



**Royal
HaskoningDHV**
Enhancing Society Together

Monitoring aquatische biodiversiteit met DNA barcoding veelbelovend

Waterkwaliteit op de kaart II

Berry van der Hoorn, Naturalis

Michiel Hootsmans, KRW Watercycle centre

Roel Knoben, RHDHV

8 oktober 2015

eDNA en metabarcoding

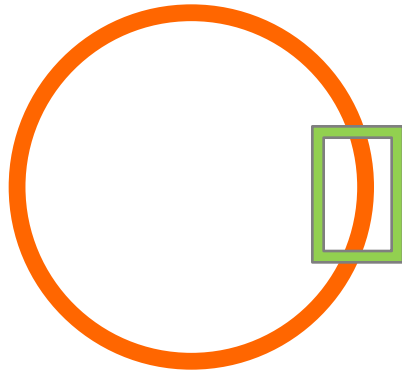
- principe is al niet meer nieuw
- met stukje DNA kan een soort worden geïdentificeerd

Gangbare toepassingen:

- zoeken naar specifieke soort
- zeldzame soorten
- moeilijk vangbare soorten
- vis, amfibiën,...



Principe: DNA Barcodes

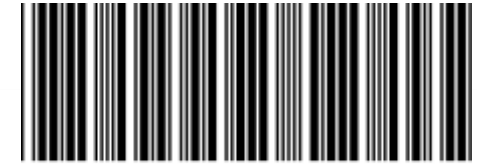


DNA



650bp
3,2 miljard

Marker

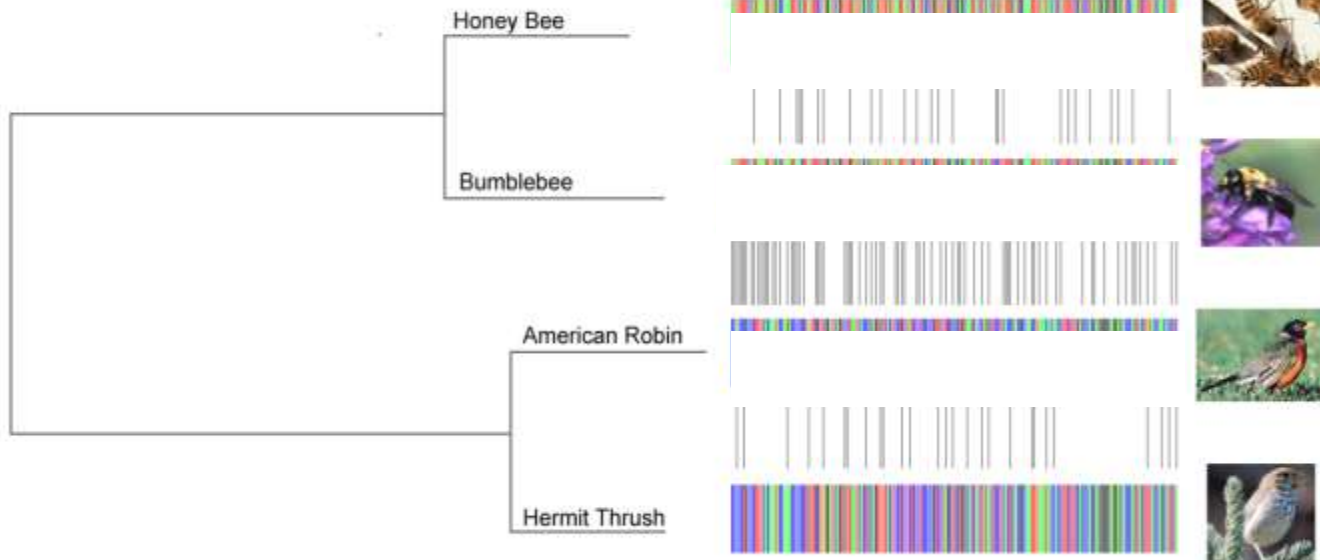


39123439



AATCGGACTTCGATTTCGGAAC...

