

Updates zum LTER-D Malaisefallenprojekt



Online, 16.3.2022

Dominik Buchner, Yuanheng Li, Steffen Pauls, Thomas Hörren, Beatrice Kulawig, Ellen Welti -
LTER-D-Teams, UDE/ZFMK/EVK-Mitarbeitende - sowie Florian Leese & Peter Haase

Updates zum LTER-D Malaisefallenprojekt - es geht gut voran -



Online, 16.3.2022

Dominik Buchner, Yuanheng Li, Steffen Pauls, Thomas Hörren, Beatrice Kulawig, Ellen Welti -
LTER-D-Teams, UDE/ZFMK/EVK-Mitarbeitende - sowie Florian Leese & Peter Haase

Herausforderung



40 Sites,
73 Fallen
Bis 30
Zeitpunkte

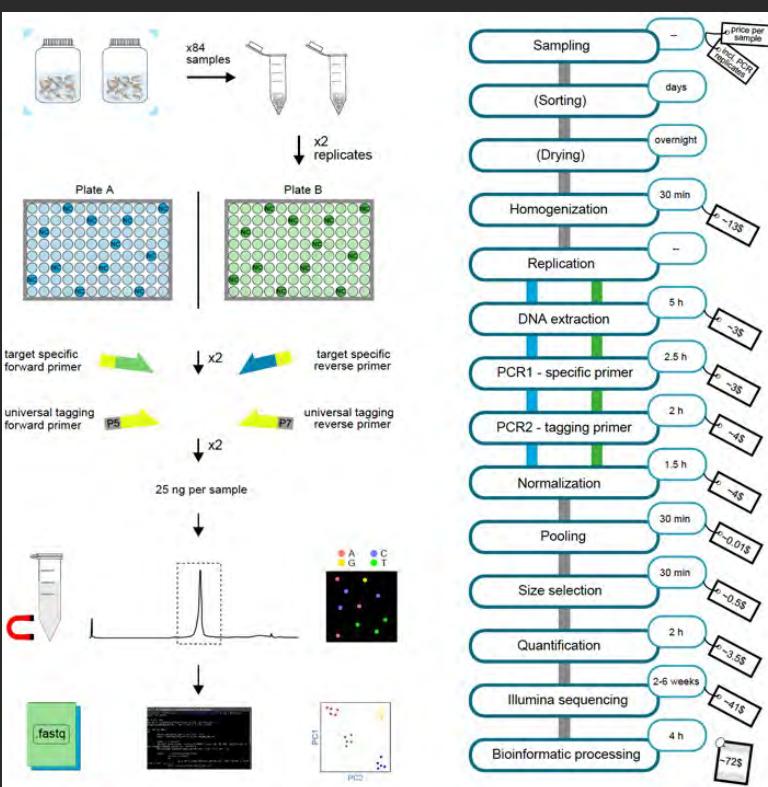


~2000
Proben



(x2 wg. Größen-
fraktionierung)

2020/2021: Upscaling



Original Research

Standardized high-throughput biomonitoring using DNA metabarcoding: Strategies for the adoption of automated liquid handlers

Dominik Buchner ^{a, 1}, Till-Hendrik Macher ^{a, 1}, Arne J. Beermann ^{a, b},
Marie-Thérèse Werner ^a, Florian Leese ^{a, b, *}

^a University of Duisburg-Essen, Aquatic Ecosystem Research, Universitätsstr. 5, 45141, Essen, Germany

^b University of Duisburg-Essen, Centre for Water and Environmental Research (ZWU), Universitätsstr. 3, 45141, Essen, Germany



eise
Environmental Science & Ecotechnology
环境科学与生态技术

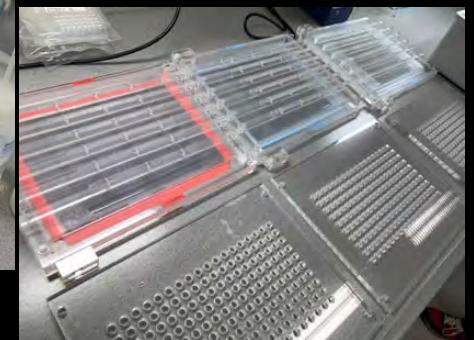
CN10-1431/X
pISSN 2069-8643
eISSN 2666-4984

BIOMONITORING
using automated DNA-based workflows

Biomonitoring is essential to assess the state and trace biodiversity change. Novel genetic methods such as DNA metabarcoding provide detailed information, yet are rarely scaled up for standardized high-throughput applications. In their research article, Dominik Buchner, Till Macher and coauthors outline and validate a workflow using automated liquid handlers to standardize and upscale assessments for fast, reliable and cost-effective environmental monitoring.

ELSEVIER

Backbone für Hochdurchsatz-Metabarcoding steht



- Size-Sorting
- Wet-Grinding
- Extraction
- PCR (small vol.)

Original Research

Standardized high-throughput biomonitoring using DNA metabarcoding: Strategies for the adoption of automated liquid handlers



