

# Umwelt DNA von Fischen (eDNA) als ergänzende Methode zur Gewässerzustandserhebung (GZÜV) in Österreich – Möglichkeiten/Grenzen

*Michael Schabuss, Horst Zornig, Didier Pont, Vinzenz Bammer*

11. ÖKF FishLife FORUM 2023, 13-14.10.2023, Linz



# Einleitung & Aufgabenstellung

- Seit 2006 werden die österr. Gewässer mit dem Fisch Index Austria (FIA) bewertet, die Bewertung im Rahmen der GZÜV hat Auswirkungen für die Umsetzung der EU WRRL in AT
- Etwaige notwendige Verbesserungsmaßnahmen (z.B. Fluss- Renaturierungen) sind sehr kostenintensiv
- Als Untersuchungsmethode wird zur GZÜV v.a. die Elektrofischerei angewendet
- Die Aussagekraft von Elektrofischereien sinkt in tieferen und größeren Gewässern (limitierte Wirkung des elektrischen Feldes)
- Ergänzende Befischungsmethoden, wie z.B. Bodenschleppnetz, Legeleinen, MM Netze sind Personal- und Kosten intensiv, können Fische schädigen

# Forschungsprojekt DaFNE 2021-2024



- Bewilligung des Forschungsprojekts bei der Forschungsplattform dafne.at des BML (2021)
- Ziel: eDNA als eine potenzielle, zusätzliche Methode zur Bewertung des fischökologischen Zustands zu untersuchen und deren Möglichkeiten & auch Limitationen darzustellen
- Dazu werden gleichzeitig Elektro-Befischungen und eDNA Probennahmen an insg. 72 Probestellen in 7 Bundesländern durchgeführt
- Projektablauf: Ende 2021 Beauftragung, Vorbereitung & Literaturrecherche, 2022 & 2023 Freilandenerhebungen, 2024 Datenanalyse & Endbericht

# Definition, Ursprung und Beständigkeit von e-DNA

- Organismen geben DNA über Kot, Urin und Körperzellen (in Schuppen, Schleim etc.) in die Umwelt ab, diese e-DNA kann im Wasser, Boden, Luft nachgewiesen werden
- e-DNA Konzentration steigt innerhalb weniger Tage in messbaren Bereich an
- e-DNA ist nur 1–2 Wochen lang im Wasser nachweisbar, nachdem die Art entfernt wurde
- Wird bei Amphibien bereits standardmäßig angewendet



# eDNA – Anwendungen - Fische

- Umwelt DNA, d.h. die Analyse von Fisch- DNA aus Wasserproben, als nicht invasive Methode zur Ergänzung der E-Befischung, kann methodische Defizite beheben
- Probennahme ist schnell & kostengünstig mit wenig Personaleinsatz
- Hat eine höhere Detektionswahrscheinlichkeit für seltene & oft bedrohte Fischarten
- Wurde bereits erfolgreich entlang der gesamten Donau angewendet (Joint Danube Survey 4)
- Analyse Methoden werden ständig verfeinert & weiter entwickelt
- Quantitative PCR (qPCR) liefert neben den Fischarten auch die Gesamtmenge an Fisch DNA in den einzelnen Proben und kann Aussagen zur Fischdichte und Fischbiomasse ermöglichen (noch in Entwicklung)



# eDNA Probennahme & -bearbeitung

## Probennahme

Im Feld, Filtration mit steriler Einweg-Filterkapsel für jede Probe (2 Proben/Standort)  
1 Filtration = 25-30 min. ~ **30 liter**

