

eDNA analyses van bodems

Robbert van Himbeek & Kees van Bochove

Principe eDNA metabarcoding

Bodemmonsters kunnen middels eDNA geanalyseerd worden op soortensamenstelling. Dit doen we doormiddel van eDNA metabarcoding. DNA dat door het bodemleven in de bodem achter wordt gelaten, zogenaamd environmental DNA (eDNA), wordt in het laboratorium geïsoleerd. Vervolgens wordt het eDNA met een speciale techniek (PCR) vele keren gekopieerd zodat het beter te analyseren is. Hierbij worden “primers” gebruikt. Deze primers worden gebruikt om een kort fragment van het eDNA uit te lezen. Bij het uitlezen, sequenzen genaamd, worden miljoenen stukjes van het eDNA vertaald in een digitale code. Het uitgelezen eDNA resulteert in een enorm grote ruwe dataset waarop vervolgens verschillende kwaliteitschecks en analyses uitgevoerd worden.

Universele primer

Principe

We maken met name gebruik van universele primers die speciaal door Datura Molecular Solutions zijn ontwikkeld. Deze universele primers zijn zeer geschikt om een globaal beeld te krijgen van het type biologische gemeenschap dat aanwezig is in de bodem. Het unieke aan deze universele primers is dat ze zowel eukaryoten als prokaryoten organismen kunnen detecteren. Primers in de wetenschappelijke literatuur detecteren alleen prokaryoten of alleen eukaryoten. Met behulp van deze universele primers kunnen onder andere zowel bacteriën als schimmels gelijktijdig gedetecteerd worden. Met andere DNA-technieken is dit moeilijk/niet betrouwbaar vast te stellen. Dit maakt het mogelijk om op een zeer gestandaardiseerde manier verhoudingen tussen groepen bacteriën en schimmels te bepalen.

Taxonomische resolutie

De taxonomische resolutie is over het algemeen groot genoeg om een indeling te kunnen maken van functionele groepen. Voor studies naar het functioneren van de bodem geeft dit in de meeste situaties meer dan genoeg detail. De taxonomische resolutie hangt sterk af van de soortgroep, en varieert over het algemeen tussen orde/familie en genus. Dit hangt voornamelijk af van hoe compleet de referentie database is. Bij sommige soortgroepen is de referentie database dermate compleet dat tot op soort geïdentificeerd kan worden.

Dat niet alle gedetecteerde DNA-sequenties tot op soort geïdentificeerd kunnen worden, komt ook omdat deze marker zeer universeel/geconserveerd is. Daardoor hebben sommige soorten (binnen een genus/familie) een identieke sequentie. Reden dat we deze marker toch veel gebruiken is dat een zeer breed spectrum van soorten met de universele marker gedetecteerd kunnen worden, wat een zeer compleet beeld geeft van de bodemgemeenschap.

Gevoeligheid

Deze techniek brengt de bulk van het DNA zeer goed in kaart. Met name organismen die als geheel in het bodem sample terecht komen worden gedetecteerd zoals bacteriën, schimmels en protozoa. Een nadeel van deze techniek is dat soorten waarvan de concentratie DNA in de bodem zeer laag is, mogelijk niet gedetecteerd worden omdat ze overschaduw worden door soorten waarvan het DNA

in hogere concentratie aanwezig is. Dit geldt voor soorten die in zeer lage aantallen voorkomen en voor soorten die niet als geheel in het bodemsample terecht komen, maar waarvan alleen lage hoeveelheden sporen van DNA in de bodem aanwezig zijn (springstaarten, mijten, grotere potwormen enz).

Overige primers

Indien hoge gevoeligheid en hoge taxonomische resolutie gewenst is voor een bepaalde soortgroep dan is het aan te raden om aanvullende analyses uit te voeren gericht op de betreffende soortgroep. Bovengenoemde primers kunnen zo ontwikkeld worden dat ze uitsluitend reageren met het DNA van één specifieke soort of een soortgroep. Op deze manier is het mogelijk om de aan- of afwezigheid van belangrijke soorten vast te stellen van de betreffende soortgroep. Een voorbeeld hiervan is een primer die enkel het DNA van bacteriën reageert.

Type data-analyses

Op deze manier kunnen talloze interessante analyses uitgevoerd worden zoals:

- De algemene biodiversiteit van de bodem;
- Diversiteit van een bepaalde soort(groep) of functionele groep, zoals het aantal ectomycorrhiza;
- Aandeel van een bepaalde (soort)groep of functionele groep (bijvoorbeeld stikstof fixerende bacteriën) ten opzichte van de totale hoeveelheid eDNA in de bodem;
- De schimmel/bacterie verhouding;
- Correlaties tussen het aandeel van soortgroepen en chemische parameters (indien gemeten);
- Clustering analyses, om te zien welke samples samen clusteren op basis van de biologische gemeenschap;