





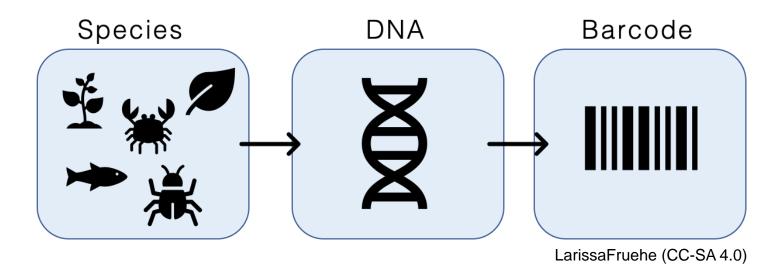
Artbestimmung per Kot durch "DNA-Barcoding"

- Seit 2023: Klärung von Quartieren ohne eindeutiger Artbestimmung (*Plecotus* spec.) zur Ermittlung von Dichtezentren
 - Gezielte Kontrolle von Objekten mit "Langohren"
 - Aufsammlung von Kot (möglichst frisch, keine Mischproben mehrerer Arten, gut beschriftet und dokumentiert)
 - Bestätigung Braunes / Graues Langohr durch "DNA-Barcoding"
 - Auch für 2024 geplant! Interessierte bitte melden!

Was ist eigentlich DNA-Barcoding?



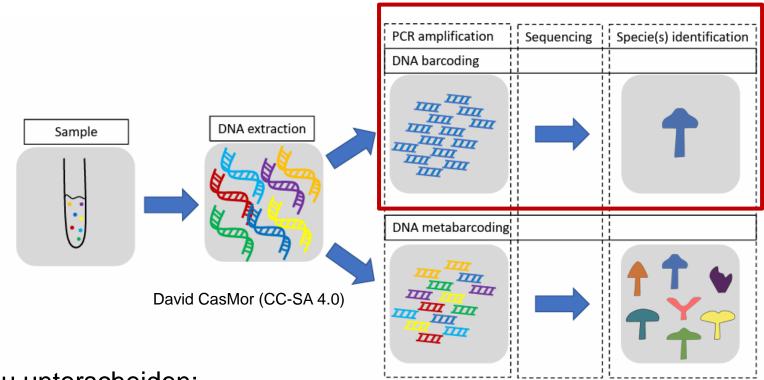
Was ist DNA-Barcoding



- Grundsätzlich zu unterscheiden:
 - DNA-Barcoding: Identifikation <u>einer Zielart</u> aus einer einheitlichen Probe (z.B. Kot, Gewebe)
 - DNA-Meta-Barcoding: Identifikation mehrerer Zielarten aus einer Mischprobe (z.B. Beutetiere aus Kot, Umwelt-DNA aus Wasser oder Boden etc.)



Was ist DNA-Barcoding

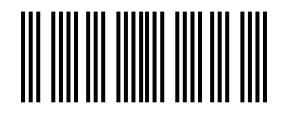


- Grundsätzlich zu unterscheiden:
 - DNA-Barcoding: Identifikation <u>einer Zielart</u> aus einer einheitlichen Probe (z.B. Kot, Gewebe)
 - DNA-Meta-Barcoding: Identifikation mehrerer Zielarten aus einer Mischprobe (z.B. Beutetiere aus Kot, Umwelt-DNA aus Wasser oder Boden etc.)



DNA-Barcoding: Idealvorstellung und Wirklichkeit

• Vorstellung:





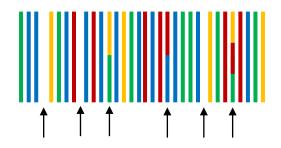


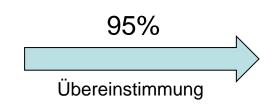






Wirklichkeit

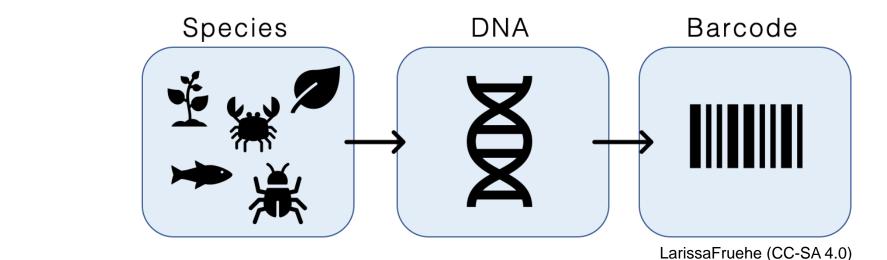


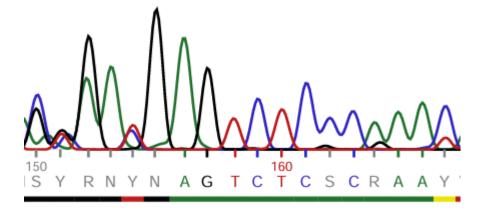






Ablauf des DNA-Barcoding und mögliche Probleme



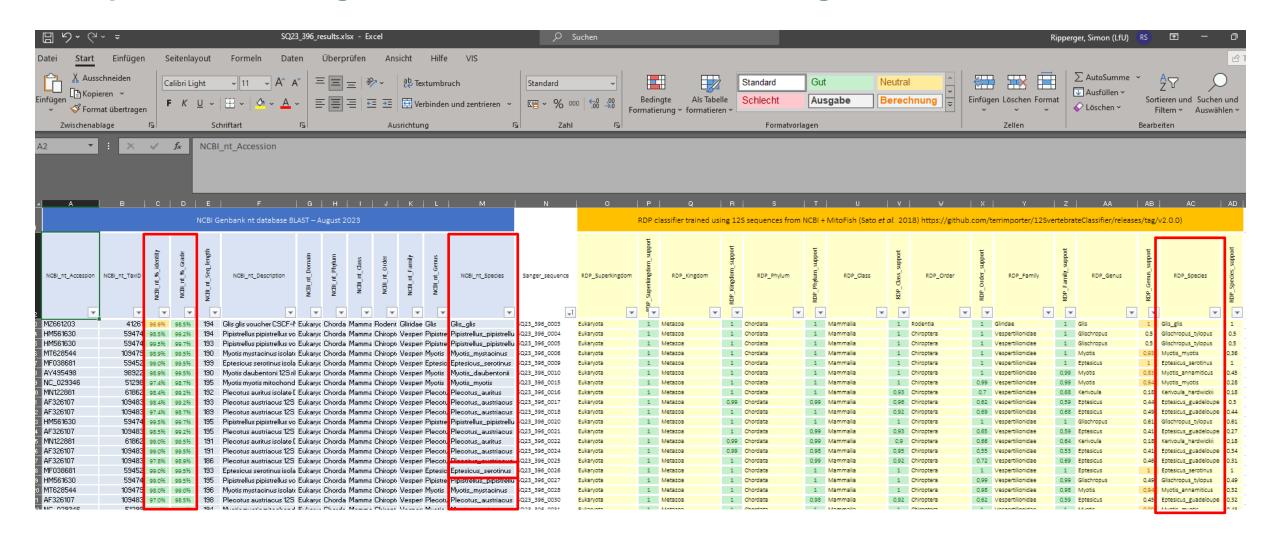


Artidentifikation:

- Vergleich der erhaltenen Sequenz mit einer oder mehreren Datenbanken
- Sequenz qualitativ hochwertig?
- Vergleichssequenz vorhanden?
- Datenbankgrundlage fehlerfrei?
- Ergebnisse nicht immer eindeutig



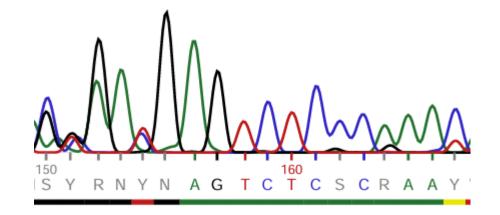
Interpretation von Ergebnissen aus dem DNA-Barcoding





Nord- oder Breitflügelfledermaus? Ein komplizierter Fall...

- Erfolg des Abgleichs mit Datenbanken teils artabhängig: Breitflügel- und Nordfledermaus wegen hoher Ähnlichkeit im Mitogenom schlecht aufzulösen
- Händischer Abgleich mit einer Datenbank notwendig



blastn	blastp	blastx	tblastn	tblastx	
Enter (Numer Common				
	Query Sequer			_	
Enter acce	ession number(s), gi(s), or FAS	STA sequence(s)) 😯 Clear	Query subrange 🕜
ATGATAAT	AGAAAAGTAC		CCAACTAATGGTA ATGGGTATTCGAC	•	From
	TTCATGTTAGAG	CAATAATTACATA	AIGGGIAITCGAC	, IGGCIGC	То
Or, upload	I file Dat	tei auswählen	Keine Datei ausg	ewählt 🕜	
Job Title	Nu	cleotide Sequer	nce		
	Ente	r a descriptive title	for your BLAST se	earch 🕜	
Align to	wo or more sequ	ences 🔞			



Nord- oder Breitflügelfledermaus? Ein komplizierter Fall...

