

SENCKENBERG

world of biodiversity

Abschlussbericht des Förderprojekts

„Nachwuchsgruppe Molekulare Taxonomie mariner Organismen“

(FKZ 03F0499A)

am Deutschen Zentrum für marine Biodiversitätsforschung

des Forschungsinstituts Senckenberg am Meer

Antragsteller: Prof. Dr. Pedro Martínez Arbizu

Projektlaufzeit: 01.04.2010 – 31.03.2013

Datum: Wilhelmshaven, Oktober 2013

I. Kurzdarstellung

1. Aufgabenstellung

In den letzten 250 Jahren wurden bislang über 226.000 Arten der verschiedensten Tiergruppen aus den Weltmeeren identifiziert und beschrieben. Viele Arten spielen eine besondere Rolle im marinen Nahrungsnetz, entweder als Indikatoren im Ökosystem, als Primärproduzenten, als Parasiten oder Pathogene. Die korrekte Bestimmung der unterschiedlichen Arten unterliegt in der Regel Spezialisten, den so genannten Taxonomen. In vielen Fällen ist diese Arbeit schwierig und zeitaufwendig, da die Unterscheidung von Arten häufig nur anhand mikroskopisch kleiner morphologischer Details erfolgt und oft eine jahrelange Erfahrung voraussetzt. Noch schwieriger ist die Bestimmung von Jungtieren, Larven, Eiern oder Gewebestücken. Eine genaue Identifizierung der Arten ist aber unabdingbar, zum Beispiel zur Beurteilung der Schutzwürdigkeit eines Habitats oder Gebietes und der Bewertung eines Biotops, da sich als Folge von Klimawandel und menschlichen Einflüssen Veränderungen in der Artenzusammensetzung beobachten lassen. Weiterhin können durch die Bestimmung von Larven und Eiern Laichgründe und Laichzeit von Fischen erkannt und Fangquoten berechnet werden. Auch in der Lebensmittelkontrolle ist eine genaue Determinierung der vorliegenden Arten von hoher Bedeutung — welcher Fisch wurde im Fischfilet verarbeitet — und dient somit letztlich auch dem Verbraucherschutz. Neue Methoden werden benötigt, die eine schnelle und effiziente Identifizierung mariner Arten erlauben und unabhängig von der Gestalt sowohl an erwachsenen Individuen als auch an Larven oder Gewebeproben mit gleicher Effizienz angewandt werden können.

Das Ziel des Förderprojekts „Nachwuchsgruppe Molekulare Taxonomie mariner Organismen“ am Deutschen Zentrum für Marine Biodiversitätsforschung/Senckenberg am Meer in Wilhelmshaven war die Evaluierung und Entwicklung verschiedener molekularbiologischer Methoden zur Identifizierung und Charakterisierung der marinen Fauna der Nordsee. Die so gewonnenen Erkenntnisse sollen als Grundlage für die Entwicklung automatisierter Verfahren zur schnellen und sicheren Artidentifizierung dienen. In diesem Zusammenhang wurden verschiedene molekulare Methoden hinsichtlich ihrer Eignung zur Determinierung von Arten getestet. Das Spektrum der verwendeten Methoden umfasste a) den Aufbau einer Belegsammlung und DNA-Barcodebibliothek (Hebert et al. 2003a, 2003b) unter Nutzung der „Barcode of Life Database“ (Ratnasingham & Hebert 2007), b) *in-situ*-Hybridisierungen zur spezifischen Artidentifizierung (Amann et al. 1995), c) die Verwendung von „next-generation sequencing“ (ngs)-Technologien (z. B. Creer et al. 2010, Hajibabaei et al. 2011, Pawlowski et al. 2011, Westram et al. 2011, Taberlet et al. 2012) sowie d) die Analyse von Proteomspektren (MALDI-TOF) (Karas et al. 1985).

2. Voraussetzungen, unter denen das Projekt durchgeführt wurde

Am Forschungsinstitut Senckenberg in Wilhelmshaven stand in der Abteilung DZMB ein modernes Molekularlabor zur Verfügung, in dem sämtliche Arbeitsschritte von der DNA-Extraktion bis zur Aufreinigung von PCR-Produkten durchgeführt werden konnten. Weiterhin standen verschiedene Büroräume, ein weiteres Chemielabor, ein Kühltruhenraum sowie verschiedene Aquarienräume zur Verfügung. Zur Optimierung der geplanten Arbeitsprozesse wurden die Laboratorien mit den entsprechenden Geräten aufgerüstet (Binokular mit Kamera, automatische Mehrkanalpipetten, Plattenzentrifuge, Thermoschüttler, Thermozykler). Im Rahmen der Probenahme auf der Nordsee konnte für mindestens vier Wochen pro Jahr der Forschungskutter Senckenberg genutzt werden. Alle Fanggeräte für die Beprobung von planktischen, benthischen und demersalen Organismen waren vorhanden und standen der Nachwuchsgruppe zur Verfügung. Die taxonomische Expertise der DZMB-Mitarbeiter, speziell für Organismen der Meiofauna, als auch die langjährige Erfahrung der Arbeitsgruppe von PD Dr. Ingrid Kröncke (Meeresbiologie) im Rahmen der Beprobung und Analyse der benthischen und planktischen Gemeinschaften der Nordsee garantieren eine einwandfreie morphologische Identifizierung der meisten Taxa.

Das Forschungsinstitut Senckenberg ist Mitglied des „Consortium for the Barcode of Life“ und Leiter eines Projekts des „Census of Marine Life“. Es bestehen enge Kooperationen mit verschiedenen ausländischen Instituten und Museen (Smithsonian Institution in Washington, Natural History Museum in London, IFREMER in Brest, Hawaii University u. a.). Weiterhin liegen Kooperationsverträge mit der Universität Oldenburg vor, wobei insbesondere eine enge Kooperation mit den Arbeitsgruppen des Instituts für Biologie und Umweltwissenschaften angestrebt wird. Die Universität plant in diesem Zusammenhang die Anschaffung einer leistungsfähigen ngs-Plattform.

Der Kooperationspartner im Bereich der *in-situ*-Hybridisierungen, das Bremer Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie, ist eines der weltweit führenden Institute in der Anwendung dieser Technologie. Bei der Adaption der MALDI-TOF-Technologie kann auf die jahrelange Erfahrung der mikrobiologischen Arbeitsgruppe um Dr. Gunnar Gerdts und Dr. Antje Wichels der Biologischen Anstalt Helgoland des Alfred-Wegener Instituts zurückgegriffen werden.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die Stelle des Leiters der Nachwuchsgruppe wurde im September 2009 ausgeschrieben, die Bewerbungsfrist endete am 31. Oktober 2009. Bewerbungsgespräche fanden am 18.12.2009 statt. Die Bewerbungsgespräche für die je zwei Postdoktoranden und Doktoranden fanden am 12.03.2010, die Gespräche für die Technische Assistentin am 15.04.2010 statt. Der Leiter der Nachwuchsgruppe nahm an allen Gesprächen teil.

Zur Umsetzung der gesetzten Ziele wurde ein Zeitplan formuliert, der in Tabelle 1 wiedergegeben wird. Der Projektbeginn erfolgte am 01.04.2010. Eine Evaluierung des Projektes fand am 25.07.2012 durch Vertreter des BMBFs, des Landes Niedersachsen sowie externer Gutachter statt.

Tabelle 1: Zeitplan AG Molekulare Taxonomie mariner Organismen.

	2010		2011				2012				2013		
	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III
AF1 Probenmanagement													
AF2 Barcoding der Metazoa der Nordsee (mit geplanter Anzahl der erfassten Arten)			75			200		300				400	
AF3 <i>In-situ</i> -Hybridisierung													
AF4 ngs-Analytik													
AF5 MALDI-TOF Analysen													
Auswertung/Publikationen													
Kolloquium/Evaluierung													

Im Laufe des Berichtszeitraumes mussten die beiden Doktorandenstellen als auch die Technische Fachkraft neu besetzt werden. Frau Lucinea Albanio Pivetta (Doktorandin) schied am 31.08.2010 aus. Eine neue Stellenausschreibung erfolgte nicht, da nach Rücksprache Frau Inga Mohrbeck, die bereits im 15.04.2010 zusammen mit Frau Pivetta zum Vorstellungsgespräch eingeladen war, die ausgeschriebene Stelle angeboten wurde und sie die selbige annahm. Frau Sandra Ditzler (Doktorandin) verließ die Arbeitsgruppe am 31.10.2011. Die vakante Doktorandenstelle wurde im Dezember 2010 neu ausgeschrieben, die Bewerbungsfrist endete am 16.01.2011. Die Bewerbungsgespräche fanden am 26.01.2010 statt. Die ausgeschriebene Stelle wurde mit Herrn Thorben Hofmann besetzt. Frau Valeska Borges (TA) verließ die Gruppe am 31.01.2013 und wurde durch Frau Corinna Girschik ersetzt, die zu diesem Zeitraum ein Praktikum in der AG absolvierte.

Die Nachwuchsforschergruppe setzte sich somit im Förderzeitraum personell wie folgt zusammen:

Dr. Michael J. Raupach (AG-Leitung):	01.04.2010 – 31.03.2013
Dr. Silke Laakmann (Postdoc):	01.05.2010 – 30.04.2013
Dr. Thomas Knebelsberger (Postdoc):	01.06.2010 – 31.05.2013
Dipl. Biolng. Sandra Ditzler (Doktorandin):	01.04.2010 – 31.10.2010
Dipl. Biol. Thorben Hofmann (Doktorand):	01.03.2011 – 30.04.2013
Dipl. Biol. Lucinea Pivetta (Doktorandin):	15.05.2010 – 31.08.2010
Dipl. Biol. Inga Mohrbeck (Doktorandin):	01.09.2010 – 30.04.2013
Valeska Borges (TA):	01.09.2010 – 31.01.2013
Corinna Girschik (TA) :	01.05.2013 – 30.09.2013

Die Planung und Durchführung des Projektes verteilte sich neben dem Probenmanagement auf vier Arbeitsfelder, die in Abbildung 1 dargestellt sind.

Aufbau und Arbeitsfelder der AG



Abbildung 1: Aufbau und Arbeitsfelder der AG „Molekulare Taxonomie mariner Organismen“ am DZMB.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

4.1. DNA-Barcoding

Die Verwendung von mitochondrialen COI-DNA-Barcodes stellt seit geraumer Zeit eine etablierte Methode zur molekularen Artidentifizierung für viele Tiergruppen dar (Hebert et al. 2003a, 2003b). Die Vorteile der Verwendung mitochondrialer DNA für molekular-taxonomische Zwecke sind vielfältig. So werden abgesehen von wenigen Ausnahmen Mitochondrien maternal vererbt; entsprechend unterliegt die mitochondriale DNA keiner Rekombination. Mitochondriale DNA zeichnet sich weiterhin in vielen Abschnitten durch eine allgemein hohe Mutationsrate aus. Darüber hinaus erlauben im Falle des verwendeten COI Fragments hoch konservierte Regionen, die den Barcode-Abschnitt flankieren, die Verwendung von universellen Primern für eine Vielzahl von Taxa. Von entscheidender Bedeutung ist die Existenz einer so genannten Barcoding Lücke (barcoding gap): die innerartliche (intraspezifische) Variabilität muss einen geringeren Wert einnehmen als die zwischenartliche (interspezifische) Variabilität. Zahlreiche Publikationen (z. B. Costa et al. 2007, Radulovici et al. 2009, Holmes et al. 2009, Bucklin et al. 2011, Hausmann et al. 2011, Hawlitschek et al. 2011) bestätigen die Effizienz dieser Methodik. Verschiedene internationale Großprojekte streben eine Erfassung sämtlicher Arten mit Hilfe von Barcodes an (www.ibolproject.org), welche in öffentlich zugänglichen Referenzdatenbanken hinterlegt sind (www.boldsystems.org). In Deutschland wird derzeit eine planmäßige Erfassung durch das „German Barcode of Life“-Projekt (www.bolgermany.de) und der „Barcoding Fauna Bavarica“-Initiative in Bayern (www.faanabavarica.de) betrieben, um eine Verzahnung zwischen Taxonomie, Faunistik, Ökologie und angewandten Aspekten herzustellen.