**Grosses Volumen**



## Probenfixierung

Im Feld mit Pufferlösung



**Freiland Probenahme (PRO FISCH)**



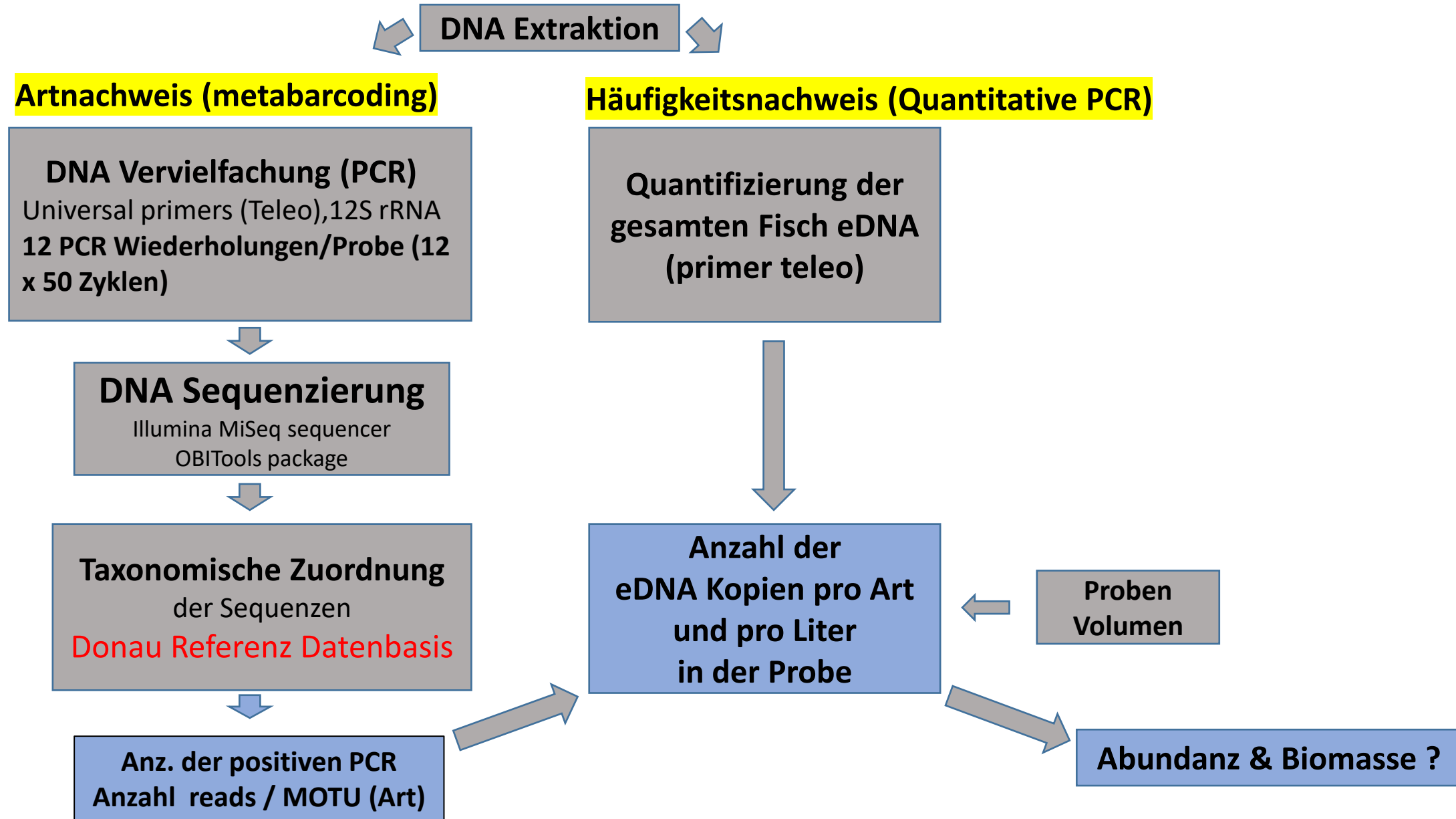
**Labor (SPYGEN)**

**DNA Extraktion**



# Laboranalysen: eDNA workflow

(Valentini et al. 2016, Pont et al. 2023)



MOTU = molekulare operationale taxonomische Einheiten



# Befischungsmethoden

- Fischbestandserhebungen nach Leitfaden des BML (A1- Fische/ Aktualisierung Donau 2022)
- Watbare Flüsse über die gesamte Breite (100-300 m lang) – Kategorie A
- Tiefe Flüsse mit Streifenbefischungsmethode (mit Boot mind. 25 Streifen á 50-300 m Länge)- Kat. C
- Große Flüsse (Donau & March) mit Streifenbefischung (Tag/Nacht) + elektrifiziertes Bodenschleppnetz & Multi- Maschen Kiemennetze – Kat. D

