



Foto Mathijs de Vos

Beekherstelproject de Run bij Grootgoor

AUTEURS

Gea van der Lee, Marcel Polling
(Wageningen Environmental Research)Ralf Verdonshot
(Wageningen Environmental Research)Iris van der Laan
(Waterschap de Dommel)

DNA-METABARCODING GEEFT GOED BEELD VAN DE WATERKWALITEIT

Om de kwaliteit van het oppervlaktewater en de aquatische biodiversiteit te verbeteren, worden veel herstelmaatregelen uitgevoerd. Maar verbeteren die de ecologie voldoende? En zo niet, welke extra maatregelen zijn dan nodig? Deze vragen zijn lastig te beantwoorden omdat doelgerichte monitoring van de effecten vaak ontbreekt.

Wageningen Environmental Research onderzoekt welke nieuwe meettechnieken kunnen worden ingezet om meer inzicht in te krijgen in de effecten van herstelmaatregelen.

Vaak wordt geen specifiek monitoringsprogramma opgezet om de effectiviteit van herstelmaatregelen te meten. Bestaande meetnetten meten vaak niet op de juiste plekken en momenten. Opschalen van deze reguliere monitoring is met de huidige technieken echter een arbeidsintensieve en daarmee kostbare aangelegenheid. Om knelpunten in een (deel-) stroomgebied vast te stellen zijn daarom aangepaste of nieuwe meettechnieken nodig.

En daarmee zijn we er nog niet. De volgende stap is het vertalen van de gegevens in een zinvolle diagnose van eventuele knelpunten in het watersysteem. Deze vertaalslag is overigens ook bij reguliere monitoring hard nodig.

Doel van dit onderzoek was om vast te stellen of DNA-metabarcoding van macrofauna soortenlijsten kan genereren die overeenkomen met de soorten die in het gebied zouden moeten voorkomen (regionale soortenpoule). Daarmee zou de methode bruikbaar zijn voor een diagnose van ecologische knelpunten en een inschatting van de effectiviteit van de uitgevoerde herstelmaatregelen. Het onderzoek vond plaats in het Brabantse beekje de Run.

Waarom DNA-metabarcoding van macrofauna?

De in de beek aanwezige macrofauna, waaronder libellenlarven, waterkevers, bloedzuigers en watermijten, zegt iets over de toestand van het water. Iedere soort heeft immers een voorkeur voor een bepaald milieu, zoals een specifieke range in stroomsnelheid, voedselrijkdom en temperatuur. Dit worden milieu- en habitatpreferenties genoemd [1]. Als je weet welke soorten in een water voorkomen, is aan de hand van hun milieu- en habitatpreferenties het water te typeren en kunnen stress-scores en knelpunten worden berekend. Of de maatregelen tot een kwaliteitsverbetering hebben geleid, kan dus worden bepaald aan de hand van de aanwezige macrofauna.

Het is echter arbeidsintensief om alle soorten op de traditionele manier met determinatiesleutels op naam te brengen [2]. Bovendien vergt dat uitgebreide specialistische kennis van de uiterlijke soortkenmerken. Het is ook niet mogelijk alle verzamelde individuen sluitend tot op soort te determineren, omdat daarvoor bij jonge of niet geslachtsrijpe exemplaren de uiterlijke kenmerken vaak onvoldoende ontwikkeld zijn. Dat maakt het soms zelfs noodzakelijk een locatie tweemaal, in verschillende jaargetijden, te bezoeken.

Moleculaire technieken, met name DNA-metabarcoding, kunnen deze problemen mogelijk omzeilen. Van meer dan 90% van de macrofaunasoorten van de KRW-maatlatten is een barcode (een karakteristiek stukje DNA-profiel) beschikbaar [3]. In dit onderzoek zijn twee manieren om het DNA te verzamelen getest. De eerste is door het DNA rechtstreeks uit de verzamelde organismen te isoleren (totaal-DNA). De tweede is door uit het water het DNA te filteren dat organismen achterlaten via celresten, slijm en

uitscheiding. Dit DNA uit de leefomgeving heet 'environmental DNA' ofwel e-DNA. Deze technieken zijn op zich niet nieuw, maar worden nog steeds verder geoptimaliseerd.

