

Ichii, J. Liu, S. M. Subramanian, G. F. Midgley, P. Miloslavich, Z. Molnár, D. Obura, A. Pfaff, S. Polasky, A. Purvis, J. Razzaque, B. Reyers, R. Roy Chowdhury, Y. J. Shin, I. J. VisserenHamakers, K. J. Willis, and C. N. Zayas (eds.). IPBES secretariat, Bonn, Germany.

Finanzierung: Bayer AG

## 21-2 - Ein non-destruktives Verfahren zur Identifizierung von Brachycera mittels DNA-Barcoding

*A non-destructive method for the identification of Brachycera by DNA barcoding*

**Frederik Stein, Monika Götz, Stefan Wagner, Nadine Bräsicke**

Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Braunschweig  
frederik.stein@julius-kuehn.de

Im Rahmen des BMEL/FNR-Verbundprojektes „Zukunftsorientiertes Risikomanagement für biotische Schadereignisse in Wäldern zur Gewährleistung einer nachhaltigen Waldwirtschaft“ (RiMa-Wald) wurden in einem Teilvorhaben (FKZ: 22019814) u. a. die ökologischen Auswirkungen bei der Anwendung von Insektiziden mit Luftfahrzeugen auf die Unterordnung der Brachycera (Diptera) in Kiefernwäldern untersucht. Als Antagonisten der Kiefern großschädlinge sind diese Nichtzielorganismen von großer Bedeutung. Bei mehreren Fliegenfamilien können die Larven und die Imagines als Parasitoide oder als Prädatoren auftreten.

Parallel zur morphologischen Bestimmung der Familien und Arten werden aufgrund der sehr hohen Individuenzahlen, und der eingeschränkten Verfügbarkeit an Experten, die Individuen mit dem DNA-Barcoding molekulargenetisch determiniert. Hierzu wird üblicherweise zur maximalen DNA-Ausbeute eine destruktive DNA-Extraktion durchgeführt. Es werden Barcodingregionen (z. B. Cytochrome c oxidase subunit I) sequenziert, die eine Artbestimmung erlauben, in dem ein Vergleich der Sequenz mit einer Sequenzdatenbank (z. B. Barcode of Life Datasystem) durchgeführt wird. Mit dem Ziel, Referenzexemplare der Fliegenarten für die spätere morphologische Determination zu bewahren, ist die Anwendung einer non-destruktiven oder einer semi-non-destruktiven DNA Extraktion (mittels doppelt vorhandener Körperteile) Voraussetzung. Zusätzlich können bestehende Datenlücken durch die sequenzierten und morphologisch nachbestimmten Arten geschlossen werden.

Bei einer non-destruktiven DNA-Extraktion stellt die Stabilität der Flügel eine besondere Herausforderung dar (CASTALANELLI et al. 2010). Zusätzlich zeigte sich in Vorversuchen, dass bereits etablierte Verfahren wie von KIM et al. (2013) mit kommerziellen DNA-Extraktionskits, zu einem Pigmentverlust und dem Lösen dorsaler Thoraxborsten führten. Daher wurde das Verfahren von IZUMITSU et al. (2012), das auf die Verwendung u. a. von Proteinase verzichtet, für Fliegen modifiziert. Mit der entwickelten Methode wurde DNA mit geringem Aufwand aus Zuchtfliegen (z. B. *Lucilia sericata*) extrahiert, ohne die morphologischen Merkmale zu beeinträchtigen. Die non-destruktive DNA-Extraktion soll prospektiv bei der Planung und Durchführung von zukünftigen Freilandversuchen berücksichtigt werden. Die Anwendungsbereiche erstrecken sich u. a. von Biodiversitätsuntersuchungen in der Agrarlandschaft bis hin zu Studien zum Umweltverhalten von Pflanzenschutzmitteln.

### Literatur

- CASTALANELLI, M. A.; SEVERTSON, D. L.; CRUMLEY, C. J.; SZITO, A.; FOOTIT, R. G.; MUNYARD, K.; GROTH, D. M. (2010): A rapid non-destructive DNA extraction method for insects and other arthropods. *J Asia-Pac Entomol* **13** (3), 243–248.
- IZUMITSU, K.; HATOH, K.; SUMITA, T.; KITADE, Y.; MORITA, A.; TANAKA, C. ET AL. (2012): Rapid and simple preparation of mushroom DNA directly from colonies and fruiting bodies for PCR. *Mycoscience* **53** (5), 396–401.
- KIM, S. Y.; PARK, S. H.; PIAO, H.; CHUNG, U.; KO, K. S.; HWANG, J.-J. (2013): Vouchering of Forensically Important Fly Specimens by Nondestructive DNA Extraction. *ISRN Entomology* **2013** (4), 1–5.

Finanzierung: BMEL, Projektträger FNR