

Endbericht

Waldfonds-Projekt

„DNA des Waldes - Biodiversitätserfassung in Wäldern mittels Umwelt-DNA“



Projektlaufzeit: 1.5.2022 – 30.06.2024

Berichtszeitraum: 1.5.2022 – 30.06.2024

Innsbruck, Juni 2025

 **Waldfonds
Republik Österreich**

Eine Initiative des Bundesministeriums
für Land- und Forstwirtschaft, Regionen
und Wasserwirtschaft

Projektleitung: Univ.-Prof. Dr. Michael Traugott

Institut für Zoologie, Universität Innsbruck

Michael.Traugott@uibk.ac.at

Projektteam: Yannick Pütz, MSc.; Julia Wagner, MSc.; Daniel Lanbach, MSc.;
Bettina Thalinger, PhD; Dr. Corinna Wallinger; Dr. Daniela Sint; Anna Mutti, PhD;
Alexander Hofer, BSc.; AO Univ.-Prof. Dr. Ursula Peintner

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung.....	5
2	Abstract	9
3	Hintergrund und Motivation	12
3.1	Die Bedeutung der Biodiversität in Wäldern	12
3.2	Methoden zur Erfassung der Biodiversität in Wäldern.....	12
3.3	Herausforderungen bei der Erfassung der Biodiversität in Wäldern	13
3.4	Bedeutung der Biodiversitätserfassung für Wälder in Österreich	13
4	Erfassung von Biodiversität mittels Umwelt-DNA	14
4.1	Umwelt-DNA: Grundlagen und Potenziale	14
4.2	Fließgewässer als Biodiversitätsarchive	14
5	Projektziele und Fragestellungen	15
6	Untersuchungsgebiete.....	16
7	Beprobung	17
7.1	Wasserfilterproben	17
7.2	Regensammler.....	20
7.3	Streuproben	21
7.4	Totholzproben.....	22
7.5	Bodenproben.....	23
8	DNA-Analysen	24
8.1	DNA-Extraktion.....	24
8.2	DNA Metabarcoding	24
8.3	Aufreinigung der PCR-Produkte	25
8.4	Library-Prep	25
8.5	Zweiter Reinigungsschritt	25
8.6	Pooling und Sequenzierung.....	25
8.7	Bioinformatische Sequenzverarbeitung.....	26
8.8	Taxonomische Zuordnung	26
8.9	Auswahl des besten Matches	27
8.10	Zusammenführung und Normalisierung.....	27
8.11	Vergleich mit GBIF-Daten	27
8.12	Entfernung von Kontaminationen.....	27
8.13	Zuordnung der Arthropoden und Pilze zu terrestrischen und aquatischen Taxa.....	28
9	Statistische Analysen	28

10	Ergebnisse und Diskussion	29
10.1	Nachweis von Arthropoden-eDNA	29
10.1.1	Nachweis von Arthropoden-eDNA im Untersuchungsgebiet Gunggl	30
10.1.2	Nachweis von Arthropoden-eDNA Im Untersuchungsgebiet Taschbach	34
10.1.3	Nachweise von Taxa und Sequenzen der eDNA terrestrischer Arthropoden pro Probe in beiden Untersuchungsgebieten	39
10.1.4	Nachweis von eDNA terrestrischer Arthropoden entlang der Bachverläufe	43
10.1.5	Nachweis von terrestrischer Arthropoden-eDNA im zeitlichen Verlauf	44
10.2	Nachweis von Pilz-eDNA	46
10.2.1	Nachweise von Taxa und Sequenzen der eDNA terrestrischer Pilze pro Probe in beiden Untersuchungsgebieten	46
10.2.2	Nachweis von Pilz-eDNA im Untersuchungsgebiet Gunggl	49
10.2.3	Nachweis von Pilz-eDNA im Untersuchungsgebiet Taschbach	51
10.2.4	Nachweis pathogener Pilze in den Untersuchungsgebieten	54
10.2.5	Unterschiede zwischen Gunggl und Taschbach	55
10.2.6	Nachweis von eDNA terrestrischer Pilze entlang der Bachverläufe	60
10.2.7	Nachweis von eDNA terrestrischer Pilze im zeitlichen Verlauf	61
10.3	Nachweis von Pflanzen eDNA	62
10.3.1	Nachweis von Pflanzen-eDNA in Wasserproben im Untersuchungsgebiet Gunggl	65
10.3.2	Nachweis von Pflanzen-eDNA in Wasserproben im Untersuchungsgebiet Taschbach	68
10.3.3	Nachweis von Pflanzen-eDNA entlang der Bachverläufe	70
10.3.4	Nachweis von Pflanzen-eDNA im zeitlichen Verlauf	72
11	Schlussfolgerungen	74
11.1	Projektziel 1: Bestimmung, welche waldrelevanten Organismengruppen über das eDNA-Metabarcoding von Fließgewässern in Wäldern erfasst werden können	74
11.1.1	Nachweis terrestrischer Waldarthropoden mittels eDNA Proben aus Waldbächen	74
11.1.2	Nachweis terrestrischer Pflanzen mittels eDNA-Proben aus Waldbächen	75
11.1.3	Nachweis terrestrischer Pilze mittels eDNA Proben aus Waldbächen	76
11.1.4	Nachweis invasiver Arthropoden und Pflanzen	77
11.2	Projektziel 2: Wo beproben? Ermittlung des idealen räumlichen Beprobungsdesigns für eine möglichst breite Erfassung der Biodiversität von Arthropoden, Pflanzen und Pilzen	80
11.2.1	Arthropoden	80
11.2.2	Pilze	80
11.2.3	Pflanzen	80
11.2.4	Empfehlungen für die räumliche Probenahme	81

11.3	Projektziel 3: Wann beproben? Bestimmung des optimalen Zeitpunktes der Probenahme, um eine möglichst breite Vielfalt in den bearbeiteten Organismengruppen zu erfassen.....	81
11.3.1	Arthropoden.....	81
11.3.2	Pilze.....	81
11.3.3	Pflanzen	82
11.3.4	Empfehlungen für die zeitliche Probenahme.....	82
11.4	Weiterentwicklung des Ansatzes zum Nachweis terrestrischer Waldbiodiversität mittels eDNA aus Bachwasserproben	83
12	Öffentlichkeitsarbeit.....	86
12.1	Vorträge.....	86
12.2	Webpage Naturpark Karwendel.....	86
12.3	Projektvideo	86
13	Literatur.....	87



1 Zusammenfassung

Wälder sind ein wichtiger Lebensraum für zahlreiche Tier-, Pflanzen- und Pilzarten und spielen eine zentrale Rolle für den Erhalt der Biodiversität. Über Jahrhunderte wurden Wälder jedoch stark verändert – so auch in Österreich. Seit etwa 50 Jahren wird der ökologische Zustand unserer Wälder im Rahmen der österreichischen Waldinventur überwacht. Das Monitoring der Biodiversität konzentriert sich bisher vor allem auf Vegetationstypen, Holzgewächse und ausgewählte Indikatorarten. Eine flächendeckende und standardisierte Erfassung der Biodiversität fehlt jedoch, da herkömmliche Methoden zeit- und personalintensiv sind und häufig die taxonomische Expertise zur Bestimmung aller Arten fehlt.

Ein neuer Ansatz zur Lösung dieses Problems ist die Nutzung von Umwelt-DNA (eDNA). Diese wird von Organismen in geringen Mengen an ihre Umgebung abgegeben und kann zur Identifikation von Arten genutzt werden.

Über Regenwasser und Luft wird eDNA in Gewässer eingetragen. Fließgewässer, die Wälder durchziehen, „sammeln“ daher nicht nur eDNA aquatischer Organismen, sondern auch jene von Landlebewesen, die in Wäldern leben. Daher sollte es möglich sein, durch die Gewinnung von eDNA aus Wasserproben ein einfaches und schnell durchführbares Monitoring terrestrischer Waldbewohner zu ermöglichen.

Das vorliegende Projekt zielte darauf ab, die Möglichkeit, Waldbäche als „Biodiversitäts-Info Hubs“, die eDNA aus ihrem gesamten Einzugsgebiet akkumulieren, zu evaluieren. Um zu erforschen, wie gut sich die terrestrische Organismenvielfalt von Wäldern mittels eDNA-Proben aus Fließgewässern erfassen lässt, führten wir eine Modellstudie in zwei Waldgebieten in Tirol durch: Einerseits im Naturreservat Taschbachtal bei Achenkirch auf Kalk und andererseits in der Gunggl im Zillertal auf Silikat.

Die drei wesentlichen Zielsetzungen des Projektes waren 1) die Eignung von eDNA-Wasserproben zur Erfassung terrestrischer Organismengruppen von Wäldern zu evaluieren, 2) zu untersuchen, wo im Verlauf der Bäche Probenahmen eine möglichst breite Artenvielfalt erfassen lassen und 3) zu bestimmen, wann die eDNA-Probenahme am besten durchgeführt werden sollte, um eine möglichst breite Vielfalt an terrestrischen Taxa festzustellen.

Die Wasser-eDNA-Probenahme erfolgte in beiden Gebieten einmal im Monat im Jahr 2022 von Juni bis Oktober sowie im Jahr 2023 von Mai bis Juni/Juli. Insgesamt wurden 19 Probenahme-Punkte entlang des Gungglbachs und 25 Probenahme-Punkte entlang des Taschbachs beprobt und 114 bzw. 162 Proben im Untersuchungsgebiet Gunggl bzw. Taschbach gezogen.

Für die Gewinnung der eDNA aus den Bächen wurde die aktive Filtration von Wasser durchgeführt, wobei pro Probe 1,5 Liter Wasser filtriert wurden. Neben den Wasserfilterproben entnahmen wir auch Proben aus Regensammlern, die unter Bäumen aufgestellt wurden, sowie Proben aus Boden, Streu und Totholz, welche ebenfalls zur Gewinnung von eDNA herangezogen wurden. Diese zusätzlichen Probenotypen sollten als Vergleich zu den Wasserfilterproben dienen.

Mittels Metabarcoding wurden die DNA-Extrakte aus den verschiedenen Probenotypen auf eDNA von Arthropoden, Pilzen und höheren Pflanzen getestet. Ein kleineres Probenet wurde in einer Vorstudie auch auf DNA von Vögeln und Amphibien untersucht: Dabei konnten bei den

Vögeln nur wenige Arten detektiert werden. Bei den Amphibien war die Artenvielfalt in den beiden Gebieten zu gering, um den Ansatz sinnvoll testen zu können. Daher fokussierten sich die Analysen in der Hauptstudie auf die drei oben genannten Organismengruppen.

Im Untersuchungsgebiet Gunggl wurden in den Wasserproben 200 terrestrische Arthropodenarten aus 165 Gattungen, 78 Familien und 22 Ordnungen identifiziert, während im Taschbach-Gebiet eine noch höhere Vielfalt mit 514 Arten aus 352 Gattungen, 151 Familien und 25 Ordnungen nachgewiesen wurde. Im Untersuchungsgebiet Taschbach wurden pro Probe durchschnittlich 10,5 terrestrische Arthropodentaxa detektiert, während es in der Gunggl nur 3,6 Taxa waren. In anderen Probenotypen (z.B. Regensammler, Streu) zeigte sich ein umgekehrtes Muster mit vergleichsweise weniger Taxa in Taschbach und mehr in Gunggl. Die eDNA-Analysen erfassten eine Vielzahl trophischer Gruppen.

Bei den Pilzen konnten in der Gunggl 490 Taxa aus 23 Klassen und in Taschbach 473 Taxa aus 19 Klassen detektiert werden, darunter 56 Arten, die als Schädlinge oder Krankheitserreger auf Pflanzen (46 Arten), Insekten (6 Arten) oder potenziell beim Menschen (4 Arten) wirken können. Im Untersuchungsgebiet Gunggl zeigten Streuproben mit durchschnittlich 48,7 terrestrischen Pilztaxa pro Probe die höchste Diversität, gefolgt von Bodenproben mit 34,2 Taxa, während Wasserproben mit 15,4 Taxa die geringste Diversität aufwiesen. Ein ähnliches Muster zeigte sich im Taschbachtal, wo Bodenproben mit 34,7 Taxa die höchste und Wasserproben mit 12,1 Taxa die geringste Artenvielfalt aufwiesen. Trotz der geringen Wassermenge pro Probe lieferten die Wasserproben bemerkenswerte Ergebnisse, darunter den Nachweis verschiedenster ökologischer Pilzgruppen.

In der Gunggl wurden 289 Pflanzenarten aus 36 Ordnungen und im Taschbach 260 Arten aus ebenfalls 36 Ordnungen identifiziert. Im Untersuchungsgebiet Gunggl zeigten Wasserproben mit durchschnittlich 24,4 Pflanzenarten pro Probe die höchste Diversität, während terrestrische Probenotypen wie Regensammler-, Totholz-, Streu- und Bodenproben nur 4 bis 8 Arten pro Probe aufwiesen. Ein ähnliches Bild ergab sich in Taschbach, wo Wasserproben ebenfalls die höchste Diversität lieferten, jedoch mit einer geringeren durchschnittlichen Artenzahl von 13,7 Pflanzenarten pro Probe. Der Vergleich zeigt, dass Wasserproben in beiden Gebieten die größte Pflanzenvielfalt erfassen, da sie offenbar eDNA aus verschiedenen Quellen wie Boden, Laubstreu und Vegetation sammeln und transportieren.

Die Analyse von Umwelt-DNA hat sich als effektives Werkzeug für den Nachweis invasiver Arten erwiesen. Im vorliegenden Projekt konnten DNA-Spuren von drei invasiven Insektenarten und zwei invasiven Pflanzenarten in Wasserproben nachgewiesen werden. Die Zickzack-Ulmenblattwespe (*Aproceros leucopoda*), die Bläulingszikade (*Metcalfa pruinosa*) und die Kirschessigfliege (*Drosophila suzukii*) wurden in den Untersuchungsgebieten Taschbach und Gunggl detektiert. In Österreich ist *Aproceros leucopoda* seit 2009 bekannt und stellt eine Bedrohung für heimische Ulmen dar, während *Metcalfa pruinosa* seit 2003 vor allem im Osten Österreichs verbreitet ist. *Drosophila suzukii* wurde 2011 erstmals in Österreich nachgewiesen.

Unter den Pflanzenarten wurde eDNA des Drüsigen Springkrauts (*Impatiens glandulifera*) in beiden Untersuchungsgebieten nachgewiesen. Diese invasive Art ist in Österreich weit verbreitet und verdrängt heimische Pflanzenarten entlang von Flüssen und in feuchten Wäldern. Außerdem wurden DNA-Spuren von Kudzu (*Pueraria montana*), einer invasiven

Lianenpflanze, in einer Probe aus dem Gebiet Gunggl detektiert. Da Kudzu in Österreich bislang nicht nachgewiesen wurde, ist eine Bestätigung des Nachweises durch weitere Tests dringend erforderlich, um ein falsch positives Ergebnis auszuschließen.

Die eDNA-Analysen zu Arthropoden, Pilzen und Pflanzen entlang der Bachverläufe in Gunggl und Taschbach zeigen deutliche Unterschiede in der Artenvielfalt und Diversität. Im Taschbach variiert die Artenvielfalt terrestrischer Arthropoden signifikant entlang des Flussverlaufs, mit den höchsten Werten in den unteren Abschnitten nahe der Mündung. In der Gunggl bleibt die Vielfalt hingegen weitgehend konstant, mit Spitzenwerten am Anfang und Ende des Bachverlaufs. Bei den Pilzen wurden im Taschbach Hotspots im unteren Bachabschnitt identifiziert, während in der Gunggl keine signifikanten Unterschiede entlang des Bachverlaufs festgestellt wurden. Die Pflanzenvielfalt variiert in der Gunggl signifikant entlang des Bachverlaufs, während sie im Taschbach konstant bleibt. Umgekehrt zeigt die Alpha-Diversität der Pflanzen im Taschbach deutliche Unterschiede, während sie in der Gunggl gleichmäßig verteilt war. Diese Ergebnisse legen nahe, dass für eine optimale Erfassung der Biodiversität Proben an mehreren Stellen entlang der Bachverläufe entnommen werden sollten. Besonders die unteren Flussabschnitte nahe der Mündung sind für alle drei Organismengruppen von Bedeutung, da hier eine höhere Artenvielfalt nachgewiesen wurde. Für Pilze und Pflanzen sollten zusätzlich Proben in den oberen Flussabschnitten gezogen werden, um die gesamte Bandbreite der Diversität zu erfassen.

Deutliche saisonale Unterschiede in der Artenvielfalt und Diversität von Arthropoden, Pilzen und Pflanzen wurden in beiden Gebieten festgestellt. Bei den Arthropoden erreichte die nachgewiesene Artenvielfalt in der Gunggl ihren Höhepunkt im Juni und Juli, während im Taschbach die höchsten Werte im Spätsommer und Herbst festgestellt wurden. Die Diversität terrestrischer Pilze war im Taschbach im Spätsommer und Herbst am höchsten. In der Gunggl wurden die höchsten Diversitätswerte hingegen im Juni gemessen. Bei den Pflanzen zeigte sich die höchste Diversität im Sommer, insbesondere im Juni und Juli, wobei in der Gunggl auch im Mai und August eine hohe Artenvielfalt festzustellen war. Die Sommer- und Herbstmonate scheinen daher die besten Zeiträume für die Entnahme von Wasserproben zur Erfassung terrestrischer eDNA zu sein. Für Arthropoden und Pflanzen sind die Monate Juni bis September ideal, während für Pilze der Spätsommer und Herbst besonders geeignet sind.

Die Ergebnisse unserer Untersuchung belegen, dass durch Umwelt-DNA-Proben aus Waldbächen eine beeindruckende Vielfalt an terrestrischer Biodiversität erfasst werden kann. Neben der generellen Erfassung der Biodiversität konnte auch das Potential zum Monitoring invasiver und pathogener Arten demonstriert werden. Zusätzlich zu den Wasserproben stellen auch die Regensammler, die unter Bäumen aufgestellt werden, eine innovative Methode dar, um Lebewesen aus den Kronenbereichen von Wäldern mittels eDNA zu monitoren. Als Vorteile der eDNA-Ansätze sind sowohl die einfache Probenahme als auch die Möglichkeit einer breiten taxonomischen Analyse der Proben anzuführen. Zur Erhöhung des Nachweises von terrestrischen Waldbewohnern aus Bachwasserproben sollte die Filtration größerer Wasservolumina in Betracht gezogen werden. In Zukunft sollte dazu auch die passive Erfassung von Umwelt-DNA erprobt werden: Dabei werden Sammelvorrichtungen über längere Zeit im Wasser platziert, was die durchschnittliche Anzahl an Taxa pro Probe deutlich erhöhen sollte. Die taxonomische Verifizierung und Plausibilisierung der detektierten Taxa stellt eine weitere

Herausforderung für zukünftige Projekte dar, um die bioinformatisch generierten Sequenzdaten möglichst effizient und taxonomisch korrekt nachgewiesenen Organismen zuordnen zu können.

Das vorliegende Projekt hat gezeigt, dass eine Vielzahl an terrestrischen Organismen, inklusive invasiver und pathogener Arten, über eDNA aus Waldbächen nachgewiesen werden kann. Es liefert wesentliche Grundlagen für die Weiterentwicklung des Einsatzes von eDNA-basierten Monitorings terrestrischer Biodiversität in Wäldern. Damit wurde ein erster Schritt für ein bundesweites Wald-Biodiversitätsmonitoring mittels eDNA aus Bachwasserproben gelegt, um das Management und den Schutz der Lebensvielfalt in Wäldern zukünftig weiter zu verbessern.



2 Abstract

Forests are an important habitat for numerous animal, plant and fungal species and play a central role in the preservation of biodiversity. However, Austrian forests have been heavily modified over the centuries. For about 50 years, their ecological status has been monitored as part of the Austrian Forest Inventory. So far, biodiversity monitoring has mainly focused on vegetation types, woody plants and selected indicator species. However, there is no comprehensive and standardized recording of biodiversity, as conventional methods are time-consuming and labour-intensive and there is often a lack of taxonomic expertise to identify all species.

A new approach to solving this problem is the use of environmental DNA (eDNA). This type of DNA is released by organisms in small quantities into their environment and can be used to identify species. Via rainwater and air eDNA is carried into streams, that run through forests and thereby not only collect eDNA from aquatic, but also terrestrial organisms in the forest area. It should therefore be possible to carry out simple and rapid monitoring of terrestrial forest organisms by extracting eDNA from water samples.

The present project aimed to evaluate the potential of forest streams as “biodiversity info hubs” that accumulate eDNA from their entire catchment to assess the terrestrial organism diversity of forests using eDNA samples from streams. We conducted a model study in two forest areas in Tyrol - one on limestone in the Taschbachtal nature reserve near Achenkirch and one on silicate in the Gunggl in the Zillertal.

The three key objectives of the project were 1) to evaluate the suitability of eDNA water sampling for the detection of terrestrial forest organism groups, 2) to investigate, where in the course of the streams sampling allows the broadest possible species diversity to be recorded and 3) to determine, when eDNA sampling should best be carried out in order to detect the broadest possible diversity of terrestrial taxa.

Water eDNA sampling was carried out in both areas once a month in 2022 from June to October and in 2023 from May to June/July. A total of 19 sampling points along the Gungglbach and 25 sampling points along the Taschbach were examined and 114 and 162 samples were taken in the Gunggl and Taschbach study areas, respectively.

Active filtration of water was used to obtain eDNA from the streams, with 1.5 liters of water filtered per sample. In addition to the water filter samples, samples were taken from rain collectors placed under trees, as well as soil samples, litter and dead wood, which were also used to obtain eDNA. These additional sample types served as a comparison to the water filter samples.

Using metabarcoding, the DNA extracts from the different sample types were tested for eDNA from arthropods, fungi and higher plants. A smaller sample set was also analysed for DNA of birds and amphibians in a preliminary study: only a few species could be detected in the birds, and in the amphibians the species diversity in the two areas was too low to test the approach meaningfully. The analyses therefore focused on the three groups of organisms mentioned above.

In the Gunggl study area, 200 terrestrial arthropod species from 165 genera, 78 families and 22 orders were identified in the water samples, while an even higher diversity of 514 species from 352 genera, 151 families and 25 orders was detected in the Taschbach area. In the Taschbach study area, an average of 10.5 terrestrial arthropod taxa were detected per sample, compared to only 3.6 taxa in the Gunggl. Other sample types showed an inverse pattern with comparatively fewer taxa in Taschbach and more in Gunggl. The eDNA analyses recorded a large number of trophic groups.

Among the fungi, 490 taxa from 23 classes were detected in Gunggl and 473 taxa from 19 classes in Taschbach, including 56 species that can act as pests or pathogens on plants (46 species), insects (6 species) or potentially on humans (4 species). In the Gunggl study area, litter samples showed the highest diversity with an average of 48.7 terrestrial fungal taxa per sample, followed by soil samples with 34.2 taxa, while water samples showed the lowest diversity with 15.4 taxa. A similar pattern was seen in Taschbach, where soil samples showed the highest diversity with 34.7 taxa and water samples the lowest with 12.1 taxa. Despite the small amount of water per sample, the water samples yielded remarkable results, including the detection of a wide variety of ecological fungal groups.

A total of 289 plant species from 36 orders were identified in the Gunggl and 260 species from 36 orders in the Taschbach. In the Gunggl study area, water samples showed the highest diversity with an average of 24.4 plant species per sample, while terrestrial sample types such as rain collector, dead wood, litter and soil samples only showed 4 to 8 species per sample. A similar picture emerged in Taschbach, where water samples also yielded the highest diversity, but with a lower average number of species of 13.7 plant species per sample. The comparison shows that water samples in both areas capture the greatest plant diversity, as they appear to collect and transport eDNA from different sources such as soil, leaf litter and vegetation.

The analysis of environmental DNA has proven to be an effective tool for the detection of invasive species. In the present project, DNA traces of three invasive insect species and two invasive plant species were detected in water samples. The zigzag elm sawfly (*Aproceros leucopoda*), the blue-winged cicada (*Metcalfa pruinosa*) and the spotted wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*) were detected in the Taschbach and Gunggl study areas. *Aproceros leucopoda* has been known in Austria since 2009 and poses a threat to native elms, while *Metcalfa pruinosa* has been widespread since 2003, especially in eastern Austria. *Drosophila suzukii* was first detected in Austria in 2011.

Among the plant species, eDNA of the balsam weed (*Impatiens glandulifera*) was detected in both study areas. This invasive species is widespread in Austria and displaces native plant species along rivers and in damp forests. DNA traces of Kudzu (*Pueraria montana*), an invasive liana plant, were detected in one sample from the Gunggl area. As Kudzu has not yet been detected in Austria, confirmation of the detection by further tests is urgently required to rule out a false positive result.

The eDNA analyses of arthropods, fungi and plants along the course of the Gunggl and Taschbach streams show clear differences in species diversity. In the Taschbach, the species diversity of terrestrial arthropods varies significantly along the course of the river, with the highest values in the lower sections near the mouth. In the Gunggl, on the other hand, diversity

remains largely constant, with peaks at the beginning and end of the course of the stream. In the Taschbach, hotspots for fungi were identified in the lower section of the stream, while no significant differences were found along the course of the stream in the Gunggl. Plant diversity in the Gunggl varied significantly along the course of the stream, while it remained constant in the Taschbach. Conversely, the alpha diversity of the plants in the Taschbach showed clear differences, while it was evenly distributed in the Gunggl. These findings indicate that sampling at multiple points along the stream is necessary to achieve a more complete assessment of biodiversity. The lower sections of the river near the mouth are particularly important for all three groups of organisms, as a higher species diversity was detected here. For fungi and plants, additional samples should be taken in the upper sections of the river to capture the full range of diversity.

Significant seasonal differences in species diversity and diversity of arthropods, fungi and plants were found in both areas. Arthropod species diversity in the Gunggl peaked in June and July, while in the Taschbach the highest values were recorded in late summer and fall. The diversity of terrestrial fungi was highest in the Taschbach in late summer and fall. In the Gunggl, on the other hand, the highest diversity values were measured in June. Plant diversity was highest in summer, particularly in June and July, although high species diversity was also observed in May and August in the Gunggl. The summer and fall months therefore appear to be the best periods for taking water samples to record terrestrial eDNA. For arthropods and plants, the months of June to September are ideal, while late summer and fall are particularly suitable for fungi.

The results of our study show that an impressive diversity of terrestrial biodiversity can be recorded using environmental DNA samples from forest streams. In addition to the general recording of biodiversity, the potential for monitoring invasive and pathogenic species was also demonstrated. Moreover, the rain collectors, which are placed under trees, also represent an innovative method for monitoring living organisms from the canopy areas of forests using eDNA in addition to the water samples. The advantages of the eDNA approach are the simple sampling as well as the possibility of a broad taxonomic analysis of the samples. To increase the detection of terrestrial forest inhabitants from stream water samples, the filtration of larger volumes of water should be considered. The passive collection of environmental DNA should also be tested in the future: this involves placing collection devices in the water for extended periods of time, which should significantly increase the average number of taxa per sample. The taxonomic verification and plausibility check of the detected taxa represent an additional challenge for future projects, with the goal of efficiently assigning bioinformatically generated sequence data as efficiently to correctly identified organisms.

The present project has demonstrated that a large number of terrestrial organisms, including invasive and pathogenic species, can be detected via eDNA collected from forest streams. It lays an important foundation for advancing eDNA-based monitoring of terrestrial biodiversity in forest ecosystems. This marks a first step towards nationwide monitoring of forest biodiversity using eDNA from stream water samples, with the aim of enhancing future biodiversity management and conservation.



3 Hintergrund und Motivation

3.1 Die Bedeutung der Biodiversität in Wäldern

Wälder zählen zu den artenreichsten Ökosystemen der Erde und spielen eine zentrale Rolle für die Stabilität globaler Ökosysteme. Sie bieten nicht nur Lebensraum für eine Vielzahl von Organismen, sondern regulieren auch das Klima, speichern Kohlenstoff und liefern essenzielle Ökosystemdienstleistungen wie sauberes Wasser, Holz und Erholungsräume. Die Bedeutung dieser Funktionen wird durch den globalen Rückgang der Biodiversität und die zunehmenden Bedrohungen durch den Klimawandel und menschliche Aktivitäten immer deutlicher (FAO, 2020). Die Erfassung der Biodiversität in Wäldern ist daher nicht nur eine wissenschaftliche Herausforderung, sondern auch eine dringende Notwendigkeit, um die nachhaltige Nutzung und das Management dieser Ökosysteme sicherzustellen.

In Österreich bedecken Wälder etwa 47 % der Landesfläche und sind ein wesentlicher Bestandteil der Landschaft und Kultur des Landes (BFW, 2021). Diese Wälder zeichnen sich durch eine hohe Vielfalt an Baumarten, Pilzen, Insekten und anderen Organismen aus, die in einem komplexen Netzwerk von Wechselwirkungen miteinander verbunden sind. Gleichzeitig stehen sie unter zunehmendem Druck durch Klimawandel, intensive Forstwirtschaft, Urbanisierung und invasive Arten (Seidl et al., 2017). Die Erfassung der Biodiversität in diesen Wäldern ist daher von zentraler Bedeutung, um die Auswirkungen dieser Bedrohungen zu verstehen und geeignete Schutzmaßnahmen zu entwickeln.

3.2 Methoden zur Erfassung der Biodiversität in Wäldern

Die Erfassung der Biodiversität in Wäldern erfordert den Einsatz verschiedener Methoden, die von traditionellen Ansätzen bis hin zu modernen molekularbiologischen Techniken reichen. Traditionelle Methoden wie die Zählung von Individuen, die Erstellung von Artenlisten oder die Analyse von Boden- und Laubproben sind nach wie vor weit verbreitet. Diese Ansätze liefern wertvolle Daten, sind jedoch oft zeitaufwendig, arbeitsintensiv und auf bestimmte Organismengruppen beschränkt (Magurran, 2004). Ergänzend zu den klassischen Methoden ermöglichen Technologien wie Fernerkundung und GIS die großflächige Erfassung von Waldstrukturen und -dynamiken. Satellitenbilder und Drohnen bieten hierbei eine effiziente Möglichkeit, Landschaftsmuster zu analysieren, liefern jedoch nur indirekte Informationen über die Artenvielfalt (Turner et al., 2003).

In den letzten Jahren hat die Analyse von Umwelt-DNA (eDNA) zunehmend an Bedeutung gewonnen. Diese Methode ermöglicht es, genetische Informationen aus Umweltproben wie Wasser, Boden oder Luft zu extrahieren und damit Rückschlüsse auf die in einem bestimmten Lebensraum vorkommenden Organismen zu ziehen (Deiner et al., 2017). Besonders in Wäldern, die von Fließgewässern durchzogen sind, ist eDNA eine vielversprechende Möglichkeit, Biodiversität effizient und nicht-invasiv zu erfassen. Die Methode hat das Potenzial, eine Vielzahl von Organismengruppen gleichzeitig zu detektieren, darunter auch solche, die mit traditionellen Methoden schwer zu erfassen sind.

3.3 Herausforderungen bei der Erfassung der Biodiversität in Wäldern

Die Erfassung der Biodiversität in Wäldern ist mit einer Reihe von Herausforderungen verbunden, die sowohl methodischer als auch ökologischer Natur sind. Die Komplexität der Waldökosysteme stellt eine der größten Hürden dar. Wälder sind hochgradig heterogene Lebensräume mit einer Vielzahl von Mikrohabitaten, die von der Baumkrone bis zum Boden reichen. Diese Heterogenität erschwert die vollständige Erfassung der Biodiversität, da viele Arten schwer zugänglich oder nur saisonal aktiv sind (Basset et al., 2012).

Ein weiterer Aspekt ist die sogenannte "unsichtbare Biodiversität": Ein Großteil der biologischen Vielfalt in Wäldern besteht aus Mikroorganismen, Pilzen und bodenbewohnenden Insekten, die mit traditionellen Methoden nur schwer zu erfassen sind. Molekulare Ansätze wie eDNA-Metabarcoding bieten hier eine vielversprechende Lösung, sind jedoch ebenfalls mit Herausforderungen wie der Standardisierung von Protokollen und der Interpretation von Daten konfrontiert (Cristescu, 2014).

Darüber hinaus verändern der Klimawandel und menschliche Aktivitäten wie Forstwirtschaft die Zusammensetzung und Struktur von Waldökosystemen. Diese Veränderungen können die Erfassung der Biodiversität erschweren, da sie zu einer Verschiebung von Artenverteilungen und einer Zunahme invasiver Arten führen (Seidl et al., 2017). Schließlich stellt die Integration von Daten aus verschiedenen Methoden und Skalen eine weitere Herausforderung dar. Während molekulare Ansätze detaillierte Informationen auf Artenebene liefern, bieten Fernerkundungsdaten eine großflächige Perspektive. Die Kombination dieser Ansätze erfordert jedoch komplexe statistische Modelle und bioinformatische Werkzeuge (Bush et al., 2017).

3.4 Bedeutung der Biodiversitätserfassung für Wälder in Österreich

Die Wälder Österreichs sind nicht nur ein wichtiger Bestandteil der nationalen Landschaft, sondern auch ein Hotspot der Biodiversität in Mitteleuropa. Sie beherbergen eine Vielzahl von Arten, darunter viele endemische und gefährdete Arten, die auf die spezifischen Bedingungen der alpinen und subalpinen Lebensräume angewiesen sind (Grabherr et al., 1994). Die Erfassung der Biodiversität in diesen Wäldern ist entscheidend, um gefährdete Arten zu schützen, die Auswirkungen des Klimawandels zu bewerten und nachhaltige Forstwirtschaftspraktiken zu fördern:

- Viele der in Österreich vorkommenden Arten sind durch den Verlust von Lebensräumen, Klimawandel und andere anthropogene Einflüsse bedroht. Die Erfassung ihrer Verbreitung und Populationstrends ist entscheidend für die Entwicklung effektiver Schutzmaßnahmen (Essl et al., 2009). Gleichzeitig steht die österreichische Forstwirtschaft vor der Herausforderung, nachhaltige Praktiken zu implementieren, um die Auswirkungen auf die Artenvielfalt zu minimieren und zugleich die Produktivität der Wälder zu erhalten (Lindner et al., 2010).
- Die Erfassung der Biodiversität kann helfen, die Resilienz der Wälder gegenüber Klimaveränderungen zu bewerten und Strategien zur Anpassung zu entwickeln (Seidl et al., 2017).
- Schließlich bieten Wälder zahlreiche Möglichkeiten für Erholung und Naturerlebnis und sind damit für den Tourismus in Österreich von großer Bedeutung. Die Erhaltung der



Biodiversität ist entscheidend, um die Attraktivität der Wälder für BesucherInnen zu bewahren (Tyrväinen et al., 2014).

4 Erfassung von Biodiversität mittels Umwelt-DNA

Die Analyse von Umwelt-DNA (environmental DNA, eDNA), ist – wie schon erwähnt - eine vielversprechende Methode, die in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen hat. Diese Methode ermöglicht es, genetische Informationen aus Umweltproben wie Wasser, Boden oder Luft zu extrahieren und damit Rückschlüsse auf die in einem bestimmten Lebensraum vorkommenden Organismen zu ziehen. Die Nutzung von eDNA hat das Potenzial, die Biodiversitätsforschung zu revolutionieren, da sie eine nicht-invasive, zeiteffiziente und kostengünstige Alternative zu traditionellen Erfassungsmethoden darstellt (Taberlet et al., 2012).

4.1 Umwelt-DNA: Grundlagen und Potenziale

Jeder Organismus hinterlässt eine eindeutig identifizierbare DNA-Spur in seiner Umgebung. Diese DNA kann aus Zellen, Geweberesten, Exkrementen oder anderen biologischen Materialien stammen, die in die Umwelt abgegeben werden. Bereits seit einigen Jahren ist bekannt, dass in Gewässern genetische Informationen über die Organismen der umliegenden Lebensräume als sogenannte Umwelt-DNA förmlich zusammenfließen (Deiner et al., 2016). Fließgewässer, die durch Wälder verlaufen, fungieren dabei als natürliche Sammelstellen für DNA-Spuren von terrestrischen Organismen wie Insekten, Pilzen und Pflanzen. Diese Eigenschaft macht sie zu einer wertvollen Quelle für die Erfassung der Biodiversität in den angrenzenden Lebensräumen.

Die Methode des eDNA-Metabarcodings basiert auf der Amplifikation und Sequenzierung spezifischer DNA-Abschnitte, die als Barcodes dienen und eine taxonomische Zuordnung der nachgewiesenen Organismen erlauben. Diese Methode hat das Potenzial, eine Vielzahl von Organismengruppen gleichzeitig zu erfassen, darunter auch solche, die mit herkömmlichen Methoden schwer zu detektieren sind (Cristescu, 2014). Besonders in schwer zugänglichen oder artenreichen Lebensräumen wie Wäldern bietet eDNA-Metabarcoding eine einzigartige Möglichkeit, Biodiversität umfassend zu erfassen.

4.2 Fließgewässer als Biodiversitätsarchive

Fließgewässer spielen eine zentrale Rolle im eDNA-Monitoring, da sie als natürliche Transportwege für genetisches Material dienen. DNA-Spuren terrestrischer Organismen gelangen durch Regen, Bodenerosion, Laubfall oder andere Prozesse in die Gewässer und können dort über längere Zeit nachgewiesen werden (Jane et al., 2015). Studien haben gezeigt, dass eDNA aus Fließgewässern nicht nur aquatische, sondern auch terrestrische Organismen widerspiegelt, da DNA-Spuren aus den umliegenden Lebensräumen in die Fließgewässer eingetragen werden (Deiner et al., 2016). Diese Eigenschaft macht Fließgewässer zu idealen Probenahmestellen für ein umfassendes Biodiversitätsmonitoring.



Ein weiterer Vorteil von Fließgewässern als Probenquellen ist ihre Fähigkeit, Informationen über große Einzugsgebiete zu integrieren. Dies ermöglicht es, die Biodiversität auf Landschaftsebene zu erfassen und räumliche Muster der Artenverteilung zu analysieren (Carraro et al., 2020). Gleichzeitig stellen Fließgewässer jedoch auch Herausforderungen dar, da die Verteilung und Persistenz von eDNA in Gewässern von verschiedenen Faktoren wie Strömungsgeschwindigkeit, Temperatur und mikrobieller Aktivität beeinflusst wird (Barnes & Turner, 2016).

5 Projektziele und Fragestellungen

Im vorliegenden Projekt wurde untersucht, wie gut sich eDNA-Metabarcoding eignet, um anhand von Wasserproben aus Fließgewässern in Wäldern die terrestrische Organismenvielfalt dieser Lebensräume zu erfassen. Die Ergebnisse dieses Projekts sollen dazu beitragen, die Methodik und ihre Anwendung zur Erfassung der Biodiversität in Wäldern weiterzuentwickeln.

Die Projektziele gliederten sich in drei zentrale Bereiche:

- 1. Bestimmung, welche waldrelevanten Organismengruppen über das eDNA-Meta-barcoding von Fließgewässern in Wäldern erfasst werden können:** Hierbei wurde untersucht, ob und in welchem Umfang terrestrische Organismen wie Insekten, Pilze und Pflanzen in den Wasserproben nachgewiesen werden können. Frühere Studien haben gezeigt, dass eDNA-Metabarcoding eine hohe Sensitivität für die Erfassung von Insekten (Bohmann et al., 2014), Pflanzen (Yoccoz et al., 2012) und Pilzen (Lindahl et al., 2013) aufweist.
- 2. Ermittlung des idealen Beprobungsdesigns für eine möglichst breite Erfassung der terrestrischen Biodiversität:** Die Probenahmestellen wurden hinsichtlich der erfassten terrestrischen Biodiversität analysiert um festzustellen, an wie vielen Stellen bzw. wo im Bachverlauf ideale Probenstellen liegen. Studien wie die von Li et al. (2018a) haben gezeigt, dass die räumliche Skalierung der Probenahme einen erheblichen Einfluss auf die Ergebnisse des eDNA-Monitorings hat.
- 3. Bestimmung des optimalen Zeitpunktes der Probenahme, um möglichst viele relevante Organismengruppen zu erfassen:** Da die Verfügbarkeit von eDNA in Gewässern saisonalen Schwankungen unterliegt, wurde untersucht, zu welchen Jahreszeiten die Probenahme die höchste Artenvielfalt und Diversität abbildet. Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass die DNA-Konzentration und -Zusammensetzung in Gewässern stark von saisonalen Faktoren wie Laubfall, Niederschlag und Temperatur abhängt (Shogren et al., 2017).