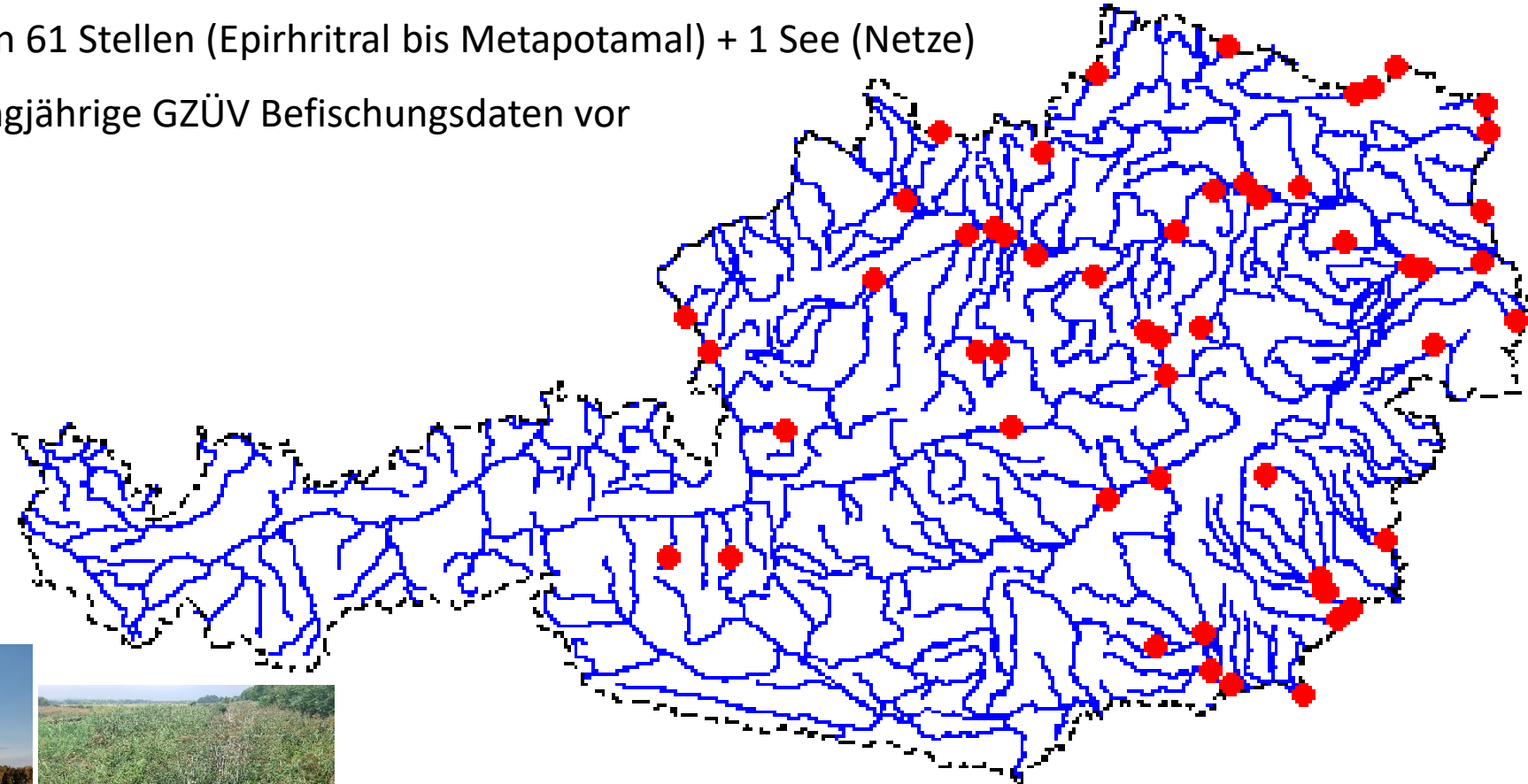




# eDNA Probennahmen & Elektrobefischungen 2022

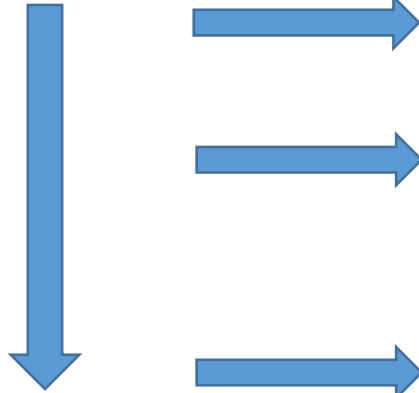
## Probennahmen & Daten Analysen: PRO FISCH - eDNA Analysen : SPYGEN

- eDNA Probennahmen an 62 Probestellen (je 2 Filtrationen) vom 04.07. – 02.11. 2022 (Wasser Temp 12°-20°)
- Gleichzeitig Elektrobefischungen an 61 Stellen (Epirhrital bis Metapotamal) + 1 See (Netze)
- Für fast alle Probestellen liegen langjährige GZÜV Befischungsdaten vor
- 25 Stellen der Kategorie A (watbar)
- 26 Stellen Kat. C (Boot)
- 10 Stellen Kat. D (Boot + Zusatzmethoden)
- 1 Stelle See (Wörthersee)



# DaFNE – Erste Ergebnisse eDNA Probennahme 2022- Artenliste

Mit eDNA insg. 84 Taxa nachgewiesen



Final 55 Taxa ausgewählt  
(Vorkommen in der Donau durch frühere Befischungen oder aus der Literatur bestätigt)

Taxonomische Zuordnung der Fisch-eDNA mit der SPYGEN Datenbank und "Donau-Referenzdatenbank" (aus JDS4)

