



Genetisches Langzeitmonitoring

Fortschritte und Herausforderungen im LTER-D
Metabarcoding Datensatz

Dominik Buchner*, Florian Leese, Peter Haase

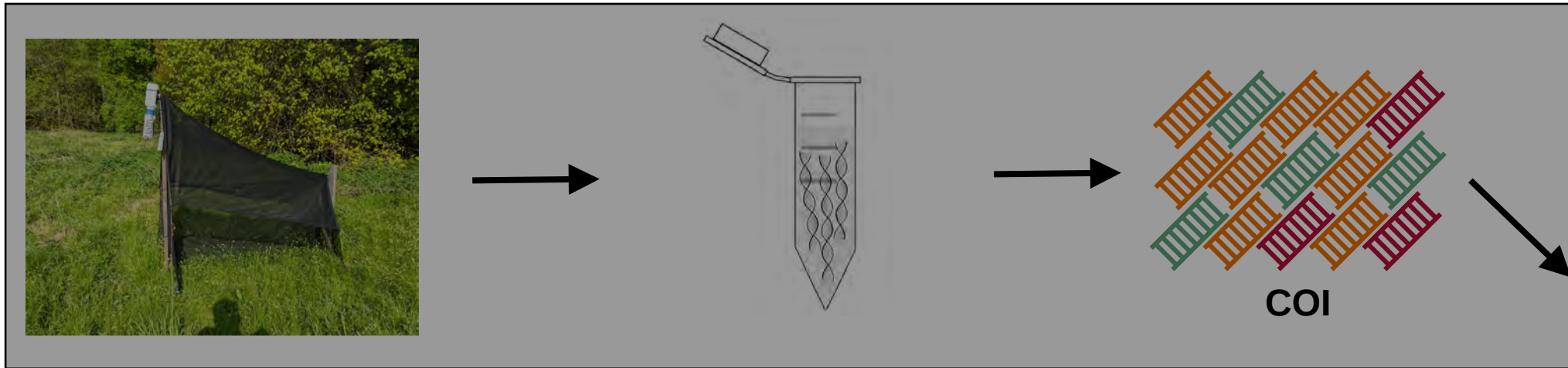
*Aquatische Ökosystemforschung

UNIVERSITÄT
**DUISBURG
ESSEN**

