

Toepassingen ten behoeve van gezonde ecosystemen

Bodembiodiversiteit beter begrijpen met eDNA-analyse

Het belang van bodembiodiversiteit wordt steeds meer erkend. Gelukkig kunnen we deze diversiteit ook steeds beter meten, waardoor we eindelijk de variatie in het bodemleven beter gaan zien en begrijpen. Het gebruik van environmental DNA (eDNA) kan dit onderzoek een belangrijke impuls geven. In dit artikel leggen we uit waarom en voor welke toepassingen dit het meest waardevol kan zijn.

Door: Arjen de Groot, Stefan Geisen en Ingmar Janse

Over de auteurs:

Dr. Arjen de Groot, senior onderzoeker bij Wageningen Environmental Research

Dr. Stefan Geisen, assistent professor bij Wageningen Universiteit

Dr. Ingmar Janse, wetenschappelijk onderzoeker bij het RIVM

Reageren: g.a.degroot@wur.nl

Bodembiodiversiteit bepalend voor gezonde leefomgeving

Ruim een kwart van de soortenrijkdom op aarde bevindt zich ondergronds. De diversiteit aan vormen en grootten van deze bodemorganismen is enorm, net als hun bijdragen aan het ecosysteem. De aanwezigheid van voldoende exemplaren van de

juiste bodemorganismen is dan ook een voorwaarde voor een gezonde en vruchtbare bodem, die onder andere water goed opneemt en weerbaar is tegen ziekten en plagen.

Dit laatste aspect heeft ook zijn weerslag bovengronds. Bekend is dat het microbiële bodemleven zowel direct als indirect invloed heeft op de gezondheid van planten, dieren en daarmee ook mensen¹. Dit past binnen de zogenaamde “One Health” gedachte dat het welzijn van alle onderdelen van een ecosysteem met elkaar samenhangt. Inderdaad kan de bodem allerlei ziekteverwerkers herbergen, waaronder bacteriën (zoals de veroorzakers van botulisme, tetanus, veteranenziekte, lepra en miltvuur) en spoolwormen (zoals de veroorzaker van ascaridose). Ook allerlei



Figuur 1: Verwerking van een bodemkern voor eDNA-onderzoek. Uit het bodemonmonster kan in een enkele extractie-procedure alle DNA worden verkregen dat in het monster aanwezig was, waarna uit het extract een soortenlijst kan worden bepaald. Zowel in het veld als in het lab dienen de juiste voorzorgsmaatregelen te worden genomen, om kruisvervuiling met ander DNA te voorkomen. Fotografie: Ivo Laros (Wageningen Environmental Research)

gewasziekten, van schadelijke schimmels tot aaltjes, kunnen zich in de bodem ophouden. Maar zowel het microbiom als bodemfauna en planten(wortels) kunnen ook een positieve invloed uitoefenen op plant, dier en mens. Bijvoorbeeld door ziekteverwekkers te onderdrukken of het afweersysteem te stimuleren². Duidelijk is dat de diversiteit en samenstelling van het bodemleven van grote betekenis is voor een gezonde leefomgeving.

eDNA brengt bodembiodiversiteit sneller en completer in beeld

Hoewel onze kennis over het bodemleven de laatste jaren rap is toegenomen en de ondergrondse wereld niet langer de 'black box' is die het lang was, blijft er nog veel onbekend. Belangrijk is om de focus op de verspreiding van een beperkt aantal prominente groepen (zoals ziekteverwekkers) nu te verbreden door ook interacties met andere taxonomische groepen te onderzoeken, inclusief de minder bekende protisten, potwormen en (micro-) arthropoden. Dit vereist inzicht in de samenstelling van het gehele ondergrondse voedselweb en veranderingen daarin in ruimte