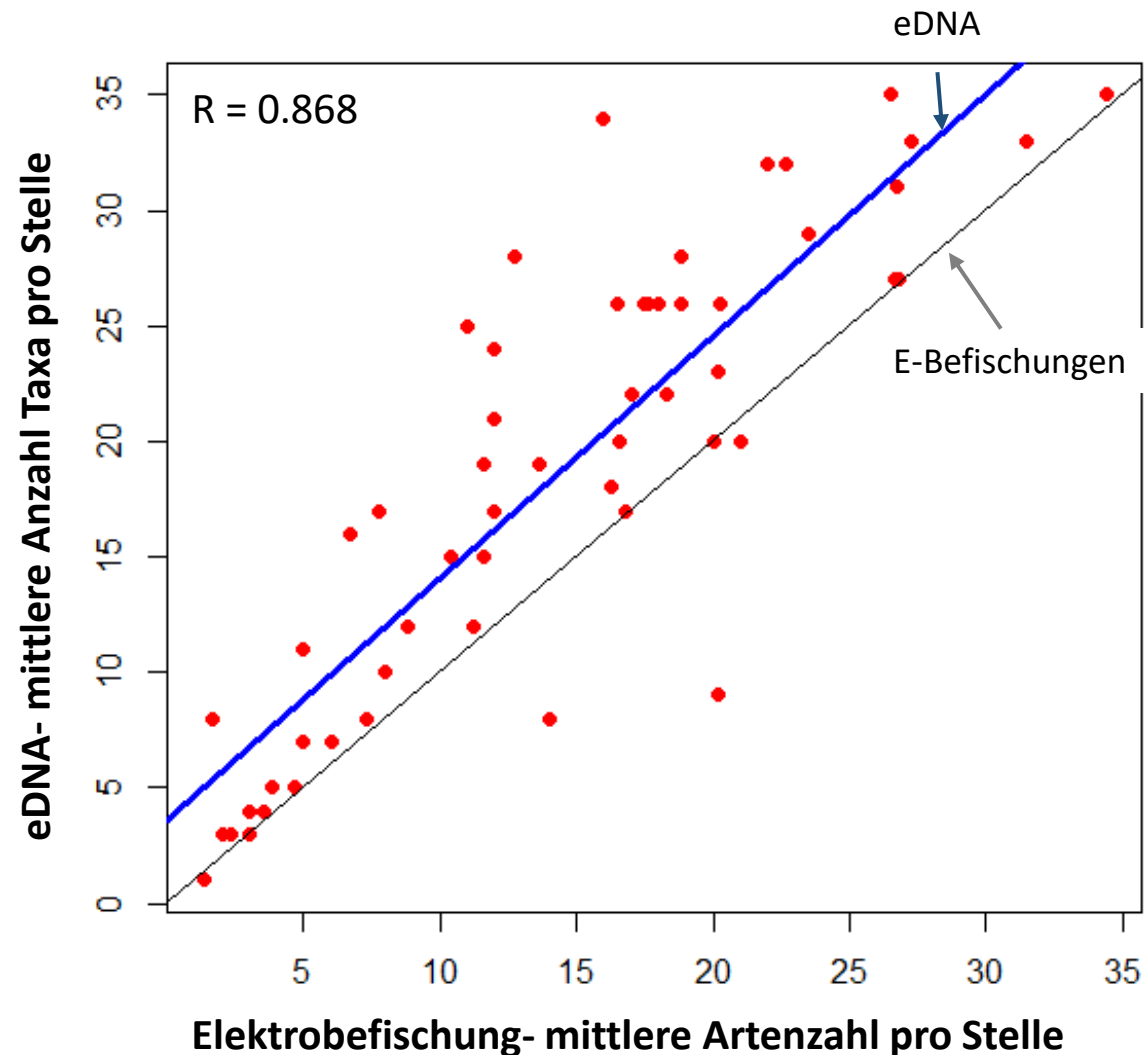
Unbekannte Taxa im Donau-Einzugsgebiet wurden ausgeschlossen (falsche Zuordnung?)

Ebenso wurden Speisefische, Zuchtfische, Aquarium Fische ausgeschlossen (z.B. Lachs, Makrele, Sardine, Clarias, Guppy, etc), ....

<i>Abramis brama</i>	<i>C. nasus / T. souffia</i>	<i>Proterorhinus semilunaris</i>
<i>Acipenser baerii</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	<i>Pseudorasbora parva</i>
<i>Acipenser ruthenus</i>	<i>Esox lucius</i>	<i>Rutilus virgo pigus</i>
<i>Aguelden_Anaccarii</i>	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	<i>Rhodeus amarus</i>
<i>Alburnoides bipunctatus</i>	<i>G.gobio, R.kessleri, R.vladikovy</i>	<i>Romanogobio uranoscopus</i>
<i>Alburnus alburnus</i>	<i>G. cernua_baloni_schraetser</i>	<i>Rutilus rutilus</i>
<i>Ameiurus melas</i>	<i>Hucho hucho</i>	<i>Sabanejewia balcanica</i>
<i>Anguilla anguilla</i>	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	<i>Salmo trutta</i>
<i>Aspius aspius</i>	<i>Lampetra planeri</i>	<i>Salvelinus sp.</i>
<i>Babka gymnotrachelus</i>	<i>Lepomis gibbosus</i>	<i>Sander lucioperca_volgensis</i>
<i>Barbatula barbatula</i>	<i>L.idus_L.leuciscus_P.cultratus</i>	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>
<i>Barbus barbus</i>	<i>Lota lota</i>	<i>Silurus glanis</i>
<i>Bcarpathicus</i>	<i>Misgurnus fossilis</i>	<i>Squalius cephalus</i>
<i>B.sapa, B.bjoernkna, V.vimba</i>	<i>Neogobius fluviatilis</i>	<i>Thymallus thymallus</i>
<i>Carassius gibelio</i>	<i>Neogobius melanostomus</i>	<i>Tinca tinca</i>
<i>Cobitis elongatoides</i>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	<i>Zingel streber</i>
<i>Cobitis taenia</i>	<i>Perca fluviatilis</i>	<i>Zingel zingel</i>
<i>Coregonus sp.</i>	<i>Phoxinus phoxinus</i>	
<i>Cottus gobio</i>	<i>Ponticola kessleri</i>	

