Series Naturalis
Vol. 1 (2018), pp. 1-12

© Entomologischer Verein Krefeld
ISSN (online) 2570-1266 (print)1868-6524

Praktische Hinweise und Empfehlungen zur Anwendung von Malaisefallen für Insekten in der Biodiversitätserfassung und im Monitoring

Axel Ssymank[1]*, Martin Sorg[2], Dieter Doczkal[3], Björn Rulik[4], Gisela Merkel-Wallner[5] & Mareike Vischer-Leopold[1]

Kurzfassung

Malaisefallen sind die beste derzeit bekannte Methode zur Erfassung eines breiten Artenspektrums flugfähiger Insekten und sie kommen daher u.a. in Biodiversitätsprojekten und im Insekten-Monitoring zum Einsatz. Im vorliegenden Beitrag wird der aktuelle Kenntnisstand zu den Einsatzgebieten, zur Funktionsweise und zum erfassten Artenspektrum aus den Erfahrungen großer Forschungsprojekte zusammengetragen. Für die Anwendung werden praktische Hinweise zur Standardisierung der Fallen, zum Aufbau, zur Dokumentation der Fallenstandorte, zur Probenaufbewahrung und zu den wichtigsten ersten Auswertungsschritten von der Biomassebestimmung über die Vorsortierung bis zur Determination inkl. der Möglichkeiten modernder DNA-Methoden gegeben.

Abstract

Malaise traps are the best method currently known for the detection of a broad spectrum of flying insects and are therefore used in biodiversity projects and insect monitoring, among others. In this article, the current state of knowledge on the fields of application, the mode of operation and the spectrum of species covered is compiled from the experiences of large research projects. For the application practical hints are given for the standardization of the traps, for the construction, for the documentation of the trap locations, for the sample storage and for the most important first analysis from the biomass measurements over the pre-sorting up to the determination including the possibilities of modern DNA methods.

Einleitung & Einsatzgebiete von Malaisefallen

Der Einsatz von Malaisefallen (vgl. Abb. 1) ist nicht neu und wurde bereits für zahlreiche wissenschaftliche Untersuchungen weltweit angewendet. Darunter sind auch viele große Projekte wie z. B. das schwedische Projekt STI (Swedish Taxonomy Initiative), ein faunistisches Grundinventar des Landes, in dem inzwischen ca. 1.900 Arten erstmalig für Schweden dokumentiert und ca. 600 Arten als neu für die Wissenschaft erkannt worden sind (Ronquist 2010), verschiedene ATBI-Projekte (All Taxa Biodiversity Inventories, (Ssymank & Doczkal 2017, Eymann et al. 2010, Dauger-ron et al. 2015a, b, Edit (o. Jahr), DLIA (o. Jahr), Ziegler 2008, 2016) oder die Materialbeschaffung zum Aufbau der DNA-Barcode Bibliotheken Deutschlands (GBOL) (Geiger et al. 2016; https://www.bolgermany.de/) sowie des Barcoding Fauna Bavarica (BFB) (http://barcoding-zsm.de/).

Abbildung 1. Malaisefalle im NSG/FFH Gebiet Egelsberg bei Krefeld, Natura 2000-Gebiet Nr. DE-4605-302 (© M. Sorg/ EVK).

Dabei werden aber immer wieder neue Fallentypen mit abweichender Bauart verwendet und die Methodik ist v. a. für Monitoringprojekte erstaunlich wenig standardisiert. Dies betrifft auch die Art des Aufbaus im Gelände sowie die notwendige Erhebung von Begleitdaten.

Die Insekten stellen mit rund drei Viertel aller bekannten mehrzelligen Tierarten Deutschlands den größten Teil der

Adresse der Autoren:
[1] Dr. Axel Ssymank(*) & Mareike Vischer-Leopold, Bundesamt für Naturschutz, Konstantinstrasse 110, 53179 Bonn.
Email: Ssymanka@bfn.de
[2] Dr. Martin Sorg, Entomologischer Verein Krefeld, Marktstraße 159, 47798 Krefeld. Email: sorg@entomologica.de
[3] Dieter Doczkal, Zoologische Staatssammlung München, Münchhausenstraße 21, 81247 München. Email: doczkal@zsm.mwn.de
[4] Björn Rulik, Zoologisches Forschungsmuseum Alexander Koenig - Leibniz-Institut für Biodiversität der Tiere - Adenauerallee 160, 53113 Bonn. Email: B.Rulik@leibniz-zfmk.de
[5] Dr. Gisela Merkel-Wallner, Bühläcker 3, 93444 Bad Kötzting.
Email: Merkel-Wallner@t-online.de
[*] Korrespondierender Autor: Dr. Axel Ssymank [1]

Artendiversität aller terrestrischen Ökosysteme. Mehr als 90% der über 33.000 einheimischen Arten der Insekten sind flugaktiv - für diese – und vor allem für die bei uns artenreichsten Insektenordnungen der Zweiflügler (Diptera) mit ca. 9.600 Arten (Schumann 2010, und einige seither neu gemeldete Arten) und der Hautflügler (Hymenoptera) mit ca. 9.600 Arten (Dathe & Blank 2004), mit Einschränkungen auch für viele andere Gruppen z. B. der Käfer (ca. 6.600 Arten (Köhler 2011)) sind Malaisefallen eine ausgesprochen effiziente Fangmethode. Insekten sind wesentliche Träger von Ökosystemfunktionen (Blütenbestäubung, Bodenbildung, Zersetzung von pflanzlichen und tierischen Substraten, Samentransport, regulatorische Funktionen von Predatoren und Parasitoiden u.a.) und bilden das Fundament essentieller Nahrungsnetze bis hin zu insektenfressenden Vögeln, Fledermäusen und anderen Säugetieren.

Abbildung 2. Die erst kürzlich neu entdeckte Trauermückenart *Ctenosciara alexanderkoenigi* Heller & Rulik, 2016 (Diptera: Sciaridae) aus Malaisefallenfängen. [Creative Commons Lizenzvertrag : Zoologisches Forschungsmuseum Alexander Koenig / GBOL. Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - Weitergabe unter gleichen Bedingungen 4.0 International Lizenz]

Wissenschaftliche Untersuchungen, die Roten Listen gefährdeter Arten (z. B. Binot-Hafke et al. 2013, Grutke et al. 2016), sowie Berichte aus den Bundesländern, des Bundesamtes für Naturschutz und der Europäischen Umweltagentur liefern schon seit mehreren Jahren exemplarische Belege für einen starken Rückgang von Insektenpopulationen und der Biodiversität in Mitteleuropa (BfN 2015, EEA 2013, Wenzel et al. 2006). Großräumige Bestäuberrückgänge gaben schon genügend Anlass zur Sorge (IBPES 2016, Biesmejier 2006). Hinzu kamen jüngst die Erkenntnisse des Entomologischen Vereins Krefelds (EVK) (Sorg et al. 2013, Hallmann et al. 2017), die verstärkt massive Rückgänge von Insekten selbst innerhalb von Schutzgebieten belegen konnten. Dies hat dazu geführt, dass inzwischen in vielen Bundesländern ein standardisiertes Insektenmonitoring eingeführt werden soll und entsprechende Forderungen auch auf politscher Ebene erhoben werden.

Die Auswahl der Fallenstandorte muss entsprechend der Zielsetzung der jeweiligen Untersuchung getroffen werden, so sollten z. B.

- für faunistische Erfassungen, Schutzgebietsinventare und –monitoring, ATBI-Projekte oder Analysen von Habitat-/ Biotoppräferenzen eine möglichst breite Abdeckung des regional/ lokal vorhandenen Biotopspektrums vorliegen
- für Erfassungen zur Veränderungen der Biodiversität durch Klimawandel z. B. Höhengradienten, Wanderwege, Gebiete mit besonders warmem und besonders kaltem Lokalklima berücksichtigt werden (z. B. Ssymank 2017b)
- für Standard-Monitoring für Veränderungen auf Landschaftsebene eine statistisch repräsentative Stichprobenauswahl vorgenommen werden (wie z. B. im Monitoring nach Art. 11 FFH-Richtlinie Sachteleben & Behrens 2010, BfN o. Jahr)

In der Zielrichtung der Anwendung ist strikt zu trennen zwischen Flächen, deren Charakter sich „schleichend" positiv oder negativ verändert, wie z. B. durch Sukzession, Pflege, Bewirtschaftungen oder langsamer Degradierung durch Belastungsfaktoren, und solchen Standorten, die z. B. nutzungsbedingt eine sehr hohe Dynamik aufweisen. Flächen mit sehr hoher Dynamik von sich ändernden Biotopen, Eingriffen, Nutzungen, wie z. B. Siedlungsbereiche oder inmitten von wechselnden Ackerbaukulturen, stellen ein deutlich anderes „Anforderungsprofil" dar, um Veränderungen der Insektenzönosen detektieren und vergleichen zu können. Hier würden primär unterschiedliche Biotope miteinander verglichen. Dies gilt auch für Flächen, in denen das Entwicklungsziel Sukzession oder Prozessschutz ist und eine Veränderung allein aufgrund veränderter Rahmenbedingungen zu erwarten ist (es sei denn die Beprobung dient der wissenschaftlichen Dokumentation dieser Veränderungen selbst).