Die Projektlaufzeit wurde kostenneutral verlängert, um die Einbeziehung zusätzlicher Probentypen wie Boden, Totholz, Streu und Regensammlern zu ermöglichen. Zudem konnten durch den raschen technologischen Fortschritt umfassendere Sequenzierungsmöglichkeiten genutzt werden, die wiederum zu umfassenderen bioinformatischen Analysen führten, die zusätzlich Zeit benötigten.

Die Analyse eines ersten, kleineren Probensets für den Zwischenbericht zeigte, dass der Nachweis von Vögeln und Amphibien nicht zielführend ist, da nur sehr wenige Arten detektiert



wurden (siehe Zwischenbericht). Daher wurde der Fokus für die Analyse des Gesamtprojekts auf Arthropoden, Pilze und Pflanzen gelegt.

6 Untersuchungsgebiete

Die Probenahmestandorte lagen in zwei Untersuchungsgebieten in Tirol:

- **Taschbachtal** (Tirol, Österreich, N 47.5623923, E 11.635924; im Folgenden Taschbach oder TB): Die Höhenlage reicht von 830 m bis 1185 m über dem Meeresspiegel. Das Gebiet ist geprägt von Karbonatgestein und umfasst einige kleine Sumpfgebiete. Die Vegetation besteht aus einem dichten Mischwald, der hauptsächlich aus Buchen und Fichten besteht, ergänzt durch Ebereschen, Birken und Ahornbäume.
- **Gungglbachtal** (Tirol, Österreich, N 47.0845185, E 11.8005631; im Folgenden Gungglbach oder GB): Dieses Tal erstreckt sich über eine Höhenlage von 1030 m bis 1530 m über dem Meeresspiegel. Es ist durch Silikatgestein gekennzeichnet. Im unteren Bereich dominiert ein dichter Fichtenwald, ergänzt durch Tannen und Ebereschen. Im oberen Bereich finden sich Weideflächen, umgeben von fragmentarischen Zirbenwäldern sowie einigen Birken und Weiden.

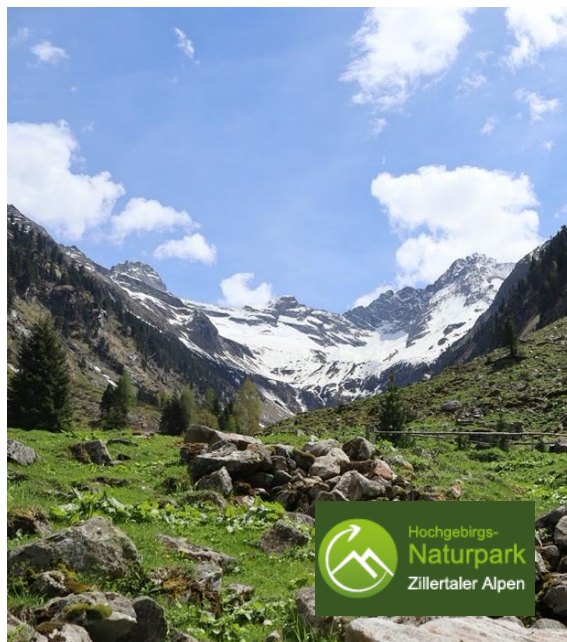


Abb. 1 und 2: Die Untersuchungsgebiete Taschbachtal, Karwendel (links), und Gunggl, Zillertal.
Fotos: Yannik Pütz/Julia Wagner

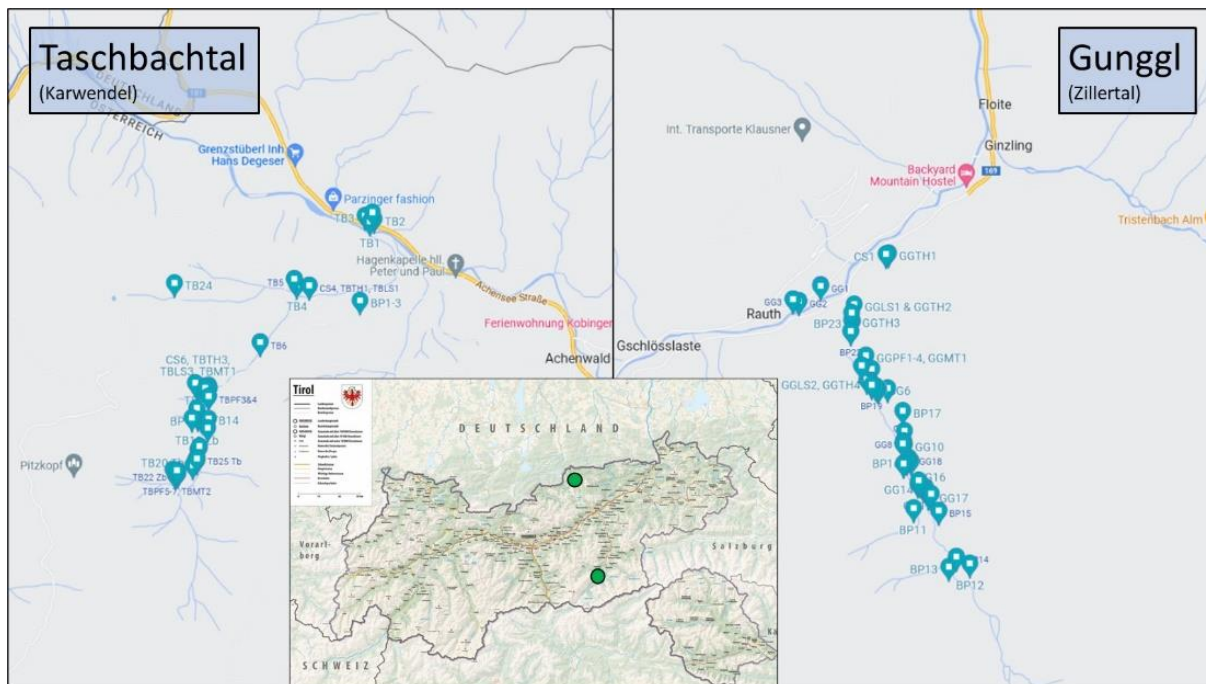


Abb. 3: Die Beprobungsgebiete Taschbachtal bei Achenkirch und Gunggl im Zillertal. Markiert sind die 19 bzw. 24 Stellen, an denen Wasserproben zur Gewinnung von eDNA entnommen wurden.

7 Beprobung

Für die Gewinnung der eDNA aus den Bächen, die durch die Wälder fließen, war in diesem Projekt als vorrangige Methode die aktive Filtration von Wasser vorgesehen. Dieser Ansatz stellt die derzeit gängigste Gewinnung von eDNA aus Wasserproben dar. Neben den Wasserfilterproben wurden ergänzend zum ursprünglichen Projektplan Proben aus Regensammlern (*canopy sampling*), Bodenproben (*soil sampling*), Streu (*litter*) und Totholz (*deadwood*) entnommen. Diese wurden ebenfalls zur Gewinnung von eDNA herangezogen und dienten als Vergleich zu den Wasserfilterproben.

Ebenfalls ergänzend wurde die passive eDNA-Wasserbeprobung mit vier Proben pro Untersuchungsgebiet getestet. Wie im Zwischenbericht erwähnt, zeigte diese Methode erste vielversprechende Ergebnisse, die bereits ebenda vorgestellt wurden. Eine ausführliche Evaluierung dieser Methode konnte im Rahmen dieses Projekts nicht durchgeführt werden. Ebenso wurden die Ergebnisse zu den Arthropodenfallen in den vorliegenden Bericht nicht mit einbezogen, da die Falleninhalte nur auf Großgruppenniveau identifiziert werden konnten und ein direkter Vergleich mit den taxonomisch hoch aufgelösten Metabarcodingdaten nicht zielführend ist.

Nachfolgend werden die einzelnen Beprobungsmethoden beschrieben.

7.1 Wasserfilterproben

Die Wasser-eDNA-Probenahme wurde regelmäßig einmal im Monat durchgeführt, und zwar im Jahr 2022 von Juni bis Oktober sowie im Jahr 2023 von Mai bis Juni/Juli. Insgesamt wurden 19 Probenahmepunkte entlang des Gungglbachs (GG1-GG19) und 25 Probenahmepunkte entlang des Taschbachs (TB1-TB25) ausgewählt (siehe Abb. 4, 5). Die Durchführung der Beprobungen an den jeweiligen Punkten ist in den nachfolgenden Tabellen dokumentiert (Tab. 1, 2).

Hierbei wurden Wasserproben von 1,5 Litern mit Flüssigkeitsprobebeuteln (*Whirl Paks*) entnommen und anschließend durch 0,8 µm Sylphium eDNA-Filter filtriert. Zusätzlich wurden Proben aus den nächstgrößeren Flüssen (Seeache für das Taschbachtal und Zemmbach für das Gungglbachtal) oberhalb und unterhalb der Mündungen von Taschbach bzw. Gungglbach entnommen.

Die Filter wurden nach der Filtration mit 1,5 ml TES-Puffer, der mit Proteinase K (Verhältnis 190:1) angereichert war, behandelt und gekühlt ins Labor transportiert. Im September 2022 wurde ein Vergleich der Porengrößen bei den großen Filtern durchgeführt. In beiden Gebieten wurden jeweils 50 Liter Wasser mit Filtern unterschiedlicher Porengrößen (0,45 µm, 1,2 µm und 5,0 µm) filtriert. Die Ergebnisse zeigten, dass die Porengröße bei den sehr klaren Gewässern kaum eine Rolle spielt.

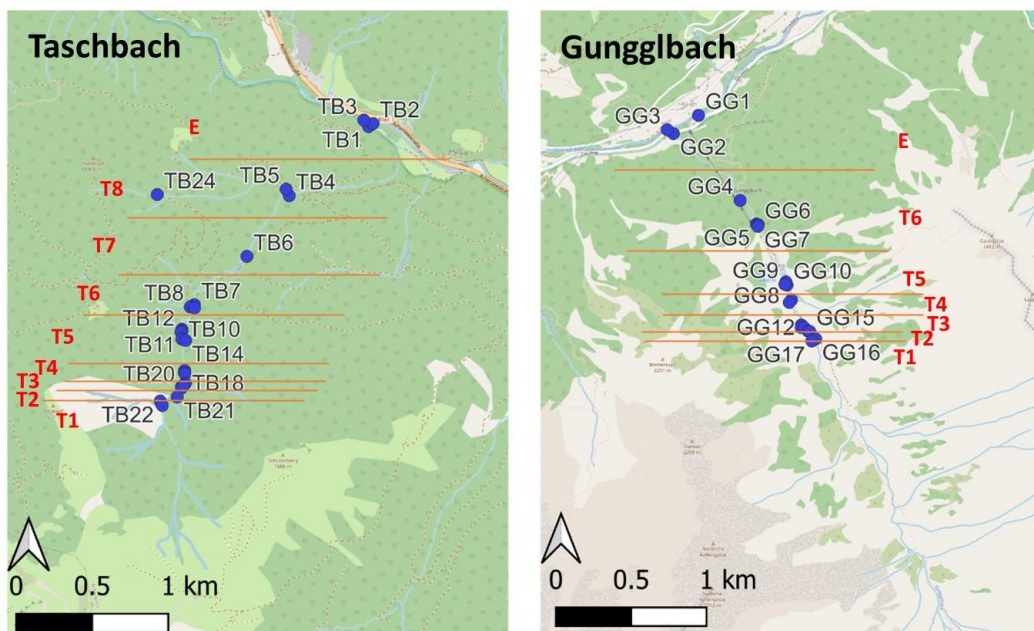


Abb. 4 und 5: Beprobungsstellen im Untersuchungsgebiet Taschbach (links) und Gunggl (rechts) mit den jeweiligen Beprobungstransekten für Taschbach (T1-T8, E) und Gunggl (T1-T6, E).

Die Beprobungspunkte wurden in Beprobungstransekte unterteilt (jede Zahl bezieht sich auf ein Gebiet, in dem das Wasser eines neuen Nebenflusses in den Hauptbach eintritt). Die Zahlen der Beprobungstransekte sind in aufsteigender Reihenfolge von der Quelle (T1, erster Nebenbach) bis zum Tal angeordnet (T6 für den Gungglbach und T8 für den Taschbach, die Mündung ist mit E gekennzeichnet).

Tabelle 1: Durchführung der aktiven Wasser-eDNA-Probenahme im Untersuchungsgebiet Gungglbach. Die Spalten stellen die Monate dar, in denen die Probenahmen durchgeführt wurden. Die Zeilen repräsentieren die Probenahme-Punkte (GG1–GG19). Nicht an allen ursprünglich vorgesehenen Probenahme-Punkten konnten durchgehend Proben gezogen werden. Im Mai und Juli 2023 wurde nur an zwei ausgewählten Probenahme-Punkten beprobt.

	2022						2023		
	May	June	July	August	September	October	April	May	July
GG1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
GG2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
GG3	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
GG4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
GG5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
GG6	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
GG7	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
GG8	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
GG9	✓	✓	✓	✓	✓		✓		
GG10	✓	✓	✓	✓	✓		✓		
GG11	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
GG12	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
GG13	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
GG14	✓	✓				✓			
GG15	✓	✓				✓			
GG16	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
GG17	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
GG18	✓								
GG19	✓								

Tabelle 2: Durchführung der aktiven Wasser-eDNA-Probenahme im Untersuchungsgebiet Taschbach. Die Spalten stellen die Monate dar, in denen die Probenahmen durchgeführt wurden. Die Zeilen repräsentieren die Probenahme-Punkte (TB1–TB25). Nicht an allen ursprünglich vorgesehenen Probenahme-Punkten konnten durchgehend Proben gezogen werden. Im Mai und Juli 2023 wurde nur an zwei ausgewählten Probenahme-Punkten beprobt.

	2022						2023		
	May	June	July	August	September	October	April	May	July
TB1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB3	✓	✓	✓		✓	✓	✓		
TB4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
TB5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB6	✓	✓	✓	✓	✓	✓			
TB7	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB8	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB9	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB10	✓	✓	✓	✓	✓				
TB11	✓	✓	✓	✓	✓				
TB12	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB13	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB14	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB15	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB16	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB17	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB18	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB19	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB20	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB21	✓	✓	✓		✓	✓	✓		
TB22	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
TB23	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
TB24			✓	✓					
TB25						✓			

7.2 Regensammler



Abb. 6: Regensammler.

Foto: Yannick Pütz/Julia Wagner

Mit dieser Methode sollte DNA von Arthropoden, die sich in der Kronenschicht von Bäumen befinden, gesammelt werden, um zusätzliche Information über die in den untersuchten Wäldern auftretenden Arthropoden zu gewinnen.

Zur Beprobung von Regenwasser, das durch die Baumkronen gefallen ist (*Canopy Sampling*), konnten zwischen 21.8. und 24.10. 2022 pro Gebiet sechs Proben gewonnen werden (21. August 2022 und 24. Oktober 2022 am GG-Standort; 22. August 2022 und 18. Oktober 2022 am TB-Standort).

Dazu wurden pro Gebiet und Termin je drei Regensammler (Abb. 6) direkt unter den Kronen verschiedener Baumarten (Fichte, Esche, Weide, Buche und Ahorn) an verschiedenen Stellen in den Untersuchungsgebieten aufgestellt (Abb. 7 und 8).

Die Regensammler bestehen aus einem Gerüst aus PVC-Rohren, das eine quadratische 1 x 1 m große Teichfolie 0.5 m über dem Boden aufspannt. In dieser Teichfolie sind Löcher als Überlauf integriert, damit sich nicht zu viel Wasser darin sammelt und die Folie dadurch reißt.

Am Tag nach den Regenereignissen wurden 0,9 bis 1,25 l des von den Regenfängern zurückgehaltenen Wassers direkt aus jedem Regenfänger gefiltert, wobei eine Vampir Sampler-Peristaltikpumpe (Buerkle) verwendet wurde. Die eDNA wurde mit Sylphium-eDNA-Filtern (PES, 0,8 µm Porengröße, 69 cm² steril, Groningen, NL) gesammelt. Nach der Filtration wurden 1,5 ml eines Konservierungs-/Lysepuffers (100 mM Tris-Base, 10 mM EDTA, 2 % SDS, 0,5 % Proteinase K, pH = 8, PanReac AppliChem) mit einer 3-ml-Spritze hinzugefügt. Die Filter wurden anschließend zur Universität transportiert und sofort bei 4 °C gelagert, bis Lyse und Extraktion durchgeführt werden konnten.

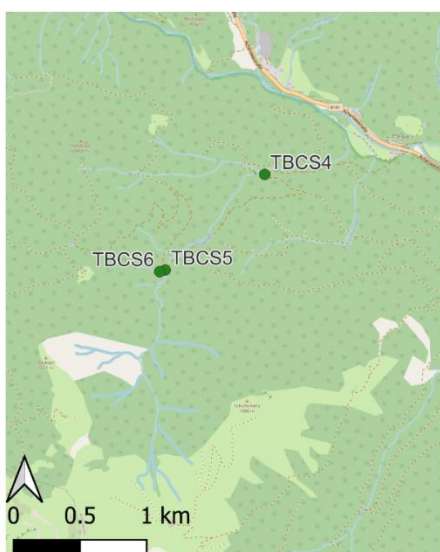


Abb. 7 und 8: Aufstellungsorte der Regensammler im Untersuchungsgebiet Taschbach (links) und Gunggl (rechts).

7.3 Streuproben



Abb. 7: Streuprobe im Whirl-Pak.
Foto: Yannick Pütz/Julia Wagner

An jedem Probenahmeort wurden 3 x 100 ml Proben in Abständen von 10 m entnommen und in einem Einweg-Plastikbeutel (Whirl-pak®, Filtration Group, Wisconsin, USA) gemischt, um eine Sammelprobe zu erstellen (Abb. 7). Diese wurde anschließend mit 300 ml Leitungswasser vermischt und gut geschüttelt. Das Wasser wurde dann in einen neuen sterilen Einweg-Plastikbeutel umgefüllt, um die Menge an Pflanzenmaterial in der Probe zu minimieren, und für kurze Zeit (5–10 Minuten) stehen gelassen, um Sedimente vor der Filtration zu reduzieren. Die Filter wurden wie bei den eDNA-Proben aus den Regensammlern (s.o.) verarbeitet, transportiert und

gelagert. Proben des für die Waschvorgänge verwendeten Wassers dienten als Negativkontrolle.

In jedem Gebiet wurden drei verschiedene Waldtypen sowohl im Sommer als auch im Herbst beprobt, was insgesamt 12 Proben ergab. Im Gungglbach (GG) wurden am 23. August 2022 und am 17. Oktober 2022 Proben aus einem Fichten-Tannen-Wald, einem Fichten-Birken-Eschen-Wald und einem Mischwald (Erle, Zirbelkiefer, Birke und Weide) entnommen. Im Taschbach (TB) wurden am 24. August 2022 und am 18. Oktober 2022 Proben aus einem Buchen-Ahorn-Wald, einem Buchen-Fichten-Wald und einem Buchenwald entnommen (Abb. 8 und 9).

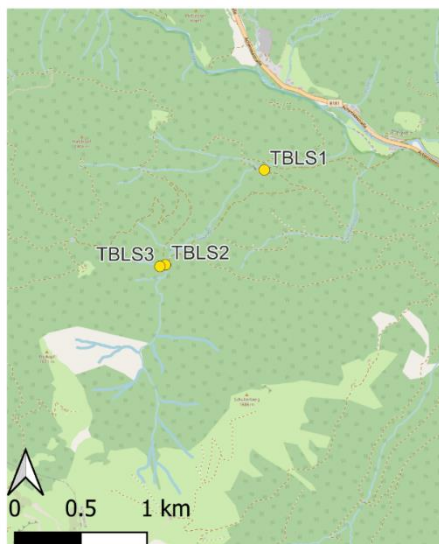


Abb. 8 und 9:
Beprobungsstandorte
der Streuproben im
Untersuchungsgebiet
Taschbach (links) und
Gunggl (rechts).

7.4 Totholzproben



Abb. 10: Beprobung von Totholz. Foto: Yannick Pütz/Julia Wagner

Zur Bestimmung der Biodiversität im Totholz wurden zwischen August und Oktober 2022 insgesamt 20 Proben genommen. An jedem Gebiet wählten wir fünf Stücke Totholz aus, sowohl liegende als auch stehende tote Bäume. Im Gungglbach (GG) wurden am 23. August 2022 1 Birke, 1 Esche, 1 nicht identifizierter Nadelbaum und 2 Fichten beprobt, und am 17. Oktober 2022 2 Birken, 2 Fichten und 1 nicht identifizierter Nadelbaum. Im Taschbach (TB) wurden am 24. August 2022 3 Buchen und 2 Fichten beprobt, und am 18. Oktober 2022 3 Buchen und 2 Fichten. Wir versuchten, dieselben Bäume sowohl im Sommer als auch im Herbst zu beproben, jedoch war dies aufgrund von Landschaftsveränderungen nicht immer möglich (Abb 11, 12). Die ausgewählten Bäume wiesen unterschiedliche Verfallsgrade auf, wie z. B. Spuren von Fraß durch Wirbellose, deren Kot sowie Pilzwachstum. Der Verfallsgrad wurde auf einer Skala von 1 (frisch, fast keine Zersetzung) bis 4 (starker Zersetzungsgrad) definiert.

Von jedem Baum entfernten wir Stücke von Rinde und Holz und wuschen diese mit 300 ml Leitungswasser unter Verwendung einer zuvor dekontaminierten Drucksprühflasche (Abb. 10). Das während des Waschens von Holz und Rinde abtropfende Wasser wurde in einem sterilen Einweg-Plastikbeutel (Whirl-pak®, Filtration Group, Wisconsin, USA) aufgefangen. Nach fünf Minuten Sedimentation wurde das Wasser (durchschnittlich 150 ml) direkt aus den Plastikbeuteln gefiltert, wobei darauf geachtet wurde, keine Organismen oder Sedimente in die Filter zu saugen. Die Filter wurden wie bei den eDNA-Proben aus den Regensammlern verarbeitet, transportiert und gelagert. Proben des für die Waschvorgänge verwendeten Wassers dienten als Negativkontrolle.

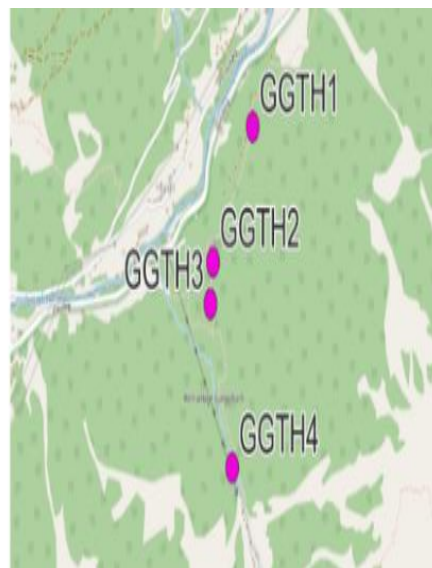


Abb. 11 und 12: Beprobungsstandorte der Totholzproben im Untersuchungsgebiet Taschbach (links) und Gunggl (rechts).

7.5 Bodenproben



Abb. 13: Gewinnung einer Bodenprobe. Foto: Yannick Pütz/Julia Wagner

Die Bodenprobenahme zur Untersuchung der Arthropoden- und Pilzvielfalt im Waldboden fand im Juni 2022 statt. Im Taschbach wurden 10 Punkte (BP1–BP10) und im Gungglbach 14 Punkte (BP11–BP24) beprobt (Abb. 14, 15).

Die Probenahme erfolgte in verschiedenen Waldtypen (Fichtenwald, Fichten-Tannen-Wald, Buchen-Tannen-Wald, Laubmischwald, Zirbelkieferwald und alpiner Wiese). Der Boden wurde mit der Bohrkernmethode (Durchmesser 10 cm) in einer Tiefe von 5–20 cm entnommen; das Gesamtgewicht jeder Probe betrug ca. 200–400 g (Abb. 8). Nach der Entnahme der Bodenkerne wurde das Equipment mit Bleichmittel gereinigt und anschließend mit Ethanol abgespült, um das Chlor zu entfernen. Die DNA-Extraktion erfolgte im Labor unter Verwendung eines Bodenkits.



Abb. 14 und 15: Beprobungsstandorte der Bodenproben im Untersuchungsgebiet Taschbach (links) und Gunggl (rechts).



8 DNA-Analysen

Alle molekularen Arbeiten wurden in einem Reinraumlabor von einem kommerziellen Anbieter (Sinsoma GmbH, Völs) durchgeführt.

8.1 DNA-Extraktion

Zunächst wurden die Filter für 2 Stunden in einem Inkubator bei 56 °C lysiert. Nach der ersten Inkubation wurde die Flüssigkeit mit einer Spritze aus jedem Filter zurückgewonnen (1,0–1,5 ml) und anschließend über Nacht bei 56 °C inkubiert. Das resultierende Lysat wurde entweder mit dem PowerSoil-DNA-Kit (QIAGEN) auf der Biosprint-96-Plattform (Boden-, Streu- und Totholzproben) oder mit dem Blood and Tissue-DNA-Kit (QIAGEN) auf der Biosprint-96-Plattform (Regensammler- sowie aktive Wasserproben) extrahiert. Dabei wurde ein benutzerdefiniertes DNA-Aufnahmeprotokoll verwendet, das die DNA aus bis zu 900 µl Lysat vor der Extraktion kombinierte. Die Protokolle wurden in beiden Fällen gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt, mit der Ausnahme, dass die Elution in 100 µl TE erfolgte. Jede 96-Well-Platte mit Extrakten enthielt zwei Extraktions-Negativkontrollen und alle resultierenden Eluate wurden bis zur weiteren Verarbeitung bei –28 °C gelagert.

8.2 DNA Metabarcoding

Alle Proben wurden einem zweistufigen PCR-Protokoll unterzogen: Die erste PCR diente der Amplifikation der Zielgene; die zweite PCR wurde verwendet, um die Produkte der ersten PCR zu indexieren.

Die Proben wurden mit drei verschiedenen PCR-Protokollen amplifiziert, die jeweils für unterschiedliche Zielorganismen ausgelegt waren. Alle verwendeten Primer, die Zielgene, die Amplicon-Längen und die Referenzen sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3: Primer, die für das Metabarcoding der verschiedenen Organismengruppen verwendet wurden. Angegeben sind die Bezeichnungen der Primer, ihre Sequenzen, die Veröffentlichungen, aus denen die Primer entnommen wurden, das amplifizierte Gen und die erwartete Fragmentlänge. Die Primer für die Vögel wurden aufgrund des geringen Nachweises von Vogel-DNA nur in der Vorstudie eingesetzt.

Target		Primer name	Primer sequence	source	gene	length (bp)
Fungi	For ('5-3')	Mixed ITS3-Mix 1-5	CAHCGATGAAGAACGCAG	Tedesoo et al., 2015	ITS2	250-400
			CATCGATGAAGAACGTRG			
	Rev ('5-3')	ITS4ngs	TCCTSCGCTTATTGATATGC			
Arthropods	For ('5-3')	fwhF2	NNNNNNGGDACWGGWTGAACWGTWTAYCCHCC	Vamos et al., 2017	COI	205
	Rev ('5-3')	fwhR2n	GTRATWGCHCCDGCTARWACWGG			
Birds	For ('5-3')	BirT-F	YGGTAAATCYTGTGCCAGC	Thalinger et al., 2023	12S	320
	Rev ('5-3')	BirT-R	AAGTCCTTAGAGTTTYAAGCGTT			
Plants	For ('5-3')	S1026 ITS-3p62pIF1	ACBTRGTGTGAATTGCAGRATC	Kolter et al., 2021	ITS2	343-431
	Rev ('5-3')	A1027 ITS-4unR1	TCCTCCGCTTATTKATATGC			

Die Thermocycling-Programme variierten je nach Zielorganismen:

- **Arthropoden:** Initiale Denaturierung für 15 Minuten bei 95 °C, 35 Zyklen mit 30 Sekunden Denaturierung bei 94 °C, 90 Sekunden Annealing bei 50 °C und 60 Sekunden Extension bei 72 °C, abschließende Elongation für 10 Minuten bei 72 °C.
- **Pflanzen:** Initiale Denaturierung für 15 Minuten bei 95 °C, 30 Zyklen mit 30 Sekunden Denaturierung bei 94 °C, 90 Sekunden Annealing bei 50 °C und 60 Sekunden Extension bei 72 °C, abschließende Elongation für 10 Minuten bei 72 °C.
- **Pilze:** Initiale Denaturierung für 15 Minuten bei 95 °C, 30 Zyklen mit 30 Sekunden Denaturierung bei 94 °C, 90 Sekunden Annealing bei 55 °C und 60 Sekunden Extension bei 72 °C, abschließende Elongation für 10 Minuten bei 72 °C.

8.3 Aufreinigung der PCR-Produkte

Um Primer-Dimere zu entfernen, wurden die PCR-Produkte mit selbst hergestellten SPRI-Magnetperlen (gemäß dem Protokoll von Rohland und Reich, 2012) auf der Biosprint-96-Plattform (QIAGEN) gereinigt.

8.4 Library-Prep

Nach dem ersten Reinigungsschritt wurden für alle Proben drei Libraries (jeweils eine pro Zielorganismengruppe) erstellt. Eine zweite PCR wurde verwendet, um einzigartige duale Indizes (kundspezifisch von Integrated DNA Technologies für Sinsoma produziert, unterschiedlich für jede Probe) und Nextera-Illumina-Sequenzieradapter anzubringen.

Die Bedingungen für die Index-PCR waren wie folgt: In einem Gesamtvolumen von 25 µl wurden 5 µl des gereinigten PCR-1-Produkts, 12,5 µl Multiplex-PCR-Master-Mix (Qiagen), 5 µl 10 µM UDI-Mix-Adapter, 1 µl 10 mg/ml BSA und 1,5 µl Wasser verwendet. Das Thermocycling-Programm begann mit einer initialen Denaturierung bei 95 °C für 15 Minuten, gefolgt von 15 Zyklen mit Denaturierung bei 94 °C für 30 Sekunden, Annealing bei 55 °C für 30 Sekunden und Extension bei 72 °C für 60 Sekunden, sowie einer abschließenden Elongation bei 72 °C für 10 Minuten.

8.5 Zweiter Reinigungsschritt

Schließlich wurden 25 µl jeder library ein zweites Mal mit selbst hergestellten SPRI-Magnetperlen im Verhältnis von x0,8 (Left-Side-Cleanup) gereinigt.

8.6 Pooling und Sequenzierung

Alle Proben wurden auf die gleiche Konzentration von 7 nmol/l verdünnt und anschließend mit gleichen Volumina (10 µl pro Probe) in zwei verschiedenen Bibliotheken für zwei Sequenzierläufe gepoolt, um die Kosten zu optimieren (Pflanzen + Pilze und Arthropoden). Feld-, Extraktions- und PCR-Negativkontrollen wurden in jeden Sequenzierlauf einbezogen, zusammen mit Positivkontrollen, die spezifisch für jeden Zielorganismus waren.

50 µl der finalen Pools wurden zur Sequenzierung an die VBCF Vienna BioCenter Core Facilities (Wien, Österreich) geschickt.

Die Proben wurden auf dem Illumina NextSeq2000-System (Illumina) mit P1-Chemie und 300 bp Paired-End-Reads (600 Zyklen) sequenziert. Es wurde eine erwartete Lesereichweite von 100–120 Millionen Reads pro Sequenzierlauf angegeben (125.000–150.000 Reads pro Probe und Zielorganismengruppe).

8.7 Bioinformatische Sequenzverarbeitung

Das Demultiplexing der Sequenzen wurde von der Next Generation Sequencing Facility am Vienna BioCenter Core Facilities (VBCF), Österreich, durchgeführt. Die Verarbeitung der Sequenzen erfolgte mit einer benutzerdefinierten Pipeline unter Verwendung von Linux-Bash sowie R Version 4.2.3 (<https://www.R-project.org/>) und R-Studio (<http://www.rstudio.com/>).

Zunächst wurden die Primer mit cutadapt (DOI:10.14806/ej.17.1.200) entfernt. Das Trimmen wurde für Paired-End-Reads durchgeführt, wobei eine Mindestlänge der resultierenden Read-Paare von 50 Nukleotiden festgelegt wurde. Sequenzen ohne Primer wurden verworfen. Für die übrigen Optionen wurden die Standardeinstellungen verwendet.

Die getrimmten Sequenzen wurden anschließend mit Usearch zusammengeführt (DOI:10.1093/bioinformatics/btq461). Die Filterkriterien wurden auf maximal acht Fehlanpassungen im Alignment (fastq_maxdiffs) sowie eine prozentuale Übereinstimmung des Alignments von 80 % festgelegt. Die übrigen Optionen blieben auf den Standardeinstellungen. Leere Sequenzen und Sequenzen ohne Partner wurden verworfen.

Die resultierenden zusammengeführten Sequenzen mit weniger als 100 Nukleotiden sowie Singletons wurden ebenfalls verworfen. Anschließend wurde eine *greedy centroid clustering* (cluster_smallmem) durchgeführt, erneut unter Verwendung von Usearch mit einem Identitätsschwellenwert von 0,99.

Die Cluster wurden mit der öffentlich verfügbaren Nukleotid-Datenbank des NCBI (Stand: Januar 2023) unter Verwendung von NCBI-blast+ verglichen, wobei die maximale Anzahl der Zielsequenzen auf 10 festgelegt wurde ([https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)).

Die Ergebnisse des Blast-Vergleichs werden im Folgenden als **Matches** bezeichnet.

8.8 Taxonomische Zuordnung

Die taxonomische Zuordnung für jeden Match wurde mit R (Paket taxonomizr, Scott Sherrill-Mix) und der lokal heruntergeladenen Taxonomiedatenbank des NCBI (Stand: Januar 2024) durchgeführt.

Matches, die keine Gattungszuordnung erreichten oder eine Identitätsübereinstimmung von weniger als 98 % aufwiesen, wurden verworfen. Für jede Zielgruppe wurde eine Mindestlänge der Sequenzen definiert und angewendet: Pilze 250 bp, Pflanzen 190 bp und Arthropoden 150 bp. Darüber hinaus wurden Matches mit den taxonomischen Informationen „*uncultured*“, „*synthetic construct*“, „*environmental sample*“ oder „*unidentified*“ ebenfalls entfernt. Treffer

aus den Gruppen Bakterien, Prokaryoten und Säugetiere, die nicht zu den Zielgruppen gehörten, wurden ebenfalls ausgeschlossen.

8.9 Auswahl des besten Matches

Zur Auswahl der am besten passenden Matches wurden folgende Schritte durchgeführt:

1. Wenn die Taxonomie aller Matches auf Artebene übereinstimmte, wurde die Zuordnung akzeptiert.
2. Wenn die Matches voneinander abwichen, wurde derjenige mit dem höchsten Prozentsatz an Identität (ID) akzeptiert.
3. Falls die Matches mit der höchsten ID auf Artebene uneindeutig blieben, wurde die Zuordnung auf Gattungsebene fortgesetzt.
4. Die taxonomische Zuordnung wurde akzeptiert, wenn sie auf Gattungsebene für alle Matches identisch war.

Wenn eine Zuordnung möglich war, wurde das Taxon auf Artebene als „Genus sp.“ angezeigt. Falls die Zuordnung weiterhin nicht möglich war, wurden die verbleibenden Matches in eine separate Datei verschoben und manuell auf Plausibilität überprüft.

8.10 Zusammenführung und Normalisierung

In einem letzten Schritt wurden Matches mit identischen taxonomischen Zuordnungen innerhalb der Proben zusammengeführt. OTU-Tabellen (Operational Taxonomic Units) wurden erstellt, wobei die Anzahl der Sequenzen auf die Gesamtanzahl jeder Probe normalisiert wurde (R-Paket `vegan`, Funktion `decostand`, Methode = „total“).

8.11 Vergleich mit GBIF-Daten

Die Zuordnungen in der OTU-Tabelle wurden anschließend mit den GBIF-Datensätzen (Global Biodiversity Information Facility) unter Verwendung des R-Pakets `rgbif` (<https://doi.org/10.5281/zenodo.6023735>) verglichen. Datensätze, die nicht im DACH-Raum (Deutschland, Österreich, Schweiz) verzeichnet waren, wurden von Experten manuell auf Plausibilität überprüft und gegebenenfalls ausgeschlossen.

8.12 Entfernung von Kontaminationen

Für Sequenzen, die in Feld-Negativkontrollen nachgewiesen wurden, wurde die gleiche Anzahl an Reads für jedes Taxon aus den entsprechenden Proben entfernt (z. B. wurde das für die Probenahme von Totholz und Laubstreu verwendete Leitungswasser als Negativkontrolle verwendet, und die resultierenden Sequenzen wurden nur aus den Totholz- und Laubstreuproben entfernt). Der gleiche Ansatz wurde für Negativkontrollen der Labor-Extraktion und PCR angewendet.



8.13 Zuordnung der Arthropoden und Pilze zu terrestrischen und aquatischen Taxa

Alle nachgewiesenen Taxa wurden für die Arthropoden, Pilzen und Pflanzen hinsichtlich ihrer Lebensweise in aquatisch, terrestrisch und unklassifizierbar eingeteilt. Als aquatisch wurden Gattungen bzw. Familien klassifiziert, wenn sie den Großteil ihres Lebenszyklus im Wasser verbringen, während terrestrische Gattungen bzw. Familien ihren gesamten Lebenszyklus in terrestrischen Habitaten durchlaufen. Bei den Gniten (*Ceratopogonidae*) war eine derartige Einteilung nicht möglich, da es hier Arten gibt, deren Larven sich entweder aquatisch oder in terrestrischen Lebensräumen entwickeln.

Diese Einteilung erfolgte bei den Arthropoden und Pflanzen aufgrund der vorhandenen Fachliteratur und bei den Pilzen unter Zuhilfenahme der Datenbank „FungalTraits“ (Pölme et al. 2021).

9 Statistische Analysen

Die biologische Vielfalt der Zielgemeinschaften wurde anhand von zwei Parametern bewertet: dem Artenreichtum und dem Shannon-Diversitätsindex.

Der Artenreichtum wurde für jede Probe mit der Funktion „specnumber“ aus dem Paket „vegan 2.6-4“ (Oksanen 2022) berechnet. Der Shannon-Diversitätsindex wurde für jede Probe mit der Funktion `diversity(index = „shannon“)` des `vegan`-Pakets berechnet.

Statistische Analysen wurden in R (4.2.1 (R Core Team 2021)) durchgeführt. Verallgemeinerte lineare Modelle (GLMs) wurden angepasst, um auf Unterschiede im Artenreichtum und im Shannon-Diversitätsindex bei verschiedenen Umweltfaktoren zu testen. Für die Zählraten (Artenreichtum) wurde eine Poisson-Verteilung verwendet, wobei die Überdispersion mittels eines Dispersionstests bewertet wurde. Wurde eine Überdispersion festgestellt, wurde stattdessen eine Negativ-Binomial-Verteilung verwendet. Zur Bewertung der Signifikanz der Faktoren wurden Likelihood-Ratio-Tests vom Typ III verwendet, und es wurden paarweise Tukey-bereinigte Post-Hoc-Vergleiche mit dem Paket „emmeans“ (Lenth 2025) durchgeführt.