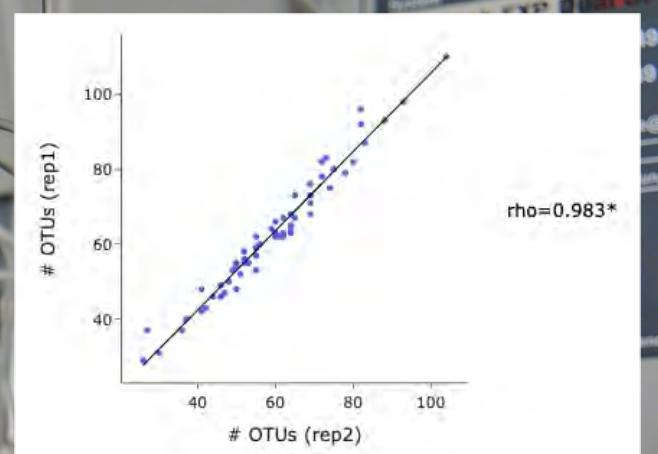
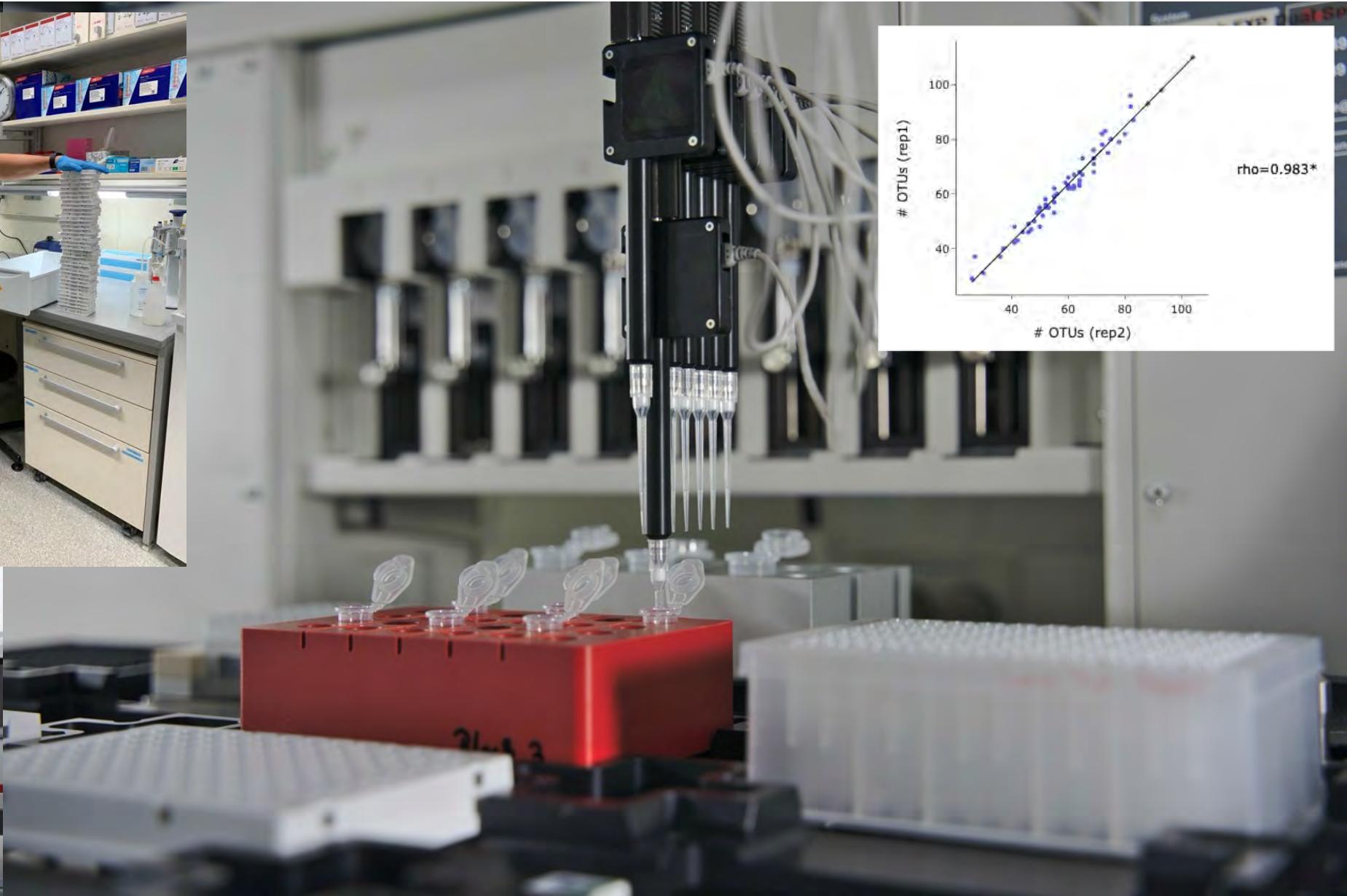
Dominik Buchner ^{a,1}, Till-Hendrik Macher ^{a,1}, Arne J. Beermann ^{a,b},
Marie-Thérèse Werner ^a, Florian Leese ^{a,b,*}

^a University of Duisburg-Essen, Aquatic Ecosystem Research, Universitätsstr. 5, 45141, Essen, Germany

^b University of Duisburg-Essen, Centre for Water and Environmental Research (ZWU), Universitätsstr. 3, 45141, Essen, Germany

Buchner, Macher et al. (2021)

Vamos et al. (2017) MBMG; Elbrecht & Steinke (2018) Freshw. Biol.; Elbrecht et al. (2021) PeerJ; Buchner et al. 2021 MBMG; Buchner et al. (2021) Ecol & Evol



Bioinformatische Analysen

- Große **Sequenziertiefe** für Malaisefallen wichtig!
- **Replikation** wichtig (QA/QC), mehr Taxa (Zizka et al. pre-print)
- Sonst Gefahr, dass wg. **Primer Bias** und **Biomasse-Bias** (trotz Größensorтировung) nur ein geringerer Teil der Insektdiversität detektiert wird
- Funktioniert nur, wenn **Negativkontrollen** sauber

- **APSCALE** (Open Source, plattformunabhängig, GUI...)
 - Cutadapt
 - Vsearch
 - Lulu
- **BOLDigger** (Abgleich BOLD, Ausweisen mögl. Problemfälle)

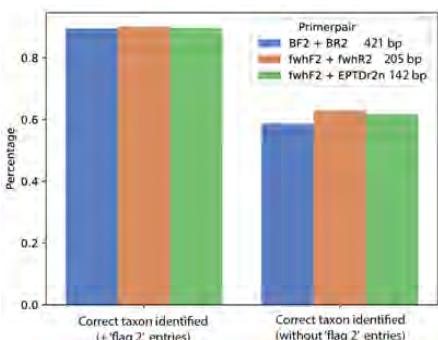


<https://pypi.org/project/apscale/>

Ratnasingham & Hebert (2007); Elbrecht et al. (2018), Buchner & Leese (2020), Macher et al. (2021), Buchner et al. (in review)