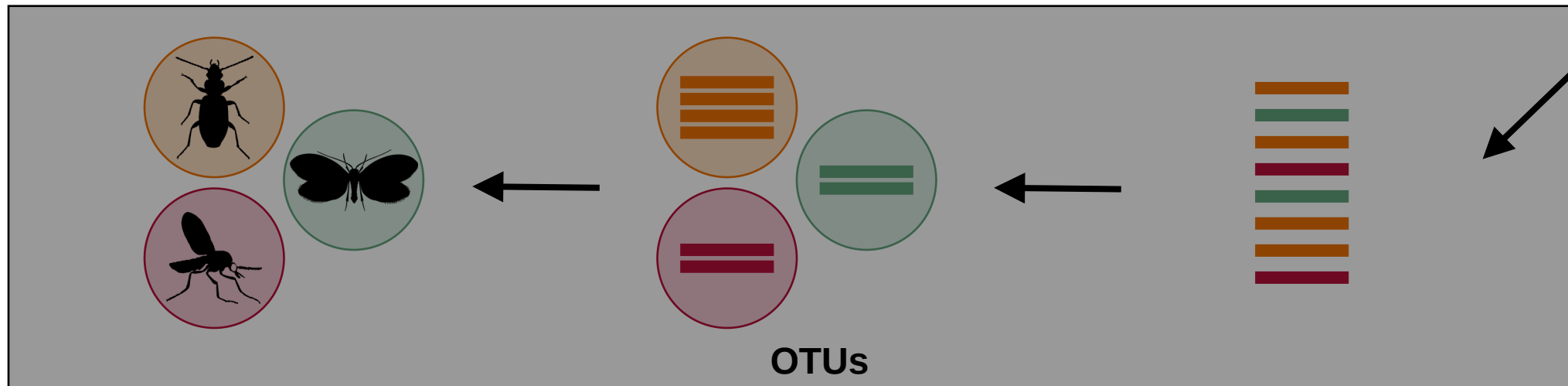
Offen im Denken

DNA metabarcoding

Automatisieren & Skalieren



Validieren



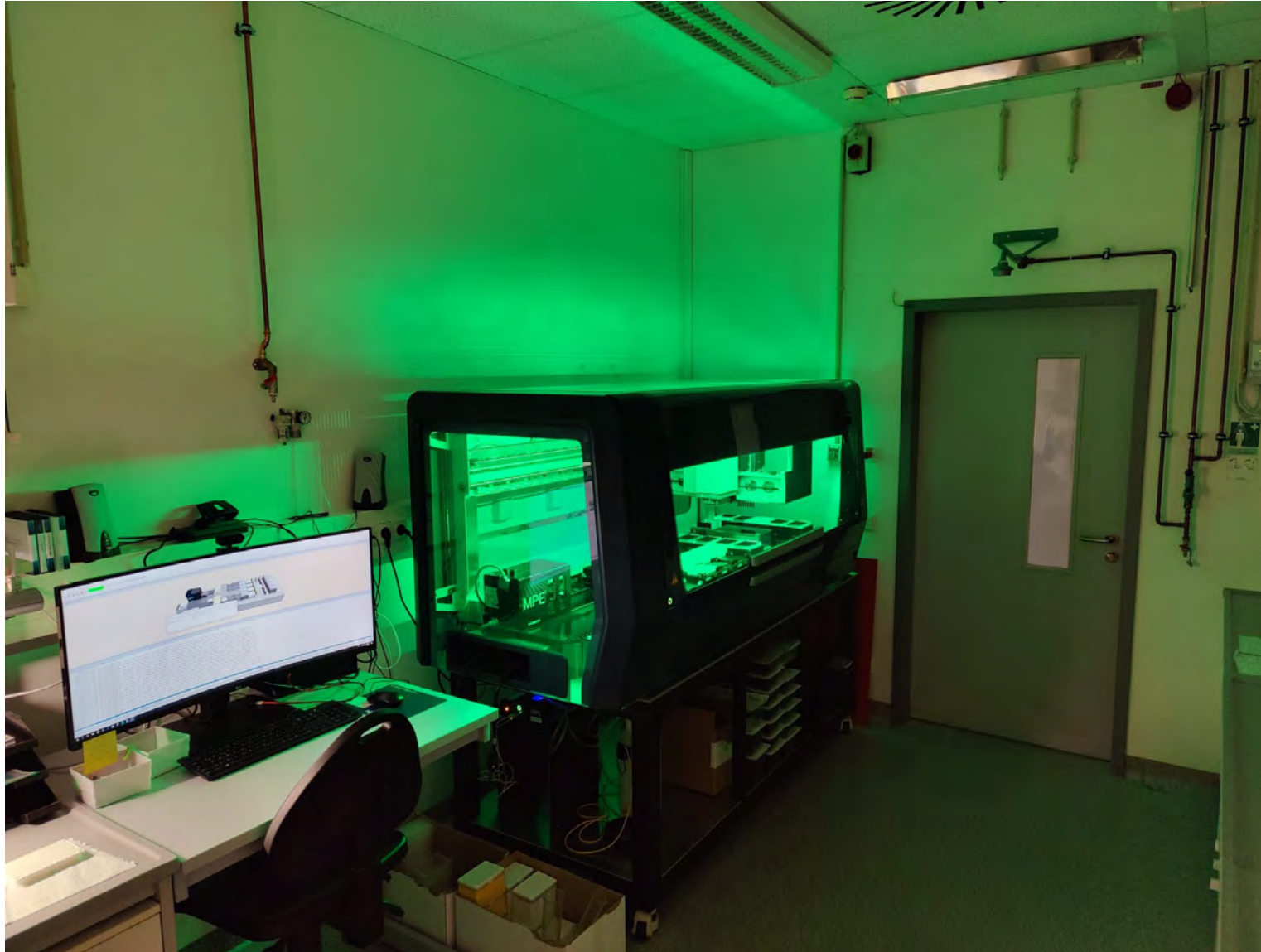
Automatisieren



Automatisieren



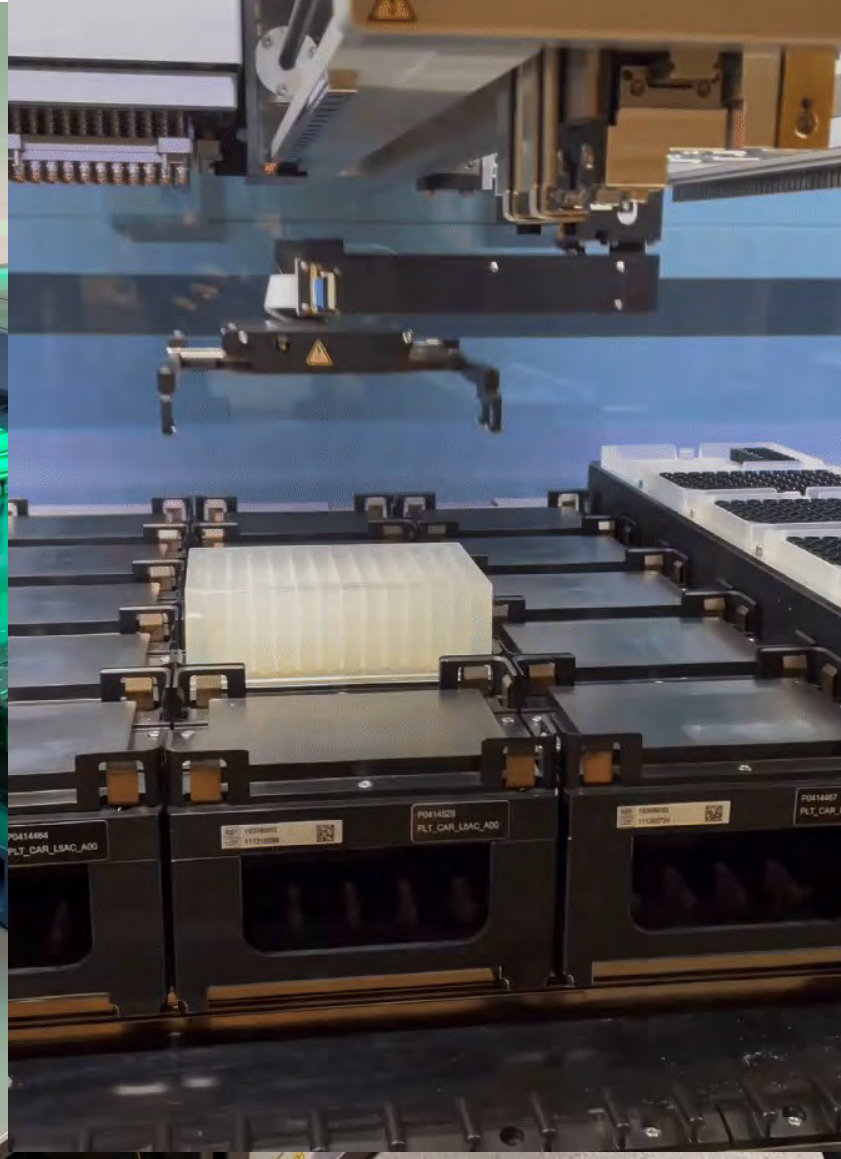
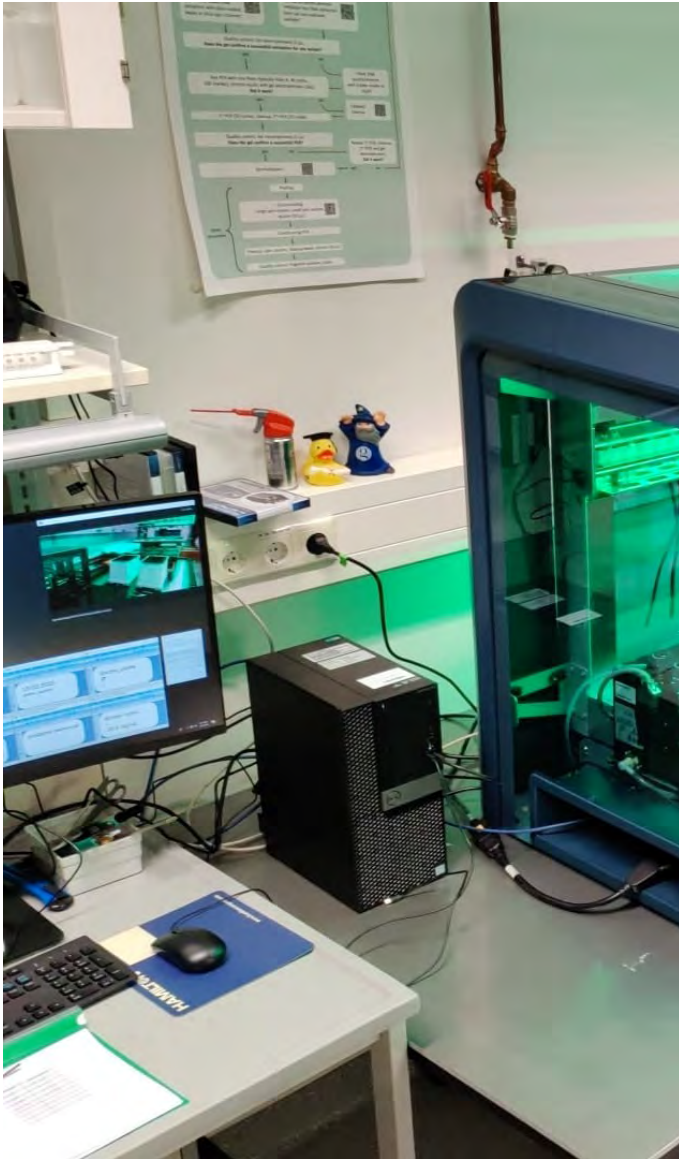
Automatisieren



