



Soorten jagen met e-dna

Soorten determineren is voor ecologen in de nabije toekomst een fluitje van een cent. Even een bodem-, water- of luchtmonster nemen en de dna-sequencer vertelt wat er zit.

■ ECOLOGIE

Door Astrid Smit

Schubben, uitwerpselen of wat opgelost slijm. Meer heeft een ecooloog of beheerder binnenkort niet nodig om te weten welke vis, reptiel of amfibie in een slootje, beek of meer zit. Een potje water scheppen op de verwachte hotspot is genoeg. Vervolgens doen laboranten en geavanceerde dna-sequencers de rest van het werk en krijgt de ecooloog binnen een mum van tijd de uitslag. Environmental dna ofwel e-dna, is sterk in opkomst. 'Het in kaart brengen van soorten kan in een keer een stuk eenvoudiger en sneller', aldus Berry van der Hoorn, hoofd van de afdeling Biodiversity Discovery van Naturalis die diverse e-dna-projecten onder zijn hoede heeft. 'Dat biedt enorme mogelijkheden voor de monitoring van de biodiversiteit. Juist op het moment dat er steeds meer vraag naar is en de taxonomische expertise achteruit holt.' Want weet maar eens de belangrijkste muggenlarven van elkaar te onderscheiden of kiezelwieren, beide belangrijke indicatoren voor de kwaliteit van zoete wateren. 'Het kost jaren voordat iemand zich die kennis heeft eigen gemaakt. Dus dat is meestal duur onderzoek. Monitoring met e-dna gaat veel sneller en daarvoor heb je

die expertise in het veld veel minder nodig', aldus Van der Hoorn.

Het gebruik van e-dna om soorten te determineren is min of meer begonnen bij de determinatie van bodemschimmels. Met het blote oog kunnen deze bijna niet worden onderscheiden. Toen het steeds makkelijker en goedkoper werd om de genetische codes te ontrafelen, bood determinatie met dna daarom al snel uitkomst. 'Van

'Het in kaart brengen van soorten kan in een keer een stuk eenvoudiger en sneller'

daaruit is de techniek overgeslagen op aquatische organismen. Daarvoor is het gebruik van e-dna nu behoorlijk succesvol, vooral voor de monitoring van soorten', aldus Van der Hoorn. Dna in water breekt snel af, veel sneller dan bijvoorbeeld in de bodem waar het jaren goed kan blijven. In zoet water blijft dna slechts twee weken intact, in zout water hooguit een paar dagen. Wie dna van een organisme in het water vindt, weet daarom ook vrij zeker dat de voor-



foto Naturalis

Onderzoeker Berry van der Hoorn neemt een watermonster om e-dna-analyse op te doen.

paalde wateren willen vaststellen. Voor waterschappen zou het interessant zijn als e-dna ook de biomassa en de leeftijd van de vissen kan bepalen. Voor de Kaderrichtlijn Water, een Europese wet, moeten zij die namelijk tenminste elke drie jaar in kaart brengen voor hun belangrijkste wateren. Maar dat is vooralsnog niet mogelijk, aldus Michiel Hootsmans, senior onderzoeker aquatische ecologie bij het wateronderzoeksinstituut KWR, dat voor waterbeheerders een vispopulatiescan voor Nederlandse vissoorten ontwikkelde. 'Je kunt er wel mee vaststellen dat de ene soort op een locatie relatief meer voorkomt dan de andere; je vindt dan meer dna van die soort dan van de andere soort. Maar het vaststellen van absolute aantallen van individuen en de totale biomassa is met deze methode niet mogelijk. Ook de leeftijds categorieën van de vissen kun je er niet mee bepalen.' Toch ziet hij wel een belangrijke rol voor e-dna in deze terugkerende verplichte visinventarisaties. 'We moeten ze eens opnieuw tegen het licht houden. Want de huidige methoden met sleepnetten of elektriciteit zijn ook niet ideaal. Misschien is er een combinatie mogelijk.' Overigens is niet ieder waterdier zo makkelijk te bespieden met e-dna. Kreeften en garnalen laten alleen in een bepaalde fase van hun leven – gedurende hun vervelling – dna los. Wie op zoek is naar een invasieve soort als de Amerikaanse rivierkreeft moet dus wel weten wanneer hij een monster neemt. Ook waterinsecten laten weinig dna-sporen achter vanwege hun meestal harde exoskelet van chitine. De enige oplossing is ze maar gewoon te offeren en te vermalen.