De Run: degradatie en herstel

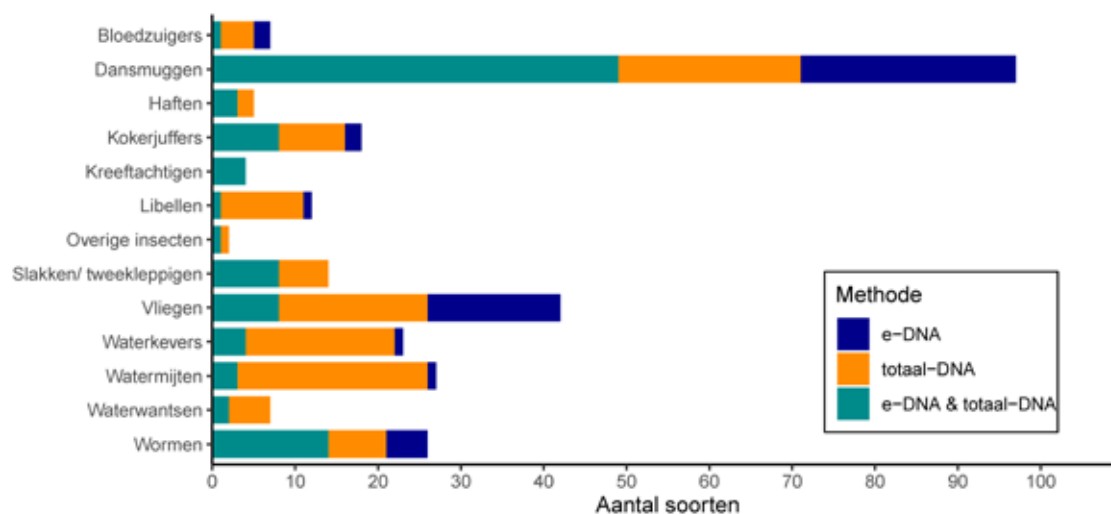
De onderzoekslocatie (het Brabantse beekje de Run) is in het verleden sterk veranderd: van de moerasbeek werd een overgedimensioneerde, rechtgetrokken landbouwwatgang gemaakt. Daarnaast leidde intensivering van de landbouw in de omliggende beekdalgronden tot een sterke toename van de belasting met meststoffen en bestrijdingsmiddelen. De veranderingen in en rond de beek hebben de kwaliteit van het water aanzienlijk verslechterd.

Om de ecologische waterkwaliteit weer te verbeteren en het beekdal 'klimaatrobust' te maken, is waterschap De Dommel in 2021 gestart met het herstellen van ruim drie kilometer beek bij natuurgebied Grootgoor. De Run is hier smaller en ondieper gemaakt en kronkelt weer als vandoord door het landschap. Ook is er meer ruimte gemaakt om hevige regenval op te kunnen vangen en verdroging tegen te gaan.

Data verzamelen en analyseren

In mei 2022 zijn in het herstelde deel van de Run en boven- en benedenstrooms daarvan 28 meetpunten bemonsterd. Macrofauna is verzameld door van de dominant aanwezige habitattypen 1,5 meter te bemonsteren met een standaard-macrofaunanet. Voor e-DNA is op elk meetpunt een monster genomen door 0,5-0,75 liter water te filteren (Sylphium e-DNA Dual Filter Capsule, poriëgrootte 0,8 µm).

In het laboratorium zijn eerst de dieren uit het met het macrofaunanet verzamelde materiaal gesorteerd en geteld volgens een macrofauna-quickscan methode. Daarbij werden de dieren tot op genus (haften, steenvliegen, kokerjuffers, waterkevers) of orde (watermijten, zoetwaterborstelwormen) gedetermineerd, en alle andere tot op familieniveau. Vervolgens is het totaal-DNA van de dieren geëxtraheerd (met de PowerMax Soil kit van Qiagen). Op zowel het e-DNA als het totaal-DNA monster is DNA-metabarcoding uitgevoerd met de zogenaamde Leray primerset [4]. Voor twee meetpunten lukte dit niet door grote hoeveelheden draadalg; deze punten zijn niet meegenomen in de vergelijking.