Für kontinuierliche Diversitätsdaten wurde je nach Datenmerkmalen entweder eine Gamma- oder eine Tweedie-Verteilung (aus den Daten geschätzter Leistungsparameter) verwendet. Tweedie-Modelle wurden mit dem Paket „glmmTMB“ (Brooks 2017) angepasst, wobei die Residualdiagnose mit dem Paket „DHARMA“ (Hartig 2024) durchgeführt wurde, um die Modellanpassung und -streuung zu bewerten. Typ-III-Wald-Chi-Quadrat-Tests wurden verwendet, um die Signifikanz der Faktoren zu bewerten, und Tukey-bereinigte paarweise Post-Hoc-Vergleiche wurden mit dem „emmeans“-Paket (Lenth 2025) durchgeführt. Für beide Diversitätsmaße wurden die Ergebnisse mithilfe von Boxplots in Kombination mit ge jitterten Datenpunkten zur Anzeige einzelner Stichprobenwerte visualisiert (Pakete „ggplot2“ (Wickham 2016), „dplyr“ (Wickham 2022), „ggrepel“ (Slowikowski 2021) und „ggpubr“ (Kassambara 2020)).



10 Ergebnisse und Diskussion

10.1 Nachweis von Arthropoden-eDNA

In beiden Untersuchungsgebieten wurden in den verschiedenen Probenotypen deutlich unterschiedliche Anteile an terrestrischen und aquatischen Arthropoden-Taxa nachgewiesen (Abb. 16). Wie zu erwarten, war der Großteil der detektierten Taxa in den Probenotypen Regensammler, Totholz, Streu und Boden (2-17%) als terrestrisch einzustufen, während in den Wasserproben der Anteil an aquatischen Arten deutlich höher lag (32-39%). Der Nachweis von aquatischen Arten in den Regensammlerproben und manchen Streu- und Totholzproben lässt sich durch die terrestrische Lebensweise von adulten Stadien dieser als grundsätzlich aquatisch eingeteilten Taxa erklären.

Die unterschiedliche Anzahl der nachgewiesenen Taxa zwischen den Probenotypen erklärt sich vorrangig durch die stark unterschiedliche Anzahl an Einzelproben, die genommen wurden. Bei den Regensammlern, Totholz, Streu und Boden wurden zwischen 6 und 14 Proben pro Untersuchungsgebiet genommen. Bei den Wasserproben lag die Probenzahl zwischen 114 (Gunggl) und 162 (Taschbach) Proben: Insgesamt konnten darin im Untersuchungsgebiet Gunggl 331 verschiedene Arthropodentaxa detektiert werden, während im Untersuchungsgebiet Taschenbachtal 759 Arthropodentaxa nachgewiesen wurden.

Im Folgenden werden vorrangig die Ergebnisse der Wasserproben für beide Untersuchungsgebiete detailliert vorgestellt und besprochen, da diese den Projektschwerpunkt bildeten.

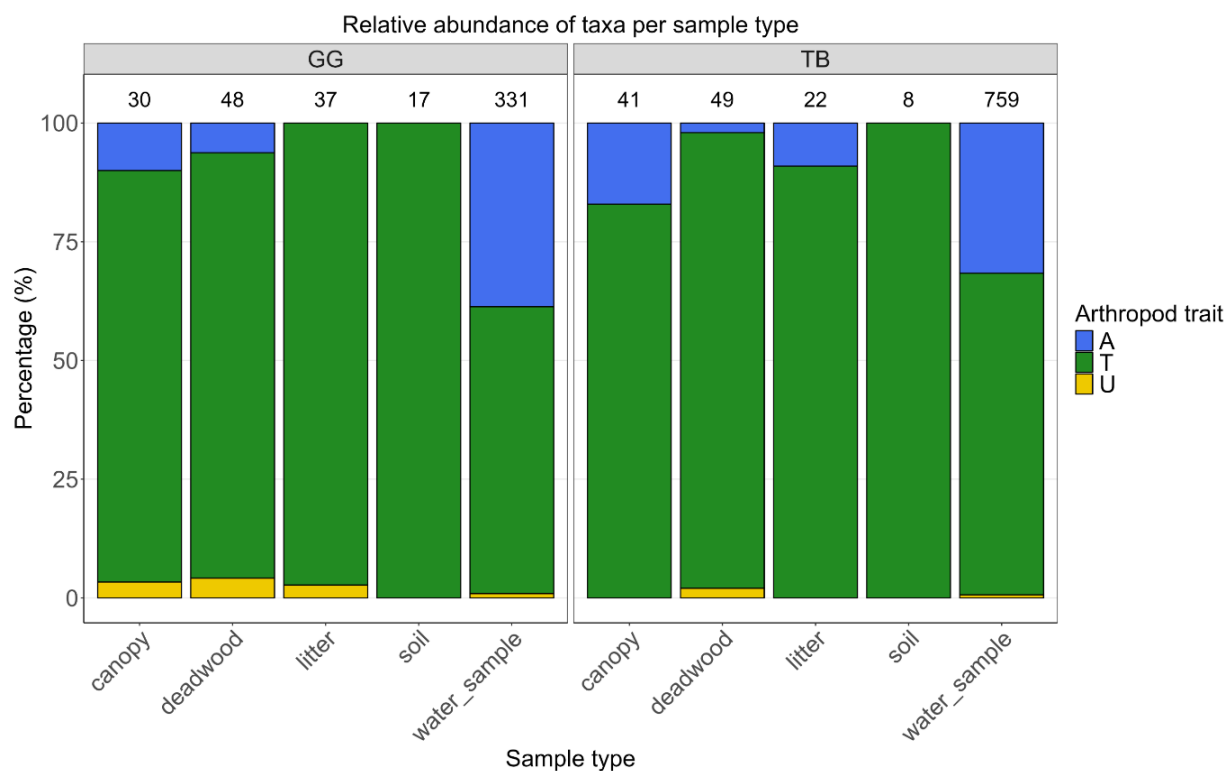


Abb. 16: Relativer Anteil der aquatischen, terrestrischen und unklassifizierbaren Taxa für die Untersuchungsgebiete Gunggl (GG) und Taschbach (TB). Aquatische Taxa sind blau, terrestrische Taxa grün und unklassifizierbare Taxa gelb dargestellt. Probenotypen: canopy = Regensammler, deadwood = Totholz, litter = Streu, soil = Boden, water_sample = Wasserfilterprobe

10.1.1 Nachweis von Arthropoden-eDNA im Untersuchungsgebiet Gunggl

Im Untersuchungsgebiet Gunggl wurden in den Wasserproben insgesamt 128 Arten an primär aquatischen Arthropoden entdeckt. Diese verteilen sich auf 62 Gattungen, 22 Familien und 8 Ordnungen. Bei den terrestrischen Arthropoden war die Vielfalt noch größer: Hier konnten 200 Arten identifiziert werden, die 165 Gattungen, 78 Familien und 22 Ordnungen angehören. Deutlich weniger Ordnungen an terrestrischen oder unklassifizierbaren Ordnungen konnten in den anderen Probenotypen festgestellt werden (Abb 17). Eine detaillierte Übersicht zu den nachgewiesenen Taxa ist in Appendix Tabelle AT-GG-A und AT-GG-T zu finden.

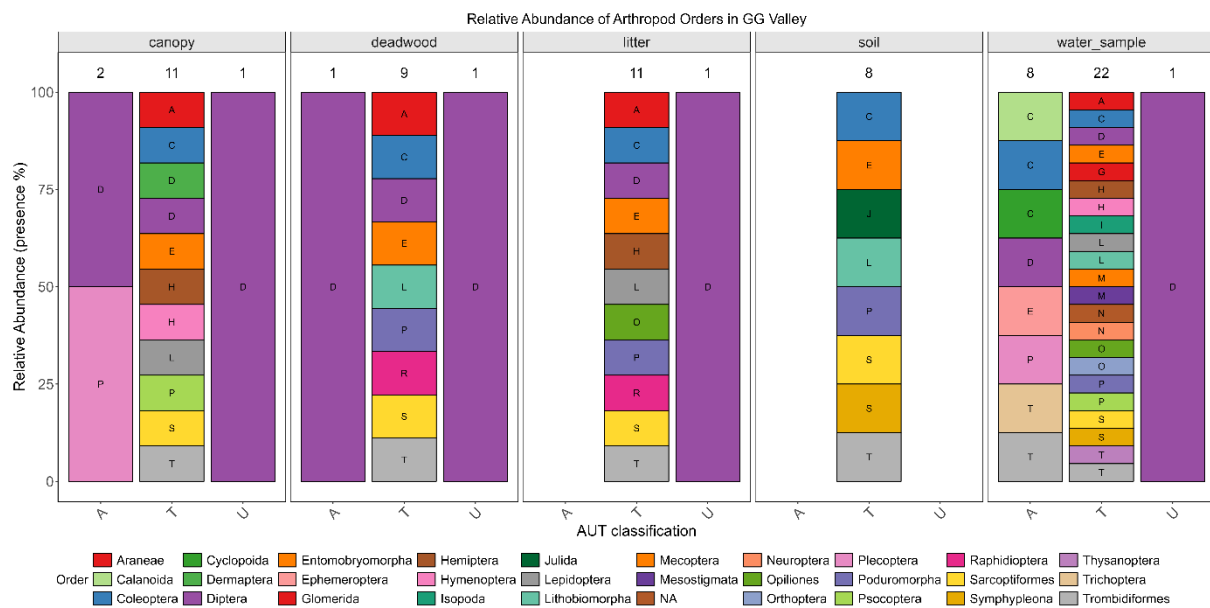


Abb. 17: Anzahl der nachgewiesenen Ordnungen von aquatischen (A), terrestrischen (T) und unklassifizierbaren (U) Arthropoden in den verschiedenen Probenotypen für das Untersuchungsgebiet Gunggl. Die Gesamtzahl der Ordnungen ist jeweils über der entsprechenden Säule angegeben. Probenotypen: canopy = Regensammler, deadwood = Totholz, litter = Streu, soil = Boden, water_sample = Wasserfilterprobe

Nachweis von eDNA aquatischer Arthropoden in den Wasserproben

Bei den aquatischen Arthropoden wurde die größte Artenvielfalt in den Ordnungen der Zweiflügler (Diptera), Eintagsfliegen (Ephemeroptera), Steinfliegen (Plecoptera) und Köcherfliegen (Trichoptera) detektiert.

Bei den Zweiflüglern dominierten die Zuckmücken (Chironomidae) mit 21 nachgewiesenen Gattungen. Zusätzlich wurden auch Stechmücken (Culicidae, 2 Gattungen), Kriebelmücken (Simuliidae, 2 Gattungen) und Dunkelmücken (Thaumaleidae, 1 Gattung) identifiziert.

Die Eintagsfliegen (Ephemeroptera) waren mit 4 Gattungen aus 2 Familien vertreten. Unter den Steinfliegen (Plecoptera) konnten 11 Gattungen aus 4 Familien nachgewiesen werden, während bei den Köcherfliegen (Trichoptera) 7 Gattungen aus 3 Familien identifiziert wurden.

Darüber hinaus wurde eDNA von Wasserkäfern aus drei Familien (Elmidae, Hydraenidae, Hydrophilidae) sowie von Wassermilben (Sperchontidae) nachgewiesen. Unter den Krebstieren konnten Hüpferlinge (Cyclopoida) und Ruderfußkrebse (Calanoida) detektiert werden.

Die jeweiligen Arten wurden durchschnittlich in 7,5 Proben ($\pm 10,6$ SD) festgestellt. Die durchschnittliche Sequenzzahl des jeweiligen Taxons lag bei 6.667,6 Sequenzen ($\pm 25,313,8$ SD) pro Probe. Eine detaillierte Übersicht zu den nachgewiesenen Taxa ist in Appendix Tabelle GG-A zu finden.

Einige Taxa konnten mit besonders hohen Sequenzzahlen nachgewiesen werden, was ihre Dominanz und ökologische Bedeutung in den untersuchten aquatischen Lebensräumen unterstreicht. Besonders auffällig war die hohe Präsenz der eDNA von Zweiflüglern (Diptera), insbesondere aus der Familie der Zuckmücken (Chironomidae). Die Art *Diamesa tonsa* zeigte mit 107.943 Sequenzen aus 32 Proben die höchste Sequenzzahl unter allen nachgewiesenen Taxa. Auch die Gattung *Diamesa* sp. war mit 176.515 Sequenzen aus 33 Proben außergewöhnlich häufig vertreten. Weitere häufig nachgewiesene Arten innerhalb der Chironomidae waren *Orthocladus frigidus* mit 121.086 Sequenzen aus 39 Proben und *Pseudodiamesa branickii* mit 79.056 Sequenzen aus 10 Proben. Diese Arten sind typische Bewohner kühler, sauerstoffreicher Fließgewässer und spielen eine zentrale Rolle in diesen Ökosystemen.

Auch die Kriebelmücken (Simuliidae) zeigten eine hohe Sequenzzahl. Besonders häufig war *Simulium monticola*, die mit 71.438 Sequenzen aus 6 Proben nachgewiesen wurde. Die Gattung *Simulium* sp. war ebenfalls stark vertreten und erreichte 18.384 Sequenzen aus 12 Proben.

Unter den Eintagsfliegen (Ephemeroptera) war die Familie Baetidae besonders häufig. Die Art *Baetis rhodani* zeigte mit 119.697 Sequenzen aus 17 Proben eine der höchsten Sequenzzahlen im gesamten Datensatz. Auch *Baetis alpinus* war mit 30.779 Sequenzen aus 79 Proben stark vertreten. Diese Arten sind typische Bewohner von Fließgewässern und gelten als wichtige Indikatoren für eine hohe Wasserqualität.

Bei den Steinfliegen (Plecoptera) war die Familie Nemouridae besonders auffällig. Die Art *Nemoura sinuata* erreichte 50.041 Sequenzen aus 6 Probe und auch *Protonemura lateralis* zeigte mit 21.332 Sequenzen aus 28 Proben eine hohe Präsenz.

Die Köcherfliegen (Trichoptera) waren ebenfalls gut vertreten, insbesondere die Art *Acrophylax zerberus* aus der Familie Limnephilidae, die mit 13.581 Sequenzen aus 22 Proben nachgewiesen wurde.

Zusammenfassend zeigt die Analyse der Sequenzdaten, dass insbesondere Zuckmücken (Chironomidae), Kriebelmücken (Simuliidae), Eintagsfliegen (Ephemeroptera), Steinfliegen (Plecoptera) und Köcherfliegen (Trichoptera) mit hohen Sequenzzahlen nachgewiesen werden konnten.

Ökologische Bewertung der nachgewiesenen aquatischen Taxa

Die im Rahmen des Projekts nachgewiesenen Arten sind typische Bewohner von Gewässern, die durch Wälder fließen, und spiegeln die besonderen ökologischen Bedingungen solcher Lebensräume wider. Waldgewässer zeichnen sich durch kühle Temperaturen, eine gute Sauerstoffversorgung, eine hohe Strukturvielfalt und den ständigen Eintrag von organischem Material wie Laub und Holz aus.

Unter den Spinnentieren wurde die Wassermilbe *Sperchon thienemanni* (Sperchontidae) identifiziert, die häufig in sauerstoffreichen Fließgewässern vorkommt und eine wichtige Rolle im Nahrungsnetz spielt. Auch die nachgewiesenen Krebstiere, wie *Acanthodiptomus denticornis* (Diaptomidae) und *Acanthocyclops vernalis* (Cyclopidae), sind typische Bewohner von stehenden oder langsam fließenden Bereichen in Waldgewässern. Sie ernähren sich von Phytoplankton und Detritus und tragen zur Nährstoffdynamik bei.

Die Käferarten *Elmis latreillei* (Elmidae), *Ochthebius granulatus* (Hydraenidae) und *Sphaeridium scarabaeoides* (Hydrophilidae) sind eng an Fließgewässer gebunden. Sie besiedeln häufig Totholz, Steine oder Sedimente und sind an die Zersetzung von organischem Material angepasst, das aus den umliegenden Wäldern in die Gewässer eingetragen wird.

Besonders artenreich waren die Zweiflügler (Diptera), darunter zahlreiche Zuckmücken (Chironomidae) wie *Diamesa bertrami* und *Micropsectra atrofasciata*. Diese Arten sind typisch für kühle, sauerstoffreiche Fließgewässer und spielen eine wichtige Rolle bei der Verarbeitung von organischem Material wie Laub und Detritus. Auch Kriebelmücken (Simuliidae) wie *Simulium carthusiense* und *Simulium monticola* sowie Stechmücken (Culicidae) wie *Aedes japonicus* wurden nachgewiesen. Letztere sind eher in stehenden oder langsam fließenden Bereichen zu finden, die in bewaldeten Gewässern häufig in Uferzonen oder Rückstaubereichen vorkommen.

Die Eintagsfliegen (Ephemeroptera) waren mit Arten wie *Baetis alpinus* (Baetidae) und *Rhithrogena hybrida* (Heptageniidae) vertreten. Diese Arten bevorzugen kühle, sauerstoffreiche Fließgewässer und ernähren sich von Algen und Detritus, die auf Steinen und anderen Substraten wachsen. Ihre Präsenz zeigt, dass die untersuchten Gewässer eine hohe Wasserqualität aufweisen, da viele Eintagsfliegenarten empfindlich auf Verschmutzungen reagieren.

Auch die Steinfliegen (Plecoptera) zeigten eine hohe Diversität. Arten wie *Leuctra nigra* (Leuctridae) und *Protonemura intricata* (Nemouridae) sind typische Indikatoren für saubere, kühle Fließgewässer. Sie ernähren sich von organischem Material wie Laub und tragen zur Zersetzung und zum Nährstoffkreislauf bei.

Die Köcherfliegen (Trichoptera) waren ebenfalls gut vertreten, mit Arten wie *Drusus biguttatus* (Limnephilidae) und *Rhyacophila torrentium* (Rhyacophilidae). Viele Köcherfliegenarten bauen Köcher aus organischem Material oder Steinen und sind an die Verarbeitung von Laub und Detritus angepasst. Andere, wie *Rhyacophila torrentium*, sind räuberisch und spielen eine wichtige Rolle im Nahrungsnetz.

Zusammenfassend zeigt die Vielfalt der nachgewiesenen aquatischen Arthropoden, dass die Waldgewässer der Gunggl eine hohe ökologische Qualität aufweisen.

Nachweis von eDNA terrestrischer Arthropoden in den Wasserproben

Unter den terrestrischen Arthropoden wurden Vertreter aus den Gruppen der Spinnentiere (Arachnida), Asseln (Isopoda), Hundertfüßer (Chilopoda), Doppelfüßer (Diplopoda), Beintastler (Protura), Springschwänze (Collembola) und Insekten (Insecta) nachgewiesen. Wie erwartet, war die nachgewiesene Artenvielfalt bei den Insekten am größten.

Bei den Spinnentieren wurden unter den Webspinnen (Araneae) Vertreter aus zwei Familien identifiziert. Bei den Weberknechten (Opiliones) konnte eine Art nachgewiesen werden, während bei den Milben (Acari) Vertreter aus drei verschiedenen Familien detektiert wurden.

Bei den Hundertfüßern (Chilopoda) wurden zwei Arten nachgewiesen, während bei den Doppelfüßern (Diplopoda), Asseln (Isopoda) und Beintastlern (Protura) nur jeweils eine Art identifiziert werden konnte.

Die Springschwänze (Collembola) waren mit insgesamt 13 Arten vertreten, deren Umwelt-DNA nachgewiesen werden konnte. Unter den Insekten (Insecta) wurde mittels Umwelt-DNA unter den Käfern (Coleoptera) 38 Arten aus 11 Familien identifiziert. Besonders artenreich waren die Zweiflügler (Diptera), bei denen 78 Arten aus 22 Familien mittels Umwelt-DNA nachgewiesen wurden. Die Schnabelkerfe (Hemiptera) waren mit 24 Arten aus 8 Familien vertreten, während bei den Hautflüglern (Hymenoptera) 13 Arten aus 5 Familien detektiert werden konnten.

Auch bei den Schmetterlingen (Lepidoptera) wurden 8 Arten aus 6 Familien nachgewiesen. Jeweils eine Art konnte bei den Schnabelfliegen (Mecoptera) und Netzflüglern (Neuroptera) identifiziert werden. Die Heuschrecken (Orthoptera) waren mit 4 Arten vertreten, während die Staubläuse (Psocoptera) 5 Arten aus 3 Familien umfassten. Bei den Thripsen (Thysanoptera) wurde eine Art nachgewiesen.

Die jeweiligen Arten wurden durchschnittlich in 1,8 Proben ($\pm 2,2$ SD) festgestellt. Die durchschnittliche Sequenzzahl des jeweiligen Taxons lag bei 450,1 Sequenzen ($\pm 3616,5$ SD) pro Probe. Eine detaillierte Übersicht zu den nachgewiesenen Taxa ist in Appendix Tabelle GG-T zu finden.

Ökologische Bewertung der nachgewiesenen terrestrischen Taxa

Die nachgewiesenen Arten besiedeln eine Vielzahl von Mikrohabitaten wie Bodenstreu, Totholz, Baumrinde oder die Vegetation und spielen eine zentrale Rolle in den ökologischen Prozessen des Waldes. Unter den Spinnentieren (Arachnida) wurden beispielsweise Webspinnen wie *Centromerus sylvaticus* und *Porrhomma convexum* (Linyphiidae) nachgewiesen, die häufig in der Bodenstreu oder in der Nähe von Totholz vorkommen. Auch Weberknechte wie *Leiobunum limbatum* (Leiobunidae) und Milbenarten wie *Platynothrus peltifer* (Camisiidae) oder *Trombidium holosericeum* (Trombidiidae) sind typische Bewohner von Wäldern, wo sie eine wichtige Rolle im Abbau organischer Substanzen spielen.

Die Hundertfüßer (Chilopoda) und Doppelfüßer (Diplopoda) sind ebenfalls charakteristische Bodenbewohner in Wäldern. Arten wie *Lithobius pelidnus* und *Lithobius tricuspis* (Lithobiidae) sowie *Glomeris tetrasticha* (Glomeridae) bevorzugen feuchte, schattige Lebensräume und tragen zur Zersetzung von organischem Material bei.

Springschwänze (Collembola) wie *Entomobrya nivalis* (Entomobryidae) oder *Ceratophysella denticulata* (Hypogastruridae) sind in der Bodenstreu weit verbreitet. Sie spielen eine wichtige Rolle im Nährstoffkreislauf, indem sie organisches Material zersetzen und den Boden belüften.

Auch unter den Käfern (Coleoptera) wurden zahlreiche walddtypische Arten nachgewiesen. Dazu gehören beispielsweise *Carabus sp.* (Carabidae), *Helophorus glacialis* (Helophoridae) und *Melolontha melolontha* (Scarabaeidae), die in der Bodenstreu, auf Totholz oder in der Vegetation vorkommen. Diese Arten erfüllen verschiedene ökologische Funktionen, wie die Zersetzung organischer Substanzen oder die Kontrolle von Schädlingen.

Die Zweiflügler (Diptera) waren mit der größten Artenvielfalt unter den Insekten vertreten, darunter Arten wie *Empis lucida* (Empididae) und *Eristalis tenax* (Syrphidae), die häufig in feuchten Bereichen oder in der Nähe von Totholz anzutreffen sind. Viele dieser Arten sind Bestäuber oder sind am Abbau organischer Substanzen beteiligt.

Unter den Schnabelkerfen (Hemiptera) wurden Arten wie *Aphis sambuci* (Aphididae) und *Leptopterna dolabrata* (Miridae) nachgewiesen, die an Bäumen und Sträuchern in Wäldern leben. Die Hautflügler (Hymenoptera) waren mit Arten wie *Formica lugubris* (Formicidae) und *Apis mellifera* (Apidae) vertreten. Auch Schmetterlinge (Lepidoptera) wie *Phalera bucephala* (Notodontidae) und *Nymphalis urticae* (Nymphalidae) wurden nachgewiesen.

Netzflügler (Neuroptera) wie *Coniopteryx pygmaea* (Coniopterygidae) sind typische Räuber kleiner Insekten und tragen zum ökologischen Gleichgewicht in Wäldern bei. Heuschrecken (Orthoptera) wie *Miramella alpina* (Acrididae) sind häufig in Waldlichtungen oder an Waldrändern zu finden und dienen als Indikatoren für die Habitatqualität. Staubläuse (Psocoptera) wie *Graphopsocus cruciatus* (Stenopsocidae) und Tripse (Thysanoptera) wie *Anaphothrips obscurus* (Thripidae) sind ebenfalls typische Bewohner von Wäldern. Sie ernähren sich von Pilzen, Algen und organischen Rückständen. Schließlich wurde auch die Asselart *Hyloniscus riparius* (Trichoniscidae) nachgewiesen, ein charakteristischer Bewohner der Bodenstreu, der zur Zersetzung von organischem Material beiträgt.

Zusammenfassend spiegeln die nachgewiesenen Arten die hohe Biodiversität und funktionale Vielfalt des Waldökosystems im Untersuchungsgebiet Gunggl wider.

10.1.2 Nachweis von Arthropoden-eDNA Im Untersuchungsgebiet Taschbach

Im Untersuchungsgebiet Taschbach zeigte sich eine noch höhere Artenvielfalt. In den Wasserproben wurden 240 Arten aquatischer Arthropoden nachgewiesen, die aus 120 Gattungen, 48 Familien und 13 Ordnungen stammen. Die terrestrischen Arthropoden waren hier besonders artenreich: Insgesamt wurden 514 Arten erfasst, die 352 Gattungen, 151 Familien und 25 Ordnungen zugeordnet werden konnten. Deutlich weniger Ordnungen an terrestrischen oder unklassifizierbaren Ordnungen konnten in den anderen Probenotypen festgestellt werden (Abb. 18).

Eine detaillierte Übersicht zu den nachgewiesenen Taxa ist in Appendix Tabelle AT-TB-A und AT-TB-T zu finden.

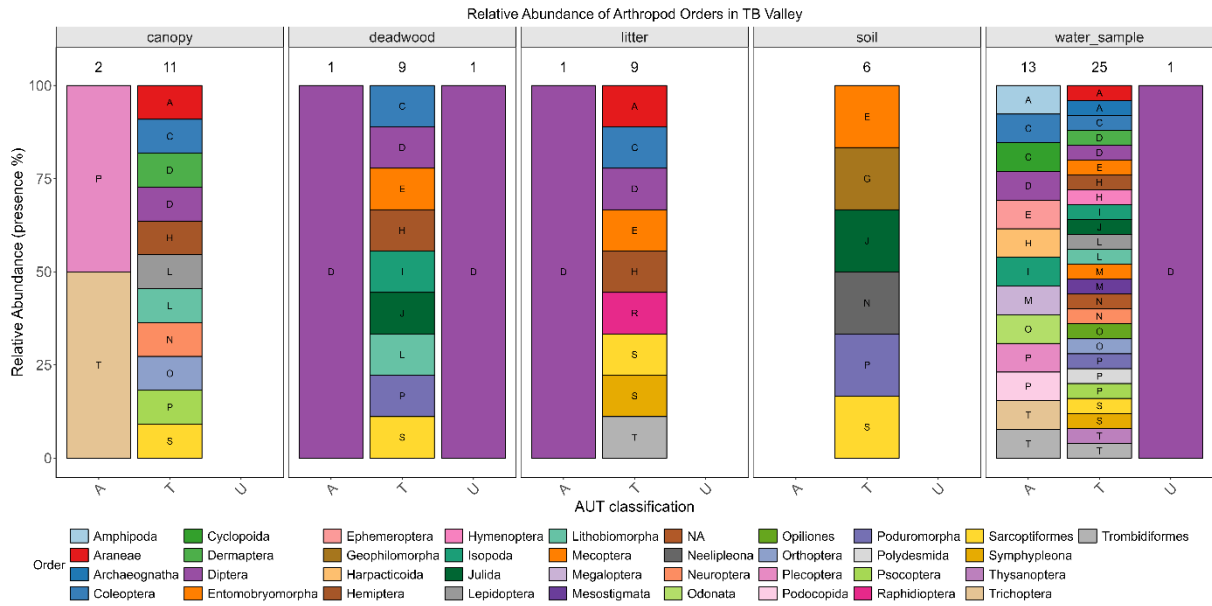


Abb. 18: Anzahl der nachgewiesenen Ordnungen von aquatischen (A), terrestrischen (T) und unklassifizierbaren (U) Arthropoden in den verschiedenen Probenotypen für das Untersuchungsgebiet Taschbach. Die Gesamtzahl der Ordnungen ist jeweils über der entsprechenden Säule angegeben. Probenotypen: canopy = Regensammler, deadwood = Totholz, litter = Streu, soil = Boden, water_sample = Wasserfilterprobe

Nachweis von eDNA aquatischer Arthropoden in den Wasserproben

Es konnte eDNA von insgesamt 12 Ordnungen aus verschiedenen taxonomischen Gruppen in den Wasserproben nachgewiesen. Unter den Spinnentieren (Arachnida) wurde die Ordnung der Milbenartigen (Trombidiformes) mit zwei Arten aus zwei Familien identifiziert. Bei den Krebstieren (Hexanauplia) waren die Ruderfußkrebse (Cyclopoida) mit zwei Arten aus einer Familie und die Ruderfußkrebse (Harpacticoida) mit einer Art aus einer Familie vertreten.

Die Insekten (Insecta) zeigten eine besonders hohe Diversität. Die Käfer (Coleoptera) waren mit 28 Arten aus neun Familien vertreten, während die Zweiflügler (Diptera) mit 67 Arten aus 15 Familien die artenreichste Ordnung darstellten. Auch die Eintagsfliegen (Ephemeroptera) wiesen mit 27 Arten aus fünf Familien eine hohe Vielfalt auf. Die Steinfliegen (Plecoptera) und Köcherfliegen (Trichoptera) waren ebenfalls stark vertreten, mit 48 bzw. 52 Arten aus sieben bzw. zwölf Familien.

Darüber hinaus wurden auch Vertreter der Schlammfliegen (Megaloptera) und der Libellen (Odonata) nachgewiesen, jeweils mit einer Art aus einer Familie. Bei den höheren Krebsen (Malacostraca) waren die Flohkrebse (Amphipoda) und die Asseln (Isopoda) mit jeweils einer Art aus einer Familie vertreten. Schließlich wurden auch Muschelkrebse (Ostracoda) aus der Ordnung Podocopida mit einer Art aus einer Familie mittels eDNA identifiziert.

Die jeweiligen Arten wurden durchschnittlich in 15,4 Proben ($\pm 23,7$ SD) festgestellt. Die durchschnittliche Sequenzzahl lag bei 13.497,3 Sequenzen ($\pm 72,072,9$ SD) pro Probe. Eine detaillierte Übersicht zu den nachgewiesenen Taxa ist in Appendix Tabelle GG-A zu finden.

Einige Taxa konnten mit besonders hohen Sequenzzahlen nachgewiesen werden: Unter den Eintagsfliegen (Ephemeroptera) zeigte die Art *Baetis alpinus* (Baetidae) mit 938.997 Sequenzen aus 127 Proben die höchste Sequenzzahl aller nachgewiesenen Taxa. Diese Art ist ein typischer Bewohner von Fließgewässern und ein wichtiger Indikator für eine hohe Wasserqualität. Auch *Baetis rhodani* war mit 374.021 Sequenzen aus 61 Proben stark vertreten, während die Gattung *Takobia sp.* mit 186.504 Sequenzen aus 71 Proben ebenfalls eine hohe Präsenz zeigte.

Die Zweiflügler (Diptera) waren ebenfalls stark vertreten, insbesondere die Familie der Zuckmücken (Chironomidae). Hier zeigte *Corynoneura lobata* mit 83.835 Sequenzen aus 44 Proben eine außergewöhnlich hohe Präsenz. Auch *Orthocladius frigidus* erreichte mit 220.442 Sequenzen aus 18 Proben eine hohe Sequenzzahl. Weitere häufig nachgewiesene Arten waren *Parametriocnemus stylatus* mit 67.319 Sequenzen aus 49 Proben und *Micropsectra pallidula* mit 10.132 Sequenzen aus 67 Proben. Innerhalb der Familie der Kriebelmücken (Simuliidae) war *Prosimulium rufipes* mit 35.619 Sequenzen aus 42 Proben die häufigste Art, gefolgt von *Prosimulium hirtipes* mit 20.564 Sequenzen aus 44 Proben. Auch die Gattung *Simulium sp.* zeigte mit 10.672 Sequenzen aus 37 Proben eine hohe Präsenz.

Die Steinfliegen (Plecoptera) zeigten ebenfalls eine hohe Sequenzzahl, insbesondere innerhalb der Familie Nemouridae. Die Art *Nemoura minima* erreichte 340.715 Sequenzen aus 126 Proben und war damit die häufigste Steinfliegenart. Auch *Protonemura lateralis* zeigte mit 142.255 Sequenzen aus 48 Proben eine hohe Präsenz, gefolgt von *Protonemura nimborum* mit 88.785 Sequenzen aus 41 Proben. Innerhalb der Familie Leuctridae war *Leuctra albida* mit 72.764 Sequenzen aus 28 Proben die häufigste Art, während *Leuctra cingulata* mit 69.323 Sequenzen aus 61 Proben und *Leuctra aurita* mit 39.276 Sequenzen aus 74 Proben ebenfalls stark vertreten waren.

Auch die Köcherfliegen (Trichoptera) konnten oftmals mit eDNA nachgewiesen werden. Besonders auffällig war *Philopotamus sp.* (Philopotamidae) mit 3.288 Sequenzen aus 53 Proben. Innerhalb der Familie Rhyacophilidae erreichte *Rhyacophila intermedia* 2.881 Sequenzen aus 64 Proben.

Die Familie Blephariceridae innerhalb der Zweiflügler war mit der Art *Liponeura cordata* stark vertreten, die 14.427 Sequenzen aus 58 Proben erreichte. Bei den Käfern (Coleoptera) zeigte *Elmis rietscheli* (Elmidae) mit 986 Sequenzen aus 28 Proben eine hohe Präsenz, gefolgt von *Riolus subviolaceus* mit 790 Sequenzen aus 22 Proben.

Ökologische Bewertung der nachgewiesenen aquatischen Taxa

Die nachgewiesenen Arten sind typische Bewohner von Gewässern, die durch Wälder fließen: unter den Spinnentieren (Arachnida) wurden Milbenarten wie *Lebertia fimbriata* und *Sperchon thienemanni* nachgewiesen. Diese Arten sind typische Bewohner von kühlen, sauerstoffreichen Fließgewässern. Auch die Krebstiere (Hexanauplia) waren mit Arten wie *Acanthocyclops vernalis* und *Bryocamptus minutus* vertreten. Diese Arten leben in Kleingewässern oder langsam fließenden Abschnitten und ernähren sich von Detritus und Mikroorganismen.

Die Käfer (Coleoptera) zeigten eine hohe Vielfalt, darunter Arten wie *Elmis rietscheli*, *Esolus angustatus* und *Riolus subviolaceus*. Diese Käfer besiedeln häufig Totholz, Steine oder

Sedimente am Gewässergrund und sind an die Zersetzung von organischem Material wie Laub angepasst.

Die Zweiflügler (Diptera) waren mit zahlreichen Arten vertreten, insbesondere aus der Familie der Zuckmücken (Chironomidae). Arten wie *Corynoneura lobata*, *Orthocladius frigidus* und *Micropsectra pallidula* sind typische Bewohner von kühlen, sauerstoffreichen Fließgewässern. Auch die Kriebelmücken (Simuliidae) wie *Prosimulium rufipes* und *Simulium sp.* sind charakteristisch für Fließgewässer.

Die Eintagsfliegen (Ephemeroptera) waren mit Arten wie *Baetis alpinus*, *Baetis rhodani* und *Rhithrogena hybrida* vertreten. Diese Arten bevorzugen kühle, sauerstoffreiche Fließgewässer und ernähren sich von Algen und Detritus, die auf Steinen und anderen Substraten wachsen. Ihre Präsenz zeigt, dass die untersuchten Gewässer eine hohe Wasserqualität aufweisen, da viele Eintagsfliegenarten empfindlich auf Verschmutzungen reagieren.

Auch die Steinfliegen (Plecoptera) waren mit einer hohen Artenvielfalt vertreten. Arten wie *Nemoura minima*, *Protonemura lateralis* und *Leuctra albida* sind typische Indikatoren für saubere, kühle Fließgewässer. Sie ernähren sich von organischem Material wie Laub und tragen zur Zersetzung und zum Nährstoffkreislauf bei. Ihre hohe Diversität in den untersuchten Gewässern zeigt, dass diese Lebensräume von einer guten ökologischen Qualität geprägt sind.

Die Köcherfliegen (Trichoptera) waren ebenfalls zahlreich vertreten, darunter Arten wie *Philopotamus sp.*, *Rhyacophila intermedia* und *Potamophylax cingulatus*. Viele dieser Arten bauen Köcher aus organischem Material oder Steinen und sind an die Verarbeitung von Laub und Detritus angepasst. Andere, wie *Rhyacophila intermedia*, sind räuberisch und spielen eine wichtige Rolle im Nahrungsnetz.

Zusammenfassend zeigt die Analyse, dass die nachgewiesenen Arten typische Bewohner von Waldgewässern sind. Die hohe Anzahl nachgewiesener Arten weist die Fließgewässer im Taschbachtal als Hotspots der Biodiversität aus.

Nachweis von eDNA terrestrischer Arthropoden in den Wasserproben

In den Wasserproben aus dem Untersuchungsgebiet Taschbach wurde eDNA von insgesamt 22 Ordnungen terrestrischer Arthropoden nachgewiesen. Besonders artenreich waren die Käfer (Coleoptera) mit 123 Arten aus 27 Familien sowie die Zweiflügler (Diptera), die mit 211 Arten aus 41 Familien den größten Artenreichtum aufwiesen. Auch die Schnabelkerfe (Hemiptera) und Schmetterlinge (Lepidoptera) zeigten eine hohe Vielfalt mit 78 bzw. 50 Arten aus 17 bzw. 15 Familien.

Die Webspinnen (Araneae) waren mit 38 Arten aus 16 Familien vertreten, während die Springschwänze (Collembola) 27 Arten aus 7 Familien umfassten. Die Staubläuse (Psocoptera) zeigten ebenfalls eine bemerkenswerte Diversität mit 33 Arten aus 8 Familien. Als weitere Ordnungen mit einer hohen Artenvielfalt sind die Hautflügler (Hymenoptera) mit 33 Arten aus 8 Familien sowie die Netzflügler (Neuroptera) mit 15 Arten aus 4 Familien zu nennen.

Auch weniger artenreiche Gruppen wie die Asseln (Isopoda) mit 13 Arten aus 6 Familien und die Weberknechte (Opiliones) mit 13 Arten aus 6 Familien waren in den Proben vertreten. Die

Milbenartigen (Trombidiformes) und Hornmilben (Sarcoptiformes) zeigten mit 15 bzw. 13 Arten aus 8 bzw. 7 Familien einen Einblick in die Diversität innerhalb der Milben.

Darüber hinaus wurden Vertreter der Doppelfüßer (Diplopoda) mit 8 Arten aus 2 Familien, der Hundertfüßer (Lithobiomorpha) mit 11 Arten aus einer Familie sowie der Schnabelfliegen (Mecoptera) mit 2 Arten aus einer Familie nachgewiesen. Auch seltenere Gruppen wie die Felsenspringer (Archaeognatha) und die Fransenflügler (Thysanoptera) waren mit jeweils einer Art vertreten.

Die jeweiligen Arten wurden durchschnittlich in 3,1 Proben ($\pm 6,0$ SD) festgestellt. Die durchschnittliche Sequenzzahl des jeweiligen Taxons lag bei 464,6 Sequenzen ($\pm 5,097,0$ SD) pro Probe. Eine detaillierte Übersicht zu den nachgewiesenen Taxa ist in Appendix Tabelle TB-T zu finden.

Ökologische Bewertung der nachgewiesenen terrestrischen Taxa

Die im Rahmen des Projekts nachgewiesenen Taxa sind typische Bewohner von Wäldern und spiegeln die besonderen ökologischen Bedingungen dieser Lebensräume wider.

