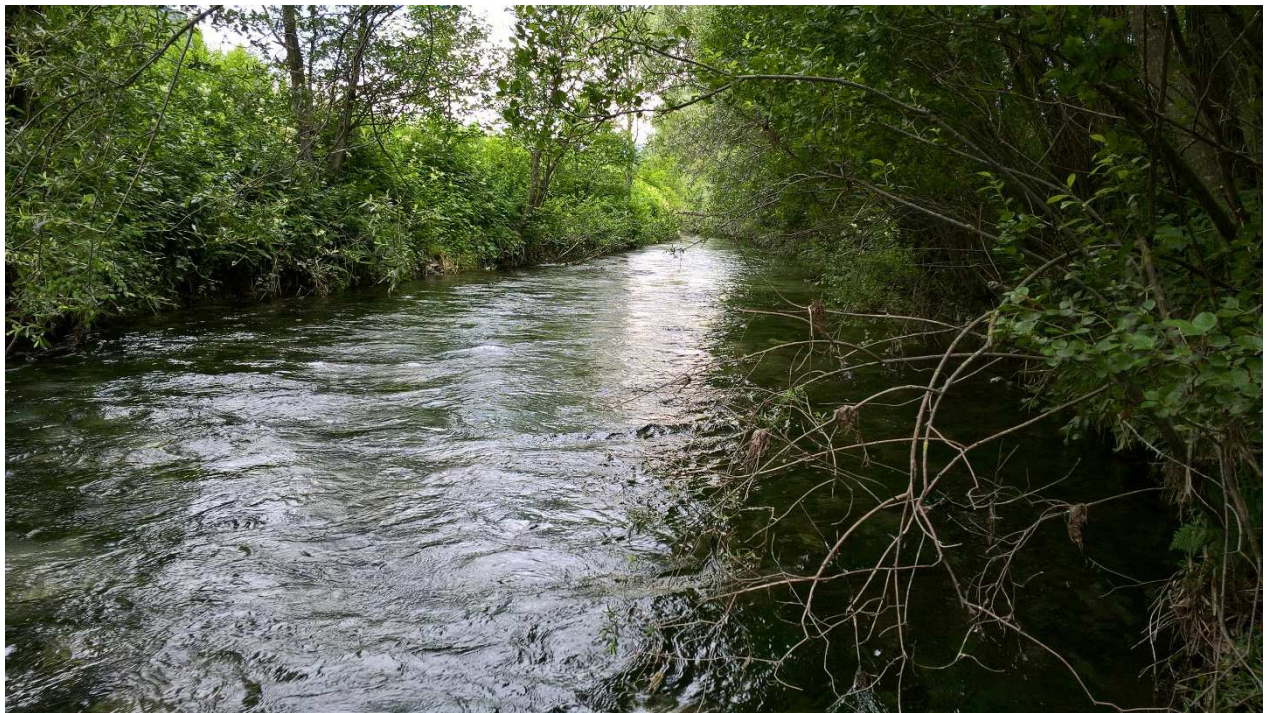


Untersuchung der Fisch-, Rundmäuler-, Amphibien-, Muschel-, und Flusskrebs- fauna in Tiroler Gießen



Auftraggeber:

Land Tirol Abteilung Wasserwirtschaft

Auftragnehmerin: Sinsoma GmbH

Ansprechpersonen:

Dominik Kirschner, M.Sc.

Dr. Corinna Wallinger

Titelbild: Große Laue, Mag. Johannes Oehm

Einleitung

Die Analyse von DNA Spuren, welche Organismen an ihre Umgebung abgeben, sogenannter Umwelt-DNA (environmental DNA, eDNA), hat sich in den letzten Jahren zu einem effizienten und verlässlichen Werkzeug im Monitoring von aquatischen Lebensräumen entwickelt. eDNA kann aus Umweltproben wie Wasser extrahiert werden und ermöglicht eine nicht invasive Bestimmung der darin vorkommenden Arten. Anzumerken ist, dass eDNA des Öfteren fälschlicherweise als Methode bezeichnet wird, wobei es sich hierbei eigentlich um DNA-Moleküle handelt, welche Organismen an ihre Umgebung abgeben und die mithilfe unterschiedlicher molekularbiologischer Methoden nachgewiesen werden können.