Automatisieren



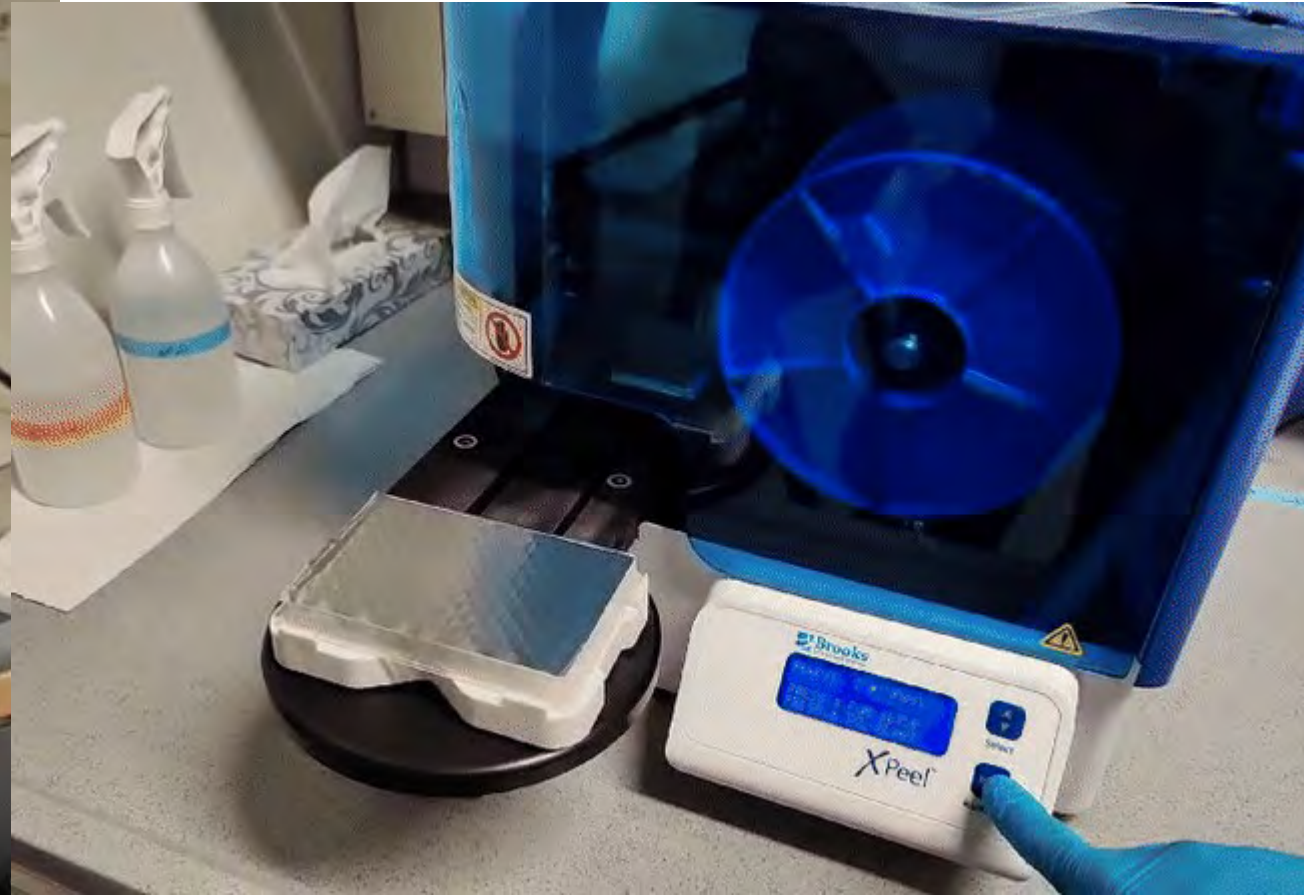
Automatisieren

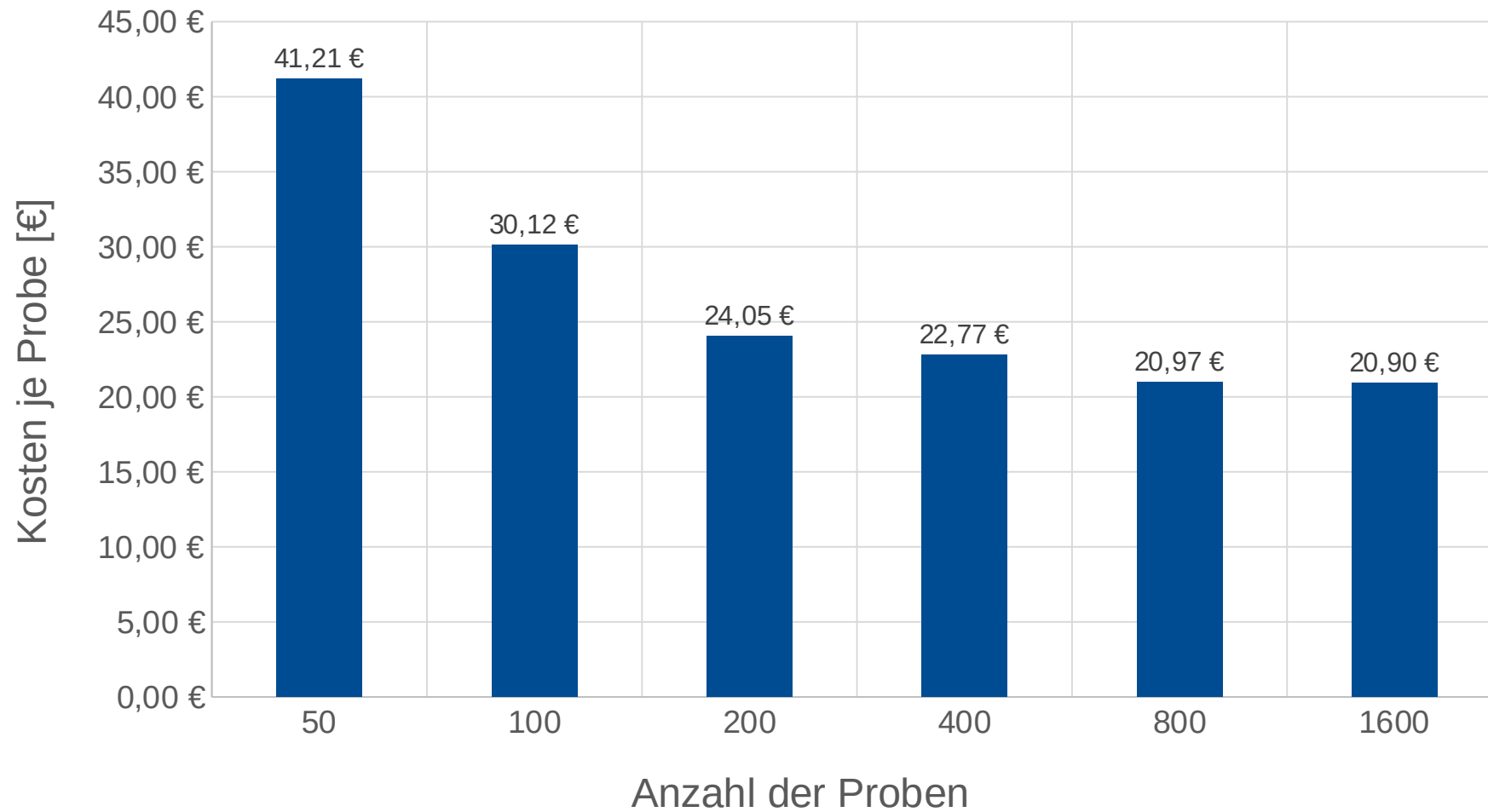


Automatisieren



Automatisieren





**Wie stellen wir sicher, dass die produzierten Daten
verlässlich sind?**

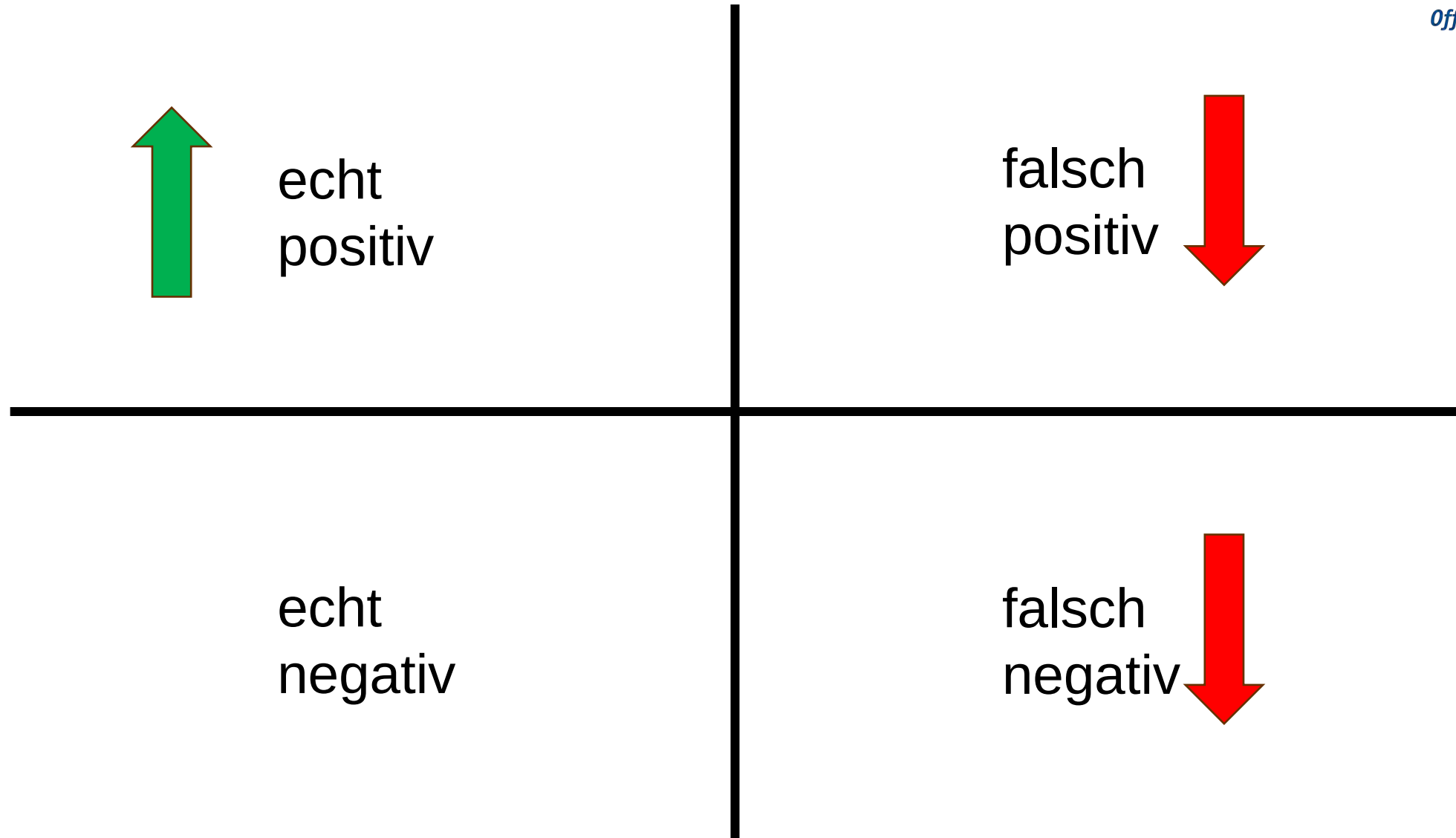
DNA-Metabarcoding

