

TB Christian Moritz
Ingenieurbüro für Gewässerökologie
Schlichtling 19/7
6410 Telfs

☎ +43 (0)699 11363716
✉ c.moritz@gmx.net

Telfs, am 18.12.2019

IB22-LA1890/2

DNA-Analysen Makrozoobenthos an 5 Probenstellen
Vergleich mit traditioneller morphologisch-mikroskopischer Methodik



ARGE Limnologie GesmbH in Zusammenarbeit mit der Universität Duisburg-Essen

Untersuchung im Auftrag des Amtes der Oberösterreichischen Landesregierung

Inhalt

1	Allgemeines	5
2	Methodik	7
2.1	Probenstellenbeschreibung	7
2.1.1	Feldaist	7
2.1.2	Waldaist	9
2.1.3	Kettenbach	10
2.2	Beprobung, Probenfraktionen	11
2.3	DNA-Extraktion	14
2.4	PCR	14
2.5	Sequenzierung	14
2.6	Bioinformatische Analyse	14
2.7	Weitere Auswertungen	15
3	Ergebnisse	16
3.1	Artenlisten	16
3.1.1	Vollständigkeit der Referenzdatenbanken	16
3.1.2	Vergleich Morphologie-DNA, Artenzahlen und Großgruppen	18
3.1.3	Arten	21
3.2	Vergleich Dominanzverhältnisse	24
3.2.1	Dominanzidentitäten nach RENKONEN	24
3.2.2	Relative Anteile der häufigsten Taxa	26
3.3	Probenstellenvergleiche, diverse Bewertungsindices	34
3.3.1	Saprobität	34
3.3.2	Rhithron-Ernährungstypen-Index RETI	35
3.3.3	Regionsindex (longitudinale Zonation) LZI	36
3.3.4	Diversitätsindex (MARGALEF)	37
3.3.5	Degradationsindex	37
3.4	Anwendbarkeit für die Bewertung von Zustandsklassen	39
4	Zusammenfassung	41
5	Literatur	45
6	Anhang	46

Abbildungsverzeichnis:

Abb. 1: Vergleich von Zustandsbewertungen finnischer Gewässer, die mit traditionellen morphologisch-mikroskopischen (x-Achsen) und DNA-basierten Daten berechnet wurden. Aus ELBRECHT et al. 2017b.....	6
Abb. 2: Probenstelle Feldaist uh. Flanitz, Blickrichtung flussauf (links) und flussab (rechts). Fotos Amt der OÖ. Landesreg.....	8
Abb. 3: Probenstelle Feldaist Kriehmühle, Blickrichtung flussauf (links) und flussab (rechts). Fotos Amt der OÖ. Landesreg.....	8
Abb. 4: Probenstelle Waldaist oh. Reichenstein, Blickrichtung flussauf (links) und flussab (rechts). Fotos Amt der OÖ. Landesreg.....	9
Abb. 5: Probenstelle Waldaist Hohensteg, Blickrichtung flussauf (links) und flussab (rechts). Fotos Amt der OÖ. Landesreg.....	10
Abb. 6: Probenstelle Kettenbach Süßmühle, Blickrichtung flussauf (links) und flussab (rechts). Fotos Amt der OÖ. Landesreg.....	11
Abb. 7: Schema der verschiedenen Bestandteile der MHS-Proben.....	12
Abb. 8: Kumulativer Erfassungsgrad verschiedener Gruppen des Makrozoobenthos in den Referenzdatenbanken BOLD und GenBank mit mindestens einer (A) oder fünf (B) vorliegenden Sequenzen. Aus WEIGAND et al. (2019)	17
Abb. 9: Längenverteilung der sequenzierten „reads“. Oben: Gewebeprobe mit vorwiegend Invertebraten „reads“, Unten: Ethanolüberstand Phase 2 mit vielen Bakterien „reads“. Grafik: Genomics Core Facility, Universität Duisburg-Essen	28
Abb. 10: Reihenfolge der 20 häufigsten Taxa an der Feldaist uh. Flanitz. Blau: morphologische Daten.	29
Abb. 11: Reihenfolge der 20 häufigsten Taxa an der Feldaist Kriehmühle. Blau: morphologische Daten.	30
Abb. 12: Reihenfolge der 20 häufigsten Taxa am Kettenbach-Süßmühle. Blau: morphologische Daten.	31
Abb. 13: Reihenfolge der 20 häufigsten Taxa an der Waldaist oberhalb Reichenstein. Blau: morphologische Daten.	32
Abb. 14: Reihenfolge der 20 häufigsten Taxa an der Waldaist unterhalb Hohensteg. Blau: morphologische Daten.	33
Abb. 15: Saprobitätsindex	34
Abb. 16: Rhithron-Ernährungstypen-Index.....	35
Abb. 17: Longitudinale Zonation, Index gewichtet.....	36
Abb. 18: Diversitätsindex (Margalef)	37
Abb. 19: Degradationsindex.....	38
Abb. 20: Durchschnittliche Degradationseinstufung aller Taxa	39

Tabellenverzeichnis:

Tab. 1: Zusammenstellung der durchgeführten genetischen Analysen an den 3 Probenstellen. x ... Analyse ohne verwertbares Resultat. Grün hinterlegt ... Wiederholte Analyse.	12
Tab. 2: Anteil der zu Beginn der Untersuchung in der Referenzdatenbank BOLD enthaltenen Taxa der operationellen Taxaliste Österreichs.	16
Tab. 3: Anteil der zu Beginn der Untersuchung an 3 Untersuchungsstellen enthaltenen Arte in der Referenzdatenbank BOLD.	16
Tab. 4: Erfassungsgrad verschiedener Großgruppen in Referenzdatenbanken (WEIGAND et al. 2019). Rot hervorgehoben: Makrozoobenthos.	17
Tab. 5: DNA-Analysen, Anzahl der OTU's bzw. Taxa.	18
Tab. 6: Taxazahlen der DNA-Analysen im Vergleich zu den morphologischen Bestimmungen. „+“ Vorkommen in 1 der 3 Untersuchungen 2009-2015 „++“ ... Vorkommen in 2 der 3 Untersuchungen 2009-2015 „+++“ ... Vorkommen in 3 der 3 Untersuchungen 2009-2015.	20
Tab. 7: Dominanzidentitäten nach RENKONEN. Orange: keine molekulargenetische Daten. Grün: molekulargenetische Analyse wiederholt.	24
Tab. 8: Dominanzidentitäten nach RENKONEN. Molekulargenetische Daten logarithmiert.	25
Tab. 9: Individuendichten und Prozentanteile der morphologischen Bestimmungen 2018. „+“ Vorkommen in 1 der 3 Untersuchungen 2009-2015 „++“ ... Vorkommen in 2 der 3 Untersuchungen 2009-2015 „+++“ ... Vorkommen in 3 der 3 Untersuchungen 2009-2015.	46
Tab. 10: Morphologische Daten, Zustandsbewertung ECOPROF.	51
Tab. 11: Morphologische Daten, diverse Indices ECOPROF.	52
Tab. 12: DNA-Daten, diverse Indices.	55
Tab. 13: DNA-Daten (logarithmiert), diverse Indices.	56
Tab. 14: DNA-Analysen. Reads der Taxa mit einer Similarity > 90%.	57
Tab. 15: DNA-Analysen. Reads der Taxa mit einer Similarity > 90%, Haplotypen zusammengefasst. .	65
Tab. 16: Zuordnung der DNA-basierten Arten zu den vergleichbaren morphologisch bestimmten Taxa für die Berechnung der Dominanzidentitäten. Grau hinterlegt: verschiedene OTU's bzw. DANN-basierte Arten zu einem höheren Taxon zusammengefasst.	72

1 Allgemeines

Die Analyse von Lebensgemeinschaften mittels molekulargenetischer Methoden ist ein in den letzten Jahren stark boomender Forschungszweig. Inzwischen sind die technologischen und methodischen Fortschritte so weit gediehen, dass bereits die Anwendung solcher Methoden im Monitoring zur Diskussion steht.

Der generelle Vorteil liegt in der vollständigeren Erfassung der taxonomischen Zusammensetzung, wobei auch mit traditionellen Methoden nicht auf Artniveau bestimmbare Larven und Juvenilstadien erfasst werden, ein Nachteil ist die noch schlechte Quantifizierbarkeit. Dies wird auch durch einzelne bereits publizierte Vergleiche zwischen „traditionellen“ Artenlisten und Fließgewässerbewertungen mit molekulargenetischen Untersuchungen (z.B. Elbrecht et al. 2017b) bestätigt, wonach molekular mehr Taxa detektiert werden (57 % mehr Taxa nachgewiesen) als umgekehrt (30 % der morphologisch bestimmten Taxa wurden nicht nachgewiesen).

Die Bearbeitung erfolgte in Zusammenarbeit folgender Arbeitsgruppen:

ARGE Limnologie GesmbH, Innsbruck (später fortgeführt durch das **TB Christian Moritz**, Telfs):
Projektleitung, mikroskopisch-morphologische Bestimmungen, vergleichende Diskussion.

Universität Duisburg-Essen, Genomics Core Facility (Arbeitsgruppe Univ.-Prof. Dr. Florian Leese):
genetische Analysen

Über die Vergleiche der Taxalisten hinausgehend wurde auch das Potenzial für die Anwendung zur Bewertung des ökologischen Zustands diskutiert. Dafür wurden charakteristische metrics des aktuellen Leitfadens zu ökologischen Fließgewässerbewertung anhand des Makrozoobenthos (BMNT 2018) berechnet und verglichen.

Auf die Berechnung multimetrischer Indices und des ökologischen Zustandes wurde verzichtet. Abgesehen von den Unterschieden hinsichtlich der Taxalisten und Dominanzverhältnissen (welche die Grundlage der meisten in Österreich verwendeten metrics zur Gewässerbewertung sind) wurden auch die Klassifikationsgrenzen der multimetrischen Indices auf Grundlage von MHS-Proben entwickelt. Gleiche Indices, die auf Grundlage molekulargenetischer Daten berechnet würden, sind damit a priori nicht mit der aktuellen Bewertungsmethodik vergleichbar bzw. anwendbar:

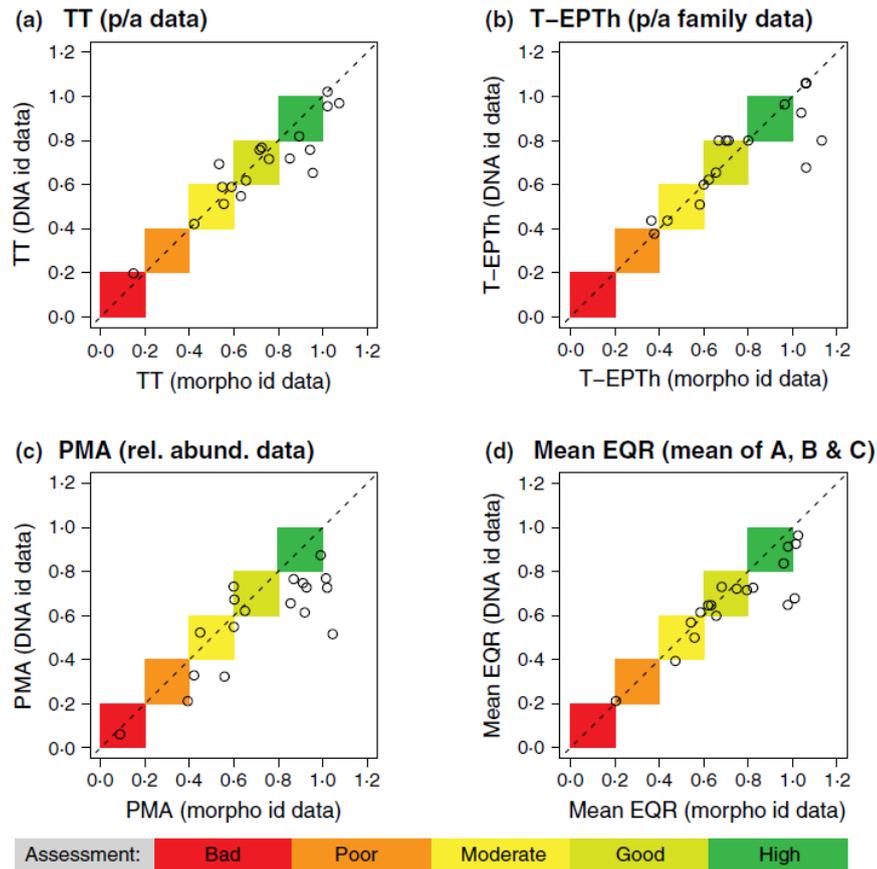


Abb. 1: Vergleich von Zustandsbewertungen finnischer Gewässer, die mit traditionellen morphologisch-mikroskopischen (x-Achsen) und DNA-basierten Daten berechnet wurden. Aus ELBRECHT et al. 2017b.

Abb. 1 zeigt, dass zwar ein genereller Zusammenhang besteht, gleichzeitig aber auch eine hohe Streuung. Alle in Abb. 1 dargestellten Punkte, die außerhalb der farblich abgegrenzten Bereiche für die jeweiligen Zustandsklassen liegen, bedeuten eine von der herkömmlichen Methodik abweichende Bewertung der Zustandsklasse.

In mehreren Publikationen wurden bisher die Tiere manuell aussortiert und molekulargenetisch weiter analysiert. In der Praxis bedeutet dies aber einen hohen Arbeitsaufwand. Da ein Vorteil bzw. eine Zielsetzung molekulargenetischer Analysen aber eine effizientere Probenbearbeitung ist, wurden auch andere Methoden bzw. Probenbestandteile, die weniger arbeitsintensiv sind (Ethanolüberstand, homogenisierte Probe) untersucht.

2 Methodik

2.1 Probenstellenbeschreibung

Die 5 untersuchten Probenstellen unterscheiden sich hinsichtlich ihres Verbauungsgrades und der organischen Belastung durch am Oberlauf liegende Abwasserreinigungsanlagen (ARA's). Im Folgenden werden die 5 Stellen zusammenfassend beschrieben. Die Angaben zu den Kläranlagen und den morphologischen Verhältnissen wurden vom Amt der Oberösterreichischen Landesregierung zur Verfügung gestellt.

Bei den Auswertungen der Daten wurde dann weiter geprüft, inwieweit sich diese unterschiedlichen Rahmenbedingungen auf verschiedenen Indices (Saprobitätsindex, Degradationsindex, Diversität, ...), welche Bestandteil der für die gewässerökologischen Bewertungen herangezogenen multimetrischen Indices sind, auswirken.

2.1.1 Feldaist

Im Einzugsgebiet der Feldaist liegen folgende Kläranlagen mit Einwohnergleichwerten $EWBSB_5 \geq 500$:

- Freistadt und Umgebung (Fl.km 28,8), $EWBSB_5 = 30.000$
- Kerschbaum (Fl.km 44,5), $EWBSB_5 = 660$
- Lasberg (Einleitung Feistritzbach Fl.km 2,4; Einmündung Feldaist bei Fl.km 23,2), $EWBSB_5 = 1850$
- St. Oswald (Einleitung Feistritzbach Fl.km 7,3; Einmündung Feldaist bei Fl.km 23,2), $EWBSB_5 = 3.500$
- Kefermarkt (Fl.km 19,7), $EWBSB_5 = 3.200$
- Untere Feldaist/Pregarten (Fl.km 8,2), $EWBSB_5 = 21.500$

Die Untersuchungsstelle „**Feldaist uh. Flanitz**“ (Fl.km 18,0) liegt etwa 1,7 km unterhalb der Kläranlage von Kefermarkt (3.200 $EWBSB_5$) und knapp 19 km unterhalb der größeren Kläranlage Freistadt und Umgebung (30.000 $EWBSB_5$), 10-20 m unterhalb einer Güterwegbrücke. Der Verlauf ist geradlinig. Im Brückenbereich und auch oberhalb im Bereich eines Anwesens (orographisch links) sind die Ufer mittels einer Granitsteinschichtung befestigt. Unterhalb der Brücke sind die Ufer unverbaut. Mittlere Beschattung

der Gewässersohle. Umland: linksufrig einzelne Gehölze mit krautigem Unterwuchs, dahinter Gehöft mit Fischteich und Wiesen, rechtsufrig reicht ein Laubmischwald bis an den unmittelbaren Uferbereich.

Abb. 2: Probenstelle Feldaist uh. Flanitz, Blickrichtung flussauf (links) und flussab (rechts). Fotos Amt der OÖ. Landesreg.



Die Untersuchungsstelle „**Feldaist Kriehmühle**“ (Fl.km 4,8) liegt etwa 3,4 km unterhalb der Kläranlage Untere Feldaist/Pregarten (21.500 EW BSB5), etwa 20 m unterhalb der ehemaligen Kriehmühle. Im Bereich der Kriehmühle befindet sich eine Steinrampe mit Rückstau. Eine Ausleitung existiert nicht mehr. Im Bereich der Probeentnahme sind die Ufer natürlich. Beidseitig schließt an die Ufer Mischwald an.



Abb. 3: Probenstelle Feldaist Kriehmühle, Blickrichtung flussauf (links) und flussab (rechts). Fotos Amt der OÖ. Landesreg.

Die beiden Feldaiststellen lassen hinsichtlich der Morphologie bzw. Sohlstruktur keine großen Unterschied erwarten, hinsichtlich der Nähe zu den beiden größeren Kläranlagen ist die Stelle Kriehmühle deutlich

näher zur ARA Untere Feldaist/Pregarten als die Stelle uh. Flanitz zur ARA Freistadt und Umgebung und könnte/sollte daher einen etwas höheren Saprobitätsgrad aufweisen.

Das bestätigt sich auch bei Betrachtung eines einfachen improvisierten Summenparameters aus allen flussaufwärts liegenden ARA's unter Berücksichtigung der Einwohnergleichwerte und Distanzen zur Probenstelle unter der Annahme, dass die organische Belastung proportional zu den EW und (aufgrund von Selbstreinigungsprozessen) umgekehrt proportional zur Distanz verläuft: Belastung = Σ EW/Distanz.

Für die Stelle Feldaist uh. Flanitz ergäbe sich daraus ein Wert von 4.995 EW/km und für die Stelle Kriehmühle ein Wert von 7.985 EW/km.

2.1.2 Waldaist

Im Einzugsgebiet der Waldaist liegen folgende Kläranlagen mit Einwohnergleichwerten $EWBSB_5 \geq 500$:

- Sandl (Einleitung Reisingerbach Fl.km 6,7; Einmündung Waldaist bei Fl.km 42,6), $EWBSB_5 = 1.300$
- Weitersfelden (Einleitung Weiße Aist Fl.km ,6; Einmündung Waldaist bei Fl.km 34,1) $EWBSB_5 = 700$
- St. Leonhard (Einleitung Herzogreither Bach Fl.km 6,1; Einmündung Waldaist bei Fl.km 18,1) $EWBSB_5 = 1.100$
- Gutau, (Einleitung Gutaubach Fl.km 2,3; Einmündung Waldaist bei Fl.km 12,3) $EWBSB_5 = 3.600$

Die Untersuchungsstelle „**Waldaist oh Reichenstein**“ (Fl.km 7,8) liegt etwa 100 m oberhalb der Brücke zur ehemaligen Kunstmühle Artmayr. Flußbreite 10 -12 m. Beidseitig einreihiger Ufergehölzstreifen mit krautigem Unterwuchs. Rechtsufrig Uferanriss mittels Granitsteinschüttung gesichert, im weiteren Verlauf Reste von alten Granitsteinsicherungen. Mittlere Beschattung der Gewässersohle. Umland: Grünland, Viehweiden. Neben der Mühle stehen nur vereinzelt Häuser in weiterer Entfernung zum Fluss.

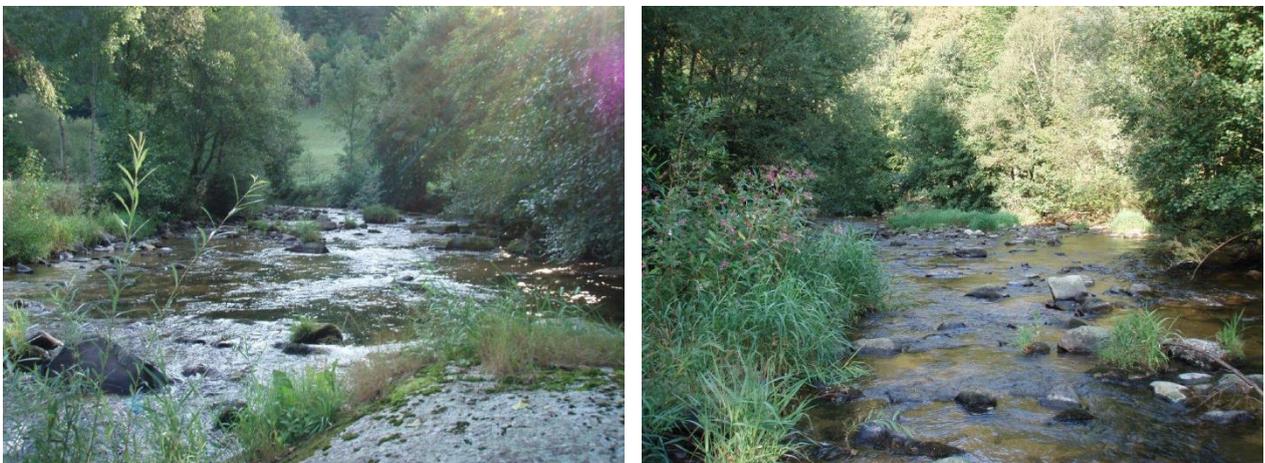


Abb. 4: Probenstelle Waldaist oh. Reichenstein, Blickrichtung flussauf (links) und flussab (rechts). Fotos Amt der OÖ. Landesreg.

Die Untersuchungsstelle „**Waldaist Hohensteg**“ (Fl.km 0,1) liegt etwa 20 m unterhalb der Brücke in Hohensteg. Ungefähr 50 m oberhalb der Brücke befindet sich eine Sohlrampe, der Rückstaubereich dient als Flussbad. Trapezförmig reguliert, Ufer mittels Blocksteinwurf gesichert. Beidseitig geschlossener Ufergehölzstreifen mit krautigem Unterwuchs. Mittlere Beschattung der Gewässersohle. Umland: Grünland, Streusiedlung.



Abb. 5: Probenstelle Waldaist Hohensteg, Blickrichtung flussauf (links) und flussab (rechts). Fotos Amt der OÖ. Landesreg.

Die Belastung durch oberhalb liegende, an der Waldaist nur relativ kleine Kläranlagen spielt an beiden Stellen im Vergleich zur Feldaist keine große Rolle, der bei der Feldaist erläuterte „Belastungsparameter“ beträgt hier lediglich 341 (Stelle uh. Hohensteg) bzw. 654 EW/km (Stelle oh. Reichenstein).

2.1.3 Kettenbach

Im Einzugsgebiet des Kettenbaches liegen folgende Kläranlagen mit Einwohnergleichwerten $EWBSB_5 \geq 500$:

- Schenkenfelden (Fl.km 18,9) $EWBSB_5 = 2.300$
- Reichenthal (Fl.km 13,4) $EWBSB_5 = 2.200$

Die Untersuchungsstelle „**Kettenbach uh. Süßmühle**“ (Fl.km 7,7) liegt etwa 370 m unterhalb der Süßmühle in einem Waldgebiet mit einzelnen Wiesenflächen. Die Ufer sind natürlich ausgebildet. Gute Beschattung der Gewässersohle. Beidufzig schließt im Bereich der Probeentnahme unmittelbar ein Waldgebiet an.

Die organische Belastung durch Kläranlagen ist damit ähnlich wie an den Waldaiststellen mit 591 EW/km relativ gering.



Abb. 6: Probenstelle Kettenbach Süßmühle, Blickrichtung flussauf (links) und flussab (rechts). Fotos Amt der OÖ. Landesreg.

2.2 Beprobung, Probenfraktionen

Die Beprobung erfolgte durch das Amt der oö. Landesregierung mittels Multihabitat-sampling (MHS). Es wird vorausgesetzt, dass die genaue Vorgangsweise bekannt ist bzw. wird hinsichtlich einer genaueren Beschreibung der Methodik auf den entsprechenden Leitfaden (BMNT 2018) verwiesen. Die mikroskopische Analyse im Rahmen der Bearbeitung des Landesmessstellennetzes erfolgt aus der ersten MHS-Probe durch die ARGE Limnologie GesmbH, Innsbruck.

Um vollständig methodenkonform vorzugehen, wurde an den oben beschriebenen Stellen eine zweite MHS-Probe entnommen, die ausschließlich für die molekulargenetischen Analysen verwendet wurde.

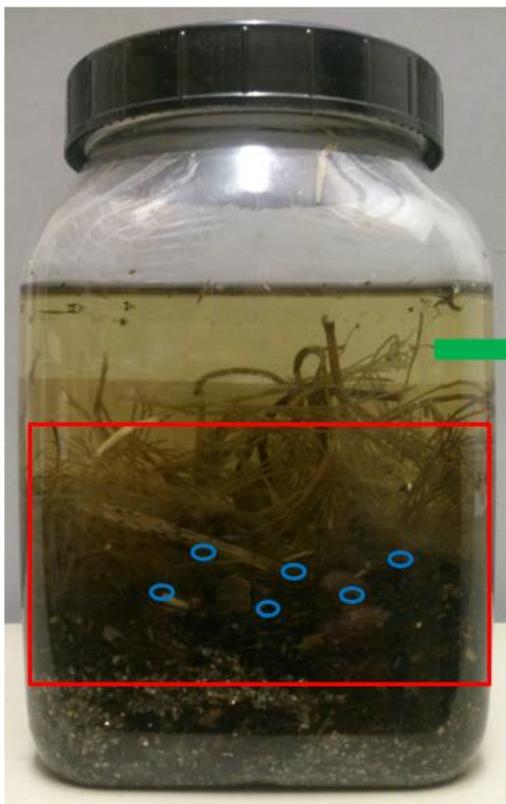
Für die genetischen Analysen wurde das Probenmaterial im Feld in 70-90% Ethanol überführt. Nach max. 24h fand ein Ethanolwechsel mit 96% Ethanol statt. Dieser Arbeitsschritt wurde noch vom Amt der o.ö. Landesregierung übernommen. Es wurden sowohl der Alkohol der Erstfixierung als auch das Probenmaterial mit dem ausgetauschten Alkohol in 2 separaten Behältern zur weiteren Bearbeitung übermittelt.

Ursprünglich war vorgesehen, bei allen Proben jeweils den Ethanolüberstand der Erstfixierung, den Ethanolüberstand der Zweitfixierung und eine homogenisierte Gesamtprobe zu analysieren. Durch externe Umstände (von den Flaschen mit dem ersten Ethanolüberstand zerbrochen 2 auf dem Postweg) und irrtümliche Analysen von Gewebeproben an 3 Stellen (aussortierte Tiere, wie in bisher publizierten Arbeiten zu genetischen Analysen von Benthosproben, an Stelle homogenisierter Gesamtproben) konnte dieses ursprüngliche Programm nicht zur Gänze durchgeführt werden, letztendlich wurden folgende genetische Analysen durchgeführt:

Tab. 1: Zusammenstellung der durchgeführten genetischen Analysen an den 3 Probenstellen.

x ... Analyse ohne verwertbares Resultat. Grün hinterlegt Wiederholte Analyse.

	Ethanol 1	Ethanol 2	Gewebe	Mix
Feldaist uh Flanitz km 18,0	x	x	x	
Feldaist Kriehmühle km 4,8	x	x	x	
Waldaist oh Reichenstein km 7,8	x	x	x	
Waldaist uh Hohensteg km 0,1		x		x
Kettenbach Süßmühle km 7,7		x		x



1. Gewebeproben, aussortierte Tiere
2. Alkoholüberstand Erstfixierung
3. Alkoholüberstand Zweitfixierung
4. Homogenisierte Proben („Mix“)

Abb. 7: Schema der verschiedenen Bestandteile der MHS-Proben.

Anmerkungen zu den verschiedenen Probenfraktionen:

Gewebeproben, aussortierte Tiere:

In den wichtigsten bisher publizierten Arbeiten (z.B. ELBRECHT et al. 2017) wurden für derartige Vergleiche die Tiere aussortiert, nach Größenklassen sortiert und anteilig molekulargenetisch analysiert. Diese Fraktion war ursprünglich kein Ziel der gegenständlichen Studie, da durch diese Vorgangsweise

zwar eine relativ gute Vergleichbarkeit mit mikroskopisch-morphologischen Bestimmungen erreicht wird, aber der Arbeitsaufwand sehr hoch ist.

Ethanolüberstand Erstfixierung:

Bisherige Erfahrungen der genetischen Arbeitsgruppe der Universität Duisburg-Essen zeigten, dass die erste Ethanolfixierung schlechter mit mikroskopischen Befunden übereinstimmt als die zweite Ethanolfixierung (eine mögliche Hypothese ist, dass bei der Fixierung der Darminhalt ausgestoßen wird und dadurch relativ hohe Anteile der Nahrung bzw. Beute molekulargenetisch nachgewiesen werden).