Waterscan

Dat gebeurt dan ook bij de dna-waterscan, een methode die onderzoekers in een groot Europees onderzoeksproject DNAqua Net ontwikkelen voor het meten van de waterkwaliteit. De soortensamenstelling van ongewervelde waterdieren, zoals muggenlarven, waterkevers, slakken, en kokerjuffers, geeft goed weer hoe het met de gezondheid van het water is gesteld. Vandaar dat waterbeheerders deze macrofauna regelmatig inventariseren in hun wateren, simpelweg door ze te verzamelen en met het blote oog of de microscoop te determineren. De dna-waterscan zou dit dure onderzoek weleens kunnen vervangen, zo is de verwachting, en heel snel de waterkwaliteit kunnen vaststellen. En zo dalen de onderzoekers steeds lager in het watervoedselweb af. Want ook kiezelwieren, blauwalgen en bacteriën kunnen ze met e-dna gaan scannen. 'Straks kun je met e-dna vrij gemakkelijk naar het hele ecosysteem kijken', zegt Van der Hoorn van het Naturalis Biodiversity Centre. 'Lagere organismen zoals bacteriën en kiezelwieren reageren veel sneller op veranderingen in het milieu dan hogere dieren. Die dynamiek kunnen we straks heel goed in beeld brengen waardoor je het ecosysteem beter begrijpt en beter kunt beheeren. Niet van de een op de andere dag, maar dit gaat wel komen.' Maar van der Hoorn relativeert de potentie van e-dna ook. 'Je blijft altijd taxonomische kennis nodig hebben, zeker voor het opzetten van de dna-bibliotheek (zie kader 'Dna-bibliotheek', red.). En ook ecologische kennis blijft onmisbaar. Waar neem ik mijn monsters? En hoe interpreteer ik de resultaten? Om maar eens een eenvoudig voorbeeld te noemen. Als je met e-dna zalm vindt, wil dat niet altijd zeggen dat daar zalm zwom. Het dna kan net zo goed afkomstig zijn van mensen die op een bootje zalm zaten te eten en de resten overboord gooiden. Ik zie e-dna als een nieuwe aanvullende methode op de bestaande. Je kunt er sneller en meer data mee genereren, met een hogere resolutie omdat je meer soorten vindt of tot op de soort determineert en niet tot op de familie. Het ligt aan de vraagstelling of je deze data altijd nodig hebt.'

Natuurbeheer

malige eigenaar zich daar tot voor kort nog ophield. Bovendien verspreidt het dna zich via water ook vrij snel over de omgeving waardoor maar een paar monsterpunten nodig zijn. Minuscule hoeveelheden restmateriaal zijn al genoeg om een soort te detecteren. Handig als een beheerder op zoek is naar een zeldzame soort als de grote modderkruiper of juist wilt weten of een ongewenste exoot als de Amerikaanse rivierkreeft of de muskusrat al zijn intrede in een gebied heeft gedaan. Ook ziekteverwekkende bacteriën en virussen kunnen er veel gemakkelijker mee worden opgespoord.

Maar e-dna kan ook in een klap een hele groep soorten in kaart brengen. De belangrijkste vissen, amfibieën of reptielen bijvoorbeeld (zie 'Hoe werkt e-dna?'). Uit Nederlands onderzoek in opdracht van waterschappen blijkt dat e-dna de traditionele methoden om vissen te inventariseren – zoals vissen met sleepnetten of elektriciteit – vaak overtreft. In een veel kortere tijd worden meer vissoorten waargenomen. En dat dus zonder dat de habitat wordt verstoord of zonder dat er vissen sterven. De methode is dus heel geschikt voor natuurbeheerders of onderzoekers die de soortensamenstelling in be-

Hoe werkt e-dna?

