



# Ecologische Indexen Macrofauna

Een verkenning voor toepassing  
van genetische monitoring

*juni 2018*

Berry van der Hoorn  
Tiedo van Kuijk  
Kevin Beentjes

**Naturalis**  
Biodiversity  
Center

Vondellaan 55  
Postbus 9517  
2300 RA Leiden

KvK 411 695 15  
[expertcentrum@naturalis.nl](mailto:expertcentrum@naturalis.nl)  
[www.naturalis.nl](http://www.naturalis.nl)

*Dit onderzoek is uitgevoerd binnen het TKI-project 'DNA watersystem Scan & Reference tool'*

*Deze activiteit is mede gefinancierd met PPS-financiering uit de Toeslag voor Topconsortia voor Kennis en Innovatie (TKI's) van het ministerie van Economische Zaken en Klimaat en de resultaten zijn openbaar na publicatie van de onderzoeksresultaten in een wetenschappelijk tijdschrift.*



## Introductie

Macrofauna vormt een belangrijke indicator voor ecologische waterkwaliteit en is om die reden opgenomen in de structurele monitoring voor de Europese Kaderrichtlijn Water (KRW). Traditionele monitoring vindt plaats via strikte (verzamel)protocollen waarbij de verschillende macrofauna soorten met netten worden verzameld en vervolgens worden gesorteerd, gedetermineerd en geteld. Het vergt specialistische taxonomische expertise om alle soorten op naam te brengen. Naturalis Biodiversity Center ontwikkelt een systeem om soorten te detecteren op basis van hun DNA, wat de betrouwbaarheid en uniformiteit van identificaties aanzienlijk kan verbeteren.

Tegelijkertijd is er behoefte aan duiding van de gevonden soortensamenstelling. Wat kan macrofauna ons vertellen over de ecologische kwaliteit van het waterlichaam waarin zij worden aangetroffen? Hier kunnen we kijken naar vigerende en historische indexen, om van daaraf toe te werken naar nieuwe indexen die meer informatie geven. Al dan niet met DNA identificaties als input. Dit verslag geeft de resultaten weer van een verkenning naar nieuwe indexen. Achtereenvolgens onderzoeken we het gebruik van:

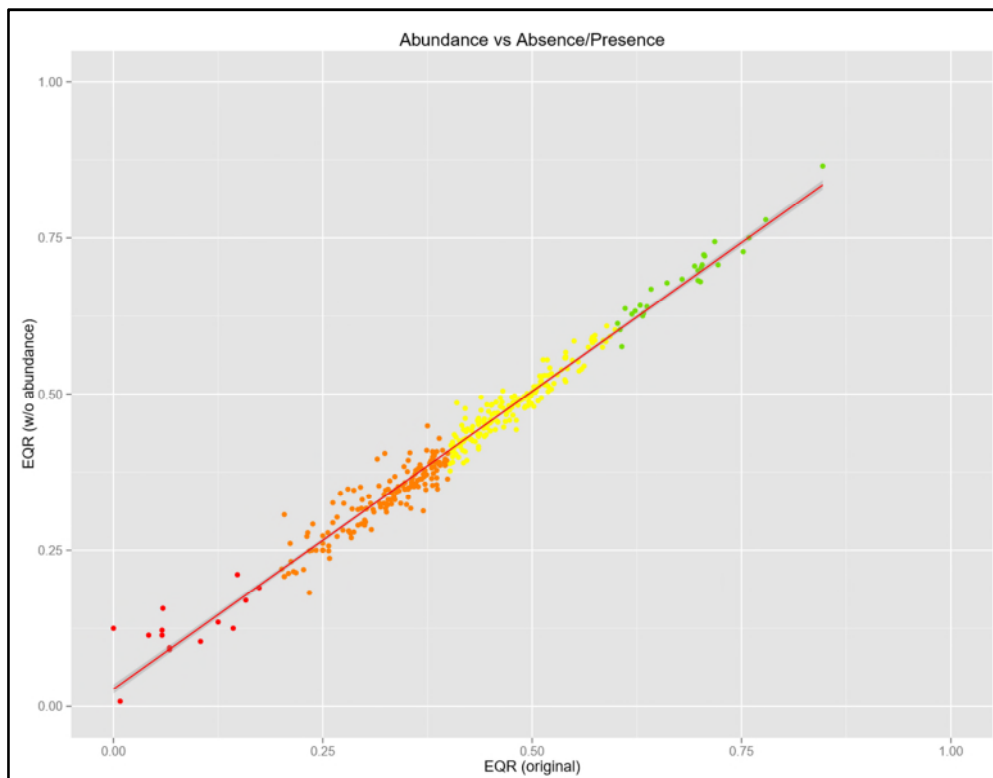
- Ecologische kwaliteitsratio-scores
- Ecologische respons curves
- Functionele soortgroepen
- Taxonomie-vrije indexen