Die Analyse der Probe an der Feldaist unterhalb Flanitz brachte dabei jedoch kein brauchbares Ergebnis. Wahrscheinlich führte eine geringe Ethanolkonzentration zu einer unzureichenden Konservierung und damit zur Degradierung der DNA.

Ethanolüberstand Zweitfixierung:

Der Alkoholüberstand der Zweitfixierung war der hauptsächliche Ansatz, um eine effiziente genetische Methode, ohne arbeitsintensive Schritte wie das Aussortieren der Tiere, zu prüfen. Zur Anreicherung des DNA-Gehaltes wurden dafür die Proben tiefgefroren.

Im Zuge der genetischen Analysen musste ein Teil der Proben an ein anderes externes Sequenzierlabor vergeben werden. Bei diesen Proben (gleiche Stellen wie für die Gewebeproben) fiel dann eine im Verhältnis zu den anderen Proben geringe Zahl an analysierten Sequenzen (reads) auf. Um die Ergebnisse abzusichern, wurden daher diese Analyse mit einer höheren Zahl an reads wiederholt. Dafür wurde der Ethanolüberstand der Gewebeproben verwendet. Diese Proben sind in der o.a. Tab. 1 grün hinterlegt. Die zweite Ethanolfraktion ist als einzige Analyse an allen 5 Probenstellen durchgeführt.

Homogenisierte Proben („Mix“):

Neben der zweiten Ethanolfraktion war dies die zweite interessante Stoßrichtung im Hinblick auf eine effiziente Probenbearbeitung. Bisherige Erfahrungen der Arbeitsgruppe der Universität Duisburg-Essen wiesen dabei jedoch auf mögliche inhibitorische Effekte und eine schlechtere Übereinstimmung mit mikroskopischen Analysen hin.

Zur Analyse der unsortierten MHS-Proben inklusive Substrat der Stellen Waldaist unterhalb Hohensteg und Kettenbach Süßmühle wurden von jeder Sammelprobe 3 subsamples je 10g, bestehend aus Tieren, Pflanzenmaterial und Substrat, entnommen, mittels MoBio Kit bearbeitet und abschließend vereint.

2.3 DNA-Extraktion

Die DNA wurde mit Hilfe eines Salzfällungsprotokolls extrahiert (Details siehe Elbrecht et al. 2017a). Für jede Probe werden zwei Replikate extrahiert (n=2) und weiter unabhängig prozessiert.

2.4 PCR

Für alle Proben wurde eine PCR mit den Primern BF2 + BR2 (Elbrecht und Leese 2017) durchgeführt. Hierzu wurden 12,5 ng der extrahierten DNA eingesetzt. In Abweichung zu Elbrecht et al. 2017 wurde eine 2-Schritt PCR durchgeführt. Zunächst wurde eine PCR mit den BF2 + BR2-Primern ohne Illumina-Tail durchgeführt (d.h. keine Fusion-Primer). Die PCR Bedingungen sind ansonsten analog zu Elbrecht et al. (2017a), wobei nur 25 PCR-Zyklen durchgeführt wurden. Von der PCR wurde anschließend 1 Mikroliter direkt in eine PCR mit den BF2 + BR2-Primern inklusive Illumina-Tails und Tags mit mindestens 2 Unterschieden je Primer für nochmals 25 Zyklen durchgeführt (Fusion-Primer). Die PCR-Produkte wurden mit Hilfe von Ampure Beads aufgereinigt und auf einem Qubit 2.0 Fluorometer quantifiziert.

2.5 Sequenzierung

Alle Proben wurden anschließend in gleichen Konzentrationen ‚gepoolt‘ und auf einem MiSeq v2 2x250 bp Sequenzierer bei externen Labors sequenziert. Die Proben wurden an verschiedenen Abschnitten der Laboranalyse hinsichtlich ihrer Ausbeute und Qualität untersucht. Die Kontrolle erfolgte via Agarose-Gelelektrophorese und Qubit-Messungen.

2.6 Bioinformatische Analyse

Die bioinformatische Analyse der Sequenzen wurde mit der JAMP-Pipeline (<https://github.com/VascoElbrecht/JAMP>) durchgeführt (siehe Elbrecht et al. 2017a).

Darin enthalten sind folgende Analyseschritte:

- | | |
|----------------------------|---|
| 1. Demultiplexen | Sortieren der ‚reads‘ nach Probestelle |
| 2. ‚Mergen‘ | Zusammenführen der ‚forward & reverse reads‘ |
| 3. QC, ‚Trimmen‘ & Filtern | Filtern nach Basenqualität, Abschneiden der Primer, Berücksichtigung Länge der Sequenzen 421bp ± 15bp |
| 4. Clustern | Zusammenfassen der Sequenzen zu OTUs (97% ident.) |
| 5. Filtern | Aussortieren OTUs welche nicht in Probe & techn. Replikat vorhanden sind; Aussortieren OTUs mit Sequenzhäufigkeiten kleiner 0,01% (mögl. Seq. Fehler) |
| 6. Taxonomische Zuordnung | Barcode of Life Datenbank (BOLD) |

2.7 Weitere Auswertungen

Neben dem Vergleich der mit beiden Methoden erhaltenen Taxalisten wurde auch für jede Probenstelle die Ähnlichkeit der relativen Artenhäufigkeiten mittels der Dominanzidentitäten nach RENKONEN verglichen. Dies ist eine einfache Methode, um Artenspektren verschiedener Orte bzw. Zeitpunkte miteinander vergleichen zu können (ENGELBERG 1987 nach RENKONEN 1938). Dabei wird pro Art der Prozentsatz der relativen Häufigkeit aufaddiert, der beiden Proben(stellen) gemeinsam ist. Die so erhaltene Schnittmenge bewertet den Anteil der gemeinsamen Arten an der gesamten Gesellschaft und lässt Unterschiede in der Zönose erkennen, die sich im Artenspektrum alleine oft nicht niederschlagen. Liegt dieser gemeinsame Anteil über den 60%, kann von einer großen Ähnlichkeit gesprochen werden, ab 80 % werden weitgehend identische Artenzusammensetzungen angezeigt.

Voraussetzung für die Berechnung der Dominanzidentität ist die Vergleichbarkeit der morphologischen und molekularen Taxalisten. Nur (!) für diesen Zweck wurden die Taxalisten abgeglichen und die Dominanzidentitäten mit teilweise „unschärferen“ molekulargenetischen Listen berechnet (z.B. wurden alle *Nais*-Arten außer *N. alpina* zu *Nais. sp.* zusammengefasst etc., alle *Leuctra*-Arten zu *Leuctra. sp.* etc.)

Weiters wurden mit den molekularen Daten auch diverse metrics bzw. Indices der aktuellen Bewertungsmethode (z.B. Saprobitätsindex, Rhithron-Ernährungstypenindex RETI, Regionsindex LZI etc.) berechnet und die Unterschiede zwischen den Probenstellen im Vergleich zur herkömmlichen morphologischen Methodik diskutiert.

3 Ergebnisse

3.1 Artenlisten

3.1.1 Vollständigkeit der Referenzdatenbanken

Eine Voraussetzung für die Anwendbarkeit molekulargenetischer Methoden ist die möglichst vollständige Dokumentation der Arten in den Referenzdatenbanken.

Zu Beginn der Untersuchung wurde daher auch die Referenzdatenbank BOLD sowohl mit dem aktuellen Katalog österreichischer Makroinvertebraten (Fauna Aquatica Austriaca, MOOG & HARTMANN 2017) als auch mit den ersten ausgewerteten Artenlisten von 3 der 5 Untersuchungsstellen abgeglichen. Der Abgleich mit der operationalen Taxaliste der FAA erfolgte dabei durch VITECEK und BEERMANN im Rahmen einer anderen, unten angeführten Studie (WEIGAND et al. 2019).

Tab. 2: Anteil der zu Beginn der Untersuchung in der Referenzdatenbank BOLD enthaltenen Taxa der operationellen Taxaliste Österreichs.

Taxon Level	Total	%Sampled	%Sequenced	%Barcoded
Species	3288	69.37%	66.97%	66.12%
Genus	948	86.60%	84.92%	84.28%

Tab. 3: Anteil der zu Beginn der Untersuchung an 3 Untersuchungsstellen enthaltenen Arte in der Referenzdatenbank BOLD

Taxon	Anzahl	in BOLD	% BOLD
Art	65	61	93,8
Artpaare/Gruppen	9		
Gattung	34		
Gen.sp.	15		
Summe	123		

Dabei zeigte sich, dass zwar 2/3 (66,12 %) der Arten der FAA noch nicht in BOLD enthalten waren. Von 3 zu Beginn ausgewerteten Proben ist es jedoch der weitaus größte Teil (61 von 65 Arten bzw. 93,8 %), der in BOLD schon dokumentiert ist. Bei den in BOLD noch fehlenden Arten muss es sich daher überwiegend um seltenere Arten handeln.

Vom weitaus größte Teil der in den MHS-Proben gefundenen, in der Praxis häufig oder regelmäßig vorkommenden Arten liegen die nötigen Gensequenzen bereits vor. Für Vergleiche wie in der vorliegenden Untersuchungen ist die Voraussetzung einer ausreichenden Dokumentation in den Referenzdatenbanken daher jedenfalls gegeben.

Ergänzend werden noch auszugsweise Ergebnisse des inzwischen publizierten umfassenden Vergleiches der Referenzdatenbanken mit mehreren nationalen Arteninventaren (Gap-analysis, WEIGAND et al. 2019) dargestellt.

Tab. 4: Erfassungsgrad verschiedener Großgruppen in Referenzdatenbanken (WEIGAND et al. 2019). Rot hervorgehoben: Makrozoobenthos

Taxonomic group	Barcode marker	Species in checklist	Barcode coverage [%]		Database source
			≥1 barcode	≥5 barcodes	
Marine invertebrates - ERMS	COI	16,962	22.1	9.9	BOLD
Marine invertebrates - AMBI	COI	3012	47.6	25.0	BOLD
Marine fish ^a	COI	1489	82.1	64.3	BOLD
Diatoms (marine and freshwater)	rbcL/18S	3716	14.6	N/A	Diat.barcode v7
Freshwater vascular plants	rbcL/matK	683	83.0	69.4	BOLD
Freshwater invertebrates	COI	4502	64.5	41.8	BOLD
Freshwater fish	COI	627	87.9	66.2	BOLD/NCBI
Freshwater fish	12S	627	36.4	-	Mitofish

^a Actinopterygii, Elasmobranchii and Holocephali.

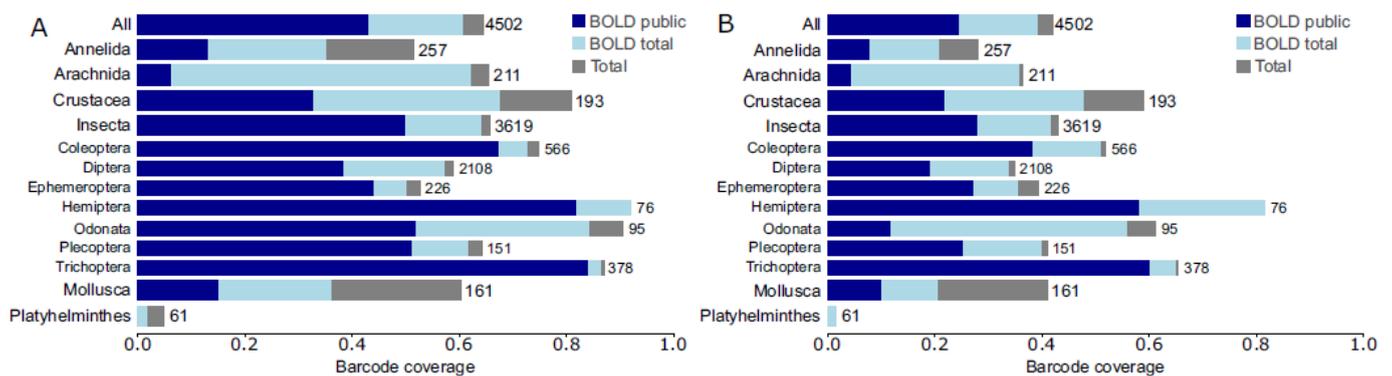


Abb. 8: Kumulativer Erfassungsgrad verschiedener Gruppen des Makrozoobenthos in den Referenzdatenbanken BOLD und GenBank mit mindestens einer (A) oder fünf (B) vorliegenden Sequenzen. Aus WEIGAND et al. (2019)

Am schlechtesten erfasst sind die Anneliden, Eintagsfliegen, Dipteren und Weichtiere, die nur mit rund 50-60 % abgedeckt sind. Wie o.a., dürfte es sich bei den noch fehlenden Arten aber überwiegend um seltenere Arten handeln.

3.1.2 Vergleich Morphologie-DNA, Artenzahlen und Großgruppen

Die Artenlisten mit den Häufigkeiten der einzelnen Taxa finden sich im Anhang (Tab. 9).

Ausgangspunkt der Auswertungen der DNA-Analysen ist die Liste mit der Zahl der detektierten DNA-Sequenzen (reads) der verschiedenen OTU's („operationale taxonomische Einheiten bzw. units“). Dabei sind noch sehr viele Nichtzielarten dabei, welche von den verwendeten primern ebenfalls erfasst werden und auch viele Taxa mit geringer Ähnlichkeit (similarity) zu bisher bekannten Sequenzen.

Erster Arbeitsschritt war daher die Eliminierung der Taxa mit einer similarity < 90 %. Weiters wurden verschiedene Taxa, die nicht dem Makrozoobenthos zugehören, aussortiert.

Dabei verbleiben noch mehrere Haplotypen (Variante der Gensequenz der gleichen Art bzw. des gleichen Taxons). Besonders auffällig war dies bei den Gyriniden, wo morphologisch nur *Orectochilus villosus* nachgewiesen wurde und auch kaum eine andere Art zu erwarten ist, insgesamt jedoch 22 „Gyrinidae Gen.sp.“ (diese aber alle mit einer noch relativ geringen similarity < 95 %) und 5 verschieden *Orectochilus*-Sequenzen (davon 3 *O. villosus*) detektiert wurden.

Um die Vergleichbarkeit mit den morphologischen Taxalisten sicherzustellen, wurden im nächsten Schritt daher diese Haplotypen jeweils zur betreffenden Art zusammengefasst.

Die folgende Tabelle zeigt die Anzahl der Taxa, die aus diesen Arbeitsschritten resultieren.

Tab. 5: DNA-Analysen, Anzahl der OTU's bzw. Taxa

Class (MZB)	Order (MZB)	Anzahl OTU's		Taxa (ohne Dupl.)
		Ausgangsliste	Similarity >90	
Cnidaria	Cnidaria	10	1	1
Platyhelminthe	Turbellaria	3	2	2
Annelida	Clitellata	51	38	26
Bivalvia	Bivalvia	1	0	0
Gastropoda	Gastropoda	26	0	0
Arthropoda	Malacostraca	7	5	4
	Trombidiformes	7	4	4
	Ephemeroptera	52	52	35
	Odonata	2	2	2
	Plecoptera	29	22	15
	Coleoptera	44	43	17
	Trichoptera	40	40	37
	Diptera	106	97	69
Summe MZB (mit Duplikaten)		378	306	212
Summe Rest		940	80	48
Gesamt		1318	386	260

Die Ausgangsliste der DNA-Analysen enthält 1.318 OTU's. Allein schon durch die Entfernung der Taxa < 90 % similarity wird ein Großteil der Nichtzielarten (z.B. Pilze, Algen etc.) eliminiert. Es verbleiben noch

386 OTU's, davon sind 306 dem Makrozoobenthos und noch 80 anderen Gruppen zuzurechnen. Durch die Zusammenfassung der verschiedenen Haplotypen ergibt sich die mit den morphologischen Bestimmungen vergleichbare Artenliste. Davon zählen 212 Taxa zum Makrozoobenthos.

Bei den traditionellen morphologischen Bestimmungen liegt ein Vorteil des verwendeten Probensatzes darin, dass dieser Teil eines langjährigen Monitoringprogrammes ist, bei dem in einem 3-jährigen Zyklus die gleichen Probenstellen beprobt und auch die Bestimmungsarbeiten immer vom gleichen Büro (ARGE Limnologie Innsbruck) durchgeführt wurden. Somit liegen sehr konsistente langjährige Daten vor. Für die vergleichenden Betrachtungen mit den molekulargenetischen Analysen wurden neben dem aktuellen Untersuchungsjahr 2018 auch noch die vorangegangenen 3 Untersuchungszyklen 2009, 2012 und 2015 hinsichtlich des Auftretens weiterer, 2018 nicht nachgewiesener Taxa, herangezogen. Damit sollte das rezente Artenspektrum einer rund 10-jährigen Datenreihe mit 4 Untersuchungen als möglichst vollständige Vergleichsbasis vorliegen. Auf die Einarbeitung weiter zurückliegender Daten wurde verzichtet, da dies ausreichend erschien und die Vergleichsdaten noch einigermaßen aktuell (keine allfälligen langjährigen Veränderungen) sein sollten.

In der folgenden Tab. 6 sind die Taxazahlen der verschiedenen taxonomischen Großgruppen der DNA-Analysen (ohne die lückenhaft erfasste erste Ethanolfraktion) den traditionellen morphologischen Taxazahlen gegenübergestellt.

Die Auswertung der älteren Jahresreihen 2009-2015 zeigt, dass sich die **Gesamttaxazahlen der morphologischen Untersuchungen bei Mitberücksichtigung von 3 weiteren Untersuchungszyklen etwa verdoppeln**. Im Jahr 2018 wurden je nach Probenstelle 50-67 Taxa bestimmt, unter Berücksichtigung der früheren Untersuchungen 2009-2015 erhöht sich dieser Wert auf 100-131 Taxa.

Der weitaus größte Teil dieser zusätzlichen Arten älterer Untersuchungen wurde nur in 1 bzw. 2 der älteren Untersuchungsjahre nachgewiesen. Neben der „zufälligen“ Erfassung von Arten mit geringen Individuendichten bei der Probenentnahme dürfte dabei vor allem eine Rolle spielen, dass nur ein Teil der Proben aussortiert wird und auch, dass je nach Untersuchungsjahr Taxa als juvenile oder ältere und damit besser bestimmbare Stadien vorliegen können.

Die vergleichbaren Gesamttaxazahlen der molekularen Analysen (mit Zusammenfassung der verschiedenen Haplotypen) sind je nach Probenfraktion unterschiedlich. Die höchste Vielfalt findet sich in den 3 Gewebeproben mit 88-97 Taxa. Damit wird fast die Artenvielfalt von 4 Untersuchungszyklen erreicht! Ursache ist im wesentlichen die molekular unproblematische Bestimmbarkeit juveniler Formen.

Ethanol- und Mixproben ergeben demgegenüber geringere Gesamttaxazahlen. Die Ethanolfraktion bei den zwei vergleichbaren Proben (Waldaist uh. Hohensteg und Kettenbach Süßmühle) ist dabei doch deutlich höher (74 und 76 Taxa gegenüber 54 bzw. 63 Taxa bei den Mixproben). Eventuell kommen hier bei den Mixproben inhibitorische Effekte zum Tragen. Dennoch sind auch die Taxazahlen der Mixproben ebenfalls höher als die vergleichbaren morphologischen Proben (52 bzw. 58 Taxa).

Tab. 6: Taxazahlen der DNA-Analysen im Vergleich zu den morphologischen Bestimmungen.

„+“ ... Vorkommen in 1 der 3 Untersuchungen 2009-2015

„++“ ... Vorkommen in 2 der 3 Untersuchungen 2009-2015

„+++“ ... Vorkommen in 3 der 3 Untersuchungen 2009-2015

Order (MZB)	Ethanol 2					Gewebe			Mix		Morphologie 2018				
	Feldaist uh Flanitz km 18,0	Feldaist Kriehmühle km 4,8	Waldaist oh Reichenstein km 7,8	Waldaist uh Hohensteg km 0,1	Kettenbach Süßmühle km 7,7	Feldaist uh Flanitz km 18,0	Feldaist Kriehmühle km 4,8	Waldaist oh Reichenstein km 7,8	Waldaist uh Hohensteg km 0,1	Kettenbach Süßmühle km 7,7	Feldaist uh Flanitz km 18,0	Feldaist Kriehmühle km 4,8	Waldaist oh Reichenstein km 7,8	Waldaist uh Hohensteg km 0,1	Kettenbach Süßmühle km 7,7
Cnidaria		1		1	1										
Turbellaria	1			1	1						1			1	
Clitellata	2	12	7	10	17	1	5	3	5	7	8	5	4	5	3
Bivalvia															
Gastropoda											1	1	2	1	1
Malacostraca	1	3	1	2	2	3	3	1	1	4	2	1		1	1
Trombidiformes	1			1		2				1	1		1	1	
Ephemeroptera	13	17	14	15	23	22	17	19	7	21	10	5	7	7	13
Odonata						2		1			1			1	
Plecoptera	4	6	8	5	2	7	6	9	4	2	3	3	4	3	3
Coleoptera	2	5	6	5	5	11	10	12	10	7	8	7	10	9	10
Trichoptera	7	9	7	14	10	21	14	22	10	8	12	8	15	11	11
Diptera	12	25	15	20	15	28	32	21	17	13	19	20	19	12	16
Hymenoptera											1		1		
Summe MZB	43	78	58	74	76	97	87	88	54	63	67	50	63	52	58
Anzahl "+"											37	39	43	35	42
Anzahl "++"											19	8	16	18	17
Anzahl "+++"											8	3	4	2	3
Anz. nur 2009-2015											64	50	63	55	62

Die verschiedenen **Großgruppen** zeigen dabei einen unterschiedlichen Artenreichtum (im Detail wird auf verschiedene Arten im folgenden Abschnitt eingegangen):

- Zu den Clitellata zählen die Oligochaeten und Egel. Die Egel werden dabei auf molekularer Ebene schlecht erfasst.

- Gleiches gilt für die Gastropoden (Schnecken). Diese sind generell auch bei den morphologischen Proben nur artenarm vertreten (*Ancylus fluviatilis* und juvenile Lymnaeiden), treten aber doch konstant auf. Molekular konnten die Schnecken hingegen überhaupt nicht nachgewiesen werden.
- Deutlich höhere Taxazahlen bei den DNA-Analysen auf Grund der besseren Bestimmbarkeit zeigen sich bei den Eintags- und Steinfliegen sowie den Dipteren.
- Bei Köcherfliegen sind die Gewebeproben deutlich artenreicher als die morphologischen Proben; die Ethanolfraktion und Mixproben weisen hingegen eine ähnliche, teilweise auch etwas geringere Zahl an Köcherfliegenarten wie die morphologischen Bestimmungen auf.

Hinsichtlich der Vollständigkeit von Artnachweisen sind somit die Gewebeproben am besten, gefolgt vom Ethanolüberstand und den Mixproben.

3.1.3 Arten

Bezüglich der detaillierten Artenlisten wird auf den Anhang verwiesen.

Betrachtet man die einzelnen Arten der Großgruppen, fällt sofort der Vorteil der grundsätzlich besseren Bestimmbarkeit juveniler Stadien oder schwieriger Taxa auf.

So wird bei den **Eintagsfliegen** das Artenpaar *Baetis fuscatus/scambus* molekular separat aufgeschlüsselt. Juvenile oder nur auf Gruppenniveau bestimmte Arten der Heptageniiden-Gattungen *Rhithrogena*, *Heptagenia*, *Ecdyonurus* und *Epeorus* können ebenfalls als Arten angesprochen werden.

Gleiches gilt bei den **Plecopteren**, bei denen mehrere häufige Gattungen morphologisch nicht auf Artniveau bestimmbar sind. So werden auf molekularer Ebene die Gattungen *Leuctra* und *Protonemura* als Arten angesprochen, es wurden *Leuctra fusca* (häufigste *Leuctra*), *L. digitata* und (am seltensten) *L. hippopus* sowie die *Protonemura*-Arten *P. meyeri*, *nitida* und *praecox* (in abnehmender Häufigkeit) aufgeschlüsselt.

Auch bei den **Köcherfliegen** werden juvenile Hydropsychen und Limnephiliden (*Potamophylax*) als Arten angesprochen.

Zwiespältig sind die Ergebnisse bei den **Coleopteren**. Einerseits werden natürlich auch diese als Arten zugeordnet, jedoch bei den verschiedenen Probenfraktionen in unterschiedlichem Umfang und nicht den tatsächlichen Dominanzverhältnissen entsprechend, Elmidenlarven sind generell unterrepräsentiert (vgl. Kapitel 3.2.2). Bei der Gattung *Elmis* wurde morphologisch *E. maugetii* an allen Stellen etwas häufiger als *E. rioloides* bestimmt. Molekular ist bei den Gewebe- und Mixproben das Verhältnis umgekehrt, bei den Ethanolproben mit wesentlich geringeren reads hingegen eher den morphologischen Verhältnissen entsprechend.

Bei den **Dipteren** spiegelt sich die teilweise noch unsichere Larvensystematik bei den Chironomiden wieder, wo noch einige mit „sp.“ nicht näher bestimmbare Gattungen auch molekular diesen status aufweisen. Abgesehen davon ist aber auch hier die Bestimmbarkeit molekular besser. Dies zeigt sich v.a. auch bei den Simuliiden, die zum Zeitpunkt der Probenentnahmen v.a. als juvenile, morphologisch nicht auf Artniveau bestimmbare Stadien auftreten, molekular aber gut aufgetrennt werden.

Auch wenn bei den molekularen Methoden noch Unsicherheiten etwa in den Referenzdatenbanken bei Vorliegen weniger Vergleichssequenzen oder in der biostatistischen Bearbeitung und Artzuordnung vorhanden sein können, stellt diese differenzierte und nachvollziehbare Bestimmbarkeit den größten Vorteil der molekularen Methoden dar.

Teilweise sind in den Referenzdatenbanken Synonyme noch nicht bereinigt (*Ochthebius forojuliensis/melanescens*, *Atherix marginata* / *Ibisia marginata*, *Rheotanytarsus distinctissimus/pellucidus*, *Ephemera ignita* / *Serratella ignita*, *Epeorussylvicola/assimilis*), da die Artzugehörigkeit aber klar ist, ist dies nur eine marginale Ungenauigkeit.

Von Arten, welche nur molekular nachgewiesen wurden, sind noch solche hervorzuheben, welche **Erst- oder nur sehr seltene Nachweise für Österreich** darstellen. Diese werden im Folgenden mit Anmerkungen und den vorhandenen Grundlagen (Sequenzen) in den Referenzdatenbanken angeführt.

- ***Saetheria tylus*** (similarity 98,58 %)

Diese Chironomidenart ist für Österreich nicht gemeldet (nicht in der FAA), wäre grundsätzlich aber auch als Larve morphologisch zu erkennen (Schlüssel in OREL 2014)

16 publizierte Nachweise bzw. Sequenzen in BOLD, davon nur 1 Nachweis aus Europa (Norwegen), die übrigen aus Kanada oder Kalifornien.

- ***Simulium petricolum*** (similarity 99,28 %)

Erstnachweis durch SEITZ erst 2009 im Nationalpark Gesäuse

5 Sequenzen der gleichen Arbeitsgruppe aus England in GenBank, NCBI

- ***Simulium velutinum*** (similarity 99,52 %)

Nicht für Österreich gemeldet (nicht in der FAA)

19 Sequenzen verschiedener Arbeitsgruppe aus England, Spanien, Finnland, Türkei, Frankreich in GenBank, NCBI

- *Liponeura brevirostris* (similarity 99,52 %)

Nicht für Österreich gemeldet (nicht in der FAA)

1 publizierte Sequenz aus Deutschland in BOLD

Auch wenn im Einzelfall durch wenige publizierte Sequenzen (*L. brevirostris*), nur einzelne europäische Nachweise oder etwas geringere Ähnlichkeiten mit publizierten Daten (*S. tylos*) teilweise noch gewisse Unsicherheiten bestehen, ist dies jedenfalls ein guter Ansatzpunkt, weiter gezielt nach diesen Arten zu suchen bzw. den Nachweis zu bestätigen. Vor allem aber zeigt sich darin das große Potential molekularer Methoden, auf effiziente Weise die Kenntnis zur Verbreitung von Arten zu verbessern und regionale oder nationale Artenlisten zu vervollständigen.

Im Gegensatz dazu stehen Arten, welche nur morphologisch nachgewiesen wurden. Dabei handelt es sich um Arten, die

- a) auch morphologisch nur in geringen Dichten (Anteil \leq ca. 0,5%) nachgewiesen wurden:

Limnodrilus claparedeianus, *Propappus volki*, *Agriotypus armatus*, *Elmis obscura*, *Hydraena riparia*, *Silo nigricornis*, *Lasiocephala basalis*, *Simulium morsitans*, *Hexatoma sp.* und einige Chironomiden: *Brillia bifida*, *Brillia flavifrons*, *Cardiocladius capucinus*, *Cardiocladius fuscus*, *Cricotopus tremulus*, *Eukiefferiella devonica/ilkleyensis*

- b) mit den verwendeten primern schlecht detektiert werden:

Ancylus fluviatilis

- c) in den Referenzdatenbanken nicht oder ungenügend dokumentiert sind:

Eukiefferiella clypeata, *Eukiefferiella similis*, *Cricotopus (Nostococcladius) lygropis*, *Microtendipes rydalensis*

Hinsichtlich der Gruppe c, welche in den Referenzdatenbanken noch nicht dokumentiert sind, bieten die morphologischen Daten auch die Möglichkeit, diese durchaus regelmäßig auftretenden Arten gezielt zu besammeln bzw. zu sequenzieren und die Datenbanken zu vervollständigen.