Organismen laten in het milieu kleine stukjes dna achter via feces, urine, huidcellen, haren of pollen. Dit environmental dna, kortweg e-dna, wordt in het lab gedetecteerd. Het dna waarop de analyse zich richt is specifiek voor de soort en kun je vergelijken met een soort streepjescode. Daarom heet de techniek ook wel e-dna-barcoding. Specifieke sequenties, primers genaamd, die kenmerkend zijn voor een soort of voor een hele groep soorten zoals reptielen selecteren dit stukje dna uit het monster. Vervolgens wordt dit stukje dna vermenigvuldigd, geanalyseerd en vergeleken met bekende dna-barcodes in dna-bibliotheken. Daarna is vast te stellen om welke soort of soorten het gaat. Internationaal is afgesproken welk deel van het dna gebruikt wordt voor identificatie. Voor dieren is dat bijvoorbeeld een deel uit de mitochondriën, CO1 (mitochondriële cytochroom C ox-

dase-1). Mitochondriën zijn altijd in grotere hoeveelheden aanwezig dan het kern-dna, dus de trefkans om die ook in het veld te vinden is groter. Niet voor alle dieren is CO1 voldoende onderscheidend, reden dat er ook weer vanaf wordt geweken en soms andere stukjes uit de mitochondriën worden gebruikt. Zo heeft Naturalis besloten voortaan het hele mitochondriële dna van vissen te sequensen, zodat gebruikers in de toekomst kunnen kiezen welk deel ze willen gebruiken. De voortschrijdende technieken maken dat ook mogelijk. Sequensen gaat steeds sneller en wordt steeds goedkoper. 'Aan de ene kant proberen we te standaardiseren, aan de andere kant moeten we voortdurend meebewegen met de nieuwe mogelijkheden', aldus Van der Hoorn van Naturalis. 'We zorgen er in ieder geval altijd voor dat we voldoende materiaal van de organismen in huis hebben om ook nieuwe genen te kunnen sequensen.'



Met e-dna kunnen onderzoekers gemakkelijk een zeldzame soort als de grote modderkruiper detecteren.

Van water naar bodem en lucht

Niet alleen in de aquatische ecologie is e-dna in opkomst, ook in de terrestrische ecologie. Namelijk door de sporen (feces, urine, haren, pollen, zaden) die landdieren en -planten op de bodem en in de lucht achterlaten met e-dna te analyseren of door simpelweg een bodemmonster te nemen en de organismen die zich daarin bevinden met e-dna te determineren. Zo bracht de Nederlandse Zoogdierverseniging in kaart waar de Noordse woelmuis en de aarmuis – concurrenten van elkaar – zich rond het Haringvliet bevonden door muizenkeutels in het gebied te verzamelen en die met e-dna te analyseren. En zo is ook aan de hand van pollen in de lucht te zeggen welke planten zich in een bepaalde omgeving bevinden. In Leiden is onlangs de handheld PollenSniffer ontwikkeld, een soort kleefstrip waarover lucht wordt aangezogen. Hij is overal mee naartoe te nemen om te kijken welk pollen of ander organisch materiaal zich in de directe omgeving bevinden. 'In de toekomst waarschijnlijk handig voor hooikoortspatiënten', aldus van der Hoorn die namens Naturalis deelnam aan het Leidse project dat de PollenSniffer ontwikkelde. 'We hebben hem onlangs ook uitgetest in het tropisch regenwoud van de Amazone om te kijken wat daar allemaal voor organisch materiaal in de lucht zit.'

Dna-bibliotheek

Wie soorten met e-dna wil determineren moet een dna-database raadplegen, een zogenaamde dna-bibliotheek. Voor veel soorten moet die nog worden opgebouwd. Daar is het Naturalis Biodiversity Centre sinds 2010 mee bezig. In een groot project – soortenregister.nl – onderhouden taxonomen alle veertigduizend soorten schimmels, planten en dieren die in Nederland zijn waargenomen. 'We hebben een uitgebreide collectie maar die is soms verouderd', zegt Van der Hoorn van het Naturalis Biodiversity Centre. 'Daarom zijn taxonomen opnieuw begonnen met het verzamelen van Nederlandse soorten, speciaal voor de opbouw van een dna-bibliotheek. Dat komt nu met de recente bloei van de e-dna-techniek heel goed uit.' Het is een enorme klus. Van de soorten in het Nederlandse soortenregister zijn nu nog maar vijftienduizend soorten van een dna-code voorzien. 'Dat zijn wel de maatschappelijk relevante soorten. De meest voorkomende soorten zitten er nu in. Nu gaan we verder met de resterende vijftienduizend. Dat zal niet makkelijk zijn. Ze zijn meestal vrij zeldzaam.' De codes van kleinere organismen zoals diatomeeën, bacteriën en virussen worden verzameld in internationale dna-bibliotheken.