

Bereit für die Anwendung? Molekulare Verfahren als Schlüssel zur modernen Gewässerbewertung

Till-Hendrik Macher (Trier), Arne J. Beermann (Essen), Jan Koschorreck (Dessau-Roßlau),
Florian Leese (Essen)

Zusammenfassung

Die Gewässerbewertung der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) steht unter steigendem Zeit- und Kostendruck. Daten zum ökologischen Zustand basieren bislang auf der klassischen morphologischen Bestimmung der Biologischen Qualitätselemente. Diese Verfahren sind fachlich etabliert und interkalibriert, jedoch personalintensiv, durch den Fachkräftemangel zunehmend langsam und zudem nur begrenzt skalierbar. DNA-Metabarcoding eröffnet hier einen praktikablen Weg in Richtung effizienterer und umfassenderer Gewässerüberwachung. In dem vom Umweltbundesamt geförderten GeDNA-Projekt wurde DNA-Metabarcoding erstmals mit einer statistisch belastbaren Zahl von Messstellen entlang des Routinemonitorings im Kontext des Routinemonitorings getestet: Proben von 170 Messstellen dreier Bundesländer wurden parallel morphologisch durch die Länder-Experten und mittels DNA-Metabarcoding analysiert. Das Ergebnis zeigt klare praktische Relevanz: beide Verfahren erfassten 70 % der Indikatororganismen auch ohne vorherige methodische Harmonisierung konsistent. Trotz Abweichungen bei einzelnen Taxa stimmten die daraus abgeleiteten Ökologischen Zustandsklassen nach Interkalibrierung gemäß EU-Richtlinie sehr gut überein (Korrelationskoeffizient $\rho = 0,86$, $R^2 = 0,74$). Mit den Projektdaten liegt somit ein operationalisierbares Verfahrensvorschlag vor, um Metabarcoding-Daten in Bewertungsmodulen der WRRL einzubinden. Ebenso groß ist das Potenzial von DNA Metabarcoding mit Umwelt-DNA (eDNA) aus Wasserproben: Diese Methode verspricht eine minimal-invasive, flächendeckend skalierbare Erfassung der Biodiversität. Daten aus dem GeDNA-Projekt belegen eine hohe Übereinstimmung mit etablierten Methoden – bei gleichzeitig deutlich höherer räumlich-zeitlicher Auflösung. Nach einem Jahrzehnt intensiver Entwicklung ist klar, dass (e)DNA-basierte Verfahren eine wichtige Ergänzung der bisherigen Methoden darstellen, um die Monitoringprogramme zukunftsfähig zu machen. Das Ziel bleibt unverändert: belastbare, vergleichbare und kostengünstige Bewertungen, um unsere Flüsse und Seen wirksam zu schützen.

Schlagwörter: Wasserrahmenrichtlinie, DNA-Metabarcoding, eDNA-Monitoring, Ökologischer Zustand, Gewässerbewertung, Biodiversitätserfassung, Routinemonitoring, Indikatororganismen, Methodenvergleich Morphologie, Skalierbares Umweltmonitoring

DOI: 10.3243/kwe2026.04.003

Abstract

Ready for deployment? Molecular methods as the key to modern waterbody assessment

The waterbody assessment required under the European Water Framework Directive (WFD) is coming under increasing time and cost pressure. To date, data on ecological status have been based on the classical morphological identification of biological quality elements. While these methods are well established and intercalibrated, they are labour-intensive, increasingly slow in view of skills shortages, and only scalable to a limited extent. DNA metabarcoding offers a practical way forward towards more efficient and more comprehensive monitoring of water bodies.

In the GeDNA project, funded by the German Environment Agency, DNA metabarcoding was for the first time tested on a statistically robust number of sites in the context of routine monitoring: samples from 170 monitoring sites in three federal states were analysed in parallel by state experts using classical morphology and by DNA metabarcoding. The results demonstrate clear practical relevance: without any prior harmonisation of methods, both approaches consistently detected 70% of the indicator taxa. Despite discrepancies for individual taxa, the ecological status classes derived from the two methods agreed very well after intercalibration under the EU rules (correlation coefficient of $\rho = 0.86$ and an R^2 of 0.74).

The project data thus provide an operational proposal for integrating metabarcoding data into the WFD assessment modules. The potential of DNA metabarcoding using environmental DNA (eDNA) from water samples is equally significant: this approach promises minimally invasive, nationwide, scalable biodiversity surveys. Data from the GeDNA project demonstrate a high degree of agreement with established methods, while at the same time delivering much finer spatial and temporal resolution. After a decade of intensive development, it is clear that (e)DNA-based methods represent an important addition to existing tools for future-proofing monitoring programmes. The objective remains unchanged: robust, comparable and cost-effective assessments to effectively protect our rivers and lakes.

Keywords: Water Framework Directive, DNA metabarcoding, eDNA monitoring, ecological status, waterbody assessment, biodiversity survey, routine monitoring, indicator organisms, comparison with morphological methods, scalable environmental monitoring

1 Einleitung

Das Umweltmanagement vieler Länder umfasst die biologische Überwachung aquatischer Systeme, um deren ökologischen Zustand zu bewerten. In der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie (WRRL, 2000/60/EG) dient das Monitoring dazu, den chemischen und ökologischen Zustand beziehungsweise das Potenzial von Fließ- und Stillgewässern sowie Übergangs- und Küstengewässern zu erfassen. Hierzu werden verschiedene biologische Qualitätselemente (BQEs) untersucht: Phytoplankton, Makrophyten und Phytobenthos, benthische Invertebraten und Fische. Die dazugehörigen ökologischen Zustandsklassen (ÖZK) reichen von „sehr gut“ (1) bis „schlecht“ (5) und der Gesamtzustand eines Gewässers richtet sich nach der jeweils schlechtesten BQE („worst case“-Prinzip), wobei zur Erreichung der Ziele der WRRL die ÖZK 1 und 2 erreicht werden müssen. Vor der WRRL verfügten viele Mitgliedstaaten über eigene Bewertungssysteme, die anschließend an die WRRL-Anforderungen angepasst und mit der europäischen Interkalibrierung vergleichbar gemacht wurden [6]. Die derzeit verwendeten Ansätze basieren auf der morphologischen Identifikation und der Ermittlung von Abundanzen, ein rechtlich vorgeschriebenes, jedoch zeit- und personalintensives Verfahren. Angesichts begrenzter Ressourcen und schwindender taxonomischer Expertise, insbesondere bei den Invertebraten, steigt der Druck, Monitoringprozesse effizienter zu gestalten, ohne dabei Vergleichbarkeit und Qualität zu verlieren [14]. DNA-basierte Methoden wie DNA- und Umwelt-DNA-(eDNA)-Metabarcoding bieten hierfür neue Möglichkeiten. Durch die Analyse von DNA-Fragmenten aus Sammel-, Wasser- oder Sedimentproben lassen sich BQEs mit hoher Effizienz erfassen [30], im Falle von eDNA direkt mehrere BQEs aus einer Probe [28, 36]. Studien belegen das große Potenzial dieser Methoden für wirbellose Makrofauna, Fische und Diatomeen (Kieselalgen) [12, 24, 38]. Vorteile des Metabarcoding sind eine höhere Automatisierbarkeit, skalierbare taxonomische Erfassung und verbesserte räumlich-zeitliche Auflösung [8, 18, 26]. Gleichzeitig bestehen Einschränkungen: Abundanzen und Biomassen lassen sich aufgrund methodischer Verzerrungen nur eingeschränkt quantifizieren, und Informationen über Alter oder Entwicklungsstadium, etwa für fischereiliche Bewertungen, sind meist nicht ableitbar [11, 22]. Dennoch wird die Integration von DNA-Metabarcoding in WRRL-Monitoringprogramme intensiv diskutiert, da die Methode inzwischen ausgereift, zuverlässig und kosteneffizient ist [14, 16, 24]. Sie könnte zudem zur Umsetzung weiterer Naturschutz- und Biodiversitätsregelungen beitragen. Voraussetzung für eine behördliche WRRL-Implementierung ist jedoch die methodische Normung und Interkalibrierung der Analyseverfahren. Dazu gehören statistische Prüfungen der Bewertungsschemata und Anpassungen von Berechnungsmetriken (Ref. CIS Guidance Dos 14, 30). Diese Evaluierung und Implementierung wurde am Beispiel des BQEs „Makrozoobenthos“ für Deutschland in dem vom Umweltbundesamt geförderten GedNA-Projekt von Forschungseinrichtungen und Umweltbehörden durchgeführt.

