

Verenigingsnieuws

Nieuws van het project “DNA barcoding van de Nederlandse mosflora”

Soorten kunnen niet alleen op basis van morfologische kenmerken worden gedetermineerd, maar ook door verschillen in DNA-sequenties die als moleculaire markers of barcodes gebruikt worden. Een DNA-barcode is gedefinieerd als een deel van het genoom dat volgens bepaalde criteria is vastgelegd om unieke herkenning van soorten mogelijk te maken. Door DNA-barcoding kan bijvoorbeeld de biodiversiteit van bepaalde gebieden of ecosystemen snel in kaart gebracht worden, kunnen collecties op naam gebracht worden zelfs als er belangrijke morfologische kenmerken ontbreken (zoals bij jonge of steriele planten), maar kunnen ook taxonomische problemen rondom moeilijke soortcomplexen worden opgelost. Vooral bij planten is er echter niet één stukje DNA waarmee elke soort moleculair te herkennen is, en moet er vaak een combinatie van meerdere markers als DNA barcode worden gebruikt. Voor mossen is er zelfs nog geen consensus bereikt welke combinatie van markers het beste zal werken, en zijn er nog nauwelijks grootschalige case studies gedaan om dit verder te kunnen bepalen.

NCB Naturalis heeft in 2010 een DNA-barcodingfaciliteit ingericht (NCB Naturalis barcoding facility) en een aantal barcodingprojecten opgestart. NCB Naturalis heeft de ambitie gesteld om jaarlijks 12.000 DNA-barcodes te genereren (zie <http://science.naturalis.nl/research/dna-barcoding>). Een belangrijk deelproject betreft de Flora en Fauna van Nederland. Hierbij is het doel om de complete Flora en Fauna van Nederland te barcoderen. Het project BCP0001 ‘DNA barcoding van de Nederlandse mosflora’ maakt daar een deel van uit. Dit project wordt uitgevoerd in nauwe samenwerking tussen de BLWG en NCB Naturalis.

Het verzamelen van de te barcoderen mossencollecties en het revideren van materiaal van moeilijk te herkennen soorten ligt in handen van de BLWG en wordt gecoördineerd door middel van een reserveringsmodule op de BLWG website.. Het gaat in totaal om meer dan 1600 collecties van alle recent in Nederland aangetroffen mossoorten en soms ondersoorten of variëteiten, voor zover mogelijk drie (tot soms vijf) collecties per taxon. Indien er van een soort minder dan drie vindplaatsen in Nederland bekend zijn zal het gegevensbestand in een latere fase eventueel worden aangevuld met materiaal uit het omliggende buitenland. De DNA-sequenties (barcodes) van de Nederlandse collecties zullen tevens worden vergeleken met sequenties uit de database GenBank. Meer informatie over de verzamelprocedure is te vinden op de BLWG website (<http://www.blwg.nl/dna>).

Sinds het DNA barcoding project in november 2010 officieel van start is gegaan zijn er al ruim 1000 van de benodigde mossencollecties gereserveerd, waarvan circa 650 door de sectie Nationaal Herbarium Nederland van NCB Naturalis zijn ontvangen. Meer dan 20 waarnemers van de BLWG hebben tot nu toe hier aan meegewerkt, als verzamelaar en/of reviseur. Na de ontvangst in de reserveringsmodule is bevestigd worden de collecties overgebracht na de DNA barcoding facility van NCB Naturalis. De 600 overige collecties kunnen waarschijnlijk nog tot medio 2012 ingestuurd worden.

De eerste fase van laboratoriumwerk is in april 2011 van start gegaan en wordt uitgevoerd door Constantijn Mennes. Tot eind september 2011 zullen 570 collecties bewerkt zijn, d.w.z. de totale DNA is dan geëxtraheerd, de DNA stukjes die als barcode markers zijn gekozen (zie onder) zijn door PCR reacties vermenigvuldigd en gesequencet, en er zijn referentiefoto's van de collecties gemaakt. De verzamelgegevens, foto's en DNA-barcodes zullen in een later stadium in de internationale barcoding database BOLD (<http://www.boldsystems.org/views/login.php>) openbaar gesteld worden