Barcode



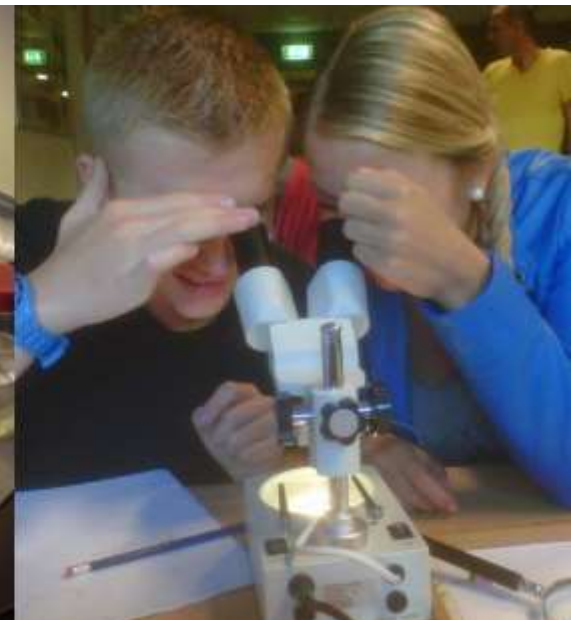
Bruikbaarheid voor biologische monitoring?

Huidige praktijk waterschappen:

- Specialisten voor routinewerk
- Larvale stadia problematisch
- Arbeidsintensief en kostbaar
- Niet uniform, niet controleerbaar

90 MILJOEN

DNA technieken kunnen deze nadelen ondervangen



2 TKI projecten 2014-2016



1) Ontwikkeling van eDNA methodiek voor inventarisatie van aquatische biodiversiteit

2) eDNA Water Scan & Reference tool



koeman en bijkerk bv
ecologisch onderzoek en advies



TKI1: Wat is nodig?

- Monsternamen protocollen: KWR, Koeman en Bijkerk
- Ontwikkeling extractie: KWR
- Betrouwbare DNA methodiek: BaseClear, Naturalis
- Bio-informatica: BaseClear
- Bibliotheek van barcodes en vouchers: Naturalis, EIS
- Macrofauna: ca 2500 soorten

TKI1: Inventarisatie biodiversiteit

2 onderzoekssporen:

- watermonster: lage concentratie DNA sporen
 - grootste besparing mogelijk op uitzoeken in veld
- organismenmonster (blender): hoge concentratie DNA
 - besparing op determinatie in het laboratorium
- Pilot: macrofauna: kevers, wantsen, aarvederkruid



BOLD: internationale database

BOLD SYSTEMS Databases | Taxonomy | Identification | Workbench | Resources

Public Data Portal - Specimen Record Print

Public Data Search

Specimen Data
Sequences
Traces
Combined
2016-09-08

Record Details For ANTVID:11 Back to Search

IDENTIFIERS:

| | | | |
|---------------|---------------------------------|-----------------|---------------|
| Barcode ID | RINM-IND-2409 | Metadata ID | RINM-IND-2409 |
| Field ID | R10000001 | Collection Code | |
| Repository ID | Netherlands Biodiversity Centre | | |

TAXONOMY:

| | | | |
|--------|--------------|-----------|--------------|
| Phylum | Arthropoda | Subphylum | |
| Class | Insecta | Class | Arthropoda |
| Order | Lepidoptera | Order | Arthropoda |
| Family | Heliozelidae | Family | Heliozelidae |

SPECIMEN DETAILS:

| | | | |
|-----------------|-------------------------|------------|----------|
| Number | 1 | Sex | F |
| Material | larva on Vitis vitifera | Life Stage | A |
| Collection Date | 2009-05-28 | Collector | M. Godek |

COLLECTION DATA:

| | | | |
|----------------|---------------------|----------------|------------|
| Country | Italy | Date Collected | 2009-05-28 |
| Province/State | Trentino-Alto Adige | Collector | M. Godek |
| Region/Country | Trento | | |
| Site | Bozza Valsuavia | | |

PUBLICATIONS:

Elk van Nieukerken, David Wagner, Mirco Belokoban, Luca Mazzei, Gerd Angel, Vincenzo Girometta, Carlo Dada and Carsten Domroed. A new species of the genus *Antipsila* (Lepidoptera, Heliozelidae), a new North American gregarious leaf-miner invading Europe. *Systematic Entomology and Biogeography* 2010, 36(2): 170-177 (DOI)

SEQUENCE CO-OP: Fasting Green: NM

| | | | |
|--------------|---|-------------------|--------------|
| Sequence ID | ANTVID-11 COI-01 | GenBank Accession | JQ247233 |
| Last Updated | 2010-02-05 | Organism | Mitochondria |
| Label | Cytochrome Oxidase Subunit I (COI) Region | | |
| Accession | 888 bp | | |

