

Genetische tools voor natuurbeheer: van het lab naar de praktijk

Genetische technieken worden nog altijd maar mondjesmaat gebruikt in het natuurbeheer en -beleid. Dit is deels het gevolg van een imago probleem: in het verleden waren deze technieken prijzig, en de toepassingsmogelijkheden beperkt. De moleculaire ecologie staat echter niet stil en nieuwe ontwikkelingen volgen elkaar in hoog tempo op. Gevestigde technieken hebben hun concrete waarde voor beleidsvorming en praktisch populatiebeheer inmiddels bewezen, en worden prijstechnisch steeds interessanter. Nieuwe technieken bieden een efficiënt alternatief voor conventionele inventarisaties. Tijd voor een update.

— Arjen de Groot en Ivo Laros (ALTErrA - Wageningen UR)



Figuur 1 Een otterkeutel bevat voldoende DNA voor individuele herkenning.



© Alterra

Figuur 2 Overzichtskaart van de genetische substructuur binnen de Nederlandse populatie boommarters, op basis van het statistische computerprogramma GENELAND. De populatie valt ten hoogste uiteen in twee clusters, die in samenstelling echter nog altijd zeer sterk overeenkomen. Dit duidt op een geringe invloed van infrastructurale barrières voor verspreiding.

> **GENETISCHE DIVERSITEIT IS ESSENTIEEL VOOR** het overleven van populaties van zowel planten als dieren. Wetenschappers verrichten daarom wereldwijd onderzoek aan de genetische variatie binnen en tussen populaties van bedreigde diersoorten. Het nut van genetisch onderzoek gaat echter veel verder dan simpelweg het in kaart brengen van patronen van variatie. Het bestaan van verschillen in de exacte genetische code tussen soorten, tussen populaties en tussen individuen kan worden gebruikt voor het beantwoorden van een breed scala aan praktische ecologische vragen, met directe relevantie voor natuurbeleid en -beheer. Nu de mogelijkheden voor het bemachtigen en analyseren van DNA-monsters steeds gevarieerder en sneller zijn geworden, en de kosten in rap tempo afnemen, is een gereedschapskist ontstaan die niet alleen nieuwe vragen kan beantwoorden, maar ook een efficiënter en goedkoper alternatief kan bieden voor bestaande onderzoeksmethoden. Tabel 1 geeft een globaal overzicht van deze gereedschapskist. In dit artikel zullen we ingaan op een aantal veel gebruikte toepassingen, en enkele veelbelovende nieuwe ontwikkelingen.

De vinger aan de pols

De nog altijd meest bekende toepassing van genetisch onderzoek richt zich op de monitoring van populaties van bedreigde soorten. Versnippering en vernietiging van leefgebied heeft voor vele soorten geleid tot een reductie van zowel het aantal als de grootte van populaties. Dit vormt een probleem, want hoe kleiner een populatie, hoe groter de kans dat deze door toevallige schommelingen in sterfte en aanwas tot nul wordt gereduceerd. Dezelfde toevalligheden vergroten tevens de kans op het verlies van genetische varianten. Mogelijke gevolgen zijn een gebrek aan aanpassingsvermogen, maar ook het optreden van inteelt, en daardoor uiteindelijk een afname van overlevingskansen en reproductief vermogen. Het bepalen van de levensvatbaarheid van kleine populaties is essentieel voor vroegtijdige en gerichte mitigatie. Voor een aantal soorten schrijven Europese richtlijnen, zoals de Habitatrichtlijn, dan ook voor dat de staat van instandhouding moet worden gemonitord.

Ook na een herintroductie dient een vinger aan de pols gehouden te worden. Een goed voorbeeld is het onderzoek dat Alterra verricht aan de status van de Nederlandse otterpopulatie (*Lutra lutra*). Sinds de herintroductie van de otter in 2002 in de Wieden en Weerribben worden jaarlijks uitwerpselen bemonsterd en genetisch gekarakteriseerd (Figuur 1). De otter laat een zeer geringe hoeveelheid DNA achter in zijn uitwerpselen, op basis waarvan deze genetisch gekarakteriseerd kan worden. Uit deze

genetische data kan een schat aan informatie worden afgeleid zoals het leefgebied, trekgedrag en voorplantingssucces van een individu, maar ook de verwantschap tussen parende dieren en de genetische vitaliteit van de populatie. De resultaten laten zien dat de populatie weliswaar gestaag in omvang toeneemt, maar dat slechts een klein aantal otters betrokken is bij reproductie, waardoor het inteeltniveau zorgwekkend stijgt. Op basis hiervan zijn concrete beheersadviezen opgesteld. Het gebruik van uitwerpselen of andere non-invasieve monsters (losse haren, veren of eischalen) voor het winnen van DNA voor onderzoek is een relatief recente ontwikkeling, die populatieonderzoek aanzienlijk kan vereenvoudigen, met name voor lastig waarneembare soorten. Meerjarige non-invasieve genetische monitoring is efficiënt (weinig veldwerk), en levert aanzienlijk meer gegevens op dan conventionele methoden gebaseerd op (terug) vangst, cameravallen of telemetrie, zonder de daarmee samenhangende verstoring.

