

DNA barcoderen van reptielen, amfibieën en vissen

Berry van der Hoorn

Naturalis werkt aan een DNA-bibliotheek van inheemse en uitheemse dier- en plantensoorten. In 2012 en 2013 hebben vrijwilligers van RAVON hiervoor dode dieren aangeleverd. Van 43 soorten reptielen, amfibieën en vissen zijn één of meerdere exemplaren aangeleverd. Waar is dit eigenlijk goed voor? En wat is er met die dieren gebeurd?

Inleiding

Voor lastig te herkennen soorten (of voor eieren, larvale stadia, of als slechts een stukje dier of plant beschikbaar is) kan je DNA-barcodes gebruiken om planten, dieren en schimmels snel en betrouwbaar te kunnen identificeren op basis van hun DNA. Als je dit wilt doen, is een DNA-bibliotheek van alle soorten nodig. Vergelijk het met de vingerafdrukken van een crimineel: zonder database met vingerafdrukken heb je daar niets aan. Zo'n database met DNA-barcodes is wat Naturalis met een groot aantal andere internationale onderzoeksinstituten ontwikkeld. Tussen 2012 en 2013 hebben Naturalis en RAVON voor dit doel samengewerkt, om reptielen, vissen en amfibieën te verzamelen. Met hulp van vrijwillige experts zijn van 43 soorten één of meerdere exemplaren aangeleverd.

DNA-barcode

Een DNA-barcode is een internationaal afgesproken gedeelte van het totale DNA van een soort. Het stukje is lang genoeg om een soort aan te kunnen herkennen, en kort genoeg waardoor het bepalen van de barcode niet al te duur is. Ter vergelijking: de langste DNA-barcodes



Een watermonster met verschillende soorten ongewervelden, rijp voor analyseren. (Foto: Naturalis)



Analyse in het laboratorium van Naturalis. (Foto: Naturalis)

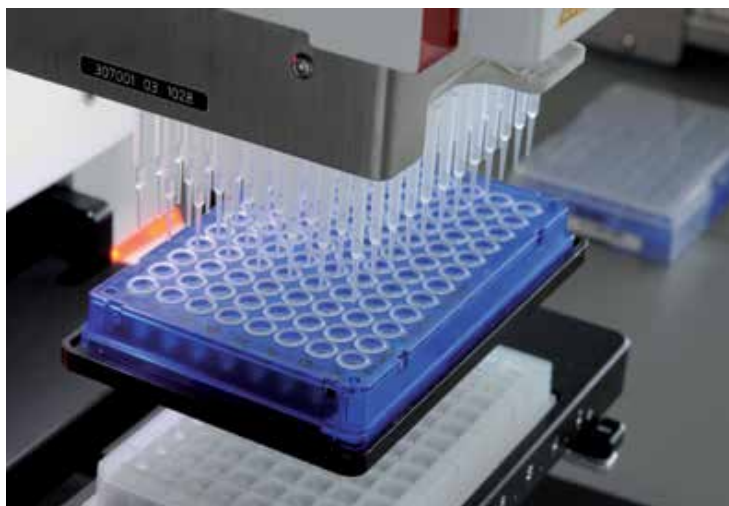
bevatten 650 eenheden aan informatie, het menselijk genoom bevat er drie miljard.

DNA-bibliotheek

Wil je betrouwbaar kunnen identificeren op DNA, dan heb je een betrouwbare bibliotheek nodig als referentie. Daarvoor is het belangrijk dat de planten en dieren waarvan het DNA wordt gebruikt, goed zijn geïdentificeerd, en tot het eind der tijden controleerbaar en herzienbaar zijn. Naturalis heeft de afgelopen jaren onder andere via soortenorganisaties zoals RAVON met meer dan 200 vrijwillige verzamelaars gewerkt volgens vaste protocollen. Zonder uitzondering betroffen het experts die soorten hebben verzameld en geïdentificeerd. De aangeleverde planten en dieren zijn opgenomen in de collectie van Naturalis met bijbehorende gegevens: verzameldatum, locatie, verzamelaar, determinator. Alle exemplaren zijn gefotografeerd en van zoveel mogelijk is de DNA-barcode bepaald, die wordt opgenomen in de internationale database BOLD, de barcode of life database. Zie <http://www.boldsystems.org/>

Een speerpunt van het barcoderen betrof de Nederlandse flora en fauna, maar daar beperkte het zich niet toe. Naturalis heeft bijna twee keer meer barcodes aangeleverd dan met de partnerorganisaties was afgesproken. In totaal zijn ruim 50.000 planten en dieren verzameld, waarvan ruim 40% uit Nederland. Van iedere soort probeerden we ongeveer drie exemplaren te verzamelen, van verschillende plaatsen, omdat er genetische variatie is binnen verspreidingsgebieden. Om er





DNA-monsters worden zoveel mogelijk per 96 verwerkt.
(Foto: Naturalis)

een paar grote groepen binnen Nederland uit te lichten: 6.000 planten en mossen, 3.800 vliegen en 3.700 kevers. Wereldwijd hebben we van zowel libellen als vlinders meer dan 10.000 exemplaren verzameld.