Afbeelding 1. Aantal macrofaunasoorten per groep dat is vastgesteld in de Run met alleen e-DNA uit watermonsters (blauw), met alleen totaal-DNA van de dieren uit macrofaunamonsters (oranje), en met beide methoden (groen).

Knelpunten berekenen

De knelpunten ofwel stress-scores voor de macrofauna zijn berekend op basis van de milieupreferenties [5]. Voor de quickscan zijn de milieupreferenties van alle soorten die voorkomen binnen hetzelfde KRW-watertype samengenomen, en is gerekend met $\log_{10}(x+1)$ -getransformeerde aantallen individuen. Het e-DNA en totaal-DNA is gescoord op aan-/afwezigheid op soortniveau.

Vergelijking methoden bij het identificeren van soorten

Met e-DNA uit het water werd de aanwezigheid van 160 macrofaunasoorten vastgesteld (afbeelding 1). De resultaten geven een beperkt beeld van de aanwezige levensgemeenschap doordat het e-DNA met name afkomstig was van dansmuggen, vliegen en wormen. Veel soorten die stroming indiceren (libellen, waterwantsen, waterkevers en watermijten) werden gemist doordat deze soorten weinig DNA in het water achterlaten. Het totaal-DNA (DNA van de macrofaunamonsters) geeft, met 230 soorten, wel een gedetailleerd beeld van de soortenrijkdom in de Run. Het merendeel van de gevonden soorten werd met de quickscan ook op een hoger taxonomisch niveau (bijv. familie) vastgesteld. Bovendien is het resultaat met totaal-DNA zeer goed vergelijkbaar met de samenstelling van de regionale soortenpoule (270 soorten, gebaseerd op alle waterschapsdata beschikbaar van de Run). Een groot aantal lastig morfologisch te determineren taxa, waaronder zoetwaterborstelwormen en muggenlarven, kon met totaal-DNA wél tot op soort worden geïdentificeerd.

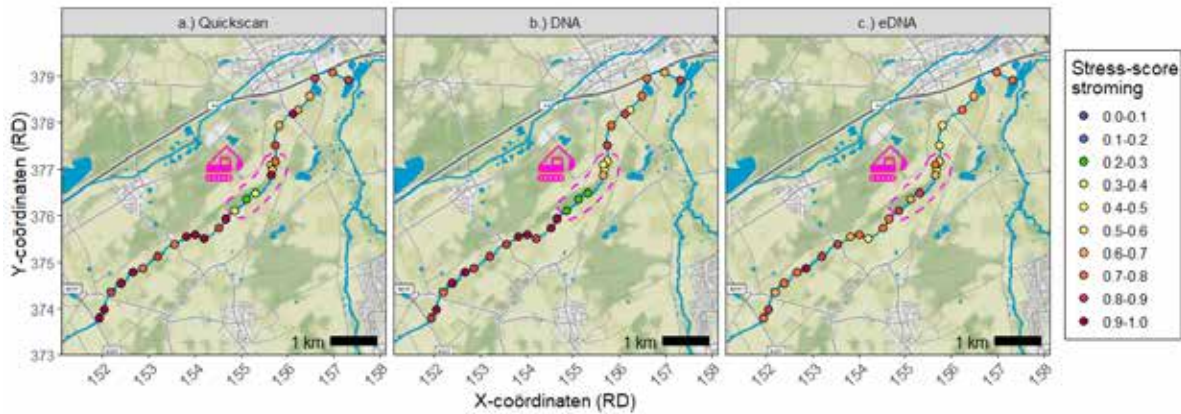
Bruikbaarheid voor knelpuntenanalyse

Vervolgens zijn op basis van de gevonden soorten per meetmethode de stress-scores berekend voor elk

meetpunt. In dit artikel concentreren we ons op de factor stroming. Veel stress betekent het (tijdelijk) wegvallen of ontbreken van stroming, wat ongewenst is in beken. In het herstelde deel van de Run waren maatregelen genomen om de stromingscondities te verbeteren. De verwachting was dus dat hier meer stromingsminderende soorten zouden zijn en de stress-score lager dan elders in de beek. Zowel de quickscan als de DNA-benadering bevestigen dit beeld, maar de DNA-benadering geeft een positievere waardering over een groter traject dan de quickscan (afbeelding 2). Dit was ook te verwachten: omdat de totaal-DNA methode op een lager taxonomisch niveau analyseert, wordt een groter aantal soorten vastgesteld. Gedetailleerde determinatie van de quickscanmonsters tot op soortniveau zou hoogstwaarschijnlijk hetzelfde beeld opleveren. Zo'n gedetailleerdere determinatie vraagt echter een vele malen grotere tijdsinvestering. De e-DNA-diagnose wijkt in negatieve zin af van de quickscan-diagnose, doordat de e-DNA-methode veel soorten die stroming indiceren, niet oppikt. Dat vertekent het beeld.