So erlauben eDNA Analysen eine wetter- und tageszeitenunabhängige Beprobung von Gewässern. Darüber hinaus hängt ein Nachweis eines Taxons nicht vom Lebensstadium des Organismus oder der Expertise des Beprobenden ab. Ein zusätzlicher Vorteil ist die Möglichkeit, verschiedene Organismengruppen aus ein und derselben Probe zu bestimmen, was zu einer enormen Reduktion des Umfangs von Feldarbeiten führen kann. Vom Prinzip her, kann man bei den molekularen Detektionsmethoden zwischen zwei Ansätzen unterscheiden: dem diagnostischen Ansatz, bei dem gezielt nach der DNA einzelner oder mehrerer Arten gesucht wird, und dem Metabarcoding, anhand dessen man ganze Organismengruppen identifizieren kann. Jede dieser Methoden hat ihre Vor- und Nachteile. So eignen sich diagnostische Ansätze aufgrund ihrer hohen Sensitivität sehr gut, um gezielt nach seltenen oder verborgen lebenden Arten zu suchen (z.B. geschützte Arten oder neue einwandernde invasive Spezies = Neobiota), während Metabarcoding die Identifikation von ganzen Organismengemeinschaften ermöglicht, jedoch das Risiko in sich birgt, dass sehr seltene Arten „übersehen“ werden können.

Diese eDNA-basierten Methoden erlauben daher eine ganz neue Dimension von Umweltmonitoring und der Erfassung von Biodiversität in Gewässern. Mit gleichem Personalaufwand können damit beispielsweise mehr Gewässer beprobt werden als mit herkömmlichen Methoden. Durch die DNA-Sequenzdaten werden organismische Erhebungen zusätzlich überprüfbar, da diese im gegebenen Fall jederzeit mit der DNA-Sequenzdatenbank abgeglichen und die Korrektheit der Zuordnung überprüft werden kann. All diese Vorteile führen dazu, dass eDNA-basierte Methoden verstärkt Einzug auch in die Arbeit des Gewässer- und Naturschutzes halten.

Um eDNA analysieren zu können, wird die Probe (z.B. Wasser) meist filtriert. In der jüngeren Vergangenheit hat sich das Filtrieren durch eingekapselte Einwegfilter als Methode der Wahl durchgesetzt. Dies verhindert effektiv eine Kreuzkontamination von DNA zwischen einzelnen Proben. Auch im vorliegenden Projekt wurden eDNA in den Gewässern basierend auf Filterproben analysiert.

Im Projekt „eDNA Methoden zur Erfassung von Fisch-, Rundmäuler-, Amphibien-, Muschel- und Flusskrebbsfauna in Tiroler Gießen“ wurden zwischen 02.07. und 09.07.2019 35 Gießen (langsam fließende Gewässer des Talbodens) in Tirol auf die eDNA der oben erwähnten Tiergruppen mittels Metabarcoding untersucht. Die Probenahme und Filtration erfolgte durch Personal der Abteilung für Wasserwirtschaft der Tiroler Landesregierung nach Einschulung durch Mitarbeiter der Sinsoma GmbH.

Methodik

Probennahme & Filtration:

An jeder Probenstelle wurden zwei Parallelproben entnommen. Dabei wurde mittels DNA-freier Probenbeutel (Applix Hydrobag, Fresenius-Kabi) jeweils zwei Mal 1,5 l Wasser entnommen und bis zur Filtration kühl und dunkel gelagert. Diese Proben wurden anschließend mittels Peristaltikpumpe durch einen Kapselfilter mit 0,45 µm Durapor® Membran (Sterivex, Merck Millipore) filtriert. Abschließend wurden die Filter bei -80 °C eingefroren und bis zur Extraktion im Labor gelagert. Während aller Arbeitsschritte wurden für die Beprobung Einweghandschuhe getragen und ausschließlich Einwegmaterialien verwendet, um das Risiko einer Kreuzkontamination von DNA zwischen einzelnen Proben zu minimieren.

Zusätzlich wurden an jeder Probenstelle abiotische Parameter wie Temperatur, Leitfähigkeit, Sauerstoffgehalt, pH-Wert, Trübe des Gewässers, Strömung, Ufervegetation, Makrophytenbewuchs und das Vorkommen vom Europäischen Biber (*Castor fiber*) dokumentiert.