4.2. *In-situ*-Hybridisierung mittels 18S rRNA spezifischer Sonden

In-situ-Hybridisierungstechniken ermöglichen einen sehr spezifischen Nachweis von RNAs oder DNAs. Hierzu wird eine künstlich hergestellte Sonde aus Nukleinsäuren eingesetzt, die sich über komplementäre Basenpaarungen an die nachzuweisende Zielsequenz anlagert. Während diese Methodik seit vielen Jahren in der Mikrobiologie zur Artidentifizierung von Mikroorganismen Anwendung findet, sind vergleichbare Arbeiten für die Metazoa bislang jedoch rar (Le-Goff-Vitry et al. 2007, Pradillon et al. 2007). Im Rahmen des Projektes wurden zwei verschiedene Ansätze der *in-situ*-Hybridisierung favorisiert. In einem Fall handelte es sich um eine *in-situ*-Hybridisierung (ISH) mit Sonden, die mit dem Enzym HRP (horse raddish peroxidase) markiert sind. Bei erfolgreicher Hybridisierung oxidiert das HRP-Enzym den zugegebenen Färbepuffer TMB (Tetramethylsilan) und erzeugt einen Farbumschwung von farblos zu blau. Diese Methode wurde bereits erfolgreich zur Identifizierung von marinen Molluskenlarven angewendet (Le-Goff-Vitry et al. 2007, Pradillon et al. 2007).

Ein großer Vorteil dieser Hybridisierungstechnik liegt darin, dass die Färbung mit bloßem Auge erkennbar ist und keine aufwendigen Apparaturen, wie zum Beispiel Fluoreszenzmikroskope, nötig sind. Bei der zweiten Hybridisierungsmethode, der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH), werden Sonden verwendet, die mit einem fluoreszierenden Molekül markiert sind. Bei erfolgreicher Hybridisierung emittiert das Molekül nach entsprechender Anregung Licht einer definierten Wellenlänge, welches mit einem Fluoreszenzmikroskop detektiert wird. Ein Vorteil der FISH- gegenüber der ISH-Methode ist, dass mehrere Sonden parallel verwendet werden können.

4.3. „next generation sequencing“-Technologien

Die so genannten „next generation sequencing“-Methoden (ngs) repräsentieren einen revolutionären und höchst dynamischen Zweig der modernen Molekularbiologie (Mardis 2008, Tucker et al. 2009, Glenn 2011). Die Anwendungsbereiche für parallele Massensequenzierungen spannen sich mittlerweile von Transkriptomanalysen (u. a. Roeding et al. 2009, Gayral et al. 2011, Ma et al. 2012) bis hin zum Studium von Gemeinschaftsproben (z. B. Creer et al. 2010, Hajibabaei et al. 2011, Pawlowski et al. 2011, Westram et al. 2011, Taberlet et al. 2012). Auch wenn die aktuell vorliegenden ngs-Technologien noch keine quantitativen Aussagen über die Zusammensetzung einer Probe erlauben, sind dagegen qualitative Informationen über das analysierte Taxaspektrum möglich. Als Marker finden bislang überwiegend kurze hypervariable Abschnitte nuklearer rDNAs Verwendung (z. B. Creer et al. 2010).

4.4. Proteomspektren (MALDI TOF)

Eine weitere Methode zur Artidentifizierung im Hochdurchsatz stellt die so genannte „Matrix-Assisted Desorption/Ionisation Time-of-Flight“ Massenspektrometrie (MALDI-TOF MS) auf Basis von Proteinmassen dar. Die zu untersuchende Probe wird dazu mit einer Matrix (Zimtsäurederivat) auf einem metallischen Träger ko-kristallisiert. Durch Laserbeschuss verdampft die Matrix explosionsartig, die zu untersuchenden, nun ionisierten Proteine werden mitgerissen und in einem elektrischen Feld beschleunigt. Ein Detektor wandelt die ankommenden Signale in ein elektrisches Signal um, welche in Summe einen Proteomfingerprint der analysierten Probe darstellen. Ursprünglich für Prokaryonten entwickelt und seit Jahren in der Medizin und Mikrobiologie etabliert, findet MALDI-TOF in diesen Fachbereichen eine routinemäßige Anwendung in taxonomischen Studien (z.B. Kroppenstedt et al. 2005), der Artdeterminierung (Freiwald & Sauer 2009) sowie der Identifizierung von Biomarkern (z.B. Wynne et al. 2009). Wie auch bei der *in-situ*-Hybridisierung liegen für diese Methodik aktuell nur wenigen Fallbeispiele für Taxa der

Metazoa vor (Lopez et al. 2005, Perera et al. 2005a, 2005b, Mazzeo et al. 2008, Feltens et al. 2010, Kaufmann et al. 2011, Riccardi et al. 2012, Volta et al. 2012).

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Im Rahmen des Projektes wurden verschiedene nationale als auch internationale Kooperationen bzw. Netzwerkaktivitäten initiiert.

5.1. Nationale Kooperationspartner

- Rudolf Amann, Nicole Dubilier, Frank-Oliver Glöckner, Bernhard Fuchs, (Max-Planck-Institut für marine Mikrobiologie, Bremen)
Bereich der Kooperation: *in situ*-Hybridisierung, Datenanalytik
- Matthias Kloppmann (Johann Heinrich von Thünen-Institut, Hamburg)
Bereich der Kooperation: Taxonomie der Fische, Materialbereitstellung
- Ralf Thiel (Universität Hamburg)
Bereich der Kooperation: Taxonomie der Fische, Materialbereitstellung
- Jan Beermann, Maarten Boersma (Biologische Anstalt Helgoland, Alfred-Wegener Institut)
Bereich der Kooperation: Taxonomie der Amphipoda, Zooplanktonanalytik
- Gunnar Gerdts, Antje Wichels (Biologische Anstalt Helgoland, Alfred-Wegener Institut)
Bereich der Kooperation: MALDI-TOF-Analytik
- Olaf Bininda-Emonds, Wilko Ahlrichs (Carl von Ossietzky Universität Oldenburg)
Bereich der Kooperation: Taxonomie der Infauna des Wattenmeeres, Datenauswertung
- Franziska Schade (Wattenmeerstation Sylt, Alfred-Wegener Institut)
Bereich der Kooperation: Materialbereitstellung von Fischparasiten
- Sven Ramdohr (Institut für Fische und Fischerzeugnisse, Cuxhaven)
Bereich der Kooperation: Materialbereitstellung von Fisch- und Säugerparasiten
- Stefan Richter (Allgemeine und Spezielle Zoologie, Universität Rostock)
Bereich der Kooperation: Materialbereitstellung (Crustacea)
- Dirk Brandis (Zoologisches Museum der Christian-Albrechts Universität, Kiel)
Bereich der Kooperation: Materialbereitstellung (Crustacea)

5.2. Internationale Kooperationspartner

- Dirk Steinke (BOLD, Guelph, Kanada)
Bereich der Kooperation: DNA Barcoding
- Filipe Costa (Universidade do Minho, Portugal)
Bereich der Kooperation: DNA Barcoding
- Hilde van Pelt (IMARES/Wageningen University, Niederlande)
Bereich der Kooperation: ngs-Analytik
- Simon Creer (Bangor University, Wales, Vereinigtes Königreich)
Bereich der Kooperation: ngs-Analytik

5.1. Netzwerktätigkeiten/Beitritte

- Beitritt der AG in das „German Barcode of Life“-Projekt (GBOL, www.bolgermany.de) als assoziiertes Mitglied und Vertreter/Knoten der marinen Fauna. Das GBOL-Projekt hat das Ziel die Artenvielfalt aller terrestrischen und limnischen deutschen Tiere, Pilze und Pflanzen anhand ihres genetischen DNA-Barcodes zu erfassen.
- MJR wurde in die Leopoldina-Arbeitsgruppe „Herausforderungen für die taxonomische Forschung im Zeitalter der „-omics“-Forschung“ eingeladen. Eine Arbeitsgruppe von ca. 15 Experten und ausgewählten, zu bestimmten Themen eingeladenen internationalen Sprechern diskutiert in zweitägigen Treffen neu zu erarbeitende Übersichtspapiere und Vorträge aus den Teildisziplinen. Die Arbeitsgruppe beteiligte sich an einem MPG-Symposium zum Thema Biodiversität im März 2012. Ziel ist es, ein Positionspapier zur Zukunft der Taxonomie zu erarbeiten, in dem Empfehlungen für die Forschungspolitik und -förderung erteilt werden. Dieses soll auf einem abschließenden Symposium Vertretern der Zielgruppe und der interessierten Öffentlichkeit erläutert werden.
- MJR trat dem Genomic Standards Consortium (GSC) bei.
- SL ist seit 2012 Mitglied der “Study Group on Integrated Morphological and Molecular Taxonomy (SGIMT)” des ICES (International Council for the Exploration of the Sea), einer international zusammengesetzten Gruppe von morphologisch und molekularbiologisch arbeitenden Taxonomen. Ziel der Gruppe ist die Integration beider Themengebiete, momentan mit einem Fokus auf marines Zooplankton

II. Eingehende Darstellung

1. Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

Das Ziel des Förderprojektes war die Evaluierung und Entwicklung molekularbiologischer Methoden zur Identifizierung und Charakterisierung der marinen Fauna der Deutschen Bucht/Nordsee. Die so gewonnenen Erkenntnisse sollen als Grundlage für die Entwicklung automatisierter Verfahren zur schnellen und sicheren Artidentifizierung dienen. Hierzu wurden verschiedene molekulare Methoden hinsichtlich ihrer Eignung zur Identifizierung von Arten getestet. Die Zuwendungen wurden entsprechend der Zielsetzung im Projektantrag eingesetzt. Im Folgenden sollen am Beispiel der einzelnen Arbeitsfelder (AF) die Verwendung der Zuwendungen dargelegt werden.

- **AF1 Probenmanagement**
Ausbau der Laborinfrastruktur
Optimierung der Arbeitsprozesse
Langfristige Lagerung des Probenmaterials (Belegorganismen, Gewebe, DNA)
- **AF2 Barcoding der Metazoa der Nordsee**
Aufbau einer umfangreichen DNA-Barcode-Sequenzbibliothek der Nordseefauna
Evaluierung der Nützlichkeit von DNA-Barcodes zur Artidentifizierung
- **AF3 Spezifische Artidentifizierung mittels *in-situ*-Hybridisierung**
Adaption und Etablierung von *in-situ*-Hybridisierungsprotokollen zur spezifischen Artidentifizierung bei ausgewählten und kommerziell relevanten Fischarten
Spezifisches Sondenentwicklung für ausgewählte Taxa
- **AF4 Evaluierung von ngs-Technologie zur Artidentifizierung**
Beurteilung der Qualität von ngs-Technologien bei der Analyse von Umweltproben
Evaluierung nuklearer ribosomaler DNA-Fragmente zur Artidentifizierung
- **AF5 Artidentifizierung mittels Proteomspektren (MALDI-TOF)**
Beurteilung der Qualität von Proteomspektren zur Artidentifizierung bei Taxa der Metazoa

1.1. AF1 Probenmanagement

1.1.1. Ausbau der Laborinfrastruktur

Die Schaffung einer geeigneten Laborinfrastruktur konnte entsprechend des anvisierten Zeitplans umgesetzt werden. Es wurden drei Laborräume neu eingerichtet (DNA-Extraktionslabor, PCR-Labor und ein Labor zur Dokumentation der Agarosegele). Ein weiterer umgestalteter Raum wurde zur Probenlagerung genutzt (Abbildung 2). Die zum Teil neu erworbene Ausstattung erlaubt eine Probenbearbeitung im Hochdurchsatzverfahren (96er Maßstab). Dabei wurden die Arbeitsprozesse optimal aufeinander abgestimmt, so dass ein reibungsloser Arbeitsablauf von der Sortierung und Bestimmung der Proben über die komplette Dokumentation bis hin zur erfolgreichen PCR und Sequenzierung gewährleistet ist. Eine physikalische Trennung von Laborprozessen war bei der im Projekt umgesetzten Probenmenge und der organismischen Diversität zur Vermeidung von Kontaminationen zwingend notwendig.