Unter den Spinnentieren (Arachnida) waren die Webspinnen (Araneae) mit zahlreichen Arten vertreten, darunter *Inermocoelotes inermis* (Agelenidae), *Cyclosa conica* (Araneidae) und *Nusoncus nasutus* (Linyphiidae). Diese Arten besiedeln Waldböden, Laubstreu und Baumkronen und spielen als Räuber eine wichtige Rolle im Nahrungsnetz. Auch die Weberknechte (Opiliones) zeigten eine hohe Diversität, darunter *Leiobunum limbatum* (Leiobunidae) und *Platybunus pinetorum* (Phalangiidae), die häufig in der Laubstreu und auf Totholz vorkommen. Milbenarten wie *Sperchon violaceus* (Sperchontidae) und *Torrenticola sp.* (Torrenticolidae) sind typische Bewohner feuchter Mikrohabitate wie Moosen, Totholz und Bodenstreu

Die Hundertfüßer (Lithobiomorpha) und Doppelfüßer (Diplopoda) waren mit Arten wie *Lithobius glacialis* (Lithobiidae) und *Cylindroiulus meinerti* (Julidae) vertreten. Auch die Springschwänze (Collembola) zeigten eine hohe Diversität, darunter *Lepidocyrtus lignorum* (Entomobryidae) und *Neanura muscorum* (Neanuridae).

Die Käfer (Coleoptera) waren mit einer Vielzahl von Arten vertreten, darunter *Abax parallelepipedus* (Carabidae), *Otiorhynchus subdentatus* (Curculionidae) und *Lampyris noctiluca* (Lampyridae). Viele dieser Arten sind an die Zersetzung von Holz und Laub angepasst, während andere als Räuber oder Pflanzenfresser eine wichtige Rolle im Nahrungsnetz spielen. Auch die Zweiflügler (Diptera) zeigten eine hohe Artenvielfalt, darunter *Bibio clavipes* (Bibionidae) und *Megaselia sp.* (Phoridae). Viele dieser Arten sind an feuchte Mikrohabitate angepasst und tragen zur Zersetzung von organischem Material bei. Andere, wie *Neoitamus socius* (Asilidae), sind räuberisch.

Die Schnabelkerfe (Hemiptera) waren mit Arten wie *Drepanosiphum sp.* (Aphididae) und *Aphrophora sp.* (Aphrophoridae) vertreten. Diese Arten sind häufig auf Bäumen und Sträuchern zu finden, wo sie Pflanzensäfte saugen. Die Hautflügler (Hymenoptera) zeigten ebenfalls eine hohe Diversität, darunter Ameisen wie *Formica aquilonia* (Formicidae) und Wespen wie *Vespa vulgaris* (Vespidae). Ameisen spielen eine zentrale Rolle im Nährstoffkreislauf und in

der Bodenbildung, während Wespen als Räuber zur Kontrolle von Insektenpopulationen beitragen.

Die Schmetterlinge (Lepidoptera) waren mit Arten wie *Cyclophora linearia* (Geometridae) und *Ptilodon capucina* (Notodontidae) vertreten. Viele dieser Arten sind an Wälder angepasst und nutzen Bäume und Sträucher als Nahrungs- und Fortpflanzungsressourcen. Auch die Asseln (Isopoda), wie *Ligidium germanicum* (Ligiidae) und *Trachelipus ratzeburgii* (Trachelipodidae), sind typische Bewohner der Bodenstreu und des Totholzes. Sie tragen zur Zersetzung von organischem Material bei und spielen eine wichtige Rolle im Nährstoffkreislauf.

Zusammenfassend zeigt die Analyse, dass die nachgewiesenen Arten typische Bewohner von Wäldern sind. Sie profitieren von der hohen Strukturvielfalt, dem kühlen und feuchten Mikroklima sowie dem Eintrag von organischem Material. Viele dieser Arten sind wichtige Zersetzer, Räuber oder Pflanzenfresser und tragen zur Stabilität und Funktionalität von Waldökosystemen bei. Auch die hohe Vielfalt an terrestrischen Arten, die im Untersuchungsgebiet Taschbach nachgewiesen werden konnte, unterstreicht die ökologische Bedeutung dieses Waldgebietes.

10.1.3 Nachweise von Taxa und Sequenzen der eDNA terrestrischer Arthropoden pro Probe in beiden Untersuchungsgebieten

Eine Übersicht zu den Nachweisen der jeweiligen Anzahl an Taxa pro Probe als auch der Anzahl an Sequenzen pro Probe, die für die jeweiligen Probenotypen erzielt werden konnten, sind in Abbildung 19 für das Untersuchungsgebiet Gunggl und in Abbildung 20 für das Untersuchungsgebiet Taschbach dargestellt.

Für das Untersuchungsgebiet Gunggl zeigten sich deutliche Unterschiede in der durchschnittlichen Anzahl nachgewiesener Taxa und Sequenzen zwischen den verschiedenen Probenotypen. In den Wasserproben wurden pro Probe durchschnittlich 8,8 Taxa aquatischer Arthropoden detektiert ($\pm 5,8$ SD), während terrestrische Arthropoden in denselben Proben mit durchschnittlich 3,6 Taxa ($\pm 3,5$ SD) vertreten waren (Abb. 19, oben). Unter den anderen Probenotypen fielen insbesondere die Regensammlerproben auf, in denen durchschnittlich 6,4 Taxa ($\pm 2,9$ SD) pro Probe nachgewiesen wurden. Auch in der Streu war die Diversität bemerkenswert, mit durchschnittlich 6,5 Taxa ($\pm 7,2$ SD) pro Probe. Im Gegensatz dazu lag die durchschnittliche Anzahl nachgewiesener Taxa in den Boden- und Totholzproben zwischen 1,0 und 3,3 Taxa pro Probe.

Die durchschnittliche Anzahl an Sequenzen pro Probe schwankte zwischen den Probenotypen stark. Bei den aquatischen Arthropoden in den Wasserproben wurden im Durchschnitt 7.830 Sequenzen pro Probe nachgewiesen, während terrestrische Arthropoden in denselben Proben mit durchschnittlich 883 Sequenzen pro Probe deutlich weniger vertreten waren (Abb. 19, unten). In den anderen Probenotypen zeigten insbesondere die Streuproben mit durchschnittlich 19.280 Sequenzen von terrestrischen Arthropoden pro Probe die höchsten Werte. Ähnlich hohe Sequenzzahlen wurden in den Totholzproben festgestellt, in denen durchschnittlich 18.650 Sequenzen von terrestrischen Arthropoden nachgewiesen werden konnten. Regensammlerproben wiesen mit durchschnittlich 2.152 Sequenzen pro Probe

ebenfalls eine nennenswerte Menge auf, während in den Bodenproben mit durchschnittlich 3.994 Sequenzen pro Probe vergleichsweise geringere Werte festgestellt wurden.

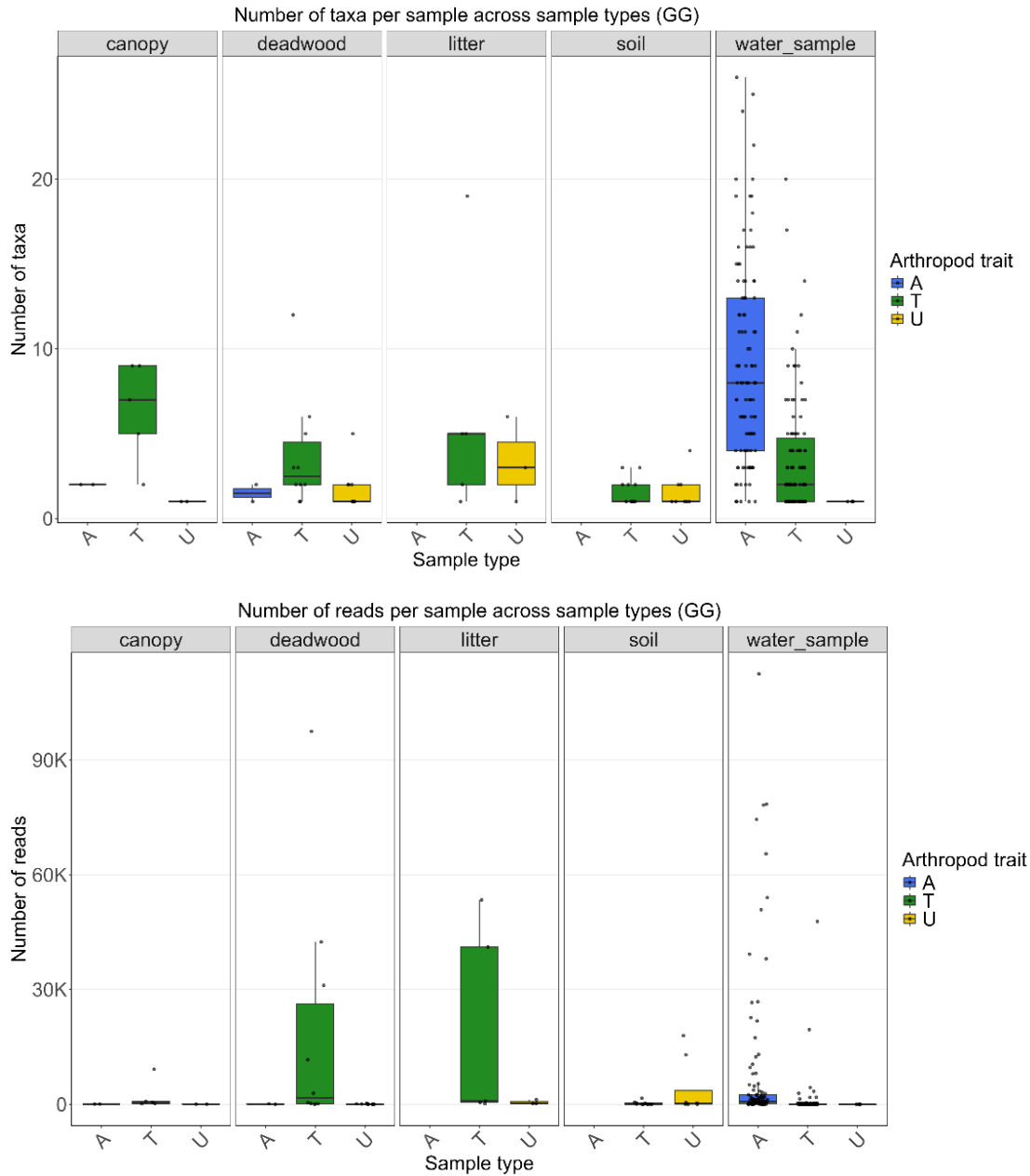


Abb. 19: Durchschnittliche Anzahl der nachgewiesenen Arthropoda-Taxa (oben) und durchschnittliche Anzahl an DNA-Sequenzen (unten) der Arthropoda-Taxa in den verschiedenen Probentypen für das Untersuchungsgebiet Gunggl. Aquatische Taxa sind blau, terrestrische Taxa grün und unklassifizierbare Taxa gelb dargestellt. Probentypen: canopy = Regensammler, deadwood = Totholz, litter = Streu, soil = Boden, water_sample = Wasserfilterprobe

Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass die Zusammensetzung und Menge der nachgewiesenen Taxa und Sequenzen stark vom Probentyp abhängen. Während Wasserproben – wie zu erwarten war - eine hohe Diversität aquatischer Arthropoden aufwiesen, lieferten Streu- und Totholzproben hohe Sequenzzahlen terrestrischer Arthropoden. Regensammlerproben zeigten

eine moderate Diversität und Sequenzanzahl, die jedoch in Anbetracht der Tatsache, dass Regenwasser von Bäumen aufgefangen und die darin enthaltene Umwelt-DNA analysiert wird, beachtlich sind. Bei den Bodenproben wurden überraschend niedrige Werte in beiden Parametern festgestellt. Dies scheint im Vergleich zu Literaturdaten (Kirse et al. 2021) unrealistisch und dürfte auf Problem bei der DNA-Extraktion zurückzuführen sein.

Auch im Untersuchungsgebiet Taschbach zeigten die Analysen der eDNA deutliche Unterschiede in der durchschnittlichen Anzahl nachgewiesener Taxa und Sequenzen zwischen den verschiedenen Probenotypen. In den Wasserproben wurden pro Probe durchschnittlich 22,7 Taxa aquatischer Arthropoden detektiert ($\pm 13,3$ SD). Im Gegensatz dazu waren die terrestrischen Arthropoden in den Wasserproben mit durchschnittlich 10,5 Taxa pro Probe ($\pm 10,5$ SD) nur mehr halb so zahlreich vertreten (Abb. 20, oben).

Unter den anderen Probenotypen stachen insbesondere die Regensammlerproben hervor, in denen durchschnittlich 8,8 Taxa ($\pm 1,8$ SD) pro Probe nachgewiesen wurden. In der Streu wurden durchschnittlich 5,8 Taxa ($\pm 4,1$ SD) pro Probe detektiert. Im Gegensatz dazu wiesen die Bodenproben mit durchschnittlich nur 1,8 Taxa pro Probe ($\pm 1,1$ SD) die geringste Diversität auf.

Die durchschnittliche Anzahl an Sequenzen pro Probe variierte ebenfalls stark zwischen den Probenotypen. Bei den aquatischen Arthropoden in den Wasserproben wurden im Durchschnitt 19.996 Sequenzen pro Probe nachgewiesen, während terrestrische Arthropoden in denselben Proben mit durchschnittlich 1.571 Sequenzen pro Probe deutlich weniger vertreten waren (Abb. 20, unten). In den anderen Probenotypen zeigten die Streuproben mit durchschnittlich 28.387 Sequenzen von terrestrischen Arthropoden pro Probe die höchsten Werte. Ähnlich hohe Sequenzzahlen wurden in den Totholzproben festgestellt, in denen durchschnittlich 26.398 Sequenzen von terrestrischen Arthropoden nachgewiesen werden konnten. Regensammlerproben wiesen mit durchschnittlich 7.418 Sequenzen pro Probe ebenfalls eine nennenswerte Menge auf, während die Bodenproben mit durchschnittlich nur 60 Sequenzen pro Probe die geringsten Werte aufwiesen.

Zusammenfassend zeigte sich, dass die Diversität und Sequenzanzahl in den Wasserproben des Taschbachs insgesamt höher war als in der Gunggl. In den anderen Probenotypen, insbesondere in der Streu und im Totholz, waren die Sequenzzahlen in beiden Gebieten hoch, wobei die Werte im Taschbach durchwegs etwas höher lagen.

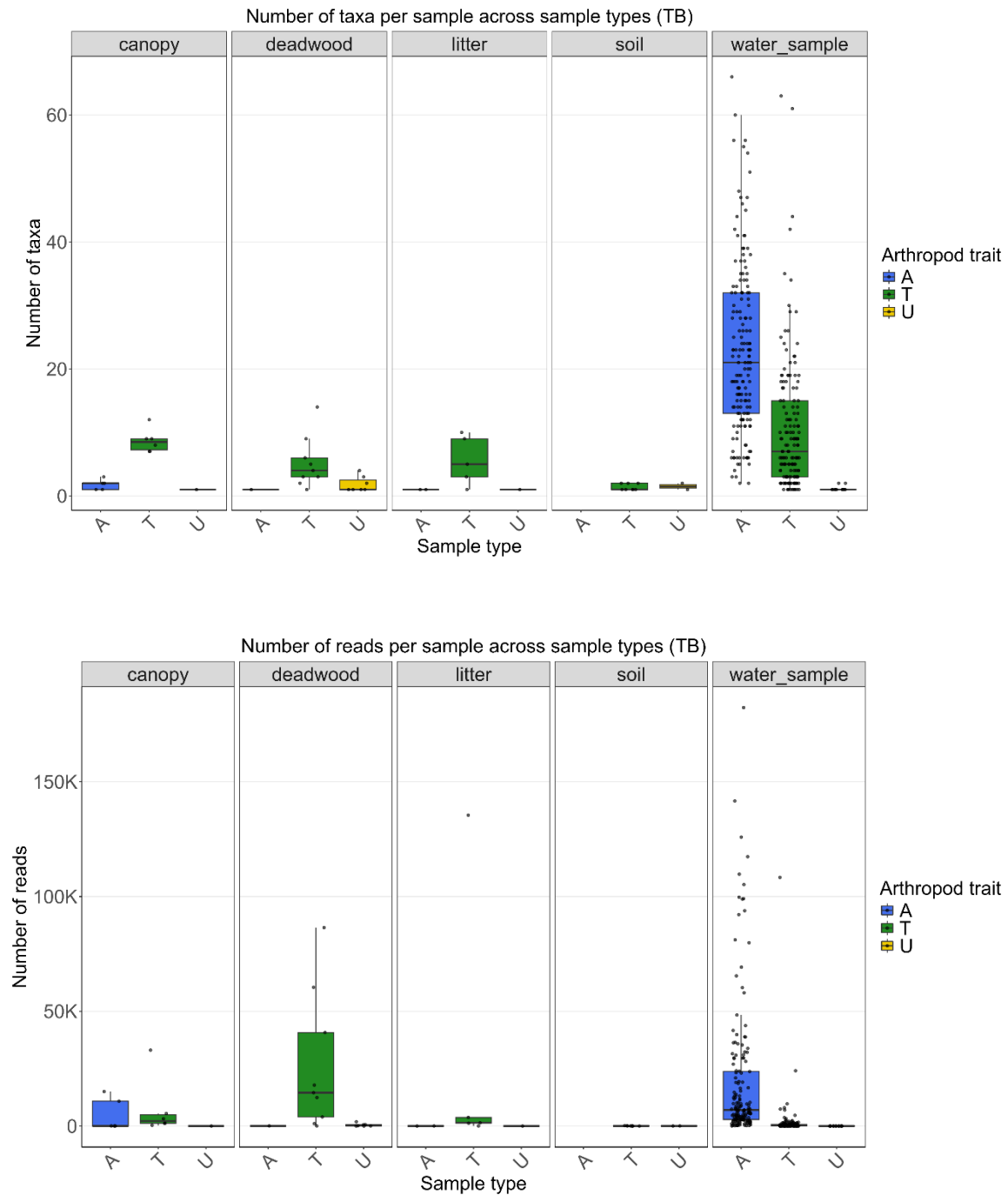


Abb. 20: Durchschnittliche Anzahl der nachgewiesenen Arthropoda-Taxa (oben) und durchschnittliche Anzahl an DNA-Sequenzen (unten) der Arthropoda-Taxa in den verschiedenen Probenarten für das Untersuchungsgebiet Taschbach. Aquatische Taxa sind blau, terrestrische Taxa grün und unklassifizierbare Taxa gelb dargestellt. Probenarten: canopy = Regensammler, deadwood = Totholz, litter = Streu, soil = Boden, water_sample = Wasserfilterprobe

10.1.4 Nachweis von eDNA terrestrischer Arthropoden entlang der Bachverläufe

Die Ergebnisse der eDNA-Analysen zeigen deutliche Unterschiede im Nachweis terrestrischer Arthropoda entlang der Beprobungstranekte und in den beiden Untersuchungsgebieten Taschbach und Gunggl (Abb. 21).

Im Untersuchungsgebiet Taschbach (Abb. 21, oben) variiert die Artenvielfalt (Species Richness) der terrestrischen Arthropoden signifikant entlang des Flussverlaufs ($p < 0,001$). Die höchsten mittleren Werte für die Anzahl der MOTUs (Molecular Operational Taxonomic Units) terrestrischer Arthropoden pro Wasserprobe wurden in den Abschnitten T7, T6 sowie T8/T1 festgestellt. Besonders auffällig ist, dass der letzte Abschnitt des Flusses vor der Mündung die höchste Anzahl an MOTUs terrestrischer Arthropoden aufweist. Auch die Alpha-Diversität terrestrischer Arthropoden in den Wasserproben unterscheidet sich zwischen den Flussabschnitten, jedoch nicht statistisch signifikant ($p < 0,07$). Die höchsten Werte der Alpha-Diversität wurden ebenfalls in den Bereichen T7, T6 und T8 gemessen, was darauf hindeutet, dass die Region unmittelbar vor der Mündung die höchste Diversität aufweist.

Im Gegensatz dazu zeigt sich im Untersuchungsgebiet Gunggl (Abb. 21, unten) eine konstantere Artenvielfalt (Species Richness) und Alpha-Diversität entlang der Tranekte des Bachverlaufes (keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Tranekten feststellbar). Die höchsten mittleren Werte für die Anzahl der MOTUs terrestrischer Arthropoden pro Wasserprobe wurden in den Abschnitten T1 und E festgestellt. In der Gunggl sind somit keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der Artenvielfalt entlang des Flusses erkennbar.

Hinsichtlich der Frage, wo entlang der Bachverläufe am besten Proben zu entnehmen sind, ergibt sich zwischen den beiden Untersuchungsgebieten kein einheitliches Bild. Während die Artenvielfalt terrestrischer Arthropoden im Taschbach mit einer besonders hohen Diversität in den Abschnitten vor der Mündung feststellbar war, bleibt die Artenvielfalt entlang des Baches in der Gunggl hingegen weitgehend konstant, mit den höchsten Werten in den Abschnitten T1 und E, also im ersten und letzten Tranekt des Bachverlaufes. Als Empfehlung für eine optimale räumliche Probenahme lässt sich somit schlussfolgern, dass an zwei bis drei Stellen des Bachverlaufes Proben zu ziehen wären, wobei die unteren Bachabschnitte vor der Mündung besonders zu berücksichtigen sind.

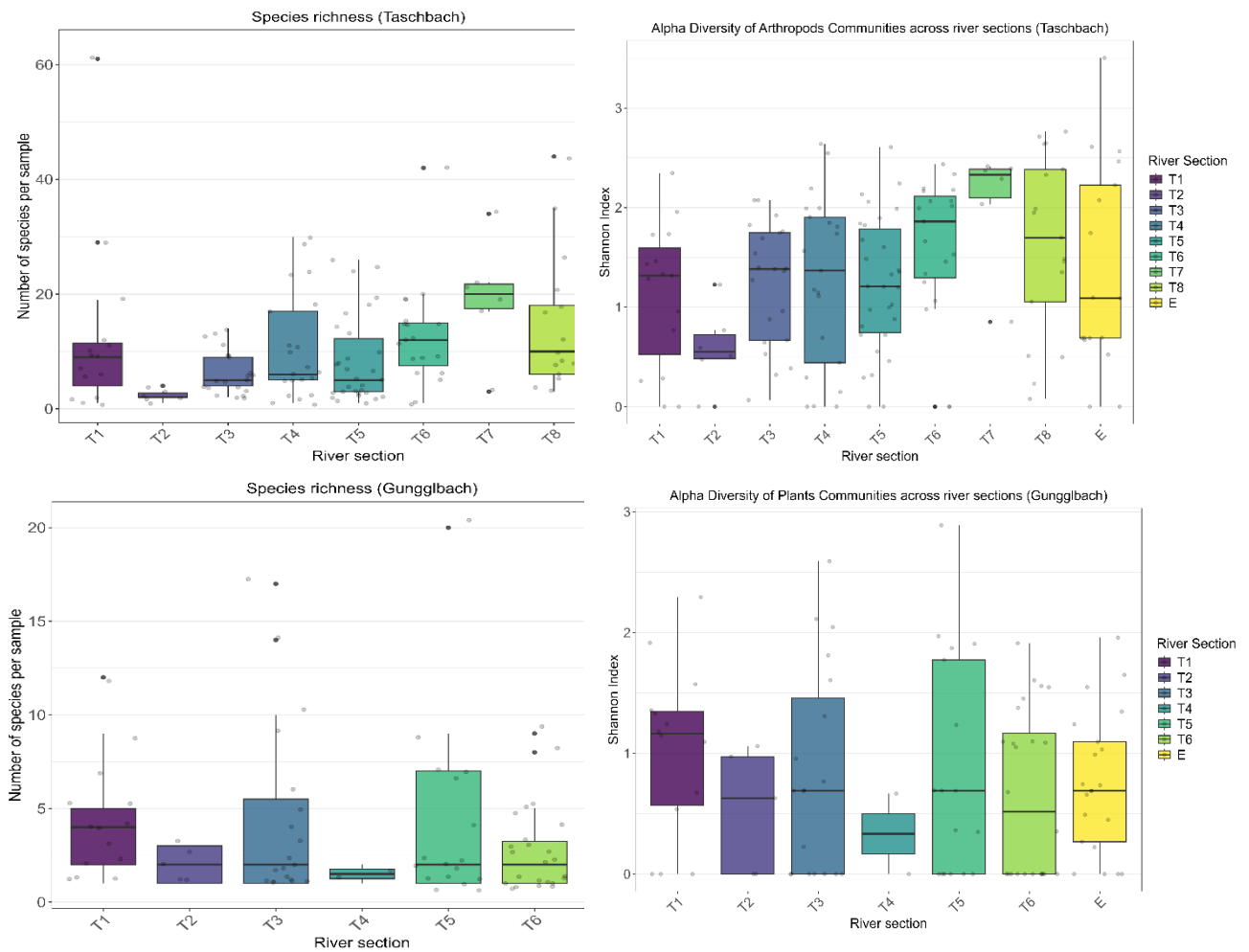


Abb. 21: Durchschnittliche Anzahl der terrestrischen Arthropoda-Taxa (links) und der Arthropoden-Diversität (rechts) in Wasserproben, die entlang des Bachverlaufs im Untersuchungsgebiet Taschbach (obere Reihe) und Gunggl (untere Reihe) entnommen wurden.

10.1.5 Nachweis von terrestrischer Arthropoden-eDNA im zeitlichen Verlauf

Die Ergebnisse der eDNA-Analysen hinsichtlich der zeitlichen Verteilung der Artenvielfalt terrestrischer Arthropoden zwischen den beiden Untersuchungsgebieten Taschbach und Gunggl sind in Abbildung 22 dargestellt. Im Taschbach (Abb. 22, oben) variiert die Artenvielfalt (Species Richness) signifikant zwischen den Monaten ($p < 0,001$). Die höchsten mittleren Werte für die Anzahl der MOTUs (Molecular Operational Taxonomic Units) terrestrischer Arthropoden pro Wasserprobe wurden in den Monaten Oktober, September sowie im Zeitraum Juli bis August festgestellt. Im Gegensatz dazu zeigte die Alpha-Diversität terrestrischer Arthropoden in den Wasserproben keine signifikanten Unterschiede zwischen den Monaten (p nicht signifikant). Die höchsten Werte der Alpha-Diversität wurden jedoch in den Monaten September und Oktober beobachtet.

In der Gunggl (Abb. 21, unten) variiert die Artenvielfalt (Species Richness) ebenfalls signifikant zwischen den Monaten ($p < 0,001$). Die höchsten mittleren Werte für die Anzahl der MOTUs terrestrischer Arthropoden pro Wasserprobe wurden in den Sommermonaten Juli und Juni

festgestellt, während Frühling und Herbst vergleichbare Werte aufwiesen. Auch die Alpha-Diversität terrestrischer Arthropoden in den Wasserproben zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Monaten ($p < 0,01$). Die höchsten Werte der Alpha-Diversität wurden in den Monaten Juli und Juni gemessen. Ein Tukey-Test zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Monaten Juli und April sowie Oktober und Juli.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die zeitliche Verteilung der Artenvielfalt terrestrischer Arthropoden in beiden Untersuchungsgebieten saisonalen Schwankungen unterliegt. Im Taschbach sind die höchsten Werte der Artenvielfalt und Alpha-Diversität vor allem im Spätsommer und Herbst zu finden, während in der Gunggl die Sommermonate Juni und Juli die höchsten Werte aufweisen. Daher ist es empfehlenswert, die Probenahme für derartige Wasserproben in den Sommermonaten zwischen Juni und September durchzuführen, weil damit die höchste Wahrscheinlichkeit für eine möglichst breite Erfassung terrestrischer Arthropoden gegeben ist.

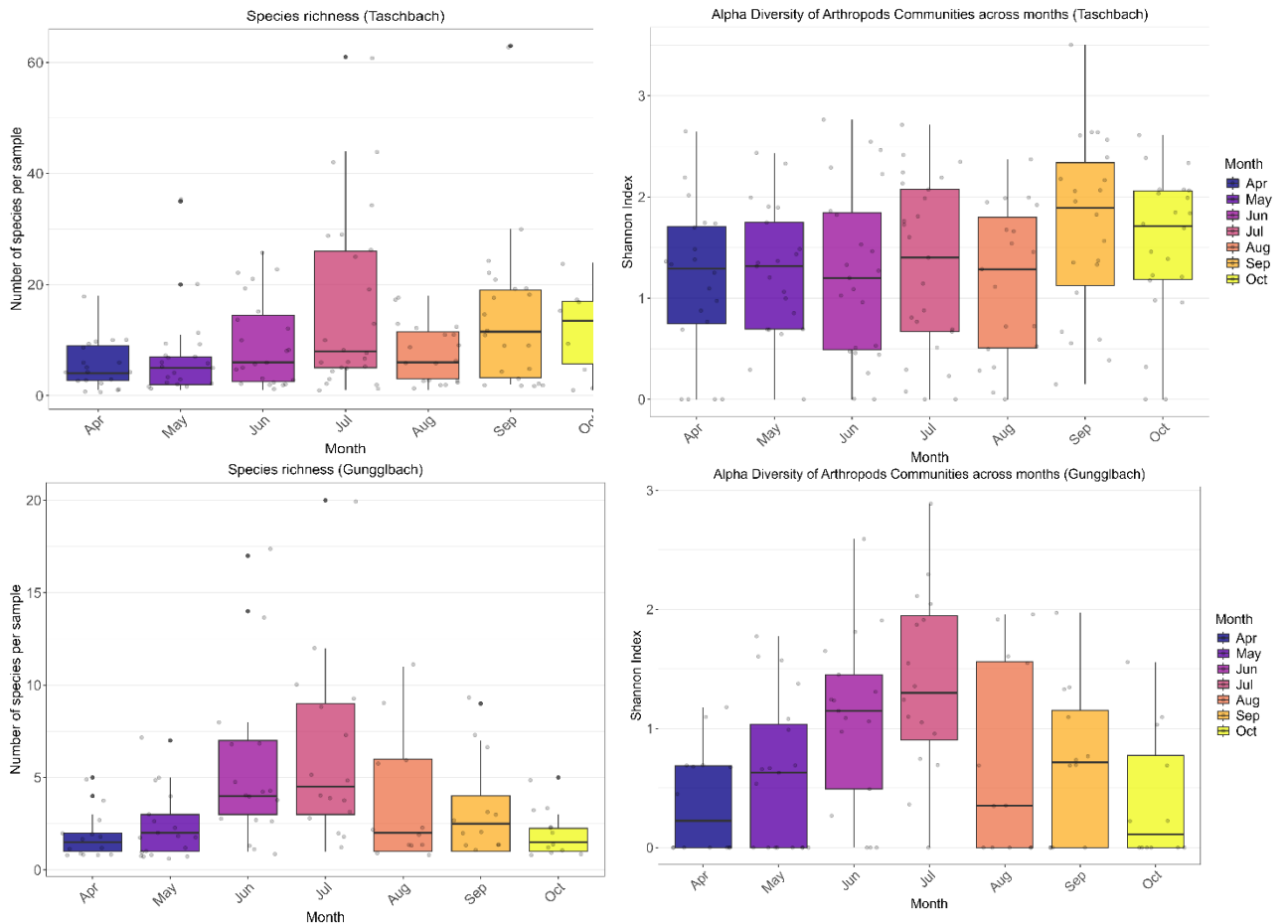


Abb. 22: Durchschnittliche Anzahl der terrestrischen Arthropoda-Taxa (links) und der Arthropoden-Diversität (rechts) in Wasserproben, die in verschiedenen Monaten im Untersuchungsgebiet Taschbach (obere Reihe) und Gunggl (untere Reihe) entnommen wurden.

10.2 Nachweis von Pilz-eDNA

In beiden Untersuchungsgebieten wurden in den verschiedenen Probenotypen deutlich unterschiedliche Anteile an terrestrischen und aquatischen Pilztaxa nachgewiesen (Abb. 23). Der Großteil der detektierten Taxa in den unterschiedlichen Probenotypen war als terrestrisch bzw. teilweise aquatisch einzustufen (beide Klassen zusammen zwischen 80-90%) während rein aquatische und unklassifizierbare Taxa nur einen geringen Teil ausmachten.

Die unterschiedliche Anzahl der nachgewiesenen Taxa zwischen den Probenotypen (Abb. 23) erklärt sich vorrangig durch die stark unterschiedliche Anzahl an Einzelproben, die genommen wurden. Bei den Regensammlern, Totholz, Streu und Boden wurden zwischen 6 und 14 Proben pro Untersuchungsgebiet entnommen. Bei den Wasserproben lag die Probenzahl zwischen 114 (Gunggl) und 162 (Taschbach) Proben: Insgesamt konnten in den Wasserproben im Untersuchungsgebiet Gunggl 934 verschiedene Pilztaxa detektiert werden, während im Untersuchungsgebiet Taschenbachtal 892 Pilztaxa nachgewiesen werden konnten.

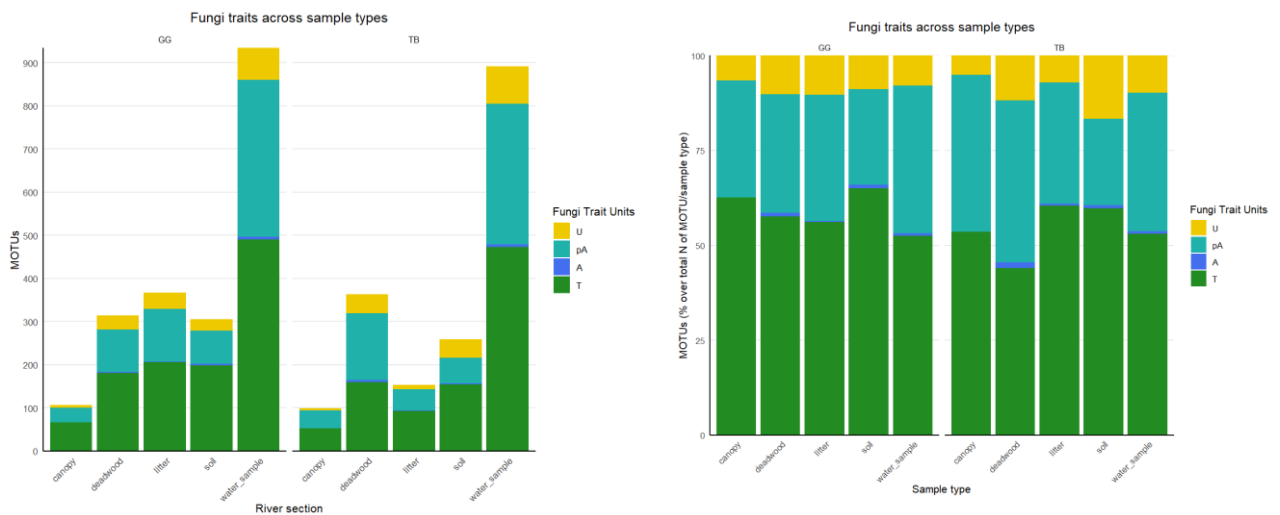


Abb. 23: Gesamtzahl der nachgewiesenen Pilz-Taxa in den verschiedenen Probenotypen (links) und relativer Anteil der aquatischen (A), teilweise aquatischen (pA), terrestrischen (T) und unklassifizierbaren (U) Taxa (rechts) für die Untersuchungsgebiete Gunggl (GG) und Taschbach (TB). Aquatische Taxa sind blau, teilweise aquatische Taxa türkis, terrestrische Taxa grün und unklassifizierbare Taxa gelb dargestellt. Probenotypen: canopy = Regensammler, deadwood = Totholz, litter = Streu, soil = Boden, water_sample = Wasserfilterprobe

10.2.1 Nachweise von Taxa und Sequenzen der eDNA terrestrischer Pilze pro Probe in beiden Untersuchungsgebieten

Die Ergebnisse zur Anzahl der nachgewiesenen Pilztaxa pro Probe sowie der Sequenzen pro Probe für die verschiedenen Probenotypen in den Untersuchungsgebieten Gunggl und Taschbach sind in den Abbildungen 24 (Gunggl) und 25 (Taschbach) dargestellt.

Im Untersuchungsgebiet Gunggl zeigten sich deutliche Unterschiede in der durchschnittlichen Anzahl nachgewiesener Taxa und Sequenzen zwischen den Probenotypen. In den Wasserproben wurden durchschnittlich 15,4 (\pm 11,8 SD) Taxa terrestrischer Pilze und 14,1 (\pm 10,4 SD) Taxa semi-aquatischer Pilze pro Probe detektiert (Abb. 24). Im Vergleich dazu war die Anzahl terrestrischer Pilztaxa in den anderen Probenotypen deutlich höher. Die höchsten Werte wurden

in den Streuproben mit durchschnittlich 48,7 ($\pm 16,7$ SD) Taxa gemessen, gefolgt von den Bodenproben (34,2 $\pm 12,3$ SD) und den Regensammlerproben (21,0 $\pm 10,5$ SD).