Die Zielsetzung des GedNA-Projekts war es, die praktische Einsatzfähigkeit von (e)DNA-Metabarcoding im behördlichen Monitoring in Deutschland zu prüfen. Dazu wurden drei zentrale Arbeitsbereiche bearbeitet: (i) Für die Bewertung der Eignung von DNA-Metabarcoding von benthischen Invertebraten wurden mittels DNA erstellte Taxalisten mit morpho-taxonomischen Referenzdaten verglichen, Unterschiede in Artenreichtum und Gemeinschaftszusammensetzung analysiert und Interkalibrierungsansätze zur Einbindung von DNA-Daten in das nationale Bewertungs-

verfahren „Perlodes“ entwickelt. (ii) Zur Untersuchung des Potenzials von minimal-invasivem eDNA-Monitoring wurden in dem Projekt verschiedene Gewässer auf Fische, Wirbellose und Diatomeen analysiert und die Ergebnisse mit morpho-taxonomisch erhobenen Daten abgeglichen. (iii) Abschließend wurde bewertet, wie methodische Unterschiede zwischen den Verfahren die abgeleiteten Zustandsklassen beeinflussen. Auf dieser Grundlage wurden Empfehlungen für die Integration DNA-basierter Verfahren in das WRRL-Monitoring entwickelt.

2 Methoden

2.1 Metabarcoding von Makroinvertebraten

Eine ausführliche Methodenbeschreibung findet sich in [16]. Die Probenahme benthischer Wirbelloser erfolgte im Rahmen des WRRL-Monitorings 2020–2021 durch Feldteams aus Nordrhein-Westfalen (LANUK), Sachsen (BfUL) und Bayern (LfU). Insgesamt wurden 170 Probenahmestellen basierend auf Flusstyp und gemeldeter ökologischer Zustandsklasse ausgewählt, mit Fokus auf die häufigsten Gewässertypen Deutschlands (Typen 5, 9, 14 und 15). Die Proben wurden gemäß EN 17136 als Multi-Habitat-Stichproben zwischen März und August entnommen und in 96 % EtOH fixiert. Die morphologische Bestimmung erfolgte durch Expert*innen der beteiligten Landesbehörden. Anschließend wurden die Proben dunkel und kühl gelagert und zur Metabarcoding-Analyse an die Universität Duisburg-Essen überführt. Für das Metabarcoding wurden die Proben homogenisiert, 12 Negativkontrollen pro 84 Proben ergänzt und die DNA mittels Proteinase-K-Lyse und Bead-Beating extrahiert. Alle Schritte erfolgten automatisiert auf einer Biomek FXP-Workstation. Für jede Probe wurden zwei Extraktionsreplikate erstellt. Die Amplifikation erfolgte zweistufig mit dem Primerpaar fwhF2/fwhR2n (COI-Gen, 205 bp) [32]. Nach einer Aufreinigung des ersten PCR-Schritts wurden im zweiten Schritt Sequenzieradapter und Dual-Twin-Indizes hinzugefügt [18]. Die normalisierten und gröbenselektierten Produkte wurden als Sequenzier-Libraries in den Jahren 2020 und 2021 getrennt auf Illumina HiSeq-Systemen (2x150 bp) sequenziert.

2.2 eDNA-Metabarcoding an Fließgewässern

Eine ausführliche Beschreibung der Methoden zu den ersten beiden Datensätzen findet sich in [20, 21]. Im April 2019 wurden entlang eines 2 km langen Abschnitts der Mulde (Dessau-Roßlau, Deutschland) insgesamt 18 Wasserproben entnommen – je vier oberhalb und unterhalb eines Wehrs sowie zwei innerhalb der Fischtreppe. Pro Probe wurden 1 L Oberflächenwasser in sterile Flaschen gefüllt und direkt vor Ort über eDNA-Filter (0,45 µm Porengröße) filtriert. Zwei Feldkontrollen wurden als sogenannte „Luftblanks“ aufgenommen. Die Filter wurden in 96 % Ethanol konserviert und bis zur Extraktion bei –20 °C gelagert. Die Laborschritte erfolgten unter sterilen Bedingungen in einem dedizierten eDNA-Labor. Hierzu wurden die Filter getrocknet, zerkleinert und die DNA mittels eines modifizierten Salzfällungsprotokolls extrahiert. Die PCR-Amplifikation erfolgte zweistufig mit dem Primerpaar tele02f/teleo2r (12S-Gen, 167 bp) [29]. Alle Proben wurden in fünf PCR-Replikaten verarbeitet, anschließend gepoolt, getaggt und normalisiert. Die finale Library wurde auf einem Illumina Mi-Seq (2x250 bp) sequenziert.

In einer weiteren Studie des GedNA-Projekts wurden vom 14. November 2020 bis 30. Oktober 2021 alle zwei Wochen Wasserpro-

ben an der renaturierten Mündung der Lippe (Wesel, Deutschland) genommen. An jedem Probenahmetag wurden zwei Wasserproben im Abstand von zehn Minuten entnommen und direkt vor Ort über eDNA-Filter (0,45 µm Porengröße) filtriert. Drei Feldnegativkontrollen wurden parallel erhoben. Die DNA-Extraktion erfolgte direkt aus den Filtern unter Verwendung von Proteinase K und dem NucleoMag Tissue Kit (Macherey Nagel), ergänzt durch vier Extraktionsblindproben. Amplifiziert wurde die eDNA mit drei Primerpaaren: tele02f/teleo2r für Wirbeltiere (12S), fwhF2/fwhR2n für Wirbellose (COI) und Diat_rbcL_708F/R3 für Diatomeen (rbcL) [33]. Die Amplifikation und Vorbereitung der Sequenzierung folgten den oben beschriebenen Protokollen. Die Libraries für tele02 und fwh2 wurden auf einem Illumina HiSeq (2 × 150 bp) sequenziert, während die rbcL-Library auf einem MiSeq (2 × 250 bp) sequenziert wurde.

Für beide Untersuchungsstandorte standen umfangreiche, traditionell erhobene Vergleichsdaten zur Verfügung. An der Mulde bildete eine 56-tägige Funktionskontrolle der Fischeaufstiegsanlage (FAA) die Grundlage, ergänzt durch Fischdaten der WRRL-Monitoringprogramme aus den Jahren 2017, 2018 und 2019. Für die Lippemündung lagen morphologische Datensätze zu Fischen (Fangdaten 2016 und 2019), Diatomeen (2018, 2020, 2021 und 2022) sowie Makroinvertebraten (2016, 2019 und 2022) vor, die durch die EGLV (Emschergenossenschaft und Lippeverband) im Rahmen des WRRL-Monitorings beziehungsweise eigener Untersuchungen erhoben und bereitgestellt wurden.