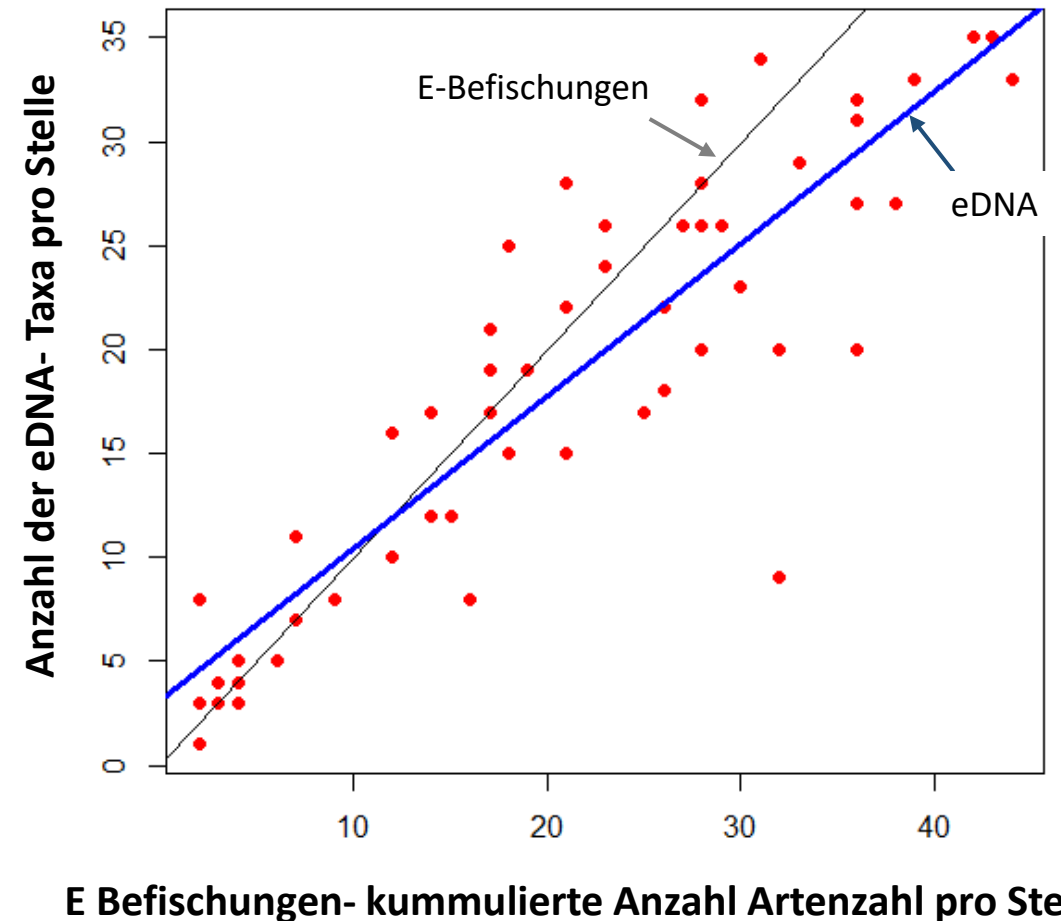
# Erste Ergebnisse- Vergleich mittlere Artenzahlen/Stelle eDNA vs Elektrofischungen

- Von den 62 eDNA-Standorten waren an 56 Standorten Elektrofischungen vorhanden
- Die E-Befischungen (GZÜV) reichen von 2004 bis 2022 (18 Jahre) und umfassen insg. 258 Befischungen mit 1 bis 8 Befischungen pro Standort
- **hohe Korrelation (R Pearson = .868,  $P < 0.001$ ) zwischen dem mittleren Artenreichtum pro Standort aus den eDNA-Proben (aus 2022) und aus den GZÜV-Elektrofischungen (2004-2022)**
- Die Schätzung des mittleren eDNA-Artenreichtums ist immer höher als der mittlere Artenreichtum pro GZÜV-Elektrofischung, und zwar unabhängig von der Größe des Flusses.
- Die Differenz zwischen eDNA-Proben und Elektrofischungen betrug im Mittel 3,6 Arten pro Standort



# Erste Ergebnisse- Regression des eDNA-Artenreichtums gegen den kumulierten Elektrofischungs-Artenreichtum pro Standort

- der Gesamtbestand an Arten je Standort ist bei beiden Methoden vergleichbar
- die Schätzung des Arten- Reichtums mit eDNA ist in kleinen Flüssen & Bächen tendenziell höher als bei Elektrofischungen und bei großen Flüssen niedriger
- Weitere Analysen sind erforderlich, diese werden nach Abschluss aller Probenahmen (Herbst 2023) und eDNA-Analysen (Frühjahr 2024) durchgeführt.