Deze onderzoeken betreffen 'work in progress', op Naturalis werken twee promovendi aan deze verkenning, waarvan de eindresultaten pas eind 2019 worden verwacht.

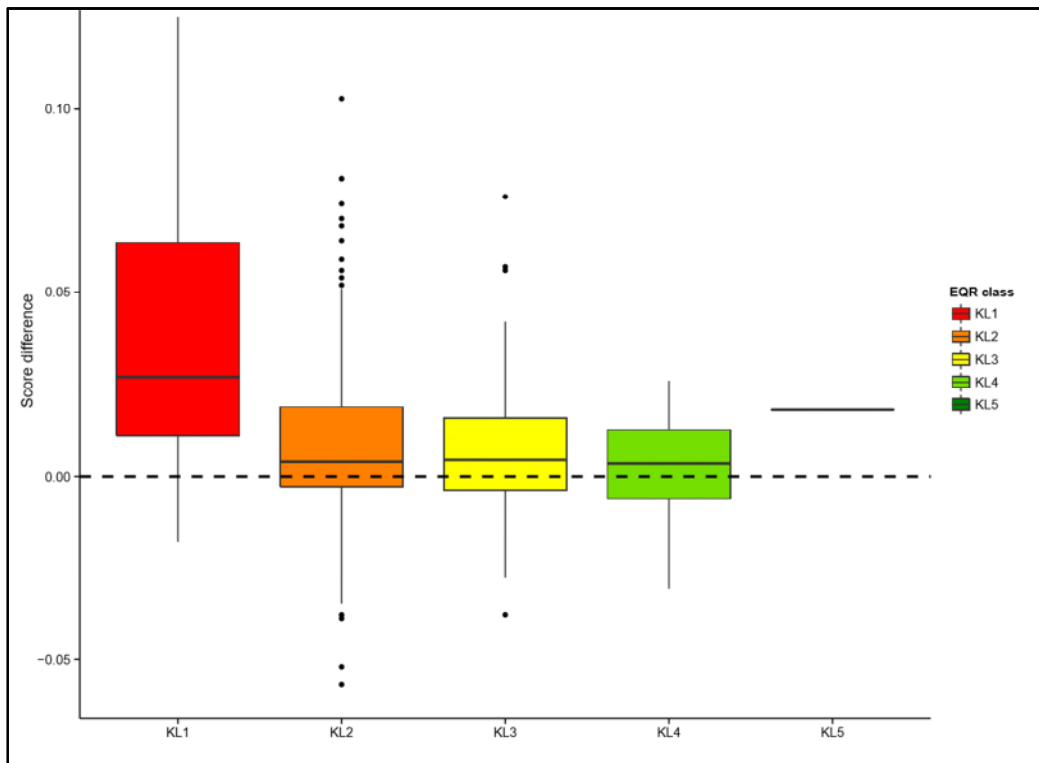
## Ecologische kwaliteitsratio-scores

In formele rapportages ten behoeve van de Europese Kaderrichtlijn Water (KRW) wordt gewerkt met Ecologische kwaliteitsratio-scores (EKR-scores). De verschillende maatlatten voor stromend en stilstaand water vermelden 1200 verschillende macrofauna soorten die zijn ingedeeld als karakteristiek, positief of negatief voor het desbetreffende watertype. De soorten met hun abundantie worden via een algoritme omgezet naar een EKR score die een indicatie vormt voor de waterkwaliteit.