Vorliegender Leitfaden gibt Hinweise zur Methodik und zum Einsatz von Malaisefallen, die aus umfangreichen Erfahrungen von größeren Projekten stammen und Empfehlungen zur Standardisierung der Methodik im Rahmen größerer Erfassungs-Programme geben. Die Untersuchungen des EVK werden seit Jahrzehnten standardisiert mit dieser Methodik durchgeführt und die Erfahrungen aus dem F+E „Biodiversitätsverluste in FFH-Lebensraumtypen des Offenlandes" (FKZ 3516 85 400) wurden berücksichtigt.

Ausgewählte Einsatzgebiete für Malaisefallen in der Erfassung flugaktiver Insekten/ Monitoring für unterschiedliche Fragestellungen /Zielsetzungen sind:

- Beprobung weitgehend homogener Biotope im Offenland
- Nachweis von Randeffekten & Randeinwirkungen
- Insekten-Monitoring in der Gesamtlandschaft
- Beprobung zur Erfassung eines möglichst vollständigen Artenspektrums sowie zum Nachweis (vermeintlich) seltener Arten oder von Arten mit sehr kurzen Flugzeiten bzw. Aktivitätsphasen
- Nachweis von Veränderungen der Biodiversität im

Zuge des Klimawandels
- Nachweis der Wirkung von Naturschutzmaßnahmen oder qualitativen Veränderungen wie z. B. Verschlechterungen des Pflegezustandes
- Erfassung der Phänologie von Arten oder Artengilden und deren Veränderungen
- Erfassung von Biotop- bzw. Habitatpräferenzen bei Einsatz eines Fallenspektrums über verschiedene Biotoptypen in einem Untersuchungsgebiet
- Erfassung der Einwanderung von Neozoen, invasiver Arten etc.

Spezialeinsatzgebiete mit besonderen Fallentypen umfassen z. B. auch:
- Bidirektionale Malaisefallen zur Erfassung von Wanderungen, Funktionsbeziehungen zwischen verschiedenen Biotopen oder Randeffekten
- Besonders große Netzfallen zur Erfassung und Markierung wandernder Arten z. B. an Alpenpässen
- Hängende Fallen zur Erfassung der Kronenfauna in Wäldern
- Schwimmende Fallen in aquatischen Habitaten (z. B. die SLAM-traps)
- Senkrechte Mini-Malaisefallen an Baumstämmen oder Totholz (Erfassung von speziellen Mikrohabitaten wie z. B. Schleimflüsse)
- Bartak-Fallen mit einseitig zum Boden reichenden Dach als besonders leicht und schnell aufzubauende Fallen, die z. B. gut für kurzzeitige Einsätze bei Tagesexkursionen geeignet sind

Auf diese und weitere mögliche speziellen Adaptationen der Malaisefalle wird im Weiteren nicht eingegangen.

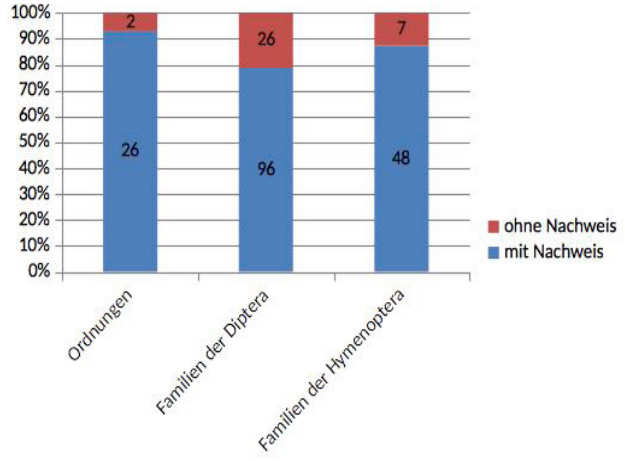

Abbildung 3. Lokal erfassbares Spektrum von Artengruppen der Insekten aus der Vorsortierung von 20 Malaisefallen am südwestlichen Dinkelbergrand (nach Daten aus Doczkal 2017).

Funktionsweise

Eine Malaisefalle eignet sich vor allem für die Erfassung flugaktiver Insekten (Diptera, Hymenoptera, Coleoptera und weitere Insektengruppen, vgl. Abb. 3). Die Falle ist permanent fängig und arbeitet schwach selektierend und semiquantitativ. In die Malaisefalle einfliegende Insekten orientieren sich aufgrund ihres positiv phototaktischen Verhaltens in Richtung des Lichts und fallen dort in eine mit Flüssigkeit gefüllte Fangflasche, wo sie direkt konserviert werden. Auch nachtaktive flugfähige Insektenarten werden mit Malaisefallen relativ gut erfasst.

Malaisefallen eigenen sich aufgrund ihrer Funktionsweise v.a. für Offenlandbiotope mit voller Besonnung der Dachkonstruktion. In Wäldern sind die Fallen nur in ausreichend großen Lichtungen oder an Waldrändern einsetzbar (mindestens 3 h potentielle Sonnenscheindauer empfohlen, ganz beschattete Fallen haben eine stark reduzierte Fängigkeit). Sonderfälle sind Malaisefallen im Kronenraum zur Erfassung der Kronenfauna. Weniger geeignet für Beprobungen sind nordexponierte oder nur teil besonnte Biotope oder Waldränder, in jedem Falle sind unterschiedliche Expositionen und Sonnenscheindauer nicht direkt miteinander vergleichbar in den Ergebnissen. Bei Untersuchungen in Schutzgebieten und speziellen Biotopen sind solche „suboptimalen" Standorte jedoch nicht zu vermeiden und daher möglichst präzise zu dokumentieren, um eine Interpretation der Ergebnisse zu unterstützen. Erfahrungen aus verschiedenen Malaisefallenprojekten zeigen, dass für faunistische Fragestellungen der Einsatz an klaren Randstrukturen von Ost- über Süd- bis Westexposition gute Fangergebnisse erzielen kann.

Aussagen zur Bodenfauna (epigäische und endogäische Gruppen) sind nur indirekt möglich über Arten(gruppen) mit bodenlebenden Larven oder Präimaginalstadien, die flugfähige Imagines haben. Allerdings werden über Malaisefallen auch flugunfähige Taxa in teils höheren Artenzahlen erfasst, die mobil auch vertikale Strukturen hochklettern und so in das Fanggefäß gelangen (z. B. Spinnen, Arbeiterinnen von Ameisen etc.) oder mit ihren Wirten eingetragen werden. Für die „vollständigere" Erfassung von Bodenarthropoden und Wirbeltier-Parasiten sind daher zusätzlich andere Methoden erforderlich.

Erfasstes Artenspektrum

Malaisefallen erfassen bei entsprechender Abdeckung des vorhandenen Biotopspektrums ein sehr breites Spektrum der in einem Gebiet zu erwartenden Arten. Als Beispiel können Ergebnisse eines Forschungsprojekts am südwestlichen Dinkelbergrand bei Basel (Ssymank & Doczkal 2017) dienen. Die Vorsortierungsergebnisse von 20 Malaisefallen aus einem Untersuchungsjahr wurden hier exemplarisch ausgewertet (Doczkal 2017, Abb. 3):
- Auf Ordnungsebene waren in Malaisefallen bis auf 2 Ordnungen (ungeflügelte parasitische Arten) alle Insektenordnungen vertreten.
- Auf Familienebene bei den beiden größten Insektenordnungen 80 % der Ordnung Diptera (Zweiflügler) und 87% der Ordnung Hymenoptera (Hautflügler).
- Die nicht erfassten Familien waren ausnahmslos extrem artenarme Taxa mit Spezialisierung auf saline Biotope (die im Untersuchungsgebiet nicht vorkommen) oder flugunfähige Insekten.

Eine Übersicht zu allen Insektenarten, die mittels einer Malaisefalle an einem Standort erfasst werden, existiert bisher mit konventioneller Artbestimmung nicht (v. a. wegen des nicht leistbaren Aufwands für die Determination der Mikro-Dipteren und -Hymenopteren). Eine Annäherung an die

Verteilung der pro Insektenordnung ermittelten Diversität gibt die Untersuchung eines Jahresganges mit molekularer Auswertung nach Vorsortierung der Morphospecies (Geiger et al. 2016). Hierbei steht die Anzahl der BIN´s (Barcode Index Numbers) für die Zahl der molekular identifizierten Arten.

Ein Betriebsjahr einer Malaisefalle (Geiger et al. 2016), Juli 2013 bis Juli 2014.			
Pterygota	BIN´s	Artenzahl D	Anteil %
Diptera	1.463	9.213	15,9
Hymenoptera	1.059	9.318	11,4
Lepidoptera	318	3.602	8,8
Hemiptera	225	2.483	9,1
Coleoptera	166	6.492	2,6
Neuroptera	14	101	13,9
Trichoptera	7	313	2,2
Psocoptera	4	95	4,2
Orthoptera	3	85	3,5
Mecoptera	3	9	33,3
Dermaptera	3	8	37,5
Blattodea	1	6	16,7
Summe Pterygota	3.266	31.725	10,3

Die Ergebnisse bei Geiger et al. (2016) deuten darauf hin, das beim Einsatz einer Malaisefalle über eine Vegetationsperiode zumindest in bestimmten Habitaten mehr als 10% der Gesamtartenzahl der flugaktiven Gruppen der Pterygota nachgewiesen werden und die erfasste Alphadiversität Grössenordnungen von >3.000 Arten erreicht. Inwieweit diese Ergebnisse einer einzelnen Falle auf andere Standorte übertragbar sind, müssen weitere Forschungen zeigen.