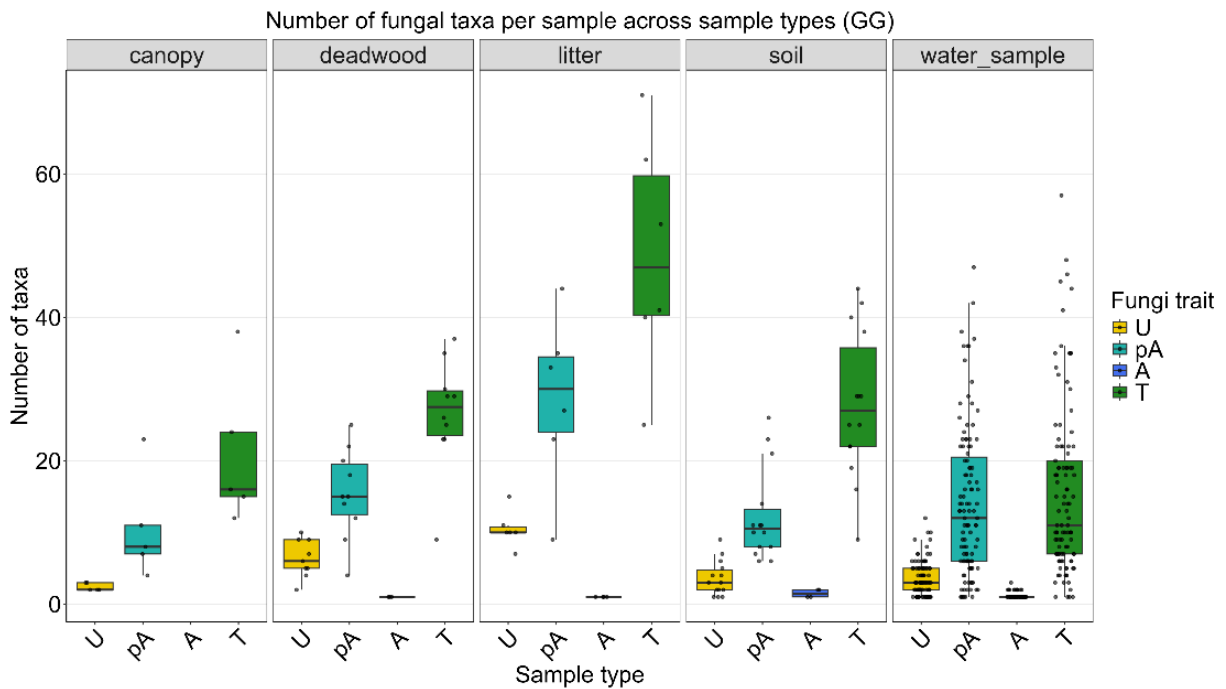


Abb. 24: Durchschnittliche Anzahl der nachgewiesenen Pilztaxa in den verschiedenen Probenarten für das Untersuchungsgebiet Gunggl. Aquatische Taxa sind blau, terrestrische Taxa grün und unklassifizierbare Taxa gelb dargestellt. Probenarten: canopy = Regensammler, deadwood = Totholz, litter = Streu, soil = Boden, water_sample = Wasserfilterprobe

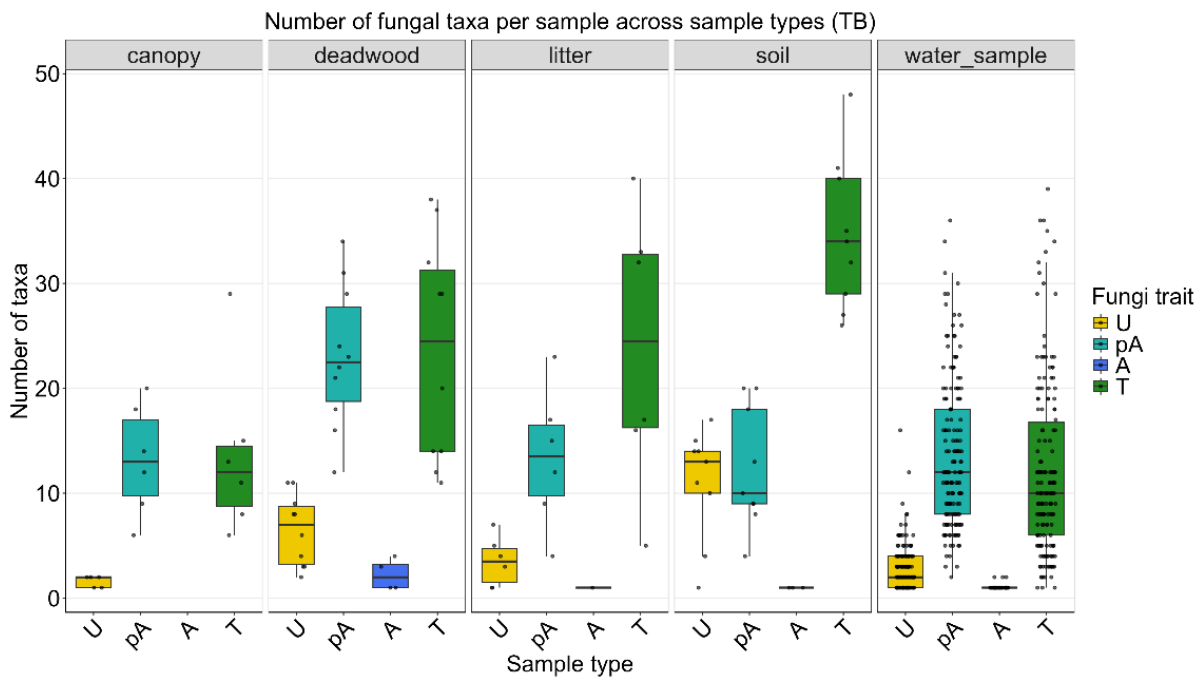


Abb. 25: Durchschnittliche Anzahl der nachgewiesenen Pilztaxa in den verschiedenen Probenarten für das Untersuchungsgebiet Taschbach. Aquatische Taxa sind blau, terrestrische Taxa grün und unklassifizierbare Taxa gelb dargestellt. Probenarten: canopy = Regensammler, deadwood = Totholz, litter = Streu, soil = Boden, water_sample = Wasserfilterprobe

Auch die Anzahl der Sequenzen pro Probe war in den Wasserproben für alle Pilztypen deutlich geringer als in den anderen Probenarten (Abb. 26). Besonders hohe Sequenzzahlen terrestrischer Pilze wurden in den Bodenproben (Median 27.054 Sequenzen), Streuproben (Median 23.768 Sequenzen) und Totholzproben (Median 21.194 Sequenzen) nachgewiesen.

Im Untersuchungsgebiet Taschbach (Abb. 25) zeigte sich ein ähnliches Muster wie in der Gunggl. Die Bodenproben wiesen mit durchschnittlich $34,7 (\pm 7,6 \text{ SD})$ Taxa die höchste Anzahl an terrestrischen Pilztaxa auf, während die Regensammlerproben vergleichsweise wenige Sequenzen enthielten (Median 2.703 Sequenzen). Dieser Wert lag deutlich unter dem Median der Regensammlerproben in der Gunggl (Median 13.647 Sequenzen). Die Wasserproben im Taschbach zeigten ebenfalls eine geringere Anzahl an Taxa (durchschn. $12,1 \pm 8,3 \text{ SD}$) und Sequenzen im Vergleich zu den anderen Probenarten, was mit den Ergebnissen aus dem Gunggl übereinstimmt.

In beiden Untersuchungsgebieten zeigten die Wasserproben die geringste Anzahl an Pilztaxa und Sequenzen, während die Boden- und Streuproben die höchsten Werte aufwiesen. Ein wesentlicher Unterschied zwischen den Gebieten bestand jedoch in den Regensammlerproben: Während in der Gunggl eine vergleichsweise hohe Anzahl an Sequenzen (Median 13.647) nachgewiesen wurde, war dieser Wert im Taschbach deutlich geringer (Median 2.703).

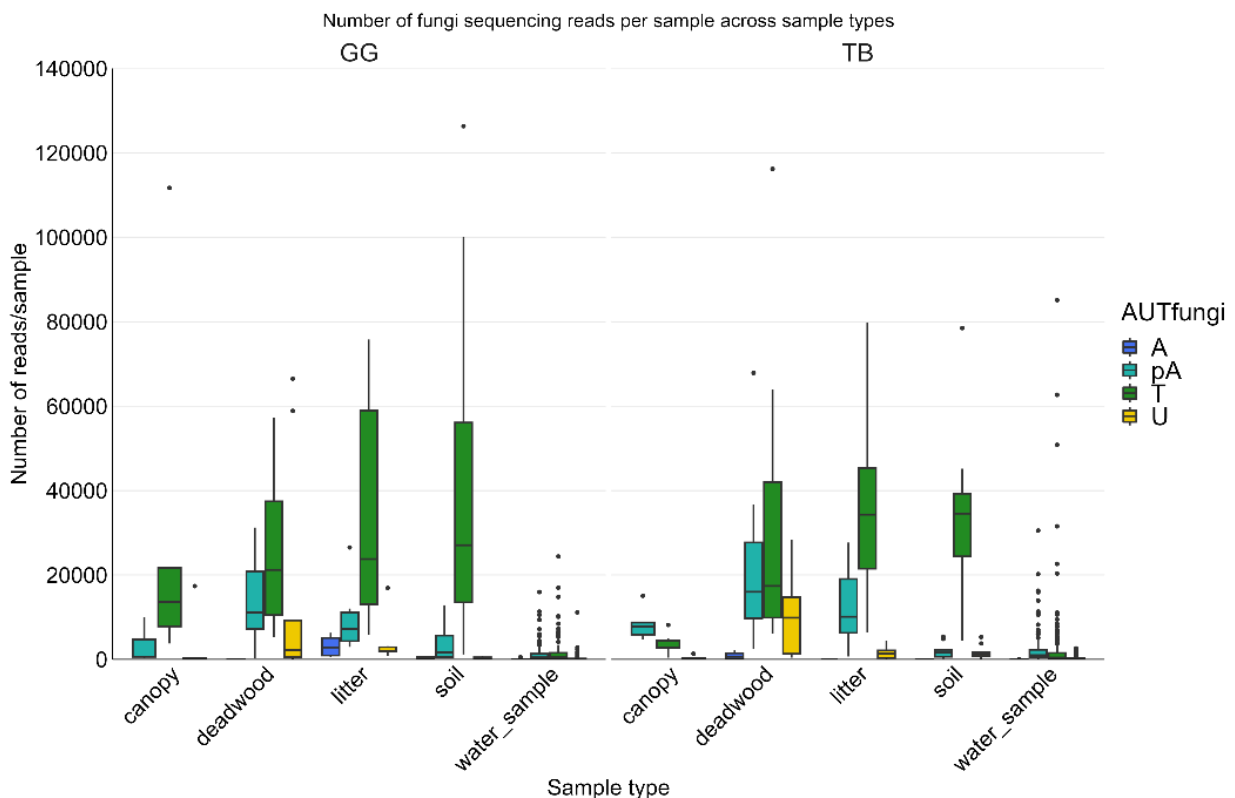


Abb. 26: Durchschnittliche Anzahl an DNA-Sequenzen (reads) von Pilztaxa in den verschiedenen Probenarten für das Untersuchungsgebiet Gunggl (GG, links) und Taschbach (TB, rechts). Aquatische Taxa sind blau, terrestrische Taxa grün und unklassifizierbare Taxa gelb dargestellt. Probenarten: canopy = Regensammler, deadwood = Totholz, litter = Streu, soil = Boden, water_sample = Wasserfilterprobe

10.2.2 Nachweis von Pilz-eDNA im Untersuchungsgebiet Gunggl

Im Untersuchungsgebiet Gunggl konnten in den Wasserproben insgesamt 23 Klassen terrestrischer und 18 Klassen semi-aquatischer Pilze sowie vier Klassen aquatischer und 10 Klassen nicht klassifizierbarer Pilze mittels eDNA nachgewiesen werden (Abb. 27). Im Vergleich dazu wiesen die anderen Probenotypen trotz deutlich geringerer Probenanzahl eine nahezu ebenso hohe Anzahl an Klassen bei den terrestrischen und semi-aquatischen Pilzen auf.

Eine detaillierte Übersicht zu den nachgewiesenen Taxa ist in Appendix Tabellen F-GG-A, F-GG-pA, F-GG-T und F-GG-U zu finden.

Aufgrund der sehr hohen Diversität an nachgewiesenen Pilztaxa werden nachfolgend nur die terrestrischen Pilze näher besprochen, da diese im Fokus des gegenständlichen Projektes standen.

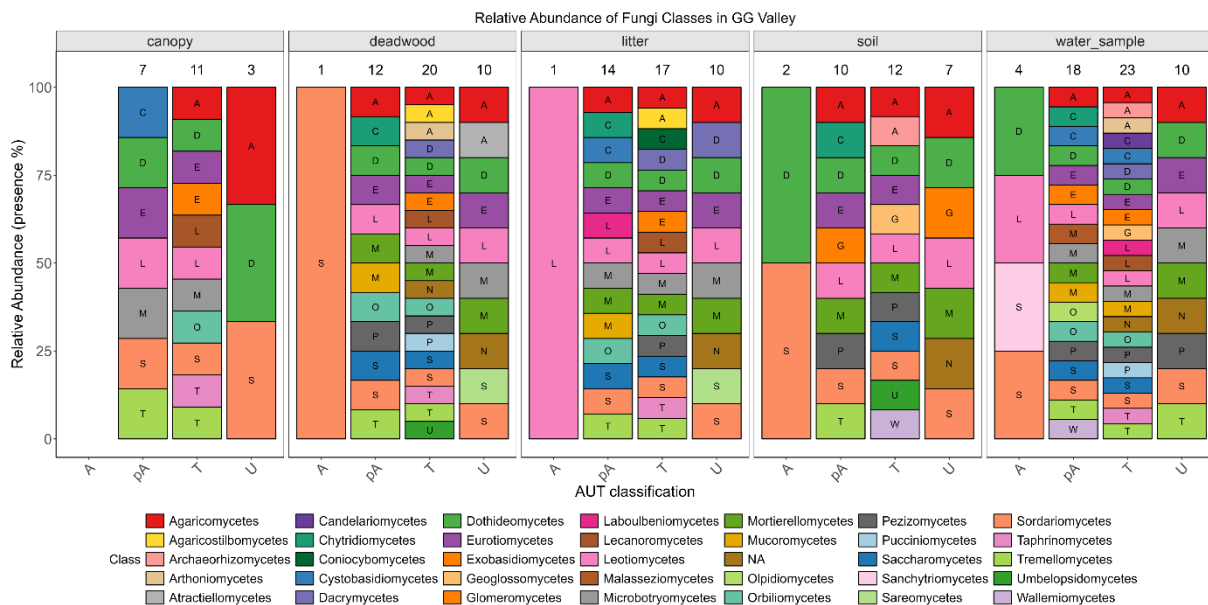


Abb. 27: Anzahl der nachgewiesenen Klassen von aquatischen (A), semi-aquatischen (pA), terrestrischen (T) und unklassifizierbaren (U) Pilzen in den verschiedenen Probenotypen für das Untersuchungsgebiet Gunggl. Die Gesamtzahl der Klassen ist jeweils über der entsprechenden Säule angegeben. Probenotypen: canopy = Regensammler, deadwood = Totholz, litter = Streu, soil = Boden, water_sample = Wasserfilterprobe

Nachweis von eDNA terrestrischer Pilze in den Wasserproben

Im Untersuchungsgebiet Gunggl konnten in den Wasserproben 490 Taxa an terrestrischen Pilzen mittels eDNA nachgewiesen werden. Die identifizierten Pilze gehören zu den beiden Haupt-Phyla Ascomycota (Schlauchpilze) und Basidiomycota (Ständerpilze) sowie zu den weniger häufig vertretenen Mucoromycota (Jochpilze). Diese Pilze erfüllen eine Vielzahl ökologischer Funktionen und besiedeln unterschiedliche Lebensräume.

Innerhalb der Ascomycota wurden zahlreiche Klassen und Ordnungen identifiziert, die eine breite Palette ökologischer Rollen abdecken. Die Archaeorhizomycetes (Wurzelpilze), vertreten durch die Ordnung Archaeorhizomycetales, umfassen Pilze, die häufig in der Rhizosphäre vorkommen und mit Pflanzenwurzeln assoziiert sind. Die Arthoniomycetes (Flechtenpilze) und Candelariomycetes (Kerzenflechtenpilze) sind vor allem für ihre symbiotischen Beziehungen mit Algen bekannt, die zur Bildung von Flechten führen. Besonders artenreich ist die Klasse der Dothideomycetes (Rußrindenpilze), die mit 12 Ordnungen vertreten ist, darunter die Pleosporales (Kernpilzartige) mit 51 Arten und 15 Familien. Diese Pilze sind häufig saprotroph oder parasitisch und spielen eine wichtige Rolle im Abbau organischer Substanzen sowie in der Regulation von Pflanzenpopulationen.

Auch die Eurotiomycetes (Gießkannenschimmelverwandte) und die Lecanoromycetes (Flechtenpilze) tragen zur Diversität bei: 50 Arten aus der Ordnung der Lecanorales (Flechtenartige), die sich auf 10 Familien verteilen, konnten nachgewiesen werden, während die Lecideales (Lecideaartige) mit 10 Arten und 3 Familien ebenfalls eine bedeutende Rolle spielen. Die Klasse der Leotiomycetes (Becherlingsverwandte) ist mit 108 Arten in der Ordnung Helotiales (Helotiumartige) besonders artenreich, während die Rhytismatales (Nadelholzfleckenpilzartige) mit 12 Arten und 2 Familien ebenfalls eine wichtige Gruppe darstellen. Weitere bemerkenswerte Klassen sind die Orbiliomycetes (Nematodenfallenpilze) und die Pezizomycetes (Becherlinge), die durch spezifische Ordnungen wie die Orbiliales (Orbiliaartige) und die Pezizales (Becherlingsartige) vertreten sind.

Die Basidiomycota zeigen ebenfalls eine beeindruckende Diversität. Die Klasse der Agaricomycetes (Hutpilze) ist mit 10 Ordnungen besonders vielfältig. Die Agaricales (Blätterpilzartige) umfassen 40 Arten, die sich auf 15 Familien verteilen, während die Polyporales (Porlingsartige) mit 15 Arten und 6 Familien ebenfalls häufig vorkommen. Weitere interessante Ordnungen innerhalb dieser Klasse sind die Russulales (Täublingsartige) mit 5 Arten und 4 Familien sowie die Hymenochaetales (Porlingsartige) mit 10 Arten und 4 Familien. Weiters tragen die Tremellomycetes (Zitterlingsartige) und die Dacrymycetes (Tränenpilze) zur Vielfalt bei. Die Tremellales (Zitterlingsartige) innerhalb der Tremellomycetes umfassen 50 Arten, die sich auf 5 Familien verteilen, während die Dacrymycetales (Tränenpilzartige) mit einer Art und einer Familie vertreten sind.

Zusätzlich wurden Pilze der Mucoromycota (Jochpilze) nachgewiesen, die durch die Klasse Mucoromycetes (Mucorartige) und die Ordnung Mucorales (Mucorartige) repräsentiert werden. Diese Pilze sind vor allem für ihre Rolle im Abbau organischer Substanzen bekannt.

Die jeweiligen Arten wurden durchschnittlich in 3,3 Proben ($\pm 4,3$ SD) festgestellt. Die durchschnittliche Sequenzzahl des jeweiligen Taxons lag bei 395 Sequenzen (± 1.806 SD) pro Probe. Eine detaillierte Übersicht zu den nachgewiesenen Taxa ist in Appendix Tabelle F-GG-T zu finden.

Ökologische Bewertung der nachgewiesenen terrestrischen Pilztaxa

Die im Untersuchungsgebiet Gunggl nachgewiesenen terrestrischen Pilzarten zeichnen sich durch bemerkenswerte Vielfalt aus. Sie erfüllen essenzielle ökologische Funktionen in Wäldern, indem sie eine zentrale Rolle in Prozessen wie der Zersetzung organischer Substanzen, der Nährstoffversorgung von Pflanzen und der Regulierung von Pflanzenpopulationen spielen.

Innerhalb der Ascomycota (Schlauchpilze) wurden zahlreiche Arten nachgewiesen, die sowohl saprotroph, symbiotisch als auch parasitisch auftreten. Die Archaeorhizomycetes (Wurzelpilze), vertreten durch *Archaeorhizomyces sp.*, sind typische Bodenbewohner, die in der Rhizosphäre von Bäumen vorkommen und an der Bodenbildung mitwirken. Flechtenbildende Pilze wie die Arthoniomycetes und Candelariomycetes, darunter *Phaeococcomyces nigricans* und *Candelariella rubrisoli*, leben in Symbiose mit Algen und besiedeln Baumrinde oder Felsen, wo sie zur Stabilisierung von Oberflächen und zur Stickstofffixierung beitragen.

Die Dothideomycetes (Rußrindenpilze), eine der artenreichsten Klassen, umfassen sowohl saprotrophe als auch parasitische Arten wie *Rhizosphaera kalkhoffii* und *Dothiora prunorum*. Diese Pilze zersetzen organisches Material wie Laub und Holz oder befallen lebende Pflanzen, wodurch sie Pflanzenpopulationen regulieren und Nährstoffe freisetzen. Ähnlich vielfältig sind die Lecanoromycetes (Flechtenpilze), zu denen Arten wie *Lecanora polytropa* und *Pseudevernia furfuracea* gehören. Diese Flechtenpilze sind wichtige Bioindikatoren und wirken an der Bodenbildung mit. Die Leotiomycetes (Becherlingsverwandte) umfassen sowohl saprotrophe als auch parasitische Arten wie *Blumeria graminis* und *Calloria urticae*, die eine wichtige Rolle im Abbau organischer Substanzen spielen.

Auch die Basidiomycota (Ständerpilze) zeigen eine beeindruckende Diversität und sind in Wäldern weit verbreitet. Die Agaricomycetes (Hutpilze) umfassen eine Vielzahl von Mykorrhizapilzen wie *Laccaria pumila* und *Amphinema byssoides*, die in enger Symbiose mit Bäumen leben und deren Nährstoffaufnahme fördern. Gleichzeitig sind saprotrophe Arten wie *Ganoderma lucidum* und *Fomitopsis betulina* wichtige Holzabbauer, die zur Zersetzung von Totholz und zur Kohlenstofffreisetzung beitragen. Die Russulales (Täublingsartige) und Polyporales (Porlingsartige) umfassen ebenfalls sowohl Mykorrhizapartner als auch Holzabbauer.

Darüber hinaus wurden auch weniger häufige Pilzgruppen wie die Tremellomycetes (Zitterlingsartige) und die Mucoromycota (Jochpilze) nachgewiesen. Arten wie *Dioszegia hungarica* und *Rhizopus arrhizus* sind auf die Zersetzung organischer Substanzen spezialisiert.

10.2.3 Nachweis von Pilz-eDNA im Untersuchungsgebiet Taschbach

Im Untersuchungsgebiet Taschbach wurden in den Wasserproben insgesamt 19 Klassen terrestrische und 16 Klassen semi-aquatische Pilzen mittels eDNA nachgewiesen. Weiters konnten so auch drei Klassen aquatische und 8 Klassen nicht nach ihrer terrestrischen oder aquatischen Lebensweise klassifizierbare Pilze detektiert werden (Abb. 28). Im Vergleich dazu wurden in den anderen Probenotypen fast ähnlich hohe Anzahl an Klassen unter den terrestrischen Pilzen nachgewiesen, obwohl hier die Probenzahlen deutlich geringer waren.

Eine detaillierte Übersicht zu den nachgewiesenen Taxa ist in Appendix Tabellen F-TB-A, F-TB-pA, F-TB-T und F-TB-U zu finden.

Aufgrund der sehr hohen Diversität an nachgewiesenen Pilztaxa werden nachfolgend nur die terrestrischen Pilze näher besprochen, da diese im Fokus des gegenständlichen Projektes standen.

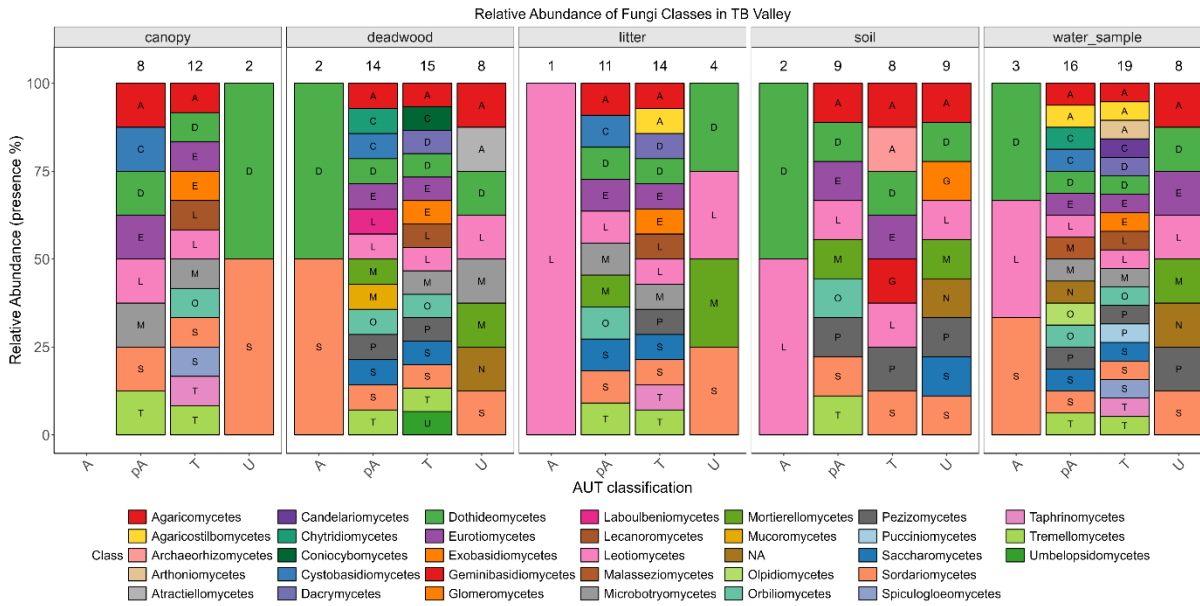


Abb. 28: Anzahl der nachgewiesenen Klassen von aquatischen (A), semi-aquatischen (pA), terrestrischen (T) und unklassifizierbaren (U) Pilzen in den verschiedenen Probenarten für das Untersuchungsgebiet Taschbach. Die Gesamtzahl der Klassen ist jeweils über der entsprechenden Säule angegeben. Probenarten: canopy = Regensammler, deadwood = Totholz, litter = Streu, soil = Boden, water_sample = Wasserfilterprobe

Nachweis von eDNA terrestrischer Pilze in den Wasserproben

In den Wasserproben, die im Untersuchungsgebiet Taschbach genommen wurden, konnten 473 terrestrische Pilztaxa identifiziert werden, die eine beeindruckende Vielfalt an Ordnungen und Familien repräsentieren. Die Ergebnisse zeigen eine breite taxonomische Streuung innerhalb der beiden Haupt-Phyla Ascomycota (Schlauchpilze) und Basidiomycota (Ständerpilze), die jeweils durch eine Vielzahl von Klassen und Ordnungen vertreten sind.

Innerhalb der Ascomycota wurden insgesamt 10 Klassen nachgewiesen, darunter die Arthoniomycetes (Flechtenpilze), die durch die Ordnung Arthoniales (Flechtenpilzartige) mit einer Art und einer Familie vertreten sind. Eine weitere Klasse, die Candelariomycetes (Kerzenflechtenpilze), umfasst die Ordnung Candelariales (Kerzenflechtenpilzartige), die ebenfalls eine Art und eine Familie aufweist. Besonders artenreich ist die Klasse der Dothideomycetes (Rußrindenpilze), die mit 10 Ordnungen vertreten ist, darunter die Botryosphaerales (Botryosphaeriaartige) mit sieben Arten und vier Familien sowie die Pleosporales (Kernpilzartige), die mit 51 Arten und 15 Familien die höchste Diversität innerhalb dieser Klasse aufweisen.

Auch die Eurotiomycetes (Gießkannenschimmelverwandte) und die Lecanoromycetes (Flechtenpilze) tragen zum Artenreichtum im Untersuchungsgebiet Taschbach bei. Die Lecanorales (Flechtenartige) innerhalb der Lecanoromycetes umfassen 20 Arten, die sich auf 10 Familien verteilen. Die Klasse der Leotiomyces (Becherlingsverwandte) ist mit 108 Arten in der Ordnung Helotiales (Helotiumartige) besonders divers, während die Rhytismatales

(Nadelholzfleckenpilzartige) mit 33 Arten und zwei Familien ebenfalls eine bedeutende Rolle spielen. Weitere erwähnenswerte Klassen sind die Orbiliomycetes (Nematodenfallenpilze) und die Pezizomycetes (Becherlinge), die jeweils durch spezifische Ordnungen wie die Orbiliales (Orbiliaartige) und die Pezizales (Becherlingsartige) vertreten sind.

Die Basidiomycota zeigen ebenfalls eine beeindruckende Diversität. Die Klasse der Agaricomycetes (Hutpilze) ist mit 10 Ordnungen besonders vielfältig. Die Agaricales (Blätterpilzartige) umfassen 20 Arten, die sich auf 10 Familien verteilen, während die Polyporales (Porlingsartige) mit 15 Arten und neun Familien ebenfalls häufig auftreten. Weiters konnten innerhalb dieser Klasse auch die Ordnungen Russulales (Täublingsartige) mit acht Arten und fünf Familien sowie die Hymenochaetales (Porlingsartige) mit 10 Arten und sechs Familien nachgewiesen werden.

Schließlich wurden in den Klassen der Tremellomycetes (Zitterlingsartige) und der Dacrymycetes (Tränenpilze) die folgenden Ordnungen identifiziert: Die Tremellales (Zitterlingsartige) innerhalb der Tremellomycetes umfassen 20 Arten, die sich auf fünf Familien verteilen, während die Dacrymycetales (Tränenpilzartige) mit einer Art und einer Familie vertreten sind. Auch die Exobasidiomycetes (Brandpilzartige) und die Microbotryomycetes (Rostpilzartige) tragen mit spezifischen Ordnungen wie den Exobasidiales (Brandpilzartige) und den Kriegeriales (Kriegeriaartige) zur Diversität bei.

Die jeweiligen Arten wurden durchschnittlich in 4,1 Proben ($\pm 9,1$ SD) festgestellt. Die durchschnittliche Sequenzzahl des jeweiligen Taxons lag bei 1.017 Sequenzen (± 8.001 SD) pro Probe. Eine detaillierte Übersicht zu den nachgewiesenen Taxa ist in Appendix Tabelle F-TB-T zu finden.

Ökologische Bewertung der nachgewiesenen terrestrischen Pilztaxa

Ein Großteil der nachgewiesenen Taxa gehört zu saprotrophen Pilzen, die abgestorbenes organisches Material wie Laub, Holz oder Nadeln zersetzen. Diese Pilze, wie beispielsweise Arten der Ordnungen Helotiales (Helotiumartige) und Polyporales (Porlingsartige), tragen wesentlich zum Nährstoffkreislauf in Wäldern bei, indem sie organische Substanzen abbauen und die freigesetzten Nährstoffe wieder für Pflanzen verfügbar machen. Besonders häufig wurden Pilze gefunden, die auf Totholz oder Streu spezialisiert sind, was die Bedeutung dieser Substrate für die Pilzdiversität in Wäldern unterstreicht.

Neben den saprotrophen Pilzen wurden auch zahlreiche symbiotische Arten nachgewiesen, insbesondere Mykorrhizapilze. Diese Pilze, wie Vertreter der Ordnungen Russulales (Täublingsartige) und Agaricales (Blätterpilzartige), leben in enger Verbindung mit den Wurzeln von Bäumen und fördern deren Nährstoffaufnahme, insbesondere von Phosphor und Stickstoff.

Einige der nachgewiesenen Taxa sind als Flechtenpilze bekannt, die in Symbiose mit Algen oder Cyanobakterien leben. Diese Pilze, wie Vertreter der Ordnungen Lecanorales (Flechtenartige) und Arthoniales (Flechtenpilzartige), sind häufig auf Baumrinde, Steinen oder im Boden zu finden und tragen zur Stabilisierung von Oberflächen sowie zur Bodenbildung bei.

Schließlich wurden auch parasitische Pilze identifiziert, die lebende Pflanzen oder Bäume befallen. Beispiele hierfür sind Arten der Ordnungen Taphrinales (Nacktbasidienartige) und Exobasidiales (Brandpilzartige). Diese Pilze können Krankheiten verursachen, die das Wachstum der betroffenen Pflanzen beeinträchtigen.

Zusammenfassend zeigt die Analyse, dass die mittels eDNA nachgewiesenen Pilztaxa eine breite Palette ökologischer Funktionen in Wäldern erfüllen. Sie sind nicht nur entscheidend für den Abbau organischer Substanzen und die Nährstoffversorgung von Pflanzen, sondern auch für die Stabilität und Dynamik des gesamten Waldökosystems.

10.2.4 Nachweis pathogener Pilze in den Untersuchungsgebieten

Die in den Untersuchungsgebieten Gunggl und Taschbach nachgewiesenen Pilze umfassen 56 Arten, die als Schädlinge oder Krankheitserreger auf Pflanzen (46 Arten), Insekten (6 Arten) und potenziell bei Menschen pathogen wirken können (4 Arten) (Tabelle 4). Insgesamt wurden im Untersuchungsgebiet Gunggl 46 Arten und im Taschbach 36 Arten an pathogenen Pilzen gefunden. Dabei wurden 20 Arten, die in der Gunggl detektiert wurden, nicht im Taschbach gefunden und umgekehrt 10 Arten exklusiv im Untersuchungsgebiet Taschbach. Im Folgenden werden die wichtigsten Wirte und die Einstufung der Pilze als Schädlinge oder Krankheitserreger beschrieben.

Pflanzenpathogene Pilze

Mit 46 Arten gehört der Großteil der nachgewiesenen pathogenen Pilze zu den Pflanzenpathogenen, die Blätter, Stängel, Wurzeln oder Früchte befallen und Krankheiten verursachen.

Einige der häufigsten und forstwirtschaftlich relevanten Pilze gehören zur Gattung *Lophodermium*, die Nadelbäume wie Fichten (*Picea*) und Kiefern (*Pinus*) befällt. Diese Pilze, darunter *Lophodermium piceae* und *Lophodermium pinastri*, verursachen Nadelbräune, eine Krankheit, die die Vitalität der Bäume erheblich beeinträchtigen kann. Besonders in Taschbach wurde *Lophodermium piceae* mit 113 Proben deutlich häufiger nachgewiesen als in Gunggl, wo nur 22 Proben registriert wurden. Auch andere *Lophodermium*-Arten wie *Lophodermium corconticum* und *Lophodermium sp.* waren in Taschbach mit 56 bzw. 77 Nachweisen stark vertreten, was auf eine höhere Belastung der Nadelbäume in diesem Gebiet hinweist.

Ein weiterer bedeutender Krankheitserreger ist *Heterobasidion*, ein Pilz, der Nadelbäume wie Fichten und Kiefern befällt und Wurzelfäule verursacht. Diese Krankheit führt zu erheblichen wirtschaftlichen Schäden in Wäldern, da sie die Stabilität und das Wachstum der Bäume beeinträchtigt. In Taschbach wurde *Heterobasidion sp.* mit drei Proben häufiger nachgewiesen als in Gunggl, wo nur eine Probe registriert wurde. Dies unterstreicht die Bedeutung dieses Pilzes als forstwirtschaftliches Problem, insbesondere in Taschbach.

Auch die Gattung *Taphrina*, die Laubbäume wie Erlen (*Alnus*), Hainbuchen (*Carpinus*) und Kirschen (*Prunus*) befällt, war in beiden Gebieten präsent. Diese Pilze verursachen Blattdeformationen und Hexenbesen, die das Wachstum und die Vitalität der Bäume beeinträchtigen können. Besonders *Taphrina carpini* war in Taschbach mit 30 Proben deutlich häufiger vertreten als in Gunggl, wo 13 Proben nachgewiesen wurden. Auch andere *Taphrina*-Arten wie *Taphrina padi* und *Taphrina alni* wurden in beiden Gebieten gefunden, wobei Taschbach insgesamt eine höhere Prävalenz aufwies.

Neben diesen Baumkrankheiten wurden auch Pilze nachgewiesen, die krautige Pflanzen und Gräser befallen. Die Gattung *Fusarium*, die für Welkekrankheiten und Wurzelfäule bekannt ist,

war in beiden Gebieten stark vertreten. In Taschbach wurden *Fusarium*-Arten mit 19 Proben häufiger nachgewiesen als in Gunggl, wo 9 Proben registriert wurden. Diese Pilze können auch junge Bäume und Setzlinge in Baumschulen schädigen, was ihre Bedeutung für die Forstwirtschaft unterstreicht.

Einige Pilze, wie die Gattung *Herpotrichia*, die Schneeschimmel bei Nadelbäumen verursacht, waren in beiden Gebieten ähnlich häufig vertreten. In Gunggl wurde *Herpotrichia sp.* in 8 Proben nachgewiesen, in Taschbach in 6 Proben. Schneeschimmel kann insbesondere in schneereichen Regionen zu erheblichen Schäden an Nadeln und Zweigen führen

Echte Mehltaupilze (Erysiphales): Arten wie *Blumeria graminis*, *Erysiphe trifoliorum* und *Golovinomyces ambrosiae* befallen vor allem krautige Pflanzen und Gräser. Sie verursachen Mehltau, der durch weiße, pulverartige Beläge auf den Blättern gekennzeichnet ist. Diese Pilze wurden in beiden Gebieten nachgewiesen, wobei *Blumeria graminis* in Taschbach mit 10 Proben deutlich häufiger vorkam als in Gunggl (5 Proben).

Fusarium-Arten: Pilze wie *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum* und *Fusarium solani* sind bodenbürtige Krankheitserreger, die Wurzeln und Stängel von Pflanzen befallen. Sie verursachen Welkekrankheiten und Wurzelfäule. In beiden Gebieten wurden zahlreiche *Fusarium*-Arten nachgewiesen, wobei Taschbach mit 19 Proben und 814 Sequenzen eine höhere Diversität aufwies als Gunggl (9 Proben, 1011 Sequenzen).

Insektenpathogene Pilze

Insgesamt 6 der nachgewiesenen Pilzarten sind spezialisierte Krankheitserreger bei Insekten und spielen eine wichtige Rolle in der natürlichen Schädlingskontrolle.

Beauveria-Arten: *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii* und *Beauveria pseudobassiana* sind bekannte Insektenpathogene, die eine Vielzahl von Insektenarten befallen. Sie verursachen systemische Infektionen, die zum Tod der Wirte führen. Diese Pilze wurden in beiden Gebieten nachgewiesen, wobei *Beauveria brongniartii* in Taschbach mit 10 Proben häufiger vorkam als in Gunggl (1 Probe).

Cordyceps militaris: Dieser Pilz befällt Insektenlarven und ist für seine auffälligen Fruchtkörper bekannt. Er wurde in beiden Gebieten nachgewiesen, wobei im Taschbach mit 13 Proben eine deutlich höhere Prävalenz festgestellt wurde als in der Gunggl (1 Probe).

10.2.5 Unterschiede zwischen Gunggl und Taschbach

Besonders auffällig sind Arten, die in vielen Proben gefunden wurden, da sie auf eine weite Verbreitung und potenziell größere Bedeutung hinweisen. Dabei zeigen sich deutliche Unterschiede zwischen den beiden Gebieten, sowohl in der Häufigkeit als auch in der Diversität der nachgewiesenen Pilzarten. Im Untersuchungsgebiet Taschbach wurden insgesamt mehr Proben mit pathogenen Pilzarten nachgewiesen (insgesamt 470), insbesondere bei forstwirtschaftlich relevanten Gattungen wie *Lophodermium*, *Heterobasidion* und *Taphrina*. Dies deutet auf eine stärkere Belastung durch pflanzenpathogene Pilze in Taschbach hin. In der Gunggl hingegen zeigte sich eine geringere Prävalenz mit insgesamt 187 Proben, die eDNA von pathogenen Pilzen enthielten; allerdings traten jedoch ebenfalls wichtige Krankheitserreger wie *Heterobasidion sp.* und *Lophodermium piceae* auf, die für Nadelwälder von großer Bedeutung sind. Die Ergebnisse unterstreichen das große Potential, das eDNA aus Bächen für das Monitoring der Verbreitung forstwirtschaftlich relevanter Pilzarten haben kann.

Tabelle 4: Pathogene Pilzarten, die in Wasserproben in den Untersuchungsgebieten Gunggl und Taschbach nachgewiesen werden konnten. Angegeben ist die Anzahl an Proben (N Proben), in denen die jeweiligen Arten nachgewiesen wurden, die kumulative Anzahl an DNA-Sequenzen (Sequenzen), die in allen Proben gefunden wurden sowie die Klassifizierung der jeweiligen Art als Pflanzen-, Insekten oder Humanpathogen.