Reptielen, amfibieën en vissen

Ook van de reptielen, amfibieën en vissen wilden we drie exemplaren van elke soort verzamelen, maar we wilden dieren niet doden voor dit doel. Alle ingeleverde dieren betroffen dus dieren die een natuurlijke dood zijn gestorven (of waren aangereden). We zijn redelijk geslaagd. De reptielen gingen vrij soepel, van de meeste soorten ontvingen we meer dan drie exemplaren, van ringslang en hazelworm zelfs veel meer dan dat. Van de 17 amfibieënsoorten ontvingen we van 10 soorten één of meerdere exemplaren. Van de 62 beoogde soorten zoetwatervissen ontvingen we van slechts 26 soorten een exemplaar, ruim een derde van het totaal. Ondanks dat het project is afgerond, wil Naturalis nog steeds graag de resterende amfibieën- en vissoorten completeren (zie kader)!

De toepassing

Verzamelen is leuk, maar het wordt pas nuttig als je iets doet met de resultaten. Een eerste doel betrof een puur wetenschappelijke. Naturalis is een taxonomisch instituut en werkt aan de juiste indeling en naamgeving van planten en dieren, een continu proces, indelingen worden regelmatig herzien op basis van voortschrijdend inzicht en nieuwe informatie. Traditioneel wordt hierbij gekeken naar uiterlijke kenmerken, aangevuld met ecologische en verspreidingskenmerken.

Hoewel het barcoderingsproject formeel is beëindigd, is er vanuit zowel Naturalis als RAVON nog steeds grote interesse om de verzameling DNA-barcodes van Nederlandse amfibieën en zoetwatervissen compleet te krijgen.

Wie een bijdrage wil leveren aan het verzamelen kan contact opnemen met RAVON voor een protocol en de lijst met ontbrekende soorten (met name algemene amfibieënsoorten en zoetwatervissen). Stuur een mail naar: ziektes@ravon.nl of bel 024 - 7 410 600.

Tegenwoordig nemen taxonomen moleculaire gegevens mee als extra bron van informatie. Zo werken Naturalis en de BLWG aan de analyse van mossen wat tot dusver twintig nieuwe soorten voor Nederland heeft opgeleverd. Ook verschillende andere soortgroepen worden taxonomisch opnieuw onder de loep genomen met de barcodes als nieuwe informatiebron.

Andere toepassingen richten zich op het snel detecteren en identificeren van soorten, waarbij de barcodes een extra hulpmiddel kunnen bieden in biomonitoring en ecologische analyses. Naturalis voert de identificaties uit van vogels die met een vliegtuig in aanvaring zijn gekomen. Ontvangen we veren of een bloedmonster, dan kunnen we op basis daarvan identificeren. Zo identificeren we ook in beslag genomen orchideeën voor de douane. Voor de ecologie kunnen analyses met barcodes een extra impuls geven aan voedselweb analyses, zoals bijvoorbeeld het analyseren van uitwerpselen van de meervleermuis om hun dieet te bepalen.

Een groot lopend project is DNA Waterscan, wat tot doel heeft om een diagnose te stellen van waterkwaliteit in Nederland. Allereerst bepalen we de biologische kwaliteit van water aan de hand van het voorkomen van planten en dieren in het water. We onderzoeken of DNA-analyse hier het handwerk (zoals het verzamelen en determineren van macrofauna) kan vervangen. In de tweede stap doen we onderzoek naar de interpretatie van een aangetroffen community van dieren. Wat zegt de soortsaansameling over de waterkwaliteit? Daarvoor ontwikkelen we een databank met ecologische kenmerken, zodat we de soorten kunnen linken aan hun ecologie en zo tot een interpretatie kunnen komen. Als we het voorbeeld van criminelen nog eens aanhalen, dan betreft de eerste stap de identificatie van de crimineel, en de tweede stap de verbinding met zijn strafblad.

Concluderend hebben we de afgelopen jaren een forse stap in de goede richting van DNA toepassingen kunnen zetten, met hulp van een groot aantal experts en organisaties waaronder RAVON. Hiervoor veel dank.

Summary

DNA barcoding of reptiles, amphibians and fish

Among ways of identifying a species, traditional techniques are being supplemented by DNA barcoding. A DNA barcode is a snippet of DNA, an internationally agreed part of the total DNA, used to characterize the species. Naturalis Biodiversity Center in Leiden, the Netherlands, is building up a collection of the DNA of a great number of species and already has a sizeable library. This library can be used for fast and reliable species identification, for species that are otherwise difficult to distinguish visually, or when only parts of the organism are available for identification. For this project, RAVON volunteers collected reptiles, amphibians and fish found dead in 2012 and 2013. All specimens were photographed and are stored in the collection of Naturalis. The DNA barcodes will be stored in the international database:

<http://www.boldsystems.org/>. Our collection of Dutch amphibian and freshwater fish species is not complete. Therefore, should you find a freshly dead specimen, please contact RAVON (ziektes@ravon.nl).

Berry van der Hoorn

Naturalis Biodiversity Center
berry.vanderhoorn@naturalis.nl