Migratieroutes en herkomstbepaling

De noodzaak tot het terugdringen van de versnippering van leefgebied ligt inmiddels verankerd in zowel het Europese als het Nederlandse natuurbeleid. Ook het huidige kabinet zet in op de voltooiing van de Ecologische Hoofdstructuur, inclusief de geplande verbindingzones. Vanwege de aanzienlijke kosten wordt echter het nut van concrete maatregelen zoals ecodeucten van tijd tot tijd door media en politiek ter discussie gesteld. Het doel van ontsnipperingsmaatregelen is het herstellen van migratie tussen leefgebieden. De optimale locatie en inrichting van een ecodeuct is echter sterk afhankelijk van de doelsoorten en hun ruimtelijke populatiestructuur. De afgelopen jaren zijn nieuwe statistische methoden ontwikkeld waarmee de samenhang tussen landschapskarakteristieken en ruimtelijke verschillen in de genetische samenstelling van populaties nauwkeurig in kaart gebracht kan worden. Dit helpt om natuurlijke grenzen tussen populaties vast te stellen, om migratiebarrières in het landschap op te sporen, en de herkomst van populaties te achterhalen.

Recent voerde Alterra, in opdracht van de Provincies Limburg en Noord-Brabant, een onderzoek uit naar de populatiestructuur van wilde zwijnen, waaruit bleek dat zwijnen in verschillende natuurgebieden in deze provincies duidelijk verschillen wat betreft hun genetische samenstelling. Dit bleek echter niet of nauwelijks verband te houden met de aanwezigheid van snelwegen of andere potentiële barrières in het landschap. Verwantschapsanalyses toonden aan dat verschillen waarschijnlijk voortkomen

uit een verschil in oorsprong (bronpopulatie): sommige populaties zijn bijvoorbeeld sterk verwant aan dieren vlak over de Duitse grens, terwijl sommige andere meer waarschijnlijk afkomstig zijn uit Vlaams Limburg. Ook voor boomarters toonde een recent onderzoek van Alterra aan dat het Nederlandse verstedelijkte landschap niet of nauwelijks gevolgen heeft voor de genetische uitwisseling (Figuur 2), en dat dispersie over afstanden van tientallen kilometers regelmatig plaatsvindt. Dit toont de relevantie van gedegen vooronderzoek. Ook voor monitoring van het effect van bestaande ecodeucten biedt genetische studie uitkomst. Cruciaal daarbij is de vraag of de oversteek van enkele dieren ook daadwerkelijk leidt tot effectieve uitwisseling. Het tellen van passerende dieren is hiervoor geen bewijs, aangezien het zeer wel mogelijk is dat dieren weer terugkeren zonder aan de overzijde van het ecodeuct tot paring te zijn gekomen.

De oorsprong van een wilde populatie kan natuurlijk zijn (dat wil zeggen, kolonisatie vanuit een andere populatie), maar soms bestaat een vermoeden van illegale uitzet. In dergelijke gevallen kunnen verwantschapsanalyses een bijdrage leveren aan forensisch onderzoek, door de exacte genetische samenstelling van de mogelijk uitgezette dieren te vergelijken met die van potentiële bronpopulaties. Op vergelijkbare wijze kan een vermoeden van illegaal bezit van beschermde dieren of planten nader worden onderzocht.

Soortherkenning

Naast het onderscheiden van individuen of populaties, zijn ook genetische methoden beschikbaar voor onderscheid op soortniveau. Deze vallen onder de noemer DNA barcoding, en zijn gebaseerd op het uitlezen van een klein DNA-fragment waarvan de exacte code wel verschilt tussen individuen van verschillende soorten, maar niet tussen soortgenoten. De exacte code van dit fragment kan daardoor gebruikt worden om een onbekend organisme op naam te brengen, op dezelfde manier waarop de scanner bij de kassa van een supermarkt een product identificeert op basis van de barcode op de verpakking. Hoewel al talrijke toepassingen zijn gevonden in de medische wereld en de voedselindustrie (zoals de recent opsporing van fraude met etikettering), staan toepassingen in de ecologie en het natuurbeheer nog in de kinderschoenen. Mogelijke praktische implementaties zijn de screening van plantaardige en dierlijke producten in de internationale handel op de illegale aanwezigheid van beschermde soorten, of screening van geïmporteerde organismen op de aanwezigheid van ziekten en pesten. Een

Tabel 1 Een blik in de 'genetische gereedschapskist': een overzicht van beschikbare methoden, het type vragen dat daarmee te beantwoorden is, en hun praktische relevantie voor natuurbeheer en -beleid.