Auf Familienebene konnten in einer Malaisefalle in einem Jahr hier 70 von 122 Familien (in Deutschland) der Diptera und 40 von 55 Familien bei den Hymenoptera nachgewiesen werden.

Innerhalb der einzelnen Familien gibt es jedoch erhebliche Unterschiede in der Effektivität der Erfassung des gesamten Artenspektrums, so dass in Absicht einer vollständigen faunistischen Erfassung immer eine Kombination von Methoden zu empfehlen ist.

Malaisefallen eignen sich besser als jede andere Methode für die Erfassung eines breiten Spektrums flugfähiger Insekten. Alternativen mit ähnlich breitem Fangspektrum von flugaktiven Insekten gibt es nicht.

Vor- und Nachteile von stationären Malaisefallen
Vorteile:

- Ausgesprochen hohe Effizienz in der Erfassung eines breiten Spektrums von Arten unterschiedlicher Familien flugaktiver Insekten.
- Gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse und Normierbarkeit der Methodik.
- Kontinuierliche Erfassung über eine Vegetationsperiode und Bewertbarkeit phänologischer Ereignisse, z. B. der Klimawerte.
- Genaue Wiederholungsaufnahmen und vergleichende Auswertungen sind unter Berücksichtigung der Phänologie der Arten möglich.
- Potentiale in der Ermittlung von Gradienten, z. B. bei der Aufstellung von zeitgleich in Transekten gestellten Fallen einschließlich des Austauschs zwischen angrenzenden Biotopen z. B. mit bidirektionalen Fallen. Solche Fallen haben zwei Fangflaschen mit getrennter Sammlung der Insekten der beiden Fangkammern.
- Vergleichsweise kleiner Betreuungs- und Pflegeaufwand im Gelände. Abgesehen vom Aufbau und Abbau beansprucht der Flaschenwechsel selbst nur wenige Minuten.
- Probennahme unabhängig von Kenntnisstand bzw. Erfahrungen des Betreuers, d. h. Betreuung auch durch fachfremde Hilfskräfte problemlos möglich.
- Keine selektive Anlockung einzelner Arten.
- Der Fang erfolgt in Relation zur Abundanz und Flugaktivität der Arten, lokal seltene Arten werden daher auch nur in sehr geringen Mengen gefangen und deren Populationen nicht gefährdet.
- Relativ kostengünstige Probenahme im Vergleich zu standardisierten, direkten Feldmethoden, die für ein breites Spektrum pro Jahr oftmalige Begehungen und arbeitsintensive Beprobungen durch qualifizierte Personen erfordern.
- Die Proben sind bei korrekter Konservierung auch nach mehreren Jahrzehnten (zumindest morphologisch) noch auswertbar.

Nachteile / Schwierigkeiten:

- Hoher Aufwand in der Vorsortierung.
- Bei konventioneller Auswertung eines breiten Artenspektrums anspruchsvoll für die Experten und in der Organisation der Determination, dafür gute Auswertungsmöglichkeiten von Abundanzen und Veränderungen der Populationen.
- Bei rein DNA-basierter Auswertung von Mischproben sind nach derzeitigen Stand der Wissenschaft keine Messwerte über Häufigkeiten und damit Populationsveränderungen möglich, sondern nur Präsenz – Absenz Angaben.
- Eingeschränkte Anwendbarkeit bzw. Vergleichbarkeit der Ergebnisse in dichtem, geschlossenem Wald (Forst) oder in forstlichen Monokulturen.
- Notwendigkeit der Sicherung des Fallenstandortes bzw. der Falle vor Zerstörung.

Gefangene Mengen und mögliche Beeinträchtigungen

Die im Jahr gefangenen Mengen von Insekten liegen je nach Biotoptyp und Zustand der Insektenpopulation im Regelfall zwischen 0,2 bis 1,5 kg Abtropfgewicht pro Jahr für eine Malaisefalle bei ganzjährigem oder über die ganze Vegetationszeit reichendem Betrieb (die Ausbeute der Wintermonate ist quantitativ vernachlässigbar).

Eine Beeinträchtigung der vorhandenen Insektenpopulationen ist im Regelfall nicht zu erwarten (Ausnahmefälle sind denkbar, wenn mehrere Fallen gleichzeitig in einer sehr kleinen isolierten Fläche einer geringen Quadratmeterzahl aufge-

stellt werden und nur noch Reliktpopulationen bestimmter Insektenarten vorhanden sind). Der Gesamtfang entspricht ca. der Insektenmenge, die ein Jungvogel im Sommer frisst bzw. der Insektenmenge die auf ca. 25 - maximal 200 m^2 Boden jährlich schlüpfen. Unser kleinster Kleinsäuger, die Zwergspitzmaus (*Sorex minutus*) frisst täglich etwa dieselbe Menge an Insekten, die in einer Malaisefalle gefangen werden (Churchfield & Searle 2008). Der Fang erfolgt relativ lokal im unmittelbaren Umfeld der Falle. Aus Fallenergebnissen von in Transekten aufgestellten Fallen oder von dicht beieinander stehenden Fallen lässt sich ableiten, dass schon bei Fallenabständen von 10-20 Metern sich die Ergebnisse deutlich unterscheiden können. Mikrohabitate, wie z. B. Totholz, Ameisenhaufen etc. ändern das Ergebnis deutlich. Über die genaue Fängigkeit in Relation zur Abundanz der Arten in Flächeneinheiten gibt es keine Zahlen, aber aus der Kenntnis von Experten sind artspezifische Unterschiede zu erwarten. Für Farbschalen ist bekannt, dass nur 5-10% der anfliegenden Insekten gefangen werden, trotz einer spezifischen Farbanlockwirkung. Da Malaisefallen weitgehend unselektiv und ohne Anlockwirkung fangen (dichteabhängig, d. h. häufige Arten zahlreich, seltene nur in einzelnen oder wenigen Stücken oder gar nicht), ist eine direkte Gefährdung sehr unwahrscheinlich.

Abbildung 4. Große Blutbiene (*Sphecodes albilabris* (Fabricius, 1793)), hier auf Feld-Mannstreu (*Eryngium campestre* L.), als Beispiel für einen Hautflügler, der mit Malaisefallen nachgewiesen werden kann (© M. Sorg/EVK)

Erforderliche Genehmigungen

Für die Anwendung von Malaisefallen im Freiland sind im Regelfall mehrere Genehmigungen erforderlich:

Es ist immer damit zu rechnen, dass Malaisefallen auch einige streng oder besonders geschützte Arten (z. B. Abb. 4) gemäß der BArtSchV fangen. Damit ist für Zwecke naturschutzfachlicher oder wissenschaftlicher Untersuchungen eine artenschutzrechtliche Ausnahmegenehmigung nach BArtSchV erforderlich.

In Schutzgebieten sind zusätzlich die entsprechenden naturschutzrechtlichen Ausnahmegenehmigungen zur Entnahme von Tieren erforderlich, sowie entsprechende Betretungsgenehmigungen, ggf. auch Fahrgenehmigungen für Wirtschaftswege, Erlaubnisse der Eigentümer und Pächter, sowie die Beachtung bzw. Befreiung zu sonstigen Bestimmungen (z. B. der Kampfmittelunfallverhütungsverordnungen im Fall munitionsbelasteter Flächen).

Bei einer Dokumentation der Fallenstandorte mittels Fotodrohnen sind zusätzlich naturschutzrechtliche Ausnahmegenehmigungen z. B. in Schutzgebieten erforderlich.

Praktische Hinweise zum Fallentyp, Aufstellung und Betrieb zur Standardisierung der Methodik

Aufbauend auf dem ursprünglichen Fallentyp von Malaise (1937) gibt es zahlreiche Modelle von Malaisefallen und -größen, die sich in Bauart, Fängigkeit, Zuverlässigkeit und Arbeitsaufwand im Gelände deutlich unterscheiden. Z. B. fangen handelsübliche „SLAM"-traps mit rundem Dach deutlich weniger Insekten als Spitzdächer, die Grundfläche/ Fangfläche, Firsthöhe, teilweise Beschattung, Ausrichtung der Fangflasche etc. haben einen großen Einfluss auf die Ergebnisse. Ferner kann auch die Farbe der Falle und des Daches und witterungsbedingte Alterung der Netze eine Auswirkung haben (Netze jährlich wechseln) etc.

Um hierbei zu einer Normierung der Methodik zu gelangen und Ergebnisse miteinander vergleichen zu können, ist es erforderlich baugleiche Fallen mit einem Mindeststandard bei der Aufstellung zu verwenden. Dies schließt im Handel erhältliche Fallen aus, da über den Handel identische Fallentypen in nur begrenzten Zeitspannen erhältlich sind. Es wird empfohlen, die Fallen (angelehnt an den Bautyp nach Townes 1972, Matthews & Matthews 1983) nach dem beim Entomologischen Verein Krefeld seit 1982 normierten Modell mit einheitlichem Schnittmuster fertigen zu lassen (vgl. Sorg 1990, Schwan et al. 1993, Hallmann et al. 2017).