1.1.2. DNA-Extraktionslabor

Im DNA-Extraktionslabor erfolgen die Dokumentation der Proben (Fotos, Vergabe einer internen Kennung) und die DNA-Extraktionen (Entnahme der Gewebeproben). Für die eigentliche Isolierung der Nukleinsäuren verfügt das Labor über drei mit Pipetten und mehreren Kleingeräten (Tischzentrifugen, Vortexer) ausgestattete Arbeitsplätze. Eine Plattenzentrifuge, zwei Thermoschüttler und elektronische Mehrkanalpipetten erlauben neben Einzelextraktionen Extraktionen im Hochdurchsatzverfahren (Abbildung 2).

1.1.3. PCR-Labor

Die weitere Bearbeitung der DNA-Extrakte findet im PCR-Labor statt. Dort stehen vier Arbeitsplätze mit Pipetten und Kleingeräten zur Verfügung. Mehrere Thermocycler, Mehrkanalpipetten und eine Zentrifuge für PCR-Platten erlauben auch hier eine Probenbearbeitung im 96er Maßstab (Abbildung 2). Zur Minimierung des Kontaminationsrisikos wird stets darauf geachtet, dass keine PCR-Produkte oder Geräte, die mit PCR-Produkten kontaminiert sind, in den DNA-Extraktionsraum gelangen.



Abbildung 2: Neu eingerichtete bzw. umgestaltete Laborräume der AG Molekulare Taxonomie mariner Organismen am DZMB. 1: DNA-Extraktionslabor, 2: Dokumentationsraum für Agarosegele, 3: Probenlagerraum, 4: PCR-Labor.

1.1.4. Labor zur Dokumentation von Agarosegelen

Die Qualitätskontrolle der PCR-Produkte mittels Agarosegelelektrophorese findet ebenfalls in einem separaten Laborraum statt. Hier befinden sich die UV-Station mit Kamera und Rechner sowie die Gelkammern (Abbildung 2).

1.1.5. Binokular Arbeitsplätze

Zwei zusätzliche Arbeitsplätze mit Stereomikroskopen erlauben eine ideale Bearbeitung der Zooplanktonproben und anderer kleiner Organismen. Eines der beiden hochwertigen Binokulare ist mit einer Kamera ausgestattet, um auch von den mikroskopisch kleinen Organismen Fotos anfertigen zu können.

1.1.6. *In-situ*-Hybridisierung

Die Methode zur *in-situ*-Hybridisierung (FISH) bei Fischeiern wurde weitestgehend am Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie in Bremen entwickelt. Zu weiteren und umfangreichen Tests der rRNA-Oligonukleotidsonden wurde die Methodik ebenfalls im institutseigenen Histologielabor etabliert.

1.1.7. Optimierung der Arbeitsprozesse

Ein erklärtes Ziel des Projekts war die Gewährleistung einer langfristigen wissenschaftlichen Nutzung von gut dokumentierten, hochwertigen und fachgerecht gelagerten DNA/Gewebe-Proben samt zugehöriger Belege (voucher). Dies ist notwendig, um Ergebnisse zu überprüfen und/oder gegebenenfalls weitere Analysen durchführen zu können. Der zur Bearbeitung der Proben entwickelte Arbeitsablauf ist in Abbildung 3 dargestellt.

Die Einführung eines einheitlichen Systems („MolTax-Nummer“) zur individuellen Kennzeichnung von Belegen, Gewebe- und DNA-Proben hat sich bestens bewährt. Zur Lagerung von Gewebe- und DNA-Proben stehen zwei Gefriertruhen und ein -80°C Tiefkühlschrank zur Verfügung. Die Proben werden zentral von der TA der Arbeitsgruppe verwaltet. Nach Abschluss der projektspezifischen DNA-Analysen werden die DNA-Proben in hochwertige Lagerungsgefäße überführt und im -80°C Tiefkühlschrank gelagert. Aliquots der DNA-Proben werden zusätzlich auf Trehaloseplatten überführt und sollen als Backup in der Senckenberg DNA Bank in Frankfurt eingelagert werden. Die physikalische Trennung gewährleistet eine nachhaltige Sicherung und langfristige Bereitstellung der genetischen Ressourcen für anschließende Projekte und zukünftige Forschergenerationen. Ein zentrales Element der Datenverwaltung ist die Verwendung von Excel-Tabellen der „Barcode of Life“-Initiative, in denen detaillierte Informationen über die vereinzelt Individuen hinterlegt werden (z.B. Koordinaten des Fundortes, taxonomische Informationen etc.).

Probenaufarbeitung: Arbeitsabläufe/Metadatenerfassung

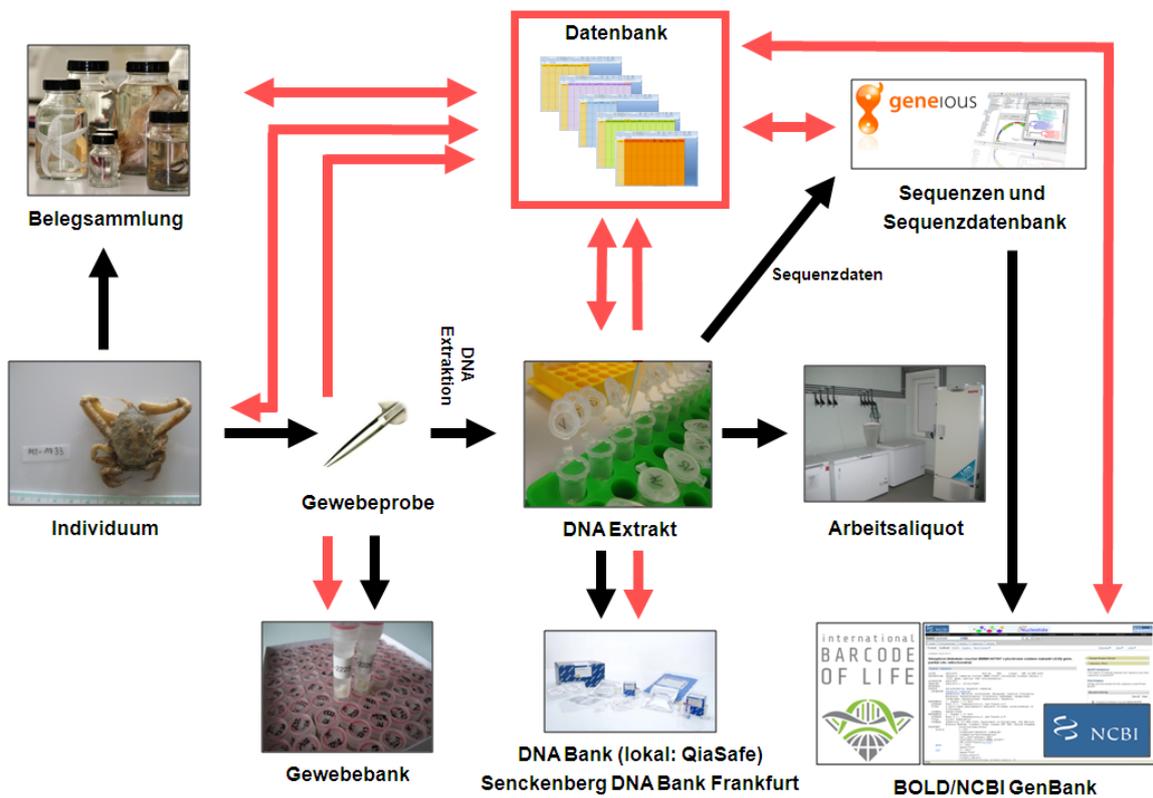


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Abfolge der einzelnen Arbeitsprozesse während des Projektes. Rotmarkierte Pfeile kennzeichnen Informationen, die in einer geplanten Datenbank verwaltet werden sollen.

1.1.8. Vorliegendes Probenmaterial

Im Projektzeitraum konnten im Rahmen verschiedener Ausfahrten (u. a. mit FK Senckenberg, FFS Walther Herwig III, FFS Solea, FS Uthörn) sowie anderer Exkursionen zahlreiche Individuen der unterschiedlichsten Tiergruppen der Nordsee gesammelt werden. Schwerpunkte der Probenahmen waren die Doggerbank, der Englische Kanal, die Deutsche Bucht, verschiedene Ästuarregionen sowie ausgewählte Gebiete der offenen Nordsee im Rahmen des „International Bottom Trawl Survey“ (IBTS) und des „German Small-scale Bottom Trawl Survey“ (GSBTS). Die vorliegenden Proben sind äußerst umfangreich und konnten noch nicht vollständig sortiert werden. Im Rahmen des Projektes wurden bislang von rund 4350 Individuen, welche sich auf geschätzte 618 Arten verteilen, DNA extrahiert (Tabelle 2). Die vorliegende Sammlung ist insofern einmalig, da alle Belegexemplare für molekulare Studien verwendet werden können.

Tabelle 2: Auflistung der bislang vereinzelt und bearbeitet Taxa.

Taxon		Artenzahl	Vereinzelte Individuen	DNA-Extrakte
Vertebrata	Aves	9	26	26
	Mammalia	5	16	16
Annelida	"Polychaeta"	55	180	180
Cnidaria	(ex Anthozoa)	35	280	245
"Crustacea"	Amphipoda	60	600	540
	Cirripedia	9	122	105
	Copepoda	35	250	192
	Decapoda	63	1087	750
	Crustacea <i>varia</i>	35	300	125
Echinodermata		34	350	320
Mollusca	Bivalvia	40	150	95
	Cephalopoda	15	120	108
	Gastropoda	45	150	111
	Mollusca <i>varia</i>	20	75	-
Nematoda		32	152	152
"Pisces"		99	1500	1300
Porifera		7	96	-
Pycnogonida		5	29	29
Taxa <i>varia</i>		15	50	30
Gesamt		618	5533	4324

1.2. AF2 Barcoding der Metazoa der Nordsee

Zur Erstellung der DNA-Barcode-Bibliothek erfolgte eine enge Zusammenarbeit mit dem „Barcode of Life“ Projekt (Projekt „Barcoding the North Sea Fauna“ in der „Barcode of Life Database“ (BOLD), Ansprechpartner: Dirk Steinke). Unabhängig von BOLD wurden Barcodes für ausgewählte und schwer bearbeitbare Taxa, zum Beispiel Taxa des Zooplanktons oder der Cnidaria, erfolgreich am DZMB amplifiziert und von kommerziellen Sequenzierdiensten bearbeitet. Zusammengefasst liegen derzeit über 3150 Barcodes (Sequenzlänge > 400 bp) von mehr als 530 verschiedenen Arten vor, welche in Tabelle 3 taxaspezifisch aufgelistet sind. Bei der Berücksichtigung aller Taxa beträgt der Identifizierungserfolg 97 Prozent.

Tabelle 3: Auflistung der bislang vorliegenden DNA-Barcodes mit einer Länge von mindestens 400 Basenpaaren. Auf Grund bekannter Probleme bei der Identifizierung von Nematoden wurde für dieses Taxon ein etablierter Kernmarker (28S rDNA: D2-D3) verwendet (*).

