szymank <i>et al.</i> , 2018
	Fangdauer	hoch	hoch	
	Transport und Lagerung	mittel	hoch	
Laboranalyse	Größensortierung	gering	mittel-hoch	Aktuell unterschiedliche Ansätze
	DNA-Extraktion	mittel/hoch	hoch	Bislang v.a. Säulen- und Bead-basierte Protokolle
	Primer	mittel/hoch	hoch	Ähnliche Primerkombinationen genutzt
	PCR	mittel/hoch	hoch	Gute Taq-Polymerasen sind bekannt, z.B. Nichols <i>et al.</i> , 2018
	Library-Erstellung	mittel	hoch	
Sequenzierung	Sequenzierplattform	mittel	mittel	Sequenzierplattformen verändern sich sehr schnell, Interkalibrierung ist aber standardisiert möglich
Analyse	Referenzdatenbank	gering-mittel	hoch	das Global Genome Biodiversity Network stellt standardisierte Optionen zur Lagerung und Abruf von Proben bereit.
	Biomonitoring	gering	hoch	
Archivierung	Probenmaterial	mittel	hoch	Es existieren Datenbanken und Datenstandards, die jedoch nicht immer genutzt werden.
	Daten	hoch	hoch	
QA/QC	Prozess- und Ergebnisvalidierung	mittel	hoch	Etablierte ISO-Laborstandards, verbindliche Validierung über "Mock-Communities", Ring-Tests

Standardisierbarkeit auf nahezu allen Ebenen sehr gut

* Einschätzung basierend auf den aktuellen Projekten in der Wissenschaft
 ** Potenzial für ein bundesweites Monitoring.



CEN/TC 230/WG28: DNA & eDNA methods Chair: Kristian Meissner (SYKE, FIN)

DECISION 646 (Brussels 17/2018) taken by CEN/TC 230 on 2018-06-08

Subject: CEN/TC 230 – DNA and eDNA methods

Dr. Kat Bruce will submit a draft for a NWIP on eDNA water sampling by November 2018. The NWIP will be submitted to CEN/TC 230 for the registration in the work program. Following a positive outcome, the working group on DNA and eDNA will be officially installed. SFS, AFNOR and NEN are investigating the provision of the secretariat for this new WG.

ISO-Aktivitäten laufen ebenfalls

International Organization for Standardization
When the world agrees

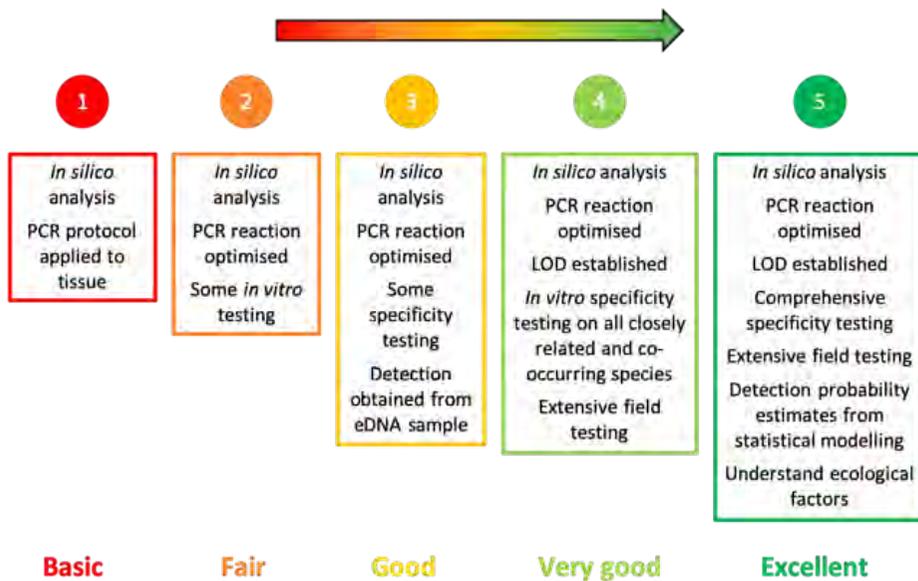
Standards All about ISO Taking part Store

Standard catalogue Publications and products

ISO 21286:2019 Preview
Soil quality – Identification of ecotoxicological test species by DNA barcoding

