

eDNA detectie: inzicht in een nieuwe wereld

Arjen de Groot

Wageningen Environmental Research

(Alterra)

Maarten Schrama

Centrum voor Milieuwetenschappen

Universiteit Leiden

eDNA: dat belooft wat!



Click to download

Wonderware eDNA
Real-time enterprise data historian



Deel 1: kennismaking met eDNA

eDNA in het ecologisch onderzoek

- ✦ Monitoring
- ✦ Migratieonderzoek
- ✦ Soorten identificatie
- ✦ Risicoanalyse zwembadwaterkwaliteit
- ✦ Pathogeedetectie

environmental DNA

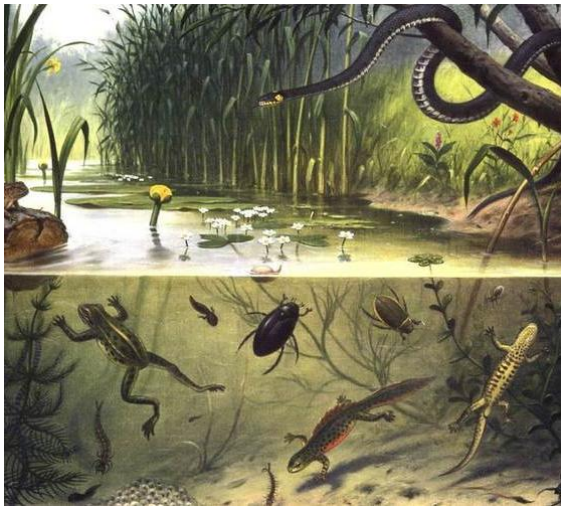
Toepassingsmogelijkheden voor het opsporen van (invasieve) soorten



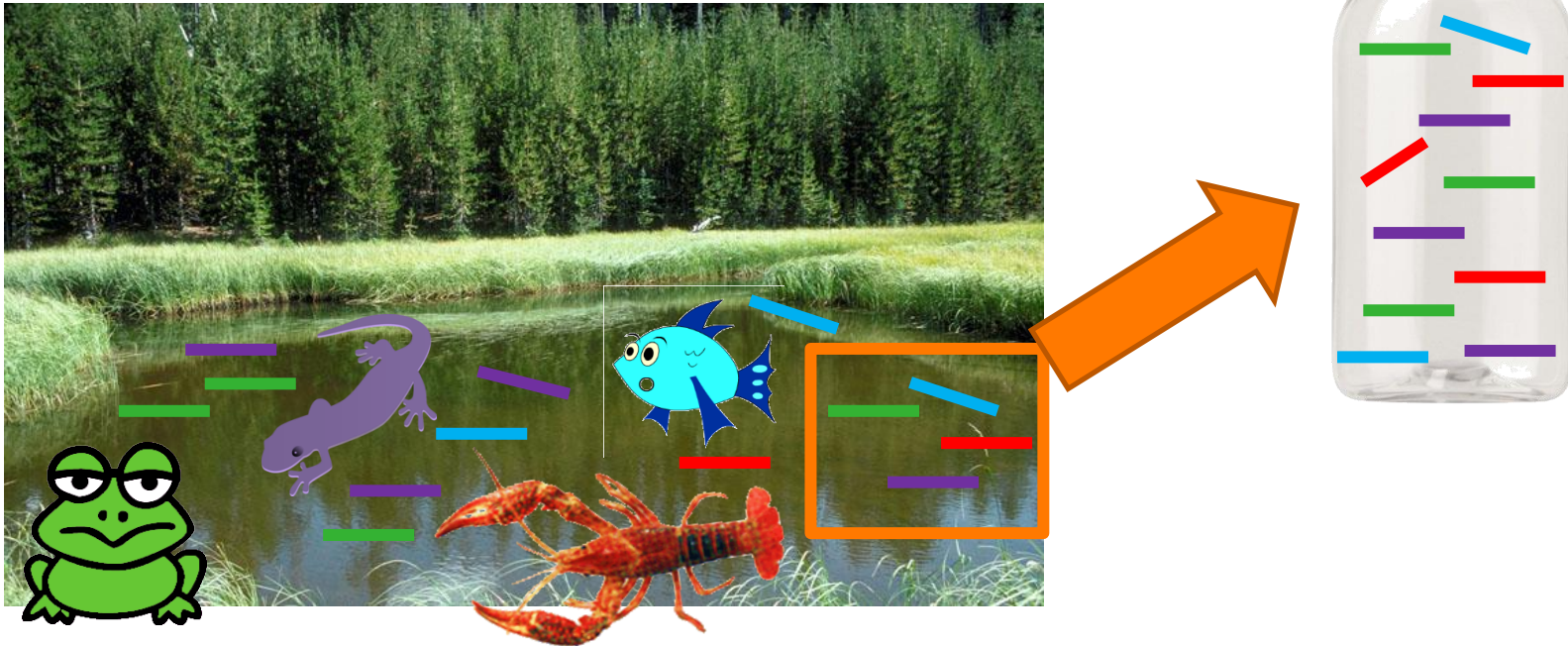
Wat is eDNA eigenlijk?