3.2 Vergleich Dominanzverhältnisse

Inwieweit die relativen Anteile der verschiedenen Taxa bei den morphologischen und molekulargenetischen Auswertungen übereinstimmen, wurde auf 2 Arten betrachtet:

1. Ermittlung der Dominanzidentitäten nach RENKONEN
2. Grafische Darstellung und vergleichende Diskussion der Anteile der 20 häufigsten Taxa

3.2.1 Dominanzidentitäten nach RENKONEN

Da das Determinationsniveau der Taxa bei den morphologischen und molekulargenetischen Methoden unterschiedlich ist, sind die Vergleiche mittels der Dominanzidentitäten als relative Unterschiede zwischen den verschiedenen molekulargenetischen Ansätzen zu verstehen. Generell sind die Dominanzidentitäten aus diesem Grund auch relativ niedrig.

Tab. 7: Dominanzidentitäten nach RENKONEN. Orange: keine molekulargenetische Daten. Grün: molekulargenetische Analyse wiederholt.

	Ethanol 1	Ethanol 2	Gewebe	Mix
Feldaist uh Flanitz km 18,0		24,4	31,5	
Feldaist Kriehmühle km 4,8	18,9	21,7	31,4	
Waldaist oh Reichenstein km 7,8	18,1	17,9	33,4	
Waldaist uh Hohensteg km 0,1		23,1		58,2
Kettenbach Süßmühle km 7,7		24,5		26,3

Generell die beste Übereinstimmung mit den morphologischen Daten zeigen die Gewebeproben bei allen 3 Proben (abgesehen von der mit Abstand höchsten Übereinstimmung bei der einzelnen Mixprobe der Waldaist uh. Hohensteg – diese ist dort bedingt durch die sowohl morphologisch als auch molekular übereinstimmende Dominanz der Köcherfliege *Brachycentrus maculatus* bzw. dem Synonym *Oligoplectrum maculatum*). Dies ist auch weniger überraschend, da durch die manuelle Aussortierung der Tiere eine eher mit den morphologischen Proben vergleichbare Vorselektion erfolgt.

Die schlechteste Übereinstimmung zeigt der erste Ethanolüberstand. Das bestätigt auch die bisherigen Erfahrungen. Der zweite Ethanolüberstand ist etwas besser als der erste.

Nach den Gewebeproben zeigt die homogenisierte Probe das zweitbeste Ergebnis bzw. ein mit den Gewebeproben vergleichbares Ergebnis. Zwar liegen nur 2 Proben vor, die zudem stark unterschiedliche Ergebnisse zeigen, aber auch der niedrigere dieser beiden Werte (Kettenbach Süßmühle) ist besser als alle 5 zweiten Ethanolproben. Leider gab es keine mit dem Gewebe direkt vergleichbaren Probenstellen. Bei den im folgenden dargestellten logarithmierten Proben ist der Unterschied zu den von allen Probenstellen vorliegenden zweiten Ethanolproben aber eher größer als zwischen den zweiten Ethanol-

und den Gewebeproben. Dies legt den Schluss nahe, dass die homogenisierten Proben zumindest eine vergleichbare Ähnlichkeit mit den morphologischen Daten aufweisen wie die Gewebeproben.

Das ist ein doch überraschendes Ergebnis, da bisherige Erfahrungen eher für bessere Übereinstimmungen der zweiten Ethanolfraktion mit den morphologischen Daten hinweisen.

Da bei den molekulargenetischen Ergebnisse oft eine übermäßige Dominanz einzelner Taxa festzustellen ist (vgl. Kapitel 3.2.2), wurde wie bereits erwähnt auch getestet, ob logarithmierte molekulargenetische Daten höhere Übereinstimmungen mit den morphologischen Daten ergeben.

Tab. 8: Dominanzidentitäten nach RENKONEN. Molekulargenetische Daten logarithmiert.

	Ethanol 1	Ethanol 2	Gewebe	Mix
Feldaist uh Flanitz km 18,0		23,5	25,9	
Feldaist Kriehmühle km 4,8	26,0	28,9	30,7	
Waldaist oh Reichenstein km 7,8	27,0	26,2	33,2	
Waldaist uh Hohensteg km 0,1		25,5		29,4
Kettenbach Süßmühle km 7,7		23,6		28,5

Grundsätzlich sind die relativen Unterschiede ähnlich wie bei den nicht logarithmierten Werten, generell zeigen v.a. die beiden Ethanolfraktionen aber bessere Übereinstimmungen mit den morphologischen Daten und die starke Streuung der beiden Mixproben wird ausgeglichen.

Die Gewebeproben zeigen die beste Übereinstimmung mit den morphologischen Daten, wie bereits erläutert dürften die homogenisierten Proben aber eine zumindest vergleichbare Übereinstimmung aufweisen ! Die beiden Ethanolfraktionen sind demgegenüber schlechter mit den morphologischen Daten vergleichbar (auch wenn das Ergebnis besser als bei den nicht logarithmierten Daten ist).

Hinsichtlich der Entwicklung bzw. des Einsatzes kosteneffizienter Untersuchungsmethoden sollten daher unter dem Blickwinkel möglichst guter Übereinstimmungen der Dominanzverhältnisse eher homogenisierte Proben bevorzugt werden. Gewebeproben sind zwar ebenfalls sehr gut bzw. bisher die bevorzugte Methode, durch die zeitaufwändige Vorbereitung (Aussortieren) aber weniger effizient.

3.2.2 Relative Anteile der häufigsten Taxa

In den folgenden Abbildungen werden für jede der 5 Probenstellen und alle unterschiedlichen Methoden die 20 häufigsten Taxa in absteigender Reihenfolge sortiert dargestellt (bei den morphologischen Daten Angaben in Ind./m², bei den molekulargenetischen Daten als Zahle der reads).

Als Referenz für die zusammenfassende Diskussion der verschiedenen molekulargenetischen Fraktionen werden jeweils die morphologischen Daten (blaue Balkendiagramme) verwendet.

Gewebeproben:

Bei den Gewebeproben zeigen sich die methodisch grundsätzlichen Unterschiede zwischen den morphologischen und molekulargenetische Methoden, die hier weniger durch die Probenaufbereitung (Ethanolfraktionen) oder mögliche inhibitorische Effekte (Mixproben) beeinflusst sind.

Der größte Vorteil (der auch für die anderen molekularbiologischen Daten gilt) liegt wie bereits bei den nachgewiesenen Taxa (Kapitel 3.1.2) ausführlicher besprochen darin, dass morphologisch auf Grund von zu kleinen Juvenilstadien oder schwieriger Larvaltaxonomie nicht näher bestimmbare Taxa auf einem deutlich besseren taxonomischen Niveau angesprochen werden. Beispielsweise dürfte die an der Feldaist uh. Flanitz molekulargenetisch dominierende Köcherfliege *Hydropsyche siltalai* als morphologisch dritthäufigstes Taxon *Hydropsyche sp. juv.* bezeichnet sein, das morphologische Artenpaar *Baetis fuscatus/scambus* wird jeweils als Art aufgeschlüsselt, wobei hier *B. scambus* etwas häufiger als *B. fuscatus* ist. Gleiches gilt für das Artenpaar *Hydropsyche incognita/pellucidula*, wo molekulargenetisch von beiden nachgewiesenen Arten *H. pellucidula* deutlich häufiger als *H. incognita* ist.

Es zeigen sich aber auch die generellen Nachteile, dass manche Gruppen bei den verwendeten primern deutlich unterrepräsentiert sind. Von den hier dargestellten häufigen Arten ist dies insbesondere bei den massenhaft vorkommenden Elmiden auffällig, die selbst bei den Gewebeproben nur unter „ferner liefern“ zu finden sind (vgl. z.B. Waldaist oberhalb Reichenstein).

Einzelne andere Arten hingegen sind überrepräsentiert, auffällig ist dies vor allem bei den unverwechselbaren Heptageniidengattungen *Ecdyonurus* und *Epeorus*, die an beiden Feldaiststellen (*Ecdyonurus insignis* und *E. macani*) sowie an der Waldaist oberhalb Reichenstein (*Epeorus sylvicola* bzw. *assimilis*) molekular stark dominieren, mikroskopisch aber nur in geringen Häufigkeiten auftreten. Da sich dies auch bei den anderen molekularen Fraktionen zeigt (vgl. auch hier *Ecdyonurus insignis* an der Feldaist und *Epeorus* an der Waldaist oh. Reichenstein), dürfte dies eine, aus welchem Grund auch immer, systematische Überproportionalität bei den molekularen Daten darstellen.

Homogenisierte Proben, Mix:

Die bereits bei den Gewebeproben angeführten generellen Vor- und Nachteile zeigen sich auch bei den beiden homogenisierten Proben vom Kettenbach (Süßmühle) und der Waldaist uh. Hohensteg. Die morphologisch stark dominierenden Elmiden sind molekular gar nicht oder allenfalls mit geringen Anteilen (*Elmis rioloides* und *Esolus parallelepipedus* in der Waldaist) bei den häufigsten Taxa zu finden.

Athericiden (*Atherix ibis* und *Ibisia marginata*) und *Ancylus fluviatilis*, die im Kettenbach zu den häufigsten Taxa zählen, sind molekular nicht (*Ancylus*) oder nur in sehr geringen Anteilen und nicht bei den häufigsten Taxa (*Athericidae*) nachzuweisen.

Wenn hingegen Eintagsfliegenlarven (v.a. *Baetis spp.*) in den morphologischen Proben häufig sind (Kettenbach), sind sie molekular umso stärker vertreten. An der Waldaist dagegen, wo Baetiden auch morphologisch nicht besonders dominieren, stimmen die relativen Anteile besser überein.

An der Waldaist sind die beiden morphologisch deutlich dominierenden Arten *Brachycentrus maculatus* und *Hydropsyche incognita* auch bei den homogenisierten Proben in ähnlicher Weise dominant (daraus resultiert auch die bei den Dominanzidentitäten im vorangegangenen Kapitel dargestellte und mit Abstand beste Übereinstimmung zwischen den morphologischen und molekularen Daten).

Ethanol 1 und Ethanol 2:

Beiden Ethanolfraktionen gemeinsam ist, dass die Dominanzverhältnisse bei mehreren Probenstellen übermäßig stark von einzelnen Arten, die morphologisch bei weitem nicht so häufig auftreten, bestimmt werden.

An der Feldaist unterhalb Flanitz ist es *Baetis scambus*, an der Feldaist Kriehmühle *Ecdyonurus insignis*, an der Waldaist oberhalb Reichenstein *Epeorus assimilis* bzw. synonym *E. sylvicola*.

Die am Kettenbach ebenfalls sehr starke Dominanz von *Baetis rhodani* stimmt hier zumindest gut damit überein, dass *B. rhodani* auch morphologisch sehr häufig ist und die dort überwiegenden Elmiden molekular generell schlecht detektiert werden.

An der Waldaist unterhalb Hohensteg sind die Dominanzverhältnisse zwar ausgewogener, aber auch hier sind mit *Ecdyonurus insignis* und *Stylodrilus heringianus* 2 Arten besonders stark vertreten, die morphologisch eine deutlich geringere Rolle spielen.

Auffallend ist, dass es überwiegend Ephemeropteren sind, die molekular so deutlich dominieren. Eine mögliche Erklärung ist, dass diese Larven bei Alkoholfixierung sehr fragil sind und durch die mechanische Beanspruchung beim Transport und v.a. der weiteren Probenaufbereitung besonders gut „zerlegt“ werden. Das dürfte v.a. bei den *Baetis*-Larven zutreffen, die morphologisch auch eher zahlreich sind. Es dürften aber auch noch weitere Faktoren eine Rolle spielen, da *Ecdyonurus* und *Epeorus* morphologisch bei

weitem nicht so häufig sind, um die übermäßige molekulare Dominanz in den o.a. Proben so erklären zu können.

Sowohl hinsichtlich der übermäßig dominierenden Arten als auch bei den folgenden, weniger häufigen Arten sind die beiden Ethanolfraktionen gleich bzw. unterscheiden sich nur wenig. Insgesamt ist die Übereinstimmung mit den morphologischen Proben aber relativ schlecht im Vergleich zu den anderen Analysen (Gewebe und Mix).

Bei den zweiten Ethanolfraktionen der Stellen Kettenbach Süßmühle und Waldaist unterhalb Hohensteg fällt die sehr geringe Zahl an reads auf (siehe z.B. die Skalierung der zweiten Ethanolproben in Abb. 12 und Abb. 14). Dies ist auf auffallend viele Sequenzen von Bakterien (v.a. das gramnegative Bakterium *Shigella sp.*) zurückzuführen. Dies war auch in der Länge des Ziel-Genfragments zu sehen (Abb. 9), da anstatt der erwarteten Länge von 461 Basenpaaren viele Sequenzen eine Länge von 473 bp aufwiesen.

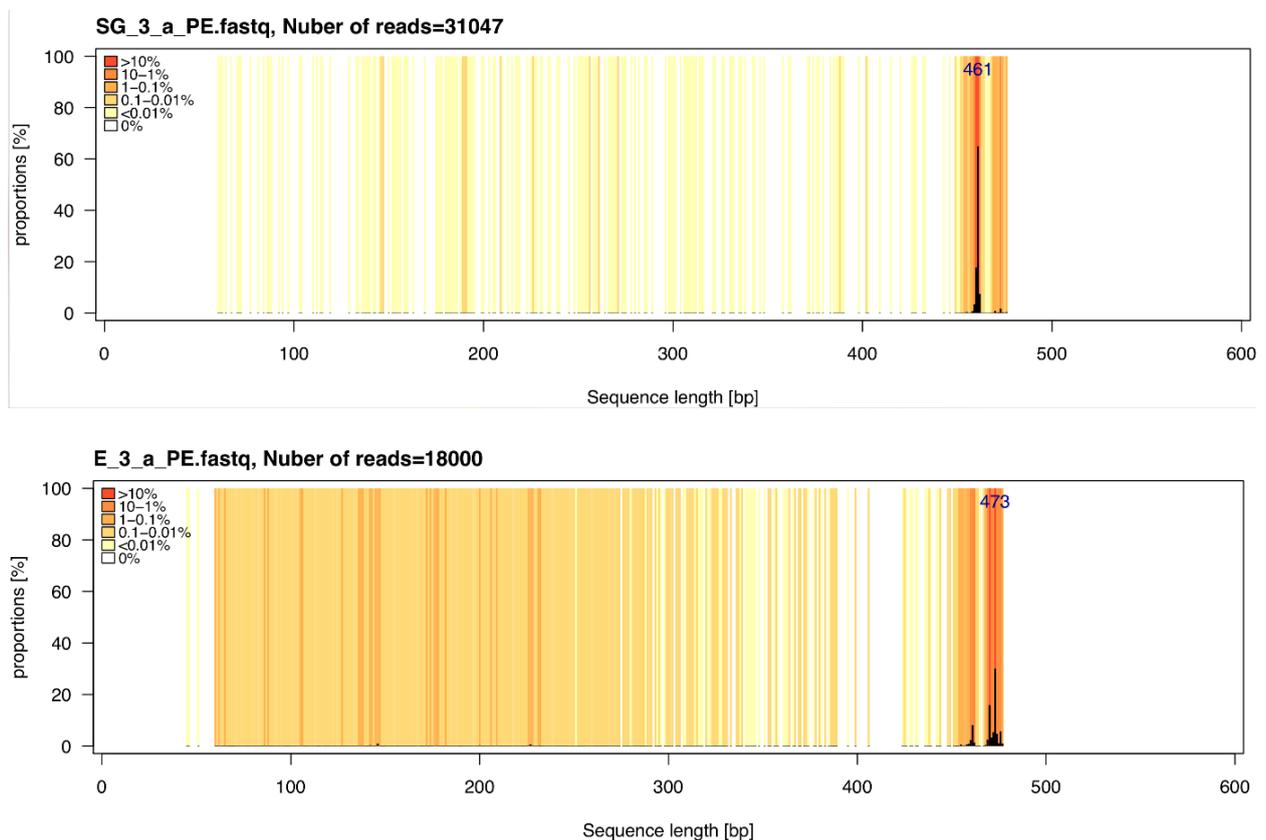


Abb. 9: Längenverteilung der sequenzierten „reads“.

Oben: Gewebeprobe mit vorwiegend Invertebraten „reads“,

Unten: Ethanolüberstand Phase 2 mit vielen Bakterien „reads“.

Grafik: Genomics Core Facility, Universität Duisburg-Essen

Neben der schlechten Übereinstimmung der Dominanzverhältnisse mit den morphologischen Proben ist dies ein weiterer Grund, weshalb von der Verwendung der 2. Ethanolphase entgegen den ursprünglichen Erwartungen eher abzuraten ist.

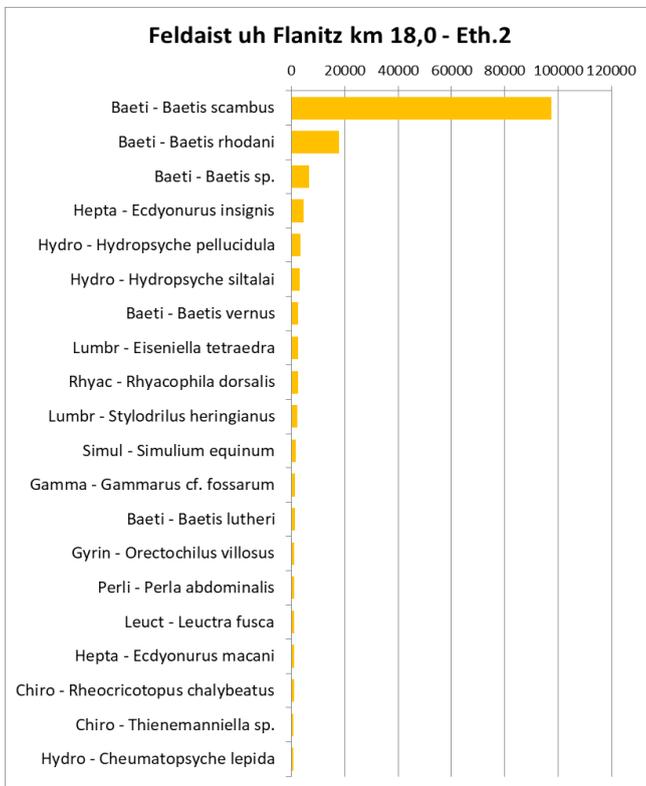
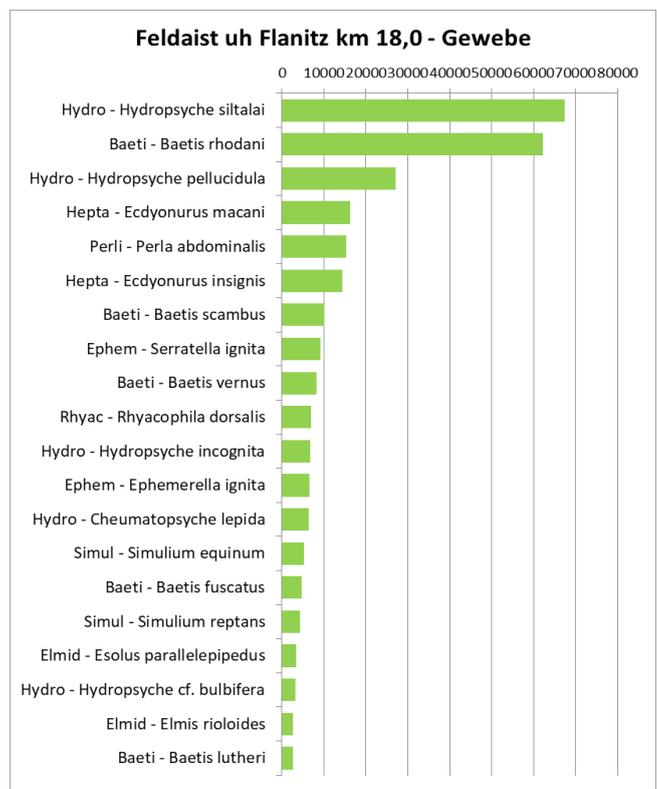
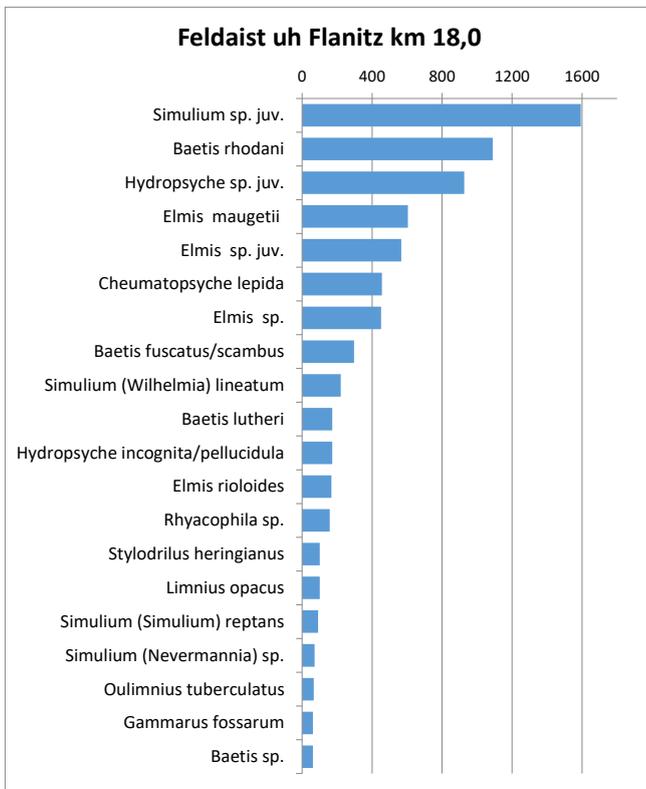


Abb. 10: Reihenfolge der 20 häufigsten Taxa an der Feldaist uh. Flanitz. Blau: morphologische Daten.

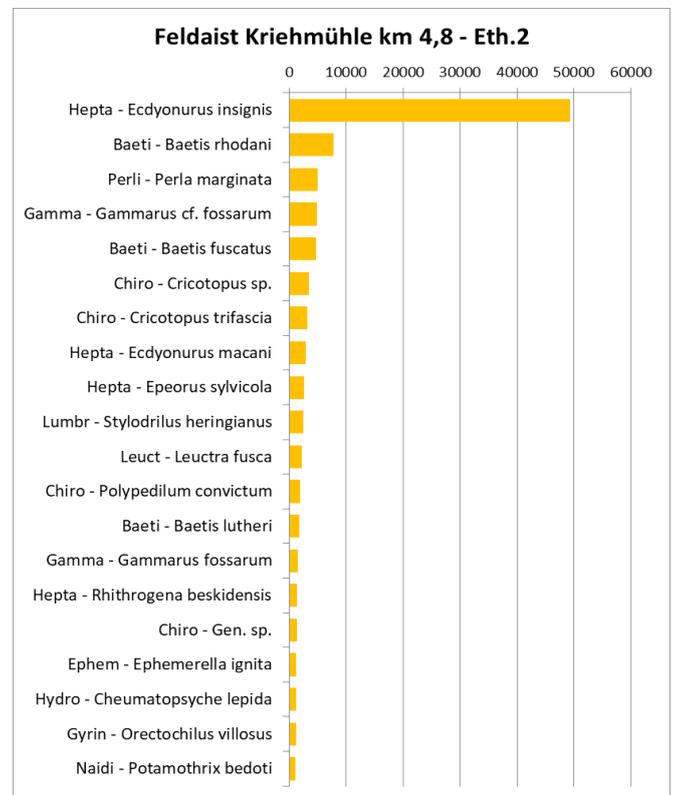
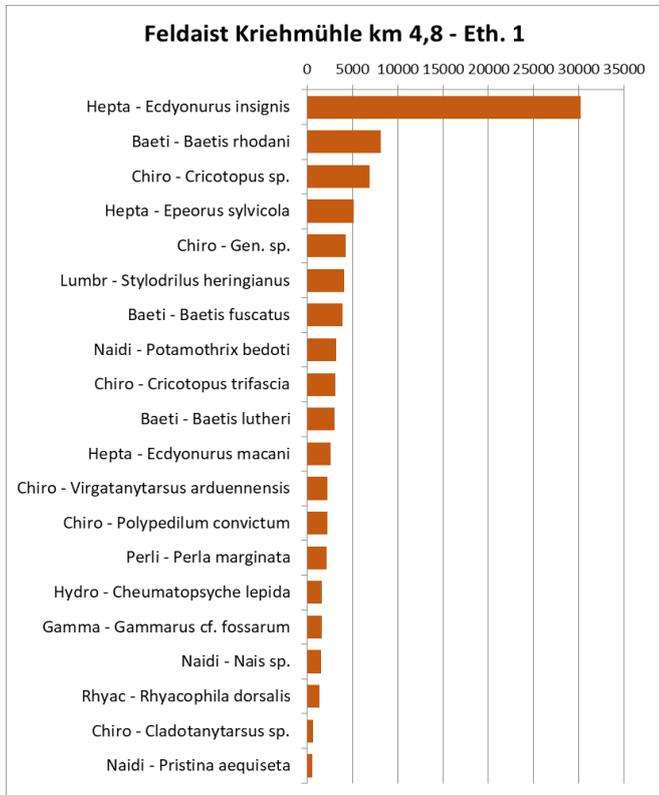
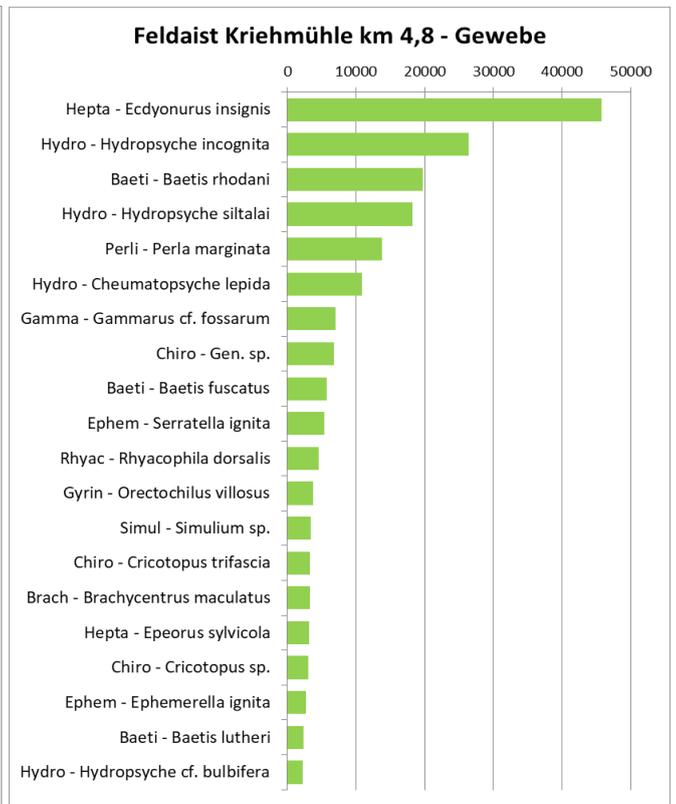
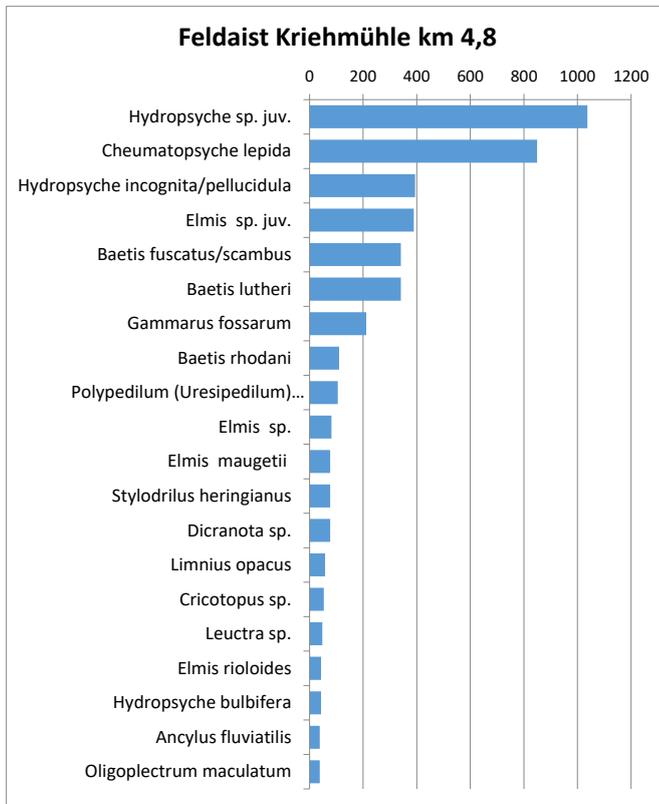


Abb. 11: Reihenfolge der 20 häufigsten Taxa an der Feldaist Kriehmühle. Blau: morphologische Daten.