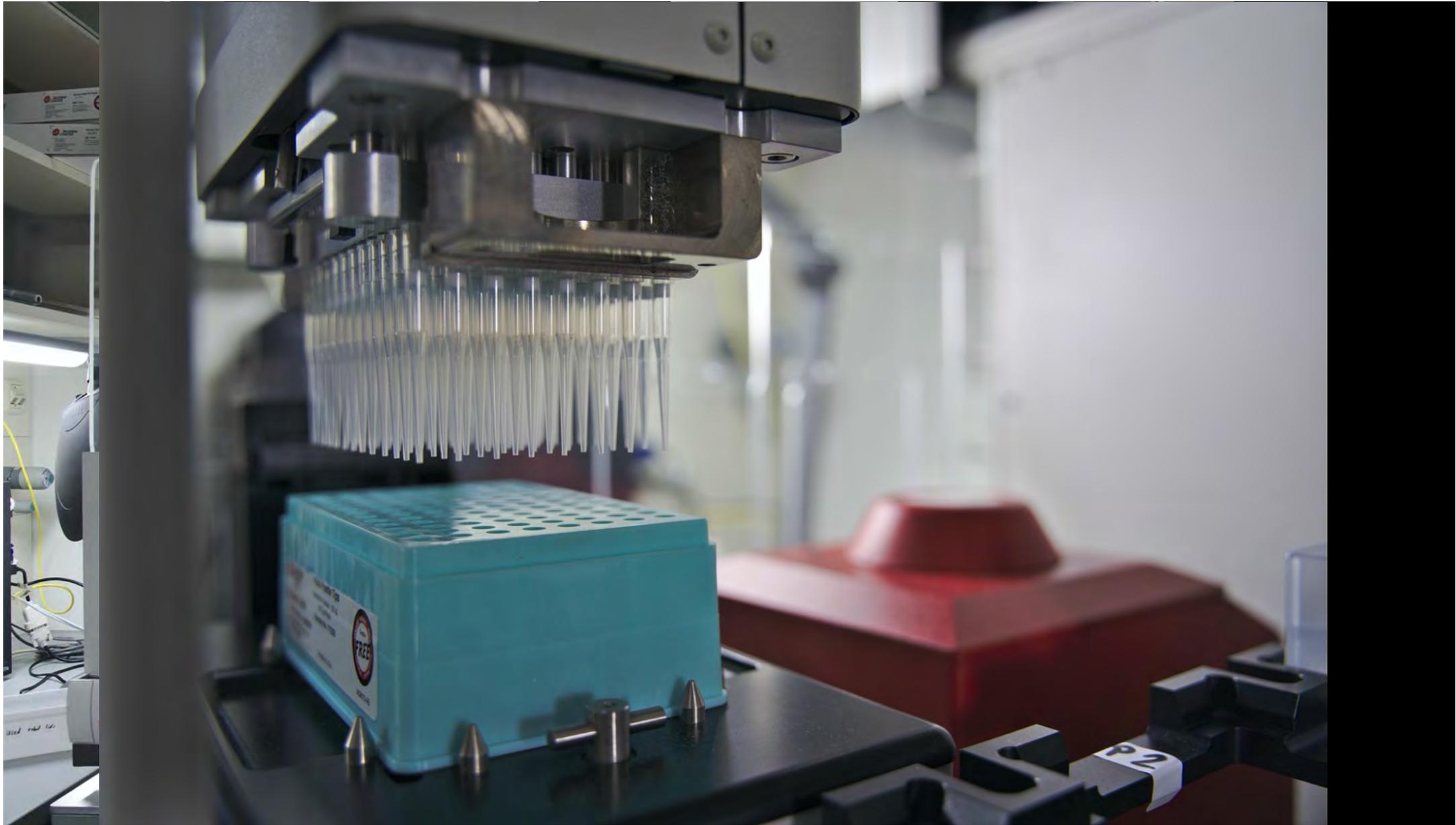
„Validation-Scale“

→ Hilfestellung bei der Beurteilung der Aussagekraft von Einzelartnachweisen



	Rudimentär 1	Befriedigend 2	Gut 3	Sehr gut 4	Exzellent 5
Negative Result	Impossible to tell if target is present or absent	Impossible to tell if target is present or absent	Impossible to tell if target is present or absent	Target is likely to be absent, assuming sampling has been carried out at an appropriate time of year and with a high level of replication	Target is likely to be absent. Assuming appropriate sampling has been carried out, a probability of species presence (false negative) can be given
Positive Result – Amplification	Impossible to tell if target is present or absent	Impossible to tell if target is present or absent	Impossible to tell if target is present or absent	Target is very likely to be present	Target is very likely to be present
Positive Result – Sequenced	DNA of target is definitely present	DNA of target is definitely present			







Chancen & Herausforderungen genetischer Methoden

- **Standardisierung:** Prozess erst gestartet – Kooperation Wiss., Behörden, Industrie nötig!
- **Häufigkeiten:** Abundanzen nur ungenau erfassbar
- **Referenzdatenbanken:** Noch nicht vollständig für einige Gruppen
- **Netzwerk / Einbindung:** LTER? Bundesweites Monitoring? Länder?

mittelfristig
lösbar!

Chancen & Herausforderungen genetischer Methoden

- **Umfassende Erhebung:** taxonomische Auflösung, Anzahl erfasster Taxa, Phänologie
- **Skalierbarkeit:** Viele Tausend Proben, Millionen Individuen (Bsp: 1008 Proben @leeselab this week)
- **Replizierbarkeit:** Ergebnisse können jedem überprüft werden (Sequenzabgleich)
- **Flexibilität:** Einzelindividuen, Mischproben, ausgewählte Taxa, alle Taxa, nicht-invasiv
- **Nachhaltigkeit:** Proben (DNA/Gewebe) stehen für künftige Analysen zur Verfügung
- **Standardisierbarkeit:** Protokolle existieren – Probenahme bis Auswertung standardisierbar
- **Ökosystemverständnis:** Nahrungsnetze & weitere Interaktionen erfasst
- **Naturschutzrelevanz:** Gefährdungsbeurteilung umfassend(er) möglich
- **Kosten-Nutzen-Vorteil:** Je mehr Proben desto günstiger
- **Neue Verfahren:** Metagenomik, -transkriptomik und Populationsgenomik

Egal was – aber ganz besonders im Biomonitoring:
Es funktioniert besser gemeinsam



@leeselab @dnaquanet



<https://dnaqua.net>