DNA Extraktion, PCR und Metabarcoding:

Die molekularen Analysen erfolgten in einem Speziallabor für molekulare Diagnostik mit getrennten Laboren für Prä- und Post-PCR. Für die DNA-Extraktion wurde ein BioSprint-96-Extraktionsroboter unter Verwendung des BioSprint-96-DNA-Blood&Tissue-Kit eingesetzt (beides von Qiagen).

Es wurden für jede der fünf Gruppen speziell optimierte molekulare Nachweissysteme (Primerpaare) für die zu untersuchenden Tiergruppen eingesetzt. Mit Hilfe dieser gruppenspezifischen Primerpaare wird ein bestimmter Genabschnitt der in einer Probe vorhandene DNA aller Arten der Tiergruppe, für die sie entwickelt wurden, vervielfältigt. Fische wurden mit für mitteleuropäische Fischarten und Rundmäuler optimierten MiFish-Primern detektiert, das Nachweissystem für Amphibien beruht auf zwei eigens entwickelten Primersets für die Gruppe der Schwanzlurche (Caudata) und der Froschlurche (Anura) und auch die Flusskrebse wurden mittels eigens designten Primerpaaren detektiert. Der Nachweis der Muscheln erfolgte mit Primern für Unionidae, Dreissenidae, Sphaeridae & Corbicula.

Die erhaltenen DNA-Fragmente für die Arten aus den unterschiedlichen Tiergruppen wurden im Anschluss an die molekulare Analyse mittels Illumina-Miseq Technologie sequenziert und danach bioinformatisch aufbereitet.

Bioinformatische Analyse:

Die aus den Proben generierten DNA-Sequenzen wurden mit öffentlich zugänglichen Sequenzdatenbanken (Genbank NCBI; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) und lokal gespeicherten DNA-Sequenzen der Sinsoma GmbH abgeglichen und dadurch den entsprechenden Arten zugeordnet. Als sicherer Nachweis für die DNA eine Art gelten Detektionen von Sequenzen, welche zu 99% mit jenen dieser Art in den Datenbanken übereinstimmen und darüber hinaus mindestens 1% der generierten DNA-Sequenzen in der jeweiligen Probe ausmachen. DNA-Sequenzen mit geringer Anzahl (<1%) oder einer Übereinstimmung unter 99% gelten als „nicht gesicherte“ Nachweise und sind in den Ergebnissen gesondert ausgewiesen (siehe Excel File Artenliste_Endbericht.xls im Anhang). Alle Arten mit weniger als 25 DNA-Sequenzen in der betreffenden Probe oder mit unter 95% Übereinstimmung wurden nicht berücksichtigt.

Ergebnisse

Allgemeiner Überblick:

Es wurden insgesamt 70 Proben aus 35 Gewässern entnommen (jeweils 2 Parallelproben). In den meisten Fällen konnte das gesamte Volumen der entnommenen 1,5 l durch den Filter gepumpt werden, an manchen Gießen war es jedoch auch etwas weniger (Tab. 1).

Tabelle 1 Überblick über das tatsächlich filtrierte Volumen an den verschiedenen Tiroler Gießen. Anmerkung: Eine der beiden Proben am Lobbach (SIN-007) ist beim Transport zur Filtrationsstelle bis auf 200 ml ausgelaufen.