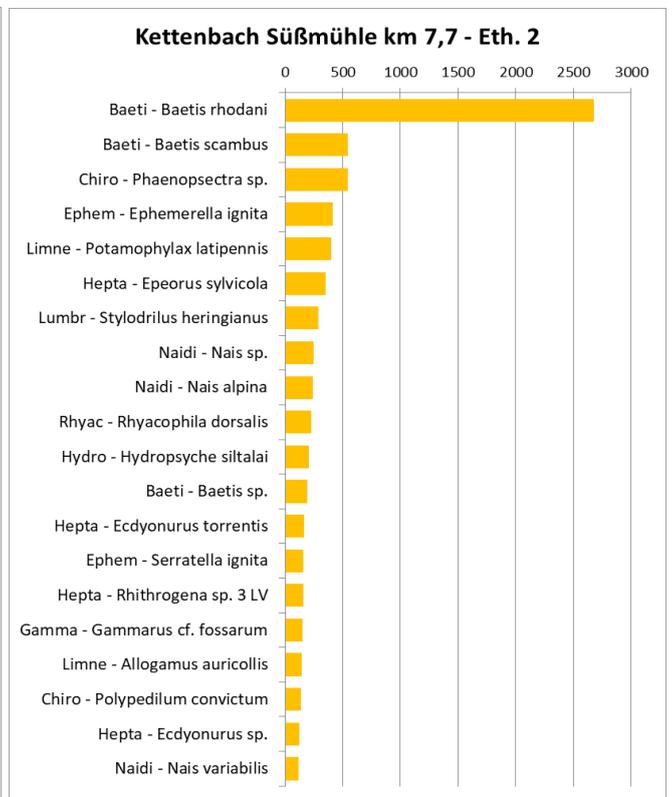
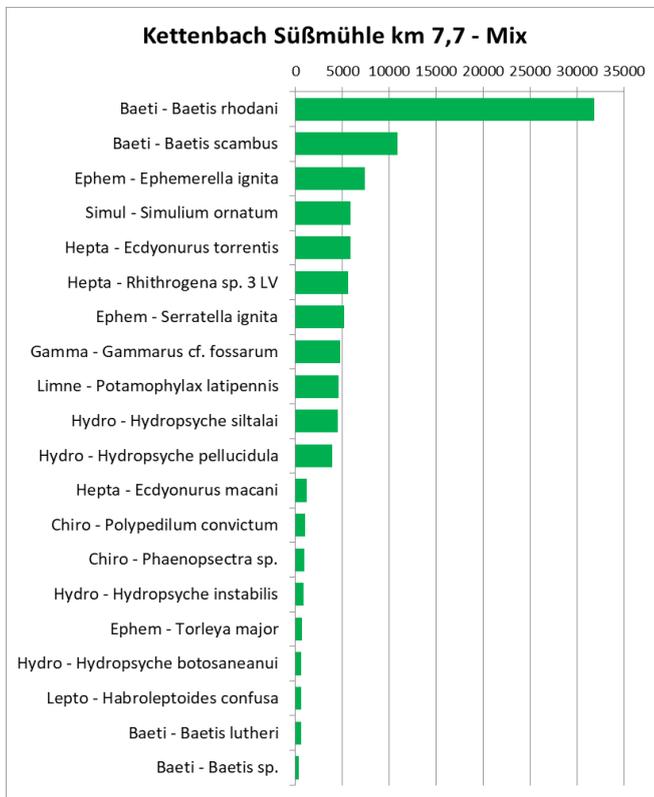
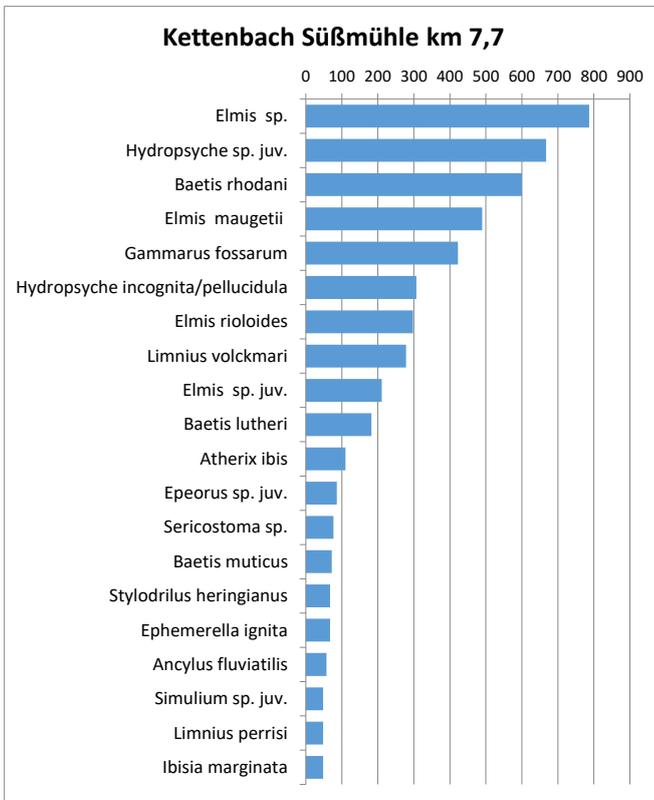


Abb. 12: Reihenfolge der 20 häufigsten Taxa am Kettenbach-Süßmühle. Blau: morphologische Daten.

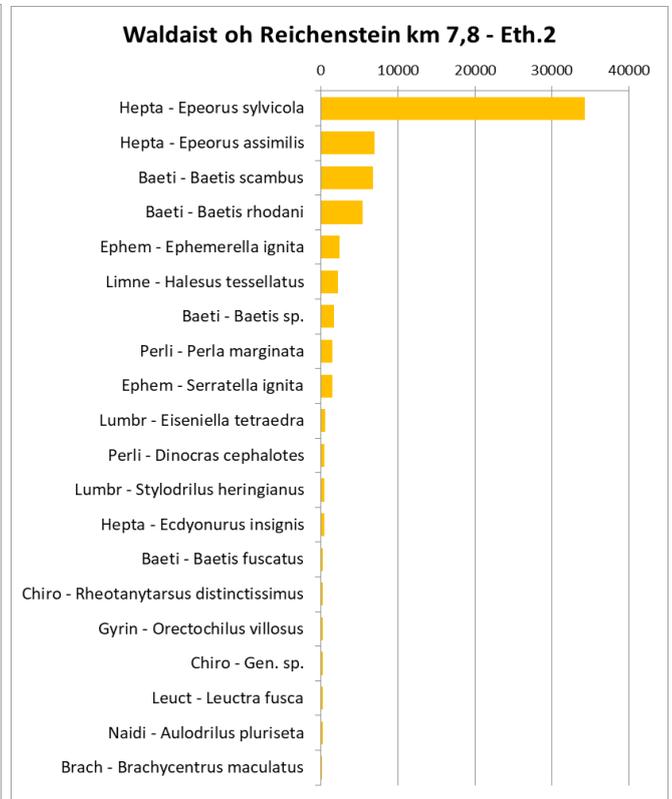
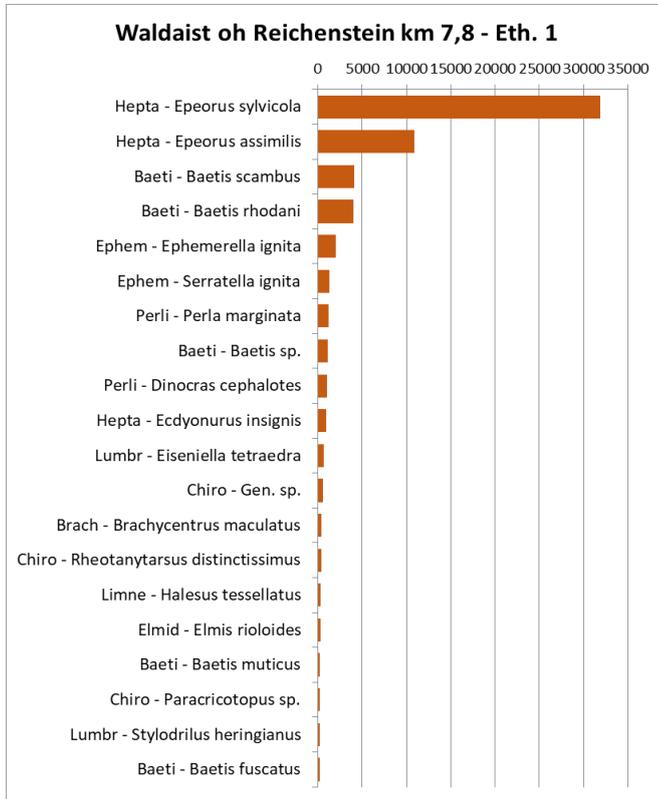
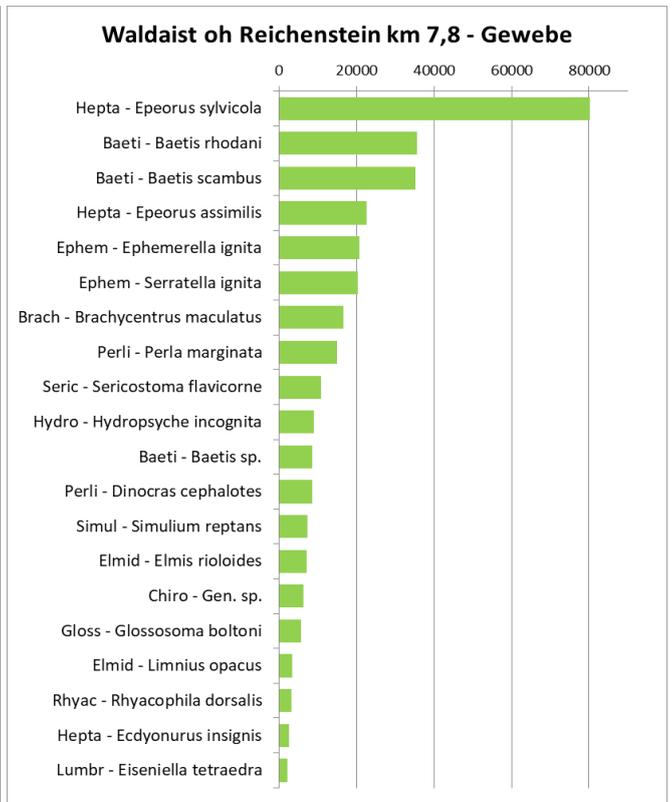
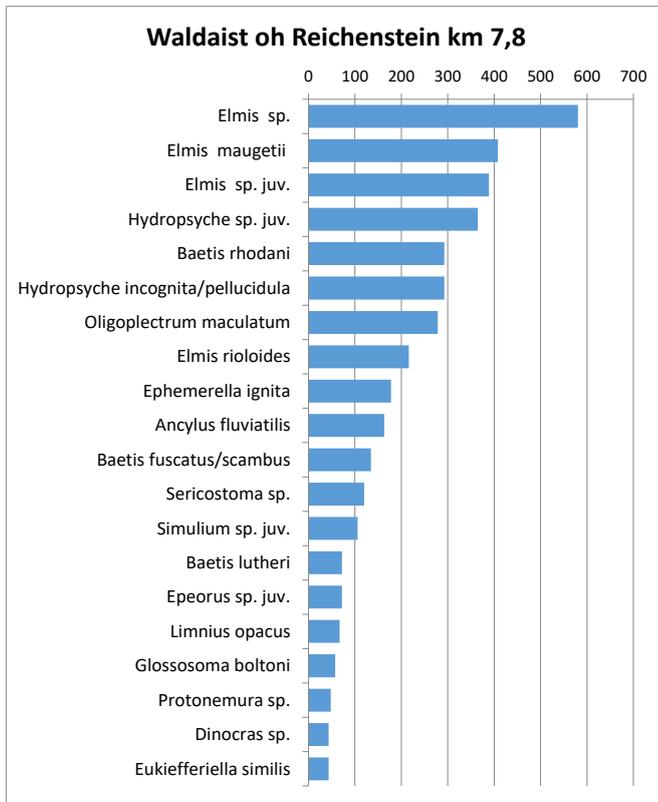


Abb. 13: Reihenfolge der 20 häufigsten Taxa an der Waldaist oberhalb Reichenstein. Blau: morphologische Daten.

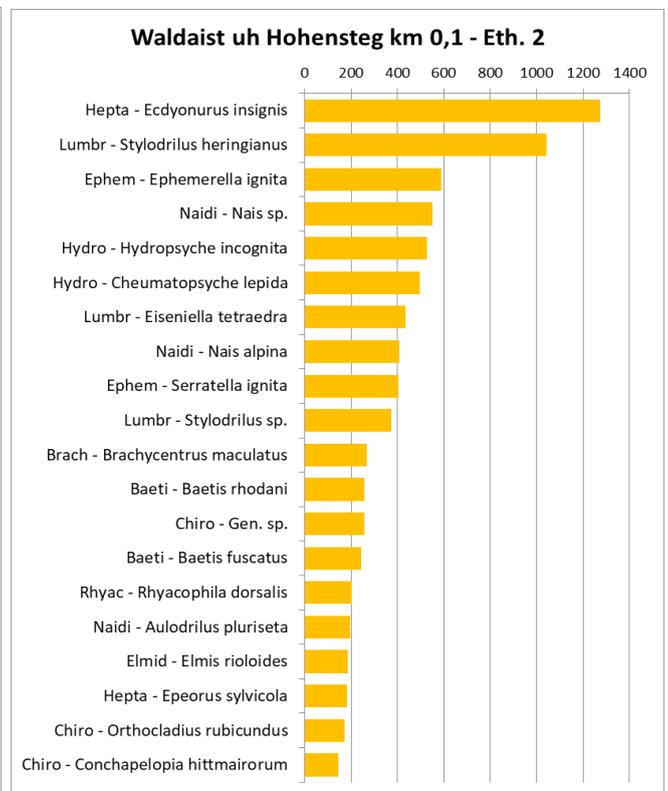
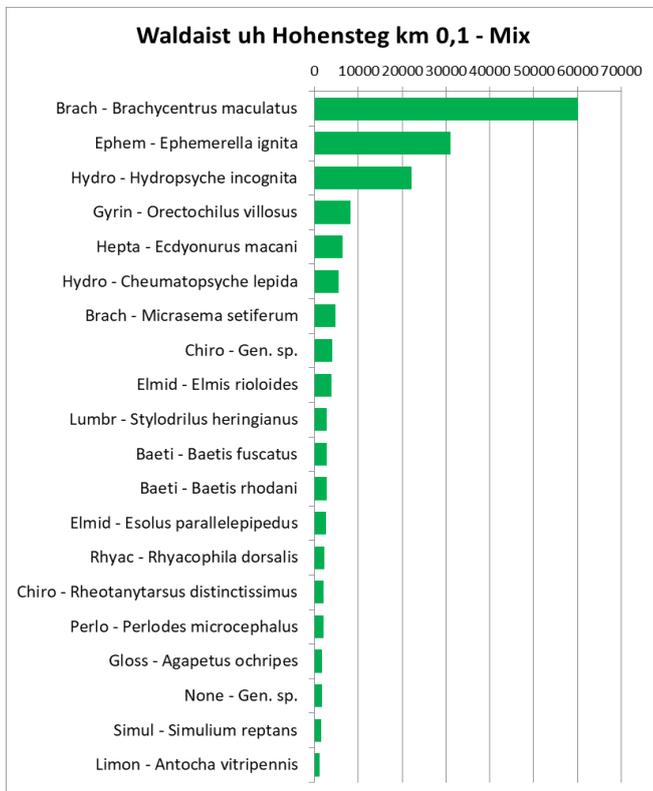
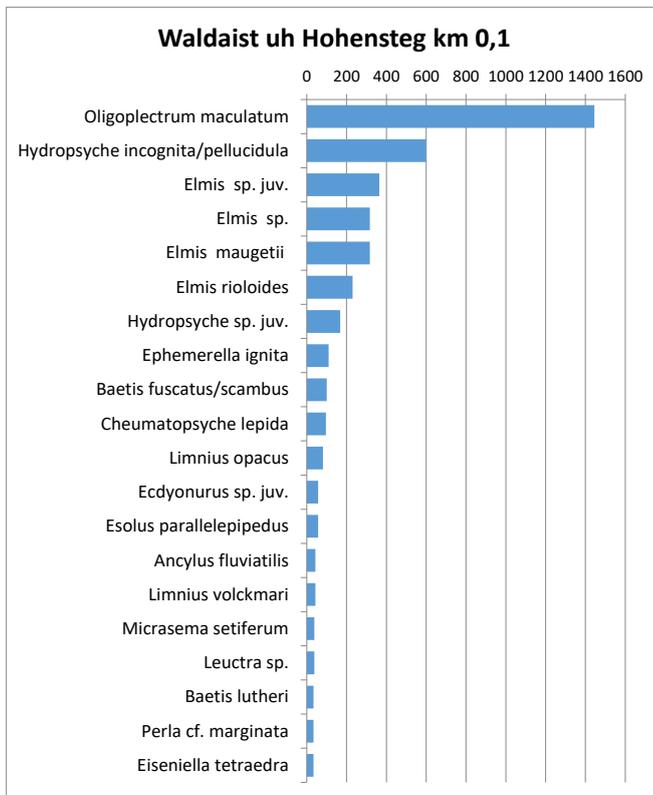


Abb. 14: Reihenfolge der 20 häufigsten Taxa an der Waldgeist unterhalb Hohensteg. Blau: morphologische Daten.

3.3 Probenstellenvergleiche, diverse Bewertungsindices

Die Ausführungen in den vorangegangenen Kapiteln zeigen, dass der Vorteil der molekularen Methoden insbesondere in den genaueren und (mit Ausnahme von schlecht detektierten Gruppen wie den Mollusken Egel, die primerbedingt schlecht detektiert wurden) vollständigeren Artenlisten liegt. Daraus ergeben sich grundsätzlich bessere Voraussetzungen für Gewässerbewertungen. Nachteilig bzw. unbefriedigend sind jedoch die mit den morphologischen Bearbeitungen schlecht übereinstimmenden Dominanzverhältnisse, im konkreten Fall z.B. insbesondere hinsichtlich der morphologisch dominierenden, aber molekular stark unterrepräsentierten Elmiden.

Eine direkte Vergleichbarkeit mit den diversen, für die gewässerökologischen Bewertungen verwendeten Indices kann daher a priori nicht gegeben sein !

Im Folgenden werden die relativen Unterschiede zwischen den Indices und Stellen grafisch dargestellt und erläutert. Interessant ist insbesondere der Vergleich der beiden an der Feldaist liegenden Probenstellen, die unterschiedliche Belastungssituationen hinsichtlich der im Oberlauf liegenden Kläranlagen zeigen. Die zugrundeliegenden Daten und weitere Indices finden sich im Anhang (Tab. 12 und Tab. 13 mit den logarithmierten Werten).

3.3.1 Saprobität

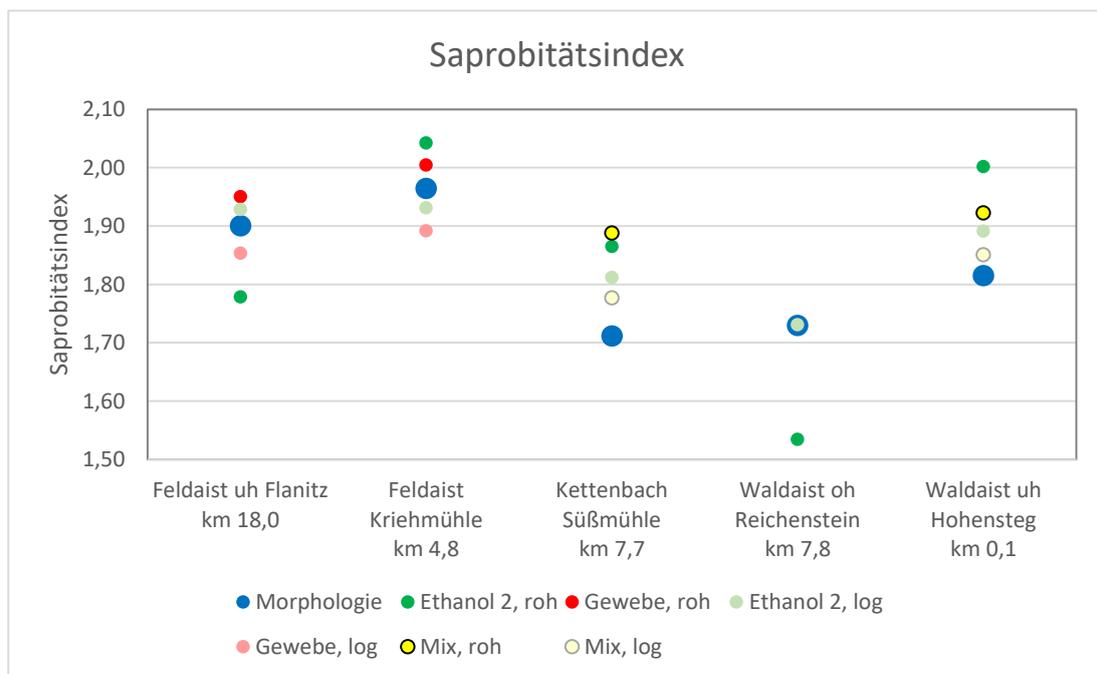


Abb. 15: Saprobitätsindex

Morphologisch spiegeln sich die hinsichtlich der oberhalb liegenden Kläranlagen unterschiedlichen Belastungssituationen recht gut wider. Die beiden Feldaist-Stellen weisen höhere Indices als die Waldaist und der Kettenbach auf, die Stelle Kriehmühle ist dabei etwas stärker belastet.

Die molekularen Daten entsprechen dem nur zum Teil. Konsistent ist der relative Unterschied zwischen den beiden Feldaist-Stellen.

Die logarithmierten Daten der zweiten Ethanolfraktion liegen deutlich näher am morphologischen Wert als die Rohdaten. Das bestätigt sich auch an allen anderen Probenstellen und gilt ebenfalls für die Mixproben. Zumindest bei den logarithmierten Daten sind auch die beiden Feldaiststellen etwas höher als bei den anderen Stellen, der Unterschied zwischen den beiden Feldaist-Stellen ist aber nur gering.

Relativ gut mit den morphologischen Ergebnissen stimmen auch die Gewebeproben und die logarithmierten Daten der Mixproben überein.

3.3.2 Rhithron-Ernährungstypen-Index RETI

Teilweise im Zusammenhang mit dem Saprobitätsgrad steht auch der Rhithron-Ernährungstypen-Index, der den Anteil der Weidegänger und Zerkleinerer an der Gesamtsumme der Weidegänger, Zerkleinerer, aktiver und passiver Filtrierer und Detritusfresser widerspiegelt. Unter naturnahen Verhältnissen oder mit zunehmender Potamalisierung sollte dieser Index höher sein.

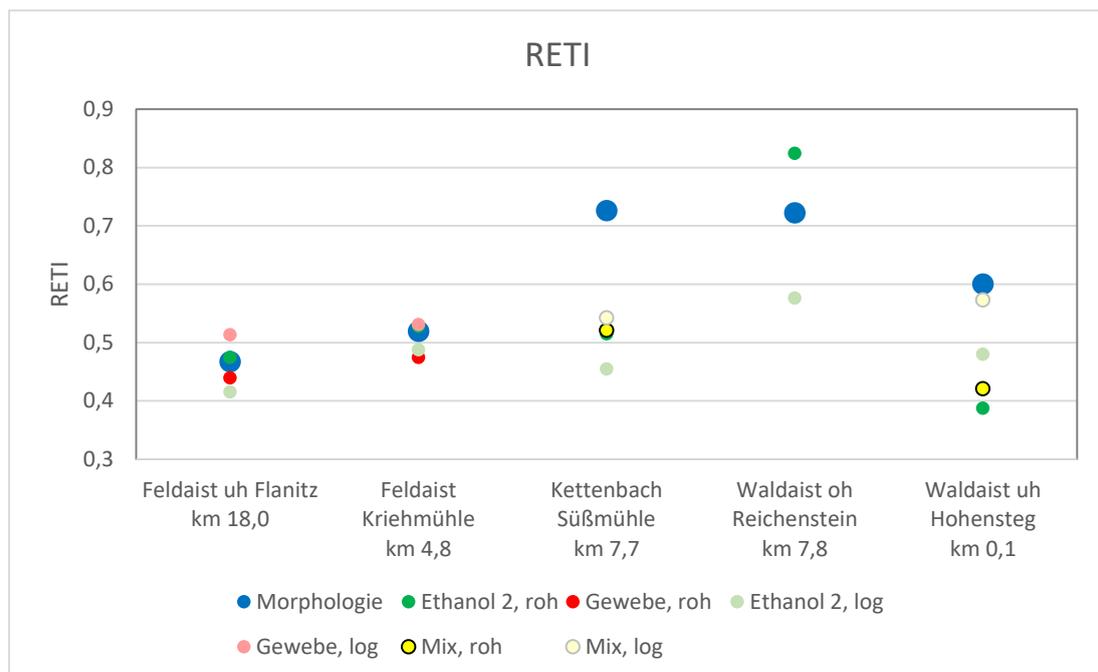


Abb. 16: Rhithron-Ernährungstypen-Index

Morphologisch weisen die beiden Feldaist-Stellen einen geringeren RETI als die übrigen Probenstellen auf, eine stärkere Belastung der Stelle Kriehmühle ist hier nicht erkennbar.

Bei den molekularen Daten ergeben sich für die Feldaist-Stellen ähnliche Werte wie morphologisch, alle anderen Stellen zeigen aber teils deutlich davon abweichende Verhältnisse und meist unter den morphologischen Indices liegende Zahlen, ein Muster ist hier nicht erkennbar.

3.3.3 Regionsindex (longitudinale Zonation) LZI

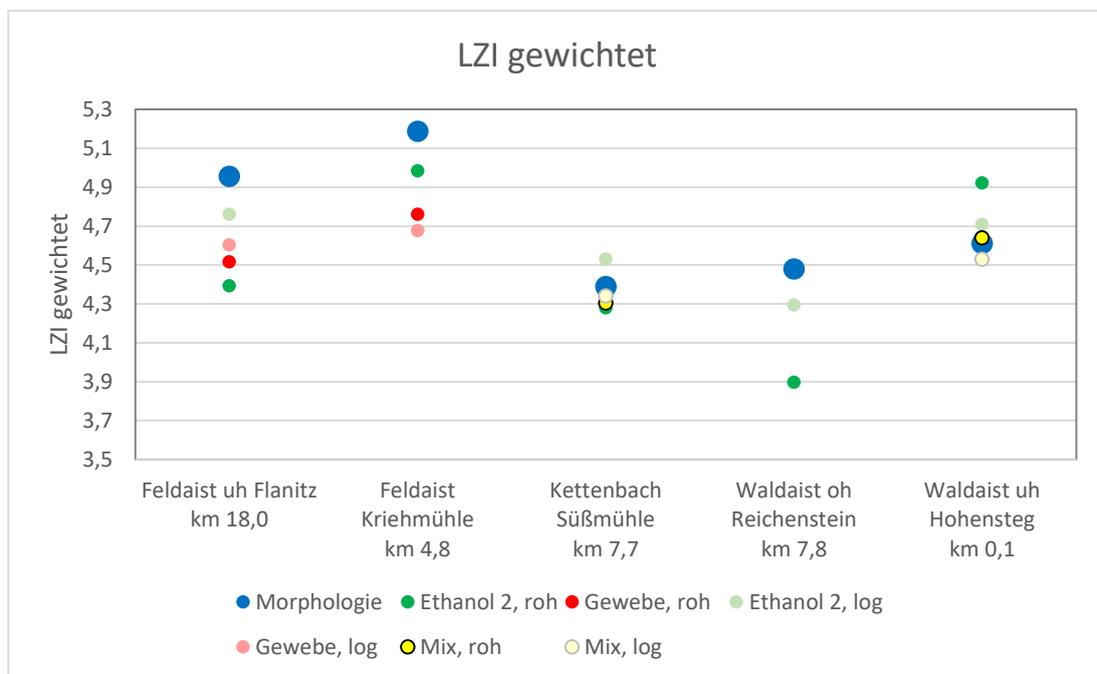


Abb. 17: Longitudinale Zonation, Index gewichtet.

Anhand der morphologischen Daten ist die Feldaist einer tieferen Flussregion mit Schwerpunkt im Hyporhithral (uh. Flanitz) bzw. Hyporhithral/Epipotamal (Kriehmühle) zuzuordnen als die anderen Stellen an der Waldaist und dem Kettenbach, die dem Hyporhithral mit noch hohen Anteilen am Metarhithral entsprechen.

Der anhand der molekularen Daten berechnete Index ist an den Feldaist-Stellen generell niedriger (d.h. „rhithraler“) als auf Basis der morphologischen Daten, an den anderen Stellen ist kein Muster erkennbar. Die logarithmierten Daten zumindest der zweiten Ethanolfraktion entsprechen noch in etwa der relativen Anordnung der morphologischen Werte, die Unterschiede zwischen der Feldaist und den anderen Stellen sind aber deutlich geringer.