Doel:	Voorbeelden van concrete vragen:	Praktische relevantie:	Wijze van monstername:	Methodiek voor variatie-analyse:	Niveau van variatie:
Monitoring van de levensvatbaarheid van populaties	Is de lokale genetische variatie van een zorgwekkend laag niveau? In hoeverre is er sprake van inteelt in de populatie? In welke mate vind reproductie plaats, en hoeveel individuen zijn hierbij betrokken? Is er sprake van een zorgwekkend hoge sterfte?	Soortbeschermsplannen, planning en monitoring van (her) introducties, lokaal populatiebeheer	Bladfragmenten of dierlijk weefsel, bloed, of non-invasief materiaal (veer, eischaal, haar, uitwerpselen) van meerdere individuen	Genotypering (AFLP, RFLP, microsatellieten)	Tussen individuen
Bepaling populatiegrootte	Wat is de totale omvang van de lokale populatie?				
Afbakening van populaties	Waar liggen natuurlijke grenzen van populaties, die gebruikt kunnen worden voor de afbakening van beheereenheden?				
Bepaling van verschillen tussen populaties	In hoeverre is sprake van een autochtone of genetisch unieke populatie?				
Herkomstbepaling	In hoeverre is sprake van hybridisatie met (ontsnapte) exoten? Wat is de bron(populatie) van lokaal aange troffen dieren of planten?				
Monitoring van migratiestromen	Welke routes worden gebruikt voor trek tussen gebieden? In hoeverre is lokaal sprake van een barrière voor migratie en uitwisseling? Wat is de effectiviteit van een reeds voltooide verbindingzone of faunapassage?				
Verwantschapsanalyse	Komen twee individuen uit dezelfde populatie, of is sprake van een ouder-kind relatie?	Forensisch onderzoek (illegale vangst of uitzet)			
Soortherkenning	Betreft het gevonden individu een nieuwe soort?	Lokale inventarisaties (voor beheer of rapportage)	Bladfragment, weefsel-, bloed- of non-invasief monster van een specifiek individu	DNA barcoding (sequentie-markers)	
	Betreft het gevonden individu een doelsoort voor beheer?	Soortbeschermsplannen			
	Betreft het gevonden individu een soort waarvoor beschermende wetgeving bestaat (rode lijst, CITES, etc.)?	Grenscontroles, forensisch onderzoek			
	Is een plant of dier geïnfecteerd met een pestsoort of ziekteverwekker?	Pestregulatie, gezondheidsrisico's	Plantaardig of dierlijk materiaal		
Diversiteitsbepaling	Wat is de dieetsamenstelling van een soort of individu? Wat is de lokale soortenrijkdom en soortensamenstelling (in o.a. sloot, rivier of bodem)?	Vaststellen problemen met voedselbeschikbaarheid of predatie	Uitwerpselen		Tussen soorten
Soortdetectie	Is een specifieke doelsoort lokaal wel of niet aanwezig?	Kaderrichtlijnen (KRW en KRB)	Water- of bodem	eDNA barcoding (environmental DNA)	
	Is een specifieke (invasieve) exoot lokaal wel of niet aanwezig?	Kaderrichtlijnen, risicoschattingen			
	Is een specifieke ziekteverwekker of pestsoort wel of niet aanwezig in het milieu?	Pestregulatie, gezondheidsrisico's (o.a. voor zwemwater)			



foto's Ivo Laros en Wim Dimmers

Figuur 3 Binnen het EU-project Ecofinders werken verschillende instituten, waaronder Alterra, samen aan de ontwikkeling van nieuwe DNA-methodes voor een snelle inventarisatie van de bodemfauna (mijten, collembola, potwormen, etc.) in grote aantallen bodemmonsters.



foto Arjen de Groot

Figuur 4 Restanten van Amerikaanse Rivierkreeften, aangetroffen langs de waterkant in natuurgebied De Wieden, na te zijn achtergelaten door een foeragerende otter. Vaak onttrekken deze invasieve exoten zich echter aan het oog of visnet. Een kreeftenpopulatie wordt dan pas ontdekt als deze te groot is voor effectieve bestrijding.

andere mogelijkheid betreft het identificeren van bijvoorbeeld insectenlarven of plantenwortels die niet op basis van morfologische eigenschappen te herkennen zijn. Cruciaal voor toepassing van deze methode is het vinden van een fragment in het genoom dat geschikt is als barcode en deze code voor alle mogelijke kandidaat-soorten vast te stellen. Momenteel wordt door meerdere internationale consortia hard gewerkt aan het vullen van online databases met barcodes voor tal van taxonomische groepen. Nederlandse instituten, waaronder NCB/Naturalis en Alterra, spelen hierin een actieve rol.