Het DNA dat dieren achterlaten in het milieu waarin ze zich bewegen via losgelaten cellen in slijm, uitwerpselen, huidschilfers, etc.

- Twee vormen: DNA in intacte cellen, en losse moleculen
- Vele bronnen: water, bodem, lucht, keutels, haren



eDNA in het water



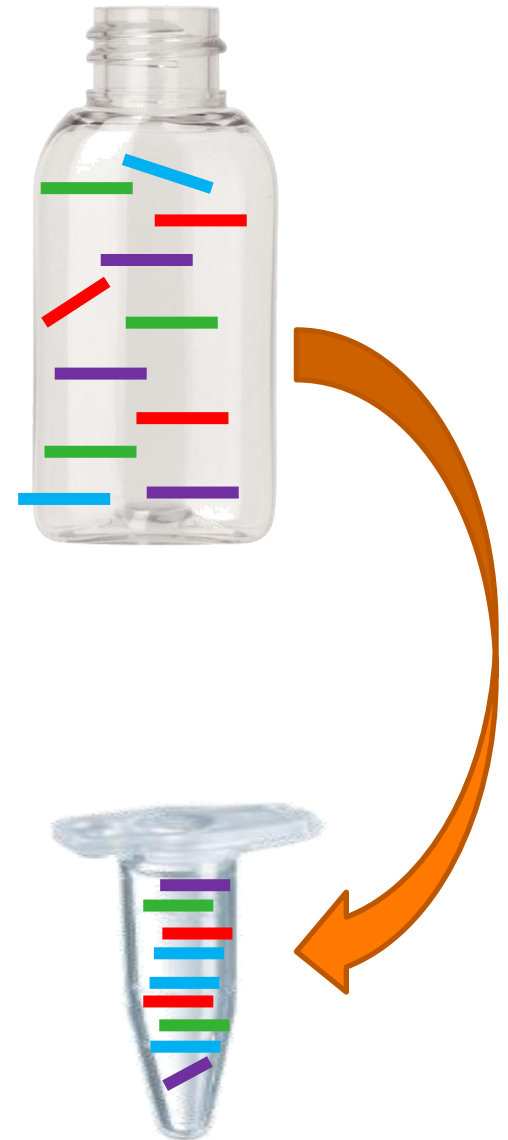
Hoeveelheid DNA die in je monster belandt kan verschillen:

- Hoeveelheid loslatende cellen (doelsoort, seizoen)
- Menging in het water (doelsoort, weerscondities)
- Afbraaksnelheid (weerscondities, waterchemie)

Monstervolume en DNA extractie

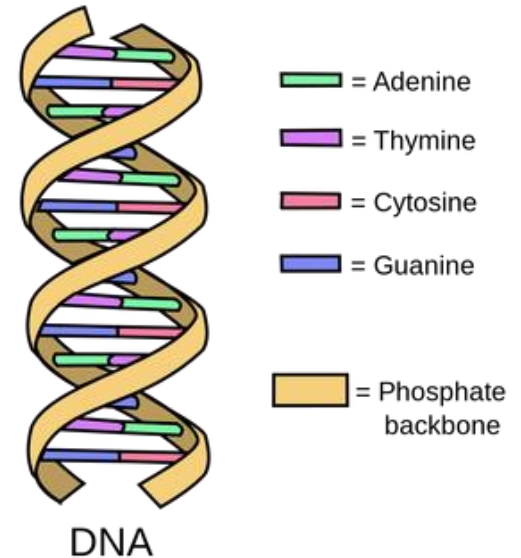
Twee methoden:

- Centrifugeren (monstervolume = 90mL)
- Filtreren (monstervolume = 0.5 – 2 L)

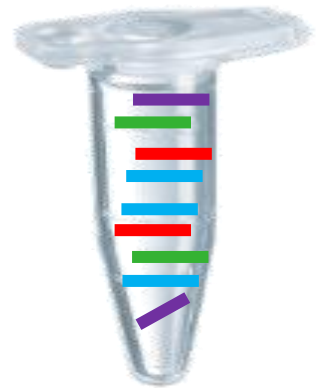


DNA van je doelsoort(en) herkennen

- DNA = lange code met 4 bouwstenen
- Exacte code verschilt tussen soorten
- DNA analyses gebruiken die verschillen



Bron: Science with U



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
A	T	G	A	C	C	T	C	A	A	C	A	C	G	T	A	A	A	T	C
A	T	G	A	C	C	C	C	A	A	T	A	C	G	C	A	A	A	A	C
A	T	G	A	C	C	C	C	T	A	T	A	C	G	C	A	A	A	A	C
A	T	G	A	C	C	C	C	A	A	C	A	C	G	C	A	A	A	A	T

Bron: www.sequence-alignment.com

DNA detectie: twee analysemethoden

1) qPCR

- Aantonen aan/afwezigheid van één soort of groep



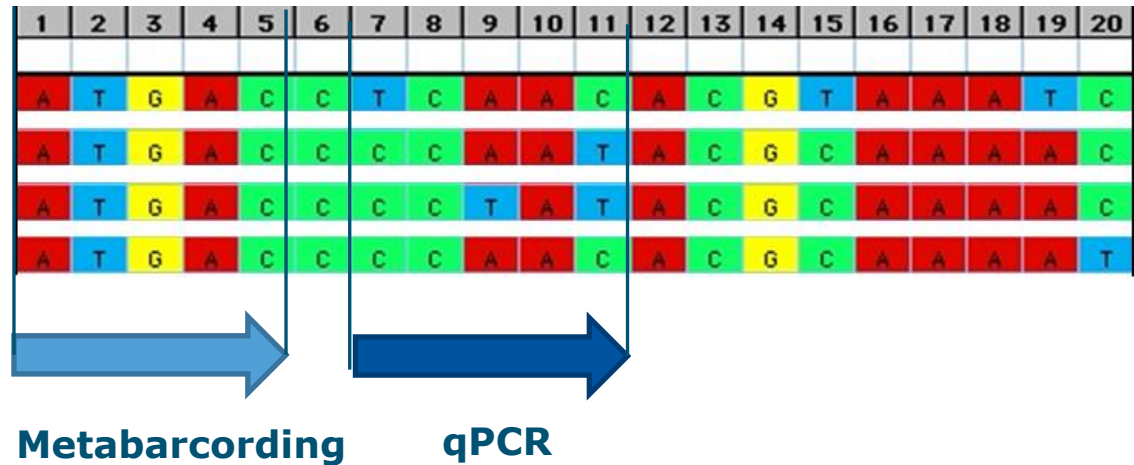
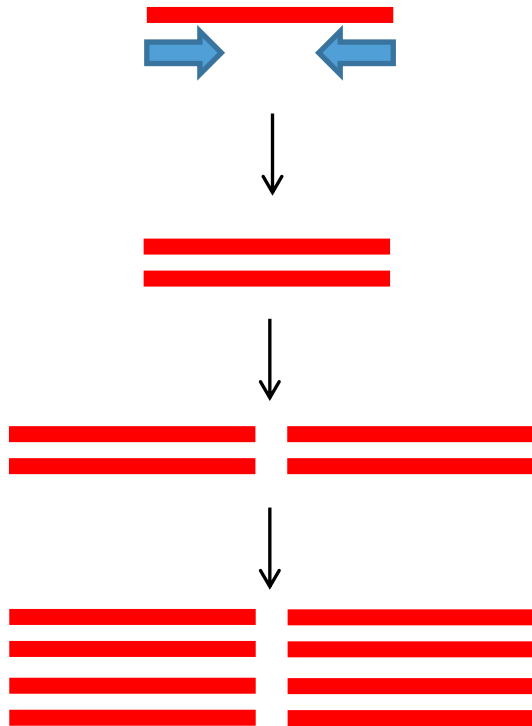
2) DNA metabarcoding