Probe	Gewässer	Volumen [ml]
SIN-001	Völser Gießen 1	1500
SIN-002	Völser Gießen 2	1500
SIN-003	Telfer Gießen 1	1500
SIN-004	Telfer Gießen 2	1500
SIN-005	Krebsbach 1	1500
SIN-006	Krebsbach 2	1500
SIN-007	Lobbach 1	200
SIN-008	Meransbach 1	1500
SIN-009	Meransbach 2	1500
SIN-010	Unterrieder Bach 1	900
SIN-011	Unterrieder Bach 2	1100
SIN-012	Lobbach 2	1500
SIN-013	Tratzberger Gießen 1	900
SIN-014	Tratzberger Gießen 2	700
SIN-015	Augießen Jenbach 2	1500
SIN-016	Moosbach 1	1500
SIN-017	Moosbach 2	1500
SIN-018	Augießen Jenbach 1	1500
SIN-019	Tufter Bach 1	1200
SIN-020	Tufter Bach 2	1200
SIN-021	Augießen Pill 1	1500
SIN-022	Augießen Pill 2	1500
SIN-023	Wattener Augießen 2	1300
SIN-024	Wattener Augießen 1	700
SIN-025	Pettbauer Gießen 1	1500
SIN-026	Pettbauer Gießen 2	1500
SIN-027	Gießenbach Hatting 1	800
SIN-028	Gießenbach Hatting 2	700
SIN-029	Hattinger Bach 1	1500
SIN-030	Hattinger Bach 2	600
SIN-031	Zirler Gießen 1	1500
SIN-032	Zirler Gießen 2	1500
SIN-033	Blachfelder Gießen 1	900
SIN-034	Blachfelder Gießen 2	1500
SIN-035	Matzener Gießen 1	1500

Probe	Gewässer	Volumen [ml]
SIN-036	Matzener Gießen 2	1500
SIN-037	Schlitterer Gießen 1	1500
SIN-038	Schlitterer Gießen 2	1500
SIN-039	Aufenfelder Gießen 1	1300
SIN-040	Uderner Gießen 1	900
SIN-041	Uderner Gießen 2	800
SIN-042	Märzener Gießen 1	1400
SIN-043	Märzener Gießen 2	1500
SIN-044	Aufenfelder Gießen 2	1500
SIN-045	Entwässerungsgerinne Erpfendorf 1	1500
SIN-046	Entwässerungsgerinne Erpfendorf 2	1300
SIN-047	Gießenbach Langkampfen 1	1500
SIN-048	Gießenbach Langkampfen 2	1500
SIN-049	Brunnbach Kössen 1	650
SIN-050	Brunnbach Kössen 2	600
SIN-051	Waidachbach 1	650
SIN-052	Waidachbach 2	900
SIN-053	Radfelder Gießen 1	1200
SIN-054	Radfelder Gießen 2	1300
SIN-055	Brunnbach Erpfendorf 1	1500
SIN-056	Brunnbach Erpfendorf 2	1500
SIN-057	Liesfelder Gießen 1	6000
SIN-058	Liesfelder Gießen 2	1000
SIN-059	Kirchdorfer Bach 1	1500
SIN-060	Kirchdorfer Bach 2	1500
SIN-061	Waier A 1	1000
SIN-062	Waier A 2	1200
SIN-063	Waier B 1	1500
SIN-064	Waier B 2	1500
SIN-065	Wiere 1	1500
SIN-066	Wiere 2	1300
SIN-067	Große Laue 1	1500
SIN-068	Große Laue 2	1500
SIN-069	Auen Laue 1	1500
SIN-070	Auen Laue 2	1500

In 69 dieser Proben konnte mindestens ein Taxon detektiert werden (Tab. 2); einzig die Analyse der Probe SIN-0012 vom Lobbach ergab keine Nachweise. Insgesamt konnten 71 verschiedene Arten mittels der fünf molekularen Detektionssysteme identifiziert werden. Dabei reichen diese Nachweise vom artenarmen Zirler Gießen mit drei Arten bis hin zum artenreichen Matzener Gießen mit insgesamt 35 Arten aus vier Tiergruppen.

Tabelle 2 Überblick über gefundene Tierarten in den 35 verschiedenen Tiroler Gießen. Parallelproben wurden zusammengefasst (inkl. gesicherter und ungesicherter DNA-Nachweise).