Empfohlener Fallentyp:

- Malaisefalle, Townes-Modell, Bauplan nach (Schwan et al. 1993, Hallmann, et al. 2017). (vgl. Abb. 5)
- Einflugöffnung: ca. 5 cm Durchmesser (5,1 x 5,3 cm) freie Öffnung
- Fangkopf mit 1 l Fangflasche (Fangflasche ggf. gegen zu starke Erwärmung im Sommer und gegen Licht schützen durch kaschierte Alufolie, Winterschutz für Autoscheiben hat sich bewährt, im Frühjahr und Herbst sind auch 0,5 l Fangflaschen möglich)
- Fangflüssigkeit: 80% Ethanol 1% MEK vergällt (derzeitige Evaluation zum Metabarcoding 96% Ethanol unvergällt, in der Monitoring-Praxis zu teuer).

Hinweise für den Betrieb im Gelände:

- Aufbauanleitungen für Malaisefallen sind als bebilderte Schritt für Schritt-Anleitung auf den Webseiten der Zoologischen Staatssammlung München (http://barcoding-zsm.de/malaisefallenaufbau) und für das Modell des Entomologischen Vereins Krefeld als Video (http://www.entomologica.org/vd/malaise-trap01.mp4).
- Dabei sind folgende Punkte zu beachten:
- Das Netz sollte leicht gespannt sein (kein durchhängendes Dach), die Einflugöffnung muss immer frei sein

(ggf. im Betrieb kontrollieren, Spinnen).

- Insbesondere der First der Fallen in Flaschennähe ist regelmäßig zu kontrollieren (z. B. Beschädigung durch Vögel).
- Erfolgt die Fallenbetreuung bzw. der Flaschenwechsel durch Hilfskräfte, empfiehlt sich die Anfertigung von Fotos zu jeder Fallenleerung.
- Die Mittenwand der Falle muss überall durchgängig mit dem Boden fest verbunden sein, damit keine Insekten unten durchfliegen können. Dies kann durch angeworfenes Erdreich vom Standort oder Steine erreicht werden. Um diesen Vorgang zu vereinfachen sind an den Fallen des EVK heute zusätzliche Stoffstreifen angenäht, auf die Steine oder Erde gelegt werden kann. Zusätzlich wird die Falle an 8 Schlaufen über Heringe mit dem Boden verbunden.
- Ausrichtung der Fangflasche nach Süden, eingemessen mit Kompass (Empfehlung für Standard-Monitoring). Falls dies nicht möglich ist (z. B. in Schutzgebietserfassungen, Erfassungen bestimmter Biotope), Ausrichtung ggf. zum maximalen Lichteinfall, bei anderer Ausrichtung oder teilverdecktem Horizont und geringerer Sonneinstrahlung, Dokumentation der potentiellen Sonnenscheindauer mit Horizontoskop o.ä.)
- Die Fallen werden jeweils mit einem einfachen, mit vier Eckpfosten und drei Drähten gefertigten Zaun geschützt. Dies ist zumindest erforderlich auf beweideten Flächen, aber grundsätzlich zu empfehlen. Die Schnüre der vier oberen Eckpunkte der Falle werden horizontal mit den Eckpfosten verspannt, damit eine gleiche Größe der Einflug-Fangfläche gewährleistet ist.
- Fangflüssigkeit (Empfehlung für standardisiertes Monitoring): 80% Ethanol, 1 % MEK (teilvergällt), wenn DNA-Methoden eingesetzt werden sollen (kein Brennspiritus, keine Methanol-Anteile, kein Formaldehyd-Zusatz)
- Alternative Fangflüssigkeit: Wasser mit Detergentienzusatz und ca. 0,5 - 2 % Formalinzusatz: Vorteil: Besser morphologisch konserviertes Material, Nachteil: DNA-Analysen (nach derzeitigem Stand der Technik) nicht mehr möglich; derzeit für Monitoring-Zwecke daher nicht zu empfehlen
- die v. a. bei der Erfassung von Käfern beliebte Salzlösung konserviert zarte Insekten nicht ausreichend (Beifänge aus solchen Projekten bestehen großen Teils aus beschädigten teilzersetzten Tieren, die nicht mehr oder nur noch mit hohem Aufwand morphologisch bestimmbar sind) und sind daher nicht zu empfehlen
- Fangflaschen i.d.R. 500 ml bei Leerungsintervall 10-14 d im zeitigen Frühjahr und Herbst ausreichend, 1l bei > 14 d und bei 14-tägiger Leerung in den Sommermonaten empfohlen
- Da es durch Verdunstung und die gefangenen Insekten selbst zu einer Verdünnung des Ethanols kommt sowie zum Schutz der Proben bei Transport, sollten die Fangflaschen kurz nach der Fallenleerung mit Ethylalkohol vollständig aufgefüllt werden.
- Die Etikettierung der Flaschen kann bereits vor dem Flaschenwechsel außen und innen durch eine alkoholbeständige Beschriftung (am besten mit weichem Bleistift auf stabilem Papier; kein Zeitungspapier o. ä.) mit Flächennummer und Leerungsdatum auf Einlegezettel erfolgen und die neuen Fangflaschen sollten ca. ¾ bis vollständig mit Ethanol befüllt werden, so dass im Gelände nur ein Flaschenwechsel erfolgen muss.
- Für die beiden Stäbe mittels derer das Dach und die Mittelwand auf Spannung gebracht wird, haben sich feste Rundhölzer von ca. 2cm Durchmesser bewährt, die zuerst in den Boden eingegraben und dann in der passenden Höhe abgeschnitten werden (stabilste Lösung des Entomologischen Vereins Krefeld). Als einfachere Variante für den Mittenpfahl, an der sich die Fangflasche befindet, hat sich eine Konstruktion aus zwei Teilen bewährt, die eine schnelle passgenaue Aufstellung im Gelände sicherstellt (Ssymank 2017a).
- die Intervalle der Flaschenwechsel sollten während der Hauptsaison (Mai bis August/September) nicht länger als zwei Wochen betragen, da andernfalls die Qualität der Konservierung leiden könnte. In der Vor- und Nachsaison sind auch längere Intervalle möglich. Kürzere Intervalle verbessern die phänologische Auflösung, erfordern aber einen entsprechend höheren Betreuungsaufwand, der im Wesentlichen durch die Weg- bzw. Anfahrzeiten bestimmt wird.

Für rein faunistische Projekte bzw. Materialbeschaffung für Barcoding oder für bestimmte Untersuchungs- und Forschungsprojekte können Standorte gewählt werden, die den o.g. Anforderungen an Standardisierung im Monitoring nicht voll entsprechen. Z. B. ist es in unebenem, abschüssigem Gelände oft nicht möglich, die Mittelwand auf ganzer Länge mit dem Boden bündig zu befestigen, oder es ist bei nur in einer Exposition vorkommenden Biotoptypen keine Südausrichtung der Fangflasche möglich etc..

Abbildung 5. Malaisefalle (Townes-Modell) im Bautyp des Entomologischen Vereins Krefeld mit Bemaßung (© M. Sorg/EVK)

Automatisierte Fallen/ Erfassungsstationen

Automatisierte Erfassungsstationen aufbauend auf automatischen Fallenwechslern (AMTC - Automated Malaise Trap Changer, Rulik et al. 2014) sind in Entwicklung. Sie sind aber deutlich teurer als der „manuelle" Einsatz von der oben beschriebenen Malaisefalle, bieten aber ggf. zusätzliche Erfassungsergebnisse für weitere Umweltparameter, z. B. in Kombination mit Klimadatenloggern. Bei diesen autark (Solarpanel + aufladbarer Akku) arbeitenden Malaisefallen-Flaschenwechslern sind bei Aufstellung in unzugänglichem Gelände („remote locations") nur alle 24 Wochen (Sammelintervall 14 Tage) die gesammelten Flaschen auszuwechseln.

Für bestimmte Spezialerfassungen können hier auch tageszeitlich fraktionierte Ergebnisse erzielt werden (z. B. durch automatische Fangflaschenwechsler).

Dokumentation der Fallenstandorte und Leerungen

Um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu ermöglichen und spätere Vergleichserhebungen durchführen zu können, sollten grundsätzlich folgende Merkmale erfasst werden:

- Fallenstandort selbst (Geographische Koordinaten, Höhenlage)
- Qualitative Pflanzenartenliste im Umfeld der Falle (ca. 40-50 m Radius)
- Mindestens eine pflanzensoziologische Aufnahme im Zielhabitat oder bei Einsatz von Malaisefallen an Grenzlinien/Zonationen/Habitatmosaiken die Dokumentation beider(aller) Biotope, ggf. dann auch mehrere pflanzensoziologische Aufnahmen
- Standortfoto in relevanten Zeiten der Vegetationsperiode sowie ein
- Luftbild (z. B. Orthofoto mit hochauflösender Kameradrohne z. B. DJI Inspire oder DJI Phantom in standardisierter Flughöhe oder Übernahme des GPS-eingemessenen Standorts in ein aktuelles Luftbild mit dauerhafter Abspeicherung; Abb. 6). Reine Koordinatenangaben reichen nicht aus, da später oft die Luftbilder zum Zeitpunkt der Fallenexposition nicht mehr verfügbar sind.

Zusätzlich sollten zu jeder Fallenleerung im normalerweise ca. 14-tägigen Intervall als Begleitdaten der Zustand der Falle sowie erkennbare Nutzungen im Umfeld notiert werden.