- Aantonen totale diversiteit binnen bepaalde groep



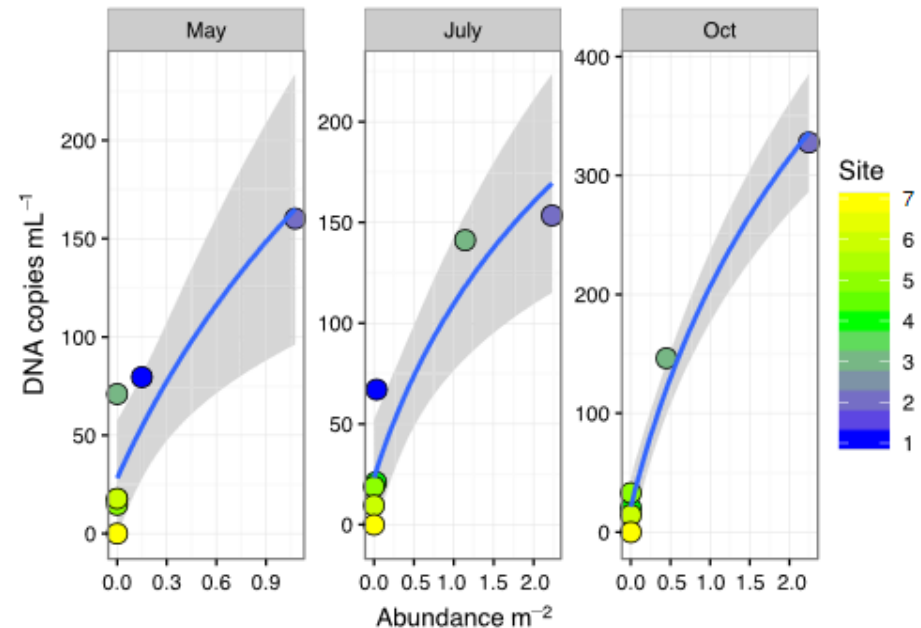
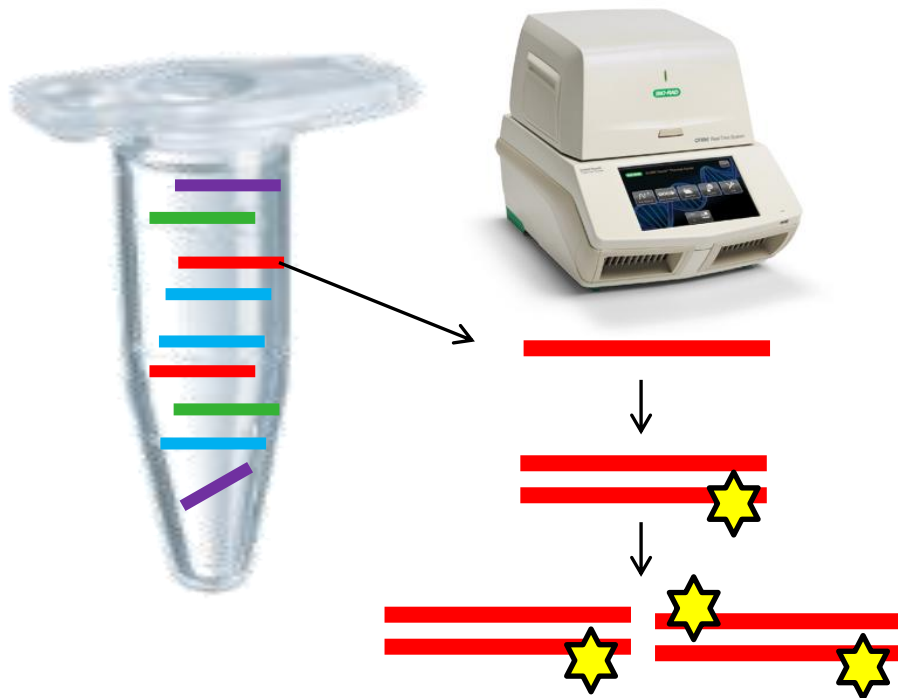
DNA vermeerderen met primers