Taxon		Artenzahl	Individuenzahl	Identifizierungserfolg (%)
Annelida	"Polychaeta"	43	109	95
Cnidaria	(ex Anthozoa)	30	237	100
"Crustacea"	Amphipoda	52	249	100
	Cirripedia	7	51	100
	Copepoda	33	192	100
	Decapoda	59	496	98
	Crustacea varia	47	232	100
Echinodermata		34	317	100
Mollusca	Bivalvia	31	88	86
	Cephalopoda	15	108	86
	Gastropoda	35	111	100
Nematoda*		32	152	100
„Pisces“		90	800	96
Pycnogonida		5	17	100
Taxa varia		10	22	100
Gesamt		523	3181	97

Im Folgenden werden exemplarisch für zwei Fallbeispiele die Barcodeanalysen gezeigt. Die dargestellten Resultate wurden im Rahmen verschiedener nationaler und internationaler Vorträge und Posterpräsentationen vorgestellt.

1.2.1. Barcoding Decapoda

Bei den Decapoda oder Zehnfußkrebse handelt es sich um eine ökologisch als auch ökonomisch wichtige Gruppe innerhalb der Crustacea, in denen sich unter anderem der Hummer (*Homarus gammarus*), die Strandkrabbe (*Carcinus maenas*), die Nordseegarnele (*Crangon crangon*) und der „Knieper“ (*Cancer pagurus*) wiederfinden. Aktuell liegen 496 Barcodes von 59 Arten der Decapoda vor (Abbildung 4). Neben adulten Tieren wurden auch morphologisch kaum unterscheidbare Larven analysiert, welche den einzelnen Arten problemlos zugeordnet werden konnten. Die vorliegenden Ergebnisse erlauben eine einwandfreie Identifizierung fast aller untersuchten Arten.

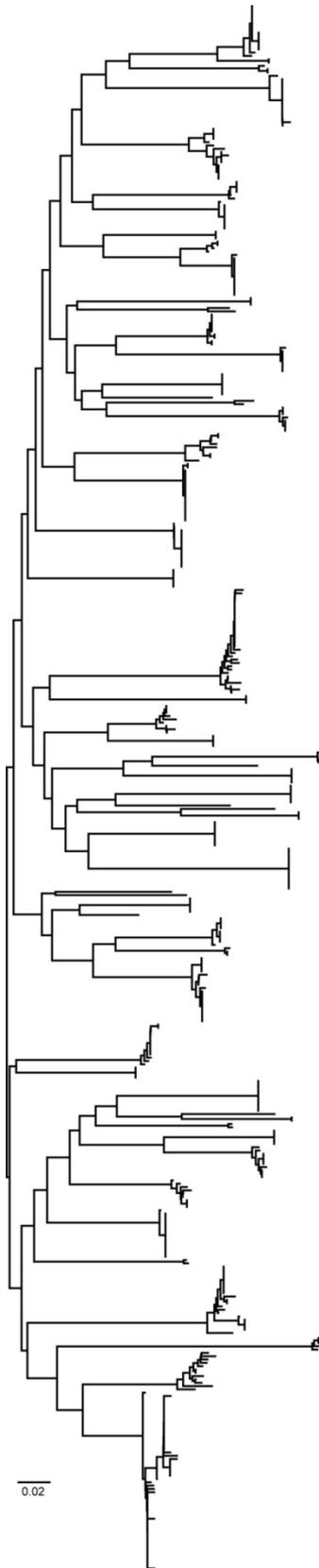


Abbildung 4: Barcoding Decapoda der Nordsee. Neighbour-Joining-Topologie (K2P-Distanzen) der bislang vorliegenden DNA-Barcodes aus der Gruppe der Decapoda (59 Arten, 496 Individuen). Die erfolgreiche Identifizierungsquote liegt bei 98%.

1.2.2. Barcoding „Pisces“

Im Projektverlauf wurden rund 1500 Fische von etwa 99 Arten aus verschiedenen Regionen der Nordsee bearbeitet. Von etwa 1300 Individuen liegen Gewebeproben und DNA-Extrakte vor. DNA-Barcodes konnten für 800 Individuen, die sich auf 90 Arten verteilen, sequenziert werden. Eine Auswahl der Barcodes ist in Abbildung 5 dargestellt. Der Datensatz enthält neben Knorpel- (Chondrichthyes) und Knochenfische (Osteichthyes) auch Arten aus den Gruppen der Schleimaale (Myxinoidea) und Neunaugen (Petromyzontida). Von den insgesamt 82 analysierten Arten konnten zunächst 77 Arten eindeutig determiniert werden, was einer Identifizierungsquote von 95% entsprach. In den übrigen Fällen erlaubten die DNA-Barcodes keine eindeutige Zuordnung. Durch die Kooperation mit taxonomischen Experten hat sich allerdings gezeigt, dass es sich dabei um Fehlbestimmungen handelte und man von einer realen Identifikationsquote von annähernd 100% ausgehen kann.

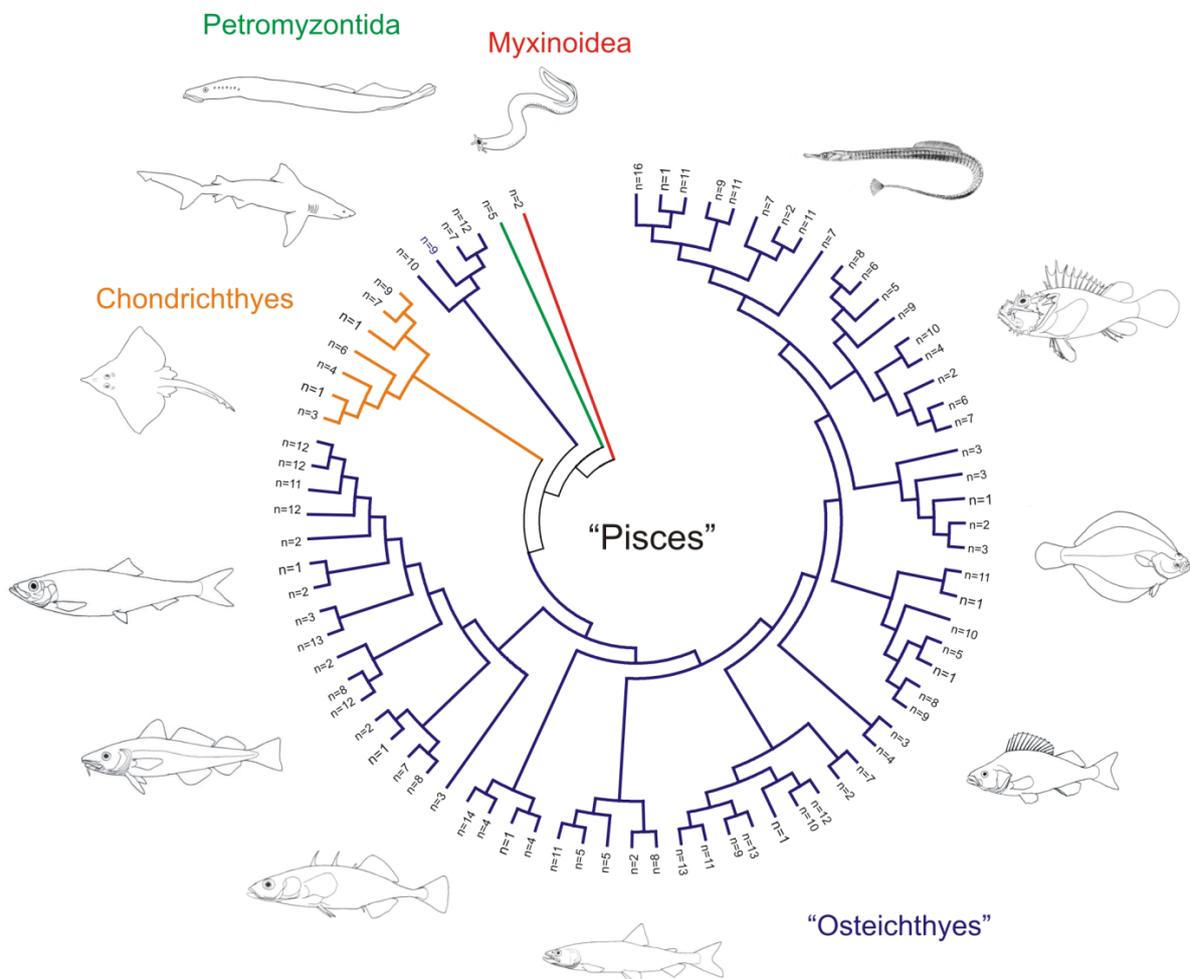


Abbildung 5: Barcoding „Pisces“ der Nordsee. Neighbour-Joining-Topologie (K2P-Distanzen) einer Auswahl von 521 DNA-Barcodes aus der Gruppe der Fische (hier 82 Arten).

1.3. AF3 Spezifische Artidentifizierung mittels *in-situ*-Hybridisierung

Vertraulich

Vertraulich

Vertraulich

Vertraulich

Vertraulich

1.4. AF4 Evaluierung von ngs-Technologien zur Artidentifizierung

Vertraulich

Vertraulich

Vertraulich

Vertraulich

Vertraulich

Die Auswertung der Hochdurchsatzanalyse für die potentielle Anwendung für Gemeinschaftsanalysen veranschaulicht anhand der analysierten künstlichen Proben die hohe Bedeutung der bioinformatischen Analysen der generierten Sequenzen. Es wird deutlich, dass die Wahl eines richtigen Schwellenwerts sowie ein sorgfältiger Vergleich der Daten mit und ohne Homopolymere einen maßgeblichen Einfluss auf die Ergebnisse und somit auch die Interpretation des Datensatzes nehmen. Die Analysen der beiden künstlichen Proben geben weiterhin deutliche Einblicke in die Genauigkeit und hohen Sensitivität dieser Methode und potentielle Fehlerquellen, unter anderem im Rahmen der PCR oder Lesefehlerrate bei der Sequenzierung.

1.5. AF5 Artidentifizierung mittels Proteomspektren (MALDI-TOF)

Das Potenzial der so genannten „Matrix-Assisted Desorption/Ionisation Time-of-Flight“ Massenspektrometrie (MALDI-TOF MS) zur Artdetektion bei Metazoen wurde bislang nur anhand weniger Fallbeispiele demonstriert. Im Rahmen der Nachwuchsgruppe wurden in diesem Zusammenhang grundlegende Analysen hinsichtlich der Eignung dieser Methodik zur Artunterscheidung am Beispiel der Gruppe der calanoiden Copepoden durchgeführt, welche eine essentielle Rolle im marinen Nahrungsnetz der Nordsee spielen. In einer ersten Studie konnten 197 Individuen unterschiedlicher Entwicklungsstadien und Herkunft auf Artniveau identifiziert werden und stellen somit im Vergleich zu anderen Methoden eine ergänzende Möglichkeit zum raschen und validen Artnachweis dar (Abbildung 15; Laakmann et al. 2013). Die Verteilung aller 197 untersuchten Copepoden von verschiedenen Stationen, Regionen, Jahreszeiten und Jahren auf die morphologisch identifizierten 11 Arten wurde hochsignifikant unterstützt (ANOSIM, Global Test: Global $R=0,972$, $p>0,001$). Dies galt auch für ergänzende sequenzbasierte Analysen (COI, 18S rDNA). Es konnten keine Trophie- oder Nahrungseffekte des Magen- oder Darminhalts, welche die artspezifischen Proteommuster überlagern könnten, festgestellt werden. Weiterhin zeigte sich, dass junge Entwicklungsstadien (Nauplien, Copepoditstadien I-V) sich signifikant von den Adulten (ANOSIM, Paarweiser Test: $p>0,001$) unterschieden. Dies deutet auf ein stadienspezifisches Proteom hin und eröffnet die Möglichkeit, mitunter einzelne Stadien unterscheiden zu können.