De EKR-score betreft de meest eenvoudige index die wordt gehanteerd. Door waterbeheerders wordt echter aangegeven dat deze index weinig informatie genereert voor adequate beheersmaatregelen. Toch willen we deze index kunnen opleveren, ook als we een overgang maken naar DNA detectie, omdat deze tot minimaal 2027 zal worden gehanteerd. Hierbij kan het probleem opspelen dat met DNA technieken geen abundantie van soorten kan worden vastgesteld, wat de EKR-score mogelijk beïnvloedt. In een vorig TKI project (eDNA voor aquatische biodiversiteit) heeft een student onder begeleiding van Royal Haskoning DHV een eerste analyse gedaan naar de invloed van abundantie op kwaliteitsscores. Die invloed bleek zeer beperkt te zijn. In 2016 hebben we deze analyse overgedaan en getoetst met de beschikbare data van waterschap Rijnland van 2009 - 2014. Ook daarbij vonden we dat abundantie slechts een beperkt effect heeft op de uiteindelijke kwaliteitsscore, zie figuren 1 en 2.



Figuur 1: Relatie kwaliteitsscores met en zonder abundantie (presence/absence)



Figuur 2: De afwijking van meetpunten zonder abundantie ten opzichte van de berekening met abundantie, uitgesplitst naar kwaliteitsklasse.

De grootste variatie zit in de eerste kwaliteitsklasse (klasse 1), met name doordat deze monsters vaak weinig soorten bevatten met relatief veel negatief scorende soorten, waarvan de abundantie sterk meetelt. Van de beste kwaliteitsscore (klasse 5) hadden we in de dataset maar een enkel monster beschikbaar. Sowiesso komen wateren van deze klasse in Nederland maar weinig voor.

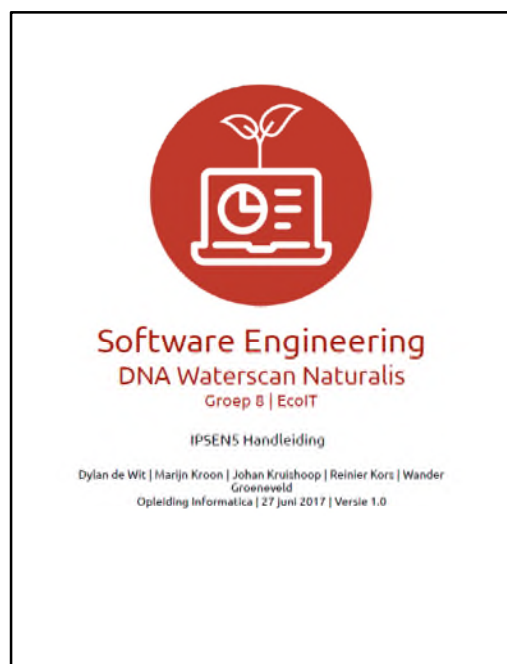
Resultaten van de uitgebreide analyses worden momenteel door PhD Kevin Beentjes uitgeschreven voor gebruik in een wetenschappelijk artikel, voor het tijdschrift Metabarcoding & Metagenomics (Pensoft Publishers).