en dan voor iedereen toegankelijk zijn. Het getal van 570 collecties wordt enerzijds bepaald door de hoeveelheid materiaal die al is ontvangen en anderzijds door de moleculaire procedure zelf. De DNA extractie en verdere stappen worden namelijk in 96-well platen uitgevoerd, waarin 95 collecties (plus een controle met water i.p.v. DNA-extract) per plaat tegelijkertijd bewerkt kunnen worden, met in totaal zes extractieplaten die tot eind september gereed moeten zijn. Deze eerste fase heeft tevens als doel de moleculaire procedure voor mossen te testen, in het bijzonder de optimale condities voor de DNA-extractie en de PCR reacties te bepalen, om de verdere collecties zo efficiënt mogelijk te kunnen bewerken. Ook het schoonmaken van de te extraheren planten en het maken van de referentiefoto's, twee onderdelen die veel tijd kosten, zijn hierbij punten van aandacht.

Als barcoding markers zijn een stukje DNA uit het chloroplastgenoom (de trnL-F regio) en een stukje DNA uit het kerngenoom (ITS2) gekozen. Uit de eerste twee extractieplaten blijkt dat het slagingspercentage tussen de 74 en 87 procent ligt en daarmee in dezelfde orde van grootte ligt als in de barcodingprojecten van andere groepen organismen. De twee barcoding markers kunnen dus naar verwachting van tenminste driekwart van de 95 monsters per plaat in de eerste keer gesequencet worden. Dit is een zeer positief resultaat dat zeker ermee te maken heeft dat alleen recent verzameld materiaal gebruikt wordt. Verder is na de eerste extractieronde gebleken dat levermossen (plus hauwmossen) en bladmossen beter op aparte platen geëxtraheerd kunnen worden, waardoor in de PCR voor beide groepen verschillende primers kunnen worden gebruikt die het succes kunnen verhogen. Desondanks blijven er collecties over die moeilijk te sequensen zijn, waarvan de PCR-reacties of zelfs de extracties in een later stadium onder verschillende condities herhaald zouden moeten worden. Dit blijkt voornamelijk soorten met hele kleine plantjes en een aantal levermossen te betreffen waarvan het DNA blijkbaar bijzonder gevoelig is en wellicht na een relatief korte periode in het herbarium al deels wordt afgebroken. Een belangrijk onderdeel van de evaluatie aan het eind van deze eerste fase zal dan ook zijn om te kijken of zulke verbanden inderdaad kunnen worden aangetoond en hoe de moeilijke soorten het beste alsnog gedaan kunnen worden. Daarnaast is het uiteraard de bedoeling om de barcodes uit de eerste fase alvast te gebruiken om inzicht te krijgen in een aantal omstrede soortomgrenzingen.

Meer informatie: Michael Stech, NCB Naturalis (sectie NHN), Universiteit Leiden (stech@nhn.leidenuniv.nl), Constantijn Mennes (constantijn.mennes@ncbnaturalis.nl) en Laurens Sparrius, BLWG (sparrius@blwg.nl).

Determinatiemodule korstmossen online

Op www.verspreidingsatlas.nl/determinatie is een eerste versie van online-determinatie afgerond. Vooralsnog betreffen dit de meer algemenere soorten. Door enkele kenmerken in te voeren ontstaat een korte lijst van mogelijke soorten. Door foto's en beschrijvingen te vergelijken kan vervolgens een keuze worden gemaakt voor de juiste soortnaam. De module is mede mogelijk gemaakt door Stichting Fondsen KNNV. De soortkenmerken zijn afkomstig uit diverse bronnen uit binnen- en buitenland en aangepast aan de Nederlandse situatie. We zijn benieuwd naar uw reactie. Deze kunt u sturen naar Laurens Sparrius (sparrius@blwg.nl).

Natuurbericht

De afgelopen maanden is op Natuurbericht.nl af en toe een berichtje over mossen of korstmossen verschenen. Vaak zijn deze nieuwsberichten goed opgepakt door de media. Om elke maand met een interessant bericht te komen, is de BLWG afhankelijk van vondsten en ideeën van leden. Wie van zijn bijzondere vondst een nieuwsbericht wil maken, kan contact opnemen met Laurens Sparrius (sparrius@blwg.nl).