Belangrijk is om het onderzoek vaker te verbreden naar interacties tussen soorten

en tijd. Hoewel taxonomisch onderzoek aan bodemorganismen al sinds jaar en dag plaatsvindt, is dit type grootschalige monitoring weinig uitgevoerd, vooral omdat het bestuderen van één taxonomische groep al veel expertise en tijdsinvestering vraagt. Op dit vlak kunnen nieuwe DNA-methoden een oplossing bieden. Uit een milieumonster, zoals een schep water of bodem, kan DNA gewonnen worden (Figuur 1). Dit zogenaamde 'environmental DNA' (eDNA) is afkomstig uit zowel complete organismen (zoals bacteriën) als losse cellen die organismen achterlaten in het milieu waardoor ze zich bewegen. Dit kan worden gebruikt om de soortendiversiteit in een gemeenschap te detecteren, via zogenaamde eDNA metabarcoding. Vergeleken met morfologische analyse levert dit vaak een completer beeld van de diversiteit op en regelmatig (vooral bij jonge exemplaren van sterk verwante soorten) is de methode ook beter in staat tot identificatie tot op soortsniveau. Daarnaast kunnen grote aantallen monsters gelijktijdig worden verwerkt, waardoor het sneller en goedkoper wordt om de monitoringsinspanning flink op te schalen. Het feit dat ook het DNA kan worden opgepikt van organismen die zich zelf al niet meer in het genomen monster bevinden, maakt het mogelijk om via het eDNA uit een enkel bodemmonster een groot aantal soortgroepen aan te tonen. Zo kan in theorie efficiënt het hele voedselweb in beeld worden gebracht en is het niet meer nodig om ecologische uitspraken te baseren op een beperkt aantal bio-indicatoren.

Voor studies aan bodembacteriën en -schimmels is DNA metabarcoding inmiddels de standaard en zijn patronen in taxonomische diversiteit en samenstelling langs milieu-gradiënten (zoals verschil in pH of voedselrijkdom) in beeld gebracht. Een imposant voorbeeld is de recente LUCAS Soil survey geïnitieerd door EU-JRC, die de functionele diversiteit van bodemmicroben beschreef voor 1000 locaties verspreid over Europa³. Vergelijkbare grootschalige studies waarin ook andere soortgroepen worden meegenomen liggen nu in het verschiet.

Huidige en mogelijke toepassingen van eDNA in het bodemonderzoek

Voor beheer van landbouwgronden en natuurlijke bodems De reductie in tijd en kosten die eDNA metabarcoding met zich meebrengt maakt het haalbaar om kennis over verschillen in biodiversiteit expliciet mee te wegen bij keuzes in landgebruik en het beheer van landbouwgrond en/of natuurgebieden. Biodiversiteit vormt een belangrijk einddoel voor huidige transitie naar een meer natuurinclusieve landbouw. De landbouwvisie van het ministerie van LNV⁴ benoemt de noodzaak van duurzaam bodembeheer om te komen tot gezonde, biodiverse bodems, om een hoge productiviteit en lage emissies van broeikasgassen te borgen. Desondanks vormen kosten nog (te) vaak een drempel om bodembiodiversiteit te monitoren. Daardoor blijft vaak onzeker of natuurinclusieve beheersmaatregelen ook daadwerkelijk bijdragen aan behoud en herstel van (basis)natuurkwaliteit en ontbreekt inzicht in landelijke meerjarige trends in bodembiodiversiteit.

De ontwikkeling van de BLN indicatorset (Bodemindicatoren voor Landbouwgronden in Nederland⁵) vormt een deel van de oplossing en biedt een uniforme methode om bodemkwaliteit te meten. Deze set omvat belangrijke en bekende bio-indicatoren zoals bacteriële en schimmel-biomassa. DNA metabarcoding van het microbiom zou echter belangrijk extra inzicht geven in aanwezigheid van en interacties tussen specifieke taxa, waaronder ziekteverwekkers en hun onderdrukkers. Voor nematoden adviseert de BLN nu een abundantie-schatting voor enkele families. Ook hier zou DNA metabarcoding meer inzicht geven in de totale taxonomische samenstelling. Wel liet een directe vergelijking van resultaten op basis van microscopie en DNA metabarcoding zien dat veelgebruikte indices voor het berekenen van bodemkwaliteit op basis van een nematodengemeenschap opnieuw gekalibreerd zullen moeten worden⁶. Voor detectie van microarthropoden is DNA metabarcoding vooral flink efficiënter, wat opname in de BLN kansrijker maakt. Voor analyse van zowel nematoden als microarthropoden geldt echter vooralsnog dat gebruik van eDNA tot incomplete resultaten leidt. Completere gegevens worden verkregen door de individuen eerst uit de bodem te extraheren en daarna te gebruiken voor DNA-analyse.