2.3 Bioinformatische Prozessierung

Die Analyse der Rohdaten (FASTQ-Dateien) erfolgte mit APSCALE (Macher et al. 2022) unter Standardeinstellungen. Für tele02- und fwh2-Datensätze wurden Operationelle Taxonomische Einheiten (OTUs) bei 97 % Ähnlichkeit generiert, während der rbcL-Datensatz auf der Ebene von genetischen Varianten (sogenannte „Exact Sequence Variants“, ESVs) durchgeführt wurde. Die taxonomische Zuordnung erfolgte Primer-spezifisch: Fischdatensätze über APSCALE-blast gegen Midori2-Datenbank [15], der rbcL-Datensatz gegen die diat.barcode Datenbank [25] und Makroinvertebraten mittels BOLDigger gegen die BOLDsystems v4 Datenbank (Buchner & Leese 2020). Alle Zuordnungen wurden gefiltert und taxonomisch überprüft. Die Sequenztabellen wurden für die weitere Auswertung in TaxonTableTools [17] in TaXon-Tabellen überführt, welche die taxonomische Annotation und die Anzahl der Reads (d. h. einzelne DNA-Sequenzen) pro OTU/ESV für jede Probe enthalten. Anschließend wurden technische PCR-Replikate zusammengeführt, wobei nur Taxa behalten wurden, die in beiden Replikaten nachgewiesen wurden. Sequenzen, die in den Negativkontrollen auftraten, wurden subtrahiert. Die Datensätze wurden nach taxonomischen Gruppen gefiltert und fachlich validiert, unter anderem durch Abgleich unsicherer Zuordnungen mit Daten zum Vorkommen aus der internationalen „Global Biodiversity Information Facility (GBIF)“ Datenbank. Feldreplikate wurden zusammengeführt, und alle Analysen basierten auf den gefilterten Tabellen.

2.4 Interkalibrierung

Die Interkalibrierung der Makroinvertebraten erfolgte gemäß EU-Leitfaden Nr. 30 [35], um die Klassengrenzen des DNA-Metabarcodings an die WRRL-konforme Bewertung anzupassen. Zu interkalibrierende Module waren der Saprobienindex und der Multi-Metrische Index (MMI) „Allgemeine Degradation“ für alle vier Fluss-

typen. Für jedes zugrundeliegende Modul wurden R^2 -Werte berechnet und Klassengrenzen mittels „ordinary least squares“ (OLS)-Regression angepasst. Gemäß Interkalibrierungsleitfaden wurden bei $R^2 < 0,8$ Schnittpunkte der Regressionsgeraden als neue Grenzen definiert, bei $R^2 \geq 0,8$ blieben sie unverändert. Darauf basierend wurden neue ökologischen Zustandsklassen (ÖZK) berechnet und die Verteilung der Proben über die ÖZKs mittels gewichteter Mittelwerte dargestellt.

2.5 eDNA-Metabarcoding Kostenanalyse

Für die Kostenanalyse wurden die Probenahmekosten des eDNA-Metabarcoding-Workflows berechnet und mit den geschätzten Kosten eines herkömmlichen morpho-taxonomischen Monitorings verglichen. Dabei wurden sowohl Material- als auch Personalkosten berücksichtigt (Stundensatz: 60,35 €), Kapitalaufwendungen blieben unberücksichtigt. Die Berechnungen basierten auf 52 eDNA-Proben sowie 26 traditionellen Probennahmen und wurden für verschiedene Taxa und Arbeitsschritte (Probenahme, Laborbearbeitung, Auswertung) getrennt ermittelt. Die traditionellen Kosten wurden auf Basis von veröffentlichten Monitoring-Protokollen und Literaturwerten ermittelt [4, 5, 9, 13, 27].

3 Ergebnisse

3.1 Metabarcoding von Makroinvertebraten

DNA-Metabarcoding war für alle 170 Proben erfolgreich und lieferte nach Qualitätsfilterung insgesamt rund 590 Millionen Reads, die zu 3.846 OTUs zusammengefasst wurden. Insgesamt wurden mit Metabarcoding 1.006 Arten nachgewiesen, während die traditionelle morphologische Bestimmung 439 Arten identifizierte; 303 Arten (69 %) wurden von beiden Methoden erfasst. Der Großteil der exklusiven Nachweise entfiel auf das Metabarcoding (rund 63 % der Gesamtarten), insbesondere bei Chironomidae (Zuckmücken) und Naididae (Familie der Ringelwürmer). Diese Gruppen, werden im Perloides-Verfahren nur bis auf höhere taxonomische Level bestimmt und divergieren deshalb erwartungsgemäß stärker. Die 136 ausschließlich morphologisch nachgewiesenen Taxa wurden weiter untersucht: In vielen Fällen ließen sich die Diskrepanzen auf gruppenbasierte morphologische Zuordnungen, Synonyme, unvollständige oder fehlerhafte Referenzsequenzen, Hybridisierung oder kryptische Artkomplexe zurückführen. Nur 19 Arten konnten aufgrund fehlender Barcodes grundsätzlich nicht mittels Metabarcoding erfasst werden. Insgesamt zeigte sich, dass Metabarcoding ein deutlich umfassenderes Arteninventar liefert, wobei die Unterschiede zwischen beiden Ansätzen vor allem auf taxonomische Auflösung, Datenbanklücken und bekannte biologische Besonderheiten zurückzuführen sind.

Die Interkalibrierung der Klassengrenzen unterschied sich zwischen den Flusstypen. Für den Flusstyp 5 war sowohl für den Saprobienindex ($R^2 = 0,815$) als auch für die allgemeine Degradation ($R^2 = 0,897$) aufgrund der relativ hohen R^2 -Werte keine Interkalibrierung erforderlich. Flusstyp 9 erforderte eine Interkalibrierung sowohl für den Saprobienindex ($R^2 = 0,658$) als auch für die allgemeine Degradation ($R^2 = 0,772$). Die Grenzen wurden auch für Flusstyp 14 angepasst, wo insbesondere der Saprobienindex im Vergleich zur allgemeinen Degradation ($R^2 = 0,674$) eine geringe Übereinstimmung ($R^2 = 0,292$) aufwies. Das gleiche Muster wurde für den Saprobienindex ($R^2 = 0,16$) und den Degradationsindex ($R^2 = 0,758$) des Flusstyps 15 beobachtet. Über den gesamten Da-

tenz hinweg zeigten nach dem Interkalibrierungsverfahren mehr Proben übereinstimmende ESCs (113 bis 125). Außerdem führte die Interkalibrierung der Grenzen zu einem leichten Anstieg sowohl des R^2 -Werts ($R^2 = 0,74$) als auch der Spearman-Korrelation ($\rho = 0,87$) im Vergleich zur nicht angepassten Analyse ($R^2 = 0,71$, $\rho = 0,86$; Abbildung 1). Der Erfolg der Interkalibrierung spiegelte sich stärker in der Verteilung der ESC-Unterschiede wider. Während die unbereinigten ESC-Unterschiede zu einer besseren Bewertung mit DNA-Metabarcoding tendierten (gewichteter Durchschnitt = -4,33), waren die ESC-Unterschiede nach der Interkalibrierung gleichmäßiger verteilt (gewichteter Durchschnitt = -0,22).