Prozesskette

- Insgesamt **1815 LTER-D Malaisefallen** analysiert
- (=4160 Metabarcodingproben für Sequenzierung)
- Primer **FwhF2/FwhR2n** (siehe Elbrecht et al. 2018, Piper et al. 2022 für Performance Tests bei terr. Insekten)
- Vorteil: kürzere Reads – größere Tiefe, trotzdem sehr gute taxonomische Zuordnung möglich

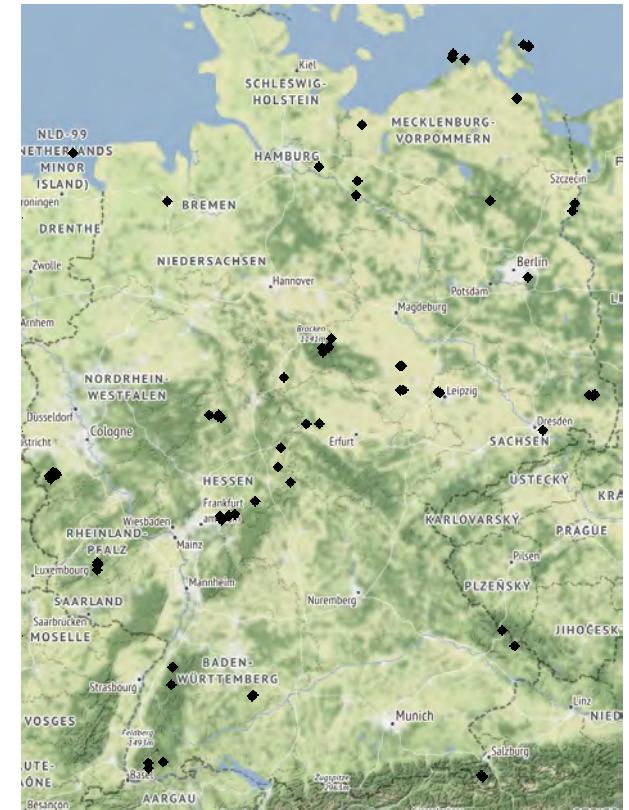


Leese et al. (2021) Env. DNA

Longer is Not Always Better: Optimizing Barcode Length for Large-Scale Species Discovery and Identification

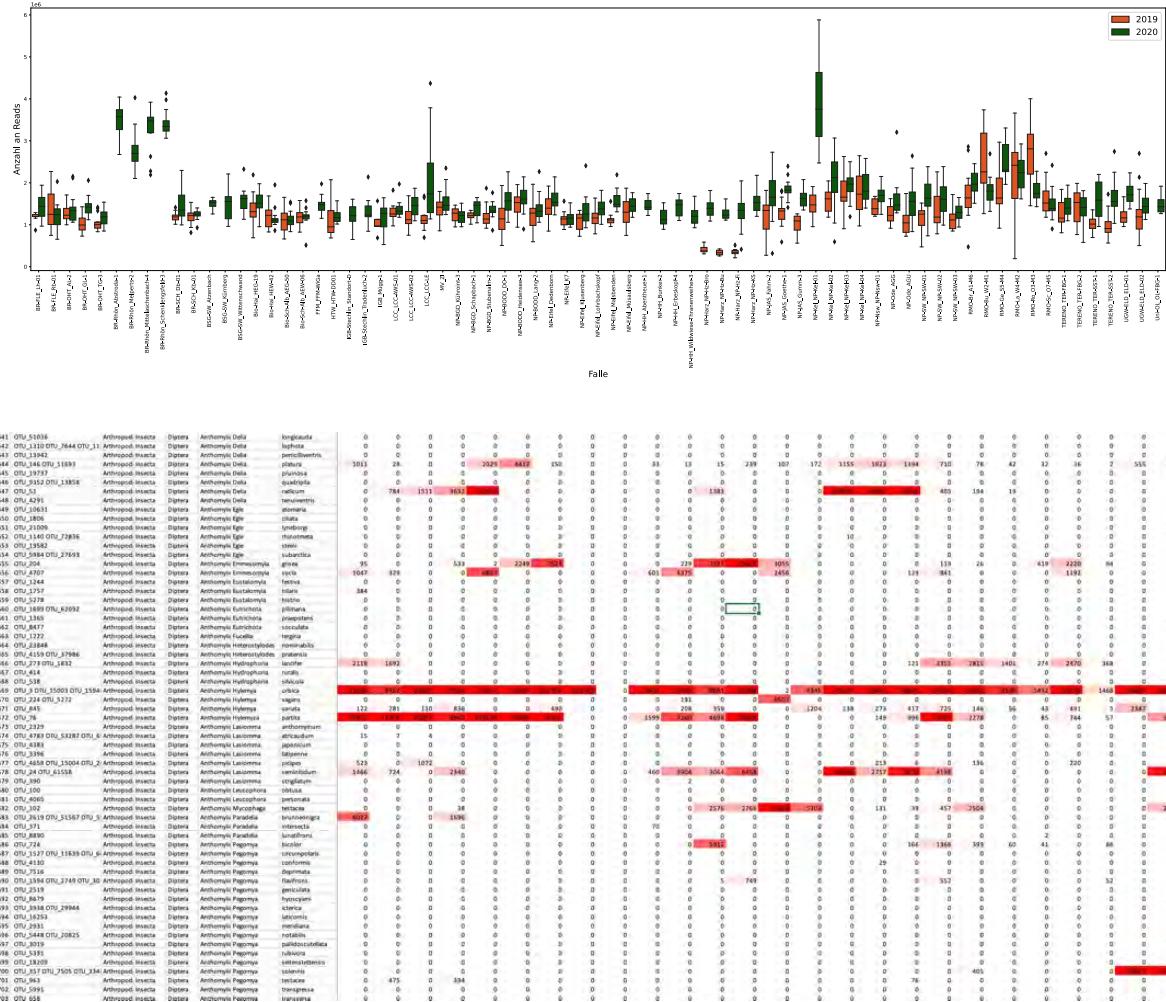
DARREN YEO¹, AMRITA SRIVATHSAN¹, AND RUDOLF MEIER^{1,*}

Yeo et al. (2020) Syst. Biol.