Die beiden Mixproben stimmen am besten mit den morphologischen Werten überein.

3.3.4 Diversitätsindex (MARGALEF)

Der Diversitätsindex errechnet sich aus der Taxazahl im Verhältnis zur logarithmierten Gesamtindividuenzahl bzw. im Fall der molekularen Daten der reads. Die (nochmals) logarithmierten molekularen Daten sind hier daher nicht weiter dargestellt.

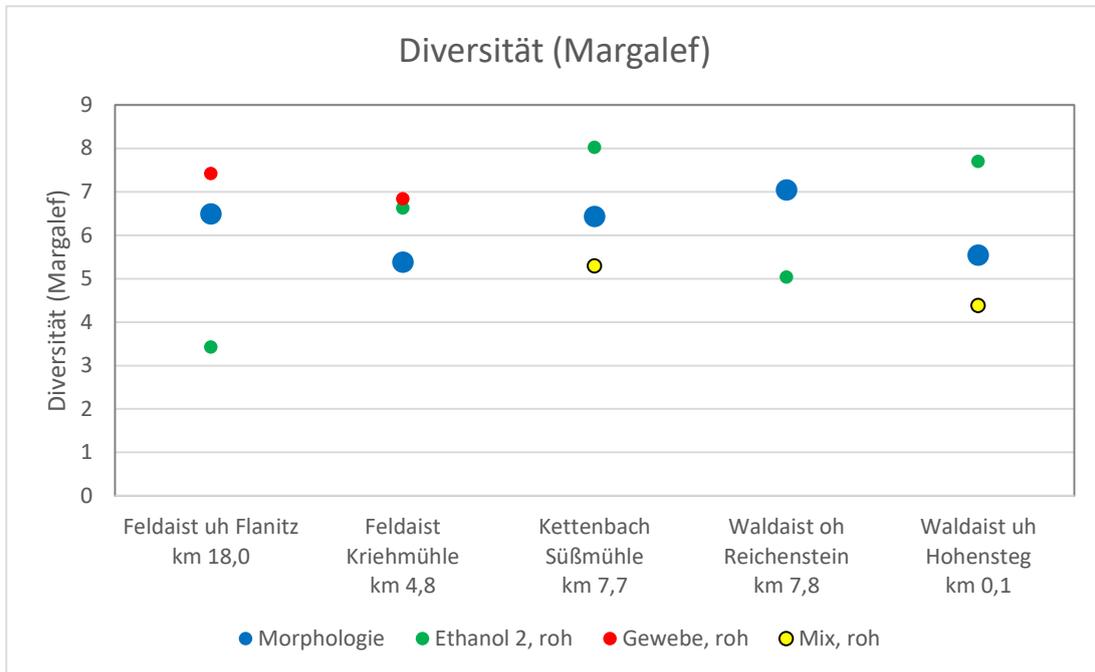


Abb. 18: Diversitätsindex (Margalef)

Generell ist bei der Diversität kein aussagekräftiger Trend erkennbar. Die morphologischen Daten streuen etwas, die bei allen Proben vorhandene 2. Ethanolfraktion jedoch noch stärker und teilweise den morphologischen Daten entgegengesetzt.

Die Gewebe- und Mixproben entsprechen zumindest relativ betrachtet den morphologischen Werten, aber die Probenzahl ist zu gering, um dies als konsistentes Muster beurteilen zu können.

3.3.5 Degradationsindex

Der Degradationsindex ist insofern interessant, als hier nur das Vorkommen von Arten, nicht aber die Häufigkeit oder Dominanz berücksichtigt wird. Daher sollte bei diesem Index der Vorteil der molekularen Methoden hinsichtlich der Artnachweise verstärkt zum Tragen kommen.

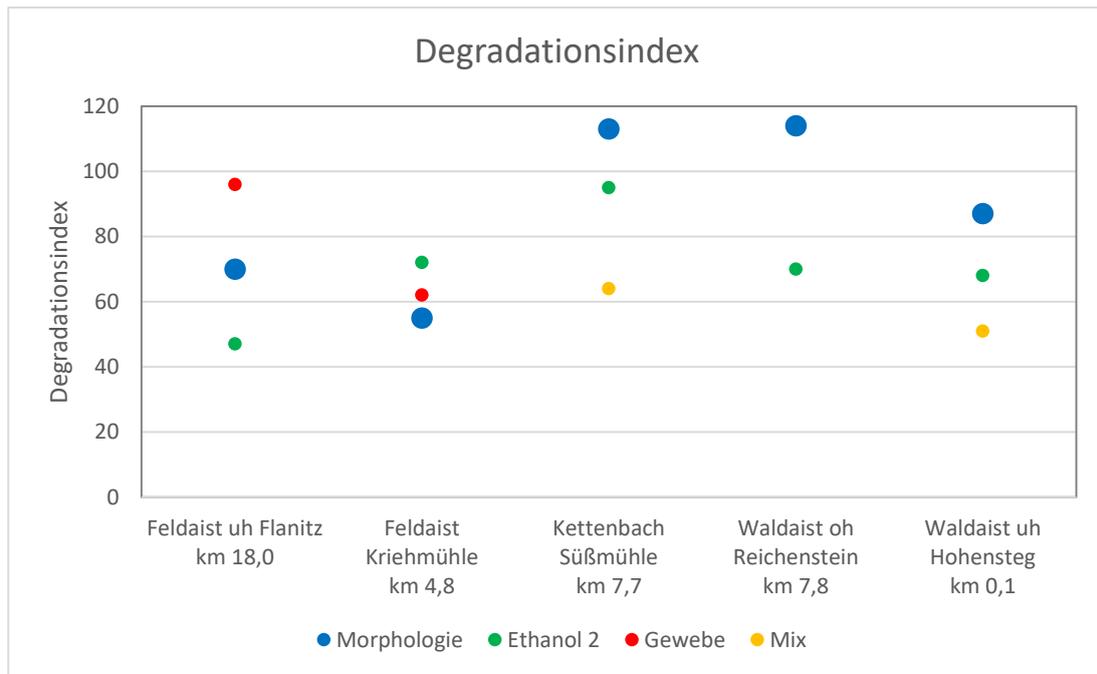


Abb. 19: Degradationsindex

Auf Grundlage der morphologischen Daten charakterisiert der Degradationsindex die Waldaist und den Kettenbach als weniger beeinträchtigte Gewässer als die beiden Stellen an der Feldaist.

Ähnlich wie beim Diversitätsindex zeigt sich dies bei der 2. Ethanolfraktion jedoch nicht deutlich zw. widersprüchlich. Die Gewebe- und Mixproben entsprechen relativ betrachtet den morphologischen Werten, jedoch ist die Probenzahl zu gering.

Beim Degradationsindex wird weiters eine durchschnittliche Degradationseinstufung aller in den jeweiligen Stellen vorkommenden Taxa berechnet (Degradationsindex/Taxazahl).

Dieser Parameter stimmt bei der 2. Ethanolfraktion deutlich besser mit den morphologischen Daten überein (Ausnahme ist die Waldaist unterhalb Hohensteg), die Unterschiede sind jedoch nicht so deutlich ausgeprägt.

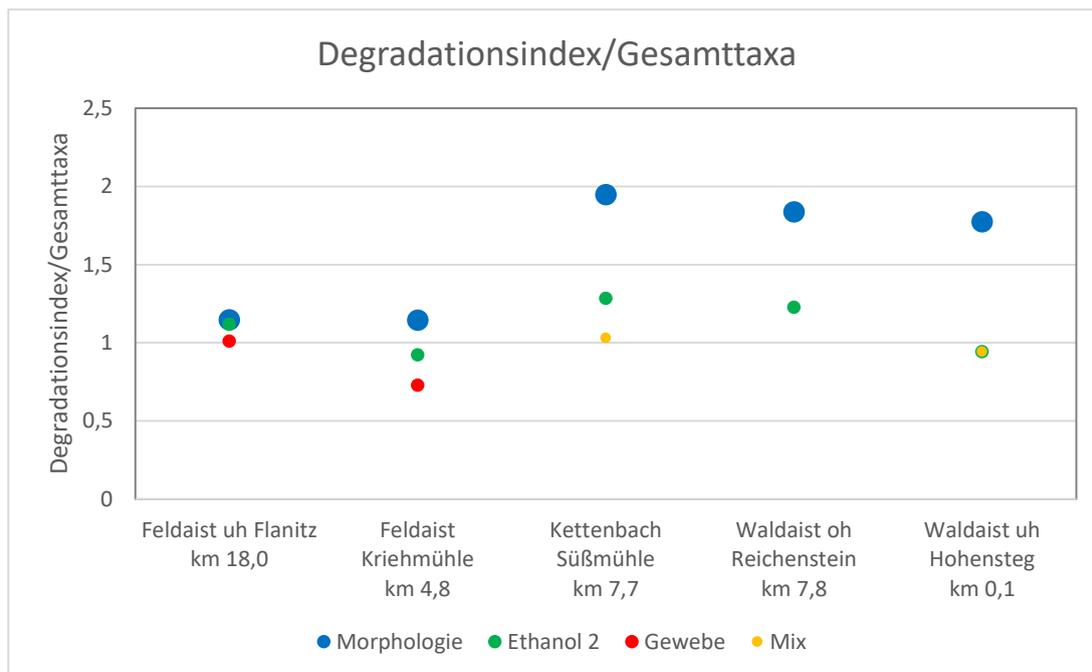


Abb. 20: Durchschnittliche Degradationseinstufung aller Taxa

3.4 Anwendbarkeit für die Bewertung von Zustandsklassen

In den vorangegangenen Kapiteln wurden die auf molekularen und morphologischen Methoden basierenden Artenlisten und Dominanzverhältnisse verglichen sowie verschiedene metrics und Indices der aktuellen Bewertungsmethodik berechnet und verglichen.

Es bestätigte sich mit Ausnahme weniger Gruppen (Mollusken, Egel) der große Vorteil molekularer Methoden einer sehr guten taxonomischen Differenzierung. Wenn man von den aufwändigen Gewebeprobe absieht, welche die beste Übereinstimmung mit den morphologischen Artenlisten zeigen, ist der Ethanolüberstand hinsichtlich der Vollständigkeit von Artnachweisen besser als eine homogenisierte Probe.

Grundsätzlich stellt dies eine gute Voraussetzung für eine Zustandsbewertung, die auf unterschiedlichen ökologischen Ansprüchen der verschiedenen Arten beruht, dar. Die aktuelle österreichische Bewertungsmethodik für Fließgewässer basiert jedoch zu einem wesentlichen Teil auf den Dominanzverhältnissen und hier besteht eine relativ schlechte Übereinstimmung mit den morphologischen Daten.

Diese hohe praktische Relevanz der Dominanzverhältnisse beruht darauf, dass die relativen Anteile der verschiedenen Taxa die wesentliche Grundlage zur Ermittlung diverser biozönotischer Indizes für die Gewässerbewertung darstellen. Die insgesamt deutlich unterschiedlichen Dominanzverhältnisse zwischen

morphologischen und molekularen Daten untermauern daher, dass eine direkte Vergleichbarkeit derartiger Indices oder darauf beruhender gewässerökologischer Bewertungen nicht möglich ist.

Soweit sich dies auf Grundlage von 2 vergleichbaren Probenstellen ableiten lässt, scheinen Mixproben entgegen den Erwartungen die Dominanzverhältnisse besser widerzuspiegeln als der Ethanolüberstand.

Die Berechnung verschiedener Indices, die für Zustandsbewertungen herangezogen werden, ergibt insgesamt ein weniger differenziertes Bild als auf Grundlage der morphologischen Daten und erweckt einen eher unbefriedigenden Eindruck. Ursache sind die mit den morphologischen Daten kaum vergleichbaren Dominanzverhältnisse der verschiedenen Arten, auf denen die Berechnung dieser Indices basiert. Der Nachteil dieser schlechten Quantifizierung schlägt offenbar deutlich stärker durch als der Vorteil der besseren Artbestimmung.

Die Verwendung logarithmierter reads bringt bei einigen Parametern (Saprobitätsindex, longitudinale Zonation) eine bessere Vergleichbarkeit mit den morphologischen Daten, die Unterschiede zwischen den Stellen werden jedoch geringer.

Die aus Gewebe- und Mixproben berechneten Indices entsprechen zumindest relativ betrachtet den morphologischen Werten, aber die Probenzahl ist zu gering, um dies als konsistentes Muster beurteilen zu können.

Soweit auf dieser Grundlage einschätzbar, erscheinen die Mix- bzw. homogenisierten Proben entgegen den Erwartungen als erfolgversprechendster Ansatz, um ein Bewertungssystem für den ökologischen Zustand entwickeln zu können, da die Mixproben in dieser Studie die Dominanzverhältnisse besser widerspiegeln als die Ethanolfraktionen. Dies gilt zwar auch für die Gewebeproben, jedoch ist hier der Aufwand durch das aufwändigere Handling der Proben deutlich größer und daher weniger effizient.

Dies sollte jedoch in jedem Fall durch weitere gezielte Vergleichsuntersuchungen verifiziert werden.

Hinsichtlich der Anwendung von DNA-Daten zur Gewässerbewertung ergeben sich daraus mehrere Empfehlungen bzw. Ansätze für weitere Entwicklungen.

- Auf Grund der unterschiedlich guten Eignung molekularer Methoden für die Vollständigkeit von Artenlisten und die Darstellung von Dominanzverhältnissen sollte ein darauf basiertes Bewertungssystem grundsätzlich neu entwickelt werden. Es ist nicht zielführend, molekulare Daten auf die bestehende Bewertungsmethode anzuwenden. Auf Grund der hohen Effizienz molekularer Methoden und der bestehenden Grundlagen der derzeitigen Methodik (bekannte Referenzstellen, verwendet metrics) sind die Voraussetzungen für die Entwicklung eines molekularen Bewertungssystems gut.
- Die molekularen Methoden sollten insbesondere hinsichtlich einer besseren Übereinstimmung mit den tatsächlichen Abundanzen verbessert werden. Dies sollte auch Priorität vor der ebenfalls möglichen Entwicklung einer auf presence-absence-Daten basierenden Methodik haben, da Abundanzen bzw. Dominanzverhältnisse eine hohe ökologische Signifikanz bzw. Aussagekraft haben. Dafür

kommen mehrere Ansätze in Frage, sowohl was die Probenaufbereitung und Laborarbeit, als auch die Auswertung der Daten betrifft:

- Optimierung von primern oder Einsatz zusätzlicher primer, um auch derzeit schlecht detektierte Gruppen (Mollusken, Egel, ...) besser zu erfassen
 - Optimierung der Probenaufbereitung, um auch schwerer „knackbare“ Organismen wie die Elmiden besser nachweisen zu können.
 - Mögliche Entwicklung von Korrekturfaktoren für Gruppen, die bei molekularen Untersuchungen konsistent und deutlich über- oder unterrepräsentiert sind.
 - Mögliche Reduktion der reads zumindest in wenige Häufigkeitsklassen, wenn die Abbildung von Dominanzverhältnissen weiter nicht verbessert werden kann.
- Allgemein ist auch in Betracht zu ziehen, in welchem Umfang Verbesserungen der molekularen Methoden überhaupt erforderlich sind. Eine vollständige Übereinstimmung mit morphologischen Daten wird nicht erreichbar sein und ist aber auch nicht erforderlich, wenn ein auf molekularen Methoden basierendes Gewässerbewertungssystem neu entwickelt wird (auch das aktuelle Bewertungssystem weist bekannte Unzulänglichkeiten der morphologischen Bearbeitung hinsichtlich schwer zu bearbeitender Gruppen etc. auf).

Eine höhere Zahl an Vergleichsdaten in jedem Fall zweckmäßig, um die in diesem Fallbeispiel ersichtlichen Ansätze zu untermauern und die Grundlagen für weitere Entwicklungen zu erweitern. Wenn die Zielsetzung nicht die Vollständigkeit von presence-absence-Artenlisten ist (wofür der Ethanolüberstand gut geeignet ist), sollte hinsichtlich der Dominanzverhältnisse und Zustandsklassenbewertung besonders auch der Ansatz der homogenisierten Proben weiter verfolgt werden.

4 Zusammenfassung

Die Analyse von Lebensgemeinschaften mittels molekulargenetischer Methoden ist ein in den letzten Jahren stark boomender Forschungszweig. Im Rahmen der Bearbeitung des oberösterreichischen Landesmessstellennetzes wurde an 5 Stellen (2 Stellen Feldaist oberhalb und unterhalb einer Kläranlage; 2 naturnähere Stellen Waldaist; 1 Stelle Kettenbach unterhalb Kläranlage) ein Vergleich der herkömmlichen mikroskopischen Analysen mit molekulargenetischen Methoden durchgeführt und hinsichtlich der möglichen Anwendung für die Fließgewässerbewertung diskutiert.

Die Bearbeitung erfolgte in Zusammenarbeit der ARGE Limnologie GesmbH (später fortgeführt durch das TB Christian Moritz) mit der Universität Duisburg-Essen (Genomics Core Facility, Arbeitsgruppe Univ.-Prof. Dr. Florian Leese).

Die Beprobung erfolgte durch das Amt der O.Ö. Landesregierung mittels Multihabitat-sampling (MHS). Es wurde an jeder Stelle jeweils eine zweite MHS-Probe entnommen, die ausschließlich für die molekulargenetischen Analysen verwendet wurde.

Für die molekulargenetischen Analysen wurden mehrere Ansätze bzw. Fraktionen der Proben verwendet, durch externe Umstände (Bruch von 2 Probenflaschen auf dem Postweg) und irrtümliche Analyse der ursprünglich nicht vorgesehenen Gewebeproben jedoch nicht durchgehend an allen 5 Stellen:

- Gewebeproben, aussortierte Tiere
- Ethanolüberstand Erstfixierung
- Ethanolüberstand Zweitfixierung
- Homogenisierte Proben („Mix“)

Ziel war insbesondere die Prüfung der Eignung molekularer Methoden für eine effiziente Untersuchung ohne arbeitsintensive Schritte wie das Aussortieren der Tiere. Bisherige Erfahrungen ließen vermuten, dass der Ethanolüberstand der Zweitfixierung gut geeignet und homogenisierte Proben durch inhibitorische Effekte beeinflusst sind. In der vorliegenden Studie konnte dies nicht bzw. nur zum Teil bestätigt werden.

Der Abgleich der operationellen Taxaliste der Fauna Aquatica Austriaca und der Artenlisten der vorliegenden Probenstellen mit der Referenzdatenbanken BOLD zeigte, dass zwar 2/3 (66,12 %) der Arten der FAA noch nicht in BOLD enthalten waren. Von 3 zu Beginn der vorliegenden Untersuchungen ausgewerteten Proben war jedoch der weitaus größte Teil (61 von 65 Arten bzw. 93,8 %) in BOLD bereits dokumentiert. Für Vergleiche wie in der vorliegenden Untersuchungen ist die Voraussetzung einer ausreichenden Dokumentation in den Referenzdatenbanken daher jedenfalls gegeben, die noch bestehenden Lücken in den Referenzdatenbanken betreffen überwiegend selten Arten.

Von den untersuchten Probenstellen liegen langjährige, konsistente Datenreihen eines 3-Jahreszyklus vor. Neben der für den direkten Vergleich verwendeten aktuellen Untersuchung 2018 wurden noch die vorangegangenen 3 Untersuchungszyklen 2009, 2012 und 2015 hinsichtlich des Auftretens weiterer, 2018 nicht nachgewiesener Taxa, ausgewertet. Die Auswertung der älteren Jahresreihen 2009-2015 zeigt, dass sich die Gesamttaxazahlen der morphologischen Untersuchungen bei Mitberücksichtigung von 3 weiteren Untersuchungszyklen etwa verdoppeln. Im Jahr 2018 wurden je nach Probenstelle 50-67 Taxa bestimmt, unter Berücksichtigung der früheren Untersuchungen 2009-2015 erhöht sich dieser Wert auf 100-131 Taxa.

Ein wesentlicher Vorteil der molekularen Methoden liegt in der grundsätzlich **besseren Bestimmbarkeit der Arten**. Juvenile Stadien oder mikroskopisch schwieriger Taxa werden molekular ebenfalls eindeutig zugeordnet.

Die Gesamttaxazahlen der molekularen Analysen (mit Zusammenfassung der verschiedenen Haplotypen) sind je nach Probenfraktion unterschiedlich. Die höchste Vielfalt findet sich in den 3 Gewebeproben mit 88-97 Taxa. Damit wird fast die Artenvielfalt von 4 Untersuchungszyklen erreicht !

Ethanol- und Mixproben ergeben demgegenüber geringere Gesamttaxazahlen. Die Ethanolfraktion bei den zwei vergleichbaren Proben (Waldaist uh. Hohensteg und Kettenbach Süßmühle) ist dabei doch deutlich höher ist (74 und 76 Taxa gegenüber 54 bzw. 63 Taxa bei den Mixproben). Eventuell kommen hier bei den Mixproben inhibitorische Effekte zum Tragen. Dennoch sind auch die Taxazahlen der Mixproben höher als die vergleichbaren morphologischen Proben (52 bzw. 58 Taxa).

Von Arten, die nur molekular nachgewiesen wurden, stellen 4 Arten auch Erst- oder Zweitnachweise für Österreich dar (*Saetheria tylus*, *Simulium petricolum*, *Simulium velutinum*, *Liponeura brevirostris*). Auch wenn im Einzelfall durch wenige publizierte Sequenzen (*L. brevirostris*), nur einzelne europäische Nachweise oder etwas geringere Ähnlichkeiten mit publizierten Daten (*S. tylus*) teilweise noch gewisse Unsicherheiten bestehen, ist dies jedenfalls ein guter Ansatzpunkt, weiter gezielt nach diesen Arten zu suchen bzw. den Nachweis zu bestätigen.

Im Gegensatz dazu stehen Arten die nur morphologisch nachgewiesen wurden. Neben Arten, die auch morphologisch nur in sehr geringen Dichten auftreten, zählen dazu Gruppen, die mit den verwendeten primern schlecht erfasst werden (Mollusken, Egel) oder die in den Referenzdaten nicht oder ungenügend erfasst, morphologisch aber gut zu bestimmen sind (*Eukiefferiella clypeata*, *Eukiefferiella similis*, *Cricotopus (Nostococladus) lygropis*, *Microtendipes rydalensis*).

Hinsichtlich der **Vollständigkeit von Artenlisten bzw. wenn nur faunistische Erhebungen oder presence-absence-Daten die Zielsetzung sind, dürfte die zweite Ethanolfraktion die effizienteste Methode sein.**

Neben der molekular sehr guten Bestimmbarkeit von Arten sind bei der aktuellen österreichischen Methodik zur Fließgewässerbewertung die **Abundanzen bzw. zumindest relative Dominanzverhältnisse** die zweite Grundvoraussetzung.

Diesbezüglich schneiden die molekularen Methoden generell noch relativ schlecht ab. Nach den Gewebeproben zeigten dabei unerwarteter Weise die homogenisierten Proben noch das zweitbeste bzw. ein mit den Gewebeproben vergleichbares Ergebnis hinsichtlich der Vergleichbarkeit mit den morphologischen Daten.

Bei den molekularen Daten ist oft eine übermäßige Dominanz einzelner Taxa festzustellen, insbesondere bei den Ethanolproben und vorwiegend durch Arten der Eintagsfliegen. Die Verwendung logarithmierter Daten bringt daher eine etwas bessere Übereinstimmung mit den morphologischen Daten.

Im Gegensatz dazu sind die morphologisch stark dominierenden Elmiden molekular deutlich unterrepräsentiert.

Neben der schlechten Reproduzierbarkeit der morphologischen Dominanzverhältnisse führten teilweise auffallend viele Sequenzen von Bakterien zu einer geringen Zahl von Makrozoobenthos-reads in der zweiten Ethanolfraktion.

Die Berechnung verschiedener Indices, die für Zustandsbewertungen herangezogen werden, ergibt insgesamt ein weniger differenziertes Bild als auf Grundlage der morphologischen Daten und erweckt einen eher unbefriedigenden Eindruck. Ursache sind die mit den morphologischen Daten kaum vergleichbaren Dominanzverhältnisse der verschiedenen Arten, auf denen die Berechnung dieser Indices basiert. Die Verwendung logarithmierter reads bringt bei einigen Parametern (Saprobitätsindex, longitudinale Zonation)

eine bessere Vergleichbarkeit mit den morphologischen Daten, die Unterschiede zwischen den Stellen werden jedoch geringer.

Hinsichtlich der **Entwicklung kosteneffizienter molekularer Untersuchungsmethoden** erscheinen daher entgegen den Erwartungen und unter dem Blickwinkel einer möglichst guten Übereinstimmung der Dominanzverhältnisse **die homogenisierten Proben als erfolgversprechendster Ansatz**. Gewebeprobe sind zwar ebenfalls sehr gut bzw. bisher die bevorzugte Methode, durch die zeitaufwändige Vorbereitung (Aussortieren) aber weniger effizient.

Eine direkte Vergleichbarkeit verschiedener Indices oder darauf beruhender gewässerökologischer Bewertungen zwischen den morphologischen und molekularen Methoden ist nicht möglich.

Hinsichtlich der Anwendung von DNA-Daten zur Gewässerbewertung ergeben sich mehrere Empfehlungen bzw. Ansätze für weitere Entwicklungen.

- Auf Grund der unterschiedlich guten Eignung molekularer Methoden für die Vollständigkeit von Artenlisten und die Darstellung von Dominanzverhältnissen sollte ein darauf basiertes Bewertungssystem grundsätzlich neu entwickelt werden. Es ist nicht zielführend, molekulare Daten auf die bestehende Bewertungsmethode anzuwenden.
- Die molekularen Methoden sollten insbesondere hinsichtlich einer besseren Übereinstimmung mit den tatsächlichen Abundanzen verbessert werden. Dies sollte auch Priorität vor der ebenfalls möglichen Entwicklung einer auf presence-absence-Daten basierenden Methodik haben. Dafür kommen mehrere Ansätze in Frage, sowohl was die Probenaufbereitung und Laborarbeit, als auch die Auswertung der Daten betrifft:
 - Optimierung von primern oder Einsatz zusätzlicher primer, um auch derzeit schlecht detektierte Gruppen (Mollusken, Egel, ...) besser zu erfassen
 - Optimierung der Probenaufbereitung, um auch schwerer „knackbare“ Organismen wie die Elmiden besser nachweisen zu können.
 - Mögliche Entwicklung von Korrekturfaktoren für Gruppen, die bei molekularen Untersuchungen konsistent und deutlich über- oder unterrepräsentiert sind.
 - Mögliche Reduktion der reads zumindest in wenige Häufigkeitsklassen, wenn die Abbildung von Dominanzverhältnissen weiter nicht verbessert werden kann.
- Allgemein ist auch in Betracht zu ziehen, in welchem Umfang Verbesserungen der molekularen Methoden überhaupt erforderlich sind. Eine vollständige Übereinstimmung mit morphologischen Daten wird nicht erreichbar sein und ist aber auch nicht erforderlich.

Eine höhere Zahl an Vergleichsdaten ist in jedem Fall zweckmäßig, um die in diesem Fallbeispiel ersichtlichen Ansätze zu untermauern und die Grundlagen für weitere Entwicklungen zu erweitern.



(Mag. Christian Moritz)

5 Literatur

BMNT (Bundesministerium für Nachhaltigkeit und Tourismus; Hrsg.) 2018: Leitfaden zur Erhebung der biologischen Qualitätselemente, Teil A2 – Makrozoobenthos. – Wien, 264 pp.

EDGAR, R.C. (2010), Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST, *Bioinformatics* 26(19) 2460-2461.

ELBRECHT, V., PEINERT, B. & LEESE, F. 2017a. Sorting things out: Assessing effects of unequal specimen biomass on DNA metabarcoding. *Ecology and Evolution*, 7, 6918-6926.

ELBRECHT, V., VAMOS, E. E., MEISSNER, K., AROVIITA, J. & LEESE, F. 2017b. Assessing strengths and weaknesses of DNA metabarcoding-based macroinvertebrate identification for routine stream monitoring. *Methods in Ecology and Evolution*.

ELBRECHT, V. & LEESE, F. 2017. Validation and Development of COI Metabarcoding Primers for Freshwater Macroinvertebrate Bioassessment. *Frontiers in Environmental Science*, 5.

ELBRECHT, V., & STEINKE, D. (2019). Scaling up DNA metabarcoding for freshwater macrozoobenthos monitoring. *Freshwater Biology*. 64:380–387. doi: 10.1111/fwb.13220.

ENGELBERG, K. (1987): Die Diatomeen-Zönose in einem Mittelgebirgsbach und die Abgrenzung jahreszeitlicher Aspekte mit Hilfe der Dominanz-Identität. – *Arch.Hydrobiol.* 110: 217-236.

MOOG, O. & A. HARTMANN (eds.) (2017): *Fauna Aquatica Austriaca*, 3. Auflage. – Hrsg. BMLFUW, Wien

RENKONEN, O. (1938): Statistisch-ökologische Untersuchungen über die terrestrische Käferwelt der finnischen Bruchmoore. – *Ann.Zool.Soc.Zool.Bet.Fenn.Vanamo* 6,1: 1-231.