3.2 eDNA-Metabarcoding an Fließgewässern

Während der 56-tägigen Funktionskontrolle der Fischaufstiegsanlage (FAA) an der Mulde in Dessau im Frühjahr 2019 wurden in der Reuse 13.873 Individuen aus 21 Arten erfasst, ergänzt durch zwei Elektrofischungen unterhalb des Wehres mit 26 Arten und 2.542 Individuen, sodass insgesamt mindestens 27 Arten im Untersuchungsabschnitt vorkamen, davon sieben mit sehr geringen Fangzahlen (<10 Individuen). Das eDNA-Metabarcoding lieferte 7,5 Millionen qualitätsgefilterte Reads, die zu 474 OTUs gruppiert und 28 Arten zugeordnet wurden. Fünf Arten nachweise wurden aufgrund identischer Referenzsequenzen paarweise zusammengefasst, einzelne Zuordnungen manuell korrigiert. Die meisten Reads entfielen auf die Fischarten Hasel (46 %) und Nase (17 %), Neunaugen machten nur 0,1 % aus. Über alle Methoden hinweg wurden insgesamt 32 Arten nachgewiesen: vier ausschließlich fischereilich, fünf ausschließlich mittels eDNA, 20 Arten (beziehungsweise 23 unter Einbezug nicht eindeutig bestimmbarer OTUs) mit beiden Methoden. Der Vergleich mit dem WRRL-Monitoring (2017–2019) zeigte eine größere Schnittmenge der eDNA-Daten mit den zeitgleichen FAA-Ergebnissen als mit den WRRL-Daten. Insgesamt konnten unter Einbezug aller drei Methoden 33 Fischarten nachgewiesen werden. Betrachtet man einzelne Erhebungsmethoden, so wies eDNA-Metabarcoding die höchste Nachweisrate auf (28 Arten, 84,8 %), gefolgt von der FAA-Funktionskontrolle (25 Arten, 78,8 %), während Elektrofischung, Reusenfang und WRRL-Monitoring weniger Arten erfassten (22 Arten, 66,7 %; Abbildung 2A). Neben Fischen wurden auch weitere Wirbeltiere detektiert, darunter 17 Säugetier- und 15 Vogelarten. Die meisten Reads entfielen auf Fische (92 %), Säugetiere machten 6 % und Vögel 2 % aus. Auf Art-niveau konnten 24 Fischarten sowie eine Neunaugenart identifiziert werden, zusätzlich 15 Vogel- und 18 Säugetierarten. Die am häufigsten vertretenen Arten waren Hasel (*Leuciscus leuciscus*, 58 %), Europäischer Biber (*Castor fiber*, 4 %), Stockente (*Anas platyrhynchos*, 1 %) und Graugans (*Anser anser*, 0,5 %). Die Analysen zeigten eine hohe Reproduzierbarkeit der PCR-Replikate sowie eine positive Korrelation zwischen Replikatzahl und Anzahl der Reads und OTUs. Rarefaction-Analysen zeigten, dass die Artenvielfalt mit zunehmender Probenanzahl deutlich anstieg, insbesondere bei Säugetieren und Vögeln, während der Zuwachs bei Fischen/Neunaugen moderat war; die meisten Fischarten wurden bereits in über der Hälfte der Proben nachgewiesen, die Mehrzahl der Säugetier- und Vogelarten in weniger als 50 % der Proben.

Neben der Fischaufstiegsanlage in Dessau wurden im Rahmen des GeDNA-Projekts am renaturierten Mündungsbereich der Lippe (Wesel, Deutschland) zwischen November 2020 und Oktober 2021 insgesamt 52 Wasserproben eDNA-basiert analysiert. Dabei konnten 1.072 Arten nachgewiesen werden, darunter 96 Wirbeltiere

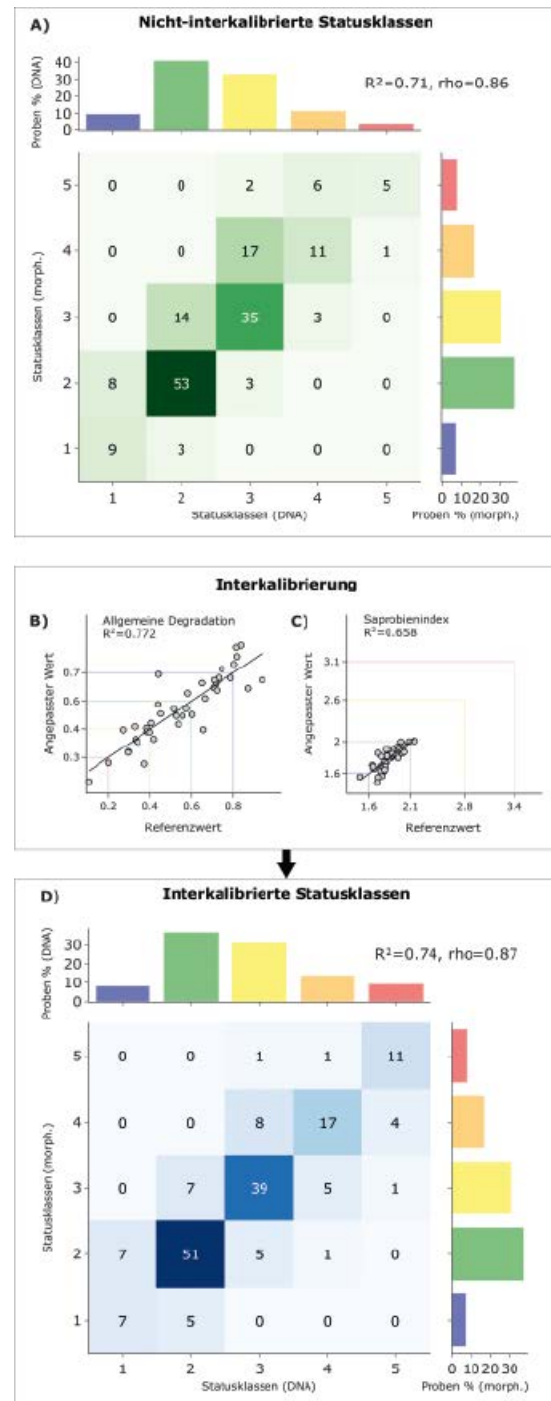


Abb. 1: Interkalibrierungsverfahren für DNA-Metabarcoding im Kontext der Wasserrahmenrichtlinie. (A) Matrixvergleich der ökologischen Zustandsklassen (ÖZK), die aus DNA-Metabarcoding-Daten und aus traditionellen, morphologisch basierten Verfahren ohne Interkalibrierungsmaßnahmen abgeleitet wurden. Die Verteilung der Proben pro Zustandsklasse ist als Balkendiagramm dargestellt. Die Übereinstimmung zwischen beiden Methoden wurde mittels Spearman-Rangkorrelation bewertet. (B–C) Durchführung der Interkalibrierung gemäß den Vorgaben des EU-Interkalibrierungshandbuchs (EC 2015) anhand linearer Regressionsmodelle (OLS), um angepasste Klassengrenzen für den allgemeinen Degradationsindex (B) und den Saprobien-Index (C) zu bestimmen (Beispiel: Flusstyp 9). (D) Nach der Interkalibrierung zeigen beide Methoden eine deutlich homogenere Verteilung der ÖZK und eine höhere Übereinstimmung der Bewertungen.