Mit Hochdurchsatzsequenzierung das Biodiversitätsmonitoring ausbauen

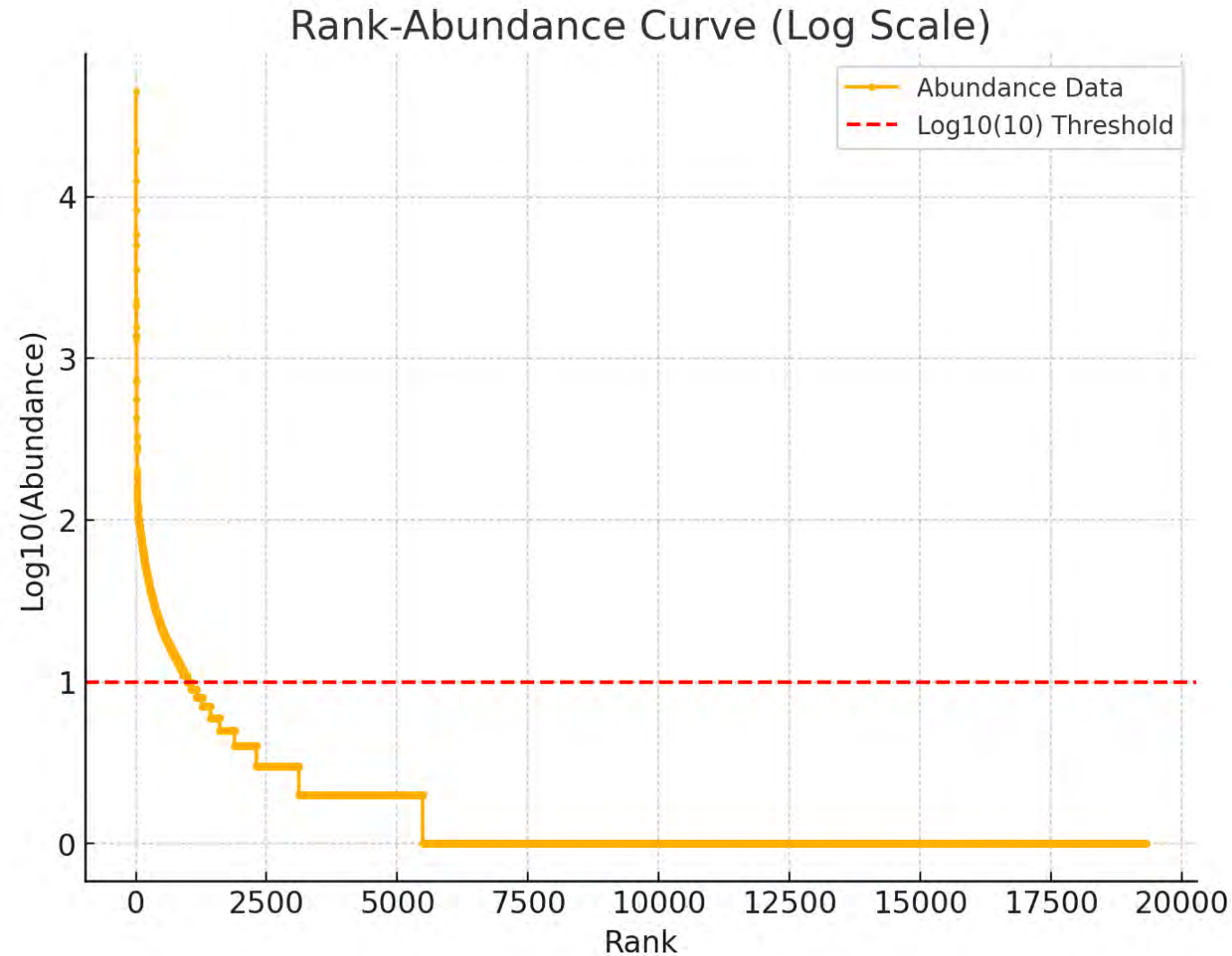
DOMINIK BUCHNER, FLORIAN LEESE

AQUATISCHE ÖKOSYSTEMFORSCHUNG, FAKULTÄT FÜR BIOLOGIE, UNIVERSITÄT
DUISBURG-ESSEN

ZENTRUM FÜR WASSER- UND UMWELTFORSCHUNG, UNIVERSITÄT DUISBURG-ESSEN



Validieren – Das Problem