Probenaufbewahrung

Zur Aufbewahrung der Proben der Malaisefallen sollten Polyethylenflaschen (PE; 500ml; 250ml) für den Gesamtfang jeder Fallenleerung verwendet werden. In den PE-Flaschen sollte die Konzentration des Ethylalkohol für die Archivierung auf knapp über 80% (Empfehlung Entomologischer Verein Krefeld: ca. 82-83%; 1%MEK) eingestellt und in Abständen von 5-10 Jahren die Konzentration kontrolliert werden. Jedes Gefäß muss einzeln innerhalb sowie außen mit einer alkohol- und wasserfesten Etikettierung versehen werden. Nach Untersuchungsstandorten und Zeitintervallen sortierte Proben sollten in Archivierungsboxen dunkel und kühl gelagert werden. Eine zusätzliche Verdunklung des Lagerraumes ist sinnvoll.

Die großen Mengen von Alkohol erfordern besondere Feuerschutzmaßnahmen.

Für teilsortierte Proben und die Endaufbewahrung von determinierten Tieren oder DNA-Vouchers haben sich chemikalienbeständige und altersbeständige Schraubröhren aus Polypropylen, PP mit Schraubdeckel mit Silikondichtring bewährt (z.B. Firma. Sarstedt, Nümbrecht www.sarstedt.com in 8 ml oder 2 ml). Einfache alkoholbeständige Plastikgefäße wie z. B. im medizinischen Bedarf verwendet werden sind zur Vorsortierung und zeitweisen Lagerung der Proben verwendbar, erfüllen jedoch nicht die Anforderungen an dauerhafte sichere Lagerung. Rollrandgläschen etc. sind wenig geeignet, da die Deckel altern und brüchig werden, das gleiche gilt für viele andere Kunststoffe, sowie für Dichtungen der Deckel mit Kork oder Gummieinlagen.

Alternativ können Glasröhrchen verwendet werden, die zur Lagerung in größeren mit Alkohol zusätzlich befüllten Gefäßen aufbewahrt werden (schlechterer Zugang zu den Einzelproben, keine Twist-Off Gläser verwenden, da die Deckel rosten können, ggf. spezielle Präparategläser verwenden). Hierbei sind Glasröhrchen auf Borosilikatbasis gegenüber Kalknatronglas zu bevorzugen, da letztere durch Kationenaustausch massiv den pH-Wert beeinflussen und zur irreversiblen Beschädigung des Materials führen können (Kotrba & Golbig 2011). Dieses Verfahren ist bestens geeignet für die langfristige Aufbewahrung, jedoch umständlich in der Handhabung. Für Tiere, mit denen noch gearbeitet werden soll, empfehlen wir daher die zuvor erwähnte Methode mit den Polypropylen-Röhrchen, die sich übersichtlich in Boxen mit Rastereinsätzen lagern lassen und ein rasches Auffinden bestimmter Röhrchen erlauben.

Für die dauerhafte Lagerung von Gewebeproben (Beine für DNA-Analysen) und für die DNA-Proben sind folgende Lagerbedingungen optimal:

Gewebeproben: nach Möglichkeit in hochprozentigem EtOH (96%) lagern, da jedes Gramm Wasser über die Zeit die DNA hydrolytisch angreift. Ethanole mit mehr als 96% (99,9%, „absoluter Alkohol") sind zu vermeiden, da hier Trocknungsmittel eingesetzt werden, die später eine DNA Verarbeitung behindern können. Optimal ist eine Lagerung in flüssigem Stickstoff bei ca. -196°C. Generell gilt, je kälter desto besser die Konservierung. Häufiges Auftauen und Wiedereinfrieren ist zu vermeiden. Material mit solchen Zyklen besser in einem Kühlschrank (zwischen)lagern.

DNA-Proben: getrocknet bei Raumtemperatur und niedriger Luftfeuchtigkeit oder in flüssigen Stickstoff.

Für die Sicherstellung einer langfristigen, optimalen Lagerung ist eine Kooperation mit einer professionellen Biobank anzustreben. Potentielle Partner können über das „Global Genome Biodiversity Network" identifiziert werden (http://www.ggbn.org).

Biomassebestimmungen

Die Malaisefallenmethodik ermöglicht abschätzende Aussagen zur Biomasse an den verschiedenen Fallenstandorten. Um zu vergleichbaren Ergebnis zu gelangen, muss die Messung standardisiert erfolgen:

Der Ethylalkohol mit den enthaltenen Insekten und anderen Arthropoden (darüber hinausgehende Fänge wie z. B. Nacktschnecken werden aussortiert) wird über einem Edelstahl-Feinsieb (Maschenweite < 0,5 mm) abgeschüttet.

Es wird solange gewartet, bis die Tropfenfolge länger als ca. 10 Sekunden beträgt.

Nach dem Abwiegen mit einer Feinwaage (mind. Messgenauigkeit < 0,1 g) werden Tiere und Ethylalkohol wieder in

die Polyethylenflaschen zurückgegeben.

Alle verwendeten Materialien (Siebe, Trichter, Waage, Messgenauigkeit etc.) und deren Anwendung sollten hierüber normiert sein (vgl. Hallmann et al. 2017; Schwan et al. 1993). Die so erhobene Masse, gibt einen Hinweis auf das relative Maß der im zeitlichen Intervall aktiven Biomasse am Standort der jeweiligen Falle. Die Abtropfmasse besteht überwiegend aus flugaktiven Insekten.

Um sicherzustellen, dass die Messung der Insekten-Biomassen in allen Details nach dem gleichen Verfahrensgang erfolgt, wurde für den Prozess im F+E „Biodiversitätsverluste in FFH Lebensraumtypen des Offenlandes" ein Video angefertigt und in den Entomologischen Sammlungen Krefeld archiviert (http://www.entomologica.org/vd/biomass01.mp4).

Soll die Artbestimmung aus den Proben ggf. später durch molekulare Artbestimmung bearbeitet werden, müssen die Arbeitsvorgänge mit sterilisierten Gefäßen/ Sieben durchgeführt werden.

Probensortierung und Determination

Je nach Fragestellung können aktuelle aber auch archivierte Proben für vergleichende Analysen herangezogen werden. Die konservierten Proben können für ergänzende Determinationen, taxonomische Überprüfungen etc. jederzeit auch später noch herangezogen werden, sofern sie fachgerecht konserviert wurden (s.o.). Eine gute Dokumentation vorausgesetzt, können die Proben z. B. zur Bewertung von Trends für verschiedene Habitate oder zu ausgewählten Insektengruppen herangezogen werden.

In vielen Projekten wird bisher so vorgegangen, dass Spezialisten für einzelne Tiergruppen gebeten werden, sich ihre Gruppen aus den Proben selbst herauszusuchen. Da bei jedem Sortierdurchgang z.T. bestimmungskritische Merkmale verlorengehen (Abbrechen von Beinen, Borsten etc.) und die Proben allmählich an Qualität einbüßen, empfiehlt es sich die Anzahl der Sortierdurchgänge zu minimieren, optimal ist eine Vorsortierung in nur 1-2 Durchgängen. Damit sollte die Vorsortierung möglichst alle Gruppen, die voraussichtlich später bearbeitet werden können / sollen, erfassen. Dies spart erheblich Zeit für die nachfolgende Bearbeitung durch Artspezialisten, erhöht die Bereitschaft der (oft ehrenamtlichen) Mitarbeit von Spezialisten und garantiert eine gute Qualität auch des Restmaterials, welches ggf. später für weitere Vergleiche / Auswertungen wieder benötigt wird. (vgl. hierzu z. B. Doczkal 2017). Bei speziellen Fragestellungen (z. B. Mikrohymenopteren) kann eine halbautomatische Vorsortierung in Größenklassen hilfreich sein (Buffington & Gates 2008), die jedoch unvermeidbar zu Beschädigungen an den empfindlichen Mikro-Diptera führen.

Damit steigt der Anspruch an die Vorsortierung erheblich, da hier bereits viele Gruppen auf Familienniveau für Dipteren und Hymenopteren, oder zumindest auf Ordnungs- bzw. Unterordnungsniveau sicher erkannt werden müssen. Dies ist erfahrungsgemäß nur nach längerer intensiver Einarbeitung und entsprechender Qualifikation möglich und effektiv umzusetzen, keinesfalls aber von unerfahrenen (studentischen) Hilfskräften. Schon bei wenigen Fallen lohnt sich hier ein Probensortierzentrum einzurichten, was eine permanente berufliche Perspektive für Sortierpersonal bietet und die Archivierung/Verwaltung der Proben einschließlich Verleih an die einzelnen Artexperten organisiert. Die Vorsortierung ist oft ein „Flaschenhals" von Malaisefallen-Projekten. Die großen Mengen an Insekten stellen selbst für erfahrene Entomologen eine Herausforderung dar. Eine realistische Planung der Vorsortierung ist dringend anzuraten, da andernfalls die Projektziele infolge gescheiterter Probensortierung gefährdet sind. Dieser häufig vernachlässigte oder unterschätzte Schritt ist eine unumgängliche Vorbedingung für alle auf morphologischer Determination basierenden Projekte.