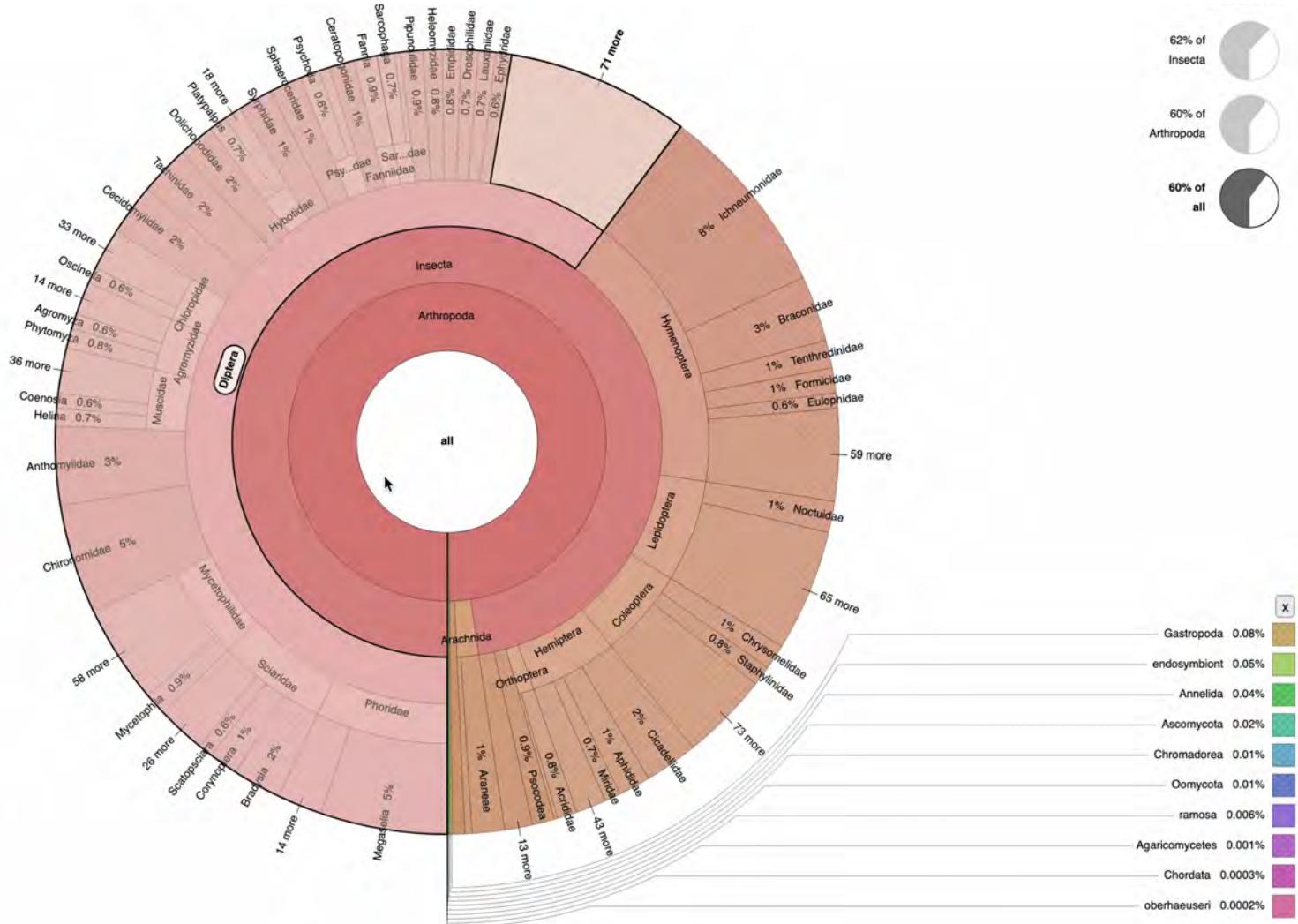
Prozesskette

- Resultate: Negativkontrollen mit Ausnahme von Einzelreads → leer
- Je Probe >1 Mio reads (je Replikat)
- >84.000 OTUs Clustering
- 16.688 OTUs auf Artlevel (BOLD 2%) zugeordnet
- 15.885 davon Insekten-OTUs (teilweise >1 OTU je Art)
- 12.303 distinkte Insektenarten → Validierung (GBOL, GBIF, EVK)



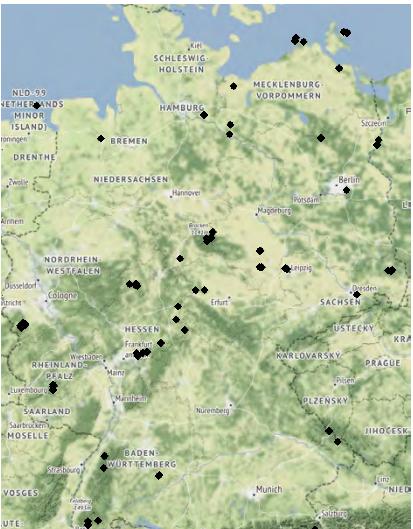
Preliminary data!