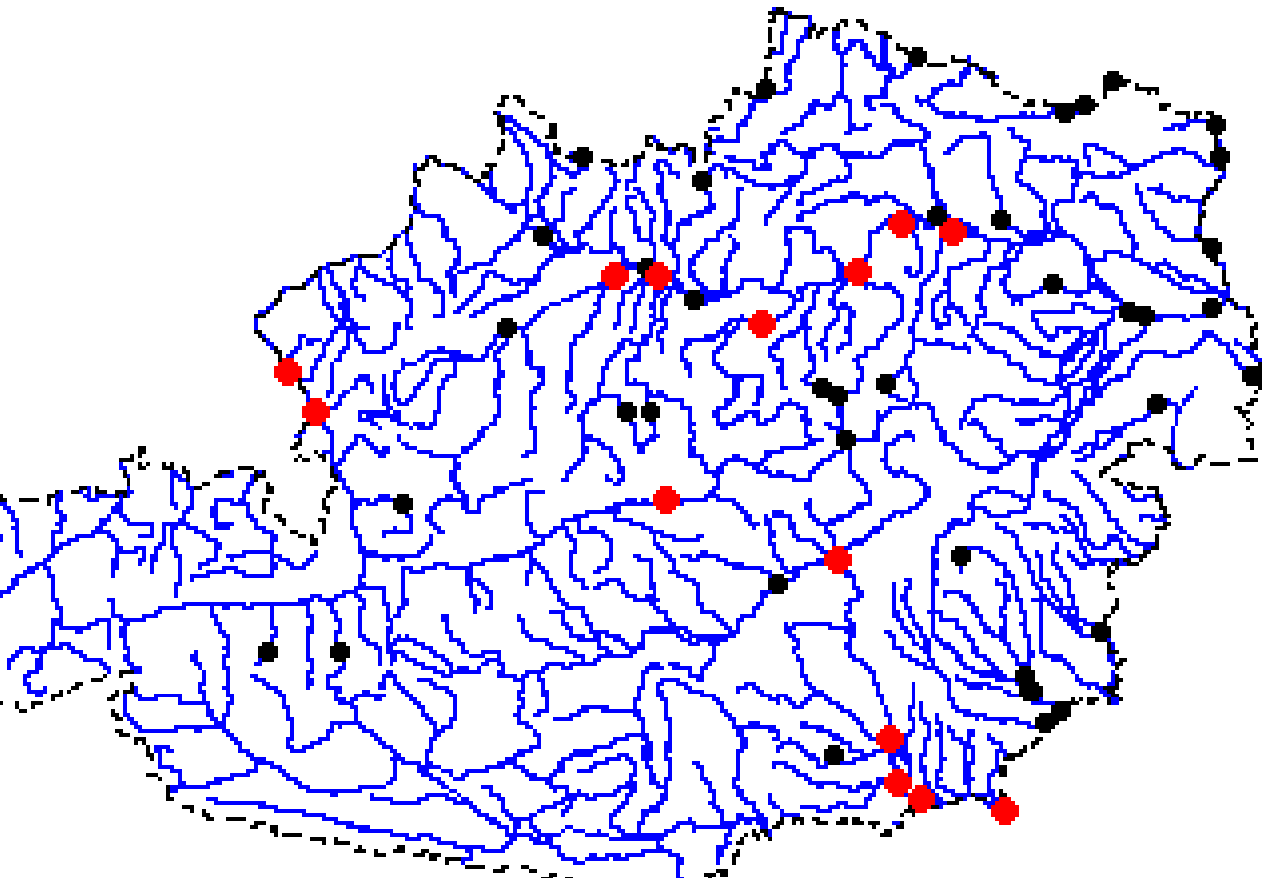


# Nachweis des Huchens (*Hucho hucho*) eDNA vs E- Befischungen



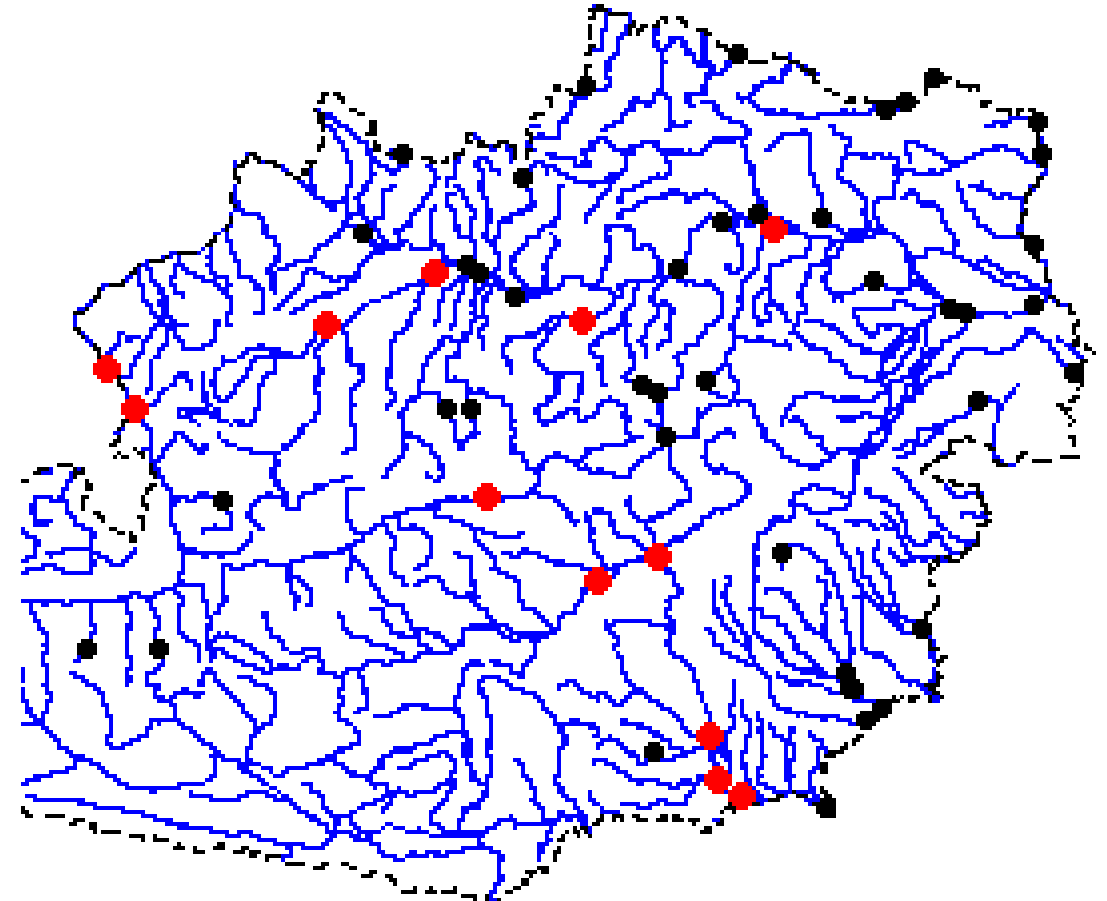
E-Befischungen (2004-2022)