De meest recente ontwikkeling op het gebied van DNA barcoding is de mogelijkheid om in één experiment alle soorten te bepalen die aanwezig zijn in een compleet grond- of watermonster. Deze methode is nog volop in ontwikkeling (Figuur 3), maar kan in de toekomst een belangrijke bijdrage leveren aan het verbeteren van de (ruimtelijke en taxonomische) resolutie van soortsinventarisaties.

Vroegtijdige detectie van soorten in het milieu

DNA technieken worden steeds gevoeliger. De eerder genoemde genetische analyse van uitwerpselen is hiervan een voorbeeld. Recent onderzoek gaat nog een stapje verder en laat zien dat zelfs het DNA dat dieren in het water achterlaten via bijvoorbeeld huidschilfers, slijm of urine (zogenaamd environmental DNA of eDNA) kan worden gedetecteerd en bruikbaar is voor identificatiedoeleinden. Dit is een doorbraak voor inventarisatie-onderzoek, omdat het de mogelijkheid biedt om de aanwezigheid van vissen of amfibieën aan te tonen op basis van een simpel watermonster, zonder vangst of visuele waarneming nodig is. eDNA verspreid zich gemakkelijk in het water, zodat een watermonster genomen vanaf de kant ook dieren kan aantonen die zich op lastig bereikbare plaatsen schuilhouden. Een dergelijke methode kan een tijds- en kostenbesparing opleveren ten opzichte van conventionele inventarisatietechnieken zoals electrobevissing, en kan daarmee relevant zijn voor de screening van grote aantallen locaties op de aanwezigheid van zeldzame soorten. RAVON gebruikt daarom eDNA voor het opsporen van de bedreigde grote modderkruiper. In potentie leidt inventarisatie via eDNA tevens tot een hogere trefkans wat relevant kan zijn voor een vroegtijdige opsporing van invasieve exoten. Een voorbeeld is de Amerikaanse rivierkreeft (Figuur 4), die momenteel in rap tempo oprukt, en een enorme impact kan hebben op zowel de natuur als de infrastructuur. Nu wordt de soort vaak pas

ontdekt tegen de tijd dat er al een flinke populatie aanwezig is, wat effectieve bestrijding bemoeilijkt. Alterra ontwikkelt daarom een methode voor preventieve screening op basis van watermonsters. Het opzetten van een nieuwe eDNA-methode gaat gepaard met de nodige validatiestappen. Het is bekend dat variatie in de waterchemie kan leiden tot vals-negatieve resultaten. Vals-positieve resultaten kunnen ontstaan door de aanwezigheid van DNA van sterk verwante soorten. Het onderzoek naar de kansen en valkuilen van eDNA-detectie is nog in volle gang, en daarmee ook de ontwikkeling van vele spannende nieuwe toepassingen. De grootste uitdaging voor de toekomst is om niet alleen de aanwezigheid van een soort aan te tonen maar ook een schatting van het aantal dieren te maken of de aantalsverhoudingen tussen meerdere aangetroffen soorten te bepalen.

Toepassing van DNA technieken in de praktijk

Een veelgehoord probleem voor de praktische toepassing van genetische technieken is de toegankelijkheid van wetenschappelijke kennis. In het laboratorium is veel mogelijk, maar daadwerkelijke implementatie in natuurbeheer en -beleid blijft vaak uit, doordat men nieuwe mogelijkheden bijna uitsluitend presenteert aan het academische circuit. Dat is zonde, want de hierboven genoemde voorbeelden suggereren dat een betere terugkoppeling tussen lab en praktijk kan leiden tot het uitdenken van betere, snellere, en goedkopere manieren om tal van praktische beheers- en beleidsvraagstukken van een antwoord te voorzien. Ook de schat aan concrete kennis die academische onderzoekers verzamelen over de genetische status van bedreigde soorten en populaties vindt nog onvoldoende haar weg richting de praktijk. Met Europese subsidies zijn recent een aantal interessante initiatieven gestart die hier verandering in proberen te brengen (o.a. CONGRESS, www.congressgenetics.eu). In de nabije toekomst komen via een online portal databases met soortspecifieke gegevens beschikbaar. Ook kunnen onderzoekers en potentiële eindgebruikers met elkaar in contact worden gebracht, en worden webtools aangeboden waarmee beheerders en beleidsmakers de potentiële genetische effecten van beheersmaatregelen kunnen nalopen, of zelf kunnen nagaan welke onderzoeksopzet past bij hun vraag. Een goede stap in het dichtens van de kloof tussen lab en praktijk.<

Arjen de Groot, g.a.degroot@wur.nl
Ivo Laros, ivo.laros@wur.nl