Conclusies

Deze studie toont aan dat in de Run het e-DNA uit het water een beperkt beeld geeft van de macrofauna, terwijl het totaal-DNA uit macrofaunamonsters juist een zeer compleet beeld geeft van aan-/afwezigheid van soorten. De informatie uit totaal-DNA blijkt daarmee zeer bruikbaar om een diagnose van de ecologische knelpunten in de beek op te stellen. De grote hoeveelheid informatie op soortniveau die op deze manier eenvoudig en snel kan worden verkregen voor een groot aantal meetpunten is een belangrijk voordeel ten opzichte van traditionele determinatie op morfologische kenmerken door macrofaunaspecialisten. De totaal-DNA methode maakt het mogelijk de effectiviteit



Afbeelding 2. Stress-scores voor stroming, berekend met data uit quickscan (links), totaal-DNA (midden) en e-DNA (rechts). Het hersteltraject waar de stromingscondities zijn verbeterd is gemarkeerd met een roze onderbroken lijn (ongeveer in het midden van elk plaatje).

van herstelmaatregelen (deel)stroomgebiedsdekkend te bepalen met een beperkte inzet van middelen.

Gea van der Lee, Marcel Polling, Ralf Verdonshot (*Wageningen Environmental Research*), Iris van der Laan (*Waterschap de Dommel*)

Dank

Het onderzoek in de Run is tot stand gekomen in samenwerking met Aquon en MicroLAN, en ondersteund door het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, in het kader van de Kennis en Innovatie Agenda (KIA); thema Landbouw, Water, Voedsel; missie C: Klimaatbestendig Landelijk en Stedelijk gebied).

BRONNEN

1. Verberk, W.C.E.P., Verdonshot, P.F.M., Van Haaren, T. & Van Maanen, B. (2012) Milieu-en habitatpreferenties van Nederlandse zoetwater-macrofauna. STOWA.
2. Bijkerk, R. (red) (2014) Handboek Hydrobiologie. STOWA.
3. Van der Hoorn, B. & Beentjes, K. (2020). Genetische biomonitoring van macrofauna. H2O online.
4. Leray, M., Yang, J.Y., Meyer, C.P., Mills, S.C., Agudelo, ... & Machida, R.J. (2013). A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity. *Frontiers in zoology*, 10(1), 1-14.
5. van der Lee G.H., Bakker, A.M., Verdonshot R.C.M., Verdonshot P.F.M. (2021). Doorwerking van lokaal beekherstel op de ecologische kwaliteit van het hele stroomgebied. Notitie KIWK.

SAMENVATTING

Om in toekomstige projecten meer te kunnen leren van uitgevoerde herstelmaatregelen kunnen nieuwe meettechnieken van grote waarde zijn. In deze studie is het gebruik van DNA-metabarcoding van macrofauna onderzocht in de Run, een beek waar recent een herstelproject is uitgevoerd. Met e-DNA uit het beekwater blijkt slechts een beperkt deel van de aanwezige macrofauna te worden gedetecteerd. Het totaal-DNA van dieren uit macrofaunamonsters geeft juist een zeer compleet beeld van de levensgemeenschap. Deze volledigheid is een uitstekende basis voor ecologische knelpuntenanalyses; voor de factor stroming geeft de totaal-DNA-methode een gedetailleerd beeld van de omstandigheden in de beek. De traditionele aanpak (determineren op morfologie) kan eenzelfde beeld geven, maar vraagt een grotere tijdsinvestering. DNA-technieken maken het daarmee mogelijk met slechts een beperkte inzet van middelen de effectiviteit van uitgevoerde herstelmaatregelen gebiedsdekkend in beeld te brengen.