## Ecologische respons curves

Door de werkgroep ecologische waterkwaliteit is in 2012 een rapport met een excelsheet opgeleverd die de ecologische respons curves bevat van een groot aantal macrofauna soorten, hierna WEW-data genoemd. Per soort is aangegeven hoe deze reageert op ecologische variabelen zoals zuurstof, pH, zoutgehalte, trofie en saprobie. Deze data kan worden gebruikt om voor een watertype ecologische indexen te berekenen, op basis van soortenlijsten.

In het voorjaar van 2017 hebben vijf studenten van de opleiding software development van de Hogeschool Leiden in opdracht van Naturalis een prototype gebouwd van een applicatie voor waterkwaliteit. Deze applicatie gebruikt soortenlijsten met abundanties (of aantallen DNA fragmenten) als input om met de WEW-data ecologische indexen te genereren. Op basis van een referentielijst van soorten worden referentiewaarden voor een watertype berekend. Op basis van een daadwerkelijk aangetroffen soortenlijst worden actuele waarden in een waterlichaam berekend. De aangetroffen waarden worden vergeleken met de referentiewaarden. De gebruiker kan zelf het schaalniveau kiezen waarop berekeningen plaatsvinden, zoals monster locatie, waterlichaam of watertype. Ook is het mogelijk locaties in ruimte en tijd met elkaar te vergelijken. Alle indexen worden gepresenteerd in grafiek- en/of tabelvorm. Zie bijlage 1 voor de handleiding van de applicatie.

Parallel is in een aantal brainstormsessies met KWR, Royal Haskoning, Aqualab Zuid en Naturalis verder nagedacht hoe een systeem met gebruik van WEW-data is te verfijnen voor meer informatieve indexen. Er is onder andere een aantal extra filters bedacht op basis van bestaande publicaties die de resultaten van de applicatie nauwkeuriger maken. Deze filters bestaan uit gevoeligheid van soorten voor eutrofiëring en voor hydromorfologische verstoring, waardoor de algemene (en minst indicatieve) soorten minder meewegen in de eindresultaten. Dit zal in een volgende versie van de applicatie worden ingebouwd.



## Functionele eigenschappen

Een beloftevolle ontwikkeling voor waterdiagnostiek is de analyse van functionele eigenschappen van soorten. Soorten zijn evolutionair aangepast aan een bepaalde ecologische omgeving, waarvoor verschillende soorten uiteenlopende functionele oplossingen hebben gevonden. Met kennis over de relatie tussen omgeving en eigenschappen kan het voorkomen van soorten worden gebruikt om hun omgeving te analyseren. Daarnaast vervullen sommige soorten in een gemeenschap belangrijke rollen of functies in het ecosysteem, zoals predatoren, filteraars, primaire producenten en detrivoren. Mocht een soort wegvallen dan kan een andere soort met gelijke functie zijn plaats innemen zonder dat dit gevolgen heeft voor het ecosysteem. Pas wanneer een groep soorten met dezelfde functie verdwijnt, kan dat leiden tot merkbare verandering van een ecosysteem.

Inzicht in de functies van soorten en groepen kan inzicht geven in de weerbaarheid van een ecosysteem. Aangetroffen soorten kunnen worden ingedeeld naar functionele groepen. Van deze functionele groepen kan de relatie met fysisch-chemische en ecologische omgevingsvariabelen worden bepaald, waardoor van aangetroffen functionele groepen de ecologische status van een waterlichaam kan worden afgeleid.

Begin 2016 hebben KWR, Royal Haskoning DHV en Naturalis een sessie gehouden met verschillende waterschappen waarin we de voor macrofauna meest relevante biologische en ecologische variabelen hebben vastgesteld. Mede met deze input is een model ontwikkeld om van relevante soorten biologische en ecologische informatie te verzamelen uit bestaande literatuur en internationale databases. Op basis van deze data kunnen soorten met overeenkomstige eigenschappen worden geclusterd tot functionele groepen, waarvan de relatie met ecologische variabelen kan worden bepaald.