(● = Art vorhanden, ● = Art nicht nachgewiesen)



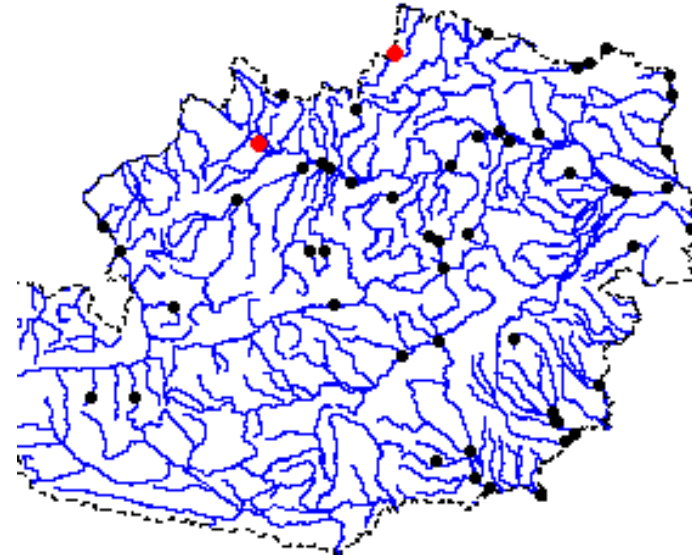
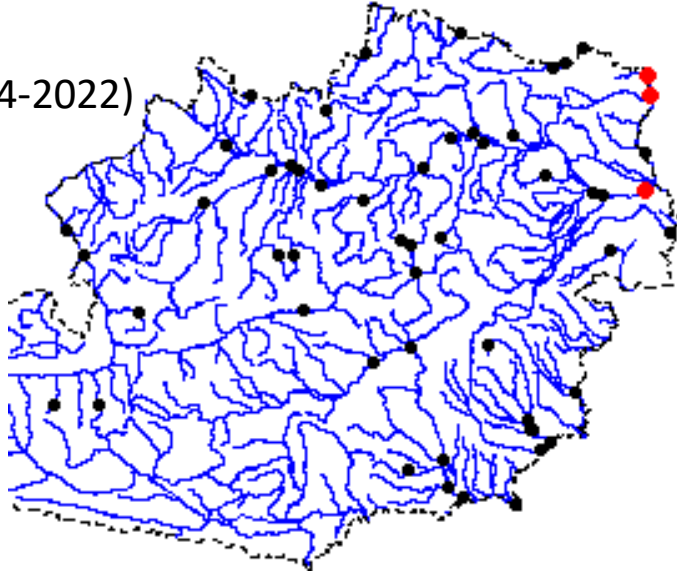
eDNA Proben (2022)

(● = Art vorhanden, ● = Art nicht nachgewiesen)



## Nachweis von Schlammpeitzger (*Misgurnus fossilis*)

Elektrofischung (2004-2022)