Die Determination erfolgt in der Regel morphologisch durch Artexperten, wobei Anzahl, Geschlecht jeder Art letztendlich in Datenbanken eingegeben werden. Eine alphanumerische „unique ID" (BR-2018-1307) verbindet das Belegexemplar (ggf. DNA-Voucher) mit dem Datenbankeintrag idealerweise. Bei großen Individuenzahlen empfiehlt sich die Aufbewahrung getrennt nach Arten und Leerungsperioden in Einzelröhrchen (Aufwand für individuelle Einzeletikettierung zu hoch). Das bestimmte Material sollte ebenfalls vollständig aufbewahrt werden (in aller Regel als Alkoholsammlung), da bei späteren Vergleichen oft einzelne Arten verifiziert werden müssen, z. B. aufgrund neuerer Erkenntnisse zur Taxonomie oder bei Entdeckung neuer Arten. Nur so sind über längere Zeiträume hinweg abgesicherte Vergleiche möglich und ggf. Determinationsfehler korrigier- und überprüfbar.

DNA-Methoden (Barcoding, NGS etc.)

Die Beständigkeit und Verwendbarkeit von DNA ist von vielen Faktoren abhängig. DNA kann durch Konservierungsflüssigkeiten oder Zusätze zerstört werden, zersetzt sich aber auch langsam im Laufe der Zeit in Abhängigkeit von Lagerbedingungen der Proben, insbesondere auch der Temperatur. Grundsätzlich stehen verschiedene DNA-Methoden zur Artbestimmung zur Verfügung, die wichtigsten sind derzeit:

DNA-Barcoding

Hierbei wird ein relativ kurzer mitochondrialer DNA-Abschnitt von 658 Basenpaaren verwendet, der im Regelfall eine Erkennung von Arten erlaubt. Vergleichsbibliotheken der DNA-Barcodes werden im GBOL-Projekt Deutschlands (https://www.bolgermany.de/) und im Projekt Barcoding Fauna Bavarica (BFB) der Zoologischen Staatssammlung München seit mehreren Jahren aufgebaut und erlauben inzwischen die Determination von ca. 60-70% in vielen Artengruppen. Sie sind z.B. für Großschmetterlinge annähernd vollständig. Allerdings gibt es auch Artengruppen bei den Insekten mit noch geringem Prozentsatz in den Vergleichsbibliotheken (z. B. viele Familien der Diptera & Hymenoptera) und es gibt bestimmte Artengruppen, wo eine Bestimmung mit DNA-Barcode nicht funktioniert, da sich die Barcodes von nahe verwandten, morphologisch klar unterscheidbaren Arten nicht unterscheiden oder die Barcodes eine Überlappung aufweisen. In diesen Fällen sind die genetischen Unterschiede zwischen den Arten nur mit DNA-Analysen mehrerer Gene oder Genabschnitte oder Genomanalysen nachweisbar und für Monitoring-Zwecke nicht verwendbar. Klarer Vorteil des Barcoding: Relativ preiswert, Größenordnung von ca. 1 € (in Kombination mit Next Generation Sequenzing (NGS) im Plattenmaßstab (Meier et al. 2016, Wang et al. 2018)), bis € 30,- bei kommerziellen Anbietern zu Einzelproben (pers. comm. Fa. AIM) pro Bestimmung.

Möglichkeiten der Probenahme:

- einzelnes Bein bei Erhalt des übrigen Tieres für morphologische Überprüfungen
- nicht destruktive Extraktion der DNA (Lyse) aus dem Gesamttier unter weitgehendem Erhalt des Tieres (intakte Außenhülle, Insekt noch präparierbar und morphologisch bestimmbar)
- Bestimmung der DNA aus dem Probenalkohol der Fangflaschen der Malaisefallen direkt
- Diese Verfahren befinden sich derzeit auch mit aktuellen und verschieden lang gelagerten Probensätzen (1 - 30 Jahre) des EVK in der Evaluation und werden in den Barcoding-Projekten des ZFMK (GBOL) und des BFB in der ZSM weiterentwickelt, getestet und evaluiert.

Abbildung 6. Beispiel für ein Luftbild eines Malaisefallenstandorts, aufgenommen mit einer Kamera-Drohne, Latumer Bruch, 02.04.2017 (© M. Sorg/EVK)

Metabarcoding

Das Metabarcoding ist eine schnelle Methode zur DNA-basierten Identifizierung einer ganzen Artengemeinschaft aus einer komplexen Umweltprobe (z. B. Bodenprobe, Wasserprobe oder Malaisefallenflasche eines Fangintervalls). Beim Metabarcoding werden aus der Gesamt DNA in Kombination mit Hochdurchsatztechnologien simultan Barcodes aller enthaltenen Taxa generiert. Eine bioinformatorische Verarbeitung gleicht die Millionen von Sequenzen gegen vorhandene Referenzbibliotheken ab und gibt eine Artenliste aus. Ferner können durch spezifische Markierung mehrere Proben gleichzeitig gefahren werden (Yu et al. 2012, Brandon-Mong et al. 2015).

Möglichkeiten der Probenahme:

- Bestimmung der DNA aus dem dekantierten Probenalkohol ganzer Fangflaschen
- DNA-Extraktion der Gesamtprobe eines Fangintervalls durch Lyse-Puffer
- Homogenisierung der Gesamtprobe (Nachteil: Danach nicht mehr überprüfbar und daher für Monitoring nicht zu empfehlen)

DNA-Methoden entwickeln sich derzeit rasch weiter, sowohl was die Ansprachegenauigkeit als auch was die Sicherheit des Artnachweises aus Mischproben angeht. Daher ist es durchaus möglich und sinnvoll ggf. einen Teil zunächst nur fachgerecht zu lagern, um sie später kostengünstiger und besser mit DNA-Methoden bearbeiten zu können.

Wesentlicher Nachteil bei der Anwendung des NGS oder gemischter Proben im Barcoding: Man erhält lediglich eine Artenliste (Vollständigkeit je nach Methodik bei derzeit ca. 70-80%), ohne jedoch Mengenangaben (Abundanzen), die im Naturschutz oft von entscheidender Bedeutung sind. Auch Angaben zum Geschlechterverhältnis/ Vitalität der Populationen sind nicht ableitbar.

Klarer Vorteil: Auch ohne Spezialisten sind schnelle Ergebnisse als vorläufige Artenlisten ohne aufwändige Einzeldetermination möglich, die ggf. auch unbeschriebene oder bisher nicht in DNA-Datenbanken vorhandene Arten („molecular operational taxonomic units (MOTUs)“ mit erfassen. Hierbei besteht die Möglichkeit sehr rationell Gesamtmessgrößen der α – Diversität flugaktiver Insekten aus den Probenserien zu erhalten.

DNA-Methoden mit Erhalt des Probenmaterials für „konventionelle“ morphologische Determination sind in jedem Falle zu bevorzugen, da hierüber quantifizierbare Aussagen zur Häufigkeit auch im nach hinein möglich sind und nicht per DNA ermittelte bzw. ermittelbare Arten erfassbar sind.

Im Unterschied zur konventionellen Artbestimmung oder dem Barcoding einzelner Individuen erhält man beim Metabarcoding eine Auflistung aller MOTU´s bzw. BIN´s aus einer Mischprobe – oder aus der Mischprobe extrahierter Substanz. Der Ursprung des Signals ist hierbei nicht zwingend ein 1:1 Bezug zu den in die Falle eingeflogenen Insektenarten. Vielmehr kann es sich hierbei auch – zusätzlich - um z. B. Inhalte des Verdauungstraktes der Individuen oder außen an den Tieren haftende Gewebepartikel handeln.

Weitere Auswertemöglichkeiten und Forschungsbedarf

Bei der Anwendung von DNA-Techniken können auch weitergehende Informationen aus den Malaisefallen gewonnen werden:

- In die Fallen werden über Parasiten z. B. auch Haare, aufgenommenes Blut oder andere organische Substanzen von Säugetieren und Vögeln oder anderen Tiergruppen eingetragen, so dass sich z. B. auch das Vorkommen von Arten im Umfeld der Fallen (Forschungsbedarf) feststellen lässt die nicht direkt als Individuen in die Proben gelangt sind.
- Ebenso wird Pollen v.a. von entomophilen Pflanzen eingetragen, der auch eine Bestimmung von Pflanzenarten ermöglicht.
- Ferner eröffnen sich eine ganze Reihe von wissenschaftlichen Fragestellungen, z. B. die Erforschung von Wirt-Parasitbeziehungen, die Zuordnung von morphologisch unbestimmbaren Weibchen etc.

Fluktuationen:

Viele Insektenarten weisen natürlicherweise hohe Fluktuationen und ein relativ hohes Artenturnover von Jahr zu Jahr auf. Dies ist von Witterungsverhältnissen und weiteren Faktoren abhängig und erschwert die Auswertung von Fangergebnissen einzelner Jahre. Eine Möglichkeit hier bei Untersuchungsprogrammen zu einer Ergänzung der Daten zu kommen ist eine kleinere Anzahl von Referenzstandorten durchgängig jedes Jahr zu beproben, ggf. mit einer geringeren Expositionsdauer von intermittierendem Fang von 10-14 Tagen über das ganze Jahr (Probennahme nur jedes 2 Fangintervall).

Über Malaisefallen lassen sich wegen ihrer Langzeitexposition auch Flugzeiten und deren Veränderungen im Zuge des Klimawandels analysieren. Für vollständige Erfassung von Arten mit sehr kurzer Flugzeit und die genaue Analyse der Phänologien empfiehlt sich, kürzere Leerungsintervalle von einer Woche zu verwenden. Bei ausreichend vielen Standorten in einem breiten Biotoptypenspektrum lassen sich selbst für weniger häufige Arten Habitatpräferenzen und Aktivitätsdiagramme ableiten, die sonst durch direkte Beobachtungen nur mit erheblichem Aufwand oder gar nicht möglich wären (Beispiele in Ssymank & Doczkal 2017).