Gewässer	Amphibien	Muscheln	Fische	Rundmäuler	Flusskrebse	Arten Gesamt
Auenlaue	2	4	13			19
Aufenfelder Gießen	2	5	11			18
Augießen Jenbach	2		7	1		10
Augießen Pill	2		7			9
Blachfelder Giessen	2	10	11			23
Brunnbach Erpfendorf	3	5	12			20
Brunnbach Kössen	2	4	6			12
Entwässerungsgerinne Erpfendorf	2	4	11			17
Giessenbach Hatting	3		11			14
Gießenbach Langkampfen	2	8	20			30
Große Laue	2	5	11			18
Hattinger Bach	2		10		1	13
Kirchdorfer Bach	3	6	11			20
Krebsbach	2		12		1	15
Liesfelder Gießen	2	11	6			19
Lobbach	1		5			6
Märzener Gießen		4				4
Matzener Gießen	3	10	21		1	35
Meransbach	3		6			9
Moosbach	1		7	1		9
Pettnauer Gießen	1		11			12
Radfelder Gießen	2	10	8	1		21
Schlitterer Gießen	2	9	12			23
Telfer Gießen	2		4			6
Tratzberger Gießen	2		8			10
Tufter Bach	3		11			14
Uderner Gießen	3	5	17			25
Unterrieder Bach	3		5			8
Völser Giessen	3		8			11
Waidachbach	2	3	7	1	1	14
Waier A	2	3	5			10
Waier B	3	5	7			15
Wattener Augießen	3		11			14
Wiere	2	2	1			5
Zirler Giessen	3					3
Arten gesamt	8	19	32	1	1	71

In den im Bericht enthaltenen Tabellen sind alle Nachweise zusammenfassend gelistet (gesicherte wie ungesicherte), was einen Überblick über die Ergebnisse der molekularen Analyse bieten soll. Dies ist beim Lesen der Tabellen zu berücksichtigen und die Interpretation dieser Tabellen sollte daher mit entsprechender Vorsicht erfolgen.

Die Detailinformationen zur Auflistung der nachgewiesenen Arten für die einzelnen Proben mit (1) der Anzahl an detektierten DNA-Sequenzen, (2) dem Ausmaß an Übereinstimmung dieser DNA-Sequenzen mit jenen aus den Datenbanken, sowie auch (3) der Ausweisung gesicherter und ungesicherter DNA-Nachweise sind dem Excel-File zu entnehmen (Artenliste_Endbericht.xls), welches mit diesem Endbericht ebenfalls an den Auftraggeber ergeht. Etwaige Unterschiede in den Nachweisen zwischen den Parallelproben sind dadurch bedingt, dass sich die eDNA im Wasser nicht immer gleichmäßig verteilt.

Fische:

Die Fische waren mit insgesamt 32 Arten jene Tiergruppe, in der DNA der meisten Arten nachgewiesen wurde (Tab. 3). Die mit Abstand häufigsten Fischarten waren die typischen Vertreter der rhithralen Zone wie die Bachforelle (*Salmo trutta fario*), Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) oder auch die Koppe (*Cottus gobio*). Unter den Arten, deren DNA detektiert wurde, sind aber auch weitere Spezies, wie z.B. der invasive Sonnenbarsch (*Lepomis gibbosus*), von dem einige DNA Sequenzen im Pettnauer Gießen nachgewiesen wurden. Sollten die Gegebenheiten für ein mögliches Vorkommen dieser Art sprechen, empfehlen wir eine gezielte Nachsuche.

Bei einigen der Spezies war der DNA-Nachweis jedoch nicht gesichert (siehe Artenliste_Endbericht.xls), entweder aufgrund der geringen Anzahl von DNA-Sequenzen in der Probe (< 1% der insgesamt detektierten DNA Sequenzen in der Probe, aber über 25) oder aber aufgrund einer Übereinstimmung der DNA-Sequenzen mit der jenen in der Datenbank von nur knapp über 95%, wie z.B. für den Zobel (*Ballerus sapa*) im Matzener Gießen mit 95.5% oder auch die Mairénke (*Alburnus mento* mit 97% und nur wenigen Sequenzen).