Ergebnisse

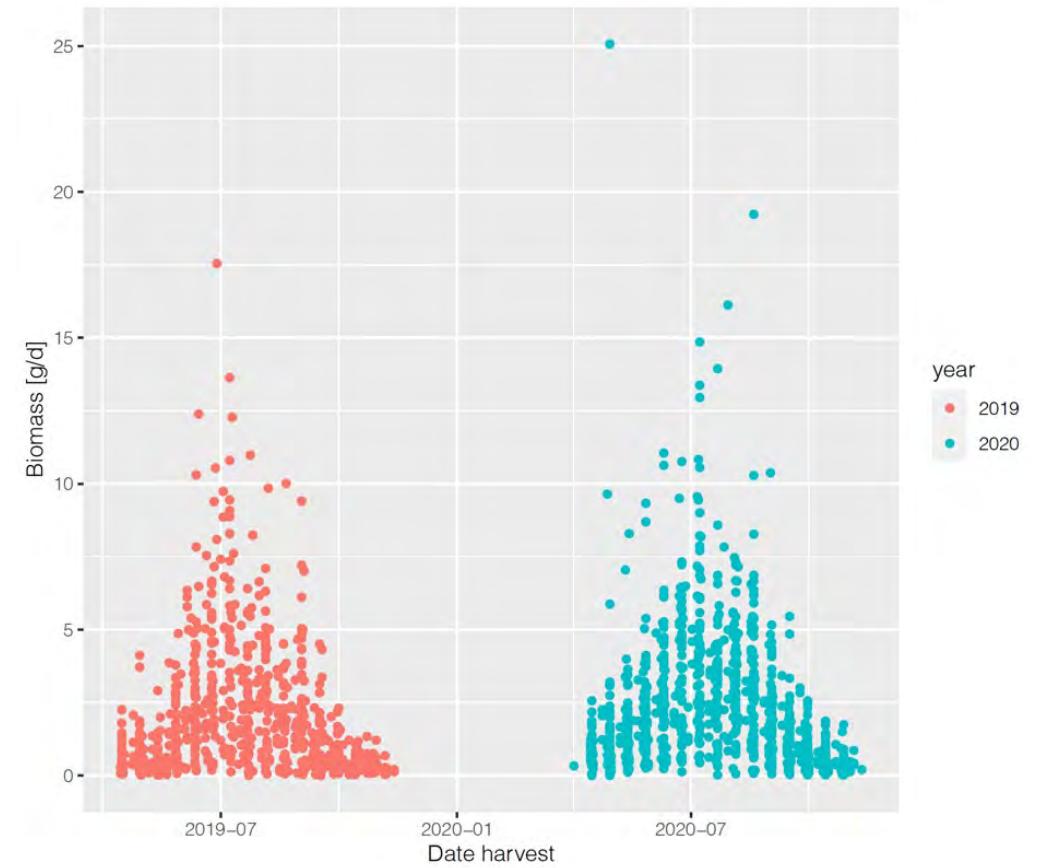
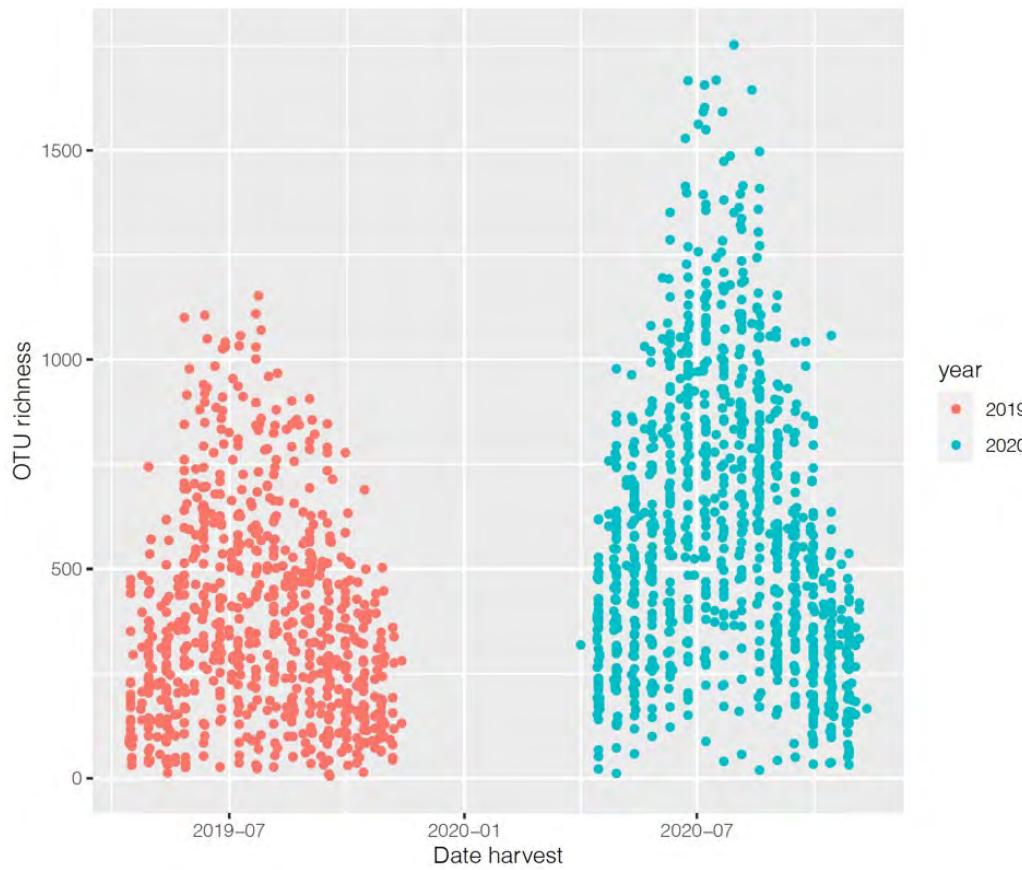


Preliminary data!