Welche Fehler sind möglich?

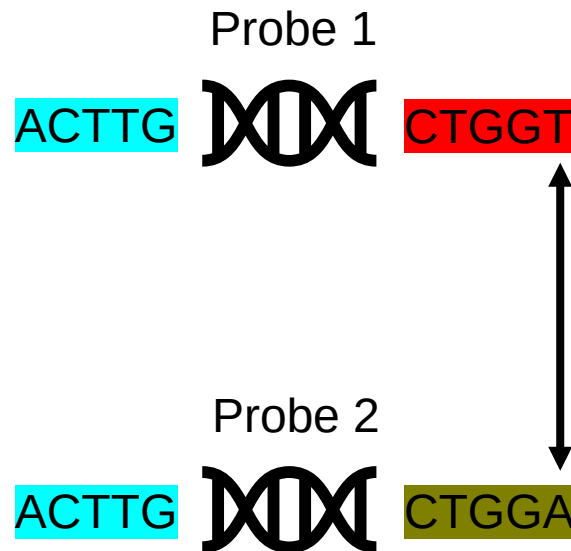
- **Sequenzierfehler:** Zufällige Rate, niedriges Level
- **PCR-Fehler:** Zufällige Rate, werden vervielfältigt
- **Gemeinsamkeit: Ursprung liegt in der Probe selbst**
- **Tag-Switching:** Rauschen mit Ursprung in anderen Proben