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
✓	Eptesicus serotinus voucher MHNG 1989.001 cytochrome b gene, complete cds; mitochondrial	Eptesicus seroti	1725	1725	98%	0.0	96.15%	1140	OQ885380.1
✓	Eptesicus serotinus haplotype E.s180234_Kaliningrad cytochrome b (cytb) gene_partial cds; mitochondrial	Eptesicus seroti	1722	1722	98%	0.0	96.15%	1130	GQ272587.1
	Eptesicus serotinus voucher NSRL TK 81072 cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mitochondrial	Eptesicus seroti	1720	1720	98%	0.0	96.06%	1140	OP157123.1
~	Eptesicus serotinus voucher MHNG 1989.002 cytochrome b gene, complete cds; mitochondrial	Eptesicus seroti	1720	1720	98%	0.0	96.06%	1140	OQ885381.1
✓	Eptesicus serotinus isolate 124203 cytochrome b (CYTB) gene, complete cds; mitochondrial	Eptesicus seroti	1714	1714	98%	0.0	95.96%	1140	MF038481.1
✓	Eptesicus serotinus cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mitochondrial gene for mitochondrial product	Eptesicus seroti	1714	1714	98%	0.0	95.96%	1140	<u>AF376837.1</u>
	Eptesicus serotinus voucher TS K092 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mitochondrial	Eptesicus seroti	1677	1677	95%	0.0	96.43%	1098	JX902456.1
✓	Eptesicus nilssonii genome assembly, organelle: mitochondrion	Eptesicus nilssonii	1676	1676	98%	0.0	95.27%	17039	OX621305.1
	Eptesicus serotinus voucher TS K096L cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mitochondrial	Eptesicus seroti	1672	1672	95%	0.0	96.33%	1098	JX902459.1
	Eptesicus serotinus voucher TS K0951 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mitochondrial	Eptesicus seroti	1672	1672	95%	0.0	96.33%	1098	JX902458.1
	Eptesicus nilssonii mitochondrion, complete genome	Eptesicus nilssonii	1670	1670	98%	0.0	95.17%	17006	NC_084105.1
~	Eptesicus nilssonii voucher MHNG 3007.089 cytochrome b gene, complete cds; mitochondrial	Eptesicus nilssonii	1670	1670	98%	0.0	95.17%	1140	OQ885379.1
	Eptesicus nilssoni haplotype E.n180219_Bryansk cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mitochondrial	Eptesicus nilssonii	1668	1668	98%	0.0	95.16%	1130	GQ272565.1
	Eptesicus nilssoni haplotype E.n180233_Kaliningrad cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mitochondrial	Eptesicus nilssonii	1666	1666	98%	0.0	95.16%	1069	GQ272588.1
	Eptesicus nilssoni cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mitochondrial gene for mitochondrial product	Eptesicus nilssonii	1650	1650	98%	0.0	94.77%	1140	AF376836.1
✓	Eptesicus nilssoni voucher ZMMU S-171265 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mitochondrial	Eptesicus nilssonii	1633	1633	95%	0.0	95.61%	1098	JX902463.1

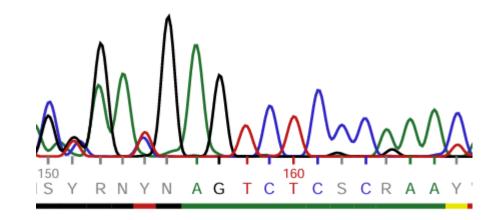


Nord- oder Breitflügelfledermaus? Ein komplizierter Fall...