Art	Gunggl		Taschbach		Klassifizierung
	N Proben	Sequenzen	N Proben	Sequenzen	
Ampelomyces quisqualis	10	145			Pflanzenpathogen
Ampelomyces sp.	2	585			Pflanzenpathogen
Beauveria asiatica	1	8	1	22	Insektenpathogen
Beauveria bassiana	1	62			Insektenpathogen
Beauveria brongniartii	1	31	10	350	Insektenpathogen
Beauveria caledonica	1	8	1	18	Insektenpathogen
Beauveria pseudobassiana	7	134	7	134	Insektenpathogen
Blumeria graminis	5	1.296	11	6.314	Pflanzenpathogen
Blumeria sp.	1	12			Pflanzenpathogen
Candida glabrata			1	18	Humanpathogen
Claviceps purpurea	4	53	2	21	Pflanzenpathogen
Cordyceps militaris	1	370	13	550	Insektenpathogen
Erysiphe deutziae			1	7	Pflanzenpathogen
Erysiphe euonymicola	1	60			Pflanzenpathogen
Erysiphe sp.			2	79	Pflanzenpathogen
Erysiphe trifoliorum	1	7	2	60	Pflanzenpathogen
Erysiphe vanbruntiana	2	14			Pflanzenpathogen
Fusarium acuminatum	2	15	7	189	Pflanzenpathogen
Fusarium avenaceum	2	515	1	564	Pflanzenpathogen
Fusarium equiseti			1	20	Pflanzenpathogen
Fusarium lateritium			1	14	Pflanzenpathogen
Fusarium merismoides	3	34			Pflanzenpathogen
Fusarium oxysporum	1	89			Pflanzenpathogen
Fusarium solani			1	5	Pflanzenpathogen
Fusarium sp.	9	1.011	19	814	Pflanzenpathogen
Fusarium tenuicristatum			1	5	Pflanzenpathogen
Golovinomyces ambrosiae	1	397	1	25	Pflanzenpathogen
Golovinomyces cynoglossi	1	8			Pflanzenpathogen
Herpotrichia sp.	8	195	6	79	Pflanzenpathogen
Heterobasidium sp.	1	6	3	22	Pflanzenpathogen
Lophodermium conigenum	1	18	8	167	Pflanzenpathogen
Lophodermium corconticum			56	4.264	Pflanzenpathogen
Lophodermium piceae	22	3.772	113	66.611	Pflanzenpathogen
Lophodermium pinastri	6	12.167			Pflanzenpathogen
Lophodermium sp.	5	133	77	6.632	Pflanzenpathogen
Melampsora caprearum	1	7			Pflanzenpathogen
Melampsorium hiratsukanum	2	43			Pflanzenpathogen
Mycosphaerella calamagrostidis	1	1.669			Pflanzenpathogen
Olpidium brassicae	21	4.924	10	254	Pflanzenpathogen
Ramularia collo-cygni	2	15	3	39	Pflanzenpathogen
Ramularia trollii	7	1.708	44	85.148	Pflanzenpathogen
Rhizoctonia butinii	1	5			Pflanzenpathogen
Rhizoctonia quercus	1	7			Pflanzenpathogen
Rhizoctonia solani	4	50			Pflanzenpathogen
Taphrina alni	4	171	2	14	Pflanzenpathogen
Taphrina carpini	13	220	30	406	Pflanzenpathogen
Taphrina epiphylla			1	6	Pflanzenpathogen
Taphrina gei-montani	2	12			Pflanzenpathogen
Taphrina padi	4	44	6	51	Pflanzenpathogen
Taphrina sp.	14	508	12	206	Pflanzenpathogen
Taphrina vestergrenii	1	7	4	34	Pflanzenpathogen
Taphrina wiesneri			1	5	Pflanzenpathogen
Trichosporon asahii	1	7			Humanpathogen
Trichosporon dohaense	1	5			Humanpathogen
Trichosporon sp.	2	449			Humanpathogen
Trybliopsis pinastri	5	3.136	11	581	Pflanzenpathogen

Nachfolgend wird eine Übersicht der Gattungen von pflanzenpathogenen Pilzen aus Tabelle 4 einschließlich ihrer Wirtsarten gegeben. Arten, die als Pathogene für Bäume und die Forstwirtschaft von Bedeutung sind, werden zusätzlich angeführt.

Ampelomyces

- **Wirtsarten:** *Ampelomyces quisqualis* und *Ampelomyces sp.* sind Hyperparasiten, die Mehltaupilze (Erysiphales) befallen. Sie parasitieren auf einer Vielzahl von Pflanzen, darunter Weinreben (*Vitis vinifera*) und anderen krautigen Pflanzen.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Keine direkte Bedeutung für Bäume, aber potenziell nützlich als biologisches Kontrollmittel gegen Mehltaupilze.

Beauveria

- **Wirtsarten:** *Beauveria asiatica*, *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Beauveria caledonica* und *Beauveria pseudobassiana* sind Insektenpathogene, die eine Vielzahl von Insektenarten befallen, darunter forstwirtschaftlich relevante Schädlinge wie Borkenkäfer (*Ips typographus*).
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Diese Pilze sind insbesondere in Nadelwäldern wichtige biologische Kontrollmittel gegen Insektenschädlinge, die Bäume befallen.

Blumeria

- **Wirtsarten:** *Blumeria graminis* und *Blumeria sp.* befallen Gräser und Getreidearten wie Weizen (*Triticum aestivum*), Gerste (*Hordeum vulgare*) und Hafer (*Avena sativa*). Sie verursachen Echten Mehltau.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Keine direkte Bedeutung für Bäume, aber relevant für landwirtschaftliche Kulturen.

Candida

- **Wirtsarten:** *Candida glabrata* ist ein opportunistischer Hefepilz, der keine spezifischen Pflanzen befällt.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Keine Relevanz.

Claviceps

- **Wirtsarten:** *Claviceps purpurea* befällt Gräser und Getreidearten wie Roggen (*Secale cereale*), wo er Mutterkorn verursacht.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Keine direkte Bedeutung für Bäume, aber relevant für landwirtschaftliche Kulturen.

Cordyceps

- **Wirtsarten:** *Cordyceps militaris* ist ein Insektenpathogen, das Larven und Puppen von Insekten befällt.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Indirekt relevant, da es Insektenschädlinge in Wäldern kontrollieren kann.

Erysiphe

- **Wirtsarten:** *Erysiphe deutziae*, *Erysiphe euonymicola*, *Erysiphe trifoliorum*, *Erysiphe vanbruntiana* und andere *Erysiphe*-Arten befallen eine Vielzahl von Laubgehölzen, krautigen Pflanzen und Gräsern. Sie verursachen Echten Mehltau.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** *Erysiphe euonymicola* und verwandte Arten können Laubbäume wie Ulmen (*Ulmus*) und Ahorn (*Acer*) befallen, was ihre Vitalität beeinträchtigen kann.

Fusarium

- **Wirtsarten:** *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium solani* und andere *Fusarium*-Arten befallen eine Vielzahl von Pflanzen, darunter Getreide, Gemüse und Bäume. Sie verursachen Welkekrankheiten, Wurzelfäule und Stängelfäule.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** *Fusarium oxysporum* und verwandte Arten können junge Bäume und Setzlinge in Baumschulen befallen, was zu erheblichen Verlusten führen kann.

Golovinomyces

- **Wirtsarten:** *Golovinomyces ambrosiae* und *Golovinomyces cynoglossi* befallen krautige Pflanzen wie Ambrosia (*Ambrosia artemisiifolia*).
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Keine direkte Bedeutung für Bäume.

Herpotrichia

- **Wirtsarten:** *Herpotrichia sp.* befällt Nadelbäume und verursacht Schneeschimmel, der Nadeln und Zweige schädigt.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Relevant für Nadelwälder, insbesondere in schneereichen Regionen.

Heterobasidion

- **Wirtsarten:** *Heterobasidion sp.* befällt Nadelbäume wie Fichten (*Picea*) und Kiefern (*Pinus*). Es verursacht Wurzelfäule, die zu erheblichen wirtschaftlichen Schäden führt.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Einer der bedeutendsten Krankheitserreger in Nadelwäldern.

Lophodermium

- **Wirtsarten:** *Lophodermium piceae*, *Lophodermium pinastri* und andere *Lophodermium*-Arten befallen Nadelbäume wie Fichten und Kiefern. Sie verursachen Nadelbräune.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Wichtige Krankheitserreger, die die Vitalität von Nadelbäumen beeinträchtigen können.

Melampsora

- **Wirtsarten:** *Melampsora caprearum* befällt Weiden (*Salix*), während *Melampsorium hiratsukanum* Birken (*Betula*) befällt. Beide verursachen Rostkrankheiten.

- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Relevant für Weiden- und Birkenbestände.

Mycosphaerella

- **Wirtsarten:** *Mycosphaerella calamagrostidis* befällt Gräser und verursacht Blattfleckenkrankheiten.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Keine direkte Bedeutung für Bäume.

Olpidium

- **Wirtsarten:** *Olpidium brassicae* ist ein bodenbürtiger Pilz, der Wurzeln von krautigen Pflanzen befällt.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Keine Relevanz.

Ramularia

- **Wirtsarten:** *Ramularia collo-cygni* und *Ramularia trollii* befallen krautige Pflanzen und Gräser. Sie verursachen Blattfleckenkrankheiten.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Keine direkte Bedeutung für Bäume.

Rhizoctonia

- **Wirtsarten:** *Rhizoctonia solani* und verwandte Arten befallen eine Vielzahl von Pflanzen, darunter Bäume, Gemüse und Getreide. Sie verursachen Wurzelfäule und Dämpfungskrankheiten.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Kann junge Bäume und Setzlinge in Baumschulen schädigen.

Taphrina

- **Wirtsarten:** *Taphrina alni*, *Taphrina carpini*, *Taphrina padi* und andere *Taphrina*-Arten befallen Laubbäume wie Erlen (*Alnus*), Hainbuchen (*Carpinus*) und Kirschen (*Prunus*). Sie verursachen Blattdeformationen und Hexenbesen.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Wichtige Krankheitserreger von Laubbäumen.

Tryblidiopsis

- **Wirtsarten:** *Tryblidiopsis pinastri* befällt Nadelbäume wie Kiefern (*Pinus*) und verursacht Rindenkrankheiten.
- **Bedeutung für die Forstwirtschaft:** Relevant für Kiefernwälder.

10.2.6 Nachweis von eDNA terrestrischer Pilze entlang der Bachverläufe

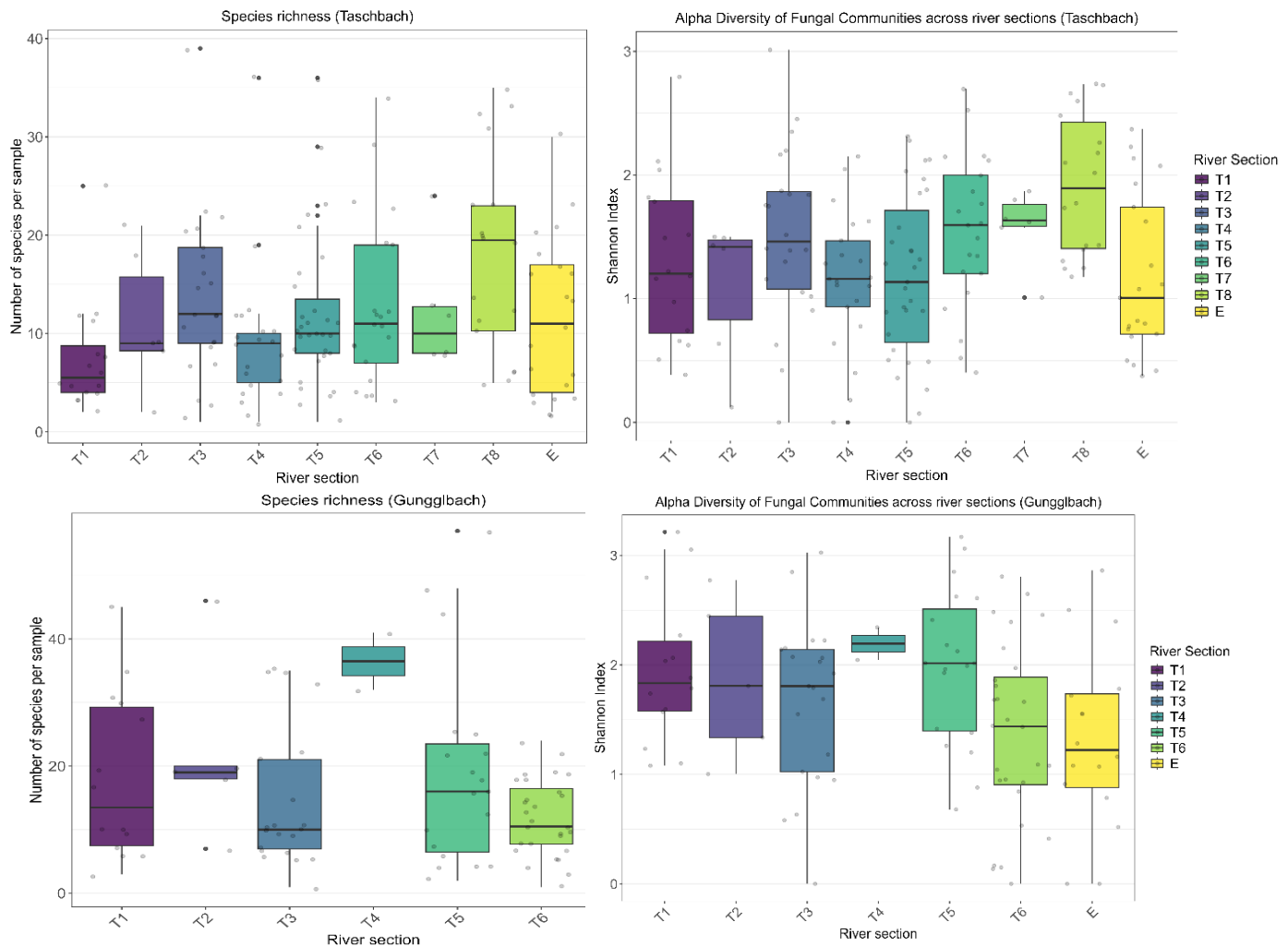


Abb. 29: Durchschnittliche Anzahl der terrestrischen Pilztaxa (links) und der Pilzdiversität (rechts) in Wasserproben, die entlang des Bachverlaufs im Untersuchungsgebiet Taschbach (obere Reihe) und Gunggl (untere Reihe) entnommen wurden.

Im Untersuchungsgebiet Taschbach (Abb. 29, oben) zeigten sich signifikante Unterschiede in der Artenvielfalt terrestrischer Pilze zwischen den verschiedenen Probenahmestellen ($p < 0,05$). Die höchste mittlere Anzahl an MOTUs (Molecular Operational Taxonomic Units) wurde an den Standorten T8 und T3 gemessen. Insbesondere wies T8 eine signifikant höhere mittlere Artenzahl auf als T1 ($p < 0,002$) und T4 ($p < 0,02$). Auch die Alpha-Diversität terrestrischer Pilze variierte deutlich zwischen den Standorten ($p < 0,003$). Die höchste Diversität wurde ebenfalls an T8 festgestellt, die signifikant höher war als an den Standorten T4 ($p < 0,02$), T5 ($p < 0,008$) und E ($p < 0,03$).

Im Untersuchungsgebiet Gunggl hingegen konnten keine signifikanten Unterschiede in der Artenvielfalt terrestrischer Pilze zwischen den verschiedenen Flussabschnitten festgestellt werden (p n.s., Abb. 29, unten). Die höchste mittlere Anzahl an MOTUs wurde an den Standorten T1, T5 und T6 gemessen. Für T4 lagen jedoch zu wenige Proben vor, um verlässliche Aussagen treffen zu können. Auch die Alpha-Diversität zeigte keine signifikanten Unterschiede

zwischen den Standorten (p n.s.). Die höchsten Diversitätswerte wurden jedoch im oberen Flussabschnitt (T1–T3) sowie kurz vor der Mündung bei T5 gemessen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass im Taschbach sowohl die Artenvielfalt als auch die Alpha-Diversität terrestrischer Pilze deutliche räumliche Unterschiede aufwies, wobei T8 als Hotspot für die Diversität hervorstach. In der Gunggl hingegen waren keine signifikanten räumlichen Unterschiede erkennbar, auch wenn die höchsten Diversitätswerte in bestimmten Flussabschnitten, insbesondere im oberen Bereich und vor der Mündung, beobachtet wurden.

Für die Beprobung lässt sich dabei ableiten, dass in den untern Bachbereichen nahe der Mündung mit einer höheren Artenvielfalt und Diversität an terrestrischen Pilzen zu rechnen ist.

10.2.7 Nachweis von eDNA terrestrischer Pilze im zeitlichen Verlauf

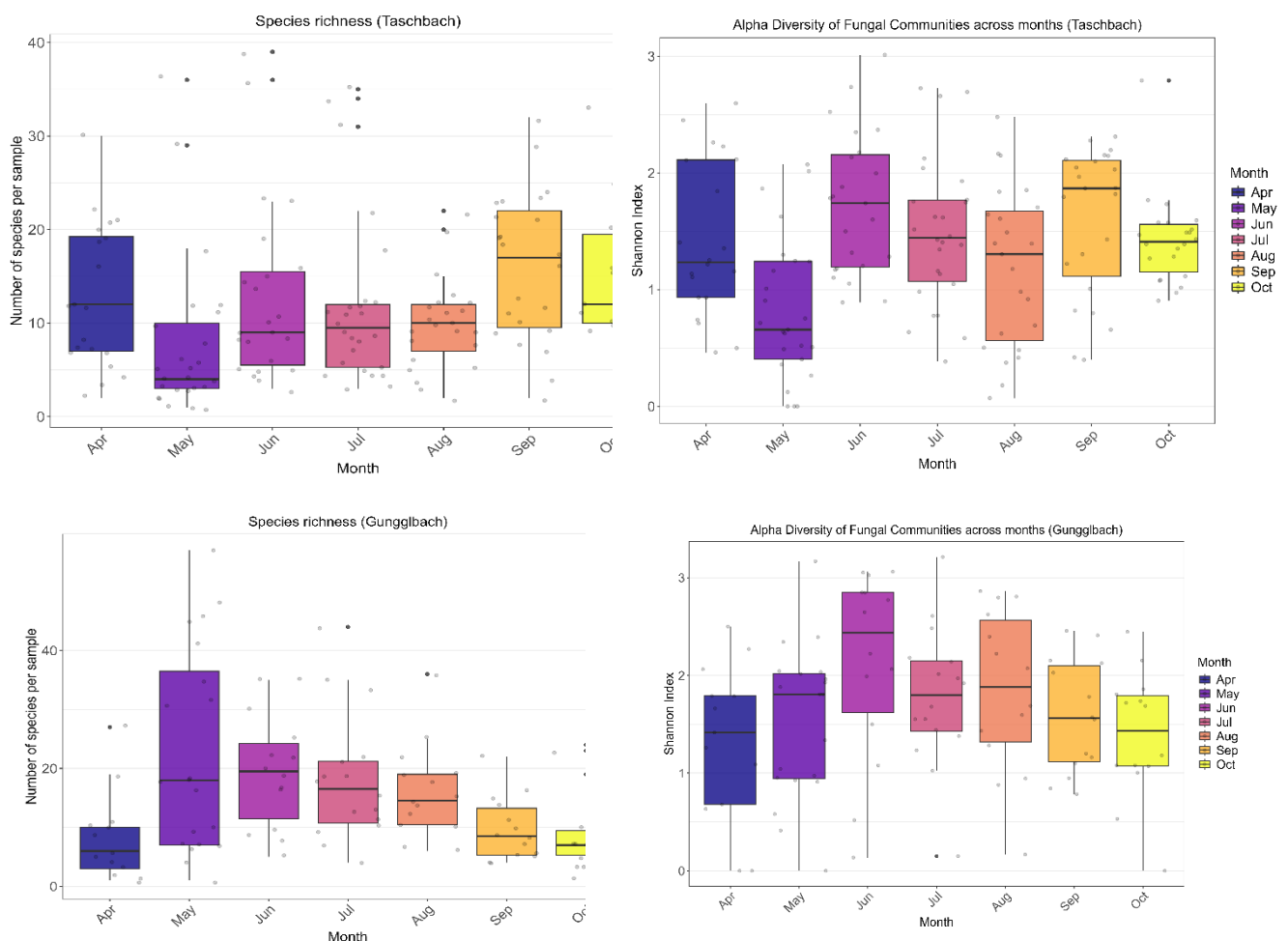


Abb. 30: Durchschnittliche Anzahl der terrestrischen Pilz-Taxa (links) und der Pilzdiversität (rechts) in Wasserproben, die in verschiedenen Monaten im Untersuchungsgebiet Taschbach (obere Reihe) und Gunggl (untere Reihe) entnommen wurden.

Im Untersuchungsgebiet Taschbach zeigte sich eine signifikante Variation der Artenvielfalt terrestrischer Pilze in den Wasserproben über die Monate hinweg ($p < 0,002$; Abb 30, oben). Die höchste durchschnittliche Anzahl an MOTUs (Molecular Operational Taxonomic Units) terrestrischer Pilze wurde im September ($p < 0,001$) und Oktober ($p < 0,01$) festgestellt, wobei

diese Werte signifikant höher waren als im Mai. Auch die Alpha-Diversität terrestrischer Pilze variierte deutlich zwischen den Monaten ($p < 0,001$). Im Mai war die Diversität signifikant niedriger als in allen anderen Monaten (April: $p < 0,005$; Juni: $p < 0,001$; Juli: $p < 0,007$; September: $p < 0,001$; Oktober: $p < 0,004$), mit Ausnahme des Augusts. Die höchste Alpha-Diversität wurde in den Monaten Juni und September gemessen.

Im Untersuchungsgebiet Gunggl hingegen wurden keine signifikanten Unterschiede in der Artenvielfalt terrestrischer Pilze zwischen den Monaten festgestellt (p n.s., Abb 30, unten). Die höchste mittlere Anzahl an MOTUs wurde in den Monaten zwischen Mai und August beobachtet. Im Gegensatz dazu zeigte die Alpha-Diversität terrestrischer Pilze in den Wasserproben deutliche monatliche Unterschiede ($p < 0,001$). Die höchste Diversität wurde im Juni gemessen, während die niedrigste Diversität im April festgestellt wurde. Diese war signifikant geringer als in den Monaten Mai ($p < 0,0001$), Juni ($p < 0,01$) und Juli ($p < 0,03$). Darüber hinaus war die Alpha-Diversität im Juni signifikant höher als im Oktober ($p < 0,04$).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Artenvielfalt und Alpha-Diversität terrestrischer Pilze in den Wasserproben des Taschbachs und der Gunggl zeitliche Unterschiede aufwiesen. Während im Taschbach insbesondere die Monate September und Oktober durch eine hohe Diversität hervorstachen, erreichte die Alpha-Diversität in der Gunggl ihren Höhepunkt im Juni.

Hinsichtlich eines idealen Probenahme-Zeitpunktes zur Erfassung einer möglichst breiten Artenvielfalt und Diversität an Pilzen lässt sich aus den vorliegenden Daten schlussfolgern, dass das Frühjahr zu vermeiden ist. Sommer bzw. Spätsommer und Herbst dagegen sind für eine möglichst breite Erfassung von terrestrischen Pilzen am besten geeignet, wobei in diesem Zeitraum 2-3 Probenahme-Termine zu empfehlen sind.

10.3 Nachweis von Pflanzen eDNA

Die Analyse der Umwelt-DNA von höheren Pflanzen zeigte eine besonders große Artenvielfalt in den Wasserproben: In der Gunggl konnten insgesamt 289 Pflanzenarten identifiziert und im Taschbach 260 Arten nachgewiesen werden.

In den Bodenproben war die Artenvielfalt hingegen deutlich geringer. Hier wurden im Untersuchungsgebiet Gunggl 74 Pflanzenarten festgestellt, während in der Region Taschbach lediglich 34 Arten detektiert wurden. Ähnlich verhielt es sich bei den Streuproben, in denen 26 Arten im Gunggl- und 14 Arten im Taschbach-Gebiet nachgewiesen werden konnten.

Ein anderes Bild zeigte sich bei den Totholzproben: Im Gunggl-Gebiet wurden 41 Pflanzenarten identifiziert, während im Taschbach-Gebiet mit 57 Arten eine höhere Diversität festgestellt wurde. Die Regensammler lieferten vergleichsweise wenig Nachweise, wobei in der Region Gunggl 14 Arten und im Taschbach-Gebiet 17 Arten detektiert wurden.

Die deutlich höhere Anzahl an Pflanzenarten, die in den Wasserproben nachgewiesen werden konnte, lässt sich durch die größere Anzahl an entnommenen Proben erklären. Im Gunggl-Gebiet wurden 114 Wasserproben analysiert, im Taschbach-Gebiet sogar 162. Im Gegensatz dazu wurden bei den anderen Probenotypen – Boden, Streu, Totholz und Regensammler – jeweils nur sechs Proben pro Untersuchungsgebiet entnommen, was die geringere Artenvielfalt in diesen Probenotypen erklärt.

Die Analyse der Anzahl an Pflanzenarten in den verschiedenen Probenotypen zeigt deutliche Unterschiede zwischen den Untersuchungsgebieten und Probenotypen. In den Wasserproben

aus der Gunggl lag die durchschnittliche Artenzahl bei 24,4 (\pm 18,4 SD), während im Untersuchungsgebiet Taschbach im Mittel 13,7 (\pm 8,1 SD) Arten pro Probe festgestellt wurde (siehe Abb. 31).

Im Vergleich dazu war die Artenvielfalt in den terrestrischen Probenotypen – Regensammler, Totholz-, Streu- und Bodenproben – deutlich geringer. Hier wurden durchschnittlich zwischen 4 und 8 Pflanzenarten pro Probe nachgewiesen. Dieses Ergebnis verdeutlicht, dass Wasserproben eine signifikant höhere Pflanzenvielfalt detektierbar machen als die anderen untersuchten Probenotypen. Die Unterschiede könnten auf die spezifischen Eigenschaften der Wasserproben zurückzuführen sein, die eine größere Vielfalt an DNA-Spuren aus der Umgebung aufnehmen können.

Die durchschnittliche Anzahl an Sequenzen pro Probe war zwischen den Probenotypen deutlich verschieden (siehe Abb. 31). Im Untersuchungsgebiet Taschbach wurden durchschnittlich 8.809 Sequenzen pro Probe (\pm 12.226 SD) detektiert, während im Gunggl-Gebiet ein höherer Durchschnittswert von 13.537 Sequenzen pro Probe (\pm 20.054 SD) festgestellt wurde.

Besonders hohe Sequenzzahlen wurden in den Bodenproben nachgewiesen. Hier lag die durchschnittliche Anzahl an Pflanzen-DNA-Sequenzen bei 22.800 (\pm 16.295 SD) im Gunggl-Gebiet und bei 44.200 (\pm 44.371 SD) im Taschbach-Gebiet. Auch in den Streu-, Totholz- und Regensammlerproben konnten pro Probe zwischen durchschnittlich 3.900 und 13.800 Pflanzen-DNA-Sequenzen identifiziert werden.

Diese Ergebnisse zeigen, dass in allen untersuchten Probenotypen eine ausreichende Menge an Pflanzen-DNA vorhanden war. Die Unterschiede in der Sequenzanzahl zwischen den Probenotypen und Untersuchungsgebieten könnten auf unterschiedliche Umweltbedingungen und die spezifischen Eigenschaften der Proben zurückzuführen sein.

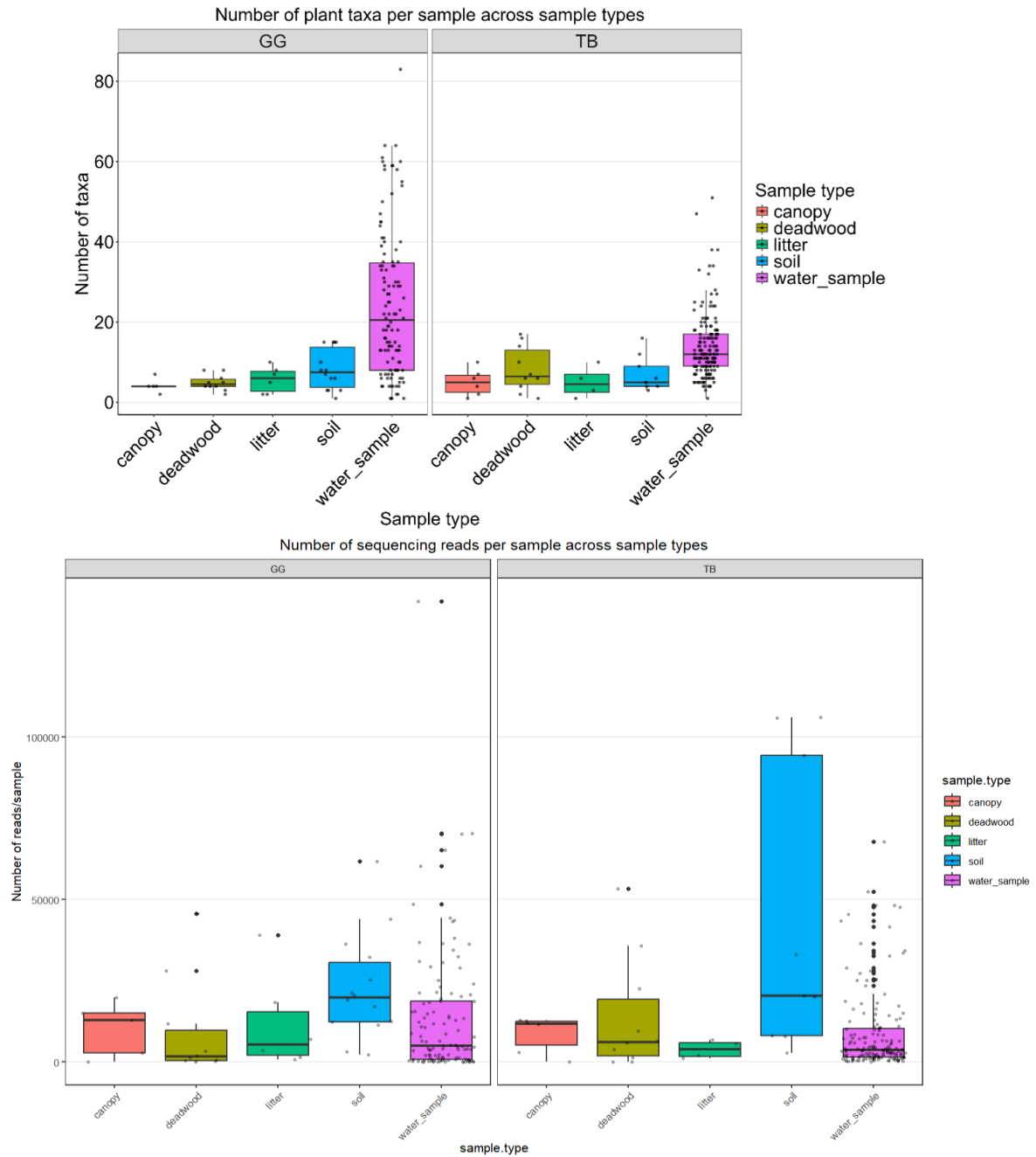


Abb. 31: Anzahl der nachgewiesenen Pflanzen-Taxa (oben) und Anzahl an DNA-Sequenzen (unten) pro Probe in den verschiedenen Probenarten für das Untersuchungsgebiet Gunggl (GG,) und Taschbach (TB). Probenarten: canopy = Regensammler, deadwood = Totholz, litter = Streu, soil = Boden, water_sample = Wasserfilterprobe

10.3.1 Nachweis von Pflanzen-eDNA in Wasserproben im Untersuchungsgebiet Gunggl

In den Wasserproben des Untersuchungsgebietes Gunggl wurde eDNA von insgesamt 36 Pflanzenordnungen nachgewiesen (Abb. 32). Bei den anderen Probenotypen waren es deutlich weniger Pflanzenordnungen, die detektiert werden konnten, jedoch wurden hier, wie bereits angeführt, deutlich weniger Proben entnommen.

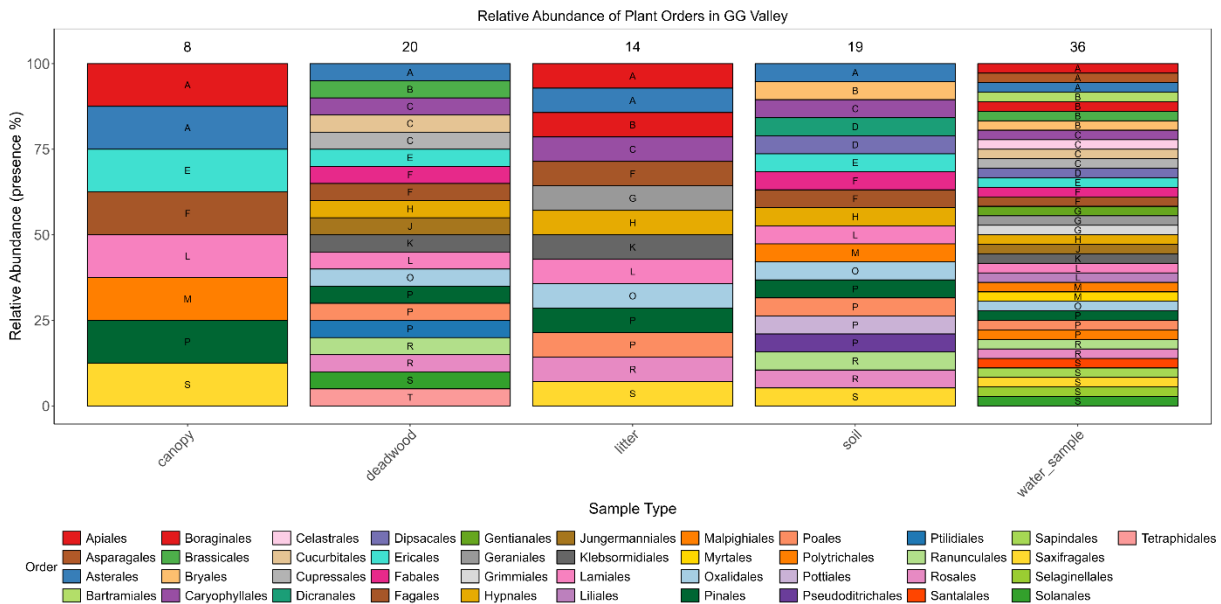


Abb. 32: Anzahl der nachgewiesenen Ordnungen von Pflanzen in den verschiedenen Probenotypen für das Untersuchungsgebiet Gunggl. Die Gesamtzahl der Ordnungen ist jeweils über der entsprechenden Säule angegeben. Probenotypen: canopy = Regensammler, deadwood = Totholz, litter = Streu, soil = Boden, water_sample = Wasserfilterprobe

Zu den Moosordnungen gehörten beispielsweise die Bartramienartigen (Bartramiales), in denen eine Art aus einer Familie nachgewiesen wurde, sowie die Laubmoosartigen (Bryales), die mit acht Arten aus vier Familien vertreten waren. Auch die Hypnienartigen (Hypnales) zeigten eine bemerkenswerte Vielfalt mit 14 Arten aus sieben Familien.

Unter den Gefäßpflanzen stachen die Doldenblütlerartigen (Apiales) hervor, die mit 15 Arten aus einer Familie vertreten waren, sowie die Asternartigen (Asterales), die mit 50 Arten aus zwei Familien eine besonders hohe Diversität aufwiesen. Die Kreuzblütlerartigen (Brassicales) und die Schmetterlingsblütlerartigen (Fabales) zeigten ebenfalls eine große Artenvielfalt mit jeweils 15 Arten aus einer Familie. Auch die Heidekrautartigen (Ericales) und die Süßgrasartigen (Poales) trugen mit 20 bzw. 50 Arten aus mehreren Familien erheblich zur Gesamtdiversität bei. Die Hahnenfußartigen (Ranunculales) und die Rosenartigen (Rosales) waren mit 15 bzw. 20 Arten ebenfalls gut vertreten.

Nachfolgend ist eine Übersicht der nachgewiesenen Ordnungen im Untersuchungsgebiet Gunggl mit den deutschen Namen, den lateinischen Namen, der Anzahl der nachgewiesenen Arten und der Anzahl der Familien pro Ordnung angegeben (Tabelle 5).

Tabelle 5: Übersicht der im Untersuchungsgebiet Gunggl nachgewiesenen Pflanzenordnungen.

Klasse	Ordnung	Ordnung (Latein)	Anzahl Familien	Anzahl Arten
Laubmoose	Bartramienartige	Bartramiales	1	1
	Laubmoosartige	Bryales	2	4
	Steinmoosartige	Grimmiales	2	5
	Schlafmoosartige	Hypnales	5	10
Lebermoose	Jungermannienartige	Jungermanniales	1	2
Klebsormidien	Klebsormidienartige	Klebsormidiales	1	2
Bärlappgewächse	Moosfarnartige	Selaginellales	1	1
Bedecktsamer	Doldenblütlerartige	Apiales	1	13
	Asternartige	Asterales	2	50
	Raublattgewächsartige	Boraginales	1	1
	Kreuzblütlerartige	Brassicales	1	9
	Nelkenartige	Caryophyllales	2	20
	Spindelbaumartige	Celastrales	1	1
	Geißblattartige	Dipsacales	2	3
	Heidekrautartige	Ericales	3	12
	Hülsenfrüchtlerartige	Fabales	1	10
	Buchenartige	Fagales	3	10
	Enzianartige	Gentianales	2	4
	Storchschnabelartige	Geraniales	1	1
	Lippenblütlerartige	Lamiales	4	15
	Malpighienartige	Malpighiales	3	5
	Nachtkerzenartige	Myrtales	1	3
	Sauerkleeartige	Oxalidales	1	1
	Süßgrasartige	Poales	4	40
	Hahnenfußartige	Ranunculales	2	10
	Rosengewächsartige	Rosales	2	20
	Sandelholzartige	Santalales	2	2
	Steinbrechartige	Saxifragales	3	10
	Windengewächsartige	Solanales	1	1
Nadelbäume	Zypressenartige	Cupressales	2	2
	Kiefernartige	Pinales	1	4
Haarmützenmoose	Haarmützenmoosartige	Polytrichales	1	1

Die jeweiligen Pflanzenarten wurden durchschnittlich in 7,0 Proben ($\pm 15,1$ SD) festgestellt. Die durchschnittliche Sequenzzahl des jeweiligen Taxons lag bei 5.267 Sequenzen (± 37.468 SD) pro Probe. Eine detaillierte Übersicht zu den nachgewiesenen Taxa ist in Appendix Tabelle P-GG zu finden.

Ökologische Bewertung der nachgewiesenen Pflanzenarten im Untersuchungsgebiet Gunggl

Die Analyse der nachgewiesenen Pflanzenarten zeigt, dass viele von ihnen typische Bewohner von Wäldern oder walddahen Lebensräumen sind. Besonders die Moose, wie *Brachythecium rivulare* oder *Hylocomium splendens*, sind häufig in feuchten und schattigen Waldstandorten zu finden. Sie wachsen auf Waldböden, Baumstämmen oder in der Nähe von Gewässern und spielen eine wichtige Rolle im Wasserhaushalt und in der Nährstoffspeicherung von Wäldern. Auch andere Moosarten, wie *Blindia acuta* oder *Plagiomnium rostratum*, bevorzugen ähnliche Lebensräume.

Unter den Gefäßpflanzen konnten zahlreiche Arten identifiziert werden, die charakteristisch für Wälder oder deren Randbereiche sind. So ist beispielsweise *Aegopodium podagraria* (Giersch) eine häufige Unterwuchspflanze in Laubwäldern, während *Angelica sylvestris* (Wald-Engelwurz) oft in feuchten Waldlichtungen vorkommt. Arten wie *Vaccinium myrtillus* (Heidelbeere) und *Vaccinium vitis-idaea* (Preiselbeere) sind typische Vertreter von Nadelwäldern, während *Rubus idaeus* (Himbeere) häufig an Waldrändern oder in lichten Wäldern wächst.

Auch Bäume und Sträucher, die die Struktur und das Mikroklima von Wäldern prägen, wurden nachgewiesen. Dazu gehören *Fagus sylvatica* (Rotbuche), *Picea glauca* (Weiß-Fichte) und verschiedene Kiefernarten (*Pinus* spp.). Sträucher wie *Corylus avellana* (Hasel) und *Juniperus communis* (Wacholder) sind ebenfalls typische Bestandteile von Wäldern oder Waldrändern.

Unter den krautigen Pflanzen finden sich ebenfalls viele Arten, die an Waldstandorte angepasst sind. Beispiele hierfür sind *Anemone alpina* (Alpen-Windröschen) und *Cardamine amara* (Bitteres Schaumkraut), die bevorzugt in feuchten oder schattigen Bereichen wachsen. Andere Arten, wie *Tussilago farfara* (Huflattich) oder *Taraxacum officinale* (Löwenzahn), kommen eher an Waldrändern oder auf offenen Flächen vor.

Einige der nachgewiesenen Arten sind besonders stark an Waldstandorte angepasst. So ist *Hylocomium splendens* (Wald-Frauenhaar) ein typisches Moos in Nadelwäldern, während *Rhododendron ferrugineum* (Alpenrose) in subalpinen Wäldern vorkommt. Auch *Acer pseudoplatanus* (Bergahorn) ist ein charakteristischer Baum in Bergwäldern.

Darüber hinaus wurden auch Pionierarten und Waldrandbewohner identifiziert, wie *Betula pendula* (Hänge-Birke) und verschiedene Brombeerarten (*Rubus* spp.). Diese Pflanzen spielen eine wichtige Rolle bei der Wiederbesiedlung von gestörten Waldflächen und der natürlichen Sukzession.

