

Diersporen uit eDNA

Onderzoekers van stichting RAVON hoeven zeldzame vissen en amfibieën tegenwoordig niet meer met veel pijn en moeite te vangen – ze kunnen ze met DNA-technieken in kaart brengen. De zogenaamde Environmental DNA-techniek is bij deze dieren veelal goedkoper, gevoeliger en nauwkeuriger dan traditionele veldbiologische methoden.

Els van den Brink

Biologisch onderzoek naar zeldzame dieren is lastig. Dat geldt bijvoorbeeld voor onderzoek naar de grote modderkruiper, een weinig voorkomende vis die zich verstopt in slootjes met veel waterplanten en een dikke modderlaag. Door zijn leefwijze is de grote modderkruiper erg lastig te vangen, terwijl dat lange tijd de enige optie was om de vis te kunnen onderzoeken. Jelger Herder, senior projectleider bij stichting RAVON (Reptielen Amfibieën Vissen Onderzoek Nederland), hoorde in 2008 over de *Environmental DNA*-methode (eDNA) die Franse onderzoekers hadden ontwikkeld. Hij realiseerde zich dat dit een goede methode was voor het onderzoek naar lastig te detecteren soorten, zoals deze modderkruiper.

Pilotstudie

Herder besloot een samenwerking aan te gaan met de Franse onderzoekers van onderzoeksorganisatie Spygen en startte een pilotstudie naar het opsporen van de grote modderkruiper met behulp van eDNA. Op zeven van de acht onderzochte locaties kon de zeldzame vis inderdaad worden aangetoond met eDNA. Het onderzoek was bovendien veel sneller. Vaak was niet meer dan twintig minuten nodig om monsters te nemen, terwijl traditioneel onderzoek per locatie soms meer dan een dag in beslag nam. Sinds de eerste pilot wordt de eDNA methode steeds breder toegepast. "Wij waren in 2011 de eerste in Nederland, maar



Jelger Herder bezig met het verzamelen van watermonsters om de aanwezigheid van moeilijk te vinden diersoorten aan te tonen met environmental DNA.

(Foto: Menno Bentveld)

ondertussen zijn er al een stuk of zeven aanbieders. Wereldwijd is deze techniek echt *booming*", vertelt Herder.

Gefragmenteerd DNA

De Environmental DNA methode is gebaseerd op het feit dat dieren DNA achter laten in het water via urine, feces en huidcellen. Omdat DNA in water binnen een maand wordt afgebroken, is de aanwezigheid van DNA een aanwijzing voor de recente aanwezigheid van een diersoort. Dit DNA kan

aangetoond worden met een polymerase kettingreactie (PCR). Hiervoor is dan wel een soortspecifieke *primer* nodig, een stukje DNA dat echt kenmerkend is voor de soort. Herder vertelt: "De ontwikkeling van deze *primers* is echt een kunst, omdat DNA in water sterk gefragmenteerd is. De meeste fragmenten bestaan uit hooguit honderdvijftig baseparen. Daardoor richten onze primers zich op veel kortere fragmenten dan die van andere PCR-testen. Dit maakt het lastiger om de primer soortspecifiek te maken. De onderzoekers van Spygen, die het DNA onderzoek voor ons verzorgen, zijn vaak lang bezig met de primerontwikkeling en soms moeten ze uiteindelijk concluderen dat het gewoon niet mogelijk is." Voor diverse zeldzame soorten is het ondertussen toch gelukt. Naast de grote modderkruiper gaat het bijvoorbeeld om de knoflookpad en de kamsalamander.

De PCR-test vertelt alleen of een diersoort wel of niet aanwezig is. Herder legt uit: "Theoretisch gezien zou je het DNA kunnen kwantificeren met behulp van qPCR. In veel gevallen werkt dat niet goed, omdat het vaak om zulke kleine hoeveelheden DNA gaat. Bovendien is het DNA niet homogeen verdeeld. Als je toevallig een monster hebt genomen voor de neus van de vis, vind je automatisch meer."

Bedreigde diersoorten

Herder heeft ondertussen verschillende on-



Monstername met in het water de Grote Modderkruiper. (Foto: Jelger Herder)

derzoeken lopen op basis van eDNA.

“We doen bijvoorbeeld onderzoek naar bedreigde diersoorten, zoals de knoflookpad. Vanwege Europese regelgeving is Nederland verplicht om deze dieren te beschermen en

de bedreigde Noordse woelmuis opsporen. In dit geval nam hij geen monsters van het water waar de muis doorheen ging, maar van de keutels die de muis op het land achterliet.

‘Wereldwijd is deze techniek echt booming’

te monitoren hoe het met ze gaat. Ook worden herstelmaatregelen getroffen voor deze soort. Met behulp van eDNA kunnen we onderzoeken wat het effect is van deze maatregelen.” Recent kon Herder met eDNA ook

Exoten

Daarnaast doet Herder onderzoek naar het voorkomen van exoten, diersoorten die hier oorspronkelijk niet vandaan komen. Een voorbeeld is de Amerikaanse brulkikker, die

andere soorten opeet en vaak een ziekte bij zich draagt. “In het begin zijn exoten moeilijk waarneembaar, maar met eDNA kunnen we ze al in een vroeg stadium vaststellen. De brulkikker komt op dit moment in Vlaanderen voor, vlak over de grens. Wij monitoren daar in de buurt om het zo snel mogelijk te zien als hij de grens overkomt. In dat geval kunnen we een bestrijdingsprogramma in gang zetten, waarbij we dan met eDNA onderzoeken of dit het gewenste effect heeft. In Baarlo heeft dat bijvoorbeeld al goed gewerkt.”

Complete soortenlijst

De laatste tijd is Herder bezig met de ontwikkeling van een tweede variant van eDNA, ook wel metabarcoding genoemd. Hierbij wordt niet gekeken naar één enkele diersoort, maar naar een hele groep tegelijk, bijvoorbeeld alle vissen. Hiervoor worden primers gebruikt die al het vissen-DNA vermeerderen. De vermeerderde DNA-fragmenten worden uitgelezen met *Next Generation sequencing* en vergeleken met een referentiedatabase. Dat levert uiteindelijk een lijst op van alle vissoorten die in een bepaald water voorkomen.

De eerste resultaten zijn positief. Bij een pilotstudie bij vier wateren werden bij twee van de vier wateren evenveel soorten aangetroffen als bij het traditionele onderzoek en bij twee wateren zelfs vier tot vijf soorten meer. Opvallend genoeg waren dat niet alleen zeldzame soorten, maar ook algemene soorten zoals de karpers en de brasems. Herder verklaart: “Waarschijnlijk kunnen die grote vissen bij electrovissen nog snel wegluchten waardoor je ze relatief vaak mist. En dat terwijl hun aanwezigheid vaak een belangrijke maat is voor de waterkwaliteit. Wij onderzoeken nu samen met verschillende waterschappen en stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer of eDNA een betere maat is. Ik verwacht dat eDNA steeds meer toegepast zal worden, omdat het sneller en nauwkeuriger is. Sequencing wordt bovendien steeds goedkoper, dus wie weet wat we over tien jaar kunnen.” **LM**

Jelger Herder is naast onderzoeker ook professioneel natuurfotograaf, zie www.digitalnature.org.