JURB	LUR / OTU_597/59	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Neocrepidodera ferruginea	temorata	u	u	283	7384	u	u	6245	u	u	43	6286	7135	u	u	u	u	u	
1049	1048 OTU_3186	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Neocrepidodera interpunctata	ferruginea	17937	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1050	1049 OTU_15603	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Neocrepidodera motchulskii	interpunctata	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1051	1050 OTU_25250	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Neocrepidodera spACP8734	motchulskii	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1052	1051 OTU_5481	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Neocrepidodera transversa	spACP8734	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1053	1052 OTU_3123	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Neocrepidodera pusilla	transversa	0	1905	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1054	1053 OTU_8916	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Oreina bifrons	pusilla	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1055	1054 OTU_1459	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Oreina calaliae	bifrons	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1056	1055 OTU_10233	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Oreina speciosa	calaliae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1057	1056 OTU_13009	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Oreina	speciosa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1058	1057 OTU_381	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Oulema duftschmidi	Oulema	4834	3894	0	1699	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1324	0
1059	1058 OTU_4628	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Oulema galactanica	Oulema	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1060	1059 OTU_609 OTU_2630 OTU_20739	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Oulema melanopus	Oulema	1095	15152	1752	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1061	1060 OTU_27185	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Oulema sp. Ab-2015	Oulema	0	51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
1062	1061 OTU_12222	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Oulema spAC10414	Oulema	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1063	1062 OTU_15311	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phaeton armoraciae	Oulema	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1064	1063 OTU_47734	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phaeton coeruleaefae	Oulema	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1065	1064 OTU_1927	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phaeton quadrifasciata	Oulema	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1066	1065 OTU_1298	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phyllotreta astrachanica	Phyllotreta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1067	1066 OTU_3578 OTU_3687	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phyllotreta atra	Phyllotreta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1068	1067 OTU_46480	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phyllotreta christinae	Phyllotreta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1069	1068 OTU_37561	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phyllotreta consobrina	Phyllotreta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1070	1069 OTU_20671	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phyllotreta cruciferae	Phyllotreta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1071	1070 OTU_11589	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phyllotreta exclamationis	Phyllotreta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1072	1071 OTU_18537	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phyllotreta nemorum	Phyllotreta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1073	1072 OTU_288 OTU_1565	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phyllotreta nigripes	Phyllotreta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1074	1073 OTU_14695	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phyllotreta nodicornis	Phyllotreta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1075	1074 OTU_12204 OTU_50203	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phyllotreta ochripes	Phyllotreta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1076	1075 OTU_5826	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phyllotreta procerula	Phyllotreta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1077	1076 OTU_53825	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phyllotreta tetraspigma	Phyllotreta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1078	1077 OTU_4037	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phyllotreta undulata	Phyllotreta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1079	1078 OTU_758 OTU_5159	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Phyllotreta vittula	Phyllotreta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35
1080	1079 OTU_9445	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Plagiosterna aenea	Plagiosterna	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1081	1080 OTU_7442	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Plateumaris consimilis	Plateumaris	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1082	1081 OTU_21778	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Podagrica fuscicornis	Podagrica	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1083	1082 OTU_36197	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Psylliodes affinis	Psylliodes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1084	1083 OTU_45640	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Psylliodes chrysanthemi	Psylliodes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1085	1084 OTU_349 OTU_24119	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Psylliodes chrysophthalmus	Psylliodes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2653	821	3	59	501	2230	668
1086	1085 OTU_64908	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Psylliodes circulatus	Psylliodes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1087	1086 OTU_40820	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Psylliodes cuprea	Psylliodes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1088	1087 OTU_38720	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Psylliodes dulcamarae	Psylliodes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1089	1088 OTU_6395 OTU_34426 OTU_597	Arthropoda Insecta	Coleoptera Chrysomeli: Psylliodes nasi	Psylliodes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



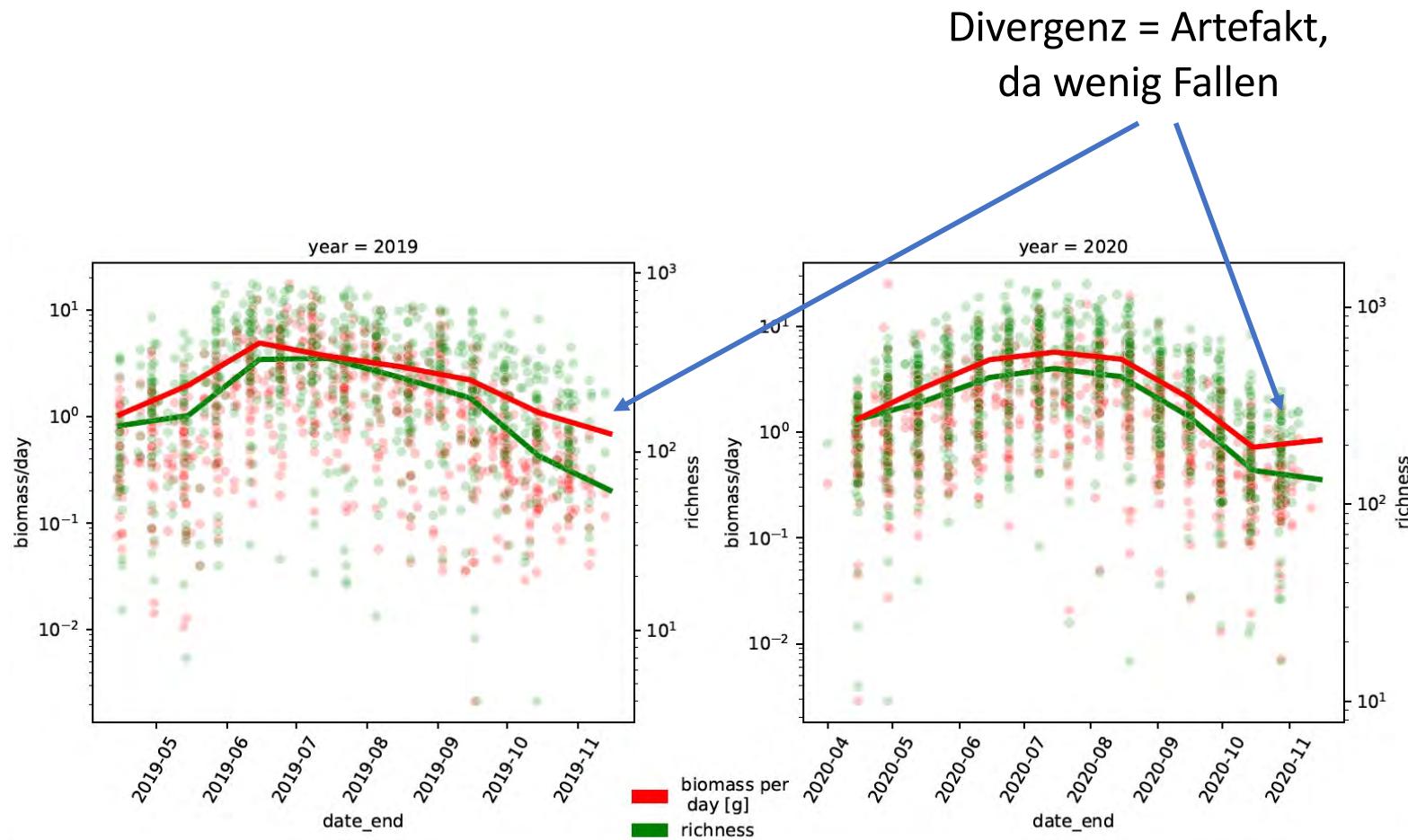
Biomasse / Artendiversität ähnlich zu existierenden Studien