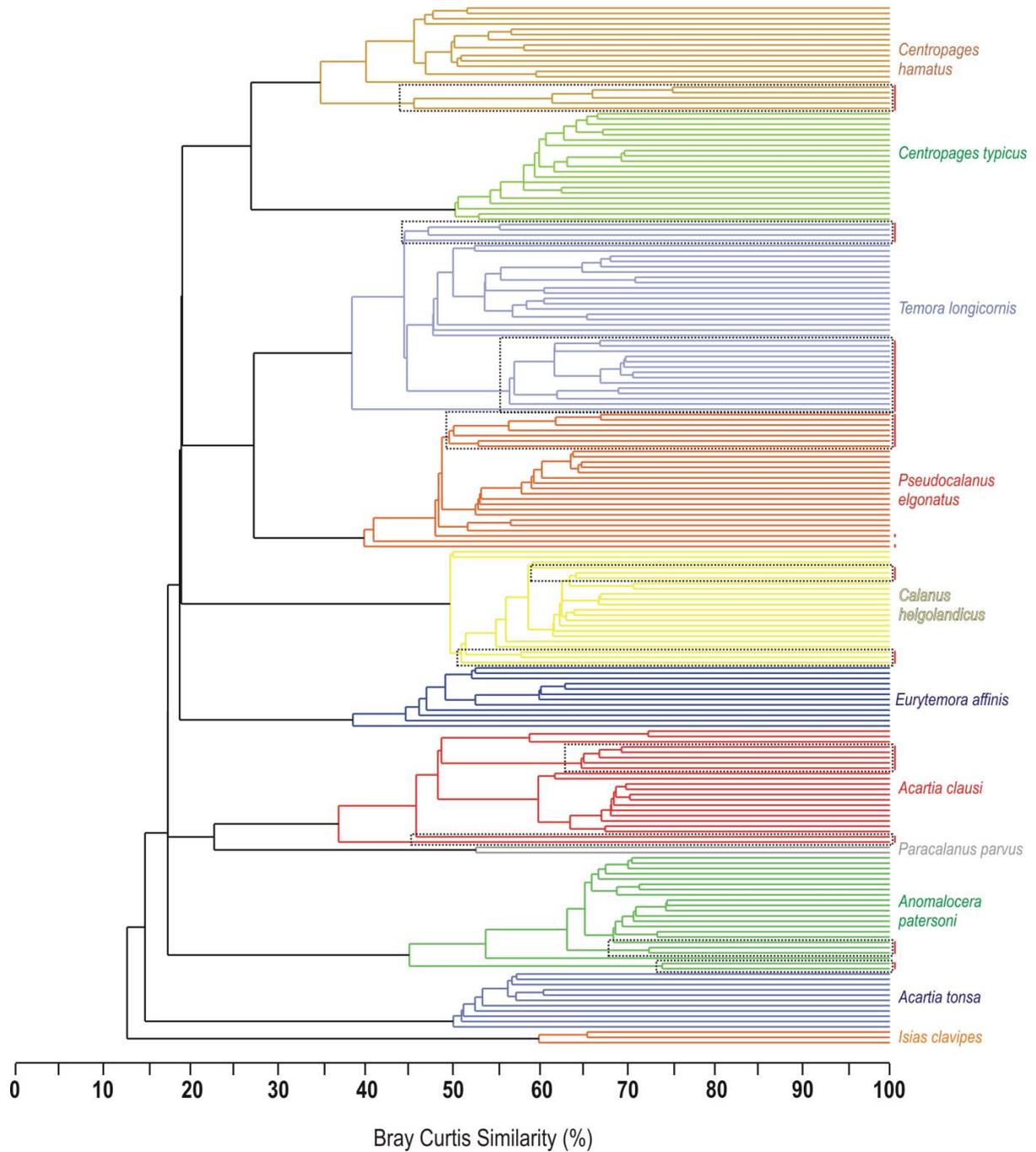


Abbildung 15: Clusteranalyse (single-linkage) auf Basis der relativen Intensitäten der Proteinmassen (MALDI-TOF MS) von 11 Arten der calanoiden Copepoden der Nordsee. Gestrichelte Kästchen und rote vertikale Linien: Nauplien und junge Copepoditstadien.

2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Im Projekt „Nachwuchsgruppe Molekulare Taxonomie mariner Organismen“ waren die wesentlichsten Kosten die Personalkosten. Eine Abrechnung der Kosten erfolgte durch die Personalabteilung des Forschungsinstituts Senckenberg.

Ein weiterer wichtiger Kostenpunkt umfasste die Investitionen. Von besonderer Bedeutung war hier die Anschaffung eines microflexTM MALDI BiotyperTM der Firma Bruker Daltonics zuzüglich Software zur Analyse von Proteomspektren. Das Potential dieser Methode wurde von der Gutachterkommission im Rahmen der Zwischenevaluierung (25.07.2012) wahrgenommen und die Beschaffung einer eigenen Geräteausrüstung als wünschenswert angesehen. Hierzu empfahl das Gutachtergremium die rasche Beantragung einer entsprechenden gerätetechnischen Ausstattung, damit die Arbeiten unmittelbar im erforderlichen Umfang fortgesetzt werden können. Ein Großgeräteantrag wurde Anfang September 2012 gestellt und Anfang November 2012 bewilligt. Die Bestellung erfolgte am 11.12.2012, die Lieferung des Gerätes am 02.02.2013.

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die umgesetzten Arbeiten und finanziellen Mittel wurden gemäß der formulierten Arbeitsfelder aufgeteilt und an den im Verlauf des Projektes erhaltenen Ergebnissen ausgerichtet; eine Aufschlüsselung wird in den Punkten I. und II. dargestellt. Alle im Arbeitsplan formulierten Aufgaben wurden erfolgreich bearbeitet.

4. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinnen des fortgeschriebenen Verwertungsplanes

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen den Nutzen molekularer Methoden zur Artidentifizierung der Nordseefauna auf unterschiedlichen Ebenen.

Im Rahmen der Erstellung einer DNA-Barcode-Bibliothek (AF2) liegen über 3150 Barcodes von mehr als 530 verschiedenen Arten vor, wobei der Identifizierungserfolg bei rund 97% für die untersuchten Arten liegt. In diesem Zusammenhang konnte auch an Hand verschiedener Fallbeispiele die Effizienz von DNA Barcoding bei der Identifizierung von Larven und Juvenilen gezeigt werden. Anhand des COI-Fragments konnten kryptische, bisher nicht für die Nordsee bekannte Arten identifiziert werden sowie morphologische diagnostische Merkmale für die Arterkennung verschiedener Entwicklungsstadien) heraus gearbeitet werden (z.B. Cnidaria: Scyphozoa). Die Resultate untermauern eindrucksvoll den Nutzen von DNA-Barcoding als geeignete molekulare Methode zur Artidentifizierung bei vereinzelt Individuen.

Die Verwendung von spezifischen Nukleotidsonden zur Artidentifizierung (AF3) ökonomisch wichtiger Nordseefischarten erlaubte eine zweifelsfreie Identifizierung von Filetstücken verschiedener Individuen. Eine reproduzierbare Anfärbung von Fischeiern ohne mechanische Permeabilisierung war dagegen nicht umsetzbar.

Die Ergebnisse der Analyse von Umweltproben (Zooplanktonproben) sowie artifiziell zusammengestellter Proben mittels 454 Sequenzierung bestätigen, dass eine sorgfältige Analyse und bioinformatische Aufarbeitung der generierten Sequenzen von essentieller Bedeutung ist (AF4). Weiterhin belegen die gewonnenen Erkenntnisse die hohe Sensibilität der Methodik hinsichtlich Kontaminationen, der vorherrschenden PCR-Bedingungen und der Lesefehlerrate bei der Sequenzierung. Trotz anfänglicher „Kinderkrankheiten“ ist auf Grund der rasant fortschreitenden technologischen Entwicklungen auf diesem Gebiet die umfangreiche Verwendung von ngs-Technologien im Bereich von Biodiversitätsstudien und Monitoringprogrammen in naher Zukunft absehbar.

Neben Sequenzanalysen repräsentiert die Proteomanalytik mittels MALDI-TOF-Spektren (AF5) einen innovativen und äußerst vielversprechenden Zweig zur raschen Artdetermination von Metazoen. Dies gilt insbesondere für Zooplanktonsurveys, in denen große Mengen an zu identifizieren Organismen verschiedener Entwicklungsstadien anfallen.

5. Während des Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Neben einer stetig wachsenden Zahl an Barcoding-Studien (z. B. Bucklin et al. 2011, Carr et al. 2011, Nagy et al. 2012, Quicke et al. 2012, Baselga et al. 2013, Riedel et al. 2013) haben in den letzten Monaten technologische Weiterentwicklungen insbesondere auf dem Gebiet der NGS-Technologie stattgefunden und zu einer Erhöhung der Leselänge (bis zu 800 Basenpaare) geführt. So können mittlerweile auf der 454 Plattform der Firma Roche nun vollständige DNA-Barcodes mit einer Länge von 657 Basenpaaren sequenziert werden.

6. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

6.1. Bachelorarbeiten/Masterarbeiten

Bachelorarbeiten

Verena Merk (2012, Hochschule Bremerhaven):

Molekulartaxonomische Untersuchung ausgewählter Fischarten der Nord- und Ostsee

Masterarbeiten

Philipp Vogt (2013, Humboldt-Universität zu Berlin):

Vergleich einer molekulargenetischen und morphologischen Charakterisierung dreier ausgewählter Nematodenpopulationen der Nordsee

Zwei weitere Masterarbeiten befinden sich in Arbeit.

6.2. Dissertationen

Inga Mohrbeck: North Sea zooplankton biodiversity analysis by a molecular taxonomic interpretation. (in Vorbereitung)

Thorben Hofmann: Development of molecular methods for a fast and robust identification system of selected economical and ecological important species of the North Sea. (in Vorbereitung)

6.3. Tagungsbeiträge

Im Rahmen der Förderphase wurden Ergebnisse auf verschiedenen nationalen als auch internationalen Fachtagungen und Symposien von verschiedenen Mitgliedern der Nachwuchsgruppe präsentiert. Besonders hervorzuheben ist Inga Mohrbecks Gewinn der "Royal Society Publishing Award-winning for best early stage researcher/digital Object Presentation" im Rahmen der "World Conference on Marine Biodiversity" (26.-30.09.2011) in Aberdeen, Schottland/VK. (www.youtube.com/watch?v=KoK6oG3rUKc)

6.3.1. Vorträge

[17] Holst, S., Laakmann, S. (2013): Combined morphological and molecular identification methods in Scypho- and Hydromedusae. 4th International Jellyfish Bloom Symposium (05.-07.06.2013), Hiroshima, Japan.

[16] Raupach, M.J., Knebelsberger, T., Laakmann, S., Hofmann, T., Mohrbeck, I., Martínez-Arbizu, P. (2013): Die molekulargenetische Erfassung der Nordseefauna: Einblicke in die genetische Variabilität der Crustacea. 16. Crustaceologen-Tagung (14.-17.03.2013), Greifswald.

[15] Raupach, M.J. (2012). The use of DNA sequences in animal identification and classification. Herausforderungen für die taxonomische Forschung im Zeitalter der “-omics” Technologien. Leopoldina-Arbeitsgruppentreffen (13.-14.12.2012), Berlin.

[14] Knebelsberger, T., Dubilier, N., Laakmann, S., Hofmann, T., Raupach, M.J. (2012): Identification of North Sea fish using DNA barcoding and ribosomal RNA *in situ* hybridization techniques. Fish Barcode of Life World Conference (12.-14.06.2012), Yeosu, Korea.

[13] Raupach, M.J. (2012): The identification of species using DNA Barcodes. Lehrstuhl für Aquatische Ökologie, Universität Duisburg-Essen (04.06.2012), Essen.

[12] Raupach, M.J., Gossner, M.M., Hannig, K., Knebelsberger, T., Laakmann, S., Mohrbeck, I., Hendrich, L. (2012): Some thoughts about DNA barcoding. 13. Jahrestagung der Gesellschaft für Biologische Systematik (GfBS) (23.-25.02.2012), Bonn.