Zusammenfassend zeigt die Analyse, dass die nachgewiesenen Arten eine breite ökologische Spannweite abdecken. Viele von ihnen sind typische Waldpflanzen, die an die spezifischen Bedingungen von Wäldern, wie Schatten, Feuchtigkeit und nährstoffreiche Böden, angepasst sind. Gleichzeitig unterstreicht das Vorkommen von Waldrand- und Pionierarten die ökologische Vielfalt der untersuchten Gebiete.

10.3.2 Nachweis von Pflanzen-eDNA in Wasserproben im Untersuchungsgebiet Taschbach

In den Wasserproben des Untersuchungsgebietes Taschbach wurde eDNA von insgesamt 36 Pflanzenordnungen nachgewiesen (Abb. 33). Bei den anderen Probentypen waren es deutlich weniger Pflanzenordnungen, die detektiert werden konnten, jedoch wurden hier, wie bereits angeführt, deutlich weniger Proben entnommen.

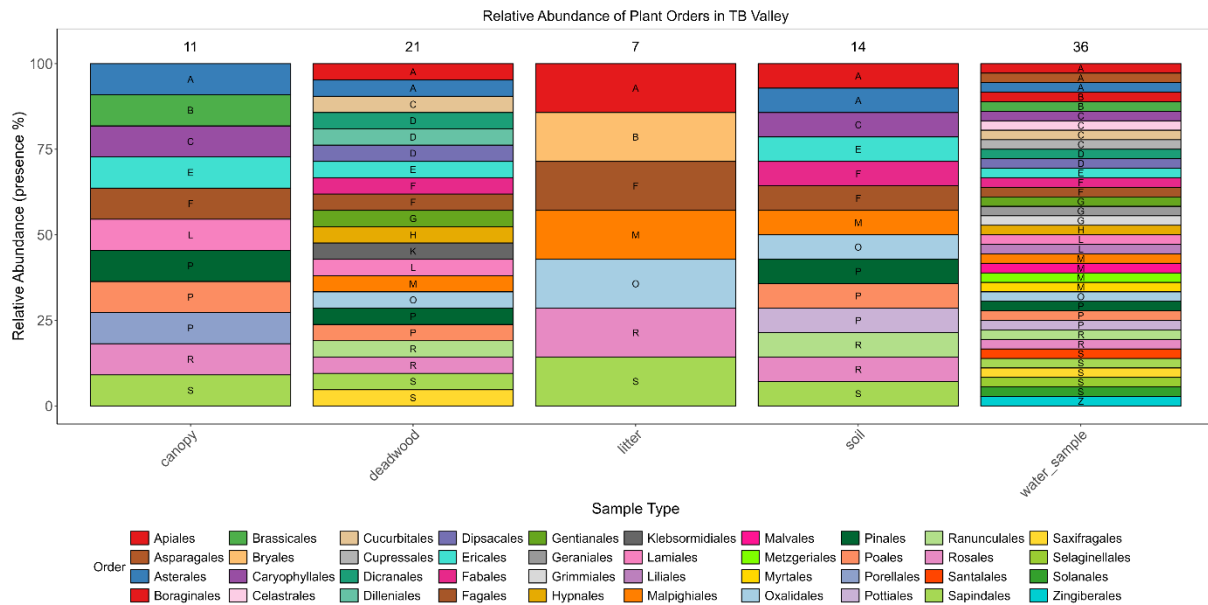


Abb. 33: Anzahl der nachgewiesenen Ordnungen von Pflanzen in den verschiedenen Probentypen für das Untersuchungsgebiet Taschbach. Die Gesamtzahl der Ordnungen ist jeweils über der entsprechenden Säule angegeben. Probentypen: canopy = Regensammler, deadwood = Totholz, litter = Streu, soil = Boden, water_sample = Wasserfilterprobe

Zu den Moosordnungen gehörten beispielsweise die Gabelzahnmoosartigen (Dicranales), in denen zwei Arten aus einer Familie nachgewiesen wurden, sowie die Grimmienartigen (Grimmiales), die mit zwei Arten aus einer Familie vertreten waren. Besonders artenreich waren die Hypnienartigen (Hypnales), die mit 14 Arten aus acht Familien eine hohe Diversität aufwiesen. Auch die Pottienartigen (Pottiales) und die Metzgerienartigen (Metzgeriales) konnten mit jeweils fünf bzw. zwei Arten festgestellt werden.

Unter den Gefäßpflanzen stachen die Doldenblütlerartigen (Apiales) hervor, die mit elf Arten aus einer Familie vertreten waren, sowie die Asternartigen (Asterales), die mit 50 Arten aus zwei Familien eine besonders hohe Diversität zeigten. Die Kreuzblütlerartigen (Brassicales) und die Schmetterlingsblütlerartigen (Fabales) zeigten ebenfalls eine große Artenvielfalt mit jeweils zwölf bzw. 20 Arten. Auch die Heidekrautartigen (Ericales) und die Süßgrasartigen (Poales) trugen mit zehn bzw. 50 Arten erheblich zur Gesamtdiversität bei. Einige Ordnungen waren durch eine geringere Artenzahl vertreten, wie die Lilienartigen (Liliales) und die Sandelholzartigen (Santalales), die jeweils nur eine Art umfassten. Ähnlich verhielt es sich bei den Enzianartigen (Gentianales) und den Malvenartigen (Malvales), die ebenfalls durch jeweils

eine Art repräsentiert wurden. Die Buchengewächsartigen (Fagales) und die Rosenartigen (Rosales) dagegen zeigten wiederum eine bemerkenswerte Vielfalt mit jeweils 20 Arten, die sich auf mehrere Familien verteilten. Die Kiefernartigen (Pinales) und die Zypressenartigen (Cupressales) waren mit fünf bzw. drei Arten vertreten.

Nachfolgend ist eine Übersicht der nachgewiesenen Ordnungen im Untersuchungsgebiet Taschbach mit den deutschen Namen, den lateinischen Namen, der Anzahl der nachgewiesenen Arten und der Anzahl der Familien pro Ordnung angegeben (Tabelle 6).

Tabelle 6: Übersicht der im Untersuchungsgebiet Taschbach nachgewiesenen Pflanzenordnungen.

Klasse	Ordnung	Ordnung (Latein)	Anzahl Familien	Anzahl Arten
Laubmoose	Gabelzahnmoosartige	Dicranales	1	2
	Steinmoosartige	Grimmiales	1	2
	Schlafmoosartige	Hypnales	7	11
	Kissenmoosartige	Pottiales	1	5
Lebermoose	Metzgerienartige	Metzgeriales	2	2
Bärlappgewächse	Moosfarnartige	Selaginellales	1	1
Bedecktsamer	Doldenblütlerartige	Apiales	2	12
	Asternartige	Asterales	3	50
	Raubblattgewächsartige	Boraginales	1	3
	Kreuzblütlerartige	Brassicales	1	9
	Nelkenartige	Caryophyllales	3	9
	Spindelbaumartige	Celastrales	1	2
	Geißblattartige	Dipsacales	2	3
	Heidekrautartige	Ericales	3	6
	Hülsenfrüchtlerartige	Fabales	2	12
	Buchenartige	Fagales	3	10
	Enzianartige	Gentianales	1	1
	Storchschnabelartige	Geraniales	1	2
	Lippenblütlerartige	Lamiales	6	20
	Malpighienartige	Malpighiales	4	8
	Malvenartige	Malvales	2	2
	Sauerkleeartige	Oxalidales	1	1
	Süßgrasartige	Poales	3	40
	Hahnenfußartige	Ranunculales	2	12
	Rosengewächsartige	Rosales	5	30
	Sandelholzartige	Santalales	2	3
Steinbrechartige	Saxifragales	2	2	
Nadelbäume	Zypressenartige	Cupressales	2	2
	Kiefernartige	Pinales	1	4

Die jeweiligen Pflanzenarten wurden durchschnittlich in 9,0 Proben ($\pm 12,1$ SD) festgestellt. Die durchschnittliche Sequenzzahl des jeweiligen Taxons lag bei 5.023 Sequenzen (± 30.921 SD) pro Probe. Eine detaillierte Übersicht zu den nachgewiesenen Taxa ist in Appendix Tabelle P-TB zu finden.

Ökologische Bewertung der nachgewiesenen Pflanzenarten im Untersuchungsgebiet Taschbach

Viele der nachgewiesenen Pflanzenarten sind typische Bewohner von Wäldern oder walddahen Lebensräumen. Besonders die Moose, wie *Fissidens taxifolius* und *Seligeria trifaria*, sind häufig in feuchten, schattigen Bereichen von Wäldern zu finden. Sie wachsen auf Waldböden, an Felsen oder Baumstämmen. Auch die Hypnienartigen, darunter *Hylocomiadelphus triquetrus* und *Campylophyllum halleri*, sind charakteristische Vertreter von Waldhabitaten.

Auch unter den Gefäßpflanzen konnten zahlreiche Arten identifiziert werden, die typisch für Wälder oder deren Randbereiche sind. *Selaginella selaginoides* ist eine Art, die in feuchten, schattigen Waldstandorten vorkommt. Viele krautige Pflanzen der Doldenblütlerartigen, wie *Angelica sylvestris* (Wald-Engelwurz) und *Sanicula europaea* (Sanikel), sind typische Unterwuchspflanzen in Laub- und Mischwäldern. Auch *Astrantia major* (Große Sterndolde) und *Chaerophyllum hirsutum* (Behaarter Kälberkropf) sind charakteristische Arten von Waldlichtungen und feuchten Waldrändern. Unter den Asternartigen sind Arten wie *Petasites albus* (Weiße Pestwurz) und *Cirsium acaule* (Stängellose Kratzdistel) häufig in feuchten Waldhabitaten oder an Waldrändern zu finden.

Eine besonders zentrale Rolle spielen natürlich die Bäume und Sträucher in den untersuchten Wäldern. Arten wie *Fagus sylvatica* (Rotbuche), *Abies alba* (Tanne) und *Juniperus communis* (Wacholder) prägen die Struktur und das Mikroklima der Waldökosysteme. Sträucher wie *Corylus* spp. (Hasel) und *Rosa* spp. (Rosen) sind typische Bestandteile von Waldrändern und lichten Wäldern.

Darüber hinaus wurden auch krautige Pflanzen und Pionierarten identifiziert, die an Waldrändern oder auf gestörten Flächen vorkommen. Beispiele hierfür sind *Tussilago farfara* (Huflattich) und *Taraxacum* spp. (Löwenzahn), die eine wichtige Rolle bei der Wiederbesiedlung offener Flächen spielen und zur Stabilisierung des Bodens beitragen.

10.3.3 Nachweis von Pflanzen-eDNA entlang der Bachverläufe

In Abbildung 34 sind die Nachweise von Pflanzenarten und der Diversität der Pflanzen in den unterschiedlichen Transekten entlang der Bachverläufe in beiden Untersuchungsgebieten dargestellt.

Im Untersuchungsgebiet Taschbach wurde festgestellt, dass die Artenvielfalt (Species Richness) entlang der Flussabschnitte nicht signifikant variiert ($p = n. s.$). Die höchste Anzahl an Pflanzen-MOTUs (Molecular Operational Taxonomic Units) pro Wasserprobe wurde an den Standorten T8 und T3 gefunden. Im Gegensatz dazu zeigte die Alpha-Diversität der Pflanzen in den Wasserproben signifikante Unterschiede zwischen den Standorten ($p < 0,05$). Die Proben mit der höchsten Diversität wurden am oberen Flusslauf und kurz vor der Mündung in das Hauptgewässer gefunden.

Im Untersuchungsgebiet Gunggl hingegen variierte die Artenvielfalt (Species Richness) signifikant zwischen den Flussabschnitten ($p < 0,001$). Es wird jedoch darauf hingewiesen, dass die Ergebnisse für den Standort T4 aufgrund der geringen Probenanzahl nicht zuverlässig sind. Die höchste Anzahl an Pflanzen-MOTUs pro Wasserprobe wurde an den Standorten T5, T3 und T1 gefunden. Im Gegensatz dazu zeigte die Alpha-Diversität der Pflanzen in den Wasserproben keine signifikanten Unterschiede zwischen den Standorten ($p = n. s.$). Die Proben mit der höchsten Diversität wurden in der Nähe der Flussmündung festgestellt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Artenvielfalt und Diversität der Pflanzen in den Wasserproben in den beiden Untersuchungsgebieten unterschiedlich ausgeprägt sind. Während im Taschbachtal die Alpha-Diversität zwischen den Standorten variiert, ist dies in der Gunggl nicht der Fall. Umgekehrt zeigt die Artenvielfalt in der Gunggl signifikante Unterschiede entlang der Flussabschnitte, während sie im Taschbach konstant bleibt.

Es empfiehlt sich daher eine Probenahme an mehreren Stellen des Bachverlaufes, um eine möglichst große Diversität an Pflanzen zu erfassen. Im unteren Verlauf der Bäche scheint eine höhere Wahrscheinlichkeit des Nachweises vieler Pflanzenarten gegeben zu sein.

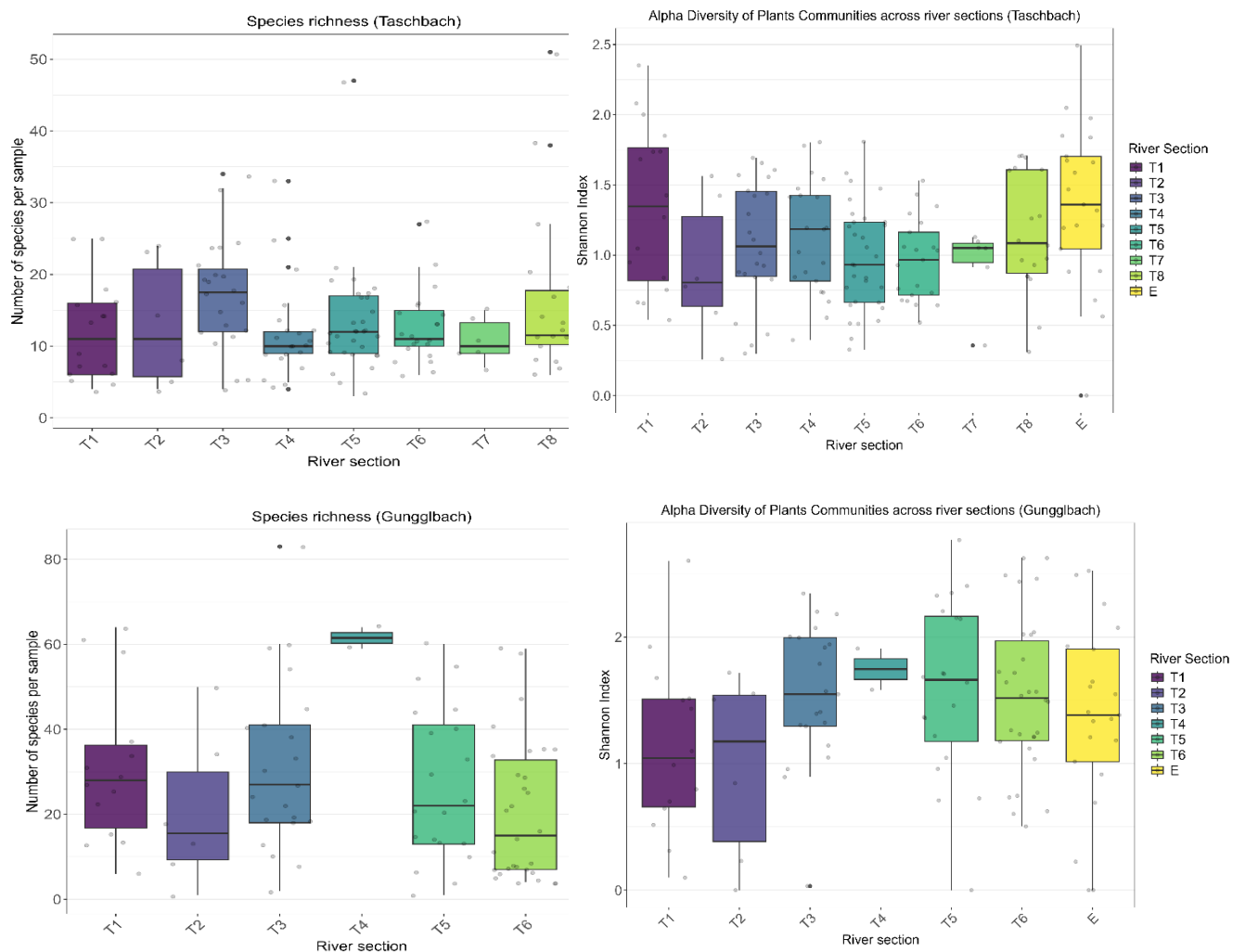


Abb. 34: Durchschnittliche Anzahl der terrestrischen Pflanzen-Taxa (links) und der Pflanzendiversität (rechts) in Wasserproben welche entlang des Bachverlaufes im Untersuchungsgebiet Taschbach (obere Reihe) und Gunggl (untere Reihe) entnommen wurden.

10.3.4 Nachweis von Pflanzen-eDNA im zeitlichen Verlauf

In Abbildung 35 sind die Nachweise von Pflanzenarten und Diversität der Pflanzen in den unterschiedlichen Monaten für beide Untersuchungsgebiete dargestellt.

Im Untersuchungsgebiet Taschbach variiert die Artenvielfalt (Species Richness) signifikant zwischen den Monaten ($p < 0,001$). Die höchste mittlere Anzahl an Pflanzen-MOTUs (Molecular Operational Taxonomic Units) pro Wasserprobe wurde in den Monaten Juni und Juli festgestellt. Auch die Alpha-Diversität der Pflanzen in den Wasserproben unterscheidet sich signifikant zwischen den Standorten ($p < 0,05$). Die Proben mit der höchsten Diversität wurden im Frühjahr und Sommer gefunden, was auf eine saisonale Dynamik in der Pflanzenvielfalt hinweist.

Im Untersuchungsgebiet Gunggl zeigt sich ebenfalls eine signifikante Variation der Artenvielfalt zwischen den Monaten ($p < 0,001$). Die höchste mittlere Anzahl an Pflanzen-MOTUs pro Wasserprobe wurde in den Monaten Mai und August festgestellt. Darüber hinaus variiert die Alpha-Diversität der Pflanzen in den Wasserproben signifikant zwischen den Standorten ($p < 0,001$). Die Proben mit der höchsten Diversität wurden im Sommer gefunden, was auf eine Konzentration der pflanzlichen Vielfalt in dieser Jahreszeit hindeutet.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in beiden Untersuchungsgebieten sowohl die Artenvielfalt als auch die Alpha-Diversität der Pflanzen in den Wasserproben zeitlich und räumlich variieren. Während im Taschbach die höchste Artenvielfalt und Diversität in den Sommermonaten und an bestimmten Standorten zu finden ist, zeigt die Gunggl eine ähnliche Dynamik mit Spitzenwerten der Artenvielfalt im Mai und August sowie der höchsten Diversität im Sommer. Diese Ergebnisse zeigen, dass eine Probenahme in den Sommermonaten für einen möglichst breiten Nachweis pflanzlicher Diversität von Wäldern am erfolgversprechendsten ist.

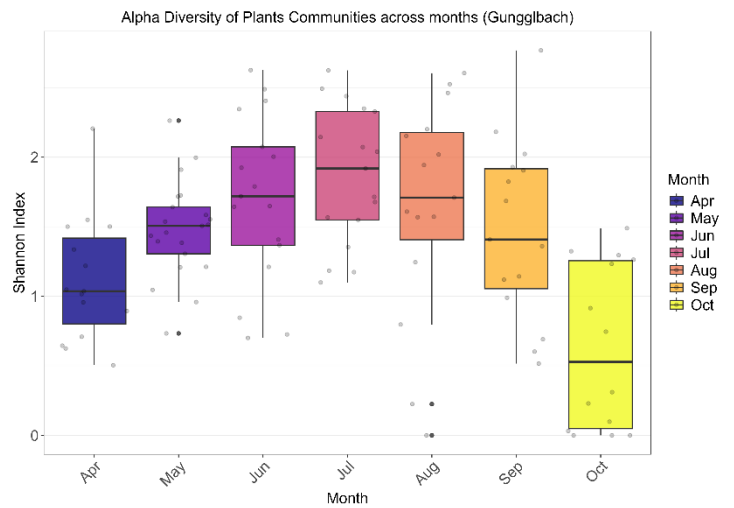
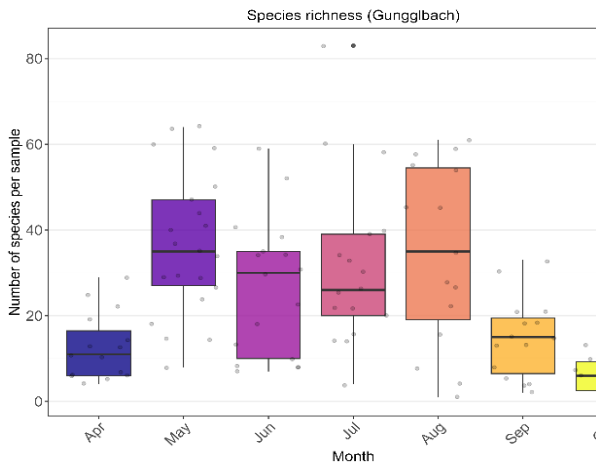
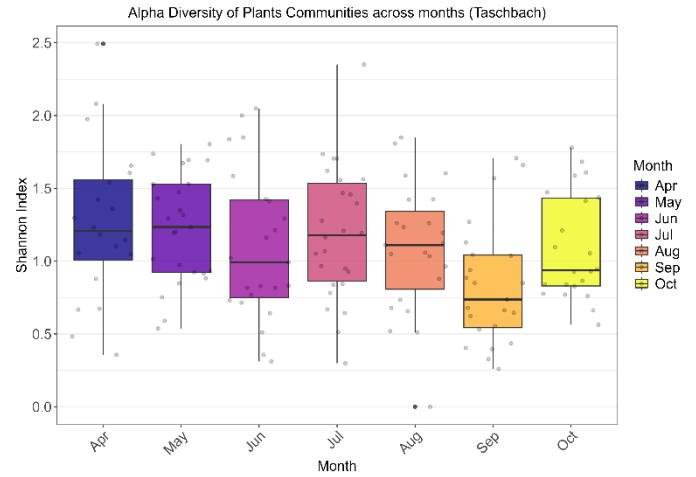
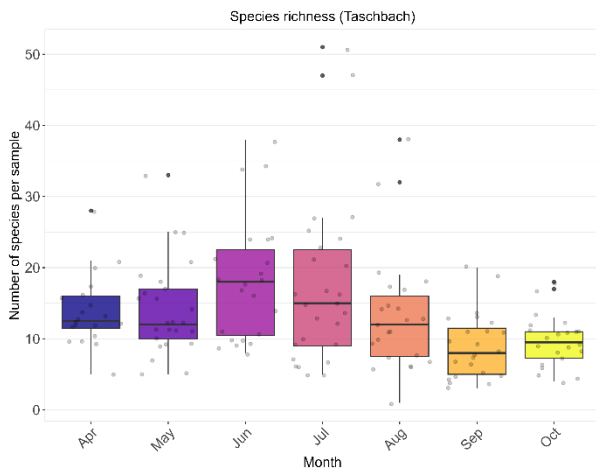


Abb. 35: Durchschnittliche Anzahl der terrestrischen Pflanzen-Taxa (links) und der Pflanzendiversität (rechts) in Wasserproben, die in verschiedenen Monaten im Untersuchungsgebiet Taschbach (obere Reihe) und Gunggl (untere Reihe) entnommen wurden.



11 Schlussfolgerungen

Im Folgenden werden Schlussfolgerungen hinsichtlich der drei primären Ziele des Projektes gezogen und daraus Handlungsempfehlungen abgeleitet.

11.1 Projektziel 1: Bestimmung, welche walddrelevanten Organismengruppen über das eDNA-Metabarcoding von Fließgewässern in Wäldern erfasst werden können

Nachfolgend werden die Ergebnisse zu terrestrischen Arthropoden, Pilzen und höheren Pflanzen kurz zusammengefasst und Schlussfolgerungen beziehungsweise Handlungsempfehlungen für den weiteren Einsatz von Umwelt-DNA-Analysen für die jeweilige Organismengruppe gegeben.

Wie im Zwischenbericht bereits angeführt, wurde die Analyse der Proben auf Vögel und Amphibien für den gesamten Datensatz nicht weitergeführt, da sich zeigte, dass in einem kleineren Probenst Vogel-DNA nur in sehr wenigen Proben und in sehr geringer Diversität nachweisbar war. Weil bei den potenziell vorkommenden Amphibienarten nur eine sehr geringe Anzahl an Arten zu erwarten war, wurde auch diese Wirbeltierklasse bei der Analyse der restlichen Proben nicht weiter berücksichtigt.

11.1.1 Nachweis terrestrischer Waldarthropoden mittels eDNA Proben aus Waldbächen

Die eDNA-Analysen aus den Wasserproben der Untersuchungsgebiete Gunggl und Taschbach zeigen deutliche Unterschiede in der Artenvielfalt und Diversität terrestrischer Arthropoden. Beide Gebiete spiegeln typische Waldgemeinschaften wider, unterscheiden sich jedoch in der Anzahl der nachgewiesenen Arten und der taxonomischen Breite.

Im Untersuchungsgebiet Gunggl wurden insgesamt 22 Ordnungen terrestrischer Arthropoden nachgewiesen, wobei die Insekten (Insecta) mit 38 Käferarten (Coleoptera) und 78 Zweiflüglerarten (Diptera) die größte Artenvielfalt aufwiesen. Weitere artenreiche Gruppen waren die Schnabelkerfe (Hemiptera, 24 Arten) und die Springschwänze (Collembola, 13 Arten). Weniger artenreich waren die Spinnentiere (Arachnida) mit 6 Arten, die Asseln (Isopoda) mit einer Art und die Doppelfüßer (Diplopoda) mit ebenfalls einer Art. In den Wasserproben wurden pro Probe durchschnittlich 3,6 Taxa ($\pm 3,5$ SD) an terrestrischen Arthropoden detektiert; deutlich mehr Taxa waren es bei den aquatischen Arthropoden (durchschnittlich 8,8 Taxa ($\pm 5,8$ SD)).

Im Vergleich dazu zeigte das Untersuchungsgebiet Taschbach eine deutlich höhere Artenvielfalt. Hier wurden ebenfalls 22 Ordnungen nachgewiesen, jedoch mit einer größeren taxonomischen Breite. Die Käfer (Coleoptera) waren mit 123 Arten aus 27 Familien vertreten, während die Zweiflügler (Diptera) mit 211 Arten aus 41 Familien die größte Artenvielfalt aufwiesen. Auch die Schnabelkerfe (Hemiptera, 78 Arten) und Schmetterlinge (Lepidoptera, 50 Arten) waren deutlich artenreicher als in der Gunggl. Terrestrische Arthropoden waren in den Wasserproben mit durchschnittlich mit 10,5 Taxa pro Probe ($\pm 10,5$ SD) etwa halb so häufig vertreten wie die aquatischen Taxa.

Die Ergebnisse zeigen, dass es mittels eDNA-Analysen aus Wasserproben möglich ist, auch eine hohe Vielfalt an terrestrischen Arthropoden in Wäldern zu erfassen. Die eDNA-Analysen deckten eine breite Palette von trophischen Gruppen ab, darunter Zersetzer (z. B.

Springschwänze, Asseln), Räuber (z. B. Spinnen, Hundertfüßer) und Herbivore (z. B. Schnabelkerfe, Schmetterlinge). Dies zeigt, dass die Methode nicht nur die taxonomische, sondern auch die funktionale Diversität von Waldökosystemen gut abbilden kann (Deiner et al., 2017; Taberlet et al., 2012).

Dennoch gibt es auch Limitationen: Pro Probe wurden durchschnittlich 10,5 Taxa an terrestrischen Arthropoden im Untersuchungsgebiet Taschbach detektiert, im Untersuchungsgebiet Gunggl waren es jedoch nur 3,6 terrestrische Arthropodentaxa, die durchschnittlich pro Probe detektiert werden konnten. Vergegenwärtigt man sich jedoch, dass nur 1,5 Liter Wasser pro Probe filtriert wurde, so ist es eigentlich erstaunlich, dass in einer so geringen Wassermenge derartig viele Taxa an terrestrischen Arthropoden gefunden werden konnten. Dies verdeutlicht die Bedeutung von Gewässern als „Sammelbecken“ genetischer Information aus der Umwelt.

Zukünftig sollten daher für die Erfassung terrestrischer Arthropoden in Wäldern deutlich größere Wasservolumina filtriert werden (30-50 Liter). Wie im Zwischenbericht zudem gezeigt wurde, kann hinkünftig die passive Beprobung von Umwelt-DNA eine interessante Alternative zur aktiven Filtrierung von Wasserproben darstellen: In den acht Proben der passiven Umwelt-DANN-Beprobung, die für den Zwischenbericht analysiert wurden, konnten immerhin 58 Arthropoden- und 24 Pflanzenarten nachgewiesen werden. Für die Weiterentwicklung des Ansatzes sollten daher insbesondere größere Wasservolumina und vor allem die passive Umwelt-DNA-Beprobung in Betracht gezogen werden.

11.1.2 Nachweis terrestrischer Pflanzen mittels eDNA-Proben aus Waldbächen

Die Analyse der eDNA-Daten offenbarte deutliche Unterschiede in der Anzahl nachgewiesener Pflanzenarten zwischen den verschiedenen Probenotypen sowie zwischen den beiden Untersuchungsgebieten Gunggl und Taschbach.

Im Untersuchungsgebiet Gunggl zeigten die Wasserproben mit durchschnittlich 24,4 Pflanzenarten pro Probe ($\pm 18,4$ SD) die höchste Diversität. Im Vergleich dazu wiesen die terrestrischen Probenotypen, darunter Regensammler-, Totholz-, Streu- und Bodenproben, eine deutlich geringere Artenvielfalt auf, mit durchschnittlich 4 bis 8 Pflanzenarten pro Probe.

Ein ähnliches Muster zeigte sich im Untersuchungsgebiet Taschbach. Auch hier lieferten die Wasserproben die höchste Diversität, allerdings mit einer geringeren durchschnittlichen Artenzahl von 13,7 Pflanzenarten pro Probe ($\pm 8,1$ SD) im Vergleich zur Gunggl. Die terrestrischen Probenotypen wiesen ebenfalls eine geringere Diversität auf.

Der Vergleich der Probenotypen zeigt, dass Wasserproben in beiden Untersuchungsgebieten die höchste Diversität an Pflanzenarten lieferten. Dies ist darauf zurückzuführen, dass Wasser als Medium eDNA aus verschiedenen Quellen wie Boden, Laubstreu und Vegetation sammelt und transportiert (Deiner et al., 2017; Valentini et al., 2016). Die größere Standardabweichung in der Gunggl ($\pm 18,4$ SD) deutet auf eine größere Heterogenität der Proben hin, die möglicherweise durch unterschiedliche Habitatstrukturen oder hydrologische Bedingungen bedingt ist. Im Gegensatz dazu lieferten die terrestrischen Probenotypen, darunter Regensammler-, Totholz-, Streu- und Bodenproben, in beiden Gebieten eine deutlich geringere Diversität. Diese Probenotypen erfassen vor allem lokale Pflanzenarten, die direkt mit dem jeweiligen Substrat in Kontakt stehen, und sind daher weniger integrativ als Wasserproben aus Fließgewässern (Taberlet et al., 2012).

Gleich wie bei den Arthropoden lässt sich hier zusammenfassend festhalten, dass die Anzahl an Pflanzentaxa, die pro Probe aus den Wasserproben detektiert werden konnte, überraschend hoch ist, wenn man die kleinen Volumina an Bachwasser, das filtriert wurde, bedenkt. Geht man dazu über, deutlich größere Wasservolumina zu filtrieren, sollte die Anzahl an nachgewiesenen Taxa pro Probe deutlich zu steigern sein. Auch für den Nachweis von Pflanzen ist das Potential der passiven Umwelt DNA-Beprobung zu berücksichtigen.

Schließlich sollte die Möglichkeit der Unterscheidung verschiedener Genotypen bestimmter Baumarten aus eDNA-Wasserproben in zukünftigen Projekten berücksichtigt werden, da dies eine sehr interessante Möglichkeit zur Erfassung der genotypischen Zusammensetzung von Wäldern darstellen würde.

11.1.3 Nachweis terrestrischer Pilze mittels eDNA Proben aus Waldbächen

Die eDNA-Analysen in den Untersuchungsgebieten Gunggl und Taschbach zeigen signifikante Unterschiede in der Anzahl nachgewiesener terrestrischer Pilztaxa und Sequenzen zwischen den verschiedenen Probenotypen.

Im Untersuchungsgebiet Gunggl zeigten die Streuproben mit durchschnittlich 48,7 terrestrischen Pilztaxa pro Probe ($\pm 16,7$ SD) die höchste Diversität, gefolgt von den Bodenproben mit 34,2 Taxa ($\pm 12,3$ SD). Regensammlerproben lieferten eine moderate Anzahl von 21,0 Taxa ($\pm 10,5$ SD), während Wasserproben mit durchschnittlich 15,4 terrestrischen Pilztaxa ($\pm 11,8$ SD) die geringste Diversität aufwiesen.

Ein ähnliches Muster zeigte sich im Untersuchungsgebiet Taschbachtal. Auch hier lieferten Bodenproben mit durchschnittlich 34,7 terrestrischen Pilztaxa pro Probe ($\pm 7,6$ SD) die höchste Diversität, gefolgt von den Streuproben, die ebenfalls eine hohe Anzahl an Taxa aufwiesen. Wasserproben wiesen, mit durchschnittlich 12,1 ($\pm 8,3$ SD) terrestrischen Pilztaxa wie bereits in der Gunggl die geringste Anzahl an Taxa und Sequenzen auf.

Ein Vergleich der Probenotypen zeigt, dass Streu- bzw. Bodenproben in beiden Untersuchungsgebieten die höchste Anzahl an terrestrischen Pilztaxa lieferten. Diese Proben sind prädestiniert dafür, bodenbewohnende und zersetzende Pilze zu erfassen, da diese direkt in der Streu leben und dort eine hohe DNA-Konzentration hinterlassen (Taberlet et al., 2012; Baldrian, 2017). Bodenproben zeigten ebenfalls eine hohe Diversität und sind besonders geeignet, um Pilze zu erfassen, die im Boden leben oder mit Pflanzenwurzeln interagieren, wie Mykorrhizapilze (Smith & Read, 2008). Regensammlerproben lieferten in Gunggl eine moderate Anzahl an Taxa und Sequenzen, während sie in Taschbach deutlich weniger effizient waren. Diese Beprobungsmethode eignet sich, um Pilze zu erfassen, die durch Regen von Vegetation und Boden abgewaschen werden, jedoch scheint ihre Effizienz stark von den lokalen Umweltbedingungen abzuhängen (Macher et al., 2018). Wasserproben zeigten in beiden Gebieten die geringste Anzahl an terrestrischen Pilztaxa und Sequenzen pro Probe. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die DNA-Konzentration im Wasser durch Verdünnung stark reduziert wird.

Vor den Hintergrund der geringen Menge an Wasser, die pro Probe filtriert wurde, sind die Ergebnisse zu den Nachweisen terrestrischer Pilze aus den Wasserproben jedoch bemerkenswert. Insbesondere der Nachweis verschiedensten Pilzgruppen, die sowohl in Boden als auch auf der Bodenoberfläche und auf Pflanzen sowie auch in Insekten wachsen, ist bei den Wasserproben bemerkenswert. Sie stellen damit einen Querschnitt der pilzlichen Diversität der Wälder dar.

Für die weitere Entwicklung der Methodik sollte jedoch ein höheren Nachweis an Taxa pro Probe angestrebt werden. Gleich wie bei den Arthropoden und Pflanzen sind dafür größere Mengen an gefiltertem Wasser beziehungsweise der Einsatz passiver Umwelt-DNA-Beprobungsmethoden in Betracht zu ziehen.

11.1.4 Nachweis invasiver Arthropoden und Pflanzen

Die Analyse von Umwelt-DNA hat sich als ein äußerst effektives Werkzeug für den Nachweis invasiver Arten erwiesen. Insbesondere beim Einsatz spezifischer und hochempfindlicher PCR-Tests, die gezielt spezifische Arten detektieren, können diese auch schon bei sehr geringer Dichte nachgewiesen werden. Dies ist besonders bei invasiven Arten wichtig, die oft in frühen Stadien ihrer Etablierung schwer zu entdecken sind (Lodge et al., 2012; Thomsen et al., 2012). Das macht die Methode besonders geeignet, um invasive Arten zu identifizieren, bevor sie sich etablieren und Schäden verursachen (Jerde et al., 2011).

Um beim Nachweis invasiver Arten mittels eDNA falsch positive Ergebnisse auszuschließen, ist es essenziell, auf etablierte Vorgangsweisen zurückzugreifen. Hier sei insbesondere auf die Entscheidungsbaum-Vorgangsweisen hingewiesen, die von Sepulveda et al. (2020) vorgeschlagen werden. Dabei wird eine mehrfache Beprobung zur Bestätigung des Ergebnisses gefordert. Zusätzlich ist neben dem Metabarcoding, das im vorliegenden Projekt durchgeführt wurde, auf den Einsatz artspezifischer diagnostischer PCR Assays verwiesen, da diese eine sensitivere und quantifizierbare Messung der DNA invasiver Arten erlaubt und daher die geeignete methodische Herangehensweise zum Nachweis bzw. der Bestätigung invasiver Arten ist. Solche Tests konnten aufgrund Zeit- und Budgetgründen im vorliegenden Projekt nicht durchgeführt werden.

Nachweis von Umwelt-DNA invasiver Insektenarten

Im vorliegenden Projekt konnte die DNA von drei invasiven Insektenarten in Wasserproben nachgewiesen werden, nämlich der Zickzack-Ulmenblattwespe *Aproceros leucopoda*, der Bläulingzikade *Metcalfa pruinosa* und der Kirschessigfliege *Drosophila suzukii*.

DNA der Zickzack-Ulmenblattwespe *Aproceros leucopoda* wurde an einem Termin in einer Wasserprobe, die im Untersuchungsgebiet Taschbach genommen wurde, nachgewiesen (14 Sequenzen). *Aproceros leucopoda* stammt ursprünglich aus Japan (Hokkaido) und wurde in Europa erstmals 2003 in Polen und Ungarn nachgewiesen (Blank et al., 2010). Seitdem hat sich die invasive Art rasch ausgebreitet und ist mittlerweile in zahlreichen Ländern Europas, darunter Österreich, Rumänien, Slowakei, Ukraine, Italien, Deutschland und weiteren Staaten, dokumentiert. Die Larven dieser Blattwespe können Ulmen unabhängig von Alter und Standort vollständig kahlfressen, was eine erhebliche Bedrohung für die ohnehin durch die Holländische Ulmenkrankheit stark dezimierte Baumgattung *Ulmus* darstellt. Auch asiatische Ulmenarten wie *Ulmus japonica*, die in der Resistenzzüchtung verwendet werden, gehören zu den Wirten.

Die Ausbreitungsgeschichte zeigt, dass die Art vermutlich mit kontaminiertem Pflanzmaterial aus Ostasien nach Europa eingeschleppt wurde (Csóka et al., 2017). In Europa trat sie punktuell in weit voneinander entfernten Gebieten auf, ohne ein klares Zentrum der Verbreitung. Die geschätzte aktive Ausbreitungsgeschwindigkeit liegt bei 45–90 km/Jahr. Passive Verbreitungswege, wie der Transport von Larven oder Kokons, könnten die Nachweise in Belgien und den Niederlanden im Jahr 2013 erklären.