Twin-Indexing

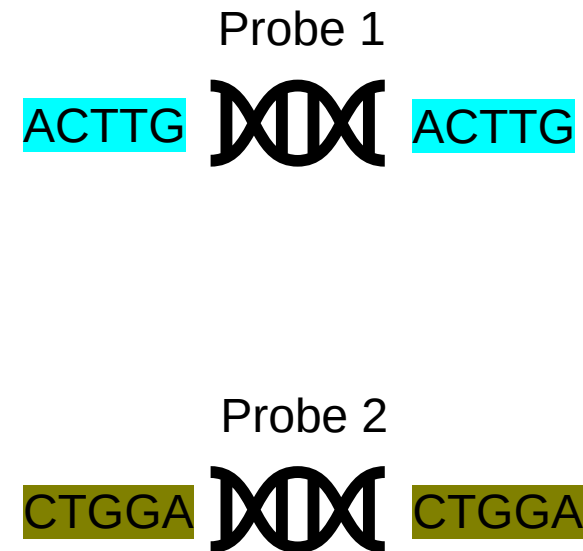
falsch positiv   echt positiv

- Vor der Sequenzierung müssen alle Proben **markiert** werden

Kombinatorisches Indexing



Twin Indexing



Sequenziertiefe

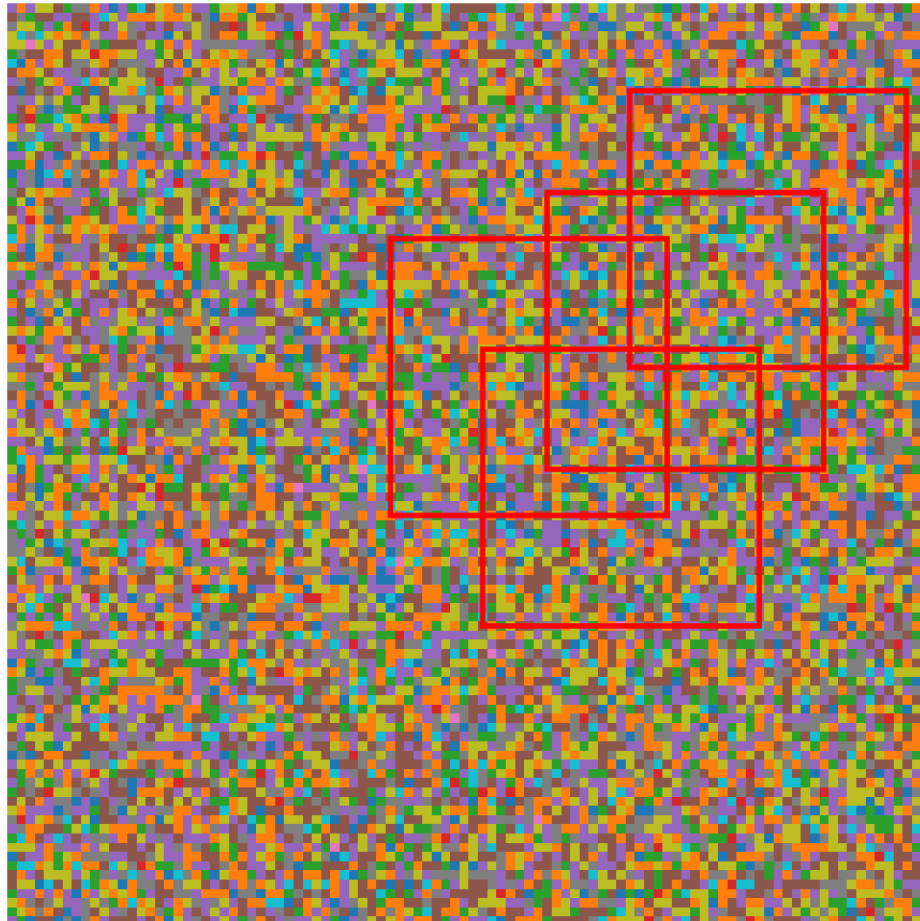


echt
positiv

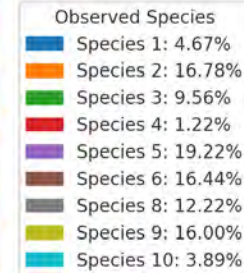
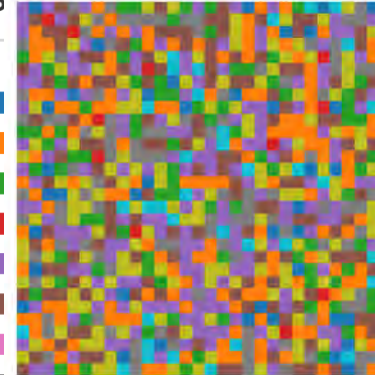
UNIVERSITÄT
DUISBURG
ESSEN

Offen im Denken

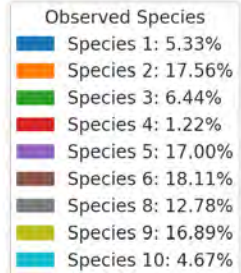
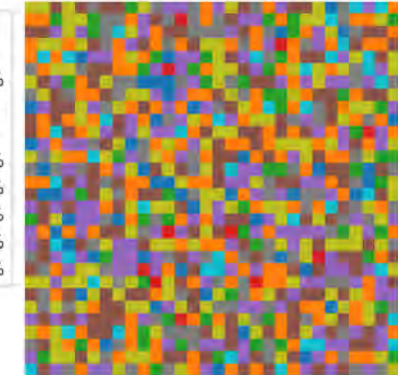
Full Sample (10,000 tiles) with Subsample Locations



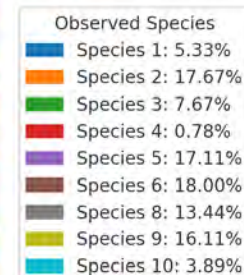
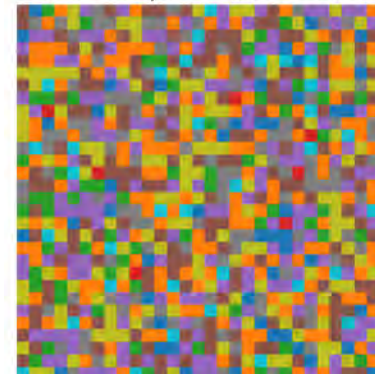
Subsample 1 (900 tiles)



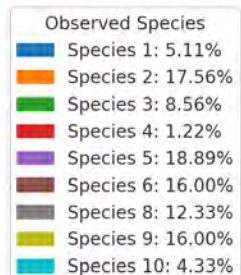
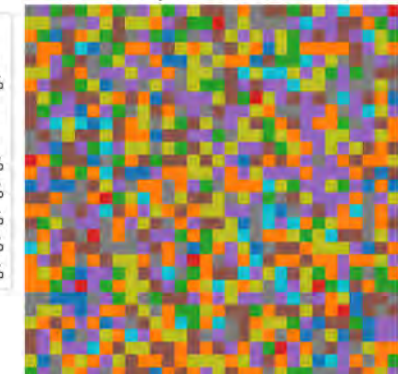
Subsample 2 (900 tiles)



Subsample 3 (900 tiles)



Subsample 4 (900 tiles)



