Leitfaden: Diatomeen
Probenahme für DNA-Metabarcoding

1) Probenahme

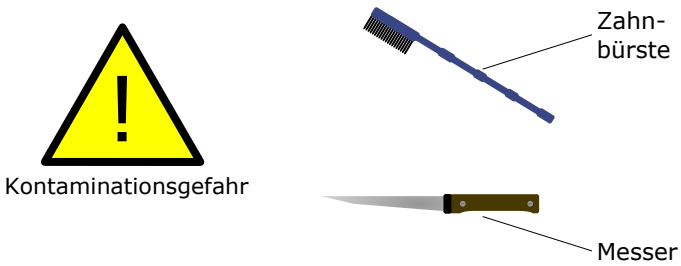
a) Anwendung Ihres typischen Multihabitat-Protokolls (10 Teilproben etc.).

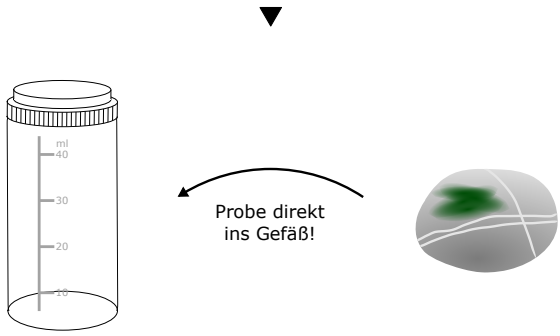
b) Die zu beprobende Stelle von unterhalb der Probenahme-Stelle anzugehen, um Aufwirbelungen von Sediment zu verhindern.

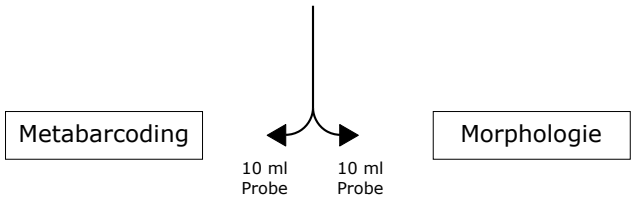
b) Die Probenahme erfolgt mit einer Einwegzahnbürste, die für jeden Probenahme gewechselt werden muss, um Kontaminationen zu verhindern. Eine Reinigung der Zahnbürsten (mit Bleiche o.ä.) ist nicht praktikabel. Ggfs. kann auch ein Taschenmesser genutzt werden, welches zwischen den Probenahmen gründlich gesäubert wird (Chlorbleiche).

c) Der Aufwuchs ist vom Substrat direkt in das Gefäß zu füllen, um mögliche Kontaminationen durch eine Zwischenlagerung in z.B. Weißschalen zu vermeiden (sonst mit Chlorbleiche reinigen).

d) Hartsubstrate sind zu präferieren. Alternativ können auch Totholz oder Sedimente beprobt werden. Makrophyten sind auch möglich.



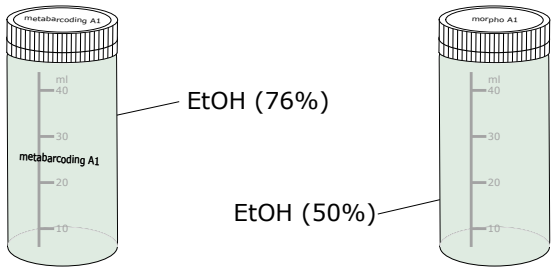




2) Probenkonservierung

a) Die Probe wird auf zwei Gefäße aufgeteilt:
- Für die morphologische Bestimmung werden 10 ml Probe mit 10 ml 96%igem, unvergälltem Ethanol fixiert, so dass die Endkonzentration bei ca. 50% Ethanol liegt. Alternativ auch nach klassischem Protokoll.

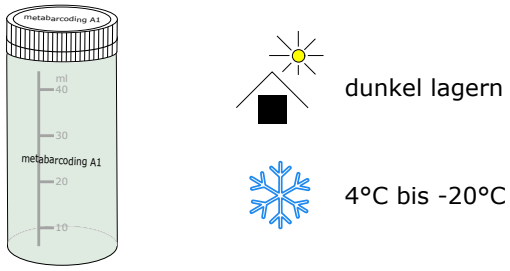
- Für die DNA-Metabarcoding-Analyse werden 10 ml Probe mit 40 ml 96%igem, unvergälltem Ethanol fixiert, so dass die Endkonzentration bei ca. 75% Ethanol liegt. Ethanol und Probe durch Invertieren mischen.



Mischen

b) Sedimentproben (Sonderfall s.o.), die mit einer Spritze gesammelt wurden, sind im Gefäß ins Labor zu bringen und sollen für einen Tag sedimentiert werden lassen. Am nächsten Tag kann das obere Wasser verworfen werden und die Proben gesammelt werden: 10 ml Probe für Metabarcoding und 10 ml für Morphologie (danach verfahren wie in 2a beschrieben).

c) Lagern Sie die Proben dunkel und idealerweise kalt (4°C, -20°C). Überprüfen Sie die Kennzeichnung der Probe. Das Gefäß muss von außen (Deckel und Seitenwand) mit einem wasserfesten Stift beschriftet sein.



3) Versand

Senden Sie die DNA-Metabarcoding Proben an den Projektpartner an der Universität Duisburg-Essen (FedEx oder Kurier)

Materialien

- Ausrüstung für klassische Diatomeen-Beprobung:
  - Messer, sterile Einwegzahnbürsten
  - Weißschalen sind nur nach gründlicher Säuberung mit Chlorbleiche nutzbar, sonst besteht Kontaminationsgefahr!
- 96% Ethanol, unvergällt
- Dichte und sterile 50 ml Probengefäße
- Wasserfeste Stifte

Versand an:

Till-Hendrik Macher (AG Leese)
Universität Duisburg-Essen, Fakultät für Biologie
Universitätsstr. 5, 45141 Essen

Trackingnummer mitteilen
Email: till-hendrik.macher@uni-due.de