[11] Raupach, M.J., Knebelsberger, T., Laakmann, S., Hofmann, T., Mohrbeck, I. (2012): Analysing the marine fauna of the North Sea using DNA barcodes and other molecular markers. Forschungsinstitut Senckenberg (15.02.2012), Frankfurt.

[10] Raupach, M.J. (2012): Aspects of the molecular variability of the North Sea fauna: (expected) lessons from IceAge. IceAge Workshop (11.09.-14.09.2012), Wilhelmshaven.

[9] Knebelsberger, T., Dubilier, N., Laakmann, S., Raupach, M.J., Hofmann, T. (2011): The next step: rapid molecular *in situ* species identification. 4th International Barcode of Life Conference (30.11.-03.12.2011), Adelaide, Australien.

[8] Raupach, M.J., Knebelsberger, T., Laakmann, S., Hofmann, T., Mohrbeck, I. (2011): Biodiversity assessment of the North Sea fauna using DNA barcodes and other molecular methods. 4th International Barcode of Life Conference (30.11.-03.12.2011), Adelaide, Australien.

[7] Raupach, M.J., Knebelsberger, T., Laakmann, S., Hofmann, T., Mohrbeck, I. (2011): Molecular survey of the North Sea fauna: data and DNA management”. 12. Genomic Standard Consortium Workshop (28.-30.09.2011), Bremen. [Eingeladener Redner]

- [6] Raupach, M.J., Knebelsberger, T., Laakmann, S., Hofmann, T., Mohrbeck, I. (2011): Analysing the marine fauna of the North Sea: A molecular approach using various methods. Lehrstuhl für Evolutionsökologie und Biodiversität der Tiere, Ruhr-Universität Bochum (21.09.2011), Bochum.
- [5] Raupach, M.J., Knebelsberger, T., Laakmann, S., Hofmann, T., Mohrbeck, I. (2011): Analysing the marine fauna of the North Sea using DNA barcodes and other molecular markers. Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung, Biologische Anstalt Helgoland (06.07.2011), Helgoland.
- [4] Laakmann, S., Mohrbeck, I., Knebelsberger, T., Raupach, M.J. (2011): Do we know the known? Zooplankton biodiversity of the North Sea. 5th International Zooplankton Production Symposium (14.-18.03.2011), Pucón, Chile.
- [3] Raupach, M.J., Knebelsberger, T., Laakmann, S., Mohrbeck, I. (2010): The survey of the North Sea fauna using molecular methods. Lehrstuhl für Spezielle Zoologie (26.11.2010), Universität Rostock, Rostock.
- [2] Raupach, M.J. (2010): Marine species identification using molecular methods: analysing the fauna of the North Sea. Max-Planck-Institut für marine Mikrobiologie (05.08.2010), Bremen.
- [1] Raupach, M.J., Astrin, J., Hannig, K., Peters, M.K., Stoeckle, M.Y., Wägele, J.W. (2010): DNA barcoding and supplementary nuclear marker for species identification. Two arthropod case studies (Coleoptera: Carabidae; Isopoda: Asellota). 2nd Conference of the European Consortium for the Barcode of Life – ECBOL2: 2010 International Year of Biodiversity (02.-04.06.2010), Braga, Portugal.

6.3.2. Posterpräsentationen

- [13] Raupach, M.J., Beermann, J., Knebelsberger, T., Laakmann, S., Mohrbeck, I., Neumann, H. (2011): DNA Barcoding of crustaceans from the North Sea. 4th International Barcode of Life Conference (30.11.-03.12.2011), Adelaide, Australien.
- [12] Knebelsberger, T., Geiger, M., Hendrich, L., Hofmann, T., Laakmann, S., Neumann, H., Raupach, M.J., Haszprunar, G. (2011): Identifying German freshwater and marine fishes through DNA barcoding. 4th International Barcode of Life Conference (30.11.-03.12.2011), Adelaide, Australien.
- [11] Laakmann, S., Holst, S., Knebelsberger, T., Raupach, M.J., Martinez Arbizu, P., Mohrbeck, I. (2011): Application of molecular tools in the assessment of North Sea zooplankton diversity. 4th International Barcode of Life Conference (30.11.-03.12.2011), Adelaide, Australien.
- [10] Mohrbeck, I., Martinez Arbizu, P., Raupach, M.J., Laakmann, S. (2011): DNA barcoding of the North Sea zooplankton: biodiversity assessment by a molecular taxonomic

interpretation. World Conference on Marine Biodiversity (26.-30.09.2011), Aberdeen, Schottland/Vereinigtes Königreich. Digital object contribution.

[Royal Society Publishing Award-winning for best early stage researcher/digital Object Presentation; www.youtube.com/watch?v=KoK6oG3rUKc]

[9] Raupach, M.J., Knebelsberger, T., Laakmann, S., Mohrbeck, I., Neumann, H., Beermann, J. (2011): DNA barcoding of Amphipoda from the North Sea. New frontiers in Monitoring European Biodiversity Conference (27.-29.09.2011), Palermo, Italien.

[8] Raupach, M.J., Markert, A., Wehrmann, A. (2011): DNA barcodes support the existence of *Hemigrapsus takanoi* (Asakura & Watanabe, 2005), the sibling species of *Hemigrapsus penicillatus* (De Haan, 1835). 15. Deutschsprachige Crustaceologen-Tagung (07.-10.04.2011), Regensburg.

[7] Raupach, M.J., Keiler, J., Neumann, H., Schwentner, M., Richter, S. (2011): No lonely hermit? DNA barcodes reveal a surprisingly high genetic variability within *Pagurus bernhardus* (Linnaeus, 1758). 15. Deutschsprachige Crustaceologen-Tagung (07.-10.04.2011), Regensburg.

[6] Mohrbeck, I., Laakmann, S., Knebelsberger, T., Raupach, M.J. (2011): First insights into molecular diversity of the North Sea zooplankton. 5th International Zooplankton Production Symposium – Population connections, community dynamics, and climate variability (14.-18.03.2011), Pucón, Chile.

[5] Knebelsberger, T., Laakmann, S., Mohrbeck, I., Raupach, M.J. (2011): Biodiversity assessment of the North Sea fauna using molecular techniques. BioSystematics (21.-27.02.2011), Berlin.

[4] Raupach M.J., Knebelsberger, T., Laakmann, S., Mohrbeck, I. (2010): Species identification of the North Sea fauna using molecular methods. International Conference on Biodiversity and the UN Millennium Development Goals: Challenges for Research and Action (01-03.12.2010), Frankfurt/Main.

[3] Knebelsberger, T., Laakmann, S., Mohrbeck, I., Raupach, M.J. (2010): Die Fauna der Nordsee: Molekulare Methoden zur Erfassung der Artenvielfalt. WissensWerte – Bremer Forum für Wissenschaftsjournalismus (08.-10.11.2010), Bremen.

[2] Knebelsberger, T., Ditzler, S., Laakmann, S., Mohrbeck, I., Raupach, M.J. (2010): Molecular techniques for identifying North Sea fauna. BioIdentify. Tools for identifying biodiversity: progress and problems (20.-22.09.2010), Paris, Frankreich.

[1] Laakmann, S., Mohrbeck, I., Knebelsberger, T., Ditzler, S., Raupach, M.J. (2010): The marine fauna of the North Sea: species identification using molecular methods. 103. Jahrestagung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft (17.-21.09.2010), Hamburg.

6.4. Publikationen in wissenschaftlichen Zeitschriften

[5] Holst, S., Laakmann, S. (2013) Morphological and molecular discrimination of two closely related jellyfish species, *Cyanea capillata* and *C. lamarckii* (Cnidaria, Scyphozoa), from the northeast Atlantic. *Journal of Plankton Research*: doi:10.1093/plankt/fbt093.

[4] Laakmann, S., Holst, S. (2013): Emphasizing the diversity of North Sea hydromedusae by combined morphological and molecular methods. *Journal of Planktonic Research*: doi:10.1093/plankt/fbt07

[3] Raupach, M.J. (2013): Neue Methoden und Ansätze in der taxonomischen Forschung. *SENCKENBERG - natur · forschung · museum* 143 (7/8): 218-221.

[2] Laakmann, S., Gerdts, G., Eler, R., Knebelsberger, T., Martinez Arbizu, P., Raupach, M.J. (2013): Molecular species identification of North Sea calanoid copepods (Crustacea) using DNA sequences and proteome fingerprints. *Molecular Ecology Resources* 13 (5): 862-876.

[1] Knebelsberger, T., Ditzler, S., Laakmann, S., Mohrbeck, I., Raupach, M.J. (2010): Molecular techniques for identifying North Sea fauna. In: Nimis, P.L., Vignes Lebbe, R. [Eds.]: *Tools for identifying Biodiversity: progress and problems*, Edizioni Università di Trieste, Trieste, 349.

Verschiedene weitere Artikel befinden sich in Vorbereitung bzw. wurden bereits eingereicht.

6.5. weitere Präsentationen

- Die Arbeitsgruppe wurde im Jahr 2012 Preisträger im bundesweiten Wettbewerb „365 Orte im Land der Ideen“. Unter der Schirmherrschaft des Bundespräsidenten prämiieren die Initiative „Deutschland – Land der Ideen“ und die Deutsche Bank jährlich 365 herausragende Projekte und Ideen, die einen nachhaltigen Beitrag zur Zukunftsfähigkeit Deutschlands leisten. Die Arbeitsgruppe „Molekulare Taxonomie mariner Organismen“ war im Jahr 2012 Botschafter für das Land der Ideen und repräsentiert das Innovationspotenzial Deutschlands. Die Preisverleihung fand am 25.04.2012 in Hannover statt, ein mit der Auszeichnung verbundener Tag der Offenen Tür wurde am 09.07.2012 veranstaltet.
- Präsentation der Nachwuchsgruppe im Rahmen der Mitgestaltung der Sonderausstellung „Meeresgründe - 85 Jahre Senckenberg am Meer Wilhelmshaven“ im Küstenmuseum Wilhelmshaven (30.04. bis 30.11.2013)

III. Erfolgskontrollbericht

Separate Anlage beim Projektträger

IV. Kurzfassung – Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht	
3. Titel Nachwuchsgruppe Molekulare Taxonomie mariner Organismen		
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Martínez Arbizu, Pedro, Prof. Dr.	5. Abschlussdatum des Vorhabens 31.03.2013	
	6. Veröffentlichungsdatum Oktober 2013	
	7. Form der Publikation Schlussbericht	
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Forschungsinstitut Senckenberg Senckenberganlage 25 60325 Frankfurt am Main	9. Ber. Nr. Durchführende Institution -	
	10. Förderkennzeichen FKZ 03F0499A	
	11. Seitenzahl 40	
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben 43 (4 Seiten)	
	14. Tabellen 4	
	15. Abbildungen 15	
16. Zusätzliche Angaben -		
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum) Projektträger Jülich, Dr. Peter Seifert, Rostock, Oktober 2013		
18. Kurzfassung Das Ziel des Förderprojekts „Nachwuchsgruppe Molekulare Taxonomie mariner Organismen“ am Deutschen Zentrum für Marine Biodiversitätsforschung/Senckenberg am Meer war die Evaluierung verschiedener molekularbiologischer Methoden zur Identifizierung und Charakterisierung der marinen Fauna der Nordsee. Das Spektrum der verwendeten Methoden umfasste den Aufbau einer umfangreichen Belegsammlung und DNA-Barcodebibliothek unter Nutzung der Barcode of Life Database (BOLD), <i>in-situ</i> -Hybridisierungen zur spezifischen Artidentifizierung, die Verwendung von „next-generation sequencing“ (ngs)-Technologien sowie die Analyse von Proteomfingereprints (MALDI-TOF). Die gewonnenen Erkenntnisse bestätigen den Nutzen und das hohe Potenzial molekularer Methoden zur sicheren Artidentifizierung und bilden die Basis für die Entwicklung automatisierter Verfahren zur schnellen und sicheren Artidentifizierung.		
19. Schlagwörter Molekulare Artidentifizierung, Nordsee, DNA Barcoding, <i>in-situ</i> -Hybridisierung, next generation sequencing, MALDI-TOF		
20. Verlag -	21. Preis -	