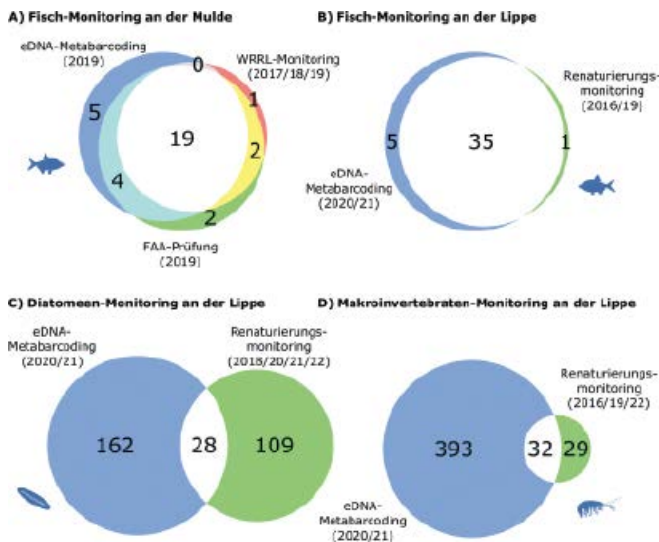


Abb. 2: eDNA-basierte Methoden ermöglichen eine minimal-invasive, zugleich hocheffiziente Erfassung aquatischer Biodiversität. Die Vergleiche mit traditionellen Monitoringdaten zeigen insbesondere für Fische an der Mulde (A) und der Lippe (B) eine sehr hohe Übereinstimmung. Für Diatomeen (C) und Makroinvertebraten (D) ergibt sich dagegen ein überwiegend komplementäres Arteninventar, was den Mehrwert beider Ansätze unterstreicht. Insgesamt verdeutlicht dies, dass ein integrierter, methodenübergreifender Werkzeugkasten notwendig ist, um den Anforderungen eines wirksamen Natur- und Gewässerschutzes unter Klimawandel und globalem Biodiversitätsverlust gerecht zu werden.

(davon 40 Fisch- und Neunaugenarten), 786 Wirbellose (davon 425 Makroinvertebraten) und 190 Diatomeen. Bei den Fischen dominierten Cypriniden (13 Arten, ~45 % der Reads) und invasive Grundeln (~34 % der Reads), bei Vögeln die Anatidae (~40 % der Arten, ~90 % der Reads) und bei Säugetieren die Nagetiere; semi-aquatische Arten wie Biber und Nutria waren besonders häufig in den Reads vertreten. Bei Wirbellosen waren Insekten mit 250 Arten besonders artenreich, wobei Dipteren die größte Diversität aufwiesen, während bei terrestrischen Wirbellosen Käfer und Fliegen dominierten. Bei den Diatomeen waren Bacillariaceae, Naviculaceae und Fragilariaceae am artenreichsten, während die meisten Reads wenige dominante Familien repräsentierten. Im Vergleich zum fischereilichen Renaturierungsmonitoring (Fangdaten 2016 und 2019) zeigte das eDNA-Metabarcoding eine hohe Übereinstimmung bei den Fischgemeinschaften: 35 Arten (85,4 %) wurden mit beiden Methoden nachgewiesen. Fünf Arten (12,2 %) wurden ausschließlich mittels eDNA detektiert, während der Giebel (*Carassius gibelio*, 2,4 %) nur durch traditionelle Fangmethoden erfasst wurde (Abbildung 2B). Für Diatomeen fiel die methodische Überlappung geringer aus: Insgesamt 28 Arten (9,4 %) wurden von beiden Ansätzen identifiziert (Abbildung 2C). Mittels eDNA-Metabarcoding wurden 162 Arten (54,2 %) detektiert, während die traditionelle Diatomeen-Erfassung in den Jahren 2018, 2020, 2021 und 2022 insgesamt 109 Arten (36,5 %) dokumentierte. Den größten Anteil methodenexklusiver Funde zeigte das eDNA-Metabarcoding der Makroinvertebraten: 393 Arten (86,6 %) wurden ausschließlich molekular nachgewiesen. 32 Arten (7 %) wurden von beiden Methoden erfasst, während 29 Arten (6,4 %) nur im Rahmen der Kick-Net-Beprobungen der Jahre 2016, 2019 und 2022 identifiziert wurden (Abbildung 2D).

3.3 eDNA-Metabarcoding Kostenanalyse

Die hier durchgeführten Kostenvergleiche dienen der Abschätzung der potenziellen Aufwendungen für DNA-basierte Methoden im Biodiversitätsmonitoring. Dabei ist zu berücksichtigen, dass eDNA-basierte und traditionelle Erfassungsmethoden bei den meisten Artengruppen unterschiedliche Artenspektren abbilden und jeweils spezifische Vor- und Nachteile aufweisen, die in Abhängigkeit von der jeweiligen Fragestellung sorgfältig abzuwägen sind. So ermöglichen klassische Erfassungsmethoden in vielen Fällen direkte Abschätzungen von Biomasse oder Individuenzahlen sowie Altersstruktur einer Population, während DNA-basierte Verfahren primär relative DNA-Konzentrationen erfassen, deren Interpretation mit entsprechender Vorsicht erfolgen muss. Gleichzeitig erlaubt eDNA-Metabarcoding jedoch eine nicht-invasive und damit deutlich schonendere Probenahme und führt häufig zum Nachweis einer höheren Artenvielfalt als konventionelle Methoden.

Zur Bewertung des finanziellen Aufwands des eDNA-Metabarcoding wurde eine vergleichende Kostenanalyse auf Basis des Jahresmonitorings an der Lippe durchgeführt [19]. Die Analyse zeigte, dass die Probenbearbeitungskosten pro Wasserprobe für Vertebraten (Vögel, Fische und Säugetiere) sowie für Invertebraten (aquatisch und terrestrisch) jeweils bei etwa 65,31 € liegen. Für Diatomeen ergeben sich aufgrund höherer Sequenzierungskosten höhere Aufwendungen von 98,96 € pro Probe. Bei insgesamt 26 Proben Tagen mit jeweils zwei eDNA-Proben (insgesamt 52 Proben) belaufen sich die Gesamtkosten für das eDNA-basierte Monitoring auf 11.938,26 €. Diese Summe umfasst Material-, Labor- und Sequenzierungskosten sowie den Arbeitsaufwand für Feld- und Laborarbeiten. Für einen Kostenvergleich wurde ein traditionelles, morpho-taxonomisches Monitoring der gleichen Organismengruppen über ebenfalls 26 Proben Tage kalkuliert, um vergleichbare saisonale Auswertungen zu ermöglichen. Im Vergleich zu den eDNA-basierten Analysen betragen die geschätzte Gesamtkosten mit klassischen Monitoringmethoden 71.347,38 €. Die Kosten pro Proben Tag variieren dabei deutlich zwischen den untersuchten Gruppen und betragen für Vögel 181,05 €, für Fische 1.455,78 €, für Säugetiere 242,40 € sowie für Wirbellose und Diatomeen jeweils 432,45 €.

4 Diskussion

Mittels der im GedNA-Projekt erhobenen Daten konnte erstmals gezeigt werden, dass DNA-Metabarcoding von Sammelproben benthischer Wirbelloser in das reguläre WRRL-Monitoring integriert werden kann, sofern internationale Normen wie EN 17136 und EN 17805 sowie entsprechende Schulungen und Leitlinien berücksichtigt werden [16]. Die vollständige Laborverarbeitung von 170 Proben und die hohe Übereinstimmung der daraus abgeleiteten ökologischen Zustandsklassen (ÖZK) mit morphologisch-basierten Bewertungen belegen die technische Robustheit und ökologische Aussagekraft der Methode. In zwei Dritteln der Fälle ergaben beide Verfahren identische Zustandsklassen, und wie erwartet detektierte das Metabarcoding insgesamt mehr Taxa, insbesondere morphologisch schwer bestimmbarer Gruppen wie Chironomidae (Zuckmücken) und Naididae (Familie der Ringelwürmer). Unterschiede zwischen beiden Ansätzen resultierten überwiegend aus Lücken in Referenzdatenbanken, der Nutzung von Synonymen sowie der notwendigen Übersetzung in die offiziellen deutschen operationellen Taxalisten (OTLs), welche die taxo-

nomische Auflösung teilweise reduzieren, jedoch eine standardisierte ÖZK-Berechnung ermöglichen. Ein wesentlicher Befund ist, dass qualitative Metabarcoding-Daten nach Interkalibrierung zuverlässige Zustandsbewertungen für Makrozoobenthos liefern können, die den abundanzbasierten Methoden, wie sie aktuell durch die WRRL vorgeschrieben sind, kaum nachstehen. Dies ist insbesondere vor dem Hintergrund relevant, dass die Ressourcen und Kompetenzen für die klassische Umsetzung der etablierten Programme schwinden und nicht adäquat durch Fachkräfte nachbesetzt werden können und darüber hinaus viele weitere Fließgewässer bislang unzureichend untersucht sind. DNA-basierte Verfahren ermöglichen damit als komplementäre Methode einen Ausgleich, wo Datenlücken entstehen und bieten außerdem die Wahl, für zusätzliche Standorte kostengünstige, robuste und zuverlässige, WRRL-interkalibrierte Daten zu liefern.