- Erfolg des Abgleichs mit Datenbanken teils artabhängig: Breitflügel- und Nordfledermaus wegen hoher Ähnlichkeit im Mitogenom schlecht aufzulösen
- Händischer Abgleich mit einer Datenbank notwendig

Lösungsoptionen:

- Betrachtung mehrerer Genabschnitte (12s, COI, CytB) kann Klarheit bringen
- Erstellung einer regional begrenzten Vergleichsdatenbank
 - ➤ Personen mit leichtem Zugang zu eindeutigen Nordoder Breitflügelfledermausquartieren gerne melden!



blastn	blastp	blastx	tblastn	tblastx	
Enter C	uery Sequer	nce			
			STA sequence(s)	? Clear	Query subrange 🔞
ATGATAATA	AGAAAAGTAC		CCAACTAATGGTA	•	From
	TTCATGTTAGAG	CAAIAAI IACAIA	AIGGGIAITCGAC	TGGCTGC	То
Or, upload	file Da	tei auswählen	Keine Datei ausg	ewählt 🕜	
Job Title	Nu	cleotide Sequer	nce		
	Ente	r a descriptive title	e for your BLAST se	earch 🕜	
Align tv	vo or more sequ	ences 😯			

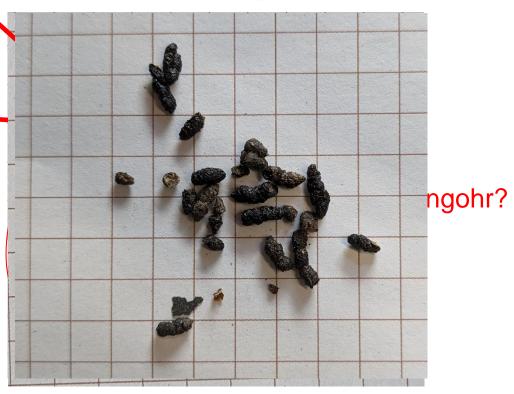
10



Unerwartete Fledermausnachweise...

Original-ID	Noch Material vor	Ergebnis	Fundort	Artverdacht
1	x	Myotis_myotis	Kirche Wirsberg St. Johannis	Mausohr
2		Plecotus_auritus	Kirche Wirsberg St. Johannis	Langohr
3		Plecotus_austriacus	Karsbach, Kirche	Plecotus austriacus
4	x	Plecotus_austriacus	Neubessingen, Kapelle	M. brandtii
5			Sachserhof, Kapelle	Plecotus sp.
6		Pipistrellus_pipistrellus	Amorbach, Schlossmühle	P.pip.& Bartfm.?
7	x	Plecotus_austriacus	Helmstadt, Kirche	Plecotus sp.
8	x	Plecotus_auritus	Ebersdorf, Kirche	Plecotus sp.
9			Neustadt am Main, Friedhofskapelle	Plecotus sp.
10		Plecotus_austriacus	Roden-Ansbach, kath. Kirche	Bartfledermaus?
11		Plecotus_austriacus	Schollbrunn, evang. Kirche	Plecotus sp.
12	х	Eptesicus_serotinus	Bischbrunn, kat. Kirche	Plecotus sp.
13		Pipistrellus_pipistrellus	Schollbrunn, kath. Kirche	Bartfledermaus?
14	x	Myotis_mystacinus	Aura, kath. Kirche	Bartfledermaus?
15			Gräfendorf, evang. Kirche	Plecotus? Bartfl.?
16	x	Plecotus_austriacus	Faulbach, kath. alte Kirche	Plecotus sp.
17	х	Myotis_myotis	Faulbach, kath. neue Kirche	Mausohr/Breitfl.
18		Plecotus_auritus	Miltenberg-Schippach, kath. Kirche	Plecotus sp.
19		Plecotus_auritus	Eichenbühl-Riedern, kath. Kirche	Plecotus? Bartfl.?
20	х	Eptesicus_serotinus	Miltenberg, kath. Kirche	Mausohr/Breitfl.
21	х		Güntersleben, St. Maternus	Langohr

- Artverdacht ist zur Plausibilitätsprüfung oft hilfreich
- Großteil der Proben folgt dem Verdacht





Unerwartete Fledermausnachweise...