V. Document Control Sheet

1. ISBN or ISSN	2. type of document (e.g. report, publication) Final Report	
3. title Junior Research Group Molecular Taxonomy of Marine Organisms		
4. author(s) (family name, first name(s)) Martínez Arbizu, Pedro, Prof. Dr.	5. end of project 31.03.2013	
	6. publication date October 2013	
	7. form of publication Final Report	
8. performing organization(s) (name, address) Forschungsinstitut Senckenberg Senckenberganlage 25 60325 Frankfurt am Main	9. originator's report no. -	
	10. reference no. FKZ 03F0499A	
	11. no. of pages 40	
12. sponsoring agency (name, address) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. no. of references 43 (4 pages)	
	14. no. of tables 4	
	15. no. of figures 15	
16. supplementary notes -		
17. presented at (title, place, date) Projekträger Jülich, Dr. Peter Seifert, Rostock, Oktober 2013		
18. abstract The aim of the project „Molecular taxonomy of marine organisms“ at the German Center of Marine Biodiversity Research/Senckenberg am Meer was the evaluation of various molecular methods in order to identify and characterize the marine fauna of the North Sea. The project included the build-up of a comprehensive voucher collection and DNA barcode-library in cooperation with the Barcode of Life database (BOLD), the use of <i>in-situ</i> -hybridization for specific species identification, the employment of next-generation sequencing as well the analysis of proteome fingerprints (MALDI-TOF). The results of this study support the usefulness and high potential of different molecular techniques for valid species identification and will be used as basis for the development of automatic methods for a fast and an accurate identification.		
19. keywords Molecular species identification, North Sea, DNA Barcoding, <i>in-situ</i> -hybridisation, next generation sequencing, MALDI-TOF		
20. publisher -	21. price -	

VII. Literatur

Amann R, Ludwig W, Schleifer K-H (1995) Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews* 59: 143-169.

Baselga A, Gómez-Rodríguez C, Novoa F, Vogler AP (2013) Rare failures of DNA bar codes to separate morphologically distinct species in a biodiversity survey of Iberian leaf beetles. *Public Library of Science ONE* 8: e74854

Bucklin A, Steinke D, Blanco-Bercial L (2011) DNA barcoding of marine Metazoa. *Annual Review of Marine Science* 3: 471-508.

Carr CM, Hardy SM, Brown TM, Macdonald TA, Hebert PDN (2011) A tri-oceanic perspective: DNA barcoding reveals geographic structure and cryptic diversity in Canadian polychaets. *Public Library of Science ONE* 6: e22232

Costa FO, deWaard JR, Boutillier J, Ratnasingham S, Dooh RT, Hajibabaei M, Hebert PDN (2007) Biological identifications through DNA barcodes: the case of the Crustacea. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 64: 272-295.

Creer S, Fonseca VG, Porazinksa DI, Giblin-Davis RM, Sung W, Power DM, Packer M, Carvalho GR, Blaxter ML, Lamshead PJD, Thomas WK (2010) Ultrasequencing of the meiofaunal biosphere: practice, pitfalls and promises. *Molecular Ecology* 19: 4-20.

Feltens R, Görner R, Kalkhof S, Gröger-Arndt H, von Bergen M (2010) Discrimination of different species from the genus *Drosophila* by intact protein profiling using matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry. *BMC Evolutionary Biology* 10: 95.

Freiwald A, Sauer S (2009) Phylogenetic classification and identification of bacteria by mass spectrometry. *Nature Protocols* 4: 732-742.

Gayral P, Weinert L, Chiari Y, Tsagkogeorga G, Ballenghien M, Galtier N (2011) Next-generation sequencing of transcriptomes: a guide to RNA isolation in non-model animals. *Molecular Ecology Resources* 11: 650-661.

Glenn TC (2011) Field guide to next-generation DNA sequences. *Molecular Ecology Resources* 11: 759-769.

Hajibabaei M, Shokralla S, Zhou X, Singer GAC, Baird DJ (2011) Environmental barcoding: a next-generation sequencing approach for biomonitoring applications using river benthos. *Public Library of Science ONE* 6: e17497.

Hall N (2007) Advanced sequencing technologies and their wider impact in microbiology. *The Journal of Experimental Biology* 209: 1518-1525.

Hausmann A, Haszprunar G, Segerer AH, Speidel W, Behounek G, Hebert PDN (2011) Now DNA-barcoded: the butterflies and larger moths of Germany (Lepidoptera: Rhopalocera, Macroheterocera). *Spixiana* 34: 47-58.

Hawlitschek O, Porph N, Hendrich L, Balke M (2011) Ecological niche modeling and nDNA sequencing support a new, morphologically cryptic beetle species unveiled by DNA barcoding. *Public Library of Science ONE* 6: e16662.

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR (2003a) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B* 270: 313-321.

Hebert PDN, Ratnasingham S, deWaard JR (2003b) Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London Series B* 270 Supplement: 96-99.

Holmes BH, Steinke D, Ward RD (2009) Identification of shark and ray fins using DNA barcoding. *Fisheries Research* 95: 280-288.

Kaufmann CK, Ziegler D, Schaffner F, Carpenter S, Pflüger V, Mathis A (2011) Evaluation of matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry for characterization of *Culicoides nubeculosus* biting midges. *Medical and Veterinary Entomology* 25: 32-38.

Karas M, Bachmann D, Hillenkamp F (1985) Influence of the wavelength in high-irradiance ultraviolet laser desorption mass spectrometry of organic molecules. *Analytical Chemistry* 57: 2935-2939.

Kroppenstedt RM, Mayilraj S, Wink JM, Kallow W, Schumann P, Secondini C, Stackebrandt E (2005) Eight new species of the genus *Micromonospora*, *Micromonospora citrea* sp. nov., *Micromonospora echinaurantiaca* sp. nov., *Micromonospora echinofusca* sp. nov., *Micromonospora fulviviridis* sp. nov., *Micromonospora inyonensis* sp. nov., *Micromonospora peucetia* sp. nov., *Micromonospora sagamiensis* sp. nov., and *Micromonospora viridifasciens* sp. nov.. *Systematic and Applied Microbiology* 28: 328-339.

Laakmann S, Gerdt G, Erler R, Knebelsberger T, Martinez Arbizu P, Raupach, M.J. (2013) Molecular species identification of North Sea calanoid copepods (Crustacea) using DNA sequences and proteome fingerprints. *Molecular Ecology Resources* 13: 862-876.

Le Goff-Vitry M, Chipman A, Comtet T (2007) *In situ* hybridization on whole larvae: a novel method for monitoring bivalve larvae. *Marine Ecology Progress Series* 343: 161-172.

Lopez JL, Abalde SL, Fuentes J (2005) Proteomic approach to probe for larval proteins of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Biotechnology* 7: 396-404.

Ma K, Qiu G, Feng J, Li J (2012) Transcriptome analysis of the Oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense* using 454 pyrosequencing for discovery of genes and markers. *Public Library of Science ONE* 7: e39727.

Mardis ER (2008) The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends in Genetics* 24: 133-141.

Mazzeo MF, De Giulio B, Guerriero GC, G., Malorni A, Russo GL, Siciliano RA (2008) Fish Authentication by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 11071-11076.

Nagy ZT, Sonet G, Glaw F, Vences M (2012): First large-scale DNA barcoding assessment of reptiles in the biodiversity hotspot of Madagascar, based on newly designed COI primers. *Public Library of Science ONE* 7: e34506

Pawlowski J, Christen R, Lecroq B, Bachar D, Shahbazkia HR, Amaral-Zettler L, Guillou L (2011) Eukaryotic richness in the abyss: insights from pyrotag sequencing. *Public Library of Science ONE* 6: e18169.

Perera MR, Vanstone VA, Jones MGK (2005a) A novel approach to identify plant parasitic nematodes using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 19: 1454-1460.

Perera MR, Vargas RDF, Jones MGK (2005b) Identification of aphid species using protein profiling and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 117: 243-247.

Pradillon F, Schmidt A, Peplies J, Dubilier N (2007) Species identification of marine invertebrate early stages by whole-larvae *in situ* hybridisation of 18S ribosomal RNA. *Marine Ecology Progress Series* 333: 103-116.

Quast L, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO (2013) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research* 41 (D1): D590-D596.

Quicke DLJ, Smith MA, Janzen DH, Hallwachs W, Fernandez-Triana J, Laurenne NM, Zaldivar-Riverón A, Shaw MR, Broad GR, Klopstein S, Shaw SR, Hrcek J, Sharkey M, Sharanowski BJ, Jussila R, Gauld ID, Chesters D, Vogler AP (2012) Utility of the DNA barcoding gene fragment for parasitic wasp phylogeny (Hymenoptera: Ichneumonidea): data release and new measure of taxonomic congruence *Molecular Ecology Resources* 12: 676-685.

Radulovici AE, Sainte-Marie B, Dufresne F (2009) DNA barcoding of marine crustaceans from the Estuary and Gulf of St Lawrence: a regional-scale approach. *Molecular Ecology Resources* 9: 181-187.

Ratnasingham S, Hebert PDN (2007) BOLD: The barcode of life data system (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes* 7: 355-364.

Riccardi N, Lucini L, Benagli C, Welker M, Wicht B, Tonolla M (2012) Potential of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for the identification of freshwater zooplankton: a pilot study with three *Eudiaptomus* (Copepoda: Diaptomidae) species. *Journal of Plankton Research* 34: 484-492.

Riedel A, Sagata K, Surbakti S, Tänzler R, Balke M (2013) One hundred and one new species of *Trigonopterus* weevils from New Guinea. *ZooKeys* 280: 1-150.

Roeding F, Borner J, Kube M, Klages S, Reinhardt R, Burmester T (2009) A 454 sequencing approach for large scale pylogenomic analysis of the common emperor scorpion (*Pandinus imperator*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*: 53: 826-834.

Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, Brochmann C, Willerslev E (2012) Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Molecular Ecology* 21: 2045-2050.

Tucker T, Marra M, Friedman (2009) Massively parallel sequencing: the next big thing in genetic medicine. *The American Journal of Human Genetics* 85: 142-154.

Volta P, Riccardi N, Lauceri R, Tonolla M (2012) Discrimination of freshwater fish species by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS): a pilot study. *Journal of Limnology* 71: 164-169.

Westram AM, Jokela J, Baumgartner C, Keller I (2011) Spatial distribution of cryptic species diversity in European freshwater amphipods (*Gammarus fossarum*) as revealed by pyrosequencing. *Public Library of Science ONE* 6: e23879.

Wynne C, Fenselau C, Demirev PA, Edwards N (2009) Top-down identification of protein biomarkers in bacteria with unsequenced genomes. *Analytical Chemistry* 81: 9633-9642.