Wellicht de belangrijkste meerwaarde van het gebruik van eDNA analyse voor landbouw- en natuurlijke bodems is het vermogen om een breed palet aan organismen waar te nemen, zonder te beperken tot een aantal indicatorgroepen. Dit biedt kansen om onverwachte soorten waar te nemen die aanleiding kunnen zijn voor specifieke beheeracties, waaronder naast ziekteverwekkers ook zeldzame en beschermde soorten of (invasieve) exoten.

Voor een gezondere stedelijke omgeving

Dezelfde brede screening van bodembiodiversiteit is eveneens van meerwaarde in een stedelijke omgeving, bijvoorbeeld als systeem voor vroege detectie van eerdergenoemde ziekteverwekkers voor plant, mens en dier. Positieve interacties tussen het bodemleven en de mens zijn echter waarschijnlijk algemener. Recent wetenschappelijk onderzoek benadrukt dan ook de waarde van het stimuleren van (gezonde) open bodemsystemen in de stad ter bevordering van de gezondheid van haar bewoners⁷. Een verhoogde weerstand door contact met nieuwe niet-schadelijke bodemorganismen wordt daarbij genoemd als belangrijk mechanisme. Grootschalige inventarisaties van bodembiodiversiteit en correlatie daarvan met menselijke immuunresponsen kunnen hier meer licht op werpen, en komen binnen bereik via eDNA-analyse. Bemonstering van de bodem zelf is hierbij wellicht niet eens noodzakelijk. eDNA-analyse van luchtmonsters kan tegelijk in beeld brengen welke levende organismen in de omgeving

Met eDNA metabarcoding is veel meer mogelijk dan inzoomen op enkele bio-indicatoren

aanwezig zijn en welke door de mens kunnen worden ingeademd. Onderzoek naar dit zogenaamde 'aerobioom' op de WUR campus liet zien dat een luchtmonster vele organismen bevat die afkomstig zijn uit de bodem⁸.

Huidige beperkingen van eDNA-onderzoek en hoe deze op te lossen

Ondanks de vele mogelijkheden, heeft het gebruik van analysemethoden gebaseerd op eDNA ook beperkingen. Het vormt wel een aanvulling op de huidige methodologische gereedschapskist voor bodemonderzoek zonder dat het andere methoden geheel zal kunnen vervangen.

Een belangrijk aandachtspunt bij metabarcoding is dat het resultaat vooral een soortenlijst is en daarmee kwalitatief inzicht geeft in de samenstelling van het bodemleven. Hoewel relatieve abundanties (verhoudingen in aangetoonde hoeveelheid DNA per taxon) tot op zekere hoogte betrouwbaar zijn, geeft dit geen absolute waarden voor biomassa, laat staan aantallen. Voor bijvoorbeeld het aantonen van ziekten of plagen die alom aanwezig zijn maar pas in hoge aantallen een probleem vormen, is zulke kwantitatieve informatie wel essentieel. De oplossing ligt in de geïntegreerde toepassing van methoden die elkaar aanvullen⁹: DNA-analyse voor detectie en identificatie gekoppeld aan ouderwetse tellingen of, in de toekomst, tellingen en biomassabepalingen via automatische beeldherkenning.