Preliminary data!

Ergebnisse

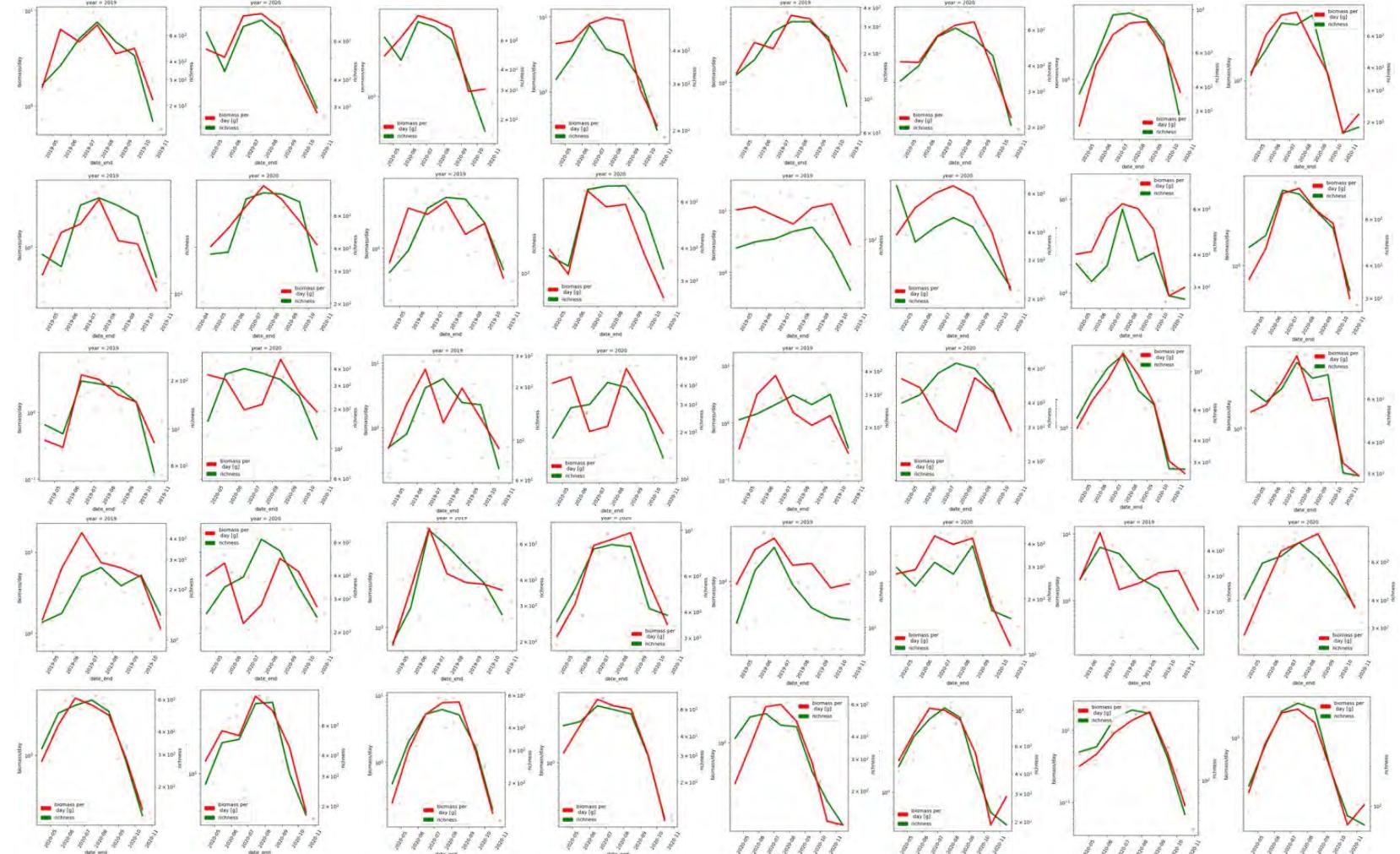
- Biomasse pro Tag von wenigen mg bis 25 g
- Generell verlaufen Biomasse und Richness-Trends synchron
- Wichtig: Richness hier bezieht sich NUR auf die zugeordneten Arten (nicht alle OTUs)



Preliminary data!

Ergebnisse

- 73 Fallen



Erkenntnisse

- Viele Taxa gut zugeordnet,
- Einige nicht richtig
- DB-Arbeit wichtig
- **Abstimmung zwischen Projekten / Backbone via NFDI4Biodiversity / GBOL / iBOL / BIOSCAN / BIOSCAN-Europe nötig**
- Zwei (+) größere Veröffentlichungen basierend auf den Daten gemeinsam mit den Datenproduzenten (LTER-D) geplant



DANKE EUCH / IHNEN ALLEN – und munter zurück zur Arbeit!

Hinweis

Hintergrundinformationen:

Die wissenschaftliche Entwicklung von Methoden für DNA-basierte Biodiversitätsanalysen schreitet rasant voran und ihre Anwendung ist auch für den behördlichen Natur- und Umweltschutz von großem Interesse. Insbesondere der behördliche Einsatz, z.B. im Rahmen von Monitoringprogrammen, erfordert robuste und standardisierte Methoden, die verlässliche und vergleichbare Daten liefern.

Der Fokus der Veranstaltung liegt auf dem „DNA-Metabarcoding“. Einführend wird ein Überblick über den aktuellen Stand der Methodenentwicklung und ihre Anwendungsbereiche gegeben. Anhand konkreter Projekte werden dann Erfahrungen aus dem Blickwinkel unterschiedlicher Akteure mit dem Einsatz des DNA-Metabarcoding ausgetauscht. Anschließend können die Teilnehmenden in vier Workshops folgende Themenfelder beleuchten und einen möglichen Standardisierungsbedarf aufzeigen:

I: Probenahme und Matrix (Wasser, Boden, Luft, Land)

II: Laborarbeit und Datenanalyse

III: Referenz-Datenbanken und Infrastruktur

IV: Qualitätssicherung für DNA-basiertes Monitoring

Die identifizierten Herausforderungen sowie die herausgearbeiteten Lösungsansätze für eine Standardisierung sollen im Nachgang zur Veranstaltung in einem Positionspapier von den Teilnehmenden sowie weiteren Expert*innen zusammengefasst, systematisiert, priorisiert und veröffentlicht werden.



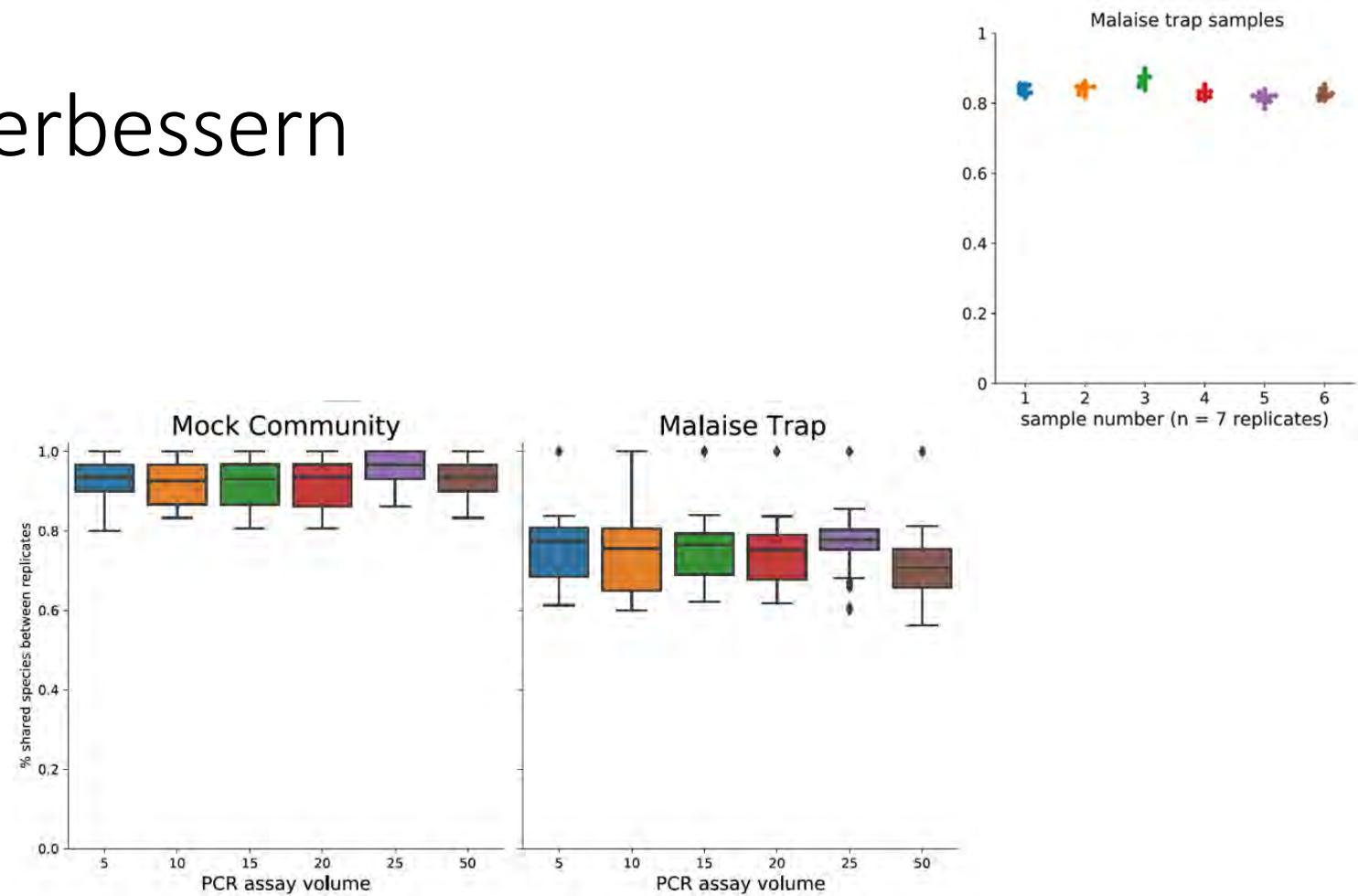
DNA-basierte Biodiversitätsanalysen im Natur- und Umweltschutz: Welche Optionen haben wir für eine Standardisierung?

01. bis 03. Juni 2022
Kloster Schöntal

+Umweltbundesamt

Detektion verbessern

- Datenbanken verbessern
- Tiefer sequenzieren
- Mehr PCR-Replikate
- Größere Menge für Extraktion nutzen
- Andere Primer komplementär nutzen



DANKE EUCH / IHNEN ALLEN – und munter zurück zur Arbeit!