WEIGAND, H. et al. (2019): DNA barcode reference libraries for the monitoring of aquatic biota in Europe: Gap-analysis and recommendations for future work. - *Science of the Total Environment* 678 (2019) 499–524.

6 Anhang

Tab. 9: Individuendichten und Prozentanteile der morphologischen Bestimmungen 2018.

„+“ ... Vorkommen in 1 der 3 Untersuchungen 2009-2015

„++“ ... Vorkommen in 2 der 3 Untersuchungen 2009-2015

„+++“ ... Vorkommen in 3 der 3 Untersuchungen 2009-2015

	Individuendichte [Ind/m ²]					Prozentanteile [%]				
	Feldaist uh Flanitz km 18	Feldaist Kriehmühle km 4,8	Kettenbach Süßmühle km 7,7	Waldaist oh Reichen- stein km 7,8	Waldaist uh Hohen- steg km 0,1	Feldaist uh Flanitz km 18	Feldaist Kriehmühle km 4,8	Kettenbach Süßmühle km 7,7	Waldaist oh Reichen- stein km 7,8	Waldaist uh Hohen- steg km 0,1
NEMATOMORPHA										
Gordius sp.			+		+					
TURBELLARIA										
Turbellaria Gen. sp.	57,6	+	+		4,8	0,69				0,10
GASTROPODA										
Ancylus fluviatilis	4,8	38,4	57,6	163,2	43,2	0,06	0,76	1,02	3,48	0,92
Anisus sp.	+									
Lymnaeidae Gen. sp. juv.				4,8					0,10	
Radix balthica	+		+	+						
Radix labiata	++		+							
OLIGOCHAETA										
Aulodrilus plurisetia	4,8		4,8		++	0,06		0,08		
Cognettia sp.		+	++	+	+					
Dorydrilus michaelsoni					+					
Eiseniella tetraedra	4,8	4,8	+	33,6	33,6	0,06	0,10		0,72	0,72
Limnodrilus claparedeianus	4,8				++	0,06				
Limnodrilus hoffmeisteri	14,4		++	+	++	0,17				
Limnodrilus udekemianus					++					
Lumbricidae Gen. sp.	+		+		4,8					0,10
Lumbriculidae Gen. sp.	4,8	4,8				0,06	0,10			
Nais alpina				+	0,8					0,02
Nais sp.	0,8					0,01				
Propappus volki	0,8					0,01				
Rhynchelmis limosella				+	+					
Spirosperma sp.		4,8		4,8			0,10		0,10	
Stylodrilus heringianus	100,8	76,8	67,2	9,6	14,4	1,22	1,52	1,19	0,20	0,31
Tubifex ignotus			+	+	++					
Tubifex tubifex					+					
HIRUDINEA										
Dina punctata		14,4	14,4	0,8	4,8		0,29	0,25	0,02	0,10
Dina sp. juv.		14,4		0,8			0,29		0,02	
AMPHIPODA										
Gammarus fossarum	62,4	211,2	422,4	+	24	0,75	4,19	7,46		0,51
Gammarus roeselii			+							
DECAPODA										
Austropotamobius torrentium		+								
Pacifastacus leniusculus	1,6	++				0,02				
HYDRACHNIDIA										
Atractides sp.	19,2	+	++	4,8	9,6	0,23			0,10	0,21
Hygrobates fluviatilis	+									
Hygrobates sp.	+	+	+	+						
Lebertia sp.	+	+		++	++					
Protzia invalvaris	+		+	+	+					
Sperchon clupeifer	++		+	+++						
Sperchon denticulatus-Gr.			+	+						
Sperchon glandulosus	+									
Sperchon hispidus				+						
Sperchonopsis verrucosa			+							
Torrenticola elliptica		+	+	+						

Tab. 9 (Fortsetzung)

	Individuendichte [Ind/m ²]					Prozentanteile [%]				
	Feldaist uh Flanitz km 18	Feldaist Kriehmühle km 4,8	Kettenbach Süßmühle km 7,7	Waldaist oh Reichenstein km 7,8	Waldaist uh Hohensteg km 0,1	Feldaist uh Flanitz km 18	Feldaist Kriehmühle km 4,8	Kettenbach Süßmühle km 7,7	Waldaist oh Reichenstein km 7,8	Waldaist uh Hohensteg km 0,1
EPHEMEROPTERA										
Baetis alpinus					+					
Baetis cf. liebenaueae	24					0,29				
Baetis cf. niger				+						
Baetis fuscatus/scambus	297,6	340,8	38,4	134,4	100,8	3,59	6,76	0,68	2,87	2,16
Baetis lutheri	172,8	340,8	182,4	72	33,6	2,08	6,76	3,22	1,54	0,72
Baetis muticus	24		72	19,2	14,4	0,29		1,27	0,41	0,31
Baetis rhodani	1089,6	110,4	600	292,8	28,8	13,15	2,19	10,59	6,25	0,62
Baetis sp.	62,4		38,4		+	0,75		0,68		
Baetis vernus	62,4		+			0,75				
Caenis beskidensis	+		4,8	4,8	+			0,08	0,10	
Ecdyonurus sp. juv.	43,2	24	++	19,2	57,6	0,52	0,48		0,41	1,23
Ecdyonurus venosus-Gr.	14,4	4,8	33,6	+	4,8	0,17	0,10	0,59		0,10
Epeorus assimilis	+			4,8					0,10	
Epeorus sp. juv.	4,8		86,4	72	4,8	0,06		1,53	1,54	0,10
Ephemera danica	+	+	4,8					0,08		
Ephemerella ignita	14,4	24	67,2	177,6	110,4	0,17	0,48	1,19	3,79	2,36
Ephemerella major	+		4,8					0,08		
Ephemerellidae Gen. sp. juv.	4,8					0,06				
Habroleptoides confusa	++		19,2		+			0,34		
Habrophlebia lauta			+							
Heptagenia sp. juv.			4,8					0,08		
Leptophlebiidae Gen. sp. juv.	4,8		4,8	+	++	0,06		0,08		
Oligoneuriella rhenana	+++	+		+++	+++					
Paraleptophlebia sp. juv.	+									
Rhithrogena beskidensis	+									
Rhithrogena semicolorata-Gr.			9,6					0,17		
Rhithrogena sp. juv.	+++		14,4		++			0,25		
ODONATA										
Calopteryx virgo	+			+						
Cordulegaster boltoni				++						
Gomphidae Gen. sp. juv.	4,8					0,06				
Gomphus vulgatissimus		+								
Odonata Gen. sp. juv.	9,6					0,12				
Ophiogomphus cecilia	++	+++			9,6					0,21
PLECOPTERA										
Capnia/Leuctra sp.	4,8		+			0,06				
Dinocras sp.	+++		9,6	43,2	24			0,17	0,92	0,51
Isoperla sp.				++						
Leuctra sp.	48	48	4,8	14,4	38,4	0,58	0,95	0,08	0,31	0,82
Perla abdominalis/carantana	33,6	4,8	0,8		+	0,41	0,10	0,01		
Perla cf. marginata		19,2		38,4	33,6		0,38		0,82	0,72
Perla sp.	++			+	4,8					0,10
Perla sp. juv.		33,6					0,67			
Perlidae Gen. sp. juv.	++	++	+	+++	4,8					0,10
Perlodes sp.				+	+					
Protonemura sp.	4,8			48	+	0,06			1,02	
Taeniopteryx auberti/hubaulti			+							
HYMENOPTERA										
Agriotypus armatus	4,8	++		4,8		0,06			0,10	
MEGALOPTERA										
Sialis fuliginosa		+								

Tab. 9 (Fortsetzung)

	Individuendichte [Ind/m ²]					Prozentanteile [%]				
	Feldaist uh Flanitz km 18	Feldaist Kriehmühle km 4,8	Kettenbach Süßmühle km 7,7	Waldaist oh Reichen- stein km 7,8	Waldaist uh Hohen- steg km 0,1	Feldaist uh Flanitz km 18	Feldaist Kriehmühle km 4,8	Kettenbach Süßmühle km 7,7	Waldaist oh Reichen- stein km 7,8	Waldaist uh Hohen- steg km 0,1
COLEOPTERA										
Elmis maugetii	604,8	76,8	489,6	408	316,8	7,30	1,52	8,64	8,70	6,77
Elmis sp.	451,2	81,6	787,2	580,8	316,8	5,44	1,62	13,90	12,39	6,77
Elmis sp. juv.	566,4	388,8	211,2	388,8	364,8	6,83	7,71	3,73	8,29	7,80
Elmis aenea	+		++	+						
Elmis obscura	++	+	4,8					0,08		
Elmis rioloides	168	43,2	297,6	216	230,4	2,03	0,86	5,25	4,61	4,93
Elodes sp.					+					
Esolus parallelepipedus	28,8	28,8	++	++	57,6	0,35	0,57			1,23
Esolus sp.	33,6	33,6	+++	4,8	19,2	0,41	0,67	0,10		0,41
Esolus sp. juv.			9,6					0,17		
Helophorus sp.				+						
Hydraena cf. excisa			+							
Hydraena dentipes				19,2	4,8			0,41		0,10
Hydraena gracilis	9,6	4,8	28,8	4,8	9,6	0,12	0,10	0,51	0,10	0,21
Hydraena minutissima	+	+		++	+					
Hydraena riparia			4,8	4,8				0,08	0,10	
Hydraena sp.	14,4	9,6	28,8	19,2	++	0,17	0,19	0,51	0,41	
Hydrocyphon sp.				++						
Limnius opacus	100,8	57,6		67,2	81,6	1,22	1,14		1,43	1,74
Limnius perrisi	++		48	++	++			0,85		
Limnius volckmari	38,4	14,4	278,4	28,8	43,2	0,46	0,29	4,91	0,61	0,92
Orectochilus villosus	9,6	4,8	9,6	14,4	33,6	0,12	0,10	0,17	0,31	0,72
Oulimnius tuberculatus	67,2	+++	4,8	4,8	4,8	0,81		0,08	0,10	0,10
Platambus maculatus				+						
Riolus sp.			++							
TRICHOPTERA										
Allogamus auricollis			24					0,42		
Athripsodes cf. albifrons				+						
Brachycentridae Gen. sp. juv.			4,8					0,08		
Ceraclea sp. juv.					+					
Chaetopteryx fusca/villosa					+					
Cheumatopsyche lepida	456	849,6		9,6	96	5,50	16,84	0,20		2,05
Glossosoma boltoni				57,6	4,8			1,23		0,10
Glossosoma cf. conformis					+					
Glossosoma sp. juv.	+			4,8	4,8			0,10		0,10
Glossosomatidae Gen. sp. juv.				9,6	14,4			0,20		0,31
Goeridae Gen. sp. juv.	4,8	14,4	+	4,8	4,8	0,06	0,29	0,10		0,10
Halesus sp.		+		0,8	0,8			0,02		0,02
Halesus tessellatus				+						
Hydropsyche bulbifera	9,6	43,2				0,12	0,86			
Hydropsyche incognita/pellucidula	172,8	393,6	307,2	292,8	600	2,08	7,80	5,42	6,25	12,83
Hydropsyche saxonica	4,8					0,06				
Hydropsyche siltalai	24	+	19,2	++	+	0,29		0,34		
Hydropsyche sp. juv.	926,4	1036,8	667,2	364,8	168	11,18	20,55	11,78	7,78	3,59
Hydroptila sp.	9,6					0,12				
Lasiocephala basalis		+	9,6	+	4,8			0,17		0,10
Lepidostoma hirtum				+						
Lype reducta		+								

Tab. 9 (Fortsetzung)

	Individuendichte [Ind/m ²]					Prozentanteile [%]				
	Feldaist uh Flanitz km 18	Feldaist Kriehmühle km 4,8	Kettenbach Süßmühle km 7,7	Waldaist oh Reichen- stein km 7,8	Waldaist uh Hohen- steg km 0,1	Feldaist uh Flanitz km 18	Feldaist Kriehmühle km 4,8	Kettenbach Süßmühle km 7,7	Waldaist oh Reichen- stein km 7,8	Waldaist uh Hohen- steg km 0,1
Micrasema longulum				14,4					0,31	
Micrasema minimum	+			33,6	++				0,72	
Micrasema setiferum		19,2		24	38,4		0,38		0,51	0,82
Micropterna sp.	+									
Odontocerum albicorne	+		14,4	9,6				0,25	0,20	
Oligoplectrum maculatum	++	38,4		278,4	1444,8		0,76		5,94	30,89
Philopotamus montanus		+	4,8	24				0,08	0,51	
Polycentropodidae Gen. sp. juv.	++			+	4,8					0,10
Polycentropus cf. irroratus	4,8					0,06				
Polycentropus flavomaculatus	4,8		4,8	4,8		0,06		0,08	0,10	
Potamophylax sp.	+		38,4					0,68		
Psychomyia pusilla	+	+								
Rhyacophila dorsalis	4,8	4,8	++	++	4,8	0,06	0,10			0,10
Rhyacophila s. str. sp.	14,4	28,8	28,8	38,4	14,4	0,17	0,57	0,51	0,82	0,31
Rhyacophila sp.	158,4	9,6	28,8	24	4,8	1,91	0,19	0,51	0,51	0,10
Rhyacophila sp. juv.	28,8	28,8	14,4	38,4	14,4	0,35	0,57	0,25	0,82	0,31
Sericostoma sp.	9,6		76,8	120	+++	0,12		1,36	2,56	
Silo nigricornis		+	9,6	+				0,17		
Silo pallipes				+						
Silo piceus				4,8					0,10	
Trichoptera Gen. sp.	++	14,4	14,4	19,2	9,6		0,29	0,25	0,41	0,21
DIPTERA										
CHIRONOMIDAE										
Ablabesmyia (Ablabesmyia) longistyla	+	+								
Apsectrotanypus trifascipennis			+							
Brillia bifida	++	+	14,4		+			0,25		
Brillia flavifrons		+	4,8	4,8	4,8			0,08	0,10	0,10
Cardiocladius capucinus				4,8					0,10	
Cardiocladius fuscus		19,2		+			0,38			
Cladotanytarsus mancus-Gr.		14,4					0,29			
Cricotopus (Cricotopus) cf. similis				+						
Cricotopus (Cricotopus) tremulus	+	4,8		24	+		0,10		0,51	
Cricotopus (Cricotopus) trifascia	9,6	33,6	19,2			0,12	0,67	0,34		
Cricotopus (Isocladius) sylvestris-Gr.	4,8					0,06				
Cricotopus (Nostococladius) lygropis				4,8	+				0,10	
Cricotopus sp.	4,8	52,8				0,06	1,05			
Cryptochironomus sp.	+	+			+					
Demicryptochironomus sp.	++			+						
Diamesa insignipes	++	++	++	+						
Epoicocladus ephemeræ			+							
Eukiefferiella clypeata	+	33,6		24	++		0,67		0,51	
Eukiefferiella devonica/ilkeleyensis	++	19,2	+++	+	4,8		0,38			0,10
Eukiefferiella similis			4,8	43,2	9,6			0,08	0,92	0,21
Heleniella sp.				+						
Heterotrissocladus marcidus		+								
Macropelopia sp.			+							
Micropsectra sp.	++		++	++	+					
Microtendipes pedellus-Gr.		+	+							
Microtendipes rydalenis			28,8					0,51		
Nanocladius rectinervis	+									
Nilotanypus dubius			+	+						

Tab. 9 (Fortsetzung)

	Individuendichte [Ind/m ²]					Prozentanteile [%]				
	Feldaist uh Flanitz km 18	Feldaist Kriehmühle km 4,8	Kettenbach Süßmühle km 7,7	Waldaist oh Reichen- stein km 7,8	Waldaist uh Hohen- steg km 0,1	Feldaist uh Flanitz km 18	Feldaist Kriehmühle km 4,8	Kettenbach Süßmühle km 7,7	Waldaist oh Reichen- stein km 7,8	Waldaist uh Hohen- steg km 0,1
Orthoclaadiinae Gen. sp. juv.	4,8	9,6		9,6		0,06	0,19		0,20	
Orthoclaadiini COP	4,8	19,2		9,6		0,06	0,38		0,20	
Orthocladius (Symposiocladius) lignicola	+	+		+						
Paracladopelma sp.			+							
Paracricotopus niger	++	4,8	4,8	9,6			0,10	0,08	0,20	
Parametricnemus stylatus	4,8	9,6	19,2	+	9,6	0,06	0,19	0,34		0,21
Paratendipes albimanus-Gr.					+					
Paratrachocladus rufiventris		9,6					0,19			
Phaenopsectra sp.	4,8					0,06				
Polypedilum (Polypedilum) laetum	+	++	+							
Polypedilum (Polypedilum) pedestre			+		+					
Polypedilum (Tripodura) pullum/scalaenum			+		+					
Polypedilum (Uresipedilum) convictum	28,8	105,6	19,2	4,8	24	0,35	2,09	0,34	0,10	0,51
Polypedilum albicorne/cultellatum	+									
Potthastia gaedii	+	+								
Potthastia longimana-Gr.	+++	+	+	+++	++					
Prodiamesa olivacea	+	+	++		++					
Rheocricotopus (Psilocricotopus) chalybeatus	4,8			++	4,8	0,06				0,10
Rheotanytarsus curtistylus				+						
Rheotanytarsus pentapoda			+	+						
Rheotanytarsus sp.	4,8	24	4,8	9,6	33,6	0,06	0,48	0,08	0,20	0,72
Saetheria reissi		+	+							
Stictochironomus sp.		+								
Synorthocladus semivirens	+		+							
Tanytarsini Gen. sp.			4,8					0,08		
Tanytarsini Gen. sp. juv.	4,8					0,06				
Tanytarsus sp.	+++	4,8	++	++	+		0,10			
Thienemannimyia Gr., Gen. indet.	+++	+	++	++	+					
Tvetenia calvescens	19,2	4,8	9,6	4,8	14,4	0,23	0,10	0,17	0,10	0,31
Tvetenia discoloripes-Gr.	9,6	+	38,4	38,4	9,6	0,12		0,68	0,82	0,21
Tvetenia verralli		+	+		+					
Virgatanytarsus sp.		4,8			+		0,10			
Xenochironomus xenolabis					+					
SIMULIIDAE										
Simulium (Nevermannia) sp.	72	4,8	+			0,87	0,10			
Simulium (Simulium) morsitans	14,4					0,17				
Simulium (Simulium) ornatum	4,8	+	19,2			0,06		0,34		
Simulium (Simulium) ornatum-Gr.	+++	++	++	+	+					
Simulium (Simulium) reptans	91,2	+	+	19,2	++	1,10			0,41	
Simulium (Simulium) variegatum-Gr.	+++	+	++	4,8	++				0,10	
Simulium (Wilhelmia) lineatum	220,8					2,66				
Simulium sp. juv.	1593,6	4,8	48	105,6	14,4	19,23	0,10	0,85	2,25	0,31
RESTL. DIPTERA										
Antocha sp.		4,8		++	4,8		0,10			0,10
Atherix ibis	++	++	110,4	14,4	4,8			1,95	0,31	0,10
Berdeniella sp.			+							
Ceratopogonidae Gen. sp.	+		+	4,8	+				0,10	
Dicranota sp.	24	76,8	4,8	9,6	9,6	0,29	1,52	0,08	0,20	0,21
Dixa sp.				+						
Eloeophila sp.			+							
Empididae Gen. sp.	++	++	++	++						
Hexatoma sp.	14,4	+++	+++	++		0,17				
Ibisia marginata	+		48					0,85		
Limnophora sp.			+	9,6					0,20	
Liponeura sp.		+		19,2	++				0,41	
Psychodidae Gen. sp.			+		++					
Tabanidae Gen. sp.	+		++	+						
Tipulidae Gen. sp.	4,8	33,6	24	+	+	0,06	0,67	0,42		

Tab. 10: Morphologische Daten, Zustandsbewertung ECOPROF

Abschnitt	Feldaist			Feldaist			Kettenbach-Süßmühle			Waldaist			Waldaist		
Gewässer	Feldaist			Feldaist			Kettenbach			Waldaist			Waldaist		
Untersuchungsstelle (UST)	km 18			km 4,8			km 7,7			km 0,1			km 7,8		
Datum von	29.08.2018			29.08.2018			30.08.2018			29.08.2018			29.08.2018		
Teillebensraum (TLR)	MHS			MHS			MHS			MHS			MHS		
Bioregion	GG - Österreichisches Granit- und Gneisgebiet der Böhm. Masse (12)														
Grundzustand Saprobie	1,75			1,75			1,5			1,75			1,75		
Innere Differenzierung	EZ-KI 2			EZ-KI 2						EZ-KI 2			EZ-KI 2		
SI (Zelinka & Marvan)	1,9	gut (good)		1,96	gut (good)		1,71	gut (good)		1,82	gut (good)		1,73	sehr gut (high)	
Multimetrischer Index 1	0,74	gut (good)		0,65	gut (good)		0,84	sehr gut (high)		0,74	gut (good)		0,85	sehr gut (high)	
Multimetrischer Index 2	0,63	gut (good)		0,48	mäßig (moderate)		0,83	sehr gut (high)		0,57	mäßig (moderate)		0,76	gut (good)	
Versauerungsindex	n.b.			n.b.			n.b.			n.b.			n.b.		
Individuendichte [Ind/m ²]	8225,6			5011,2			5640			4638,4			4648,8		
Ökologische Zustandsklasse	gut (good)			mäßig (moderate)			gut (good)			mäßig (moderate)			gut (good)		
Metrics	Ist	BW	Score	Ist	BW	Score	Ist	BW	Score	Ist	BW	Score	Ist	BW	Score
Gesamttaxazahl	61	92	0,66	48	92	0,52	58	88	0,66	49	92	0,53	62	92	0,67
EPT-Taxa	23	38	0,61	15	38	0,39	29	36,5	0,79	20	38	0,53	29	38	0,76
% EPT-Taxa							50	62,36	0,8						
% Oligochaeta & Diptera Taxa	57,38	56,76	1,01	47,92	56,76	0,84	65,52	81,63	0,8	65,31	56,76	1,15	62,9	56,76	1,11
Diversitätsindex (Margalef)	6,49	9,42	0,69	5,38	9,42	0,57	6,43	9,35	0,69	5,54	9,42	0,59	7,04	9,42	0,75
Degradationsindex	70	165	0,42	55	165	0,33	113	157	0,72	87	165	0,53	114	165	0,69
RETI	0,47	0,63	0,74	0,52	0,63	0,82	0,73	0,76	0,96	0,6	0,63	0,95	0,72	0,63	1,15
Litoral	4,91	4,84	1,01	4,82	4,84	1	4,77	5,96	0,8	4,91	4,84	1,02	4,81	4,84	0,99

Tab. 11: Morphologische Daten, diverse Indices ECOPROF

Abschnitt: Feldaist uh. Flanitz
 Untersuchungsst km 18
 Teillebensraum: MHS

Gewässer: Feldaist
 Datum/Zeit: 29.08.2018

Österr. Granit- und Gneisgebiet d. Böhm. Masse
 Grundzustand: 1,75

Diversität		Indices		Fresstyp	Valenz	HauptFT	kum	Region	Valenz	kum
Taxa (Gesamt)	80	Taxa	39	Taxa	69			Taxa	39	
Diversität W&D	4,17	SI Zelinka&Marvan	1,90	ZKL	0,09	1,00	0,09	EUK	0,02	0,02
Diversität S&W	2,89	Streuung	± 0,054	WEI	4,10	45,75	4,19	HYK	0,37	0,39
Evenness	0,66	SI Pantle&Buck	1,92	aFIL	0,00	38,23	4,20	ER	1,17	1,56
Margalef	8,54	Streuung	± 0,055	pFIL	3,43		7,62	MR	2,30	3,87
				DET	1,35	15,02	8,97	HR	3,33	7,19
		Saprobie	Valenz	kum	MIN	0,00	8,97	EP	2,35	9,55
		xeno	0,02	0,02	HOL	0,00	8,97	MP	0,31	9,86
		oligo	2,71	2,73	RÄU	1,03	10,00	HP	0,01	9,87
		beta	5,53	8,26	PAR	0,00	10,00	LIT	0,09	9,96
		alpha	1,71	9,97	SON	0,00	10,00	PRO	0,04	10,00
		poly	0,03	10,00						
		Saprobienle Zustand		gut (good)	RETI	0,47		Index	ungew.	gew.
			2	PETI	0,53			LZI	4,77	4,96
								RIZI	4,71	4,92

Abschnitt: Feldaist Kriemühle
 Untersuchungsst km 4,8
 Teillebensraum: MHS

Gewässer: Feldaist
 Datum/Zeit: 29.08.2018

Österr. Granit- und Gneisgebiet d. Böhm. Masse
 Grundzustand: 1,75

Diversität		Indices		Fresstyp	Valenz	HauptFT	kum	Region	Valenz	kum
Taxa (Gesamt)	61	Taxa	32	Taxa	51			Taxa	30	
Diversität W&D	4,18	SI Zelinka&Marvan	1,96	ZKL	0,40	4,95	0,40	EUK	0,10	0,10
Diversität S&W	2,90	Streuung	± 0,060	WEI	3,76	46,99	4,15	HYK	0,22	0,31
Evenness	0,70	SI Pantle&Buck	1,95	aFIL	0,00	31,46	4,15	ER	0,60	0,92
Margalef	6,86	Streuung	± 0,059	pFIL	2,51		6,67	MR	2,08	3,00
				DET	1,33	16,61	7,99	HR	3,07	6,07
		Saprobie	Valenz	kum	MIN	0,00	7,99	EP	3,27	9,34
		xeno	0,06	0,06	HOL	0,00	7,99	MP	0,44	9,78
		oligo	2,33	2,39	RÄU	2,01	10,00	HP	0,00	9,78
		beta	5,50	7,89	PAR	0,00	10,00	LIT	0,18	9,97
		alpha	2,11	10,00	SON	0,00	10,00	PRO	0,03	10,00
		poly	0,00	10,00						
		Saprobienle Zustand		gut (good)	RETI	0,52		Index	ungew.	gew.
			2	PETI	0,48			LZI	5,07	5,19
								RIZI	4,97	5,14

Tab. 11 (Fortsetzung)

Abschnitt: Waldaist uh. Hohensteg
 Untersuchungsst km 0,1
 Teillebensraum: MHS

Gewässer: Waldaist
 Datum/Zeit: 29.08.2018

Österr. Granit- und Gneisgebiet d. Böhm. Masse
 Grundzustand: 1,75

Diversität		Indices		Fresstyp	Valenz	HauptFT	kum	Region	Valenz	kum
Taxa (Gesamt)	63	Taxa	36	Taxa	58			Taxa	34	
Diversität W&D	3,81	SI Zelinka&Marvan	1,82	ZKL	0,07	0,87	0,07	EUK	0,02	0,02
Diversität S&W	2,64	Streuung	± 0,027	WEI	4,78	59,21	4,85	HYK	0,08	0,10
Evenness	0,64	SI Pantle&Buck	1,85	aFIL	0,00	28,42	4,86	ER	0,67	0,77
Margalef	7,15	Streuung	± 0,028	pFIL	2,30		7,15	MR	3,36	4,13
				DET	0,93	11,50	8,08	HR	4,83	8,96
		Saprobie	Valenz	kum	MIN	0,00	8,08	EP	0,87	9,83
		xeno	0,04	0,04	HOL	0,00	8,08	MP	0,08	9,91
		oligo	3,35	3,39	RÄU	1,92	10,00	HP	0,00	9,91
		beta	5,02	8,41	PAR	0,00	10,00	LIT	0,09	9,99
		alpha	1,59	10,00	SON	0,00	10,00	PRO	0,01	10,00
		poly	0,00	10,00						
					Index					
		Saprobielle Zustand	gut (good)	RETI	0,60			Index	ungew.	gew.
			2	PETI	0,40			LZI	4,64	4,61
								RIZI	4,60	4,60

Abschnitt: Waldaist oh. Reichenstein
 Untersuchungsst km 7,8
 Teillebensraum: MHS

Gewässer: Waldaist
 Datum/Zeit: 29.08.2018

Österr. Granit- und Gneisgebiet d. Böhm. Masse
 Grundzustand: 1,75

Diversität		Indices		Fresstyp	Valenz	HauptFT	kum	Region	Valenz	kum
Taxa (Gesamt)	75	Taxa	40	Taxa	64			Taxa	39	
Diversität W&D	4,60	SI Zelinka&Marvan	1,73	ZKL	0,37	4,21	0,37	EUK	0,02	0,02
Diversität S&W	3,19	Streuung	± 0,037	WEI	5,95	68,04	6,32	HYK	0,29	0,31
Evenness	0,74	SI Pantle&Buck	1,77	aFIL	0,00	15,14	6,32	ER	1,40	1,71
Margalef	8,53	Streuung	± 0,039	pFIL	1,32		7,64	MR	3,07	4,78
				DET	1,10	12,62	8,75	HR	3,68	8,45
		Saprobie	Valenz	kum	MIN	0,00	8,75	EP	1,29	9,74
		xeno	0,14	0,14	HOL	0,00	8,75	MP	0,06	9,80
		oligo	3,71	3,85	RÄU	1,25	10,00	HP	0,00	9,81
		beta	4,87	8,72	PAR	0,00	10,00	LIT	0,19	10,00
		alpha	1,28	10,00	SON	0,00	10,00	PRO	0,00	10,00
		poly	0,00	10,00						
					Index					
		Saprobielle Zustand	sehr gut (high)	RETI	0,72			Index	ungew.	gew.
			1	PETI	0,28			LZI	4,54	4,48
								RIZI	4,45	4,44