Unabhängige Replikation

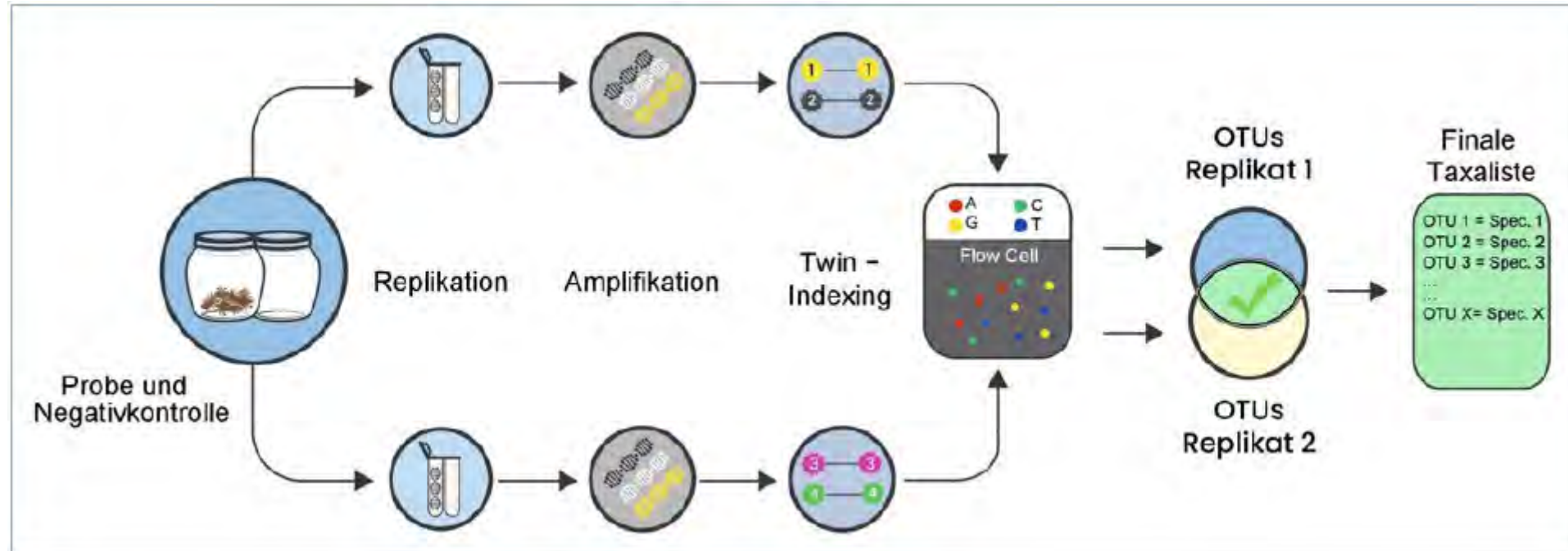
falsch
positiv



echt
positiv

UNIVERSITÄT
DUISBURG
ESSEN

Offen im Denken



Referenzsequenzen

falsch
positiv



UNIVERSITÄT
DUISBURG
ESSEN

Offen im Denken

- **Fehlende Referenzen:** Ein Problem, das wir nicht lösen können
- **Falsche Referenzen:** Ein Problem, das bearbeitet wird

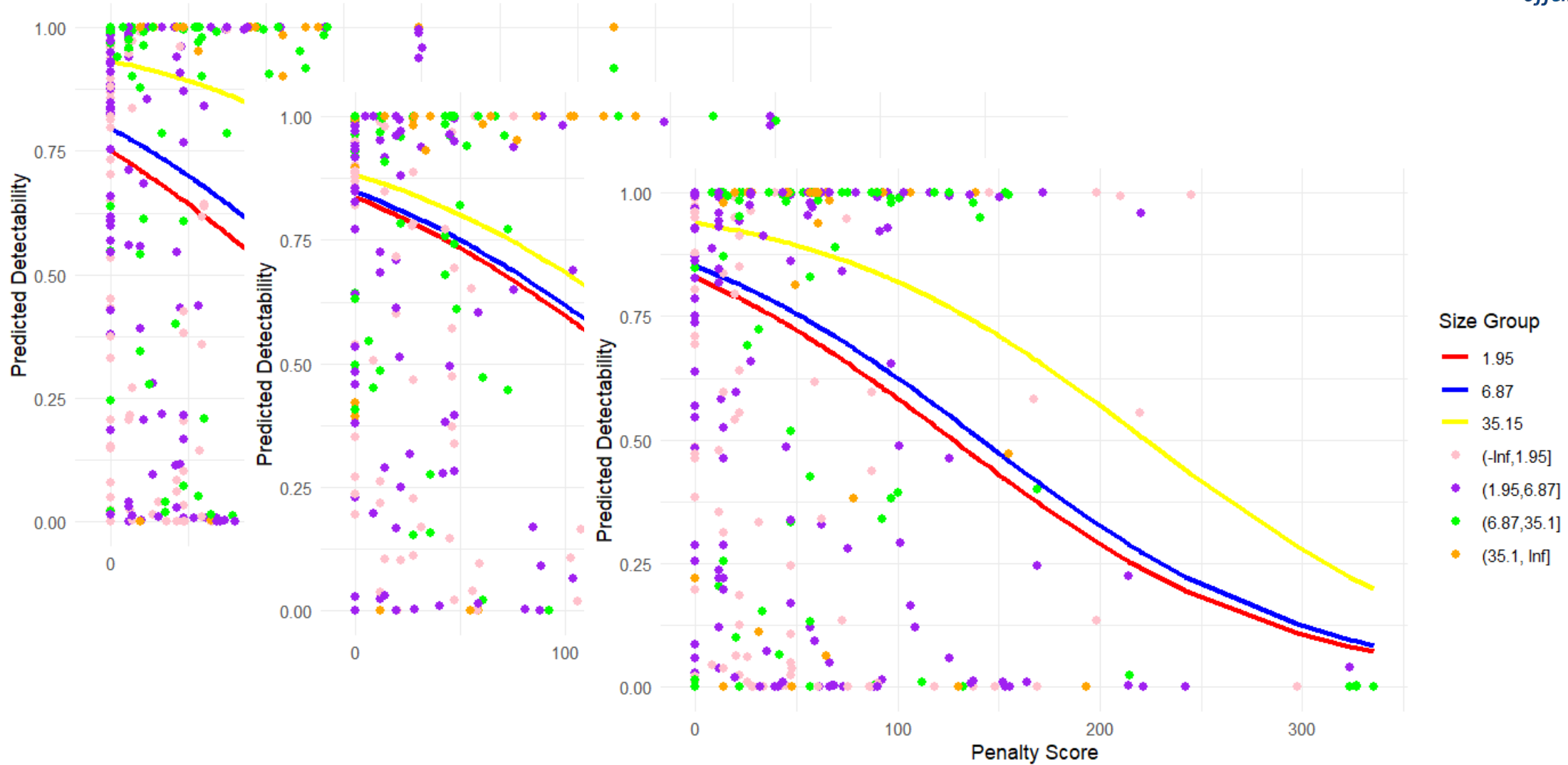
Wir wissen nicht, was wir nicht messen...