Anlage 1 zum Schlussbericht: Berichtsblatt für Publikationen

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart Veröffentlichung	
3a. Titel des Berichts -		
3b. Titel der Publikation Morphological and molecular discrimination of two closely related jellyfish species, <i>Cyanea capillata</i> and <i>C. lamarckii</i> (Cnidaria, Scyphozoa), from the northeast Atlantic		
4a. Autoren des Berichts (Name, Vorname(n)) -		5. Abschlussdatum des Vorhabens 31.03.2013
4b. Autoren der Publikation (Name, Vorname(n)) Holst, Sabine; Laakmann, Silke		6. Veröffentlichungsdatum 30.09.2013 (online)
		7. Form der Publikation Fachartikel
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Forschungsinstitut Senckenberg Senckenberganlage 25 60325 Frankfurt am Main		9. Ber. Nr. Durchführende Institution -
		10. Förderkennzeichen ^{*)} FKZ 03F0499A
		11a. Seitenzahl Bericht
		11b. Seitenzahl Publikation 16
		12. Literaturangaben 71
13. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn		14. Tabellen 2
		15. Abbildungen 6
16. Zusätzliche Angaben Journal of Plankton Research (2013) (doi: 10.1093/plankt/fbt093)		
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum) -		
18. Kurzfassung Detecting fluctuations in the species composition of bloom-forming jellyfish requires the ability to correctly identify each species in each developmental stage. We verified diagnostic morphological and molecular genetic characters to discriminate <i>Cyanea lamarckii</i> and <i>Cyanea capillata</i> from northern European waters. Intrusions in the subumbrellar muscle folds were present in all <i>C. capillata</i> >80 mm r-diameter (between opposite rhopalia tips), but absent in <i>C. lamarckii</i> . Clearly visible wart-like papillae on the central exumbrella were present in all <i>C. lamarckii</i> >10–80 mm r-diameter, but absent in <i>C. capillata</i> . Both morphological features were retained in formaldehyde-seawater (4%) preserved medusae which had shrunk by 12.8% ($\pm 2.7\%$) after 1 year of preservation. Our molecular genetic analyses demonstrated that fragments of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) and nuclear 18S rDNA clearly distinguished <i>C. lamarckii</i> from <i>C. capillata</i> , with intra- and inter-specific pairwise genetic distances of 0.0–1.5% and 15.5–17.0% (COI) and 0.0 and 0.2% (18S rDNA), respectively. The study revealed various bell colours in both species underlining that the identification based on the bell colours can result in misidentification. Our integrated taxonomic approach can help to correctly identify jellyfish species, which is fundamentally important for understanding the causes of jellyfish fluctuations and the development of jellyfish blooms.		
19. Schlagwörter gelatinous zooplankton, integrated taxonomy, genetics, identification, preservation		
20. Verlag Oxford University Press, Oxford, UK		21. Preis -

^{*)} Auf das Förderkennzeichen des BMBF soll auch in der Veröffentlichung hingewiesen werden.

Anlage 1 zum Schlussbericht: Berichtsblatt für Publikationen

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart Veröffentlichung	
3a. Titel des Berichts -		
3b. Titel der Publikation Neue Methoden und Ansätze in der taxonomischen Forschung		
4a. Autoren des Berichts (Name, Vorname(n)) -	5. Abschlussdatum des Vorhabens 31.03.2013	
4b. Autoren der Publikation (Name, Vorname(n)) Raupach, Michael J.	6. Veröffentlichungsdatum Juli 2013	
	7. Form der Publikation Fachartikel	
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Forschungsinstitut Senckenberg Senckenberganlage 25 60325 Frankfurt am Main	9. Ber. Nr. Durchführende Institution -	
	10. Förderkennzeichen*) FKZ 03F0499A	
	11a. Seitenzahl Bericht	
	11b. Seitenzahl Publikation 4	
	12. Literaturangaben 29	
13. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	14. Tabellen -	
	15. Abbildungen 3	
16. Zusätzliche Angaben SENCKENBERG natur · forschung · museum (2013) 7/8, 218-221.		
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum) -		
18. Kurzfassung Welches Tier ist das? Wie heißt die Pflanze? Diese Fragen kann der Großvater seinem Enkel nur beantworten, wenn zuvor Taxonomen den Lebewesen unverwechselbare Namen gegeben und dabei auch festgelegt haben, nach welchen Kriterien diese Namen zu vergeben sind. Was Linné vor mehr als 250 Jahren systematisch begann, entwickelte sich stetig weiter und mittlerweile hat die Molekulargenetik längst Eingang gefunden in den Methodenkanon der Taxonomen.		
19. Schlagwörter Taxonomie, molekulare Methoden, DNA Barcoding, DNA Taxonomie, Spektroskopie, Spektrometrie		
20. Verlag Senckenberg Gesellschaft für Naturforschung, Frankfurt am Main	21. Preis -	

*) Auf das Förderkennzeichen des BMBF soll auch in der Veröffentlichung hingewiesen werden.

Anlage 1 zum Schlussbericht: Berichtsblatt für Publikationen

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart Veröffentlichung	
3a. Titel des Berichts -		
3b. Titel der Publikation Emphasizing the diversity of North Sea hydromedusae by combined morphological and molecular methods		
4a. Autoren des Berichts (Name, Vorname(n)) -	5. Abschlussdatum des Vorhabens 31.03.2013	
4b. Autoren der Publikation (Name, Vorname(n)) Laakmann, Silke; Holst, Sabine	6. Veröffentlichungsdatum August 2013	
	7. Form der Publikation Fachartikel	
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Forschungsinstitut Senckenberg Senckenberganlage 25 60325 Frankfurt am Main	9. Ber. Nr. Durchführende Institution -	
	10. Förderkennzeichen ^{*)} FKZ 03F0499A	
	11a. Seitenzahl Bericht	
	11b. Seitenzahl Publikation 13	
	12. Literaturangaben 68	
13. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	14. Tabellen 3	
	15. Abbildungen 3	
16. Zusätzliche Angaben Journal of Plankton Research (2013) (doi: 10.1093/plankt/fbt078)		
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum) -		
18. Kurzfassung Hydromedusae are widespread and diverse representatives of the gelatinous zooplankton, but are often neglected because of their inconspicuousness and difficulties with identification. Here, we used an integrated approach combining both morphological and molecular genetic analyses of North Sea hydromedusae. Morphological identification was successfully carried out on living material, and preservation in 4% formaldehyde allowed re-examination of most morphological features. Ethanol and DESS were adequate fixatives for DNA analyses but led to distortion of morphological characters. In most cases, morphological species identifications were confirmed by molecular data (COI partial sequences) and the latter approach led to valid discrimination where morphological characters were insufficient. In comparison with 22 morphologically identified entities, COI analysis revealed 25 clades with a pronounced difference of ~5.4% between intra- and inter-specific variability. Specimens morphologically identified as <i>Obelia</i> spp. were attributed to <i>O. geniculata</i> , <i>O. dichotoma</i> and <i>O. longissima</i> , while <i>Clytia</i> spp. were allocated to <i>C. hemisphaerica</i> and <i>C. languida</i> by the comparison to hydroid and medusa sequences retrieved from GenBank. Our results highlight the molecular approach as a powerful tool, extending the possibilities for valid species discriminations where morphological identification is difficult, for example, in species with a similar or identical morphology, in early life stages with insufficient identifying features and in linking different generations (hydroid and medusa). However, genetic analysis cannot replace morphologically based taxonomy in studies on species' population dynamics, physiology and ecology. Thus, most information is achieved by combining both methods in integrative studies using both morphological and molecular taxonomy.		
19. Schlagwörter 18S rDNA, COI, MALDI-TOF MS, proteomic fingerprinting, species identification, zooplankton		
20. Verlag Oxford University Press, Oxford, UK	21. Preis -	

^{*)} Auf das Förderkennzeichen des BMBF soll auch in der Veröffentlichung hingewiesen werden.

Anlage 1 zum Schlussbericht: Berichtsblatt für Publikationen

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart Veröffentlichung	
3a. Titel des Berichts -		
3b. Titel der Publikation Comparison of molecular species identification for North Sea calanoid copepods (Crustacea) using proteome fingerprints and DNA sequences		
4a. Autoren des Berichts (Name, Vorname(n)) -		5. Abschlussdatum des Vorhabens 31.03.2013
4b. Autoren der Publikation (Name, Vorname(n)) Laakmann, Silke; Gerdts, Gunnar; Erler, Rene; Knebelsberger, Thomas; Martinez-Arbizu, Pedro; Raupach, Michael J.		6. Veröffentlichungsdatum Juli 2013
		7. Form der Publikation Fachartikel
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Forschungsinstitut Senckenberg Senckenberganlage 25 60325 Frankfurt am Main		9. Ber. Nr. Durchführende Institution -
		10. Förderkennzeichen ^{*)} FKZ 03F0499A
		11a. Seitenzahl Bericht
		11b. Seitenzahl Publikation 15
		12. Literaturangaben 66
13. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn		14. Tabellen 3
		15. Abbildungen 5
		16. Zusätzliche Angaben Molecular Ecology Resources (2013) 13, 862-876 (doi: 10.1111/1755-0998.12139)
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum) -		
18. Kurzfassung Calanoid copepods play an important role in the pelagic ecosystem making them subject to various taxonomic and ecological studies, as well as indicators for detecting changes in the marine habitat. For all these investigations, valid identification, mainly of sibling and cryptic species as well as early life history stages, represents a central issue. In this study, we compare species identification methods for pelagic calanoid copepod species from the North Sea and adjacent regions in a total of 333 specimens. Morphologically identified specimens were analyzed on the basis of nucleotide sequences (i.e. partial mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) and complete 18S rDNA) and on proteome fingerprints using the technology of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). On all three molecular approaches, all specimens were classified to species level indicated by low intraspecific and high interspecific variability. Sequence divergences in both markers revealed a second <i>Pseudocalanus</i> species for the southern North Sea identified as <i>Pseudocalanus moultoni</i> by COI sequence comparisons to GenBank. Proteome fingerprints were valid for species clusters irrespective of high intraspecific variability, including significant differences between early developmental stages and adults. There was no effect of sampling region or time; thus, trophic effect, when analysing the whole organisms, was observed in species-specific protein mass spectra, underlining the power of this tool in the application on metazoan species identification. Because of less sample preparation steps, we recommend proteomic fingerprinting using the MALDI-TOF MS as an alternative or supplementary approach for rapid, cost-effective species identification.		
19. Schlagwörter 18S rDNA, COI, MALDI-TOF MS, proteomic fingerprinting, species identification, zooplankton		
20. Verlag John Wiley & Sons Ltd, Hoboken, NJ, USA		21. Preis -

^{*)} Auf das Förderkennzeichen des BMBF soll auch in der Veröffentlichung hingewiesen werden.

Anlage 1 zum Schlussbericht: Berichtsblatt für Publikationen

1. ISBN oder ISSN ISBN: 978-88-8303-295-0	2. Berichtsart Veröffentlichung	
3a. Titel des Berichts -		
3b. Titel der Publikation Molecular techniques for identifying North Sea fauna		
4a. Autoren des Berichts (Name, Vorname(n)) -	5. Abschlussdatum des Vorhabens 31.03.2013	
4b. Autoren der Publikation (Name, Vorname(n)) Knebelsberger, Thomas; Ditzler, Sandra; Laakmann, Silke; Mohrbeck, Inga; Raupach, Michael J.	6. Veröffentlichungsdatum September 2010	
	7. Form der Publikation Fachartikel	
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Forschungsinstitut Senckenberg Senckenberganlage 25 60325 Frankfurt am Main	9. Ber. Nr. Durchführende Institution -	
	10. Förderkennzeichen*) FKZ 03F0499A	
	11a. Seitenzahl Bericht	
	11b. Seitenzahl Publikation 1	
	12. Literaturangaben -	
13. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	14. Tabellen -	
	15. Abbildungen -	
	16. Zusätzliche Angaben Nimis, P.L., Vignes Lebbe, R. (Eds.): Tools for identifying Biodiversity: progress and problems, Edizioni Universita di Trieste, Trieste, 349.	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum) -		
18. Kurzfassung Accelerated biodiversity assessment is the key to understanding the relationship between biodiversity and ecosystem functioning, especially in times of rapid climate change and habitat destruction. For the marine fauna of the North Sea, morphological species identification is impaired by the small size of many taxa, morphological convergence, intraspecific variation and larval stages which often elude morphological identification. Accordingly, the use of molecular methods presents highly promising tools for fast and accurate species identification.		
19. Schlagwörter Molecular methods, DNA barcodes, North Sea, fauna		
20. Verlag Edizioni Universita di Trieste, Trieste.	21. Preis -	

*) Auf das Förderkennzeichen des BMBF soll auch in der Veröffentlichung hingewiesen werden.