FASTA:

```

AGAGTATATTTTATCTTGGATTTGATCTGAGTGTGATGAACTGATTAAGTTACTAATTCAGCTGAGTT
AGGATACCTGGTTTCTAATTCCTGATGCAATTTGACACAACTTGTACTGCTCAAGTTTATATATAT
TTTTTTATATTTATATGCAATTAATGAGATTTTGTACTGATGATGCTTATATCTAGGACCCAG
TTATATTTCTGTTAAATATATAGATTTGATTTACTCTCTTCAAGACATTAATTTCTAGAG
ATTAAGAAAGATGCTTGGACATTTGATTTTATTTTCTTGTGATGATTTGAGGATGATGATG
TTGATTTACTGATTTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTT
AGGATTTATATTTCTGAGGATTTATGATTTGATGATTTGATGATTTGATGATTTGATGATTTGAT
AGGATTTATATTTGATGATTTGATGATTTGATGATTTGATGATTTGATGATTTGATGATTTGAT
AGGATTTATATTTGATGATTTGATGATTTGATGATTTGATGATTTGATGATTTGATGATTTGAT
AGGATTTATATTTGATGATTTGATGATTTGATGATTTGATGATTTGATGATTTGATGATTTGAT

```

Annotations:

TLTPTDIDGINTDILLNMLWELIDGCVITVYVMPDIDPHVVDIDSPHLLPFLVLSW
HFLVWVDFALPPCLTLLDGLVHGGDITVWVLCGFGKGVNLTTCPLAKTSDLQKPT
TIDVQVHYVSLPQVAVGSDTALLLLVPLASATLLTDLNLSVPPHRSSEVCLVGLF

Illustrative Sequence:

Specimen Images:

License: Creative Commons - Attribution Non-Commercial Share-Alike (CC BY-NC-SA) [View License](#)

License Holder: Elk J. van Nieukerken, INCB Institution

Tags & Comments: Comments Associated Tags: No Tags



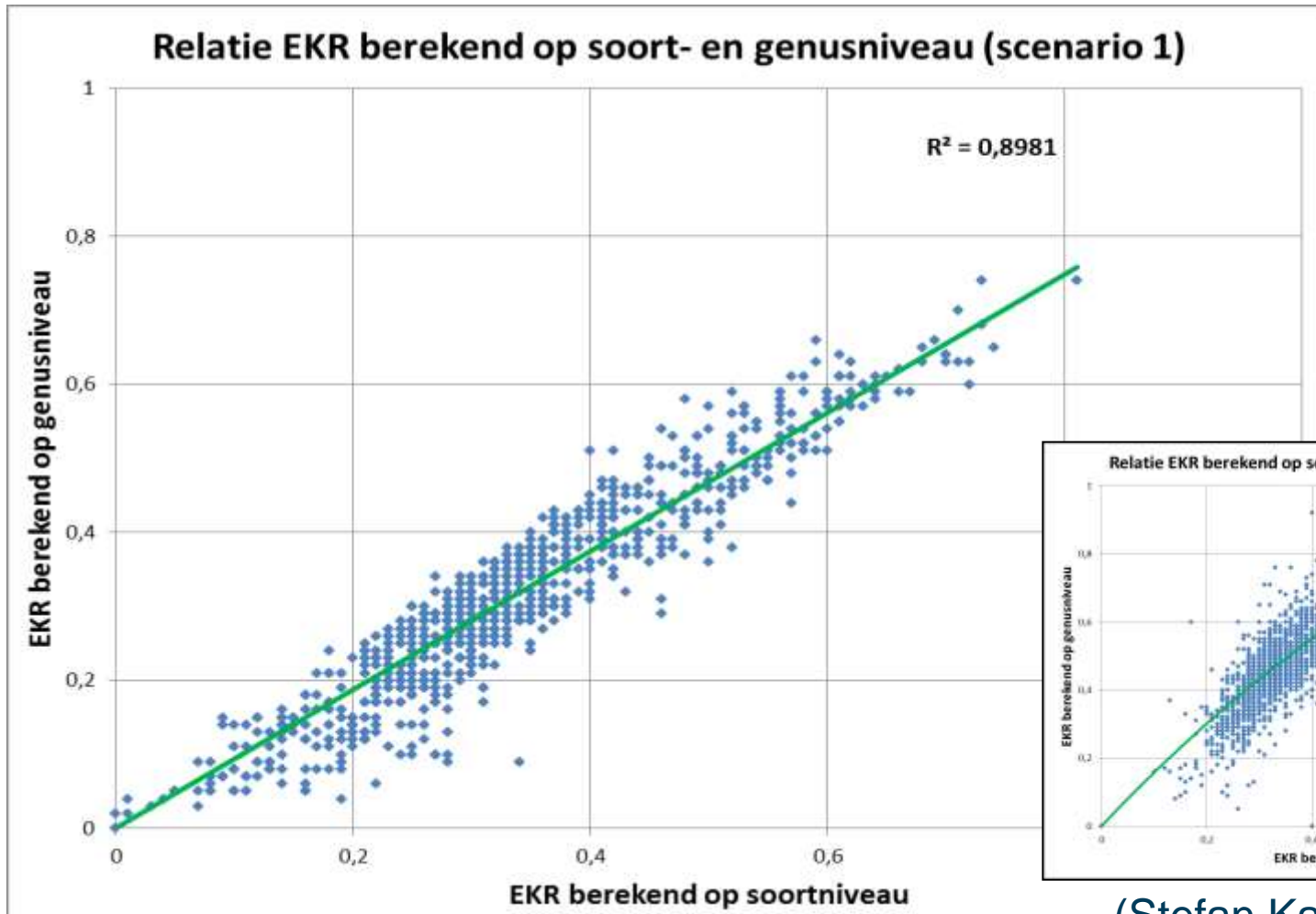
Is KRW beoordeling met eDNA mogelijk?

