

## Alle soorten in één liter zeewater?

*Onthullen van het leven rond wrakken tijdens 'Expeditie Internationaal Nederland Engeland 2018' met 'environmental' DNA (oftewel eDNA)*

Duiken is prachtige manier om te ontdekken welke dieren allemaal leven rond de wrakken op de Noordzeebodem. Je hebt er echter wel goed opgeleide duikers voor nodig, een goed schip en geschikte weersomstandigheden. En natuurlijk moeten de dieren keurig blijven zitten als er duikers aankomen, iets wat de meeste vissen helaas niet doen. Tijdens de afgelopen SDDNZS-expeditie hebben Tinka Murk en Reindert Nijland een nieuwe techniek getest waarmee uit een liter zeewater huid- en slijmcellen worden verzameld en de aanwezige soorten worden bepaald door het DNA hieruit te analyseren.

### eDNA

Dat dergelijke kleine hoeveelheden 'environmental DNA', afgekort eDNA, voldoende zijn om de diersoorten die recent hebben rondgezwommen te identificeren is te danken aan de snelle technologische vooruitgang in DNA-technieken. Met een rolkoffertje met mobiele apparatuur aan boord kan al binnen een paar uur na het nemen van het monster de aanwezigheid van zowel vrij zwemmende en vastzittende soorten worden bepaald. Om te testen of de nieuw ontwikkelde techniek ook op de Noordzee werkt heeft Tinka tijdens de expeditie van DDNSZ in juni 2018 bij meerdere wrakkenwatermonsters genomen voor DNA-isolatie. Per locatie heeft ze 2 liter water met een handpompje verzameld in een ballon. Aan boord van de Ctd. Fourcault heeft ze vervolgens het eDNA uit het water uit die ballonnen gefilterd en de filters met eDNA geconserveerd in een speciaal bewaarmiddel voor verdere analyse door Reindert in het lab bij Wageningen Universiteit. Het eDNA is in het lab van de filters gehaald, en uit dit ruwe eDNA zijn de zogenoemde DNA-barcodes gekopieerd, unieke stukjes DNA waarmee de soorten onderscheiden kunnen worden. Deze DNA-barcodes zijn daarna uitgelezen (gesequenced). Dit sequensen kon tot voor kort alleen met een apparaat zo groot als een auto, maar dit kunnen wij nu met een apparaatje zo klein als een nietmachine, de MinION. En we hoeven niet meer 3 weken op de uitslag te wachten maar weten het resultaat binnen een paar uur.

### Zeeklit en Grijs zeehond

Tinka heeft monsters genomen op 6 locaties tijdens de expeditie. 3 daarvan lagen in het midden van de Noordzee (Tropic Shore, Wrak 6744, Wrak 70500), en 3 ervan vlak voor de Engelse kust (Wrak 57037 (2x), Somali).

Het meest opvallende resultaat was dat de monsters uit het midden van de Noordzee heel veel DNA bevatten van de zeeklit (*Echinocardium cordatum*), meer dan de helft van al het eDNA was van deze soort afkomstig. Waarschijnlijk was er op dat moment net een spawning event geweest van deze ingegraven zee-egels, zodat het water erg veel voortplantingscellen bevatte. Het water zag er ook 'wat glazig' uit. Naast de zeeklit vonden we ook andere stekelhuidigen. Bij de wrakken in het midden van de Noordzee vonden we de kamster, en voor de Engelse kust een aantal soorten typisch zijn voor de rotsbodems die je daar veel aantreft, zoals de eetbare zeeappel en de zonnester.

We waren natuurlijk ook erg geïnteresseerd in de aanwezigheid van vissen. Op de meeste wrakken vonden we steenbolk en/of kabeljauw DNA. Het DNA van deze soorten is erg verwant waardoor verdere verfijning van de analyse nodig is om deze twee soorten te kunnen onderscheiden. Dit is ook het geval met platvis DNA, dus we zagen wel vaak 'platvis', maar voor de exacte soort moeten we zoeken naar een nog specifiekere stukje DNA. Bij enkele wrakken vonden we ook makreel DNA in het zeewater. Makreel wordt niet vaak gezien door duikers, vooral omdat ze in de waterkolom zwemt en makkelijk al uit het zicht verdwijnt als een groep duikers het water in springt. Via beroepsvissers is wel bekend dat makreel zich vaak in de buurt van wrakken ophoudt. Het is natuurlijk gaaf dat de eDNA-analyse dit ook laat zien. In de buurt van de Farne eilanden zagen we DNA van zandspiering, erg populair bij de daar

veelvuldig aanwezige papegaaiduikers. En persoonlijk vond ik (RN) het erg leuk dat rond het wrak van de Somali (bij de Farne eilanden) ook DNA van de Grijsze zeehond aanwezig was.

Opvallend was dat we in deze analyse geen DNA van krabben en kreeften gezien hebben. Ook zagen we maar in één monster een kleine hoeveelheid DNA van dodemansduim, terwijl dat toch op de meeste wrakken wel groeit. Of de gebruikte methode is daar niet gevoelig voor, of deze soorten laten minder eDNA los dan bijvoorbeeld vissen en stekelhuidigen. Dat zijn interessante onderwerpen voor verder onderzoek.

#### Referentie database is nog incompleet

Een aantal DNA-barcodes konden we niet op naam brengen omdat de DNA volgorde van die soorten nog niet in een database zit. Bijvoorbeeld van Sabellaria (koker-)wormen. Dat is vaker het geval voor de wat kleinere soorten dan voor grote soorten zoals vissen en zeezoogdieren. De databases met DNA-informatie van alle organismen uit de Noordzee zijn verre van compleet, maar gelukkig start er binnenkort een groot project waarin we met internationale partners uit 6 Noordzeelanden een zo compleet mogelijke openbare DNA-database van Noordzee organismen willen maken.

Het gebruik van eDNA vormt een mooie aanvulling op de duikwaarnemingen. Met de huidige snelle technologische vooruitgang zal dit niet alleen nog makkelijker en sneller maar ook steeds goedkoper worden. Tijdens deze expeditie hebben we het DNA nog niet aan boord geanalyseerd, maar dat had wel gekund als Reindert ook meegegaan zou zijn. De resultaten van de pilot zijn erg bemoedigend. Natuurlijk is er nog allerlei onderzoek te doen om de methode, analyse en interpretatie te optimaliseren en verfijnen. Dat gebeurt in Wageningen, bij de Mariene Dierecologie groep. En de volgende keer wil Reindert natuurlijk zelf weer mee om het onderzoek aan boord tijdens een expeditie uit te voeren. Je zou dan bij het voor anker gaan met een ROV op de wrak-locatie een watermonster kunnen nemen, dit direct analyseren, en een paar uur later, als het duikvenster zich opent, al weten of je als duiker extra moet opletten op die zeewolf, zonnester of stekelrog!

Reindert Nijland en Tinka Murk