Wie bereits im Teilbericht dargelegt, ist der Nachweis des Atlantischen Lachses (*Salmo salar*) in 24 der 35 beprobten Gewässer nicht über ein Vorkommen dieser Art zu erklären. In wenigen Fällen erscheint hier der Eintrag über vorgereinigte häusliche Abwässer oder über Ausleitungen aus Fischzuchtanlagen (Fischfutter) möglich; desgleichen könnte die Detektion von Fremdeinträgen (Lebensmittel, Tierfutter) stammen. Für den Großteil der Fälle stellt dies jedoch keine plausible Erklärung für die Detektion von *S. salar* dar. Die Ursache für diese Falschnachweise ist daher aller Wahrscheinlichkeit nach in der Sequenzierung bzw. den Sequenzdatenbanken zu suchen: Innerhalb der Gattung *Salmo* gibt es eine relativ große Ähnlichkeit im untersuchten Genabschnitt. Wenn hier einzelne Basen des DNA-Abschnitts nicht korrekt sequenziert werden, kann es fälschlicherweise zur Zuordnung zur anderen Art innerhalb der Gattung kommen. Eine weitere mögliche Erklärung für eine falsche Zuordnung zu *S. salar* könnte darüber hinaus das Vorkommen einer seltenen Genvariante der Bachforelle (*S. trutta*) sein, welche in den Referenzdatenbanken noch nicht abgebildet ist. Bei den „DNA-Nachweisen“ des Atlantischen Lachses handelt es sich daher aller Voraussicht nach um die Bachforelle. Ähnliches gilt für die Gattung *Salvelinus*. Auch innerhalb dieser Gattung sind die untersuchten Genabschnitte sehr ähnlich, sodass es sich bei der Detektion des Seesaiblings (*Salvelinus umbla*) aller Wahrscheinlichkeit nach um den Bachsaibling (*S. fontinalis*) handelt.

Rundmäuler:

Die Gruppe der Rundmäuler (*Lampetra planeri* / *Eudontomyzon* sp.) wurde in vier der untersuchten Gießen detektiert (Tab. 3a), wobei lediglich für den Radfelder Gießen ein gesicherter DNA-Nachweis vorliegt (Artenliste_Endbericht.xls). Da Rundmäuler üblicherweise nicht in sehr hohen Dichten vorkommen, ist es jedoch durchaus möglich, dass bereits wenige DNA-Sequenzen ein Vorkommen anzeigen können. Aus diesem Grund empfiehlt sich für die anderen drei Gewässer eine gezielte Nachsuche. Aufgrund von noch unzureichender Abdeckung und teilweise falscher/fraglicher Artzuordnung in den Referenzdatenbanken ist für die Rundmäuler derzeit keine eindeutige sichere Artidentifikation mittels DNA-Analyse möglich.

Flusskrebse:

Bei den Flusskrebsen wurde ausschließlich DNA des heimischen Edelkrebses (*Astacus astacus*) detektiert (Tab. 3b). Im Matzener Bach wurden DNA-Sequenzen dieser Art in beiden Parallelproben gefunden, im Krebsbach und im Waidachbach in je einer. Für den Hattinger Bach liegt ein nicht gesicherter DNA-Nachweis vor. Da Krebse aufgrund ihres Chitinpanzers deutlich weniger eDNA an ihre Umwelt abgeben als z.B. Fische oder Amphibien, kann bereits eine geringe Anzahl an Sequenzen auf ein Vorkommen hinweisen. Aus diesem Grund empfiehlt sich im fraglichen Gewässer eine gezielte Nachsuche im Frühling zur Zeit der Häutung, um das mögliche Vorkommen zu verifizieren.

Amphibien:

Unter den acht Amphibienarten, deren DNA detektiert wurde, sind neben den weit verbreiteten Spezies wie Grasfrosch (*Rana temporaria*) und Erdkröte (*Bufo bufo*) auch seltene Arten zu finden (Tab. 4). So wurde in beiden Proben von Waier A DNA des Feuersalamanders (*Salamandra salamandra*) nachgewiesen. Darüber hinaus wurden am Giessenbach in Langkampfen in einer der beiden Parallelproben DNA-Sequenzen der Knoblauchkröte (*Pelobates fuscus*) gesichert nachgewiesen. Die Übereinstimmung mit den Referenzsequenzen von *P. fuscus* aus den Datenbanken lag bei 99,47%, wobei in der Referenzdatenbank innerhalb der Art eine Sequenzvariabilität von bis zu 98,4% belegt ist. Die DNA dieser Art wurde damit eindeutig identifiziert. Der Anteil der DNA-Sequenzen der Knoblauchkröte lag bei etwas über 1% der Gesamtsequenzen in dieser Probe.