Tab. 11 (Fortsetzung)

Abschnitt: Kettenbach-Süßmühle
 Untersuchungsst km 7,7
 Teillebensraum: MHS

Gewässer: Kettenbach
 Datum/Zeit: 30.08.2018

Österr. Granit- und Gneisgebiet d. Böhm. Masse
 Grundzustand: 1,75

Diversität		Indices		Fresstyp	Valenz	HauptFT	kum	Region	Valenz	kum
Taxa (Gesamt)	69	Taxa	40	Taxa	63			Taxa	38	
Diversität W&D	4,38	SI Zelinka&Marvan	1,71	ZKL	0,77	8,69	0,77	EUK	0,16	0,16
Diversität S&W	3,04	Streuung	± 0,033	WEI	5,64	63,95	6,41	HYK	0,48	0,65
Evenness	0,72	SI Pantle&Buck	1,74	aFIL	0,01	11,87	6,41	ER	1,69	2,33
Margalef	7,67	Streuung	± 0,035	pFIL	1,04		7,45	MR	2,90	5,23
				DET	1,37	15,49	8,82	HR	3,25	8,49
		Saprobie	Valenz	kum	MIN	0,00	8,82	EP	1,20	9,69
		xeno	0,11	0,11	HOL	0,01	8,82	MP	0,05	9,74
		oligo	3,82	3,93	RÄU	1,18	10,00	HP	0,00	9,74
		beta	4,92	8,85	PAR	0,00	10,00	LIT	0,23	9,97
		alpha	1,15	10,00	SON	0,00	10,00	PRO	0,03	10,00
		poly	0,00	10,00						
		Saprobielle Zustand		Index						
		gut (good)		RETI	0,73			Index	ungew.	gew.
		2		PETI	0,27			LZI	4,40	4,39
								RIZI	4,27	4,31

Tab. 12: DNA-Daten, diverse Indices

	Ethanol 1		Ethanol 2				Gewebe			Mix		
	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Gesamttxa	86	58	42	78	57	72	74	95	85	86	54	62
EPT-Taxa	32	31	24	32	29	34	35	50	37	50	21	31
Ephemeroptera	17	17	13	17	14	15	23	22	17	19	7	21
Plecoptera	5	8	4	6	8	5	2	7	6	9	4	2
Trichoptera	10	6	7	9	7	14	10	21	14	22	10	8
% EPT-Taxa	37,21	53,45	57,14	41,03	50,88	47,22	47,30	52,63	43,53	58,14	38,89	50,00
Litoralanteile	0,11	0,03	0,02	0,06	0,03	0,19	0,14	0,03	0,04	0,06	0,16	0,12
Litoral&Profundal Anteile	0,15	0,03	0,03	0,08	0,03	0,29	0,21	0,03	0,04	0,06	0,17	0,13
% Oligochaeta&Diptera Tax	53,49	36,21	30,95	47,44	38,60	40,28	41,89	29,47	42,35	26,74	40,74	32,26
Oligochaeta (+Egell)	14	6	2	12	7	10	17	1	5	3	5	7
Diptera	32	15	11	25	15	19	14	27	31	20	17	13
RETI	0,48	0,85	0,47	0,53	0,82	0,39	0,52	0,44	0,47	0,69	0,42	0,52
Diversitätsindex (Margalef)	7,40	5,15	3,42	6,62	5,03	7,69	8,02	7,42	6,84	6,66	4,38	5,29
Degradationsindex	68	80	47	72	70	68	95	96	62	110	51	64
Degr.index/Gesamttxa	0,79	1,38	1,12	0,92	1,23	0,94	1,28	1,01	0,73	1,28	0,94	1,03
Degra.index gewichtet	3,57	4,33	2,76	3,89	4,14	2,87	2,11	1,95	2,82	3,42	2,39	2,13
Saprobitätsindex	2,02	1,51	1,78	2,04	1,53	2,00	1,87	1,95	2,00	1,66	1,92	1,89
x	0,08	0,04	0,02	0,12	0,04	0,10	0,16	0,02	0,14	0,11	0,02	0,19
o	1,98	5,16	2,77	1,78	4,95	2,11	2,89	2,43	2,01	4,06	2,78	2,65
b	5,59	4,45	6,64	5,67	4,63	5,47	5,12	5,57	5,54	4,97	5,17	5,26
a	2,35	0,36	0,58	2,41	0,38	2,31	1,80	1,98	2,31	0,87	2,04	1,90
p	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01	0,03	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
Ernährungstypen												
ZKL	0,21	0,05	0,08	0,55	0,25	0,12	0,49	0,09	0,38	0,36	0,03	0,64
WEI	4,35	8,13	4,43	4,32	7,66	3,42	4,33	3,48	3,38	5,79	3,18	4,35
aFIL	0,03	0,00	0,03	0,00	0,00	0,01	0,13	0,01	0,02	0,00	0,00	0,02
pFIL	0,17	0,10	0,38	0,09	0,05	0,89	0,39	2,16	1,72	0,62	2,47	1,09
DET	4,69	1,35	4,59	4,26	1,63	4,69	4,01	2,38	2,43	2,10	1,93	3,47
MIN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
HOL	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
RÄU	0,55	0,37	0,49	0,77	0,41	0,87	0,66	1,86	2,06	1,13	2,40	0,43
PAR	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SON	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00
Regionsindex (LZI) gewichte	4,95	3,84	4,39	4,99	3,90	4,92	4,28	4,52	4,76	4,04	4,64	4,31
Eukrenal	0,02	0,00	0,00	0,03	0,00	0,08	0,09	0,01	0,02	0,00	0,00	0,04
Hypokrenal	0,12	0,08	0,07	0,14	0,08	0,20	0,41	0,11	0,15	0,19	0,03	0,31
Epirhithral	1,07	4,26	1,04	0,91	3,99	0,93	1,92	1,37	0,95	3,11	1,16	1,67
Metarhithral	2,10	3,17	4,52	1,87	3,27	2,49	3,70	3,63	2,91	3,61	3,76	3,89
Hyporhithral	3,13	2,21	3,75	3,28	2,29	3,03	2,77	3,20	3,26	2,53	3,14	3,14
Epipotamal	3,26	0,23	0,54	3,59	0,32	2,74	0,81	1,49	2,53	0,48	1,53	0,77
Metapotamal	0,13	0,01	0,04	0,09	0,01	0,21	0,06	0,15	0,13	0,02	0,20	0,05
Hypopotamal	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Litoral	0,11	0,03	0,02	0,06	0,03	0,19	0,14	0,03	0,04	0,06	0,16	0,12
Profundal	0,04	0,00	0,01	0,02	0,00	0,10	0,07	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00

Tab. 13: DNA-Daten (logarithmiert), diverse Indices

	Ethanol 1		Ethanol 2					Gewebe			Mix	
	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Gesamttaxa	86	58	42	78	57	72	74	95	85	86	54	62
EPT-Taxa	32	31	24	32	29	34	35	50	37	50	21	31
Ephemeroptera	17	17	13	17	14	15	23	22	17	19	7	21
Plecoptera	5	8	4	6	8	5	2	7	6	9	4	2
Trichoptera	10	6	7	9	7	14	10	21	14	22	10	8
% EPT-Taxa	37,21	53,45	57,14	41,03	50,88	47,22	47,30	52,63	43,53	58,14	38,89	50,00
Litoralanteile	0,26	0,08	0,16	0,24	0,09	0,15	0,26	0,12	0,16	0,04	0,11	0,17
Litoral&Profundal Anteile	0,30	0,12	0,17	0,28	0,14	0,21	0,41	0,13	0,18	0,05	0,13	0,21
% Oligochaeta&Diptera Tax	53,49	36,21	30,95	47,44	38,60	40,28	41,89	29,47	42,35	26,74	40,74	32,26
Oligochaeta (+Egell!)	14	6	2	12	7	10	17	1	5	3	5	7
Diptera	32	15	11	25	15	19	14	27	31	20	17	13
RETI	0,44	0,56	0,42	0,49	0,58	0,48	0,46	0,51	0,53	0,64	0,57	0,54
Diversitätsindex (Margalef)	16,05	11,91	8,56	14,69	11,76	14,75	15,33	16,90	15,52	15,53	10,58	12,25
Degradationsindex	68	80	47	72	70	68	95	96	62	110	51	64
Degr.index/Gesamttaxa	0,79	1,38	1,12	0,92	1,23	0,94	1,28	1,01	0,73	1,28	0,94	1,03
Degra.index gewichtet	2,68	3,31	2,74	3,00	3,30	2,71	3,08	2,79	2,58	3,09	2,71	2,65
Saprobitätsindex	1,91	1,71	1,93	1,93	1,73	1,89	1,81	1,85	1,89	1,71	1,85	1,78
x	0,15	0,23	0,11	0,15	0,20	0,09	0,23	0,21	0,11	0,27	0,08	0,15
o	2,60	3,58	2,30	2,58	3,42	2,70	3,22	2,64	2,72	3,45	3,00	3,36
b	5,34	5,09	5,78	5,25	5,25	5,42	4,87	5,54	5,41	5,22	5,29	5,06
a	1,88	1,08	1,81	1,84	1,11	1,76	1,54	1,60	1,65	1,04	1,61	1,42
p	0,04	0,01	0,00	0,18	0,01	0,02	0,14	0,00	0,10	0,01	0,02	0,01
Ernährungstypen												
ZKL	0,38	0,41	0,30	0,53	0,61	0,28	0,47	0,56	0,58	0,81	0,21	0,66
WEI	3,44	4,52	3,10	3,58	4,34	3,91	3,52	3,56	3,60	4,25	4,35	4,24
aFIL	0,04	0,01	0,27	0,03	0,00	0,04	0,10	0,13	0,15	0,00	0,03	0,17
pFIL	0,85	0,69	1,53	0,57	0,52	0,92	0,87	1,62	1,05	0,99	1,25	0,97
DET	3,96	3,11	2,98	3,72	3,11	3,57	3,80	2,15	2,49	1,86	2,12	3,00
MIN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
HOL	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00
RÄU	1,26	1,26	1,82	1,53	1,41	1,28	1,23	1,88	2,05	2,05	2,04	0,96
PAR	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SON	0,06	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,10	0,07	0,00	0,00	0,00
Regionsindex (LZI) gewichte	4,72	4,31	4,76	4,68	4,30	4,71	4,53	4,60	4,68	4,29	4,53	4,34
Eukrenal	0,08	0,00	0,02	0,08	0,03	0,06	0,10	0,23	0,04	0,04	0,05	0,07
Hypokrenal	0,22	0,38	0,13	0,22	0,35	0,18	0,25	0,21	0,17	0,32	0,14	0,22
Epirhithral	1,53	2,19	1,15	1,66	2,29	1,35	1,86	1,46	1,42	2,01	1,45	2,04
Metarhithral	2,73	3,43	3,13	2,72	3,45	3,07	3,36	2,69	2,94	3,58	3,64	3,70
Hyporhithral	2,78	2,47	2,92	2,75	2,37	2,84	2,61	2,94	3,04	2,71	2,91	2,62
Epipotamal	1,99	1,27	2,19	1,97	1,21	1,91	1,17	2,05	1,97	1,22	1,46	1,02
Metapotamal	0,31	0,12	0,27	0,29	0,14	0,30	0,17	0,28	0,22	0,07	0,20	0,10
Hypopotamal	0,06	0,02	0,02	0,03	0,02	0,07	0,08	0,01	0,02	0,00	0,01	0,02
Litoral	0,26	0,08	0,16	0,24	0,09	0,15	0,26	0,12	0,16	0,04	0,11	0,17
Profundal	0,04	0,04	0,02	0,04	0,05	0,06	0,15	0,01	0,01	0,01	0,02	0,03

Tab. 14: DNA-Analysen. Reads der Taxa mit einer Similarity > 90%.

Gruppe Art	Similarity ID	Ethanol 1		Ethanol 2					Gewebe			Mix	
		Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Porifera													
Ephydatia fluviatilis	99,28 OTU_74			1386			46	421					15
Cnidaria													
Craspedacusta sowerbyi	99,52 OTU_226	175	18		54		47	5					
Platyhelminthes													
Stenostomidae Gen. sp.	92,57 OTU_1623						6	4					
Turbellaria Gen. sp.	91,15 OTU_3329	102		510									
Annelida													
Enchytraeidae													
Cognettia sphagnetorum B SM2014	99,03 OTU_379		15			17		13					28
Enchytraeidae cf. sp.	98,08 OTU_873						11						
Fridericia perrieri	100 OTU_710												47
Propappidae													
Propappidae Gen. sp.	90,17 OTU_652	24						23					
Lumbricidae													
Eiseniella tetraedra	100 OTU_37		685			544	423	4			2097	23	
Eiseniella tetraedra	100 OTU_47	430		2378	110		13						
Lumbricidae Gen. sp.	100 OTU_194	154			83					45			
Lumbricidae Gen. sp.	99,28 OTU_255	94			62								
Naididae													
Aulodrilus plurisetia	100 OTU_165		99			199	197	35					43
Naididae Gen. sp.	94,24 OTU_293	132			32			16					
Naididae Gen. sp.	91,92 OTU_305	89			34								
Naididae Gen. sp.	100 OTU_745	26											
Naididae Gen. sp.	90,65 OTU_1075	22											
Naididae Gen. sp.	100 OTU_1423	17											
Limnodrilus hoffmeisteri	100 OTU_1275							11					
Nais alpina	100 OTU_87	280			177		408	242			117	50	
Nais elinguis	100 OTU_404	25						46					
Nais sp.	100 OTU_59	1487			361	14	553	77			359	28	
Nais sp.	100 OTU_245	65						140				32	
Nais sp.	99,76 OTU_1321							9				17	
Nais sp.	99,04 OTU_2232							20					
Nais variabilis	99,52 OTU_129	271	29		72	20	81	120			69	50	
Ophidonais serpentina	100 OTU_1231							35					
Potamothenix bedoti	100 OTU_32	3241			1161								
Pristina aequiseta	99,76 OTU_117	534			145			54					
Pristina osborni	99,76 OTU_89	370			63		16						
Pristina sp.	97,84 OTU_1324							6					
Rhyacodrilus falciformis	99,52 OTU_1641							7					
Slavina appendiculata	99,76 OTU_1216							18					
Tubifex ignotus	100 OTU_140	69							462				
Tubifex tubifex	99,28 OTU_279				159								
Tubifex tubifex	98,56 OTU_475				46				34				

Tab. 14 (Fortsetzung)

Gruppe Art	Similarity ID	Ethanol 1		Ethanol 2					Gewebe			Mix		
		Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	
Lumbriculidae														
Lumbriculidae Gen. sp.	99,52 OTU_1229							26						
Lumbriculidae Gen. sp.	96,88 OTU_2945							10						
Stylodrilus heringianus	100 OTU_26	4087	195	2305	2489	432	1042	276	1065	696	278	2817	89	
Stylodrilus heringianus	100 OTU_1135							12					19	
Stylodrilus sp.	97,98 OTU_212		32					375			69			
Erpobdellidae														
Erpobdellidae Gen. sp.	90,89 OTU_108	52			125			25		527				
Amphipoda														
Gammarus cf. fossarum	100 OTU_19	1579		1263	4891			7	154	1953	6992		85	4811
Gammarus cf. fossarum	98,56 OTU_803				29									
Gammarus fossarum	100 OTU_46	147			1511					353	1647			25
Gammarus sp.	95,68 OTU_708				26									14
Arachnida														
Atractides nodipalpis	99,76 OTU_771							5		55				
Aturidae Gen. sp.	100 OTU_1325													17
Arachnida Gen. sp.	94,48 OTU_881			40										
Hygrobatas fluviatilis	100 OTU_646									60				
Ephemeroptera														
Baetis fuscatus	100 OTU_30	2342	146	439	2794	226	160		4135	4020	982	2720	154	
Baetis fuscatus	100 OTU_25	1542	41	118	1949	40	84		541	1727	509	35		
Baetis liebenauae	100 OTU_123			270					1437					
Baetis lutheri	99,76 OTU_28	3040	111	1141	1747	155	36	117	2637	2349	770		583	
Baetis muticus	99,76 OTU_219		228	275		120		12	1422		559			
Baetis muticus	100 OTU_308		21			33		5			203			
Baetis niger	100 OTU_351		16					14			109			
Baetis rhodani	100 OTU_1	7286	3996	16338	6953	5313	257	1299	53973	16713	34683	2754	19704	
Baetis rhodani	100 OTU_18	782		1139	481	49		1374	6123	2302	909		12087	
Baetis rhodani	99,28 OTU_71	25		236	323			7	965	739				
Baetis rhodani	99,76 OTU_90								1191					
Baetis scambus	100 OTU_2	221	3620	97318	305	5984	28	440	8010	465	28952		10383	
Baetis scambus	99,18 OTU_3226	112	484	343	120	692		79	1687	241	4903		253	
Baetis scambus	98,62 OTU_1831		33			69		29	343		1256		252	
Baetis sp.	97,84 OTU_3106		1150	6544		1656	19	196	2296		8553		351	
Baetis sp.	96,88 OTU_79	35		192	586		9		110	320				
Baetis sp.	95,2 OTU_445								198		97		35	
Baetis sp.	95,31 OTU_690					20								
Baetis vardarensis	99,76 OTU_382								55					
Baetis vernus	98,56 OTU_21	39		2531	428				8303	737				
Caenis beskidensis	100 OTU_1889							21						

Tab. 14 (Fortsetzung)

Gruppe	Art	Similarity	ID	Ethanol 1		Ethanol 2				Gewebe			Mix		
				Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
	Ecdyonurus insignis	100	OTU_6	29765	935	4562	44950	422	1256	30	14129	45053	2610	806	250
	Ecdyonurus insignis	98,54	OTU_489	424			4359		20		224	644	42		16
	Ecdyonurus macani	99,76	OTU_12	2589	47	945	2964	183	128	46	16332	1807	781	6372	1231
	Ecdyonurus sp.	100	OTU_955							123					
	Ecdyonurus sp.	97,8	OTU_3771				27								
	Ecdyonurus sp.	97,12	OTU_1348				18								
	Ecdyonurus torrentis	99,76	OTU_49	239			469			162	760	33			5851
	Ecdyonurus venosus	100	OTU_163		139			84		50			120		
	Epeorus assimilis	99,04	OTU_2454	112	10901		125	6970	60	82	599	433	22603		230
	Epeorus sylvicola	100	OTU_7	5117	31918		2645	34270	183	350	569	3184	80190	85	189
	Ephemera danica	100	OTU_139			287				4	294	319			50
	Ephemerella ignita	100	OTU_20	317	2030	401	1246	2425	589	411	6505	2700	20760	31025	7422
	Ephemerella mucronata	100	OTU_956							3					77
	Ephemerella notata	100	OTU_1896						8						
	Baetidae Gen. sp.	93,76	OTU_322								670		312		170
	Baetidae Gen. sp.	93,59	OTU_143	63			718		4			87			
	Heptageniidae Gen. sp.	90,58	OTU_1850												16
	Habroleptoides confusa	100	OTU_204		43					74					531
	Habroleptoides confusa	100	OTU_562							6					83
	Habrophlebia lauta	100	OTU_1461							11					15
	Heptagenia sulphurea	100	OTU_2169						23						
	Oligoneuriella rhenana	99,51	OTU_296		11								370		
	Paraleptophlebia submarginata	99,74	OTU_347	148							54		39		
	Procloeon sp.	97,12	OTU_479								83				
	Rhithrogena beskidensis	100	OTU_44	17			1415			12	743	679	315		41
	Rhithrogena gratianopolitana	99,76	OTU_785		31										
	Rhithrogena sp. 3 LV	100	OTU_55					10	7	158					5584
	Serratella ignita	100	OTU_17	78	1151	576	373	1182	321		8724	3036	18513	42	
	Serratella ignita	100	OTU_50	80	117		140	82	69		534	2363	899	275	3455
	Serratella ignita	100	OTU_73					179	16	158			872		1724
	Torleya major	98,8	OTU_78	120			107			20	1898	323	160		701
Plecoptera															
	Dinocras cephalotes	100	OTU_61		977			465					6498	409	
	Dinocras cephalotes	100	OTU_98		13			17					2057		
	Perlidae Gen. sp.	92,09	OTU_459								231				
	Perlidae Gen. sp.	92,33	OTU_315				101					38	67		
	Perlidae Gen. sp.	93,41	OTU_1965								41				
	Perlodidae Gen. sp.	94,72	OTU_540			88								55	
	Perlodidae Gen. sp.	91,37	OTU_1052											42	
	Isoperla sp.	97,12	OTU_1607						9						
	Leuctra digitata	99,76	OTU_210	17			159				50	33			
	Leuctra digitata	99,75	OTU_1302								80				
	Leuctra fusca	100	OTU_64	530	76	1066	2235	229	37	19	1898	1518	357		
	Leuctra hippopus	100	OTU_1333												23

Tab. 14 (Fortsetzung)

Gruppe Art	Similarity ID	Ethanol 1		Ethanol 2					Gewebe			Mix	
		Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Perla abdominalis	100 OTU_16	50		1112	107				15062	876			
Perla abdominalis	98,32 OTU_246								192				
Perla marginata	100 OTU_10	2190	1202	448	5082	1502	25		773	13840	15060		
Perla sp.	98,08 OTU_178	64	16		309	51				153	194		
Periodes microcephalus	99,52 OTU_76		57			31			281		352	2050	
Periodes microcephalus	99,76 OTU_506										130		
Periodes sp.	95,92 OTU_237		23			14	12	37			391	247	
Protonemura meyeri	100 OTU_63		98			179	7		321		1217		230
Protonemura nitida	99,04 OTU_141					11					672		
Protonemura praecox	100 OTU_927		22										
Odonata													
Calopteryx virgo	100 OTU_225								215		187		
Ophiogomphus cecilia	100 OTU_588								43				
Trichoptera													
Agapetus ochripes	100 OTU_68		15				38				931	1715	
Allogamus auricollis	99,76 OTU_453							147					
Athripsodes albifrons	100 OTU_238								157		135		
Beraea maura	100 OTU_376								112				
Brachycentrus maculatus	100 OTU_8	73	423		88	185	268		273	3267	16633	60200	
Ceraclea dissimilis	100 OTU_674								59				
Cheumatopsyche lepida	100 OTU_13	1601		723	1236		498		6348	10915	44	5438	
Glossosoma boltoni	98,8 OTU_35		61			27	57				5696	426	
Halesus tessellatus	100 OTU_70		293			2184	136		165	439	652		
Hydropsyche botosaneanui	100 OTU_77							78	331	251	112		619
Hydropsyche cf. bulbifera	100 OTU_29	243		191	138		7		3271	2215			
Hydropsyche incognita	100 OTU_5	40		312	42		527	4	6689	26428	9043	22088	
Hydropsyche instabilis	100 OTU_190							14					892
Hydropsyche pellucidula	100 OTU_11			3349			11	100	26375	84	71		3656
Hydropsyche pellucidula	100 OTU_112								640				260
Hydropsyche saxonica	100 OTU_154								496				
Hydropsyche siltalai	100 OTU_4	28		3176			119	204	67395	18219	1083	699	4553
Hydroptila forcipata	100 OTU_124	111			23				932	478			
Hydroptila sparsa	98,31 OTU_901								55				
Lepidostoma basale	100 OTU_420										123		
Micrasema longulum	100 OTU_398										290		
Micrasema minimum	100 OTU_115		13								574	739	
Micrasema setiferum	100 OTU_39	63			392		12		268	911	239	4773	
Odontocerum albicorne	100 OTU_354										123		
Oecetis testacea	100 OTU_433								95				
Philopotamus montanus	100 OTU_423										228		
Polycentropus flavomaculatus	100 OTU_339	19			37		10	12	65	66			
Polycentropus irroratus	100 OTU_440								85				

Tab. 14 (Fortsetzung)

Gruppe Art	Similarity ID	Ethanol 1		Ethanol 2					Gewebe			Mix	
		Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Potamophylax cingulatus	100 OTU_617							76					
Potamophylax latipennis	100 OTU_58							397					4372
Potamophylax latipennis	99,28 OTU_742												220
Potamophylax luctuosus	100 OTU_251					20					260		
Potamophylax sp.	95,68 OTU_248												276
Psychomyia pusilla	100 OTU_394	24				45				39			
Rhyacophila dorsalis	100 OTU_14	1373	84	2374	1057	151	202	224	6903	4629	3098	2287	194
Rhyacophila tristis	100 OTU_365										102		
Sericostoma flavicorne	100 OTU_42					16					5738		
Sericostoma flavicorne	100 OTU_69								82		5008		
Sericostoma personatum	100 OTU_200										332		
Silo piceus	100 OTU_85			162	88	9	22		373	236	260	394	
Coleoptera													
Elmis aenea	100 OTU_100								410	71	400	118	48
Elmis maugetii	100 OTU_51	404	46	236	158	17	52	29	1640	442	604	822	255
Elmis rioloides	100 OTU_23	64	270			120	158	29	2137	331	6538	3203	337
Elmis rioloides	100 OTU_388	91	19		49	16	28		506	462	669	722	33
Elmis sp.	96,9 OTU_1797											31	
Esolus parallelepipedus	100 OTU_36	166	35		186	22	26	5	3328	1330	920	2502	376
Gyrinidae Gen. sp.	91,93 OTU_515									28		54	
Gyrinidae Gen. sp.	91,53 OTU_816											73	
Gyrinidae Gen. sp.	92,51 OTU_660									25		44	
Gyrinidae Gen. sp.	91,53 OTU_776											56	
Gyrinidae Gen. sp.	93,43 OTU_1127											52	
Gyrinidae Gen. sp.	93,46 OTU_898											51	
Gyrinidae Gen. sp.	93,27 OTU_1047											51	
Gyrinidae Gen. sp.	94,75 OTU_828											49	
Gyrinidae Gen. sp.	93,75 OTU_620											47	
Gyrinidae Gen. sp.	93,7 OTU_663											45	
Gyrinidae Gen. sp.	93,66 OTU_658											45	
Gyrinidae Gen. sp.	94,23 OTU_615											41	
Gyrinidae Gen. sp.	92,72 OTU_688											40	
Gyrinidae Gen. sp.	94,23 OTU_935											36	
Gyrinidae Gen. sp.	92,77 OTU_1272											36	
Gyrinidae Gen. sp.	92,04 OTU_2178											35	
Gyrinidae Gen. sp.	94,16 OTU_768											32	
Gyrinidae Gen. sp.	92,65 OTU_728											32	
Gyrinidae Gen. sp.	92,49 OTU_1149											32	
Gyrinidae Gen. sp.	93,67 OTU_1046											31	
Gyrinidae Gen. sp.	94,15 OTU_1247											30	
Gyrinidae Gen. sp.	92,94 OTU_1214											27	

Tab. 14 (Fortsetzung)

Gruppe Art	Similarity ID	Ethanol 1		Ethanol 2					Gewebe			Mix	
		Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Hydraena dentipes	100 OTU_331									144			
Hydraena gracilis	100 OTU_306								103	70			28
Hydrocyphon deflexicollis	100 OTU_829					9							
Limnius opacus	100 OTU_31		34			64	21		1368	430	3339	521	
Limnius opacus	99,04 OTU_677										56		
Limnius perrisi	100 OTU_277							9			145		
Limnius volckmari	100 OTU_110								625	233	152	1146	215
Ochthebius metallescens	99,28 OTU_278								196				
Orectochilus sp.	97,57 OTU_1158				135				76	263	53	194	
Orectochilus sp.	96,08 OTU_755											38	
Orectochilus villosus	99,76 OTU_75	41	12	496	409	88	49		1072	1343	550	4826	35
Orectochilus villosus	99,76 OTU_319	22	19	631	700	168	46	5	1128	2102	737	2975	43
Orectochilus villosus	98,3 OTU_1245				96			7	120	315	143	344	
Oulimnius tuberculatus	100 OTU_137								578		39		
Riolus subviolaceus	100 OTU_240									193			
Diptera													
Athericidae													
Atherix ibis	100 OTU_88								637		1767		
Atherix marginata	100 OTU_671							16					72
Blephariceridae													
Liponeura brevisrostris	99,52 OTU_104		28			45					820		
Liponeura cordata	99,28 OTU_340					13					114		
Ceratopogonidae													
Ceratopogonidae Gen. sp.	92,09 OTU_419									23	82		19
Chironomidae													
Ablabesmyia sp.	97,6 OTU_649									33			
Cladotanytarsus sp.	100 OTU_72	688		417	380		22			149			
Conchapelopia hittmairorum	100 OTU_231						146				104		
Corynoneura sp. 14ES	100 OTU_161		172			75	64	24					94
Corynoneura sp. 4ES	99,76 OTU_2913												12
Cricotopus bicinctus	99,04 OTU_406	66			40				46	48			
Cricotopus cf. curtus	100 OTU_300		43								98	232	
Cricotopus rufiventris	100 OTU_253	137			34								
Cricotopus sp.	100 OTU_15	6894			3471					2982			
Cricotopus sp.	100 OTU_170		87			84				34	1289		
Cricotopus sp.	97,87 OTU_342			80					76				
Cricotopus sp. XJB	99,04 OTU_298	330			133					272			
Cricotopus triannulatus	100 OTU_823	41											
Cricotopus trifascia	98,8 OTU_24	3144		560	3170			29	946	3268			23
Eukiefferiella sp.	99,48 OTU_195	77			25		22			33		573	
Eukiefferiella sp.	96,06 OTU_580								107				