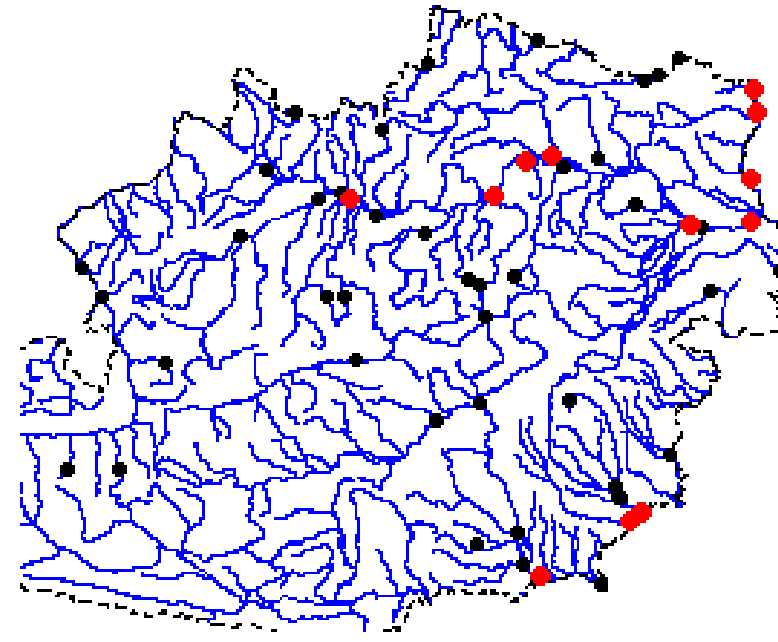
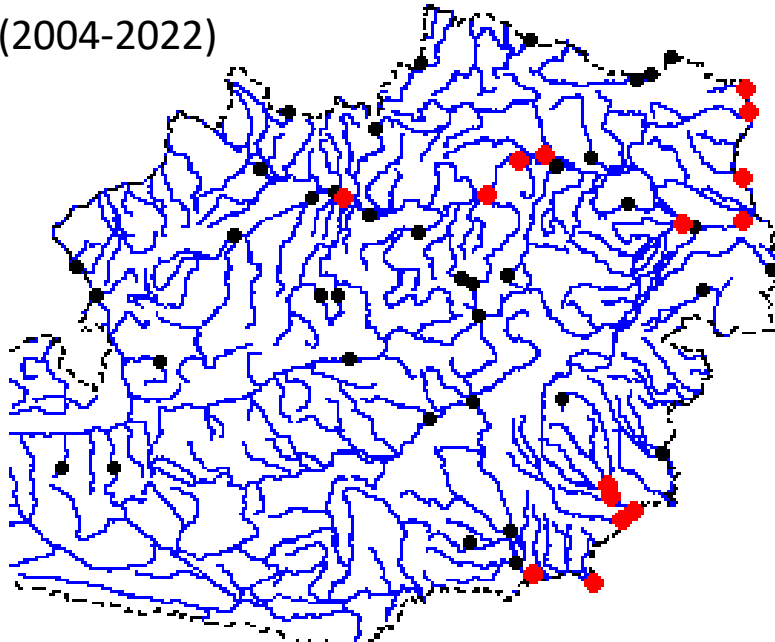


eDNA (2022)



## Nachweis von Zingel (*Zingel zingel*)

Elektrofischung (2004-2022)



eDNA (2022)



# Erste Erfahrungen aus Saison 2022

- Einschränkungen bei der gleichzeitigen Entnahme von eDNA-Proben und Elektrofischung (Wassertemperatur von 12 - 20 °C) - Zeitraum geeigneter Bedingungen ist relativ kurz
- Nach Hochwasserereignissen sollte die Probenahme mindestens 4 Wochen nach dem HQ-Ereignis erfolgen
- Trübung und v.a. Gletschersedimente blockieren Filter - daher ist die Probenahme im Sommer in bestimmten Gebieten nicht sinnvoll (z.B. Salzach)
- Zusätzliches Team und Ausrüstung (z. B. Wathosen, Auto) für die eDNA-Probenahme sind wichtig, um Verunreinigungen der Proben zu vermeiden, besonders wenn gleichzeitig Elektrofischerei betrieben wird

# Erste Aussagen zu Vorteilen und Beschränkungen der e-DNA

## Grenzen/Beschränkungen:

- Derzeit noch keine Information über Populationsgröße (Anz. Ind./Biomasse) der Arten
- Keine Infos zu Individuen (Größe, Alter, Geschlecht, Entwicklungszustand, etc.)
- Manche Artenkomplexe können noch nicht aufgelöst werden (Nase-Strömer bzw. die 3 Gründlingsarten)

## Möglichkeiten/Vorteile:

- Guter Arten-Nachweis v.a. in Hinblick auf mittlere Artenzahlen (1 x eDNA im Schnitt mehr Arten als in 18 Jahren E-Befischungen)
- Einfach & zeitsparend im Feld
- Nicht-invasive Methode
- Ständige Weiterentwicklung der Analysemethoden

- **Auswertung noch in Arbeit, v.a. quantitative Aussagen können erst im Winter 2023/Frühjahr 2024 gemacht werden (wenn alle Proben genommen)**
- **Die ersten Ergebnisse zeigen deutlich, dass die eDNA Methode funktioniert und kann in Kombination mit Elektrobefischungen eine genauere Bewertung ermöglichen (v.a. in größeren Flüssen). Die methodisch bedingte (E- Fisch) Überbewertung der Oberflächen- Fische wird ausgeglichen**



# Nächste Schritte

- Herbst 2023: Abschluss der eDNA-Probenahme und Elektrofischung
- Sammlung zusätzlicher abiotischer Daten (Abfluss, etc.) und ehemaliger Elektrofischereidaten von allen Probenahmestellen
- Beginn der Datenanalyse der quantitativen qPCR-Daten
- Detailliertere Korrelationsanalysen von Elektrofischungsergebnissen (einschließlich früherer Elektrofischungsdaten) und eDNA-Ergebnissen
- Frühjahr/Sommer 2024: Abschluss der Datenauswertung & Erstellung Endbericht



**Danke für Ihre Aufmerksamkeit**

[www.profisch.at](http://www.profisch.at)