Möglichkeiten abgestufter Konzepte zur Auswertung von Malaisefallenmaterial

Beim Aufbau eines größeren Projektes/ Programmes zur Untersuchung von Gebieten oder im Zuge eines Monitorings mit Malaisefallen ist es zweckmäßig abgestuft zu verfahren:

1. Priorität hat die Auswahl geeigneter Probeflächen, ihre vollständige Erstdokumentation und die Durchführung der Beprobung (Aufstellen und Leeren der Fallen).
2. Die Biomassebestimmungen ermöglichen einen schnellen Überblick und eine Quantifizierung der Gesamt-Insektenbiomasse ohne allzu großen Aufwand, jeweils noch im gleichen Jahr der Probenahme bzw. spätestens im Winter nach Probenahme.
3. Reichen Mittel und Möglichkeiten für eine weitere Bearbeitung (zunächst) nicht aus, kann die weitere Bearbeitung bei sachgemäßer Probenlagerung mehrere Jahre für DNA-Proben, bei morphologischer Bearbeitung sogar nahezu unbegrenzt unterbrochen werden.
4. Eine möglichst weitgehende Vorsortierung der Proben eröffnet die Möglichkeit je nach Verfügbarkeit von Spezialisten, weiteren Fragestellung etwa Synergien bei der Erarbeitung von Roten Listen jederzeit auf die Proben gezielt zugreifen zu können.
5. Wichtige Artengruppen können so stückweise bearbeitet werden oder Fallenvergleiche zwischen älteren und neueren Beprobungen auch gezielt zu einem späteren Zeitpunkt noch erfolgen.

Aufwandsabschätzungen

Alle Angaben sind Durchschnittsangaben für die Anwendung von 10 Malaisefallen und nehmen Bezug auf gut eingearbeitetes Personal bei räumlich nicht zu weit voneinander entfernten Standorten (Umkreis von ca. 10-15 km).

In der Anfangsphase sind z.T. erheblich längere Zeiten einzurechnen, v.a. bei der Vorsortierung. Bei weit verstreut liegenden Fallen oder schwerer Zugänglichkeit der Fallen sind erheblich längere Zeiten für den Fallenbetrieb einzurechnen.

Freilandarbeiten:

1. Vorbereitung des Fallenbetriebs mit Einholung der notwendigen Ausnahmegenehmigungen, Vorauswahl der Flächen, Abstimmung mit Flächeneigentümern & Flächennutzern, Pächtern etc., ggf. notwendige vor Ort-Termine: ca. 20-30 h.
2. Detailwahl Standorte: 2 Tage à 2 Personen (ca. 30-40 h).
3. Probeflächendokumentation (Fotos, Lufbilder mit Drohne, pflanzensoziologische Aufnahme, Habitatmerkmale, inkl. Anfahrt, u.a.): 2-3 Tage à 2 Personen (ca. 40 h).
4. Aufbau und Abbau: 2 Tage à 2 Personen (30-40 h).
5. Vorbereitung/ Etikettierung von Fangflaschen sowie Auffüllen des Alkohols : 2 Tage (16-20 h).
6. Hochkonzentrieren des Alkohols direkt am Tag nach dem Flaschenwechsel – Ermittlung der Biomasse nur wenn der Alkohol bei stabil ca. 80% eingestellt ist.
7. Fallenbetrieb (Leerung und ggf. notwendige Reparaturen, bei 14 tägiger Leerung, 20 Leerungsintervalle): ca. 100 h.
8. Im Falle eines notwendigen Tausches von einzelnen Fallen wegen nicht vorhersehbarer Beschädigung, sind erneut Zeiten für den Aufbau einzurechnen.

Gesamtzeit für 10 Fallen: ca. 230 – 270 h.

Biomassenwägungen:

ca. 4-6 Tage. Bei sterilem Arbeiten für spätere DNA-Analysen aus dem Probenalkohol ist ungefähr die doppelte Zeit anzusetzen.

Probenvorsortierung:

Stark abhängig vom Umfang der Proben und Kenntnisstand der SortiererInnen. (bei gut eingearbeitetem Personal, ca. 30-40 Fraktionen): ca. 1.000 - 5.000 h.

Materialaufwand:

1. Malaisefalle (Netze der Fangeinrichtung, Schnüre, Pflöcke und Hilfsmittel zum Aufbau): ca. 440,- € pro Falle und Jahr (Kostenansatz des EVK, jährlich neue Netze, nur die in der Preisangabe nicht enthaltenen V_2A Bauteile des Fallenkopfes werden weiterverwendet). Bei 10 Fallen sollten 1-2 Ersatznetze eingeplant werden, im Falle von Beschädigungen während des Freilandbetriebs.
2. Ethanol 80%, 1%MEK (ca. 150 l) für den Fallenbetrieb (ggf. 96% Ethanol unvergällt für Metabarcoding)
3. Proberöhrchen zur Fraktionierung: ca. 6.000 - 8.000 Stück.
4. Proberöhrchen zur Determination: je nach Anzahl der Fraktionen bzw. der Zielsetzung der Auswertung.
5. Ethanol für die Vorsortierung und Determination des Materials: ca. 100 l oder mehr in Abhängigkeit von der Vollständigkeit der Determination und der erfassten Insekten.

Nicht abgeschätzt: Kostenaufwand für Probenlagerung, DNA-Barcoding oder Labormethoden, sowie die Kosten/Arbeitszeiten für die Determination (unterschiedlicher Aufwand für verschiedene Taxa).

Danksagung

Für Anregungen zum Manuskript danken wir Frau Dr. Sandra Balzer (Bundesamt für Naturschutz, Bonn).

Literatur

BfN (o. Jahr): Monitoring gemäß FFH-Richtlinie. URL: https://www.bfn.de/themen/monitoring/monitoring-ffh-richtlinie.html (zuletzt gesehen 04.04.2018).

BfN / Bundesamt für Naturschutz (2015): Artenschutz-Report 2015. Tiere und Pflanzen in Deutschland. – Bonn (Bundesamt für Naturschutz): 61 S. URL: http://www.bfn.de/fileadmin/BfN/presse/2015/Dokumente/Artenschutzreport_Download.pdf (zuletzt gesehen: 13.11.2017).

Binot-Hafke, M., Balzer, S., Becker, N., Grutke, H., Haupt, H., Hofbauer, N., Ludwig, G., Matzke-Hajek, G. & M. Strauch (Red.) (2013): Rote Liste gefährdeter Tiere, Pflanzen und Pilze Deutschlands: Wirbellose Tiere (Teil 1). – Naturschutz und Biologische Vielfalt 70(3): 716 S.

Biesmejier, J.C. (2006): Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and in the Netherlands. – Science (New York) 313 (5785): 347-351. DOI: 10.1126/science.1129551.

Brandon-Mong, G.-J., Gan, H.-M., Sing, K.-W., Lee, P.-S., Lim, P.-E. & J.-J. Wilson (2015): DNA metabarcoding of insects and allies: an evaluation of primers and pipelines. – Bulletin of entomological research 105(6): 717–727.

Buffington, M. & M., Gates (2008): The Fractionator: a simple tool for mining 'Black Gold'. – Skaphion 2(24): 1–4.

Churchfield, S., & Searle, J. B. (2008): Pygmy shrew Sorex minutus. In: Mammals of the British Isles (4. Ausgabe) (Hrsg.: S. Harris & D. W. Yalden). The Mammal Society, Southampton: 267-271.

Dathe, H. H. & S. M. Blank (2004): Nachträge zum Verzeichnis der Hautflügler Deutschlands, Entomofauna Germanica Band 4 (Hymenoptera). (1). – Entomologische Nachrichten und Berichte, 48(3–4): 179–183.

Daugeron, C., Deharveng, L., Isaia, M., Villemant, C. & M. Judson (2015a): Mercantour/Alpi Marittime All Taxa Biodiversity Inventory. - ZOOSYSTEMA 37 (1): 9–30.

Daugeron, C., Deharveng, L., Isaia, M., Villemant, C. & M. Judson (2015b): Mercantour/Alpi Marittime All Taxa Biodiversity Inventory. - ZOOSYSTEMA 37 (4): 667–679.

DLIA (o. Jahr): Discover Life of America. URL: https://dlia.org/ (zuletzt gesehen: 05.04.2018).

Doczkal, D. (2017): Kap. 6: Vorsortierung der Proben und Vollständigkeit der Erfassung. – - In: Ssymank, A. & Doczkal, D. (Hrsg.): Biodiversität des südwestlichen Dinkelbergrandes und des Rheintals bei Grenzach-Wyhlen. Mauritiana (Altenburg) 34 (2017): 463-475.

EDIT (o. Jahr): EDIT WP7 – Applying Taxonomy to Conservation – European Distibuted Institute of Taxonomy. URL: http://www.atbi.eu/wp7/IPBE (zuletzt gesehen: 05.04.2018).

EEA (2013): The European Grassland Butterfly Indicator: 1990-2011. – EEA Technical Report No. 11/2013. URL: https://www.eea.europa.eu/publications/the-european-grassland-butterfly-indicator-19902011 (zuletzt gesehen: 05.04.2018).