Von zentraler Bedeutung für die zukünftige Implementierung molekularer Methoden ist eine konsequente Normung der Methoden sowie die Interkalibrierung der Verfahren für alle Gewässertypen [23]. Die Erfahrungen aus der Interkalibrierung traditioneller WRRL-Verfahren verdeutlichen, dass europaweit vergleichbare Bewertungen nur durch abgestimmte Vorgehensweisen erreichbar sind. Aufbauend auf diesen Strukturen konnten wir erstmals ein Pilot-Interkalibrierungsverfahren zwischen DNA-Metabarcoding und etabliertem traditionellem nationalem WRRL-Verfahren nach den Vorgaben des CIS (Common Implementation Strategie) Leitfadens der Europäischen Kommission durchführen. Die Anpassung der auf Metabarcoding basierenden Klassifikationsgrenzen an das nationale Bewertungsverfahren führte zu einer deutlich verbesserten Übereinstimmung: Über 73 % der Proben zeigten nach der Interkalibration identische ÖZKs, und nahezu alle verbleibenden Abweichungen lagen innerhalb der erwartbaren natürlichen Variation [16]. Zwar war eine vollständige Interkalibrierung einzelner Indizes – insbesondere MMI-Komponenten (Multimetrischer Index) – gemäß Leitfaden 30 [35] aufgrund begrenzter Stichprobengrößen oder fehlender ökologischer Spannbreiten nicht möglich, dennoch zeigt dieses Pilotprojekt klar, dass ein systematisches, europaweit anschlussfähiges Interkalibrierungsverfahren für DNA-basierte Methoden realisierbar ist.

Die Ergebnisse der beiden Fallstudien an Mulde (Dessau) und Lippe (Wesel) unterstreichen darüber hinaus das enorme Potenzial von eDNA-Metabarcoding für ein hochaufgelöstes Biodiversitätsmonitoring in dynamischen Fließgewässern [20, 21]. Die Methode erfasst nicht nur Fischgemeinschaften, sondern große Teile der sie umgebenden aquatischen und semiaquatischen Lebensgemeinschaften: An der Mulde wurden 24 Fischarten, eine Neunaugenart sowie 15 Vogel- und 18 Säugetierarten detektiert; an der Lippe insgesamt 1.072 Arten, darunter 40 Fisch- und Neunaugenarten, 786 Wirbellose und 190 Diatomeen. Damit bietet eDNA Einblicke in multiple trophische Ebenen und angrenzende terrestrische Räume, die traditionelle Methoden nur teilweise oder gar nicht abbilden können. Die hohen Schnittmengen mit traditionellen Probenahmen zeigen zudem, wie eng eDNA-Signaturen an das aktuelle Artvorkommen und die ökologische „Momentaufnahme“ gekoppelt sind. Dies ist insbesondere für dynamische Systeme und Renaturierungsflächen von hoher Relevanz. Der kursorische Vergleich der Kosten beider Ansätze dient in diesem Zusammenhang ausschließlich einer orientierenden Einordnung der finanziellen Aufwände. Dabei ist zu berücksichtigen, dass die zugrunde liegenden Datentypen nicht unmittelbar vergleichbar sind: Während traditionelle fischökologische Erhebungen quantitative Informationen, einschließlich Altersstruktur und Populationspara-

metern, liefern, erfasst eDNA-Metabarcoding primär artspezifische Nachweise (An- und Abwesenheiten) und, je nach Ansatz, semi-quantitative Signale. Die dargestellten Kosten stehen somit unterschiedlichen Informationsgehalten gegenüber und erlauben keine 1:1-Bewertung der Methoden. Vielmehr verdeutlichen sie, dass eDNA-Monitoring insbesondere bei größeren Stichprobenumfängen ein wirtschaftlich attraktives Instrument zur Ergänzung und Erweiterung bestehender Monitoringprogramme darstellen kann, nicht jedoch deren funktionalen Ersatz.

Neben der reinen Erfassung qualitativer Daten, also dem Nachweis von An- und Abwesenheiten von Arten, bieten DNA-basierte Methoden zudem ein erhebliches, bislang jedoch kaum erkundetes zusätzliches Potenzial für Umweltnalysen. Schon mit den derzeit gängigen Fisch-Primern lassen sich genetische Varianten unterscheiden, sodass populationsgenetische Analysen möglich werden (Macher et al., in Vorbereitung). Auf diese Weise können Rückschlüsse auf die genetische Vielfalt von Fischpopulationen gezogen werden: ein zentraler Aspekt biologischer Vielfalt, der im traditionellen Monitoring vollständig unberücksichtigt bleibt [7]. Methodische Weiterentwicklungen versprechen, diese Ansätze in Zukunft weiter zu verfeinern [1, 3]. Darüber hinaus eröffnen neue molekulare Ansätze in den Bereichen Transkriptomik und Epigenetik, basierend auf minimal-invasiver Probenahme, zusätzliche Möglichkeiten, ökologische und populationsbiologische Parameter zu erfassen, etwa Stressbelastungen, Geschlechterverhältnisse oder Altersstrukturen von Populationen [2, 10, 31, 37]. Die fortschreitende Entwicklung und Implementierung dieser Methoden hat das Potenzial, das Biomonitoring der Zukunft grundlegend zu erweitern: informativer, sensitiver, ökologisch aussagekräftiger und zugleich schonend und minimal-invasiv. Dabei ist aber auch wichtig zu betonen, dass wesentliche Parameter des klassischen Monitorings wie Biomasse und Abundanz nicht oder nur unzureichend abgebildet werden. Auch werden zwar durch eDNA mehr Arten für viele BQEs erfasst – aber auch ganze bewertungsrelevante Taxongruppen aufgrund technischer Limitationen oder biologischer Eigenschaften (keine DNA wird abgegeben) übersehen.

Auch wenn diese Unterschiede auf absehbare Zeit bestehen bleiben werden, stehen die Länder – auf EU- und Bundesebene – unter Handlungsdruck, da DNA-basierte Methoden angesichts des Rückgangs an Fachwissen und Ressourcen für morphologische Methoden zunehmend an Bedeutung gewinnen. Es liegt also an den Behörden, Mindeststandards für alle Schritte der Prozesskette zu etablieren – von der Probenahme und Lagerung über DNA-Extraktion, Amplifikation und Sequenzierung bis hin zu Bioinformatik, Qualitätskontrolle und Datenaufbereitung – damit molekulare Methoden flächendeckend und formell innerhalb der WRRL genutzt werden können. Zentral sind Kontaminationsschutz, geeignete Primerkombinationen, ausreichende Sequenzierentiefe sowie kuratierte Referenzbibliotheken. Für die Qualitätskontrolle ist die Einführung standardisierter Referenzmaterialien, etwa Mock-Communities definierter Zusammensetzung, entscheidend. Labore könnten so die Leistungsfähigkeit ihrer Workflows objektiv nachweisen, vergleichbar mit etablierten QA/QC-Verfahren in der Diatomeen-Taxonomie oder Umweltchemie. Parallel entstehen bereits nationale und internationale Leitlinien und Normen, darunter CEN/TR 17245, EN 17136 sowie ISO-Normen wie ISO 21286 oder ISO/TC 331, die die Grundlage für einen europaweiten Qualitätsrahmen der WRRL legen.