Macrofauna maatlat:

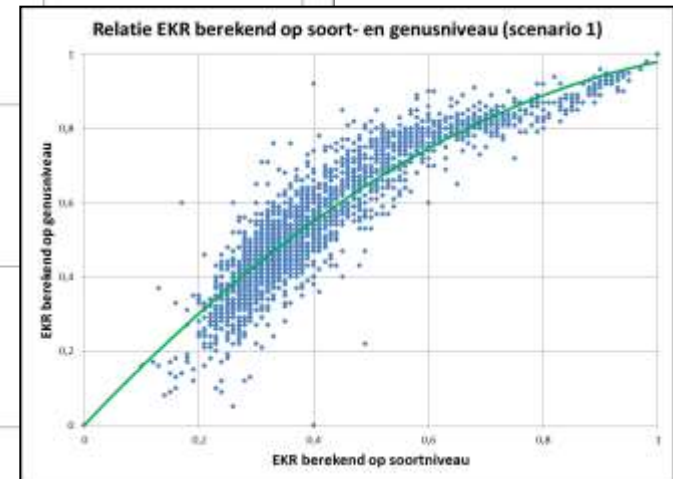
- soortensamenstelling
- abundantie

TKI1 KRW beoordeling

Soort versus genus: M10, 800 monsters



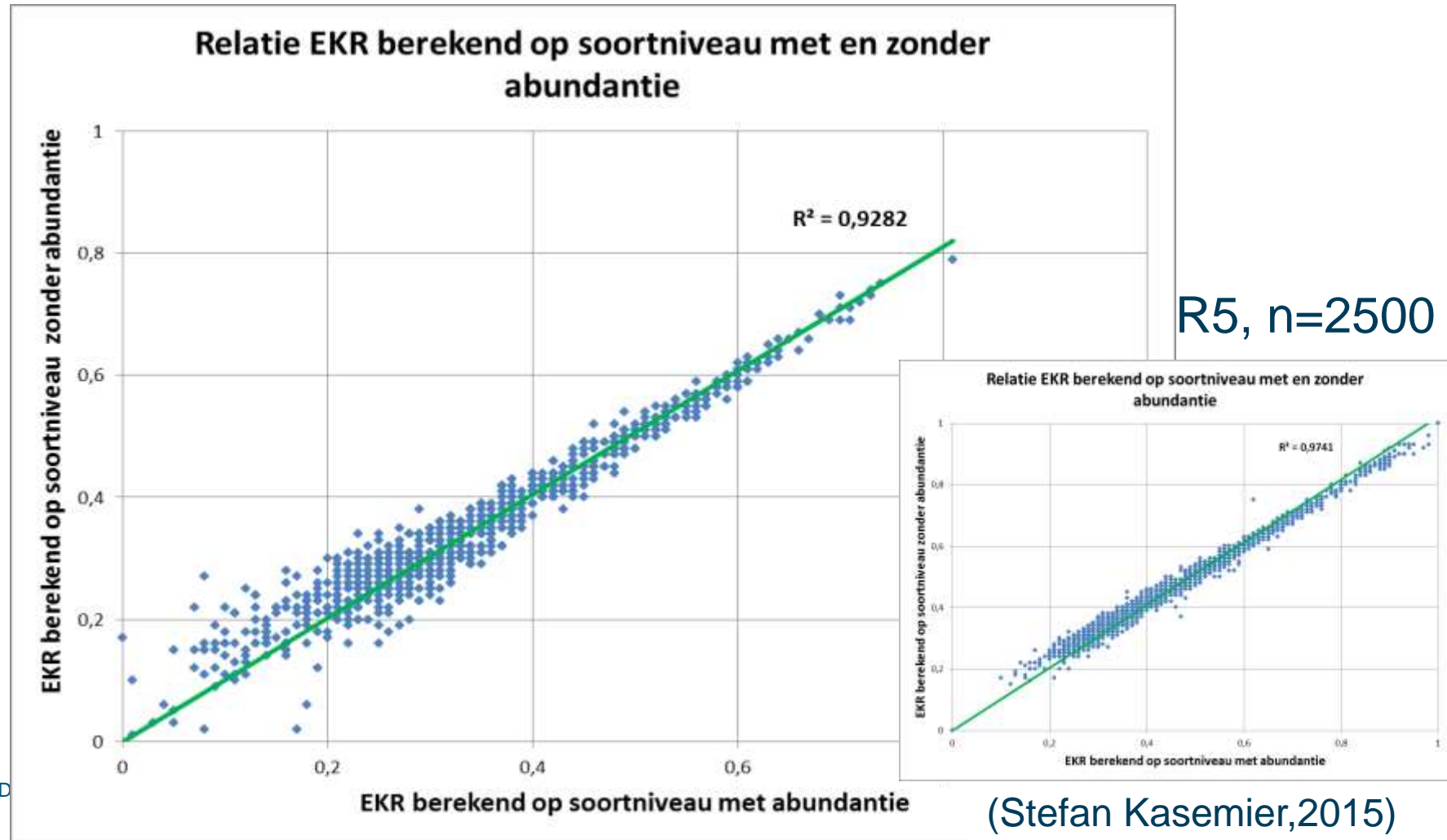
R5, n=2500



(Stefan Kasemier, 2015)