Eymann, J., Degreef, J., Häuser, Ch., Monje, J.C., Samyn, Y. & D. van den Spiegel (2010): Manual on field recording techniques and protocols for all Taxa Biodiversity Inventories and Monitoring.- ABC Taxa Vol. 8(1): 1-330; 8(2): 331-653.

Geiger, M., Moriniere, J., Hausmann, A., Haszprunar, G., Wägele, W., Hebert, P. & B. Rulik (2016): Testing the Global Malaise Trap Program – How well does the current barcode reference library identify flying insects in Germany? Biodiversity Data Journal 4: e10671. https://doi.org/10.3897/BDJ.4.e10671 (zuletzt gesehen: 05.04.2018).

Grutke, H., Binot-Hafke, M., Balzer, S., Haupt, H., Hofbauer, N., Ludwig, G., Matzke-Hajek, G. & M. Ries (Red.) (2016): Rote Liste gefährdeter Tiere, Pflanzen und Pilze Deutschlands: Wirbellose Tiere (Teil 2). – Naturschutz und Biologische Vielfalt 70(4): 598 S.

Hallmann, C.A., Sorg, M., Jongejans, E., Siepel, H., Hofland, N., Schwan, H., Stenmans, W., Müller, A., Sumser, H., Hörren, T., Goulson, D. & H. de Kroon (2017): More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas.- PLoS ONE 12(10): e0185809. URL: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185809

IPBES (2016): The assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination and food production. S.G. Potts, V. L. Imperatriz-Fonseca, and H. T. Ngo, (eds). Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany. 552 pages. URL: https://www.ipbes.net/sites/default/files/downloads/pdf/individual_chapters_pollination_20170305.pdf (zuletzt gesehen: 05.04.2018).

Köhler, F. (2011): 2. Nachtrag zum „Verzeichnis der Käfer Deutschlands“ (Köhler & Klausnitzer 1998) (Coleoptera). – Entomologische Nachrichten und Berichte (Dresden) 55: 109–174, 247–254.

Kotrba, M. & K. Golbig (2011): Effect of container glass quality on pH in natural history wet collections. – Collection Forum 25(1): 135–139.

Malaise, R. (1937): A new insect trap.- Entomologisk Tidskrift, 58: 148–160.

Matthews, R.W. & J.R. Matthews (1983): Malaise traps: the Townes model catches more insects. Contributions of the American Entomological Institute. 20: 428–432.

Meier, R., Wong, W., Srivathsan, A. & M. Foo (2016): $1 DNA barcodes for reconstructing complex phenomes and finding rare species in specimen-rich samples. – Cladistics 32(1): 100–110. doi: 10.1111/cla.12115

Ronquist, F. (2010): 250 Years of Swedish Taxonomy . In: Polaszek A (Ed.) Systema Naturae 250 - The Linnaean Ark. CRC Press 239–248. pp.

Rulik, B., Nicot, E., Pannes, P., Schnell, M. & W. Wägele (2014): AMTC: Automated Malaise Trap Changer. In: Dorchin, N., Kotrba, M., Mengual, X. & F. Menzel (Eds): 8th International Congress of Dipterology – Abstract volume. Potsdam, 440 pp. [ISBN 978-3-932795-36-7].

Sachteleben, J. & M. Behrens (2010): Konzept zum Monitoring des Erhaltungszustandes von Lebensraumtypen und Arten der FFH-Richtlinie in Deutschland. - Ergebnisse des F+E-Vorhabens „Konzeptionelle Umsetzung der EU-Vorgaben zum FFH-Monitoring und Berichtspflichten in Deutschland“. - BfN-Skripten 278, 183 S.

Schumann, H. (2010): Dritter Nachtrag zur Checkliste der Dipteren Deutschlands. – Studia dipterologica 16(1): 17–27.

Schwan, H., Sorg, M. & W. Stenmans (1993): Naturkundliche Untersuchungen zum Naturschutzgebiet „Die Spey“ (Stadt Krefeld, Kreis Neuss) - I. Untersuchungsstandorte und Methoden.- Natur am Niederrhein (N.F.), 8(1): 1-13.

Sorg, M. (1990): Entomophage Insekten des Versuchsgutes Höfchen (BRD, Burscheid). Teil I. Aphidiinae (Hym., Braconidae).- Pflanzenschutz-Nachrichten 43 (1/2): 29-45.

Sorg, M., Schwan, H., Stenmans, W. & A. Müller (2013): Ermittlung der Biomassen flugaktiver Insekten im Naturschutzgebiet Orbroicher Bruch mit Malaise Fallen in den Jahren 1989 und 2013.- Mitteilungen Entomologischer Verein Krefeld Vol. 1(2013): 1-5.

Ssymank, A. & D. Doczkal (Hrsg.) (2017): Biodiversität des südwestlichen Dinkelbergrandes und des Rheintals bei Grenzach-Wyhlen – eine Bestandsaufnahme im südwestlichen Einfallstor Deutschlands für neue Arten in der Folge des Klimawandels. – Mauritiana (Altenburg) 34 (2017): 1-910.

Ssymank, A. (2017a): Kap. 3: Material und Methoden. - In: Ssymank, A. & D. Doczkal (Hrsg.): Biodiversität des südwestlichen Dinkelbergrandes und des Rheintals bei Grenzach-Wyhlen. – Mauritiana (Altenburg) 34 (2017): 57-70.

Ssymank, A. (2017b): Kap. 9: Ausblick und Überblick über die bisherigen Ergebnisse. - In: Ssymank, A. & Doczkal, D. (Hrsg.): Biodiversität des südwestlichen Dinkelbergrandes und des Rheintals bei Grenzach-Wyhlen. – Mauritiana (Altenburg) 34 (2017): 891-900.

Townes, H. (1972): A light-weight Malaise trap.- Ent. News 83: 239-247.

Wenzel, M., Schmitt, T., Weitzel, M. & A. Seitz (2006): The severe decline of butterflies on western German calcareous grasslands during the last 30 years: A conservation problem. – Biological Conservation 128(4): 542–552.

Wang, W. Y., Srivathsan, A., Foo, M., Yamane, S. K. & R. Meier (2018): Sorting specimen-rich invertebrate samples with cost-effective NGS barcodes: Validating a reverse workflow for specimen processing. – Molecular Ecology Resources doi: 10.1111/1755-0998.12751.

Yu, D. W., Ji, Y., Emerson, B. C., Wang, X., Ye, C., Yang, C. & Z. Ding (2012): Biodiversity soup: metabarcoding of arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring. – Methods in Ecology and Evolution, 3(4): 613–623.

Ziegler, J. (ed.) (2008): Diptera Stelviana Vol. 1. – Studia Dipterologica Supplement 16, 395 S. , Ampyx-Verlag, Halle.

Ziegler, J. (ed.) (2016): Diptera Stelviana Vol. 2. – Studia Dipterologica Supplement 21, 448 S. , Ampyx-Verlag, Halle.

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen:

AMTC: Automated Malaise Trap Changer, automatischer Fangflaschenwechsler an Malaisefallen

ATBI: All Taxa Biodiveristy Inventory, Forschungsprojekte zur Erfassung der gesamten Artenvielfalt eines Gebietes

BArtSchV: Bundesartenschutzverordnung

BfB: Barcoding Fauna Bavarica

BfN: Bundesamt für Naturschutz

BIN: Barcode Index Number, eindeutige Kennnummer für einen DNA-Barcode, wird z. B. dann benutzt, wenn die zugehörige Art (noch) nicht bekannt oder beschrieben ist

DLIA: Discover Life of America, Gesellschaft die sich die Erfassung der Artenvielfalt v.a. von Nationalparken in Amerika zur Aufgabe gemacht hat, und zum Monitoring und Management in den Schutzgebieten beiträgt

DNA: Desoxyribonukleinsäure (deoxyribonucleic acid), Polnukleotid, bestehend aus einer Kette von Nukleinsäuren, in der genetische Informationen gespeichert sind

EVK: Entomologischer Verein Krefeld

F+E: Forschungs- und Entwicklungsprojekte, von Bundeseite (Bundesumweltninisterium/ Bundesamt für Naturschutz) betreute und finanzierte angewandte Forschungsprojekte im Natur- und Umweltschutz

GBOL: German Barcoding of Life, Deutsches Projekt zur Erfassung der DNA-Barcodes aller in Deutschland vorkommenden Arten unter Leitung des Zoologischen Forschungsmuseum Alexander Koenig in Bonn

MEK: Methyl-Ethyl-Keton, Vergällungsmittel für Alkohol

MOTU: Molecular Operational Taxonomic Unit, aussagefähiger Teilbereich der DNA, der im Regelfall eine Artansprache ermöglicht, DNA-Barcodes sind ein Beispiel für MOTU‘s.

NGS: Next Generation Sequenzing

STI: (Swedish Taxonomy Initiative), ein faunistisches Grundinventar des Landes Schweden

ZFMK: Zoologisches Forschungsmuseum Alexander Koenig in Bonn

ZSM: Zoologische Staatssammlung München

Förderung:

Die Publikation wurde finanziert durch das F+E „Biodiversitätsverluste in FFH-LRT des Offenlandes“, gefördert durch das BfN mit Mitteln des BMU.