Belangrijk is verder dat bij het kiezen van de juiste genetische merker (het DNA fragment dat wordt onderzocht) een compromis moet worden gemaakt tussen de breedte van de taxonomische groep die kan worden gedetecteerd en het vermogen om de soorten binnen die groep te onderscheiden. Veelgebruikte merkers die bijvoorbeeld alle bacteriën kunnen detecteren zijn vaak niet in staat om verwante soorten of zelfs genetische varianten te onderscheiden. Een beperkt onderscheidend vermogen is overkomelijk bij een brede verkenning van effecten van beheersmaatregelen op de samenstelling van het bodemleven, maar vormt een probleem voor het aantonen van ziekteverwekkers. Voor zulke toepassingen zijn na eDNA metabarcoding gerichte vervolgstudies nodig om vast te stellen of daadwerkelijk sprake is van de pathogene soort of variant. Een voorbeeld is het schimmelgeslacht *Fusarium*. Sommige *Fusarium*-soorten zijn menselijke ziekteverwekkers, andere zijn plantenziekten en weer andere leven slechts van dood hout¹⁰. Nieuwe analyseplatforms die veel langere DNA-fragmenten kunnen onderzoeken vormen mogelijk een uitkomst. Een volgende beperking is dan echter de beschikbaarheid van voldoende referentiedata van mogelijk te detecteren soorten en varianten. Medisch relevante soorten zijn oververtegenwoordigd in de referentiedatabases, wat tot vals-positieve vondsten van ziekteverwekkers kan leiden. Voor ondermeer nematoden en regenwormen zijn de databases aanmerkelijk completer en kan via eDNA metabarcoding een goed inzicht worden verkregen in de functionele diversiteit.

Noten

- 1 Banerjee, S. and M. G. A. van der Heijden (2023). "Soil microbiomes and one health." *Nature Reviews Microbiology* 21: 6-20.
- 2 Thakur MP, Geisen S. (2019) Trophic Regulations of the Soil Microbiome. *Trends in Microbiology* 27: 771-780.
- 3 Orgiazzi, A., P. Panagos, O. Fernández-Ugalde, P. Wojda, M. Labouyrie, C. Ballabio, A. Franco, A. Pistocchi, L. Montanarella and A. Jones (2022). LUCAS Soil Biodiversity and LUCAS Soil Pesticides, new tools for research and policy development. *European Journal of Soil Science* 73: 14.
- 4 LNV (2018). Landbouw, natuur en voedsel: waardevol en verbonden. N. e. V. Ministerie van Landbouw. Den Haag.
- 5 J.J. de Haan, H.G.M. van den Elsen, M.C. Hanegraaf, S.M. Visser (2021). Evaluatie van de BLN, versie 1.0; Voorstel voor BLN, versie 1.1 en schets van een ontwikkelpad naar een BLN, versie 2.0. Wageningen Research, Rapport WPR-883.
- 6 B.S. Griffiths, G.A. de Groot, I. Laros, D. Stone, S. Geisen (2018) The need for standardisation: Exemplified by a description of the diversity, community structure and ecological indices of soil nematodes. *Ecological Indicators* 87: 43-46.
- 7 Sun, X., Liddicoat, C., Tiunov, A. et al. (2023) Harnessing soil biodiversity to promote human health in cities. *NPJ Urban Sustainability* 3: 5.
- 8 De Groot G.A., S. Geisen, E.R.J. Wubs, L. Meulenbroek, I. Laros, L.B. Snoek, D.R. Lammertsma, L.H. Hansen, P.A. Slim (2021) The aerobiome uncovered: Multi-marker metabarcoding reveals potential drivers of turn-over in the full microbial community in the air. *Environment International* 154: 106551.
- 9 Geisen, S., D. H. Wall and W. H. van der Putten (2019) Challenges and Opportunities for Soil Biodiversity in the Anthropocene. *Current Biology* 29: 1036-1044.
- 10 Lara, E., D. Singer, and S. Geisen (2022) Discrepancies between prokaryotes and eukaryotes need to be considered in soil DNA-based studies. *Environmental Microbiology* 24:3829-3839.

eDNA vormt een
aanvulling op de bestaande
gereedschapskist voor
bodemonderzoek