TKI1 KRW beoordeling

Presentie ipv abundantie: M10, 800 monsters



TKI2 Water Scan & Reference Tool

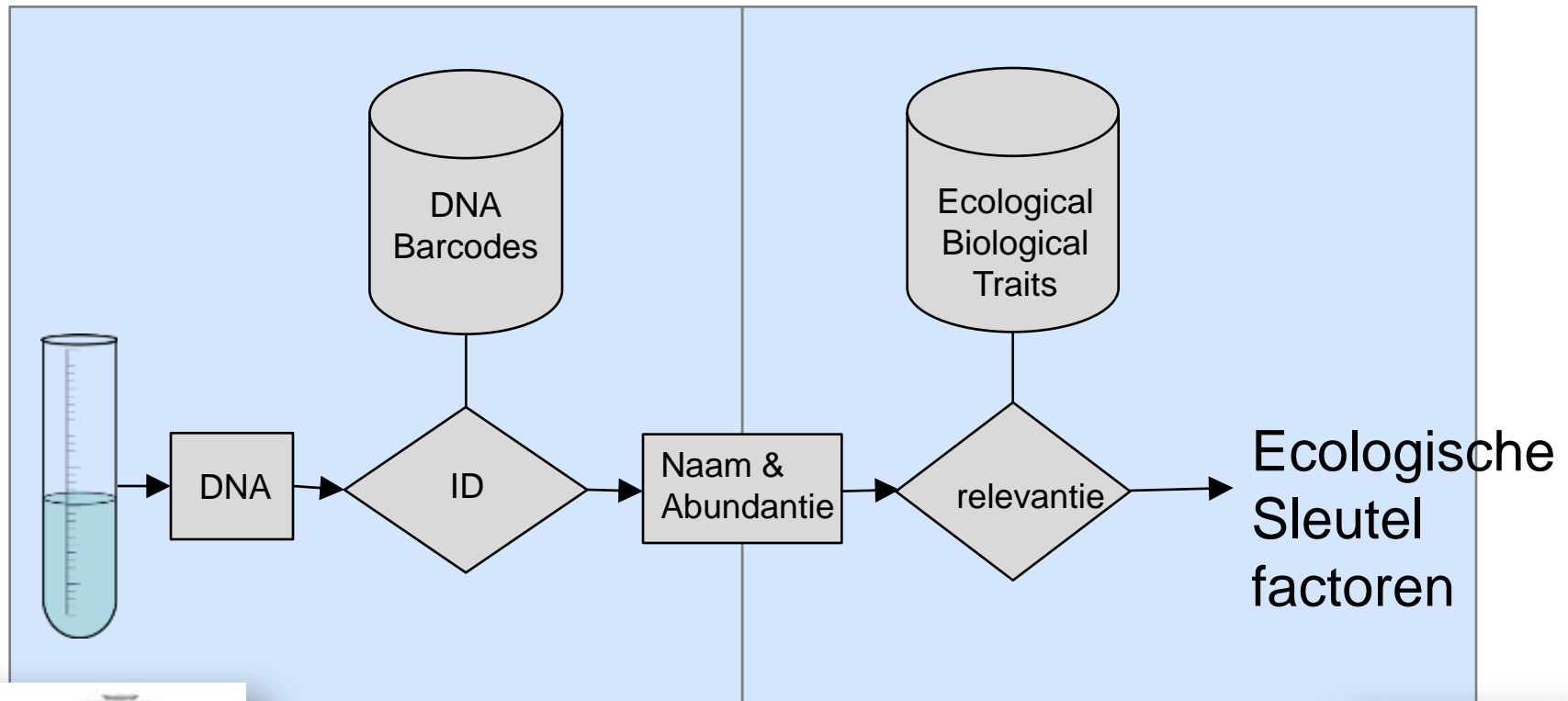
An underwater photograph of a pond. The water is clear and blue-green. Several large, round lily pads with prominent veins are visible, some showing a reddish-orange hue. Dark, slender stems rise from the bottom, supporting the lily pads. In the background, more lily pads and some green aquatic plants are visible. The overall scene is serene and natural.

eDNA als sleutel tot
informatie voor
waterkwaliteitsbeheer

TKI2 Water Scan & Reference Tool

- aquatische biodiversiteit in beeld met eDNA,
- ondervangt afnemende kennis van soorten en determinaties
- gebruik autecologische informatie (traits) van soorten
- combineer beide informatiebronnen tot ecologische kenmerken en waarden voor sleutelfactoren
- -> diagnostische tool, aangrijpingspunt voor maatregelen