- Beide methoden gebaseerd op DNA-vermeerdering (PCR)
- “Primers” bepalen hoe specifiek deze vermeerdering is



Methode 1: soortspecifieke detectie via qPCR

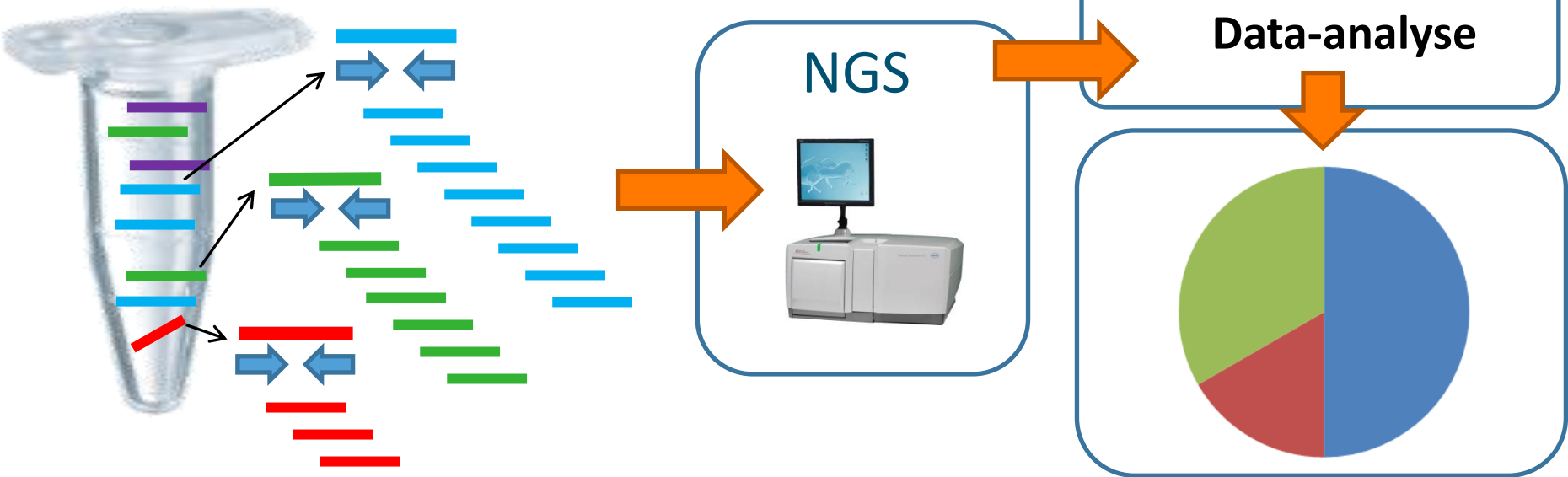
- qPCR vermeerdert kenmerkend stukje DNA van één doelsoort of doelgroep
- Oorspronkelijke DNA concentratie te berekenen uit snelheid van vermeerderen
- Uitdaging: DNA concentratie → aantal individuen



Doi et al. 2017

Methode 2: metabarcoding

- Vermeerdering van DNA van vele soorten
- Uitlezen DNA-codes via **N**ext-**G**eneration **S**equencing
- Vergelijking met een referentie-database
- Resultaat: soortenlijst en relatieve verhoudingen



Bemonstering van oppervlaktewateren



Verskil in betrouwbaarheid?

Conventioneel

(dieren vangen + determineren)

- **Standaard monstername**
Standaard analyse
- **Vaak 1 vast monsterpunt**
- **Tijdrovend: weinig replica's**
- **Soort daadwerkelijk gezien**
- **Identificatie regelmatig problematisch**

eDNA

(eDNA bemonsteren + aantonen)

- **Versillen tussen aanbieders in monster- / analysemethode**
- **Analyse van mengmonsters**
- **Bulk-analyse: meer replica's**
- **DNA als indicator**
- **Identificatie eenvoudiger en vaak hogere resolutie**

Kortom:

- Conventionele en eDNA-monitoring per definitie verschillend
 - Elk heeft voor en nadelen
 - Kies de beste methode of combinatie van methoden
- eDNA methodiek nog niet volledig uitgekristaliseerd
 - Praktijktests zijn essentieel
 - Samenwerking vrager / aanbieder is essentieel