Ein weiterer zentraler Punkt ist die Harmonisierung der Datenformate. Um eDNA-Ergebnisse zuverlässig in WRRL-konforme Bewertungsinstrumente integrieren zu können, sind standardisierte

Übersetzungs- und Konvertierungstools notwendig. Das im GeDNA-Projekt entwickelte TaxonTableTools stellt hierfür bereits erste funktionierende Module bereit, die jedoch – ebenso wie die zugrunde liegenden taxonomischen Backbones – für weitere BQE-Module vieler Mitgliedstaaten noch erweitert werden müssen. Der Aufbau eines FAIR-basierten Umgangs mit taxonomischen Daten wird ebenfalls eine zentrale Rolle spielen, um langfristig reproduzierbare, interoperable und transparente Bewertungsverfahren zu gewährleisten [34]. Insgesamt zeigt unsere Untersuchung, dass Metabarcoding ein äußerst leistungsfähiges, kosteneffizientes und hochsensitives Instrument zur Erfassung der biologischen Vielfalt in Fließgewässern ist. Die Methode ergänzt traditionelle Ansätze nicht nur, sondern erweitert sie substanzial, indem sie Monitoring-lücken schließt, schwer bestimmbar Taxa zuverlässig erfasst und ökologische Veränderungen frühzeitig sichtbar macht. Durch gezielte Normung, methodische Weiterentwicklung und formelle Interkalibrierung kann Metabarcoding künftig einen zentralen Beitrag zur Modernisierung der WRRL leisten und die ökologische Bewertung europaweit noch flächendeckender, integrativer und aussagekräftiger gestalten.

Dank

Wir danken den Feldteams und taxonomischen Expert*innen für die Probenahme im Rahmen der WRRL und die morphologische Bestimmung. Besonderer Dank gilt den Mitgliedern und allen Co-Autor*innen des GeDNA-Projekts. Das REFOPLAN-Projekt „GeDNA“ wurde von 2019 bis 2023 durch das Umweltbundesamt (FKZ 371924 2040) gefördert.

Anzeige

TIPPS ZUM THEMA



© Bernhard Waleur, RTIgel



© A. Järlinger



© Georg Salfner/DWA

Seminar

Gewässerentwicklung und -unterhaltung angesichts der aktuellen Herausforderungen
22./23. April 2026
Freiburg
600,00 € / 500,00 €**

Seminar

Gewässerentwicklungsplanung: Vom Defizit über Maßnahmen zum guten Zustand
29. April 2026
Online
240,00 € / 200,00 €**

Seminar

Grundkurs Gewässerunterhaltung
14. – 19.09.2026
Chemnitz
1.115,00 € / 930,00 €**

* Fördernde Mitglieder erhalten 20% Rabatt
** Mitgliederpreis

Literatur

- Adams CIM, Knapp M, Gemmill NJ, Jeunen G-J, Bunce M, Lamare MD, Taylor HR (2019) Beyond Biodiversity: Can Environmental DNA (eDNA) Cut It as a Population Genetics Tool? *Genes* 10:192. doi: 10.3390/genes10030192
- Anastasiadi D, Piferrer F (2020) A clockwork fish: Age prediction using DNA methylation-based biomarkers in the European seabass. *Mol Ecol Resour* 20:387–397. doi: 10.1111/1755-0998.13111
- Andres KJ, Lodge DM, Andrés J (2023) Environmental DNA reveals the genetic diversity and population structure of an invasive species in the Laurentian Great Lakes. *Proc Natl Acad Sci* 120:e2307345120. doi: 10.1073/pnas.2307345120
- Bennett JR, Rühland KM, Smol JP (2017) No magic number: determining cost-effective sample size and enumeration effort for diatom-based environmental assessment analyses. *Can J Fish Aquat Sci* 74:208–215. doi: 10.1139/cjfas-2016-0066
- Bibby C, Jones M, Marsden S (1998) Expedition Field Techniques BIRD SURVEYS. *Geogr Outdoors*
- Birk S, Bonne W, Borja A, Brucet S, Courrat A, Poikane S, Solimini A, van de Bund W, Zampoukas N, Hering D (2012) Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecol Indic* 18:31–41. doi: 10.1016/j.ecolind.2011.10.009
- Booy G, Hendriks RJJ, Smulders MJM, Groenendaal JMV, Vosman B (2000) Genetic Diversity and the Survival of Populations. *Plant Biol* 2:379–395. doi: 10.1055/s-2000-5958
- Buchner D, Beermann AJ, Hoerren TPB, Enss J, Frenzel M, Li Y, Mueller J, Pauls SU, Sorg M, Consortium L-D, Haase P, Leese F (2023) German-wide Malaise trap metabarcoding estimates over 33,000 insect species. 2023.05.04.539402
- Buss DF, Carlisle DM, Chon T-S, Culp J, Harding JS, Keizer-Vlek HE, Robinson WA, Strachan S, Thirion C, Hughes RM (2014) Stream bio-monitoring using macroinvertebrates around the globe: a comparison of large-scale programs. *Environ Monit Assess* 187:4132. doi: 10.1007/s10661-014-4132-8
- Cristescu ME (2019) Can Environmental RNA Revolutionize Biodiversity Science? *Trends Ecol Evol* 34:694–697. doi: 10.1016/j.tree.2019.05.003
- Elbrecht V, Peinert B, Leese F (2017) Sorting things out: Assessing effects of unequal specimen biomass on DNA metabarcoding. *Ecol Evol* 7:6918–6926. doi: 10.1002/ece3.3192
- Elbrecht V, Vamos EE, Meissner K, Aroviita J, Leese F (2017) Assessing strengths and weaknesses of DNA metabarcoding-based macroinvertebrate identification for routine stream monitoring. *Methods Ecol Evol* 8:1265–1275. doi: 10.1111/2041-210X.12789
- Glen AS, Cockburn S, Nichols M, Ekanayake J, Warburton B (2013) Optimising Camera Traps for Monitoring Small Mammals. *PLOS ONE* 8:e67940. doi: 10.1371/journal.pone.0067940
- Hering D, Borja A, Jones JI, Pont D, Boets P, Bouchez A, Bruce K, Drake S, Hänfling B, Kahlert M, Leese F, Meissner K, Mergen P, Reyjol Y, Segurado P, Vogler A, Kelly M (2018) Implementation options for DNA-based identification into ecological status assessment under the European Water Framework Directive. *Water Res* 138:192–205. doi: 10.1016/j.watres.2018.03.003
- Leray M, Knowlton N, Machida RJ (2022) MIDORI2: A collection of quality controlled, preformatted, and regularly updated reference databases for taxonomic assignment of eukaryotic mitochondrial sequences. *Environ DNA* 4:894–907. doi: 10.1002/edn3.303
- Macher T-H, Beermann AJ, Arle J, Foerster J, Greyer M, Mora D, Koschorreck J, Rolaufts P, Rother A, Schüler S, Zimmermann J, Hering D, Leese F (2025) Fit for purpose? Evaluating benthic invertebrate DNA metabarcoding for ecological status class assessment in streams under the Water Framework Directive. *Water Res* 272:122987. doi: 10.1016/j.watres.2024.122987
- Macher T-H, Beermann AJ, Leese F (2021) TaxonTableTools: A comprehensive, platform-independent graphical user interface software to explore and visualise DNA metabarcoding data. *Mol Ecol Resour* 21:1705–1714. doi: 10.1111/1755-0998.13358