falsch
negativ

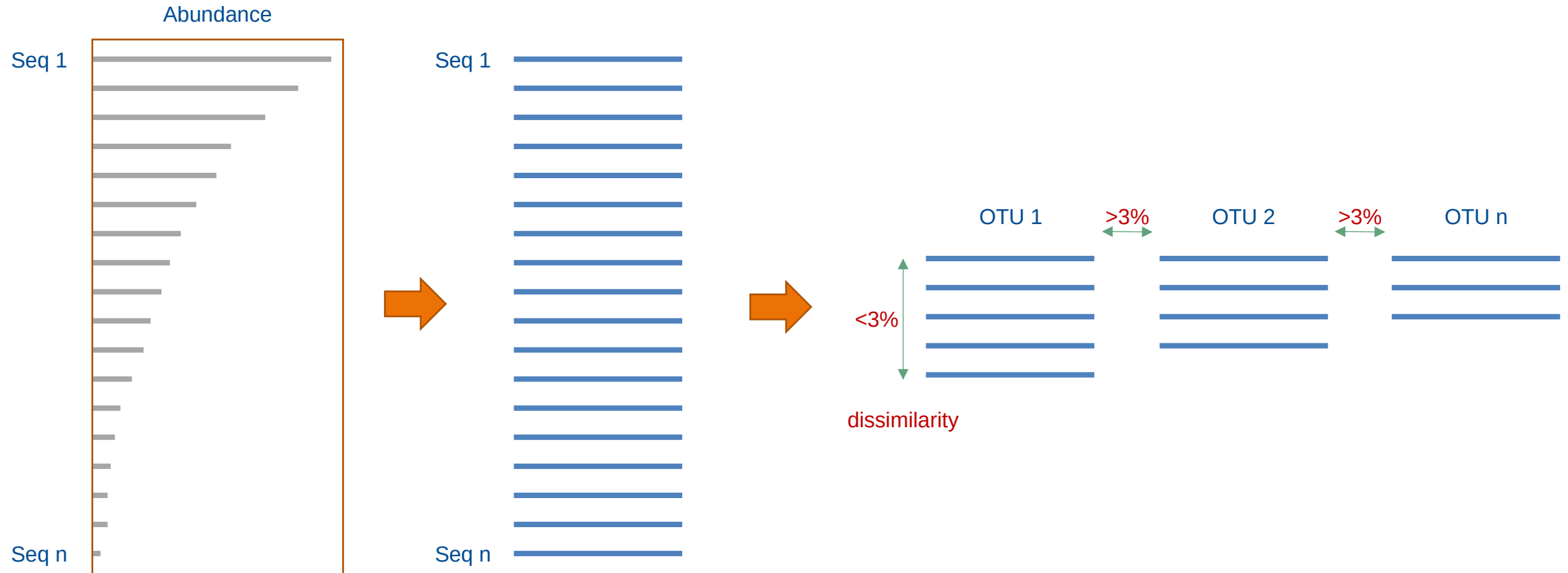


UNIVERSITÄT
DUISBURG
ESSEN

Offen im Denken



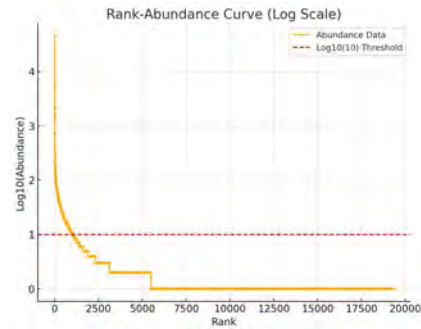
Das Problem mit OTUs und Zeitreihen



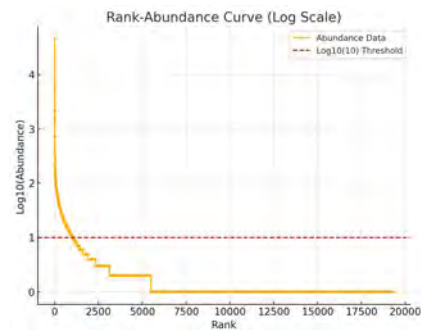
Das Problem mit OTUs und Zeitreihen

	Probe 1	Probe 2		OTUs	
Sequenz 1	1000	1000		2001	
Sequenz 2	1	1		1002	
Sequenz 3	1	0		1001	

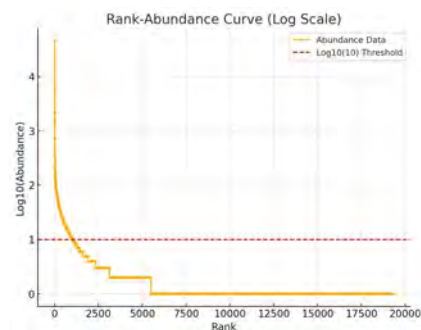
Lösung – Probenabhängige Sequenzlisten



n Sequenzen



n Sequenzen



n Sequenzen

Lösung – Eine Datenbank für LTER (-D)

- **Idee:** Für jede Probe wird eine Sequenzliste hinterlegt
- **Problem:** Zu viele Daten für eine Tabelle!
- **Lösung:** Es wird eine Datenbank erzeugt, aus der einzelne Proben (oder Gruppen) abgerufen werden können
- **→ In Arbeit!**

Ausblick - Orthoptera

B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	act_identi	status	records	lected_le	BIN	flags
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	99.024	public	30	Species	BOLD:AAC2--5	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	100	private	13	Species	BOLD:AAC2--5	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus		95.349	public	13	Genus		2
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	99.024	private	11	Species	BOLD:AAC2--5	
Arthropoda	Insecta	Hemiptera	Cicadellidae	Eupteryx	Eupteryx calcarata	100	public	14	Species	BOLD:AGC2--5	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	99.512	private	13	Species	BOLD:AAC2--5	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus		96.491	public	30	Genus		2
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	99.024	private	13	Species	BOLD:AAC2--5	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	98.537	private	11	Species	BOLD:AAC2--5	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	99.024	private	11	Species	BOLD:AAC2--5	
Arthropoda	Insecta	Hemiptera	Cicadellidae	Allygus	Allygus modestus	100	public	15	Species	BOLD:ACR1103	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	99.512	private	13	Species	BOLD:AAC2--5	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	100	private	32	Species	BOLD:AAC2	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	99.024	private	13	Species	BOLD:AAC2--5	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	100	public	33	Species	BOLD:AAC2	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus montanus	97.073	private	5	Species	BOLD:AAC2	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	97.561	private	7	Species	BOLD:AAC2--5	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae			94.186	public	49	Family		
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus		97.073	private	32	Genus		2
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus montanus	97.076	public	6	Species	BOLD:AAC2	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	97.561	private	7	Species	BOLD:AAC2--5	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	99.024	private	12	Species	BOLD:AAC2--5	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	98.256	public	11	Species	BOLD:AAC2--5	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	97.561	private	6	Species	BOLD:AAC2--5	
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae			94.767	public	53	Family		
Arthropoda	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Pseudochorthippus	Pseudochorthippus parallelus	98.837	public	12	Species	BOLD:AAC2--5	

- Wir sind dabei 59 Orthoptera Arten mit insg. 672 einzeln zu sequenzieren
- Zusätzlich Sequenzieren wir für alle Arten mitochondriale Genome
- **→ Potentielle Erklärung für den Ursprung des Problems**



Vielen Dank für eure Aufmerksamkeit!
Noch Fragen?

UNIVERSITÄT
DUISBURG
ESSEN

Offen im Denken