TKI2 conceptueel ontwerp



DNA
onderzoek

Trait
research



Bioinformatics pipeline

TKI2 koppeling aan ecologische sleutelfactoren



Productiviteit water



Lichtklimaat



Productiviteit bodem

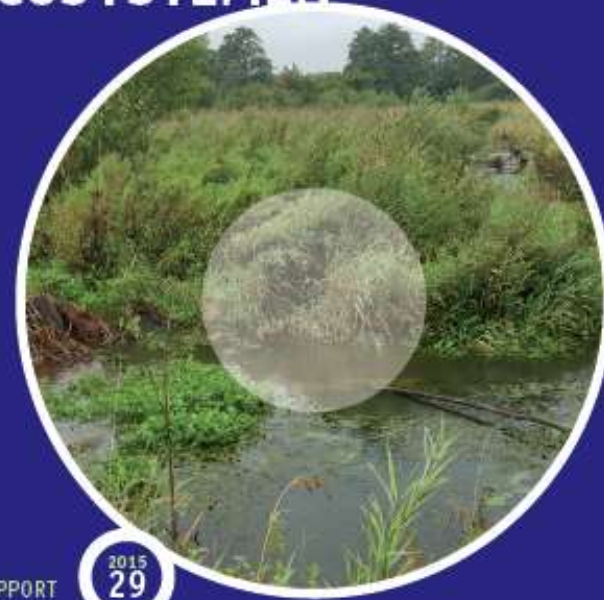


Habitat geschiktheid

stowa

VISIE OP AQUATISCH ECOSYSTEEM FUNCTIENEREN EN AFGELEIDE PARAMETERS
VOOR MODELONTWIKKELING EN WATERBEHEER

ECOLOGISCH RAAMWERK VOOR AQUATISCHE ECOSYSTEMEN

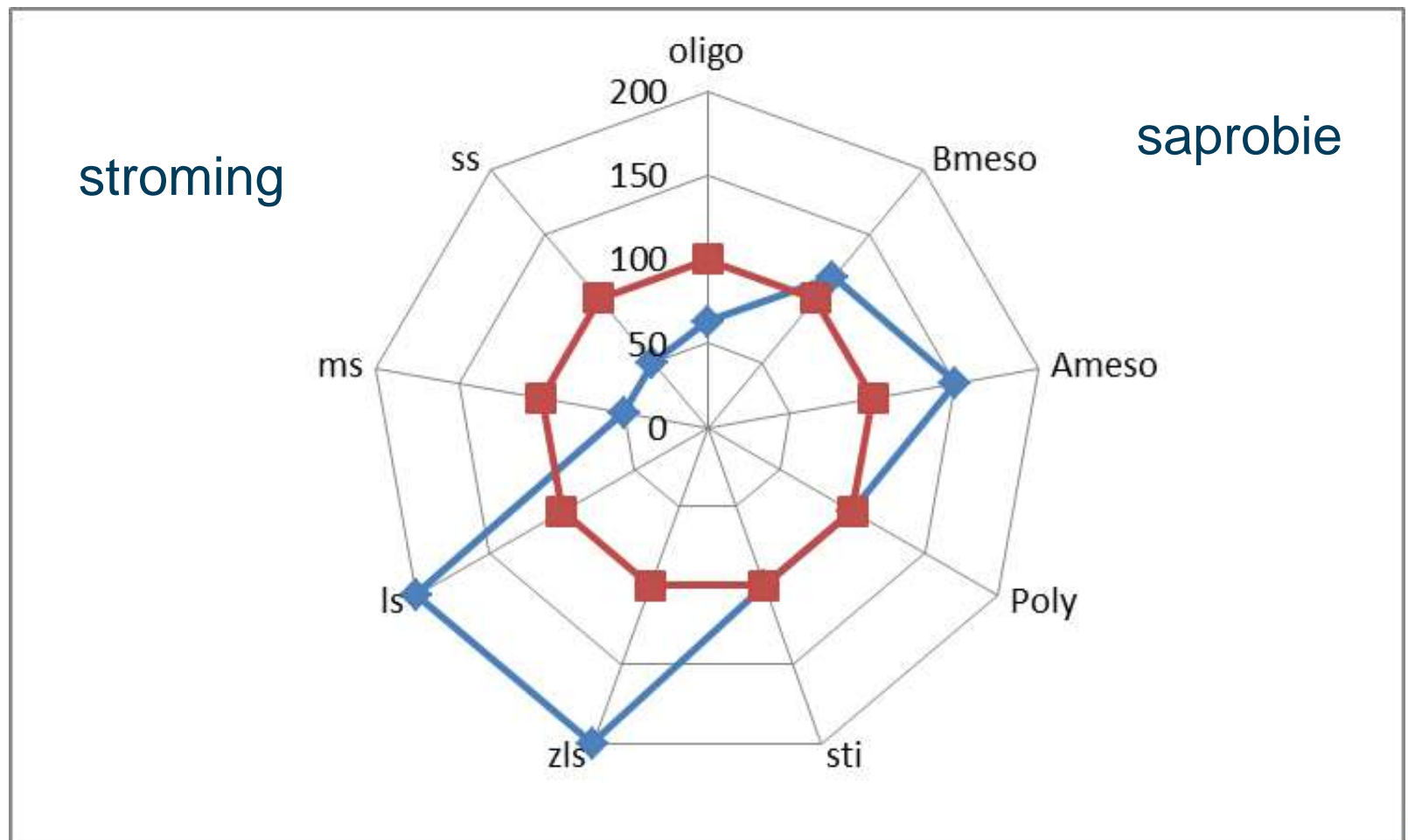


RAPPORT

2015
29

TKI2 diagnose 2 ecologische sleutelfactoren

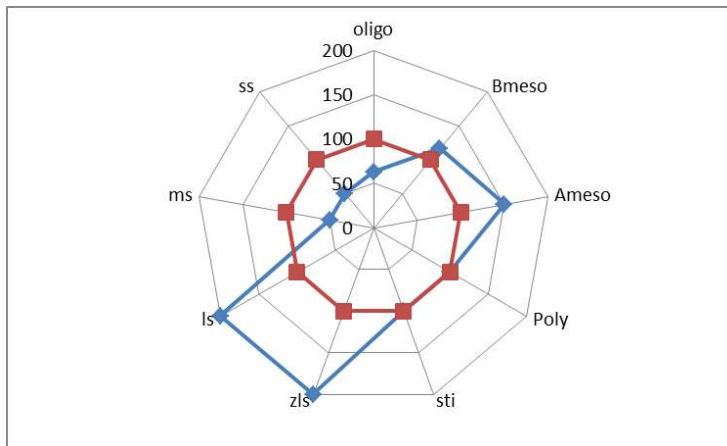
- Resultaat voor **Locatie** relatief ten opzichte van **Referentie**



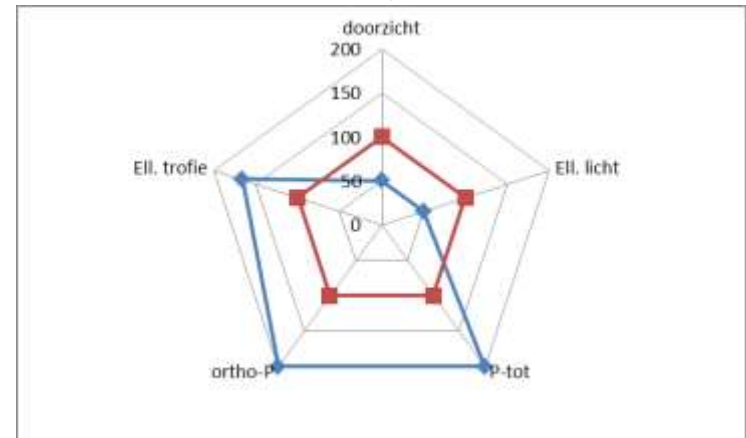