Om dit model aan de werkelijkheid te toetsen is parallel een veldexperiment ingezet om van een aantal wateren langs een eutrofiëringsgradiënt ('goed, gemiddeld, slecht') zowel de fysisch-chemische variabelen te meten met behulp van dataloggers, als de aanwezige soorten vast te stellen. Op deze manier willen we beoordelen of de functionele groepen zich in de praktijk gedragen zoals we uit de data hebben berekend, en of ze daadwerkelijk de indicatieve waarde bezitten die we denken.

Dit betreft lopend onderzoek waarvan de data nog niet volledig is geanalyseerd, maar waar we binnen de projectperiode van TKI-project 'DNA watersystem Scan & Reference tool' een forse aanzet toe hebben gegeven. PhD Tiedo van Kuijk van Naturalis werkt dit verder uit voor zijn promotie in 2019.

## Taxonomie-vrije indexen

Door toepassing van genetica in biomonitoring is discussie ontstaan of je in alle gevallen soortnamen nodig hebt om relevante indexen te kunnen genereren. Een soortnaam biedt toegang tot achterliggende informatie die in de loop der jaren over de soort is verzameld, zoals de ecologische respons curves. Ontegengesteld biedt dit belangrijke duiding en begrip van de ecosystemen waarin de soorten worden aangetroffen.

Kijken we louter naar monitoring dan is het wellicht niet altijd nodig om soortnamen te genereren. Met genetische technieken kunnen we watermonsters analyseren die als resultaat geen soorten geven, maar genetische eenheden of Moleculair Operationale Taxonomische Units, kortweg MOTU's. In sommige gevallen kan een MOTU worden herleid tot een soort, maar dat is lang niet altijd het geval. Het aantal aangetroffen MOTU's is vele malen groter dan macrofauna soorten en omvat ook bacteriën, protisten en fytoplankton. Indien we structureel monitoren en een norm van MOTU's bepalen voor een watertype, dan kunnen we aan de hand van een afwijking van de norm zien dat er iets aan de hand is, om ter plaatse nadere traditionele analyses uit te voeren.

In een volgende stap kunnen we net als bij 'echte' soorten de MOTU's koppelen aan fysisch-chemische eigenschappen van het water waarin zij voorkomen. Net als voor soorten kunnen voor MOTU's ecologische respons curves worden bepaald op basis waarvan meer gedetailleerde duiding kan worden gegeven over het al dan niet aantreffen in bepaalde waterlichamen. Of de toekomst ons werkelijk dit soort genetische indexen gaat brengen is onbekend, en onderwerp van discussies, ook tussen de projectpartners.


Naturalis onderzoekt de bruikbaarheid van dergelijke genetische community indexen voor beoordeling van de waterkwaliteit. De projectpartners oriënteren zich op een volgend TKI-project dat zich onder andere richt op de toepassing van een dergelijke index voor de lastig te identificeren diatomeeën.

**MOLECULAR ECOLOGY**  
**RESOURCES**

Molecular Ecology Resources (2017) 17, 1231–1242 doi: 10.1111/1755-0998.12668

### **Taxonomy-free molecular diatom index for high-throughput eDNA biomonitoring**

LAURE APOTHÉLOZ-PERRET-GENTIL,\* ARIELLE CORDONIER,† FRANÇOIS STRAUB,‡  
JENNIFER ISELI,‡ PHILIPPE ESLING§ and JAN PAWLOWSKI\*

*\*Department of Genetics and Evolution, University of Geneva, boulevard d'Yvoy 4, 1205, Geneva, Switzerland, †Water Ecology Service, Department of Territorial Management, Canton of Geneva, avenue de Sainte-Clotilde 23, 1211, Geneva, Switzerland, ‡PhycoEco, Rue des XXII-Cantons 39, 2300, La Chaux-de-Fonds, Switzerland, §IRCAM, UMR 9912, Université Pierre et Marie Curie, place Igor Stravinsky 1, 75004, Paris, France*