Bezugnehmend auf die Anfragen von Herrn Mag. Walter Michaeler der Abteilung Umweltschutz und Herrn Mag. Johannes Oehm anlässlich der ersten Detektion dieser Art für Tirol möchten wir Folgendes anführen: Eine Kontamination mit DNA der Knoblauchkröte im Labor kann ausgeschlossen werden, da es keinen Hinweis dafür in den Negativkontrollen gab. Hierbei handelt es sich um Proben mit destilliertem, DNA-freiem Wasser, welche mit jeder DNA-Extraktion und PCR mit analysiert werden. Darüber hinaus wurden in den Positivkontrollen keine DNA von *P. fuscus* verwendet, sodass hier keine Verschleppung möglich war. Außerdem wurde im gesamten Illumina-Miseq-Run in keiner weiteren Probe DNA der Knoblauchkröte nachgewiesen, sodass auch hier eine Übertragung der DNA-Sequenzen ausgeschlossen werden kann. Einzig die angegebene Probe lieferte DNA-Sequenzen der Knoblauchkröte. Zur Anwendung kamen allgemeine Amphibienprimer für das gruppenspezifische Metabarcoding und keine artspezifischen Primer für *P. fuscus*. Daher ist in diesem Fall keine Misamplifikation¹ möglich.

Ein Eintrag der DNA über Wasservögel kann nicht vollkommen ausgeschlossen werden, ist jedoch aufgrund der vorhandenen Anzahl an DNA-Sequenzen als unwahrscheinlich zu erachten. Zu der Auskunft von Herrn Mag. Florian Glaser laut derer in einem laufenden Verfahren in Salzburg eDNA in einer Probe bereits einmal „fälschlicherweise *P. fuscus* von einer Schweizer eDNA Firma nachgewiesen wurde“ können wir nur schwer Stellung nehmen, da wir hierzu keinerlei weitere Informationen oder Details - die Probennahme oder die molekulare Analyse betreffend - kennen. Ergänzend möchten wir hierzu anmerken, dass sich ein Nachweis der Knoblauchkröte mittels klassischer Begehungen nach Aussage von Dipl. Biol. Christian Höppner (Amphibienschutz-Projekte LIFE BOVAR des NABU Niedersachsen) besonders schwierig gestaltet, da diese Art sehr versteckt lebt und die Männchen besonders leise rufen. Einzelne Männchen können daher leicht übersehen werden.

¹ Eine Misamplifikation bedeutet, dass ein spezifischer Primer nicht nur spezifisch an die eine Zielart bindet, sondern auch an (eine) weitere und daher bei der diagnostischen PCR ein Produkt (DNA-Fragment) in derselben Länge wie für die Zielart generiert (amplifiziert) wird, obwohl es sich nicht um die Zielart handelt. Man spricht hier auch von Falsch-positiv-Nachweis.

Tabelle 3: Überblick über die Amphibienarten, welche mittels Metabarcoding in den verschiedenen Tiroler Gießen nachgewiesen werden konnten. Weiß = kein Nachweis, Grün = Nachweis, die Zahlen geben die Anzahl der Parallelproben an, in denen die Art detektiert wurde

Deutscher Artname →	Gelbbauchunke	Erdkröte	Wechselkröte	Bergmolch	Teichmolch	Knoblauchkröte	Grasfrosch	Feuersalamander
Wissenschaftl. Name → ↓ Gewässer	<i>Bombina variegata</i>	<i>Bufo bufo</i>	<i>Bufo viridis</i>	<i>Ichthyosaura alpestris</i>	<i>Lissotriton vulgaris</i>	<i>Pelobates fuscus</i>	<i>Rana temporaria</i>	<i>Salamandra atra</i>
Auenlaue		2					1	
Aufenfelder Gießen		2					2	
Augießen Jenbach		2					2	
Augießen Pill		2					2	
Blachfelder Giessen		2					2	
Brunnbach Erpfendorf	1	2					2	
Brunnbach Kössen		2					2	
Entwässerungsgerinne Erpfendorf		2					2	
Giessenbach Hatting		2		2			2	
Langkampfen		2				1		
Große Laue		2					2	
Hattinger Bach		2					2	
Kirchdorfer Bach		2		1			2	
Krebsbach		1					1	
Liesfelder Gießen		2					2	
Lobbach		1						
Matzener Gießen		2		1			2	
Meransbach		2		1			2	
Moosbach		2						
Pettner Gießen		2						
Radfelder Gießen		2					2	
Schlitterer Gießen		2					2	
Telfer Gießen		1					1	
Tratzberger Gießen		2					2	
Tufter Bach		2			1		1	
Uderner Gießen	1	2					2	
Unterrieder Bach		2		1			2	
Völser Giessen		2			1		1	
Waidachbach		1					2	
Waier A		2					2	
Waier B		2					1	2
Wattener Augießen		2		1			2	
Wiere		2					1	
Zirler Giessen		2	1	1				

