

Naturschutzgenetik

Amphibien-Nachweis mittels
eDNA



Was ist eDNA und wie kommt sie ins Wasser

- ▶ Alle Lebewesen «verlieren» DNA (z.B. Ausscheidungen, Hautschuppen, Drüsen, etc.)
- ▶ Die langen DNA Moleküle werden in der Umwelt abgebaut / liegen mit der Zeit in immer kleineren Fragmenten vor.
- ▶ DNA kann aus Umweltproben isoliert und analysiert werden.
- ▶ eDNA liegt in sehr kleinen Mengen vor (meist wenige Moleküle pro Art)

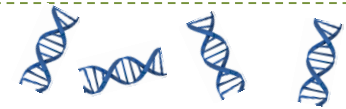


Was ist ein Barcoding Locus

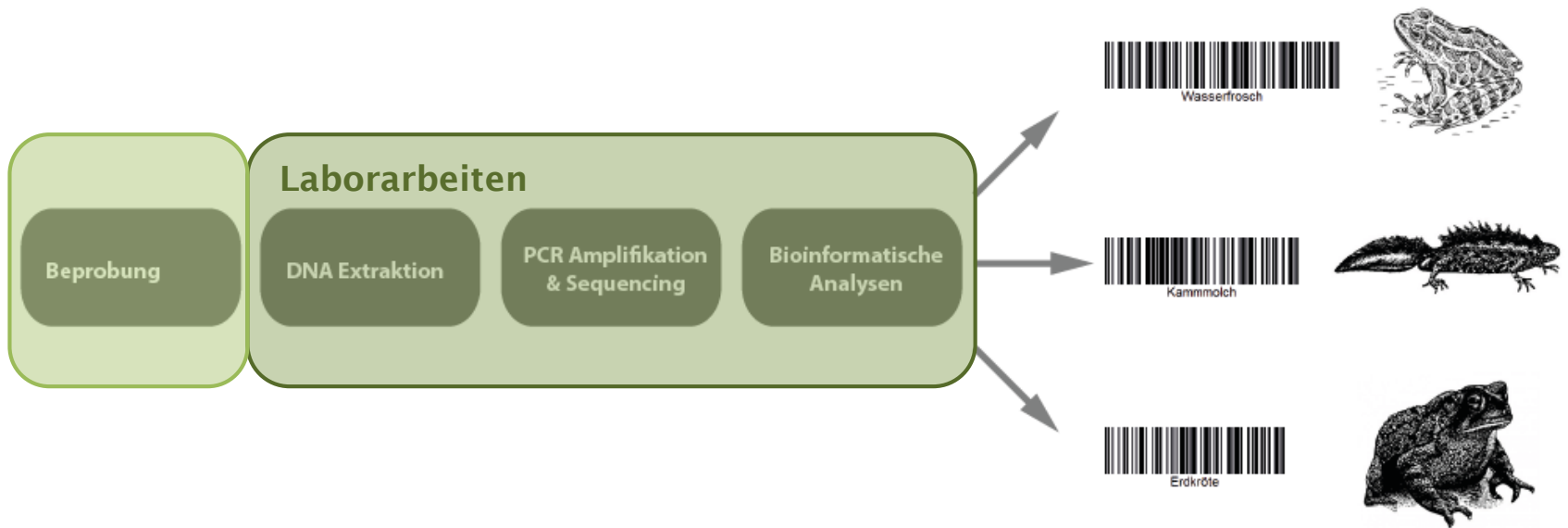
R. lessonae
H. arborea
B. calamita
A. obstetricans
B. variegata
T. cristatus



- ▶ Kurzer, sehr variabler Teil flankiert von konservierter Region
- ▶ Möglichst auf einem multi-copy Gen (z.B. Mitochondrion)
- ▶ Referenzdatenbank / Referenzsequenzen!!!



Ablauf einer eDNA-Analyse



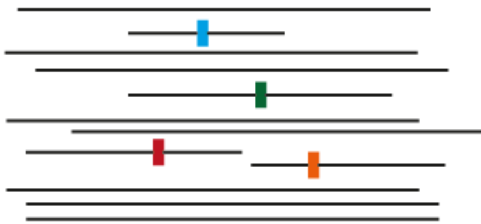
- ▶ **Wichtig!** Klassifizierung basierend auf Abgleich von gefundenem Barcode mit Barcode in der Referenz!



PCR Amplifikation & Sequenzierung

- ▶ Mittels der Polymerase-Chain-Reaction (PCR) kann ein Abschnitt der DNA (Barcoding Locus) hochkopiert werden (Nachweisgrenze bei ca. 10-50 Molekülen).
- ▶ Next-Generation Sequencing (NGS) sequenziert einzelne PCR Moleküle (10'000-50'000 Sequenzen /

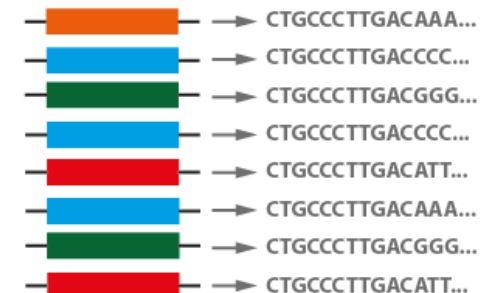
A eDNA



B PCR Produkt

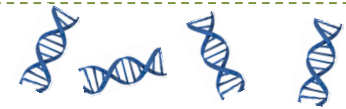


C Sequenzierung



Bioinformatische Analysen

- ▶ **Wichtig!** Bei Analyse erfolgt ein Abgleich zwischen den Sequenzen der Probe und einer Referenzdatenbank (→ Zuordnung taxonomischer Name zu Sequenz)
- ▶ Referenzdatenbank sehr wichtig
- ▶ Auflösung des Barcoding Markers muss bekannt sein (z.B. bei den Wasserfröschen)
- ▶ Allfällige Hybridisierungen etc. beeinflussen die Analyse resp. deren Interpretation



Laborseitige Herausforderungen

- ▶ Arbeit mit sehr geringen DNA Mengen wie in der Forensik → **Kontaminationen in Feld und Labor!**
- ▶ **Negative Resultate** - keine Amplifikation von DNA - wirklich keine Amphibien-DNA in Probe vorhanden oder Inhibition in der PCR?



Ausblick

- ▶ Weitere spezifische Nachweise in Planung:
 - ▶ Nachweis **Fisch-DNA** in Wasserprobe
 - ▶ Nachweis **Chytridiomykose-DNA** in Wasserprobe
 - ▶ Weitere Nachweise nach Bedarf...
- ▶ **Analysen können mit Amphibien-Artennachweis kombiniert werden und keine zusätzliche Probenentnahme / DNA Isolation ist notwendig**