In Österreich wurde *Aproceros leucopoda* erstmals 2009 nachgewiesen. Die Art tritt im Naturschutzgebiet Lobau sowie in Gemeinden entlang der Donau und der Westbahnstrecke bis Sankt Pölten auf. Die schnelle Ausbreitung in Österreich unterstreicht die Notwendigkeit eines gezielten Monitorings, da die Blattwespe ein erhebliches Risiko für die heimischen Ulmenbestände darstellt

Die Bläulingszikade *Metcalfa pruinosa* wurde in zwei Proben im Untersuchungsgebiet Gunggl (12 Sequenzen) und in einer Probe im Untersuchungsgebiet Taschbach (6 Sequenzen) nachgewiesen. Die Bläulingszikade ist eine invasive Art aus Nordamerika, wurde in Europa erstmals 1979 in Venetien, Italien, nachgewiesen. Seitdem hat sie sich in zahlreichen Ländern Südeuropas etabliert, darunter Slowenien, Kroatien, Frankreich, Spanien, Ungarn, Serbien, Bulgarien und Griechenland (Seljak, 2010). Auch in Österreich ist die Art mittlerweile weit verbreitet. Nach einem Einzelfund in Graz im Jahr 1996 wurde 2003 ein erstes Massenvorkommen im Wiener Umland festgestellt. Seither hat sich die Bläulingszikade vor allem im Osten Österreichs ausgebreitet, mit zahlreichen Nachweisen in Wien, Niederösterreich, Burgenland und der Steiermark. Auch in Klagenfurt wurde die Art dokumentiert.

Die Bläulingszikade hat einen breiten Wirtspflanzenkreis und saugt vor allem an Gehölzen, seltener an krautigen Pflanzen. In Österreich wurde sie bisher an 290 Pflanzenarten nachgewiesen. Obwohl bisher keine direkten Schäden an Kulturpflanzen gemeldet wurden, kann die Zikade durch Massenaufreten wirtschaftliche Verluste verursachen. Ihre Wachsreste, Honigtau und die daraus resultierende Rußtaupilzbildung können die Vermarktbarkeit von Pflanzen und Früchten beeinträchtigen. Die natürliche Ausbreitung der Zikade ist begrenzt, jedoch besteht ein hohes Risiko der Verschleppung durch menschliche Aktivitäten.

Die Ausbreitungsgeschichte zeigt, dass die Bläulingszikade über Pflanzenimporte nach Europa gelangte. Neben ihrer Etablierung in Südeuropa wurde sie auch in Südkorea eingeschleppt. In Österreich ist die Art mittlerweile ein fester Bestandteil der Fauna, insbesondere in urbanen und peri-urbanen Gebieten.

Umwelt-DNA der Kirschessigfliege (*Drosophila suzukii*) wurde in einer Probe des Untersuchungsgebietes Taschbach mit 18 Sequenzen festgestellt. Die Kirschessigfliege ist eine invasive Art aus der Familie der Taufliegen (Drosophilidae) und stammt ursprünglich aus Südostasien. Seit 2008/2009 hat sich die Art weltweit ausgebreitet, mit Nachweisen in Nordamerika (Kalifornien, Oregon, Washington, British Columbia) und Europa (Spanien, Frankreich, Italien, Slowenien) (Aspelen et al., 2015). In Österreich wurde die Kirschessigfliege 2011 nachgewiesen und hat sich seither in allen Bundesländern etabliert. Besonders betroffen sind Obstbaugelände, in denen die Art erhebliche Schäden an weichschaligen Früchten wie Kirschen, Himbeeren, Brombeeren, Heidelbeeren und Trauben verursacht. Die Art gilt als bedeutender Schädling im Obstbau, da sie reife Früchte befällt und durch ihre schnelle Vermehrung große Ernteverluste verursachen kann. Der kurze Generationszyklus und die hohe Reproduktionsrate machen die Bekämpfung mit herkömmlichen Insektiziden schwierig.

Die Verbreitung der Kirschessigfliege erfolgt lokal durch den Flug der mobilen Fliegen über kurze Distanzen (einige Kilometer). Über größere Entfernungen wird sie hauptsächlich durch den Transport befallener Früchte verbreitet, was den internationalen Handel als wichtigen Faktor für ihre Ausbreitung identifiziert.

Nachweis von Umwelt-DNA invasiver Pflanzenarten

Unter den Pflanzenarten, die in der Unionsliste als invasiv gelistet sind, konnte Umwelt-DNA von zwei Arten in Wasserproben nachgewiesen werden, und zwar vom Drüsigen Springkraut *Impatiens glandulifera* und von Kudzu *Pueraria montana*.

Umwelt-DNA des Drüsigen Springkrauts wurde im Untersuchungsgebiet Taschbach in sechs Proben (insgesamt 2,776 Sequenzen) und im Untersuchungsgebiet Gunggl in einer Probe (5 Sequenzen) festgestellt.

Das Drüsige Springkraut, ursprünglich in den westlichen Himalaya-Regionen beheimatet, wurde im 19. Jahrhundert als Zierpflanze nach Europa eingeführt. In Österreich wurde die Art erstmals Ende des 19. Jahrhunderts nachgewiesen und hat sich seither entlang von Flüssen, Bächen und feuchten Standorten stark ausgebreitet (Essl & Rabitsch, 2002). Die Ausbreitung erfolgt hauptsächlich durch die explosive Samenverbreitung, bei der die Samen bis zu sieben Meter weit geschleudert werden, sowie durch Wasserströmungen, die die Samen über weite Strecken transportieren. In Österreich wird die Art als invasiv eingestuft und stellt eine Herausforderung für das Management von Naturschutzgebieten dar. Besonders in feuchten Wäldern und Auwäldern ist das Drüsige Springkraut heute weit verbreitet. Die Pflanze bevorzugt nährstoffreiche, feuchte Böden und verdrängt durch ihr schnelles Wachstum und ihre hohe Samenproduktion heimische Pflanzenarten, was zu einer Reduktion der Biodiversität führt. Ihr Nachweis in beiden Untersuchungsgebieten ist als plausibel einzustufen.

In einer Wasserprobe, die im Untersuchungsgebiet Gunggl entnommen wurde, konnten DNA-Spuren von *Pueraria montana*, einer invasiven Lianenpflanze aus der Familie der Hülsenfrüchtler (Fabaceae), nachgewiesen werden (94 Sequenzen). Diese Pflanzenart stammt ursprünglich aus Ostasien, wurde 1876 erstmals in die USA eingeführt und ab den 1930er Jahren gezielt zur Erosionskontrolle und als Viehfutter angebaut. Heute ist Kudzu in weiten Teilen der USA, in Mittel- und Südamerika sowie in Afrika verbreitet. In Europa wurde die Art erstmals in warmen Lagen am Lago Maggiore und Lago di Lugano (Schweiz und Italien) nachgewiesen (EPPO, 2007). Dort besiedelt sie Gärten, Straßenböschungen und Seeufer, wo sie durch ihr schnelles Wachstum ganze Bäume überwuchert und die heimische Vegetation verdrängt. Aufgrund ihres invasiven Potenzials und der Fähigkeit, dichte Matten zu bilden, die heimische Pflanzen ersticken, stellt Kudzu eine erhebliche Bedrohung für die Biodiversität dar.

In Österreich gibt es bislang keine Nachweise von *Pueraria montana*. Die Art gilt hier als fehlend, jedoch könnten wärmebegünstigte Standorte mit milden Wintern, wie sie in der Schweiz und Norditalien vorkommen, eine potenzielle Ausbreitung begünstigen.

Die Detektion von Kudzu über eDNA würde den ersten Nachweis dieser invasiven Pflanze in Österreich darstellen. Da die Art nur in einer Probe an einem Termin detektiert werden konnte, sind weitere Probennahmen und Tests mit diagnostischen PCR-Assays, die die Art spezifisch nachweisen, zur Bestätigung des Nachweises dringend anzuraten, um ein falsch positives Ergebnis auszuschließen. Generell wird hier auf die Entscheidungsbaum-Vorgangsweise beim Nachweis invasiver Arten mittels eDNA verwiesen (Sepulveda et al., 2020).

11.2 Projektziel 2: Wo beproben? Ermittlung des idealen räumlichen Beprobungsdesigns für eine möglichst breite Erfassung der Biodiversität von Arthropoden, Pflanzen und Pilzen

Die Ergebnisse der eDNA-Analysen zu Arthropoden, Pilzen und Pflanzen entlang der Bachverläufe in den Untersuchungsgebieten Gunggl und Taschbach zeigen deutliche Unterschiede in der Artenvielfalt und Diversität der jeweiligen Organismengruppen. Diese Unterschiede liefern wertvolle Hinweise darauf, wo entlang der Flussabschnitte Proben genommen werden sollten, um eine möglichst hohe Diversität nachzuweisen. Im Folgenden werden die Ergebnisse mit relevanter wissenschaftlicher Literatur verglichen, um die Befunde einzuordnen und Empfehlungen für die Probenahme abzuleiten.

11.2.1 Arthropoden

Die Ergebnisse zeigen, dass die Artenvielfalt terrestrischer Arthropoden im Taschbachtal signifikant entlang des Flussverlaufs variiert, mit den höchsten Werten in den unteren Abschnitten nahe der Mündung. In der Gunggl hingegen bleibt die Artenvielfalt weitgehend konstant, mit den höchsten Werten am Anfang und Ende des Bachverlaufs. Diese Befunde stimmen mit Studien überein, die zeigen, dass eDNA terrestrischer Arthropoden durch hydrologische Prozesse in Flüssen transportiert wird und sich in den unteren Flussabschnitten anreichert (Deiner et al., 2017; Li et al., 2019). Die Ansammlung von eDNA in den unteren Flussabschnitten wurde auch von Pont et al. (2018) beschrieben, die darauf hinweisen, dass diese Bereiche Hotspots für die Erfassung der Biodiversität darstellen. Die konstanten Werte in der Gunggl könnten auf eine gleichmäßigere Verteilung der Lebensräume entlang des Flussverlaufs hinweisen, wie es auch von Macher et al. (2018) für kleinere Flusssysteme beschrieben wurde.

11.2.2 Pilze

Die Artenvielfalt, die mittels eDNA aus Wasserproben nachgewiesen werden konnte, variierte hinsichtlich terrestrischer Pilze im Taschbach signifikant. Als Hotspot konnte etwa T8 festgestellt werden, während sich in der Gunggl keine signifikanten Unterschiede entlang des Bachverlaufes zeigten. Dies steht im Einklang mit Studien, die zeigen, dass terrestrische Pilze stark von lokalen Umweltbedingungen wie Vegetation, Bodenbeschaffenheit und Feuchtigkeit beeinflusst werden (Lindahl et al., 2013; Tedersoo et al., 2014). Die Hotspots im Taschbach könnten auf eine höhere Heterogenität der Lebensräume hinweisen, während die gleichmäßige Verteilung in der Gunggl auf homogenere Bedingungen entlang des Flussverlaufs hindeutet. Studien wie die von Lücking et al. (2021) und Bellemain et al. (2010) betonen zudem, dass die Erfassung von Pilz-eDNA stark von der Probenahme-Strategie und der räumlichen Heterogenität abhängt.

11.2.3 Pflanzen

Die Ergebnisse zeigen, dass die Artenvielfalt von Pflanzen entlang des Bachverlaufes in der Gunggl signifikant variiert, während sie im Taschbach konstant bleibt. Umgekehrt variiert die Alpha-Diversität an nachgewiesenen Pflanzen im Taschbach signifikant, während sie in der Gunggl keine Unterschiede aufweist. Diese Befunde stimmen mit Studien überein, die zeigen, dass Pflanzen-eDNA durch hydrologische Prozesse transportiert wird und sich in den unteren Flussabschnitten anreichert (Thomsen & Willerslev, 2015; Valentini et al., 2016). Die

Unterschiede zwischen den beiden Gebieten könnten auf unterschiedliche Vegetationsstrukturen und hydrologische Bedingungen zurückzuführen sein, wie es auch von Deiner et al. (2017) und Li et al. (2019) beschrieben wurde.

11.2.4 Empfehlungen für die räumliche Probenahme

Die Ergebnisse dieses Projektes und die Literatur legen nahe, dass für eine optimale Erfassung der Biodiversität entlang der Bachverläufe Proben an mehreren Stellen entnommen werden sollten. Besonders die unteren Flussabschnitte nahe der Mündung sind für alle drei Organismengruppen von Bedeutung, da hier eine höhere Artenvielfalt und Diversität nachgewiesen wurde (Deiner et al., 2017; Pont et al., 2018). Für Pilze und Pflanzen sollten zusätzlich Proben in den oberen Flussabschnitten gezogen werden, um die gesamte Bandbreite der Diversität zu erfassen (Lindahl et al., 2013; Valentini et al., 2016).

11.3 Projektziel 3: Wann beproben? Bestimmung des optimalen Zeitpunktes der Probenahme, um eine möglichst breite Vielfalt in den bearbeiteten Organismengruppen zu erfassen

Der saisonale Nachweis der eDNA von Arthropoden, Pilzen und Pflanzen in den Untersuchungsgebieten Gunggl und Taschbach zeigt deutliche zeitliche Unterschiede in der Artenvielfalt und Diversität zwischen den Monaten. Nachfolgend werden die in diesem Projekt erzielten Ergebnisse mit relevanter Literatur verglichen, um die vorliegenden Befunde einzuordnen und Empfehlungen für die zeitliche Probenahme zu geben.

11.3.1 Arthropoden

Die saisonalen Schwankungen in der Artenvielfalt terrestrischer Arthropoden, die in beiden Untersuchungsgebieten festgestellt wurden, stimmen mit Studien überein, die zeigen, dass die Aktivität und Diversität von Arthropoden stark von klimatischen Bedingungen und der Verfügbarkeit von Ressourcen abhängt. Beispielsweise fanden Kremen et al. (1993) und Basset et al. (2012), dass die Aktivität von Arthropoden in gemäßigten Klimazonen im Sommer am höchsten ist, was mit den Spitzenwerten in der Gunggl (Juni und Juli) übereinstimmt. Im Taschbach, wo die höchsten Werte im Spätsommer und Herbst (September und Oktober) festgestellt wurden, könnten diese Schwankungen durch die längere Vegetationsperiode und die längere Verfügbarkeit von Nahrungsressourcen erklärt werden (Didham et al., 1996). Die Ergebnisse von Deiner et al. (2017) und Macher et al. (2018) bestätigen zudem, dass eDNA von Arthropoden in Flusssystemen saisonalen Schwankungen unterliegt, da die Menge an eDNA durch die Aktivität der Organismen und die hydrologischen Bedingungen beeinflusst wird.

11.3.2 Pilze

Die zeitlichen Unterschiede in der Artenvielfalt und Alpha-Diversität terrestrischer Pilze, insbesondere die Spitzenwerte im Spätsommer und Herbst im Taschbach, stehen im Einklang mit Studien, die zeigen, dass die Aktivität von Pilzen stark von Temperatur, Feuchtigkeit und der Verfügbarkeit organischer Substrate abhängt (Lindahl et al., 2013; Tedersoo et al., 2014). Die Ergebnisse von Peay et al. (2016) und Lücking et al. (2021) zeigen, dass die Diversität von Pilzen in gemäßigten Klimazonen im Herbst am höchsten ist, da die Zersetzung von Laubstreu

und die Freisetzung von Nährstoffen in dieser Zeit ihren Höhepunkt erreichen. Im Untersuchungsgebiet Gunggl, wo die höchsten Werte im Juni festgestellt wurden, könnten die Unterschiede durch die hydrologischen Bedingungen und eine gleichmäßigere Verteilung der Lebensräume entlang des Bachverlaufs erklärt werden (Bellemain et al., 2010; Lindahl et al., 2013).

11.3.3 Pflanzen

Die saisonalen Schwankungen in der Artenvielfalt und Alpha-Diversität von Pflanzen, insbesondere die Spitzenwerte im Sommer (Juni und Juli), stimmen mit Studien überein, die zeigen, dass die pflanzliche Diversität in gemäßigten Breiten im Sommer am höchsten ist und daher am meisten eDNA terrestrischer Pflanzen zu dieser Zeit in Gewässern zu erwarten ist (Thomsen & Willerslev, 2015). Die Ergebnisse von Pont et al. (2018) und Li et al. (2019) bestätigen zudem, dass eDNA-Nachweise von Pflanzen in Flusssystemen saisonalen Schwankungen unterliegen, da die Menge an eDNA durch die Wachstumsaktivität der Pflanzen und die hydrologischen Bedingungen beeinflusst wird. Die Spitzenwerte in der Gunggl im Mai und August dürften mit noch nicht näher bekannten Faktoren zusammenhängen, welche die Menge und Diversität von eDNA in den Bächen beeinflusst (z.B. Witterungsereignisse wie Regen und Wind), während die konstant hohen Werte im Sommer im Taschbach auf einen geringeren Einfluss solcher Witterungseffekte in diesem Gebiet hinweisen könnten.

11.3.4 Empfehlungen für die zeitliche Probenahme

Die vorliegenden Ergebnisse und Befunde aus der Literatur legen nahe, dass die Sommer- und Herbstmonate die besten Zeiträume für die Entnahme von Wasserproben für die Gewinnung von terrestrischer eDNA sind, um eine möglichst hohe Diversität von Arthropoden, Pilzen und Pflanzen zu erfassen. Für Arthropoden und Pflanzen sind die Sommermonate zwischen Juni und September ideal, während für Pilze der Spätsommer und Herbst (September und Oktober) besonders geeignet sind. In der Gunggl sollten zusätzlich Proben im Mai und Juni gezogen werden, um die Frühjahrsdiversität zu erfassen. Diese Empfehlungen stimmen mit den Ergebnissen von Deiner et al. (2017), Lindahl et al. (2013) und Thomsen & Willerslev (2015) überein, die zeigen, dass saisonale Schwankungen in der Biodiversität durch klimatische und ökologische Faktoren beeinflusst werden.

Eine Kombination von eDNA-Analysen aus Wasserproben mit traditionellen Methoden wie Bodenfallen oder Lichtfallen könnte die Erfassung der terrestrischen Biodiversität weiter verbessern (Thomsen & Willerslev, 2015; Valentini et al., 2016).

11.4 Weiterentwicklung des Ansatzes zum Nachweis terrestrischer Waldbiodiversität mittels eDNA aus Bachwasserproben

Die Ergebnisse unserer Untersuchung zeigen, dass durch Umwelt-DNA-Proben aus Bächen, die durch Wälder fließen, eine beträchtliche Vielfalt an terrestrischer Biodiversität erfasst werden kann.

Zur Weiterentwicklung und Verbesserung des Ansatzes sind insbesondere drei Bereiche in Betracht zu ziehen:

- 1) Filtration größerer Wasservolumina
- 2) Passive eDNA-Besammlung
- 3) Verbesserte taxonomische Verifizierung der detektierten Taxa

In diesem Projekt wurden die zum Zeitpunkt der Projektdurchführung gängigen 1,5 Liter an Wasser pro Probenstelle filtriert. Obwohl schon in diesen Proben eine beeindruckende Vielfalt an terrestrischen Organismen nachgewiesen werden konnte, könnte mit der Filtration höherer Wasservolumina mehr eDNA gewonnen werden. Dies sollte insbesondere die Wahrscheinlichkeit erhöhen, DNA von terrestrischen Arten zu erfassen, deren eDNA-Mengen im Wasser im Normalfall als sehr gering anzunehmen sind. Studien haben gezeigt, dass die Nachweisgrenze für eDNA stark von der Menge des gefilterten Wassers abhängt: In Gewässern mit geringer eDNA-Konzentration, wie großen Flüssen oder Seen, ist die Filtration größerer Volumina besonders wichtig, um die DNA von Zielorganismen zu detektieren (Ficetola et al., 2008; Deiner et al., 2015). Kleine Wasservolumina können die DNA von weniger häufigen oder weniger aktiven Arten übersehen, während größere Volumina eine repräsentativere Stichprobe der im Ökosystem vorhandenen Organismen liefern (Valentini et al., 2016; Bista et al., 2017). Ein weiterer Vorteil der Filtration größerer Wasservolumina ist die Reduktion der räumlichen und zeitlichen Variabilität. eDNA ist in Gewässern oft ungleichmäßig verteilt, da sie durch Strömungen, Sedimentation und biologische Aktivitäten beeinflusst wird. Die Filtration größerer Volumina hilft, diese Variabilität auszugleichen, indem sie eine größere Menge an Wasser und damit eine repräsentativere Probe des Ökosystems erfasst (Turner et al., 2014; Li et al., 2019). Trotz dieser Vorteile gibt es auch Herausforderungen bei der Filtration großer Wasservolumina. Dazu gehören die längere Filtrationszeit und das Verstopfen der Filter (Li et al., 2018a; Spens et al., 2017) sowie die höheren Kosten für Großvolumenfilter.

Im vorliegenden Projekt wurde in einem kleinen Versuch getestet, wie sich die Filtration größerer Wasservolumina (50 versus 1,5 Liter) auf die Anzahl nachgewiesener Taxa auswirkt: Interessanterweise konnte trotz der deutlich größeren Volumina nur bei Proben, die im Gebiet Taschbach genommen wurden, eine durchschnittlich höhere Taxavielfalt an Arthropoden und Pilzen festgestellt werden; die Unterschiede waren statistisch nicht signifikant. Tiefergehende vergleichende Untersuchungen zu dieser Fragestellung sollten durchgeführt werden, um zu bestimmen, ob die Erhöhung des filtrierten Wasservolumens zu einem signifikant höheren Nachweis an terrestrischen Taxa führt.

Für die Weiterentwicklung des Monitorings terrestrischer Biodiversität in Wäldern aus Fließgewässerproben sollte auch die passive Erfassung von Umwelt-DNA in Betracht gezogen werden: Dies ist ein relativ neuer Ansatz, der zunehmend Aufmerksamkeit in der Forschung erhält. Im Gegensatz zu den oben beschriebenen aktiven Methoden wie dem Filtrieren von

Wasserproben, bei denen Wasser durch Filter gepumpt wird, basiert die passive Erfassung auf der Verwendung von Materialien, die eDNA aus der Umgebung passiv adsorbieren. Typische Materialien sind z. B. Membranen, Schwämme oder spezielle Substrate wie Baumwoll- oder Glasfasermaterialien, die in Gewässern über einen bestimmten Zeitraum ausgesetzt werden, um eDNA zu sammeln (Bessey et al., 2021; Yamanaka et al., 2016; Li et al., 2018 b).



Abb.36: Wasserbeprobung durch passive eDNA-Filter im Untersuchungsgebiet Taschbach.
Foto: Yannick Pütz/Julia Wagner

Die passive Erfassung bietet mehrere Vorteile gegenüber aktiven Methoden. Ein zentraler Vorteil ist die Möglichkeit, eDNA über längere Zeiträume zu akkumulieren, was die Nachweiswahrscheinlichkeit für seltene oder schwer detektierbare Arten erhöht. Dies ist besonders nützlich in Gewässern mit niedrigen eDNA-Konzentrationen (Bessey et al., 2021). Zudem ermöglicht die passive Erfassung eine kontinuierliche Probenahme über einen längeren Zeitraum, wodurch zeitliche Schwankungen in der eDNA-Konzentration besser erfasst werden können (Bessey et al., 2021). Hinsichtlich des Monitorings terrestrischer Biodiversität aus Bachwasserproben sollte der passive Ansatz daher die durchschnittliche Anzahl an Taxa, die pro Probe detektiert werden kann, deutlich erhöhen. Wie in unserem Zwischenbericht bereits angeführt, haben erste Tests dieses Ansatzes bereits sehr vielversprechende Ergebnisse gezeigt: Auf den Filter-

membranen von passiven eDNA-Sammlern (siehe Abb. 36), die zwischen 5 und 8 Stunden in den Bächen appliziert wurden, konnten im Taschbach 108 und in der Gunggl 90 verschiedene Taxa detektiert werden. Darüber hinaus erfordert die passive Methode keine aufwendige Ausrüstung wie Pumpen oder Filtereinheiten, was sie kostengünstiger und einfacher in der Anwendung macht, insbesondere in abgelegenen oder schwer zugänglichen (Wald)Gebieten (Kirtane et al., 2020).

Die taxonomische Verifizierung und Plausibilisierung der detektierten Taxa stellt eine weitere Herausforderung für zukünftige Projekte dar, um die bioinformatisch generierten Sequenzdaten möglichst effizient taxonomisch korrekt nachgewiesenen Organismen zuordnen zu können. Hier sind Qualität und Umfang der Referenzdatenbanken ausschlaggebend. Projekte wie das „Barcode of Life Data System“ (BOLD) haben bereits Millionen von DNA-Barcodes für Tiere, Pflanzen und Pilze gesammelt und in öffentlich zugänglichen Datenbanken gespeichert (Ratnasingham & Hebert, 2007). Diese Initiativen werden kontinuierlich erweitert, um möglichst viele taxonomische Gruppen und geografische Regionen abzudecken, z.B. durch die Austrian Barcode of Life (ABOL) Initiative (<https://www.abol.ac.at/>). Durch die systematische Sequenzierung von DNA-Barcodes, die Verknüpfung genetischer und ökologischer Informationen, die Entwicklung neuer bioinformatischer Werkzeuge, die Standardisierung von Protokollen und die Einbindung von Citizen Science wird sich die Qualität und Nutzbarkeit von DNA-Referenzdatenbanken kontinuierlich verbessern.

Neben den genannten Herausforderungen sollte nicht vergessen werden, dass die Erfassung terrestrischer Organismen über Umwelt-DNA aus Wasserproben im Vergleich zu herkömm-

lichen Ansätzen des terrestrischen Biomonitorings in Wäldern eine Reihe wesentlicher Vorteile bietet:

Ein Vorteil liegt in der hohen Effizienz und Zeitersparnis bei der Probengewinnung. Im Vergleich zu traditionellen Methoden wie Fallenstellen, visuellen Surveys oder Vegetationskartierungen ist die eDNA-Analyse schneller und weniger arbeitsintensiv. Die Probenahme ist zudem sehr einfach und daher mittels einer kurzen Einschulung auch von Nicht-Experten gut durchführbar.

Wie wir zeigen konnten, enthalten eDNA-Wasserproben, auch wenn sie nur aus 1,5 Liter Wasser gewonnen wurden, DNA vieler terrestrischer Tier-, Pflanzen- und Pilzarten. Dadurch wird eine breite taxonomische Abdeckung erreicht, da die Gewinnung von eDNA nicht auf spezifische Organismengruppen beschränkt ist. Somit bietet die Methode eine Möglichkeit zur umfassenderen Bewertung der Biodiversität in einem Untersuchungsgebiet (Valentini et al., 2016; Taberlet et al., 2012). Zusätzlich sei hier auf die Eignung des Ansatzes zum Nachweis von invasiven und pathogenen Arten verwiesen, wie dies anhand der vorliegenden Ergebnisse demonstriert werden konnte.

Ein weiterer zentraler Vorteil ist, dass eDNA-Analysen eine nicht-invasive Methode darstellen, die es ermöglicht, Organismen zu erfassen, ohne diese direkt beobachten, fangen oder stören zu müssen. Dies ist besonders relevant für seltene, gefährdete oder schwer zugängliche Arten (Thomsen & Willerslev, 2015).

Schließlich ist die Methode besonders geeignet für schwer zugängliche Gebiete, da Wasserproben auch DNA von Organismen aus schwer zugänglichen Bereichen von Wäldern enthalten können, ohne dass große Flächen direkt untersucht werden müssen (Yoccoz et al., 2012).

Das vorliegende Projekt hat belegt, dass eine Vielzahl an terrestrischen Organismen, inklusive invasiver und pathogener Arten, über eDNA aus Waldbächen nachgewiesen werden können. Es liefert wesentliche Grundlagen für die Weiterentwicklung eines eDNA-basierten Ansatzes zum Monitoring terrestrischer Biodiversität in Wäldern. Damit wurde ein erster Schritt für ein bundesweites Wald-Biodiversitätsmonitoring mittels eDNA aus Bachwasserproben gelegt, um das Management und den Schutz der Lebensvielfalt in Wäldern zukünftig weiter zu verbessern.



12 Öffentlichkeitsarbeit

12.1 Vorträge

Traugott, M. (2024): DNA des Waldes: Biodiversitätserfassung in Wäldern mittels Umwelt-DNA. Hochgebirgs-Naturpark Zillertaler Alpen, Gemeindezentrum Ginzling, 25. Juli 2024

Traugott, M., Mutti, A., Wagner, J., Pütz, Y., Lanbach, D., Sint, D., Wallinger, C. & Thalinger, B. (2025): Die DNA des Waldes: molekulare Erfassung terrestrischer Biodiversität in Wäldern aus Wasserproben. Tage der Biodiversität, BOKU Wien, 26. Februar 2025



12.2 Webpage Naturpark Karwendel

Julia Wagner & Yannick Pütz im Interview: Die DNA des Waldes – Biodiversitätserfassung in Wäldern mittels Umwelt DNA

<https://www.karwendel.org/wissen-forschung/aktuelle-forschung/#1658826660127-83094f2b-2e3b>

12.3 Projektvideo



<https://www.youtube.com/watch?v=kYNzfeo1WvI>

<https://vimeo.com/976355521/d111409b2a?share=copy>



13 Literatur

- Asplen, M. K., Anfora, G., Biondi, A., Choi, D. S., Chu, D., Daane, K. M., ... & Desneux, N. (2015). Invasion biology of *Drosophila suzukii*: A global perspective and future priorities. *Journal of Pest Science*, 88(3), 469–494.
- Baldrian, P. (2017). Forest microbiome: Diversity, complexity and dynamics. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(2), 109–130.
- Bardgett, R. D., & van der Putten, W. H. (2014). Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, 515(7528), 505–511.
- Barnes, M. A., & Turner, C. R. (2016). The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics. *Ecology and Evolution*, 6(9), 2429–2441.
- Basset, Y., Cizek, L., Cuénoud, P., Didham, R. K., Guilhaumon, F., Missa, O., ... & Novotny, V. (2012). Arthropod diversity in a tropical forest. *Science*, 338(6113), 1481–1484.
- Bellemain, E., Carlsen, T., Brochmann, C., Coissac, E., Taberlet, P., & Kausarud, H. (2010). ITS as an environmental DNA barcode for fungi: An in silico approach reveals potential PCR biases. *BMC Microbiology*, 10(1), 189.
- Bessey, C., Jarman, S. N., Berry, O., Olsen, Y. S., & Bunce, M. (2021). Passive eDNA collection enhances aquatic biodiversity analysis. *Communications Biology*, 4(1), 236.
- Bista, I., Carvalho, G. R., Walsh, K., Seymour, M., Hajibabaei, M., Lallias, D., & Creer, S. (2017). Annual time-series analysis of aqueous eDNA reveals ecologically relevant dynamics of lake ecosystem biodiversity. *Nature Communications*, 8, 14087
- Blank, S. M., Hara, H., Mikulás, J., Csóka, G., Ciornei, C., Constantineanu, R., ... & Altenhofer, E. (2010). *Aproceros leucopoda* (Hymenoptera, Argidae): An East Asian pest of elm trees (*Ulmus spp.*) invading Europe. *Insect Systematics & Evolution*, 41(3), 243–250.
- Bohmann, K., et al. (2014). Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology & Evolution*, 29(6), 358–367.
- Bush, A., et al. (2017). Connecting Earth observation to high-throughput biodiversity data. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(6), 705–715.
- Carraro, L., et al. (2020). Environmental DNA allows upscaling spatial patterns of biodiversity in freshwater ecosystems. *Ecology Letters*, 23(10), 1494–1506.
- Cristescu, M. E. (2014). From environmental DNA to environmental genomics: A review of the state-of-the-art and future perspectives. *Molecular Ecology*, 23(24), 5889–5906.
- Csóka, G., Hirka, A., & Mutun, S. (2017). Spread and potential impact of *Aproceros leucopoda* in Europe. *Forestry Journal*, 63(2), 101–108
- Decaëns, T., Jiménez, J. J., Gioia, C., Measey, G. J., & Lavelle, P. (2006). The values of soil animals for conservation biology. *European Journal of Soil Biology*, 42(S1), S23–S38.

- Deiner, K., Walser, J.-C., Mächler, E., & Altermatt, F. (2015). Choice of capture and extraction methods affect detection of freshwater biodiversity from environmental DNA. *Biological Conservation*, 183, 53–63.
- Deiner, K., et al. (2016). Environmental DNA reveals that rivers are conveyor belts of biodiversity information. *Nature Communications*, 7, 12544.
- Deiner, K., Fronhofer, E. A., Mächler, E., Walser, J.-C., & Altermatt, F. (2017). Environmental DNA reveals that rivers are conveyor belts of biodiversity information. *Nature Communications*, 8(1), 14087.
- Didham, R. K., Ghazoul, J., Stork, N. E., & Davis, A. J. (1996). Insects in fragmented forests: A functional approach. *Trends in Ecology & Evolution*, 11(6), 255–260.
- Essl, F., et al. (2009). Historical range dynamics determine diversification patterns in European mountain plants. *Biological Conservation*, 142(8), 1532–1540.
- Essl, F., & Rabitsch, W. (2002). Neobiota in Österreich. *Umweltbundesamt Monographien*, Band 132, Wien
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). (2007). *Pueraria montana* var. *lobata* (Kudzu): A new invasive alien plant in Europe. *EPPO Bulletin*, 37(1), 1–5.
- FAO. (2020). Global Forest Resources Assessment 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Ficetola, G. F., et al. (2008). Species detection using environmental DNA from water samples. *Molecular Ecology*, 17(21), 4319–4326.
- Gerlach, J., Samways, M., & Pryke, J. (2013). Terrestrial invertebrates as bioindicators: An overview of available taxonomic groups. *Journal of Insect Conservation*, 17(4), 831–850.
- Goldberg, C. S., et al. (2016). Critical considerations for the application of environmental DNA methods to detect aquatic species. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(11), 1299–1307.
- Grabherr, G., et al. (1994). Climate effects on mountain plants. *Journal of Vegetation Science*, 5(6), 833–846.
- Jane, S. F., et al. (2015). Distance, flow and PCR inhibition: eDNA dynamics in two headwater streams. *Molecular Ecology Resources*, 15(1), 216–227.
- Jerde, C. L., Mahon, A. R., Chadderton, W. L., & Lodge, D. M. (2011). “Sight-unseen” detection of rare aquatic species using environmental DNA. *Conservation Letters*, 4(2), 150–157.
- Kirse, A., Bourlat S.J., Langen K. & Fonseca V.G. (2021). Unearthing the Potential of Soil eDNA Metabarcoding—Towards Best Practice Advice for Invertebrate Biodiversity Assessment. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9, doi.org/10.3389/fevo.2021.630560
- Kirtane, A. R., Verma, M., Karandikar, P., & Langer, R. (2020). Design and development of environmental DNA passive samplers for aquatic ecosystems. *Nature Communications*, 11, 6073.

- Kremen, C., Colwell, R. K., Erwin, T. L., Murphy, D. D., Noss, R. F., & Sanjayan, M. A. (1993). Terrestrial arthropod assemblages: Their use in conservation planning. *Conservation Biology*, 7(4), 796–808.
- Li, J., et al. (2018 a). Environmental DNA metabarcoding reveals primary chemical contaminants in freshwater ecosystems. *Molecular Ecology Resources*, 18(6), 1291–1305.
- Li, J., Lawson Handley, L.-J., Read, D. S., & Hänfling, B. (2018 b). The effect of filtration method on the efficiency of environmental DNA capture and quantification via metabarcoding. *Molecular Ecology Resources*, 18(5), 1102–1114.
- Li, F., Gieskes, J., de Schepper, G., & van der Hoek, J. P. (2019). Effect of flow dynamics on environmental DNA concentrations in river water. *Water Research*, 167, 115098.
- Lindahl, B. D., Nilsson, R. H., Tedersoo, L., Abarenkov, K., Carlsen, T., Kjøller, R., ... & Kausrud, H. (2013). Fungal community analysis by high-throughput sequencing of amplified markers – A user's guide. *New Phytologist*, 199(1), 288–299.
- Lindner, M., et al. (2010). Climate change impacts, adaptive capacity, and vulnerability of European forest ecosystems. *Forest Ecology and Management*, 259(4), 698–709.
- Lodge, D. M., Turner, C. R., Jerde, C. L., Barnes, M. A., Chadderton, W. L., Egan, S. P., ... & Pfrender, M. E. (2012). Conservation in a cup of water: Estimating biodiversity and population abundance from environmental DNA. *Molecular Ecology*, 21(11), 2555–2558.
- Lücking, R., Aime, M. C., Robbertse, B., Miller, A. N., Aoki, T., Ariyawansa, H. A., ... & Zhang, N. (2021). Fungal taxonomy and sequence-based nomenclature. *Nature Microbiology*, 6(5), 540–548.
- Macher, J.-N., & Leese, F. (2018). Environmental DNA metabarcoding of rivers: Not all eDNA is everywhere, and not all the time. *BioRxiv*.
- Magurran, A. E. (2004). *Measuring Biological Diversity*. Blackwell Publishing.
- Peay, K. G., Kennedy, P. G., & Talbot, J. M. (2016). Dimensions of biodiversity in the Earth's mycobiome. *Nature Reviews Microbiology*, 14(7), 434–447.
- Pölme A. et al. (2021). FungalTraits: a user-friendly traits database of fungi and fungus-like stramenopiles. *Fungal Diversity*. 105, 1-16.
- Pont, D., Rocle, M., Valentini, A., Civade, R., Jean, P., Maire, A., ... & Dejean, T. (2018). Environmental DNA reveals quantitative patterns of fish biodiversity in large rivers despite its downstream transportation. *Scientific Reports*, 8(1), 10361.
- Ratnasingham, S. & Hebert, P. D. N. (2007). BOLD: The Barcode of Life Data System. *Molecular Ecology Notes*, 7(3), 355–364.
- Seljak, G. (2010). Distribution of *Metcalfa pruinosa* (Say, 1830) (Hemiptera: Flatidae) in Europe and its potential for further spread. *Acta Entomologica Slovenica*, 18(1), 11–20.
- Seidl, R., et al. (2017). Forest disturbances under climate change. *Nature Climate Change*, 7(6), 395–402.

- Sepulveda ,A.J., Nelson, N.M., Jerde, C.L. & Luikart, G. (2020). Are Environmental DNA Methods Ready for Aquatic Invasive Species Management? *Trends in Ecology & Evolution*, 35, 668–678.
- Shogren, A. J., et al. (2017). Controls on eDNA movement in streams: Transport, retention, and resuspension. *Limnology and Oceanography*, 62(4), 1718–1731.
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press.
- Spens, J., Evans, A. R., Halfmaerten, D., Knudsen, S. W., Naesje, T. F., & Ricard, D. (2017). Comparison of capture and storage methods for aqueous microbial eDNA using an optimized extraction protocol: Advantage of enclosed filter. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(5), 635–645.
- Taberlet, P., Coissac, E., Hajibabaei, M., & Rieseberg, L. H. (2012). Environmental DNA. *Molecular Ecology*, 21(8), 1789–1793.
- Tedersoo, L., Bahram, M., Toots, M., Diédhiou, A. G., Henkel, T. W., Kjøller, R., ... & Pöhlme, S. (2014). Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, 346(6213), 1256688.
- Thomsen, P. F., Kielgast, J., Iversen, L. L., Wiuf, C., Rasmussen, M., Gilbert, M. T. P., ... & Willerslev, E. (2012). Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Molecular Ecology*, 21(11), 2565–2573.
- Thomsen, P. F., & Willerslev, E. (2015). Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation*, 183, 4–18.
- Turner, W., et al. (2003). Remote sensing for biodiversity science and conservation. *Remote Sensing of Environment*, 86(2), 245–257.
- Turner, C. R., Uy, K. L., & Everhart, R. C. (2014). Fish environmental DNA is more concentrated in aquatic sediments than in surface water. *Biological Conservation*, 183, 93–102.
- Tyrväinen, L., et al. (2014). Benefits and uses of urban forests and green spaces: A systematic review. *Urban Forestry & Urban Greening*, 13(4), 705–714.
- Valentini, A., Taberlet, P., Miaud, C., Civade, R., Herder, J., Thomsen, P. F., ... & Dejean, T. (2016). Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, 25(4), 929–942.
- Yamanaka, H., Minamoto, T., & Kawabata, Z. (2016). Application of environmental DNA analysis for the detection of invasive alien species. *Ecological Research*, 31(4), 493–501.
- Yoccoz, N. G., et al. (2012). The DNA barcode initiative: Successes, challenges and future prospects. *Molecular Ecology*, 21(8), 1821–1826