Muscheln:

Die meisten der detektierten 19 Muschelarten sind der Gattung der Erbsenmuscheln (*Pisidium*) zuzuordnen (Tab. 5). Darüber hinaus erfolgten auch Nachweise der beiden Unionidenarten *Anodonta cygnea* und *Anodonta anatina* (Matzener Gießen). Bei den Muscheln sei allerdings angemerkt, dass die taxonomische Bestimmung der Kleinmuschelarten schwierig ist und dadurch auch die DNA-Datenbank dementsprechend lückenhaft ist bzw. Fehler aufweisen kann.

Tabelle 4a: Überblick über die Muschelarten (Teil1), welche mittels Metabarcoding in den verschiedenen Tiroler Gießern nachgewiesen wurden. Weiß = kein Nachweis, Grün = Nachweis, die Zahlen geben die Anzahl der Parallelproben an, in denen die Art detektiert wurde. Detailinformationen zur Auflistung der nachgewiesenen Arten für die einzelnen Proben sind im Excel File, welches mit dem Bericht an den Auftraggeber ergeht, enthalten.

[illegible]

Tabelle 5b: Überblick über die Muschelarten (Teil 2), welche mittels Metabarcoding in den verschiedenen Tiroler Gießen nachgewiesen wurden. Weiß = kein Nachweis, Grün = Nachweis, die Zahlen geben die Anzahl der Parallelproben an, in denen die Art detektiert wurde. Detailinformationen zur Auflistung der nachgewiesenen Arten für die einzelnen Proben sind im Excel File, welches mit dem Bericht an den Auftraggeber ergeht, enthalten.

Deutscher Gattungsname →	<i>Erbsenmuschel</i>	<i>Erbsenmuschel</i>	<i>Erbsen muschel</i>	<i>Erbsen muschel</i>	<i>Erbsenmuschel</i>	<i>Erbsen muschel</i>	<i>Erbsen muschel</i>	<i>Erbsen muschel</i>	<i>Erbsenmuschel</i>
Gewässer	<i>Pisidium milium</i>	<i>Pisidium nipponense</i>	<i>Pisidium nitidum</i>	<i>Pisidium obtusale</i>	<i>Pisidium personatum</i>	<i>Pisidium pulchellum</i>	<i>Pisidium sp. I CN14/1</i>	<i>Pisidium sp. RPG-3</i>	<i>Pisidium subtruncatum</i>
Auenlaue					2		1		
Aufenfelder Gießen					2	2			2
Blachfelder Giessen	2			2	2			2	2
Brunnbach Erpfendorf					2				2
Brunnbach Kössen	1				2				2
Entwässerungserinne Erpfendorf					2				2
Langkampfen	2		2		2				2
Große Laue					2		1		2
Kirchdorfer Bach		1			2				2
Liesfelder Gießen				2	2	2		1	2
Märzener Gießen					1				1
Matzener Gießen	2			2	2				2
Radfelder Gießen	2			2	2			1	2
Schlitterer Gießen			1		2	2			2
Uderner Gießen					2		1		2
Waidachbach					2				2
Waier A					2				1
Waier B					2	2			2
Wiere					1				1



Abbildung 1: Auswahl an Probenstellen mit teils stark unterschiedlicher Wasserführung.
V.l.o: Krebsbach, Entwässerungsrinne Erpfendorf, Aufenfelder Gießen, Brunnbach Erpfendorf.

Für Erklärungen und Rückfragen zu den Ergebnissen kann jederzeit gerne mit den zuständigen Personen bei Sinsoma Kontakt aufgenommen werden:

Dominik Kirschner , M.Sc.

0677 627 574 82

dominik.kirschner@sinsoma.com

oder

Dr. Corinna Wallinger

corinna.wallinger@sinsoma.com