Original-ID	Noch Material vor	Ergebnis	Fundort	Artverdacht
1	х	Myotis_myotis	Kirche Wirsberg St. Johannis	Mausohr
2		Plecotus_auritus	Kirche Wirsberg St. Johannis	Langohr
3		Plecotus_austriacus	Karsbach, Kirche	Plecotus austriacus
4	x	Plecotus_austriacus	Neubessingen, Kapelle	M. brandtii
5			Sachserhof, Kapelle	Plecotus sp.
6		Pipistrellus_pipistrellus	Amorbach, Schlossmühle	P.pip.& Bartfm.?
7	х	Plecotus_austriacus	Helmstadt, Kirche	Plecotus sp.
8	x	Plecotus_auritus	Ebersdorf, Kirche	Plecotus sp.
9			Neustadt am Main, Friedhofskapelle	Plecotus sp.
10		Plecotus_austriacus	Roden-Ansbach, kath. Kirche	Bartfledermaus?
11		Plecotus_austriacus	Schollbrunn, evang. Kirche	Plecotus sp.
12	х	Eptesicus_serotinus	Bischbrunn, kat. Kirche	Plecotus sp.
13		Pipistrellus_pipistrellus	Schollbrunn, kath. Kirche	Bartfledermaus?
14	х	Myotis_mystacinus	Aura, kath. Kirche	Bartfledermaus?
15			Gräfendorf, evang. Kirche	Plecotus? Bartfl.?
16	х	Plecotus_austriacus	Faulbach, kath. alte Kirche	Plecotus sp.
17	х	Myotis_myotis	Faulbach, kath. neue Kirche	Mausohr/Breitfl.
18		Plecotus_auritus	Miltenberg-Schippach, kath. Kirche	Plecotus sp.
19		Plecotus_auritus	Eichenbühl-Riedern, kath. Kirche	Plecotus? Bartfl.?
20	х	Eptesicus_serotinus	Miltenberg, kath. Kirche	Mausohr/Breitfl.
21	х		Güntersleben, St. Maternus	Langohr

- Artverdacht ist zur Plausibilitätsprüfung oft hilfreich
- Großteil der Proben folgt dem Verdacht
- Bei Diskrepanzen kann Nachsequenzierung nötig werden
- Zur Qualitätssicherung stichprobenartige Nachsequenzierung am LfU

170



Wie kommt die Gams in den Kirchturm?

Original-ID	Noch Material vor	Ergebnis	Fundort	Artverdacht
1	x	Myotis_myotis	Kirche Wirsberg St. Johannis	Mausohr
2		Plecotus_auritus	Kirche Wirsberg St. Johannis	Langohr
3		Plecotus_austriacus	Karsbach, Kirche	Plecotus austriacus
4	x	Plecotus_austriacus	Neubessingen, Kapelle	M. brandtii
5			Sachserhof, Kapelle	Plecotus sp.
6		Pipistrellus_pipistrellus	Amorbach, Schlossmühle	P.pip.& Bartfm.?
7	x	Plecotus_austriacus	Helmstadt, Kirche	Plecotus sp.
8	x	Plecotus_auritus	Ebersdorf, Kirche	Plecotus sp.
9			Neustadt am Main, Friedhofskapelle	Plecotus sp.
10		Plecotus_austriacus	Roden-Ansbach, kath. Kirche	Bartfledermaus?
11		Plecotus_austriacus	Schollbrunn, evang. Kirche	Plecotus sp.
12	х	Eptesicus_serotinus	Bischbrunn, kat. Kirche	Plecotus sp.
13		Pipistrellus_pipistrellus	Schollbrunn, kath. Kirche	Bartfledermaus?
14	х	Myotis_mystacinus	Aura, kath. Kirche	Bartfledermaus?
15			Gräfendorf, evang. Kirche	Plecotus? Bartfl.?
16	х	Plecotus_austriacus	Faulbach, kath. alte Kirche	Plecotus sp.
17	x	Myotis_myotis	Faulbach, kath. neue Kirche	Mausohr/Breitfl.
18		Plecotus_auritus	Miltenberg-Schippach, kath. Kirche	Plecotus sp.
19		Plecotus_auritus	Eichenbühl-Riedern, kath. Kirche	Plecotus? Bartfl.?
20	x	Eptesicus_serotinus	Miltenberg, kath. Kirche	Mausohr/Breitfl.
21	X		Güntersleben, St. Maternus	Langohr

Kirche Irgerstheim

Rupicapra_rupicapra

Natürlich passieren auch Fehler...

- Idealerweise:
 - Möglichst "sauber" arbeiten
 - Mischproben vermeiden
 - Genug Material für Zweitsequenzierung sammeln

? Nur Teil eines Flüge



!!! Danke für die Aufmerksamkeit!!!