Tab. 14 (Fortsetzung)

Gruppe Art	Similarity ID	Ethanol 1		Ethanol 2					Gewebe			Mix	
		Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Chironomidae Gen. sp.	99,52 OTU_53	594	337		230	158	56		74	955	4882	59	
Chironomidae Gen. sp.	100 OTU_41	659			139		183	10		276		3587	275
Chironomidae Gen. sp.	91,3 OTU_103	1643			495					2710			
Chironomidae Gen. sp.	100 OTU_57	762			400					2802			
Chironomidae Gen. sp.	90,94 OTU_199		86			61					664	287	
Chironomidae Gen. sp.	100 OTU_122	112	19	343		17		27			47	96	36
Chironomidae Gen. sp.	90,86 OTU_126	434			110								
Chironomidae Gen. sp.	90,48 OTU_167		35								496		
Chironomidae Gen. sp.	94,48 OTU_297										217		
Chironomidae Gen. sp.	99,72 OTU_321	43			27							94	
Chironomidae Gen. sp.	94,24 OTU_281		122					9					
Chironomidae Gen. sp.	100 OTU_748								53				
Chironomidae Gen. sp.	99,04 OTU_798	51											
Chironomidae Gen. sp.	90,4 OTU_1634						12						
Chironomidae Gen. sp.	90,38 OTU_2834						6						
Microtendipes pedellus	99,76 OTU_921									42			
Nanocladius rectinervis	100 OTU_337						9						
Nilotanytus dubius	100 OTU_177	264					18	14					
Orthocladus oblidens	100 OTU_211	52			49					68		119	
Orthocladus rubicundus	100 OTU_40	307	25		110	17	171			1306	1995	100	
Orthocladus rubicundus	100 OTU_247	50			30					43			
Orthocladus sp. 15TE	99,76 OTU_548	49			37					27			
Paracricotopus niger	98,3 OTU_393	107								52			
Paracricotopus sp.	96,03 OTU_86		248			128	40				506	480	
Paracricotopus sp.	99,41 OTU_415	86			59					85			
Parametriocnemus sp.	98,56 OTU_146	173			177		13		84	32			
Parametriocnemus sp.	96,16 OTU_266							32					281
Parametriocnemus sp.	95,68 OTU_1329												17
Parametriocnemus stylatus	100 OTU_102	275			566			6		84			
Paratendipes albimanus	100 OTU_1459						26						
Phaenopsectra sp.	99,69 OTU_101							545					959
Polypedilum convictum	100 OTU_45	2221	81		1911	45	129	137	433	971	69	458	1079
Polypedilum sp.	99,04 OTU_524	34								65	83		40
Potthastia sp.	98,86 OTU_441		29			11							
Rheocricotopus chalybeatus	98,56 OTU_105		19	923			52		109				
Rheotanytarsus curtistylus	98,8 OTU_1089	36											
Rheotanytarsus distinctissimus	100 OTU_62	54	412	537	40	264	45	20			1326	2125	
Rheotanytarsus ringei	100 OTU_130		30			18	129		621			381	
Rheotanytarsus sp.	99,76 OTU_906	23										92	
Saetheria tylus	98,58 OTU_387	83			36					51			

Tab. 14 (Fortsetzung)

Gruppe Art	Similarity ID	Ethanol 1		Ethanol 2					Gewebe			Mix	
		Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Tanytarsus ejuncidus	100 OTU_181	286			200				68				
Tanytarsus heusdensis	100 OTU_607	73										24	
Thienemanniella sp.	98,86 OTU_128	296		789	131					57			
Tvetenia calvescens	100 OTU_169	16			23		25		213	32		26	
Tvetenia calvescens	100 OTU_760					11		9				48	
Tvetenia sp.	97,64 OTU_484		30			16					51		
Tvetenia sp.	97,6 OTU_782												40
Virgatanytarsus arduennensis	100 OTU_38	2263		245	314		59		467	240		341	
Empidiidae													
Hemerodromia adulatoria	100 OTU_405								147				
Wiedemannia bistigma	99,52 OTU_2711								52	203	98	23	
Wiedemannia lamellata	98,8 OTU_182											91	
Ephyridae													
Hydrellia maura	99,76 OTU_209								294				
Limoniidae													
Antocha vitripennis	100 OTU_56		71			111	22			1158	1071	1208	
Eloeophila sp.	99,52 OTU_222								105		125		
Muscidae													
Limnophora sp.	97,46 OTU_352								126				
Pediciidae													
Dicranota robusta	99,76 OTU_162				28				347	402	52		
Psychodidae													
Pericoma blandula	99,76 OTU_647									50			
Sciaridae													
Corynoptera cursor	100 OTU_227								245				
Hyperlasion wasmanni	100 OTU_1452						21						
Simuliidae													
Simulium equinum	100 OTU_33	20		1496	56				5320	884			
Simulium lineatum	100 OTU_224								323				
Simulium lineatum	100 OTU_541								108				
Simulium ornatum	100 OTU_54							44	353				5893
Simulium ornatum s.l.	100 OTU_180							29	1503				122
Simulium petricolum	99,28 OTU_965								95				
Simulium reptans	99,28 OTU_34	66	94			51	12		2775	316	6792	682	
Simulium reptans	98,32 OTU_3648	18	30	144		13	4		1483	98	594	774	
Simulium sp.	97,1 OTU_65	32								1982			
Simulium sp.	99,72 OTU_160	206			104				41	1415	186		
Simulium sp.	97,6 OTU_914										56		
Simulium velutinum	99,52 OTU_250			145				6	508				
Tipulidae													
Tipula sp. XJB	99,04 OTU_109	50			297					936			

Tab. 15: DNA-Analysen. Reads der Taxa mit einer Similarity > 90%, Haplotypen zusammengefasst.

Gruppe Art	Ethanol 1		Ethanol 2				Gewebe			Mix		
	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Porifera												
Ephydatia fluviatilis			1386			46	421					15
Cnidaria												
Craspedacusta sowerbyi	175	18		54		47	5					
Platyhelminthes												
Stenostomidae Gen. sp.						6	4					
Turbellaria Gen. sp.	102		510									
Annelida												
Enchytraeidae												
Cognettia sphagnetorum B SM2014		15			17		13					28
Enchytraeidaegen cf. sp.						11						47
Fridericia perrieri												
Propappidae Gen. sp.	24						23					
Lumbricidae												
Eiseniella tetraedra	430	685	2378	110	544	436	4			2097	23	
Lumbricidae Gen. sp.	248			145					45			
Naididae												
Aulodrilus pluriseta		99			199	197	35					43
Naididae Gen. sp.	286			66			16					
Limnodrilus hoffmeisteri							11					
Nais alpina	280			177		408	242				117	50
Nais elinguis	25						46					
Nais sp.	1552			361	14	553	246				359	77
Nais variabilis	271	29		72	20	81	120				69	50
Ophidonais serpentina							35					
Potamothrix bedoti	3241			1161								
Pristina aequiseta	534			145			54					
Pristina osborni	370			63		16						
Pristina sp.							6					
Rhyacodrilus falciformis							7					
Slavina appendiculata							18					
Tubifex ignotus	69								462			
Tubifex tubifex				205					34			
Lumbriculidae												
Lumbriculidae Gen. sp.						36						
Stylo-drilus heringianus	4087	195	2305	2489	432	1042	288	1065	696	278	2817	108
Stylo-drilus sp.		32			106	375				69		
Erpobdellidae												
Erpobdellidae Gen. sp.	52			125			25		527			

Tab. 15 (Fortsetzung)

Gruppe Art	Ethanol 1		Ethanol 2					Gewebe			Mix	
	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Malacostraca												
Gammarus cf. fossarum	1579		1263	4920		7	154	1953	6992		85	4811
Gammarus fossarum	147			1511				353	1647			25
Gammarus sp.				26								14
Arachnida												
Aturidae Gen. sp.												17
Atractides nodipalpis						5		55				
Hygrobatas fluviatilis								60				
Arachnida Gen. sp.			40									
Ephemeroptera												
Baetidae Gen. sp.	63			718		4		670	87	312		170
Baetis fuscatus	3884	187	557	4743	266	244		4676	5747	1491	2755	154
Baetis liebenauae			270					1437				
Baetis lutheri	3040	111	1141	1747	155	36	117	2637	2349	770		583
Baetis muticus		249	275		153			1422		762		
Baetis niger		16								109		
Baetis rhodani	8093	3996	17713	7757	5362	257	2680	62252	19754	35592	2754	31791
Baetis scambus	333	4137	97661	425	6745	28	548	10040	706	35111		10888
Baetis sp.	35	1150	6736	586	1676	28	196	2604	320	8650		386
Baetis vardarensis								55				
Baetis vernus	39		2531	428				8303	737			
Caenis beskidensis								21				
Ecdyonurus insignis	30189	935	4562	49309	422	1276	30	14353	45697	2652	806	266
Ecdyonurus macani	2589	47	945	2964	183	128	46	16332	1807	781	6372	1231
Ecdyonurus sp.				45								
Ecdyonurus torrentis	239			469				162	760	33		5851
Ecdyonurus venosus		139			84			50		120		
Epeorus assimilis	112	10901		125	6970	60	82	599	433	22603		230
Epeorus sylvicola	5117	31918		2645	34270	183	350	569	3184	80190	85	189
Ephemera danica			287					4	294	319		50
Ephemerella ignita	317	2030	401	1246	2425	589	411	6505	2700	20760	31025	7422
Ephemerella mucronata								3				77
Ephemerella notata						8						
Habroleptoides confusa		43						80				614
Habrophlebia lauta								11				15
Heptagenia sulphurea						23						
Heptageniidae Gen. sp.												16
Oligoneuriella rhenana		11								370		

Tab. 15 (Fortsetzung)

Gruppe Art	Ethanol 1		Ethanol 2					Gewebe			Mix	
	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Paraleptophlebia submarginata	148							54		39		
Procloeon sp.								83				
Rhithrogena beskidensis	17			1415			12	743	679	315		41
Rhithrogena gratianopolitana		31										
Rhithrogena sp. 3 LV					10	7	158					5584
Serratella ignita	158	1268	576	513	1443	406	158	9258	5399	20284	317	5179
Torleya major	120			107			20	1898	323	160		701
Plecoptera												
Dinocras cephalotes		990			482					8555	409	
Isoperla sp.						9						
Leuctra digitata	17			159				130	33			
Leuctra fusca	530	76	1066	2235	229	37	19	1898	1518	357		
Leuctra hippopus												23
Perla abdominalis	50		1112	107				15254	876			
Perla marginata	2190	1202	448	5082	1502	25		773	13840	15060		
Perla sp.	64	16		309	51				153	194		
Perlidae Gen. sp.				101				272	38	67		
Perlodes microcephalus		57			31			281		482	2050	
Perlodes sp.		23			14	12	37			391	247	
Perlodidae Gen. sp.			88								97	
Protonemura meyeri		98			179	7		321		1217		230
Protonemura nitida					11					672		
Protonemura praecox		22										
Odonata												
Calopteryx virgo								215		187		
Ophiogomphus cecilia								43				
Trichoptera												
Agapetus ochripes		15				38				931	1715	
Allogamus auricollis							147					
Athripsodes albifrons								157		135		
Beraea maura								112				
Brachycentrus maculatus	73	423		88	185	268		273	3267	16633	60200	
Ceraclaea dissimilis								59				
Cheumatopsyche lepida	1601		723	1236		498		6348	10915	44	5438	
Glossosoma boltoni		61			27	57				5696	426	
Halesus tessellatus		293			2184	136		165	439	652		

Tab. 15 (Fortsetzung)

Gruppe Art	Ethanol 1		Ethanol 2					Gewebe			Mix	
	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Hydropsyche botosaneanui			191	138		7	78	331	251	112		619
Hydropsyche cf. bulbifera	243							3271	2215			
Hydropsyche incognita	40		312	42		527	4	6689	26428	9043	22088	26
Hydropsyche instabilis							14					892
Hydropsyche pellucidula			3349			11	100	27015	84	71		3916
Hydropsyche saxonica								496				
Hydropsyche siltalai	28		3176			119	204	67395	18219	1083	699	4553
Hydroptila forcipata	111			23				932	478			
Hydroptila sparsa								55				
Lepidostoma basale										123		
Micrasema longulum										290		
Micrasema minimum		13								574	739	
Micrasema setiferum	63			392		12		268	911	239	4773	
Odontocerum albicorne										123		
Oecetis testacea								95				
Philopotamus montanus										228		
Polycentropus flavomaculatus	19			37		10	12	65	66			
Polycentropus irroratus								85				
Potamophylax cingulatus								76				
Potamophylax latipennis								397				4592
Potamophylax luctuosus					20					260		
Potamophylax sp.												276
Psychomyia pusilla	24					45			39			
Rhyacophila dorsalis	1373	84	2374	1057	151	202	224	6903	4629	3098	2287	194
Rhyacophila tristis										102		
Sericostoma flavicorne					16			82		10746		
Sericostoma personatum										332		
Silo piceus			162	88	9	22		373	236	260	394	
Coleoptera												
Elmis aenea								410	71	400	118	48
Elmis maugetii	404	46	236	158	17	52	29	1640	442	604	822	255
Elmis rioloides	155	289		49	136	186	29	2643	793	7207	3925	370
Elmis sp.											31	
Esolus parallelepipedus	166	35		186	22	26	5	3328	1330	920	2502	376
Gyrinidae Gen. sp.									53		939	
Hydraena dentipes										144		
Hydraena gracilis								103		70		28
Hydrocyphon deflexicollis					9							
Limnius opacus		34			64	21		1368	430	3395	521	
Limnius perrisi							9			145		
Limnius volckmari								625	233	152	1146	215

Tab. 15 (Fortsetzung)

Gruppe Art	Ethanol 1		Ethanol 2					Gewebe			Mix	
	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Ochthebius metallescens								196				
Orectochilus sp.				135				76	263	53	232	
Orectochilus villosus	63	31	1127	1205	256	95	12	2320	3760	1430	8145	78
Oulimnius tuberculatus								578		39		
Riolus subviolaceus									193			
Diptera												
Athericidae												
Atherix ibis								637		1767		
Atherix marginata							16					72
Blephariceridae												
Liponeura brevisrostris		28			45					820		
Liponeura cordata					13					114		
Cecidomyiidae												
Cecidomyiidae Gen. sp.			341									
Ceratopogonidae												
Ceratopogonidae Gen. sp.									23	82		19
Chironomidae												
Ablabesmyia sp.									33			
Chironomidae Gen. sp.	4298	599	343	1401	236	257	46	127	6743	6306	4123	311
Cladotanytarsus sp.	688		417	380		22			149			
Conchapelopia hittmairorum						146				104		
Corynoneura sp. 14ES		172			75	64	24					94
Corynoneura sp. 4ES												12
Cricotopus bicinctus	66			40				46	48			
Cricotopus cf. curtus		43								98	232	
Cricotopus rufiventris	137			34								
Cricotopus sp.	6894	87	80	3471	84			76	3016	1289		
Cricotopus sp. XJB	330			133					272			
Cricotopus triannulatus	41											
Cricotopus trifascia	3144		560	3170			29	946	3268			23
Eukiefferiella sp.	77			25		22		107	33		573	
Microtendipes pedellus									42			
Nanocladius rectinervis						9						
Nilotanypus dubius	264					18	14					
Orthocladus oblidens	52			49					68		119	
Orthocladus rubicundus	357	25		140	17	171			1349	1995	100	
Orthocladus sp. 15TE	49			37					27			

Tab. 15 (Fortsetzung)

Gruppe Art	Ethanol 1		Ethanol 2					Gewebe			Mix	
	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Paracricotopus niger	107								52			
Paracricotopus sp.	86	248		59	128	40			85	506	480	
Parametricnemus sp.	173			177		13	32	84	32			298
Parametricnemus stylatus	275			566			6		84			
Paratendipes albimanus						26						
Phaenopsectra sp.							545					959
Polypedilum convictum	2221	81		1911	45	129	137	433	971	69	458	1079
Polypedilum sp.	34								65	83		40
Potthastia sp.		29			11							
Rheocricotopus chalybeatus		19	923			52		109				
Rheotanytarsus curtistylus	36											
Rheotanytarsus distinctissimus	54	412	537	40	264	45	20			1326	2125	
Rheotanytarsus ringei		30			18	129		621			381	
Rheotanytarsus sp.	23										92	
Saetheria tylus	83			36					51			
Tanytarsus ejuncidus	286			200				68				
Tanytarsus heusdensis	73										24	
Thienemanniella sp.	296		789	131					57			
Tvetenia calvescens	16			23	11	25	9	213	32		74	
Tvetenia sp.		30			16					51		40
Virgatanytarsus arduennensis	2263		245	314		59		467	240		341	
Empididae												
Hemerodromia adulatoria								147				
Wiedemannia bistigma											23	
Wiedemannia lamellata								52	203	98	91	
Ephydriidae												
Hydrellia maura								294				
Limoniidae												
Antocha vitripennis		71			111	22			1158	1071	1208	
Eloeophila sp.								105		125		
Muscidae												
Limnophora sp.								126				
Pediciidae												
Dicranota robusta				28				347	402	52		
Psychodidae												
Pericoma blandula									50			

Tab. 15 (Fortsetzung)

Gruppe Art	Ethanol 1		Ethanol 2					Gewebe			Mix	
	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle	Feldaist uh Flanitz	Feldaist Kriehmühle	Waldaist oh Reichenstein	Waldaist uh Hohensteg	Kettenbach Süßmühle
Sciaridae												
Corynoptera cursor								245				
Hyperlasion wasmanni						21						
Simuliidae												
Simulium equinum	20		1496	56				5320	884			
Simulium lineatum								431				
Simulium ornatum							44	353				5893
Simulium ornatum s.l.							29	1503				122
Simulium petricolum								95				
Simulium reptans	84	124	144		64	16		4258	414	7386	1456	
Simulium sp.	238			104				41	3397	242		
Simulium velutinum			145				6	508				
Tipulidae												
Tipula sp. XJB	50			297					936			

Tab. 16: Zuordnung der DNA-basierten Arten zu den vergleichbaren morphologisch bestimmten Taxa für die Berechnung der Dominanzidentitäten. Grau hinterlegt: verschiedene OTU's bzw. DANN-basierte Arten zu einem höheren Taxon zusammengefasst.

"Art" DNA	"Art" Morphologie	"Art" DNA	"Art" Morphologie
Porifera			
Ephydatia fluviatilis			
Cnidaria			
Craspedacusta sowerbyi			
Platyhelminthes			
Stenostomidae Gen. sp.	Turbellaria Gen. sp.		
Turbellaria Gen. sp.	Turbellaria Gen. sp.		
Annelida			
Enchytraeidae			
Cognettia sphagnetorum B SM2014			
Enchytraeidaegen cf. sp.			
Fridericia perrieri			
Propappidae Gen. sp.			
Lumbricidae			
Eiseniella tetraedra	Eiseniella tetraedra		
Lumbricidae Gen. sp.	Lumbricidae Gen. sp.		
Naididae			
Aulodrilus pluriseta	Aulodrilus pluriseta		
Naididae Gen. sp.			
Limnodrilus hoffmeisteri	Limnodrilus hoffmeisteri		
Nais alpina	Nais alpina		
Nais elinguis	Nais sp.		
Nais sp.	Nais sp.		
Nais variabilis	Nais sp.		
Ophidonais serpentina			
Potamothrix bedoti			
Pristina aequiseta			
Pristina osborni			
Pristina sp.			
Rhyacodrilus falciformis			
Slavina appendiculata			
Tubifex ignotus	Tubifex ignotus		
Tubifex tubifex	Tubifex tubifex		
Lumbriculidae			
Lumbriculidae Gen. sp.	Lumbriculidae Gen. sp.		
Stylodrilus heringianus	Stylodrilus heringianus		
Stylodrilus sp.	Lumbriculidae Gen. sp.		
Erpobdellidae			
Erpobdellidae Gen. sp.	Dina punctata		
Malacostraca			
Gammarus cf. fossarum	Gammarus fossarum		
Gammarus fossarum	Gammarus fossarum		
Gammarus sp.	Gammarus fossarum		
Arachnida			
Aturidae Gen. sp.			
Atractides nodipalpis	Atractides sp.		
Hygrobates fluviatilis			
Arachnida Gen. sp.			
Ephemeroptera			
Baetidae Gen. sp.			
Baetis fuscatus	Baetis fuscatus/scambus		
Baetis liebenauae	Baetis cf. liebenauae		
Baetis lutheri	Baetis lutheri		
Baetis muticus	Baetis muticus		
Baetis niger	Baetis cf. niger		
Baetis rhodani	Baetis rhodani		
Baetis scambus	Baetis fuscatus/scambus		
Baetis sp.	Baetis sp.		
Baetis vardarensis	Baetis sp.		
Baetis vernus	Baetis vernus		
Caenis beskidensis	Caenis beskidensis		
		Ecdyonurus insignis	Ecdyonurus venosus-Gr.
		Ecdyonurus macani	Ecdyonurus venosus-Gr.
		Ecdyonurus sp.	Ecdyonurus venosus-Gr.
		Ecdyonurus torrentis	Ecdyonurus venosus-Gr.
		Ecdyonurus venosus	Ecdyonurus venosus-Gr.
		Epeorus assimilis	Epeorus assimilis
		Epeorus sylvicola	Epeorus assimilis
		Ephemera danica	Ephemera danica
		Ephemerella ignita	Ephemerella ignita
		Ephemerella mucronata	
		Ephemerella notata	
		Habroleptoides confusa	Habroleptoides confusa
		Habrophlebia lauta	
		Heptagenia sulphurea	
		Heptageniidae Gen. sp.	
		Oligoneuriella rhenana	
		Paraleptophlebia submarginata	
		Proclaoon sp.	
		Rhithrogena beskidensis	
		Rhithrogena gratianopolitana	
		Rhithrogena sp. 3 LV	
		Serratella ignita	
		Torleya major	Ephemerella major
		Plecoptera	
		Dinocras cephalotes	Dinocras sp.
		Isoperla sp.	
		Leuctra digitata	Leuctra sp.
		Leuctra fusca	Leuctra sp.
		Leuctra hippopus	Leuctra sp.
		Perla abdominalis	Perla abdominalis/carantana
		Perla marginata	Perla cf. marginata
		Perla sp.	
		Perlidae Gen. sp.	
		Perlodes microcephalus	
		Perlodes sp.	
		Perlodidae Gen. sp.	
		Protonemura meyeri	Protonemura sp.
		Protonemura nitida	Protonemura sp.
		Protonemura praecox	Protonemura sp.
		Odonata	
		Calopteryx virgo	
		Ophiogomphus cecilia	Ophiogomphus cecilia
		Trichoptera	
		Agapetus ochripes	
		Allogamus auricollis	Allogamus auricollis
		Athripsodes albifrons	
		Beraea maura	
		Brachycentrus maculatus	Oligopteryx maculatum
		Ceraclea dissimilis	
		Cheumatopsyche lepida	Cheumatopsyche lepida
		Glossosoma boltoni	Glossosoma boltoni
		Halesus tessellatus	Halesus sp.
		Hydropsyche botosaneanui	
		Hydropsyche cf. bulbifera	Hydropsyche bulbifera
		Hydropsyche incognita	Hydropsyche incognita/pellucidula
		Hydropsyche instabilis	
		Hydropsyche pellucidula	Hydropsyche incognita/pellucidula
		Hydropsyche saxonica	Hydropsyche saxonica
		Hydropsyche siltalai	Hydropsyche siltalai
		Hydroptila forcipata	Hydroptila sp.
		Hydroptila sparsa	Hydroptila sp.

Tab. 16 (Fortsetzung)

"Art" DNA	"Art" Morphologie	"Art" DNA	"Art" Morphologie
Lepidostoma basale		Eukiefferiella sp.	
Micrasema longulum	Micrasema longulum	Microtendipes pedellus	
Micrasema minimum	Micrasema minimum	Nanocladius rectinervis	
Micrasema setiferum	Micrasema setiferum	Nilotanytus dubius	
Odontocerum albicorne	Odontocerum albicorne	Orthocladius oblidens	
Oecetis testacea		Orthocladius rubicundus	
Philopotamus montanus	Philopotamus montanus	Orthocladius sp. 15TE	
Polycentropus flavomaculatus	Polycentropus flavomaculatus	Paracricotopus niger	Paracricotopus niger
Polycentropus irroratus	Polycentropus cf. irroratus	Paracricotopus sp.	Paracricotopus niger
Potamophylax cingulatus	Potamophylax sp.	Parametricnemus sp.	Parametricnemus stylatus
Potamophylax latipennis	Potamophylax sp.	Parametricnemus stylatus	Parametricnemus stylatus
Potamophylax luctuosus	Potamophylax sp.	Paratendipes albianus	
Potamophylax sp.	Potamophylax sp.	Phaenopsectra sp.	Phaenopsectra sp.
Psychomyia pusilla		Polypedilum convictum	Polypedilum (Uresipedilum) convictum
Rhyacophila dorsalis	Rhyacophila dorsalis	Polypedilum sp.	
Rhyacophila tristis		Potthastia sp.	
Sericostoma flavicorne	Sericostoma sp.	Rheocricotopus chalybeatus	Rheocricotopus (Psilocricotopus) chalybeatus
Sericostoma personatum	Sericostoma sp.	Rheotanytarsus curtistylus	Rheotanytarsus sp.
Silo piceus	Silo piceus	Rheotanytarsus distinctissimus	Rheotanytarsus sp.
Coleoptera		Rheotanytarsus ringei	Rheotanytarsus sp.
Elmis aenea	Elmis sp.	Rheotanytarsus sp.	Rheotanytarsus sp.
Elmis maugetii	Elmis maugetii	Saetheria tylus	
Elmis rioloides	Elmis rioloides	Tanytarsus ejuncidus	Tanytarsus sp.
Elmis sp.	Elmis sp.	Tanytarsus heusdensis	Tanytarsus sp.
Esolus parallelepipedus	Esolus parallelepipedus	Thienemanniella sp.	
Gyrinidae Gen. sp.		Tvetenia calvescens	Tvetenia calvescens
Hydraena dentipes	Hydraena dentipes	Tvetenia sp.	Tvetenia discoloripes-Gr.
Hydraena gracilis	Hydraena gracilis	Virgatanytarsus arduennensis	Virgatanytarsus sp.
Hydrocyphon deflexicollis		Empididae	
Limnius opacus	Limnius opacus	Hemerodromia adulatoria	
Limnius perrisi	Limnius perrisi	Wiedemannia bistigma	
Limnius volckmari	Limnius volckmari	Wiedemannia lamellata	
Ochthebius metallescens		Ephydriidae	
Orectochilus sp.	Orectochilus villosus	Hydrellia maura	
Orectochilus villosus	Orectochilus villosus	Limoniidae	
Oulimnius tuberculatus	Oulimnius tuberculatus	Antocha vitripennis	Antocha sp.
Riolus subviolaceus		Eloeophila sp.	
Diptera		Muscidae	
Athericidae		Limnophora sp.	Limnophora sp.
Atherix ibis	Atherix ibis	Pediciidae	
Atherix marginata	Ibisia marginata	Dicranota robusta	Dicranota sp.
Blephariceridae		Psychodidae	
Liponeura brevisrostris	Liponeura sp.	Pericoma blandula	
Liponeura cordata	Liponeura sp.	Sciaridae	
Cecidomyiidae		Corynoptera cursor	
Cecidomyiidae Gen. sp.		Hyperlasion wasmanni	
Ceratopogonidae		Simuliidae	
Ceratopogonidae Gen. sp.	Ceratopogonidae Gen. sp.	Simulium equinum	
Chironomidae		Simulium lineatum	Simulium (Wilhelmia) lineatum
Ablabesmyia sp.		Simulium ornatum	Simulium (Simulium) ornatum
Chironomidae Gen. sp.		Simulium ornatum s.l.	Simulium (Simulium) ornatum
Cladotanytarsus sp.	Cladotanytarsus mancus-Gr.	Simulium petricolum	
Conchapelopia hittmairorum		Simulium reptans	Simulium (Simulium) reptans
Corynoneura sp. 14ES		Simulium sp.	Simulium (Simulium) variegatum-Gr.
Corynoneura sp. 4ES		Simulium velutinum	
Cricotopus bicinctus		Tipulidae	
Cricotopus cf. curtus		Tipula sp. XJB	Tipulidae Gen. sp.
Cricotopus rufiventris	Paratrachocladius rufiventris		
Cricotopus sp.			
Cricotopus sp. XJB			
Cricotopus triannulatus			
Cricotopus trifascia			