TKI2 diagnose op basis meerdere groepen

- Resultaat voor **Locatie** relatief ten opzichte van **Referentie**

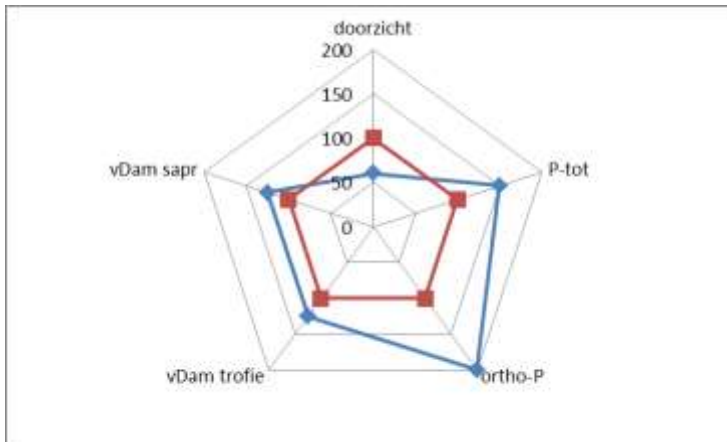
Macrofauna



Macrofyten



Diatomeeën



Voorlopige conclusies TKI1

- barcoding van macrofauna gaat momenteel in hoog tempo
- eDNA-methode biedt veelbelovend perspectief voor KRW beoordeling
- nog onduidelijk of water of organismen monster nodig is
- wel nog toetsen aan intercalibratie guidance

Voorlopige conclusies TKI2

- Contouren van conceptueel ontwerp komen in beeld
- Aandachtspunten en vragen:
 - Zijn voldoende autecologische data (in db) beschikbaar?
 - Is de waarde van sleutelfactoren in referentie voldoende bekend ?
 - Zijn alle soortgroepen nodig?
 - Zijn ecologische sleutelfactoren voldoende onderscheidend?
- Showcases uitwerken

A close-up photograph of a pond. In the foreground, several tall, thin green reeds or grasses are in sharp focus, their blades crisscrossing the frame. In the background, the water is dark and still, with several water lilies floating on its surface. One water lily is particularly prominent, showing its four rounded, light green leaves. The overall scene is peaceful and natural. The text "Dank voor uw aandacht" is overlaid in white, bold, sans-serif font across the middle of the image.

Dank voor uw aandacht