- [18] Macher T-H, Buchner D, Beermann AJ, Werner M-T, Leese F (2021) Standardized high-throughput biomonitoring using DNA metabarcoding: Strategies for the adoption of automated liquid handlers. *Environ Sci Ecotechnology* 8:100122. doi: 10.1016/j.ese.2021.100122
- [19] Macher T-H, Schuetz R, Arle J, Beermann A, Haase P, Koschorrek J, Krehenwinkel H, Mora D, Sinclair JS, Zimmermann J, Leese F (2026) eDNA metabarcoding provides scalable and continuous biodiversity monitoring across the tree of life. 2026.02.12.705487
- [20] Macher T-H, Schütz R, Arle J, Beermann AJ, Koschorrek J, Leese F (2021) Beyond fish eDNA metabarcoding: Field replicates disproportionately improve the detection of stream associated vertebrate species. *Metabarcoding Metagenomics* 5:e66557. doi: 10.3897/mbmg.5.66557
- [21] Macher T-H, Schütz R, Beermann A, Leese F, Wagner F, Arle J, Koschorrek J (2023) Umwelt-DNA-basiertes Monitoring an der Fisch-treppe Dessau-Roßlau: Ein Vergleich mit fischereilichen Methoden (Environmental DNA-based monitoring of the fish ladder in Dessau-Roßlau: a comparison with fisheries-based methods). 113:47–55. doi: 10.1007/s35147-023-1814-6
- [22] Muri CD, Handley LL, Bean CW, Li J, Peirson G, Sellers GS, Walsh K, Watson HV, Winfield IJ, Hänfling B (2020) Read counts from environmental DNA (eDNA) metabarcoding reflect fish abundance and biomass in drained ponds. *Metabarcoding Metagenomics* 4:e56959. doi: 10.3897/mbmg.4.56959
- [23] Poikane S, Zampoukas N, Borja A, Davies SP, van de Bund W, Birk S (2014) Intercalibration of aquatic ecological assessment methods in the European Union: Lessons learned and way forward. *Environ Sci Policy* 44:237–246. doi: 10.1016/j.envsci.2014.08.006
- [24] Pont D, Valentini A, Rocle M, Maire A, Delaigue O, Jean P, Dejean T (2021) The future of fish-based ecological assessment of European rivers: from traditional EU Water Framework Directive compliant methods to eDNA metabarcoding-based approaches. *J Fish Biol* 98:354–366. doi: <https://doi.org/10.1111/jfb.14176>
- [25] Rimet F, Gusev E, Kahlert M, Kelly MG, Kulikovskiy M, Maltsev Y, Mann DG, Pfannkuchen M, Trobajo R, Vasselon V, Zimmermann J, Bouchez A (2019) Diat.barcode, an open-access curated barcode library for diatoms. *Sci Rep* 9:15116. doi: 10.1038/s41598-019-51500-6
- [26] Sander M, Beermann AJ, Buchner D, Madge Pimentel I, Sinclair JS, Weiss M, Haase P, Leese F (2024) Environmental DNA time series analysis of a temperate stream reveals distinct seasonal community and functional shifts. *River Res Appl* n/a. doi: 10.1002/rra.4265
- [27] Schramm HL, Grado SC, Pugh LL (2002) The costs of sampling fishes in riverine habitats of a large river. *Fish Res* 56:51–57. doi: 10.1016/S0165-7836(01)00316-2
- [28] Stat M, Huggett MJ, Bernasconi R, DiBattista JD, Berry TE, Newman SJ, Harvey ES, Bunce M (2017) Ecosystem biomonitoring with eDNA: metabarcoding across the tree of life in a tropical marine environment. *Sci Rep* 7:12240. doi: 10.1038/s41598-017-12501-5
- [29] Taberlet P, Bonin A, Zinger L, Coissac E (2018) *Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring*. Oxford University Press
- [30] Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, Brochmann C, Willerslev E (2012) Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Mol Ecol* 21:2045–2050. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05470.x>
- [31] Valdivieso A, Anastasiadi D, Ribas L, Piferrer F (2023) Development of epigenetic biomarkers for the identification of sex and thermal stress in fish using DNA methylation analysis and machine learning procedures. *Mol Ecol Resour* 23:453–470. doi: 10.1111/1755-0998.13725
- [32] Vamos E, Elbrecht V, Leese F (2017) Short COI markers for freshwater macroinvertebrate metabarcoding. *Metabarcoding Metagenomics* 1:e14625. doi: 10.3897/mbmg.1.14625
- [33] Vasselon V, Domaizon I, Rimet F, Kahlert M, Bouchez A (2017) Application of high-throughput sequencing (HTS) metabarcoding to diatom biomonitoring: Do DNA extraction methods matter? *Freshw Sci* 36:162–177. doi: 10.1086/690649
- [34] Wilkinson MD, Dumontier M, Aalbersberg IJ, Appleton G, Axton M, Baak A, Blomberg N, Boiten J-W, da Silva Santos LB, Bourne PE, Bouwman J, Brookes AJ, Clark T, Crosas M, Dillo I, Dumon O, Edmunds S, Evelo CT, Finkers R, Gonzalez-Beltran A, Gray AJG, Groth P, Goble C, Grethe JS, Heringa J, 't Hoen PAC, Hooft R, Kuhn T, Kok R, Kok J, Lusher SJ, Martone ME, Mons A, Packer AL, Persson B, Rocca-Serra P, Roos M, van Schaik R, Sansone S-A, Schultes E, Sengstag T, Slater T, Strawn G, Swertz MA, Thompson M, van der Lei J, van Mulligen E, Velterop J, Waagmeester A, Wittenburg P, Wolstencroft K, Zhao J, Mons B (2016) The FAIR Guiding Principles for scientific data management and stewardship. *Sci Data* 3:160018. doi: 10.1038/sdata.2016.18
- [35] Willby N, Birk S, Poikane S, Bund W (2014) *Water Framework Directive Intercalibration Manual: Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration*. Institute for Environment and Sustainability
- [36] Zhang Y, Pavlovska M, Stoica E, Prekrasna I, Yang J, Slobodnik J, Zhang X, Dykyi E (2020) Holistic pelagic biodiversity monitoring of the Black Sea via eDNA metabarcoding approach: From bacteria to marine mammals. *Environ Int* 135:105307. doi: 10.1016/j.envint.2019.105307
- [37] Zhao B, van Bodegom PM, Trimpos KB (2022) Environmental DNA methylation of *Lymnaea stagnalis* varies with age and is hypermethylated compared to tissue DNA. *Mol Ecol Resour* n/a. doi: 10.1111/1755-0998.13691
- [38] Zizka VMA, Geiger MF, Leese F (2020) DNA metabarcoding of stream invertebrates reveals spatio-temporal variation but consistent status class assessments in a natural and urban river. *Ecol Indic* 115:106383. doi: 10.1016/j.ecolind.2020.106383

Autoren

Till-Hendrik Macher
 Universität Trier
 Universitätsring 15, 54296 Trier

E-Mail: macher@uni-trier.de

Arne J. Beermann
 Universität Duisburg-Essen
 Universitätsstraße 5, 45141 Essen

E-Mail: arne.beermann@uni-due.de

Jan Koschorrek
 Umweltbundesamt, Wörlitzer Platz 1
 06844 Dessau-Roßlau

E-Mail: jan.koschorrek@uba.de

Florian Leese
 Universität Duisburg-Essen,
 Universitätsstraße 5, 45141 Essen

E-Mail: florian.leese@uni-due.de

KW



Fachinformationen rund um Wasser,
 Wirtschaft & Umwelt

...täglich auf www.gfa-news.de:

