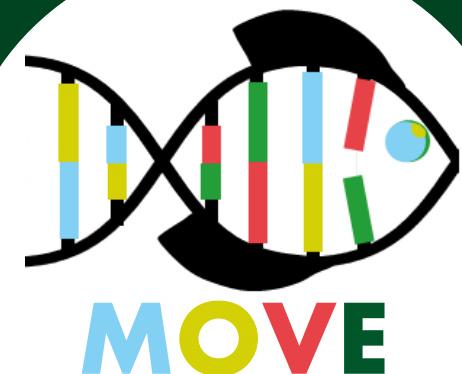


VAN MOLECUUL TOT MAATLAT

TOEPASSEN VAN EDNA VOOR DE KRW VISMONITORING



Ministerie van Infrastructuur
en Waterstaat

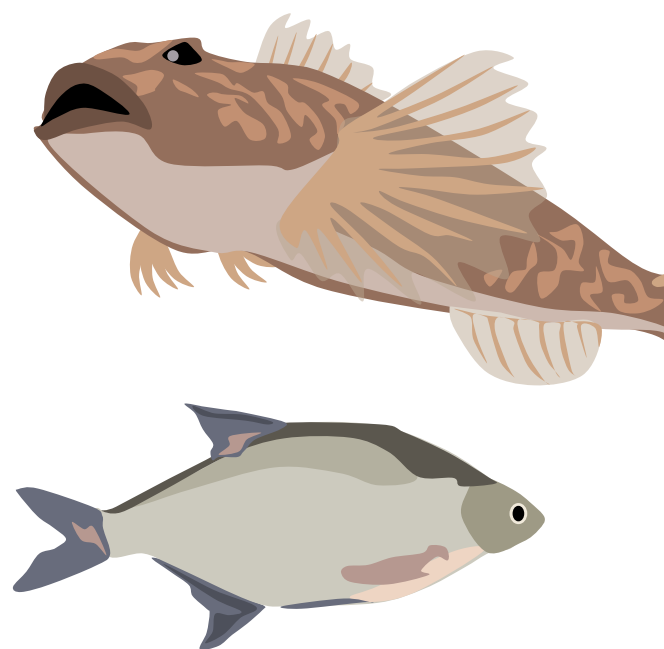


RAVON

Reptielen Amfibieën Vissen Onderzoek Nederland

Dr. Dennis van der Pouw Kraan

Onderzoeker Hogeschool Aeres
Lectoraat Aquatische Ecosystemen



VAN MOLECUUL TOT MAATLAT

Inhoud

Maatlat (info KRW, doel maatlat, Traditioneel)

Molecuul (info eDNA, waarom eDNA, Vooronderzoek)

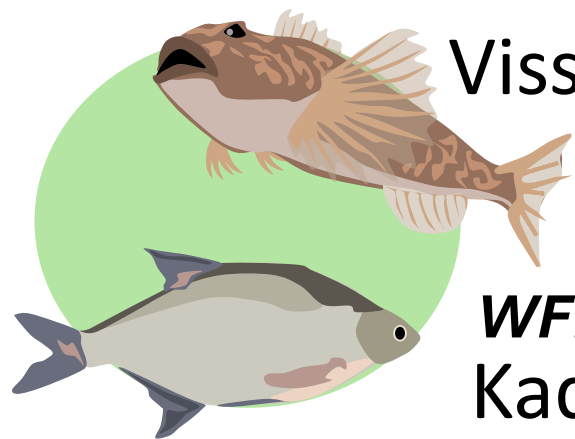
MOVE (4-Jarig project Aeres)

Aanpak eDNA (Hoe werkt het?)

Voortgang project (Waar staan we nu)

Resultaten en toekomst (ligt eraan hoeveel tijd we hebben)

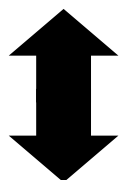
VAN MOLECUUL TOT **MAATLAT**



Vissen zijn belangrijke indicator soorten

WFD/KRW Directive 2000/60/EC
Kader richtlijn water

*Systemisch de kwaliteit van
oppervlaktewateren monitoren*



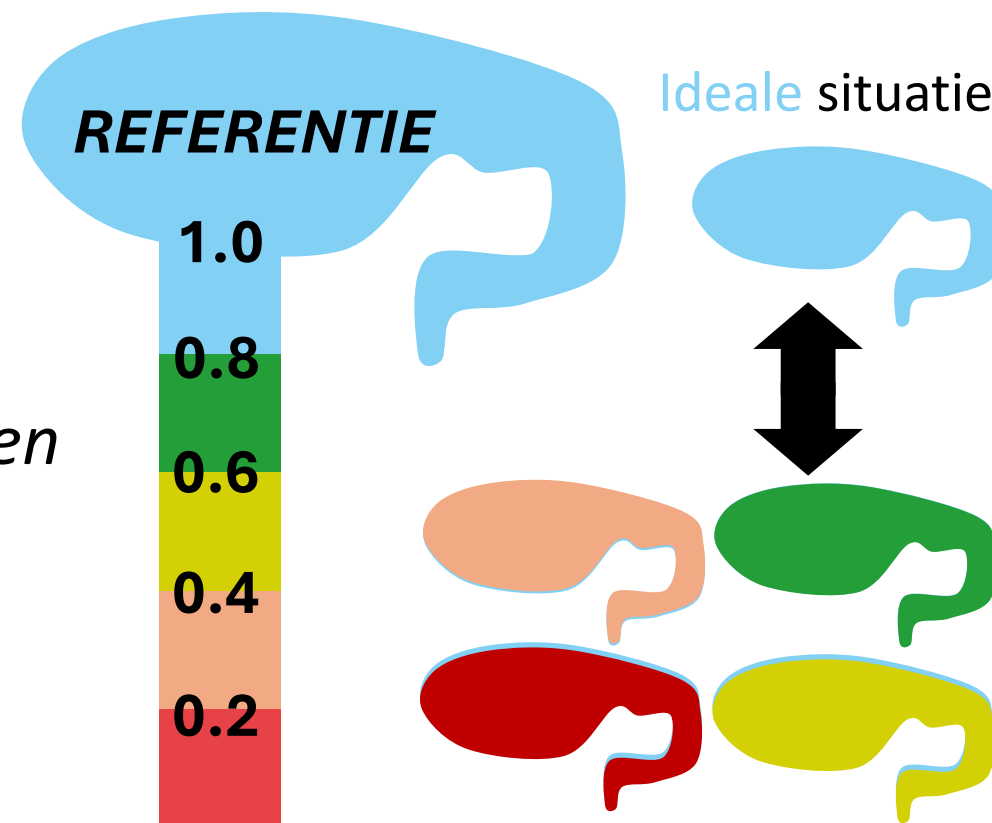
Menselijke druk

Soorten
Ideale situatie

Lage druk

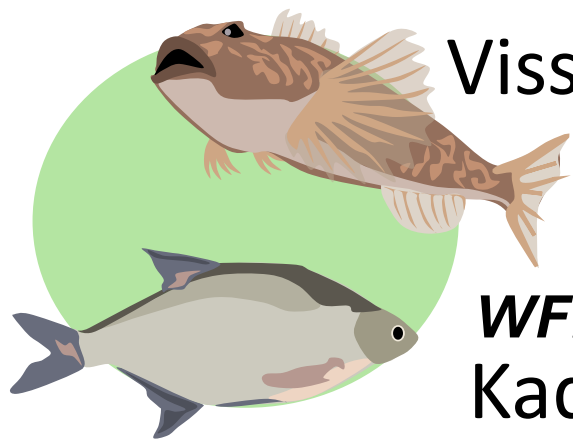
Soorten
Slechte situatie

Hoge druk



Ecologisch Kwaliteits Ratio (EKR)

VAN MOLECUUL TOT MAATLAT



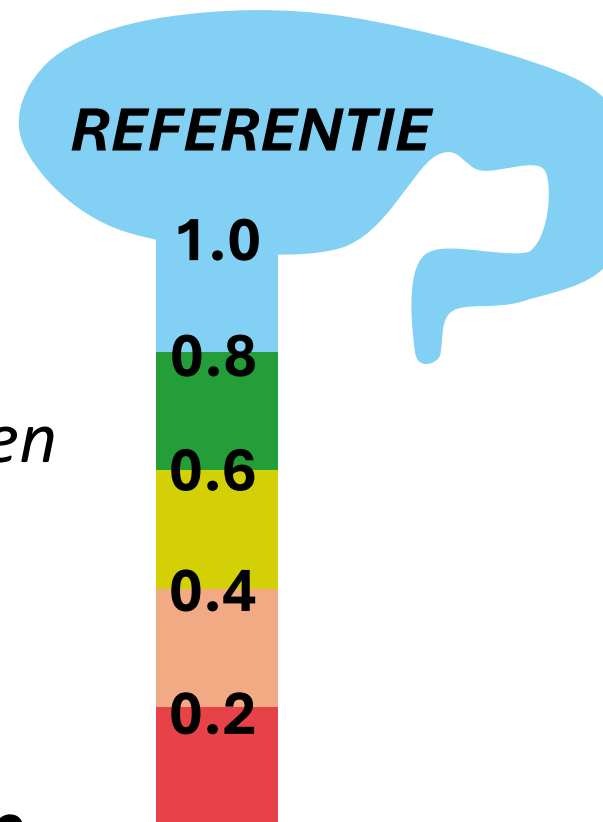
Vissen zijn belangrijke indicator soorten

WFD/KRW Directive 2000/60/EC
Kader richtlijn water

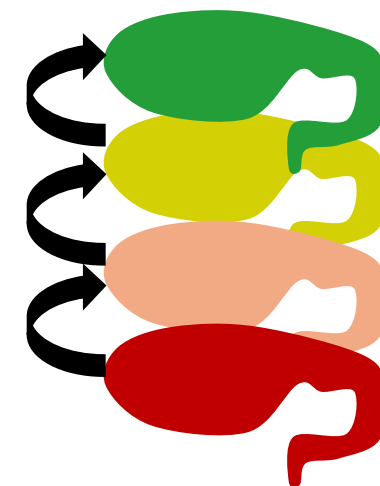
*Systemisch de kwaliteit van
oppervlaktewateren monitoren*

DOEL: De natuur en aquatische
ecosystemen verbeteren

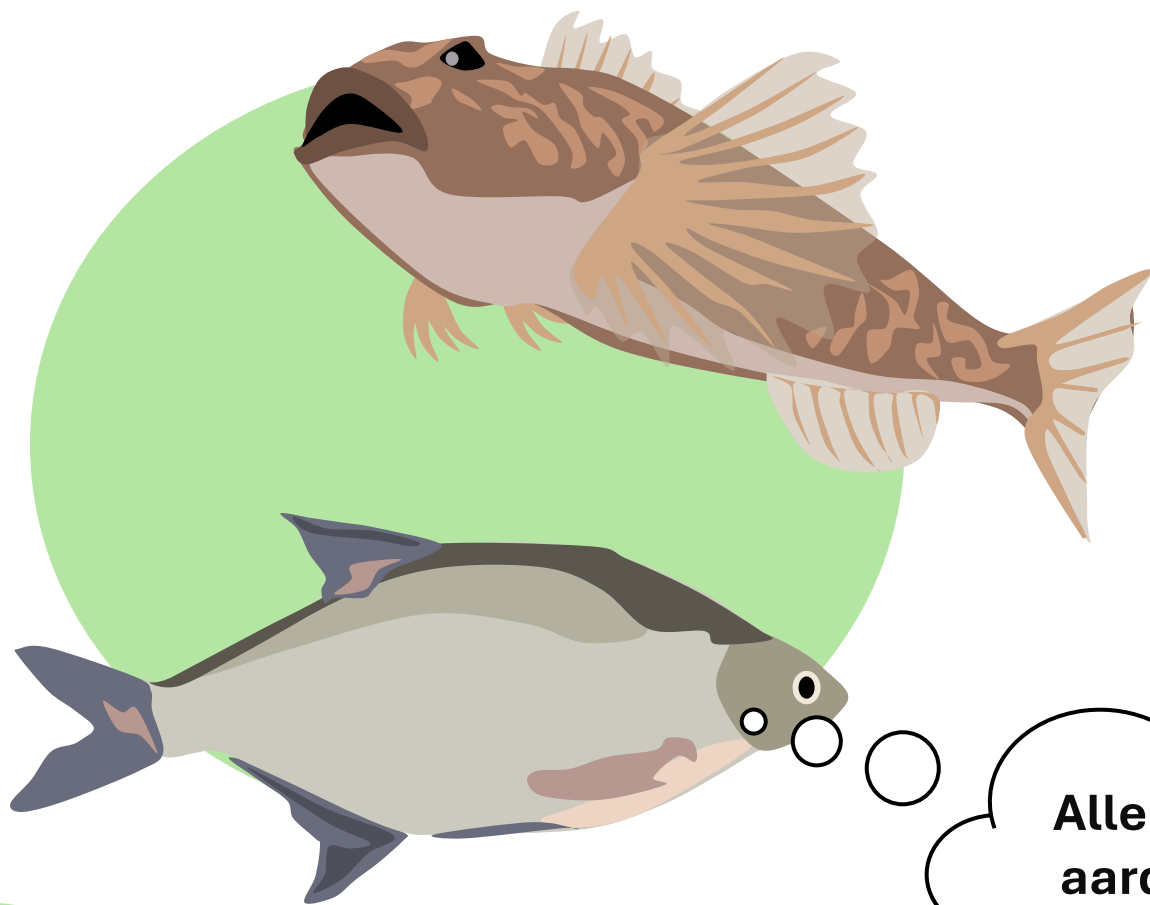
BELANGRIJK: Herstelmaatregelen
monitoren



Ecologisch Kwaliteits Ratio (EKR)



VAN MOLECUUL TOT **MAATLAT**



Allemaal leuk en
aardig, maar mij
pakken ze niet!

VAN MOLECUUL TOT **MAATLAT**

Traditionele Visserij



Gelukkige vis?



**Monitoren al +-25 jaar onze wateren
Directe data (leeftijdopbouw, ziekte)**

Gelukkige Visser

VAN MOLECUUL TOT MAATLAT

Traditionele Visserij

Netten (kieuwinetten, fuiken, zegen, bodemsleepnetten)

Bijvangst

Overbevissing

Schade Bodem en vegetatie

Elektrovissen

Elektrovissen Wervel en spier beschadiging
(verbod pulsvisserij)

Grotere kwetsbaarheid bij jonge vissen

Risico's verschillen per soort
(invasief maar relatief lage impact)

ICES – Technical Service on Pulse Trawl Electric Fishing (2018)
Snyder, D. (2003). Electrofishing and Its Harmful Effects on Fish. U.S. Geological Survey, Information and Technology



Gelukkige vis?

VAN MOLECUUL TOT MAATLAT

Traditionele Visserij

Veel (intensieve) arbeid

Relatief veel geld (zeker voor grote meren)

Soorten verschillen sterk in vangbaarheid en per gebruikte methode (moeilijk standaardiseren)

Omstandigheden in het water bepalen de vangbaarheid

Niet alle leefgebieden zijn goed te bemonsteren

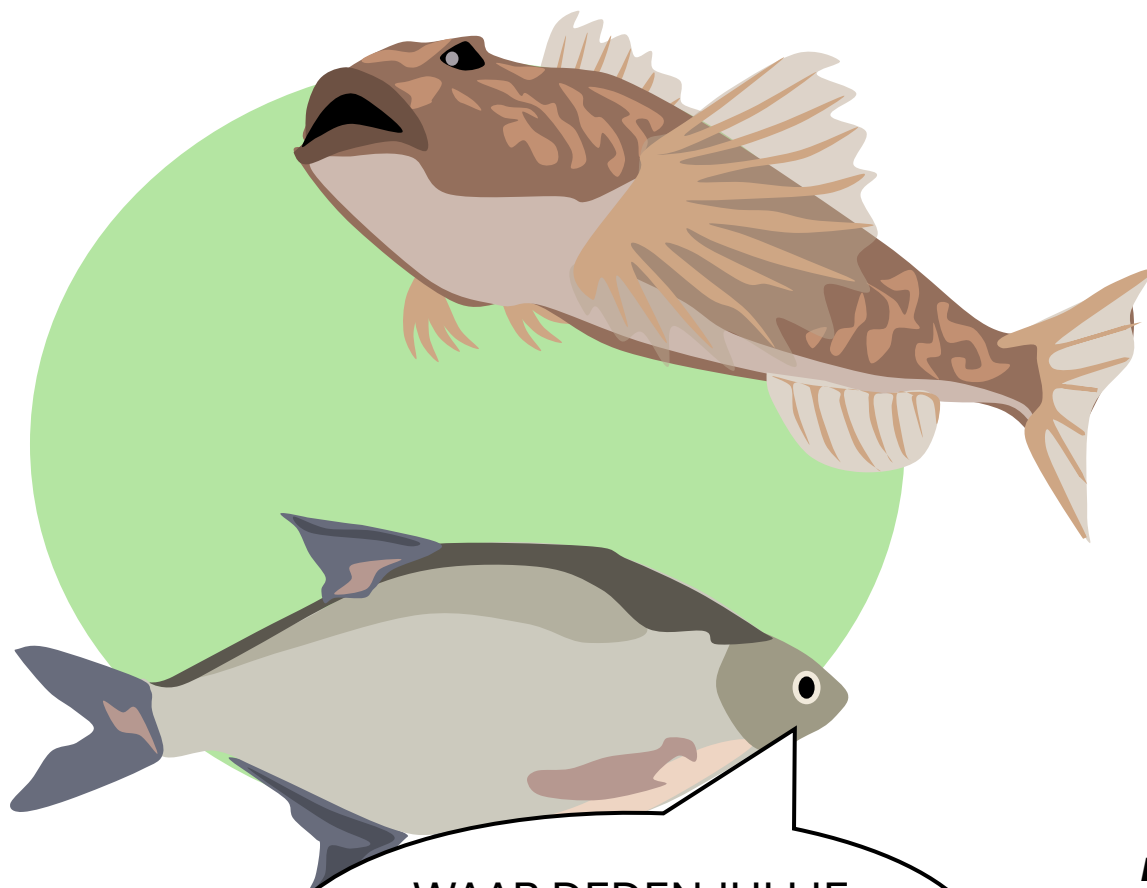
rapport “Evaluatie herstelprojecten” van STOWA (KIWK)

“de monitoringsopzet die ... nodig is ... vaak ontbreekt”

“veel herstelprojecten (bekenherstel, hermeandering, vispassages) geen goede vismonitoring”

Kwetsbare Natura 2000 gebieden

“Vaak geen metingen eerste paar jaar”

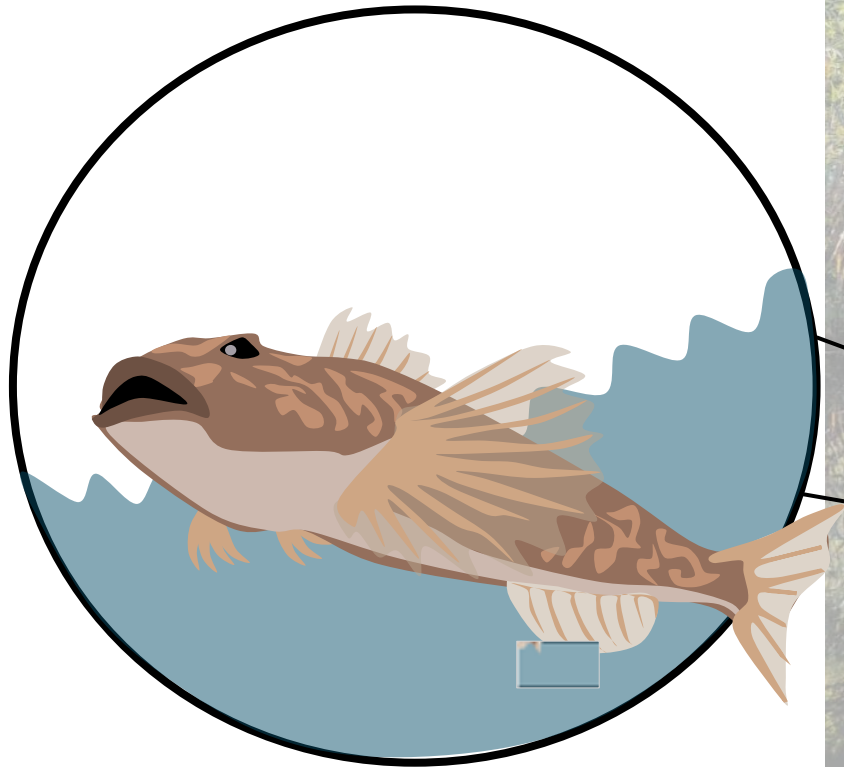


WAAR DEDEN JULLIE
HET OOK ALWEER
VOOR... **INNOVATIE**

VAN MOLECUUL TOT MAATLAT



Wat is (e) DNA



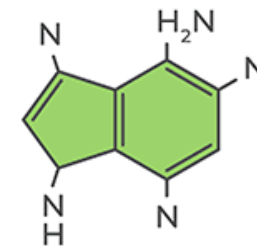


Cellen

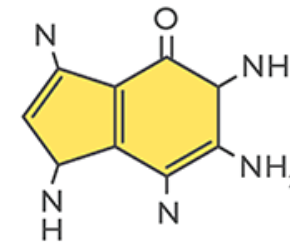
**Veel (100)
mitochondriën**

**Minder
Celkernen (1)**

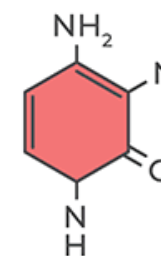
Adenine



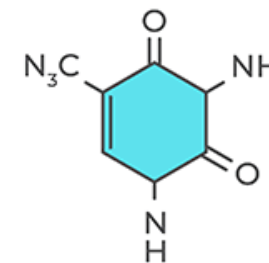
Guanine



Cytosine

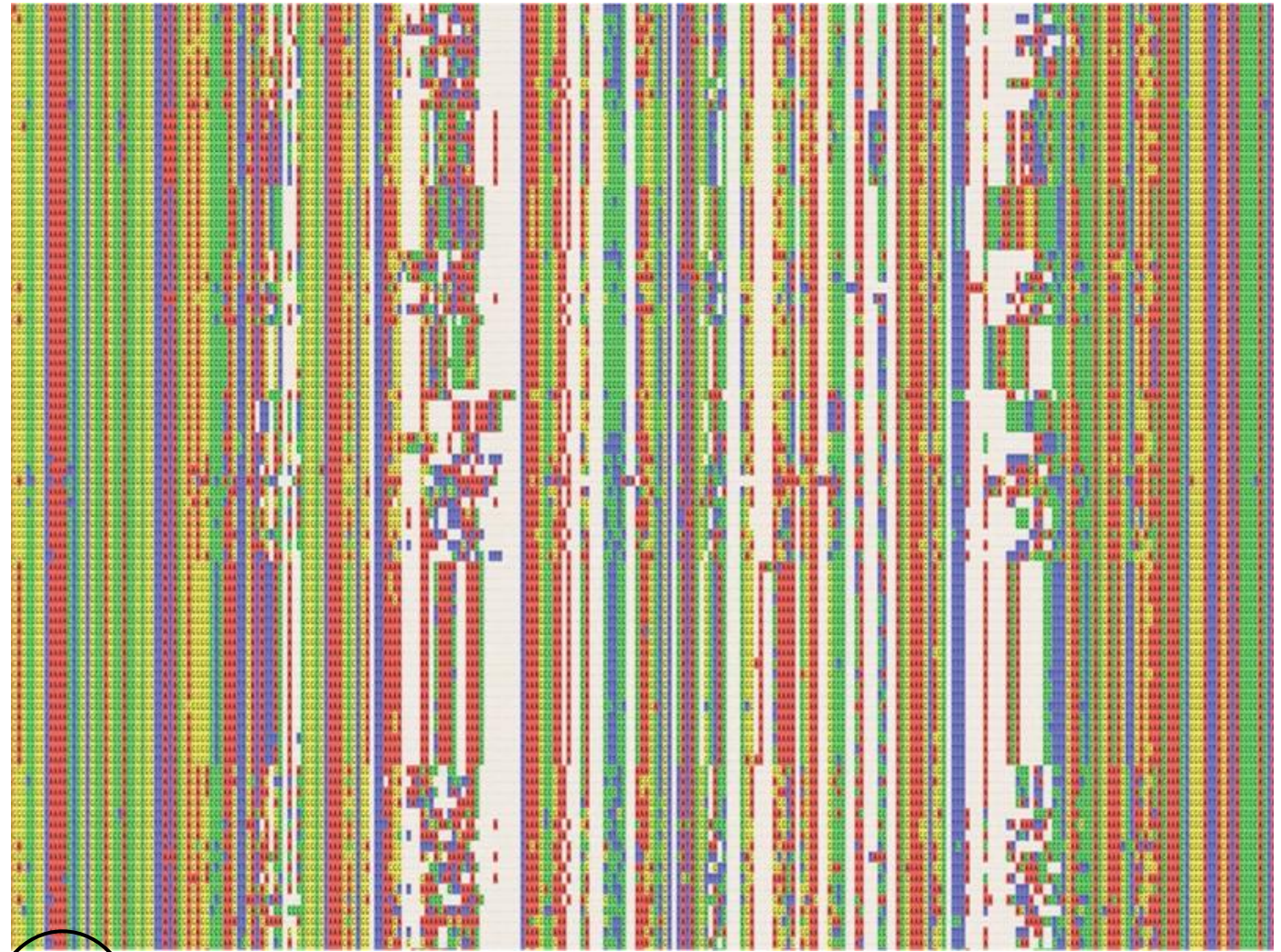
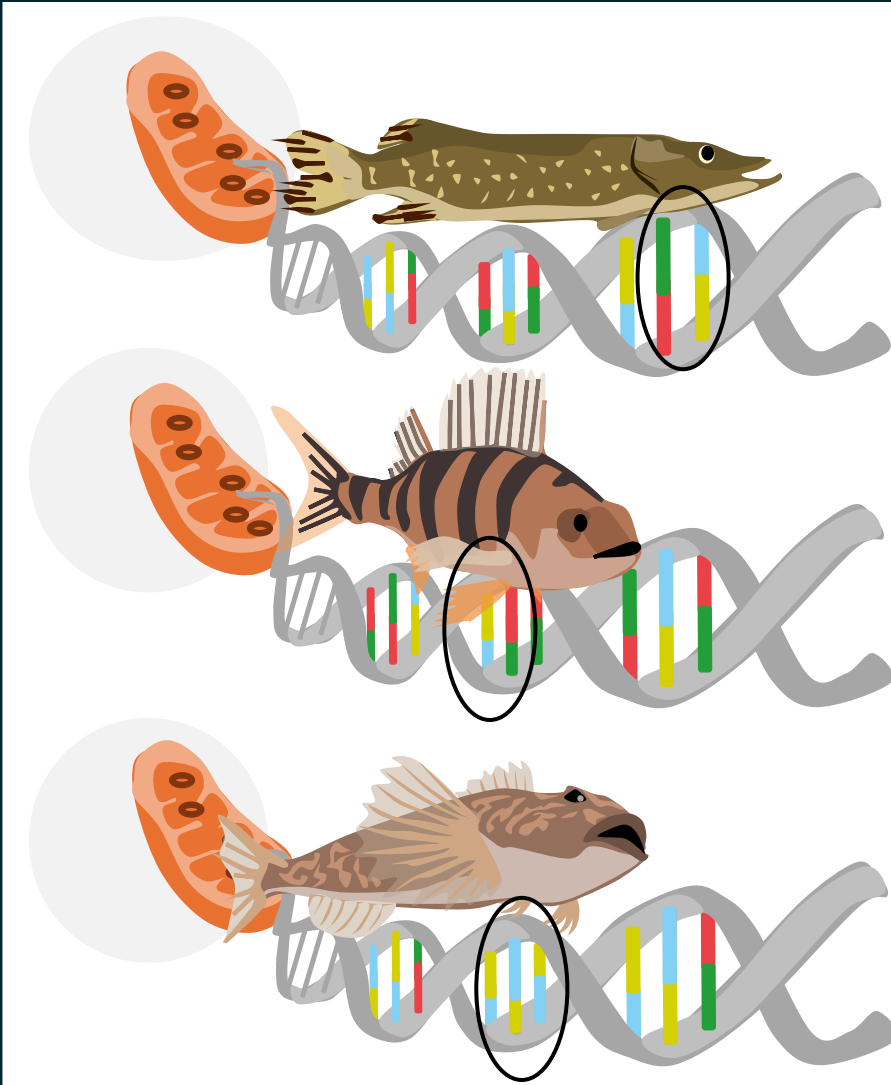


Thymine



AGATCG

METABARCODING



Sequence alignment showing three rows of DNA sequences. The first row is highlighted with a black oval. The sequences are aligned to a reference sequence (Y-). The sequences are:

```
5'ACACACCGCCCGTCACTC-TCCCAAGGC-AACRNA-Y-  
5'ACACACCGCCCGTCACTC-TCCCTGTCAA-AATGCA-AT-  
5'ACACACCGCCCGTCACTC-TCCCTGTCAA-AATGCA-AT-
```

The sequences are aligned to a reference sequence (Y-). The sequences are:

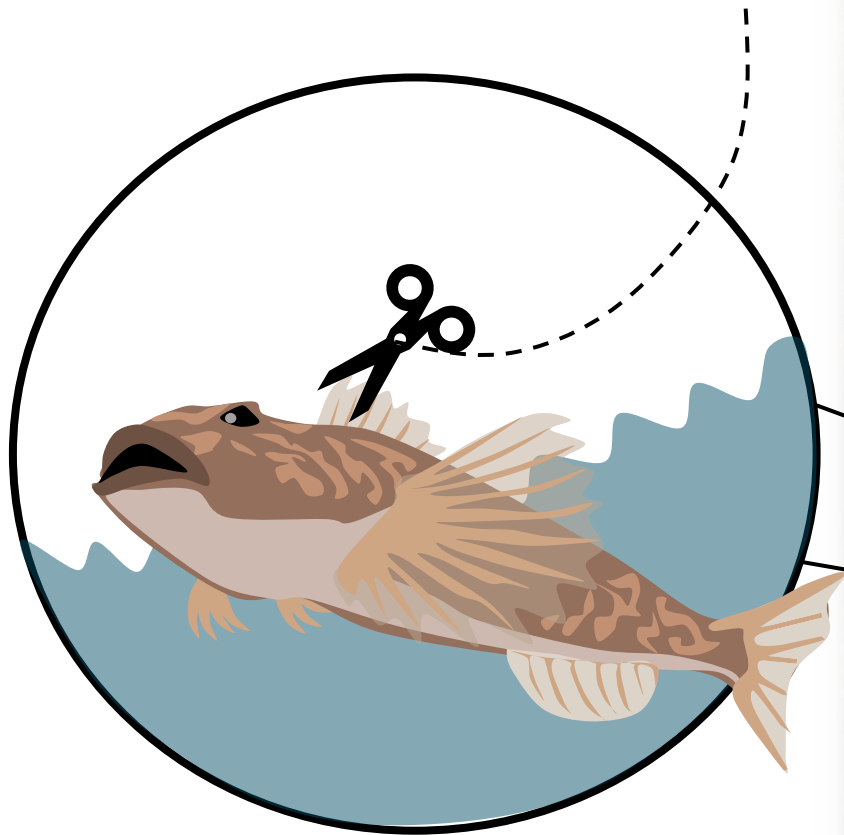
```
AAAAATAAATAAAACM-TAA-DCABHRMAA-AGGGGAGGCAAGTCGTAACATGGTAAGTGTACCGGAAGGT  
AAAGTTACCTAACACC-AAA-GCGCTGACG-AGGGGAGGCAAGTCGTAACAAGGGTAAGTGTACCGGAAGGT  
AAAGATATCTAACACC-AAA-GCGCTGACA-AGGGGAGGCAAGTCGTAACATGGTAAGTGTACCGGAAGGT
```

Wat is (e) DNA

Waar haal je de
cellen vandaan?

DNA

weefsel van het
organisme zelf



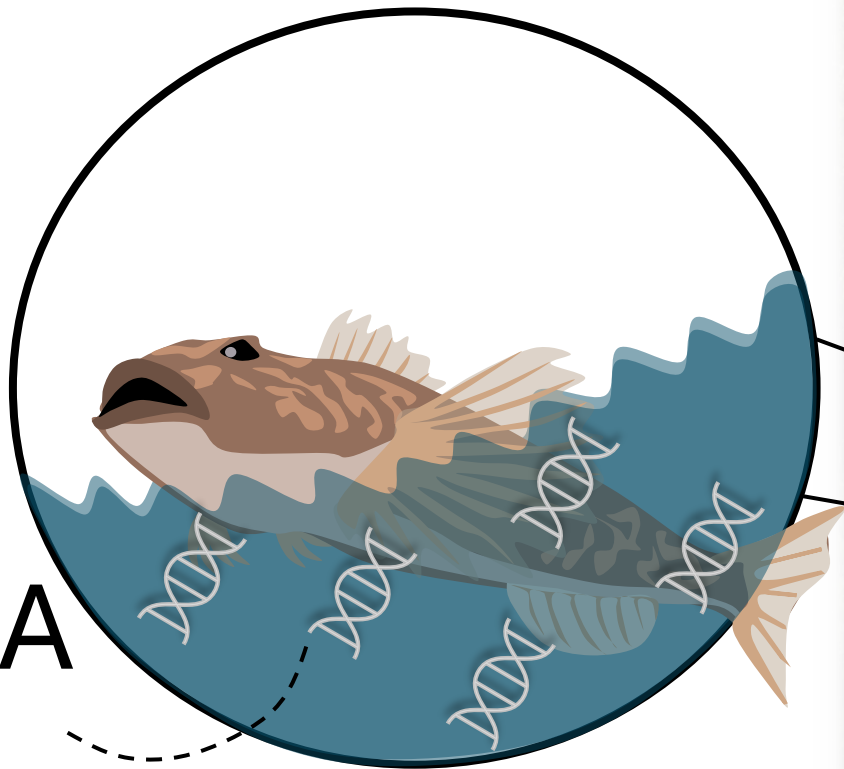
Wat is (e) DNA

DNA

weefsel van het
organisme zelf

vanuit het
milieu

eDNA



Wat is (e) DNA

eDNA kan voorkomen in verschillende vormen

- meercellige weefselfragmenten
- individuele cellen
- Organellen
- Vrij DNA

(Barnes & Turner, 2016; Ruppert et al., 2019)

Dit (e)DNA bindt vaak aan:

- Organisch materiaal
- Accumulatie door kleinere organismen

(Maruyama et al., 2014; Nagarajan et al., 2022).



(e)DNA is overal

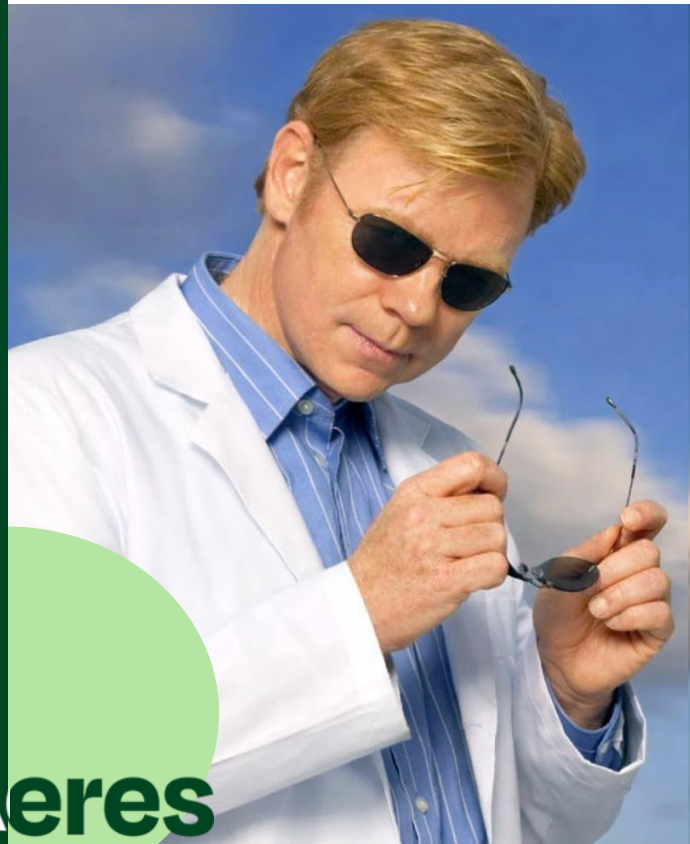
CSI van het milieu

Jullie zien hier een mooi
ecosysteem



A man with blonde hair, wearing a white lab coat over a blue and white striped shirt, and dark sunglasses. He is holding his sunglasses with both hands, looking down at them. The background is a bright blue sky with some clouds. In the bottom left corner, there is a green circle and the word 'eres' in a bold, green, sans-serif font.

A man with blonde hair, wearing a white lab coat over a blue and white striped shirt, and dark sunglasses. He is holding his sunglasses with both hands, looking down at them. The background is a bright blue sky with some clouds. In the bottom left corner, there is a green circle and the word 'eres' in a bold, green, sans-serif font.



Waarom (e) DNA

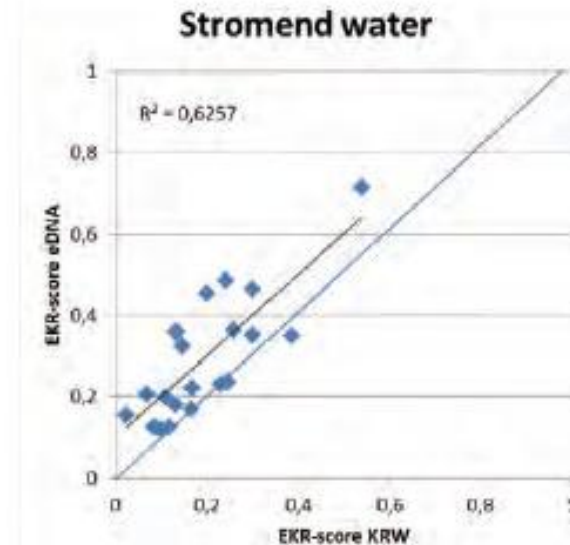
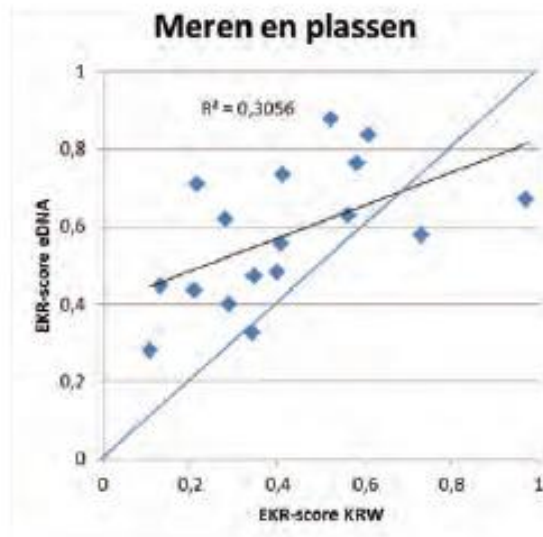
- Genetische informatie
- Efficiënt (goedkoper)
- Minder invasief
- Standaardisatie tussen soorten
- Houdbaar (milieu's freezer)

HOT TOPIC +- 15 JAAR

eDNA vooronderzoek

Cq 80 waterlichamen 4 jaar RAVON STOWA

Voorbeeld vergelijking kwaliteits index KRW met eDNA vs. huidig



RAVON

Reptielen Amfibieën Vissen Onderzoek Nederland

stowa

eDNA-METABARCODING VISSSEN

Onderzoek naar de mogelijke
toepassing van eDNA voor de KRW
vismonitoring (2018-2021)

Jelger Herder en Jan Kranenburg

eDNA vooronderzoek

Beken een redelijk goede relatie maar net onvoldoende (voorwaarde $R^2 > 0,80$)

Meren onvoldoende relatie

- te weinig eDNA monsters voor meren?
- te weinig informatie om biomassa deelmaatlat goed te benaderen?
- veel onzekerheden door hoge gevoeligheid door zuurstoftolerante vissoorten?
- geeft traditionele visbemonstering wel een goed beeld?

Er is meer nodig om eDNA in de praktijk toe te kunnen passen!

MOVE | MAATLAT ONDERZOEK VIS EDNA

Subsidiebeschikking 4 jaar project:

Aeres krijgt 2,1 miljoen euro subsidie van **Ministerie IenW** met ca. 800 k euro uitbestedingen, **juni 2024- juni 2028**

Doel: onderzoek naar mogelijkheden om **nieuwe maatlat** te ontwikkelen voor vis met eDNA

Vergelijking huidige traditionele methoden zeker ook belangrijk

FOCUS



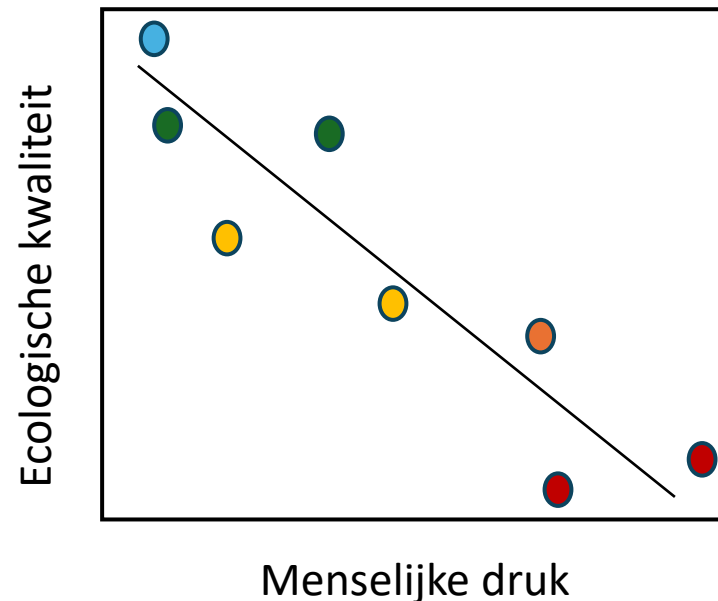
Aanpak MOVE

Bouwen aan data

- 3 jaar +/- 1000 eDNA samples nemen in NL ca. 250-300 waterlichamen
- Bemonsteren van referentie wateren (wateren met (zeer) goede kwaliteit)
- Rol van vervuiling van eDNA van elders, zoals RWZI's
- Vergelijken met traditionele monitoring
- Valideren van een nieuwe maatlat
- Vergelijken van verschillende eDNA methodes
- **Aansluiten bestaand onderzoek**

eDNA

- **Vergelijken ‘huidige monitoring’ met eDNA:**
Belangrijk maar onduidelijk blijft wat de werkelijke visstand is
- **Doel is een goede maatlat:**
Hoe doe je dat?
 - *Subjectief*: toetsingen vergelijken met een expert beoordeling
 - *Objectief*: toetsen relatie tussen biologische kwaliteit en menselijke druk



VAN MOLECUUL TOT MAATLAT

Inhoud

Maatlat

Molecuul

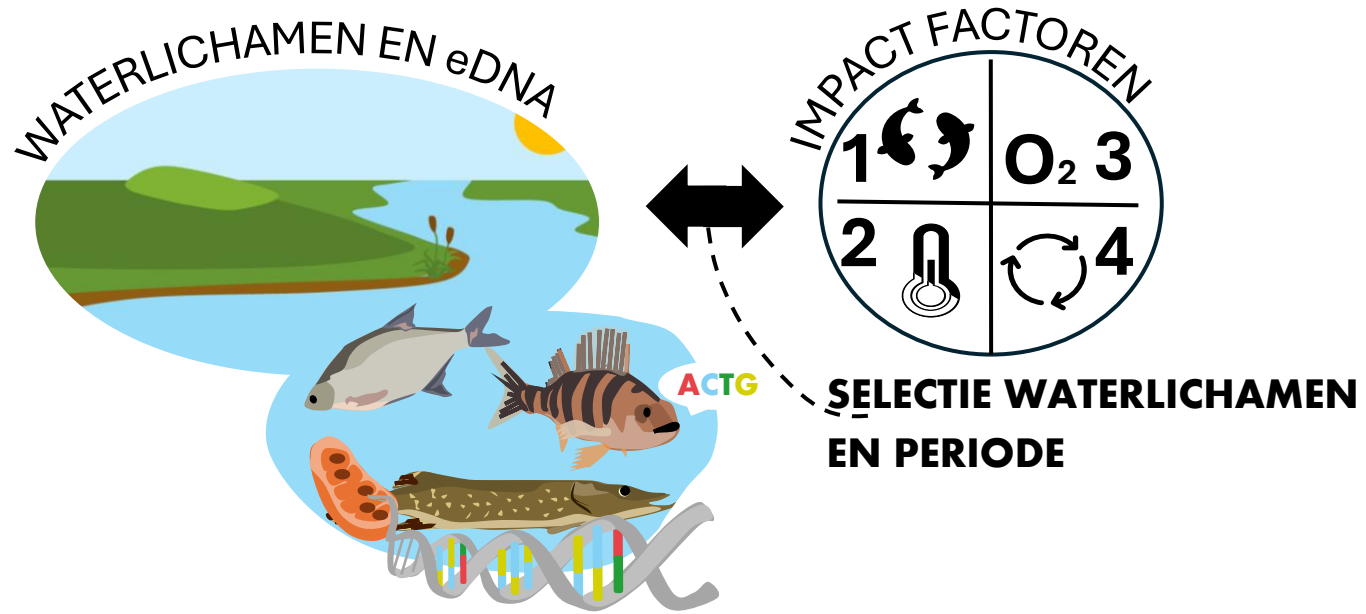
MOVE

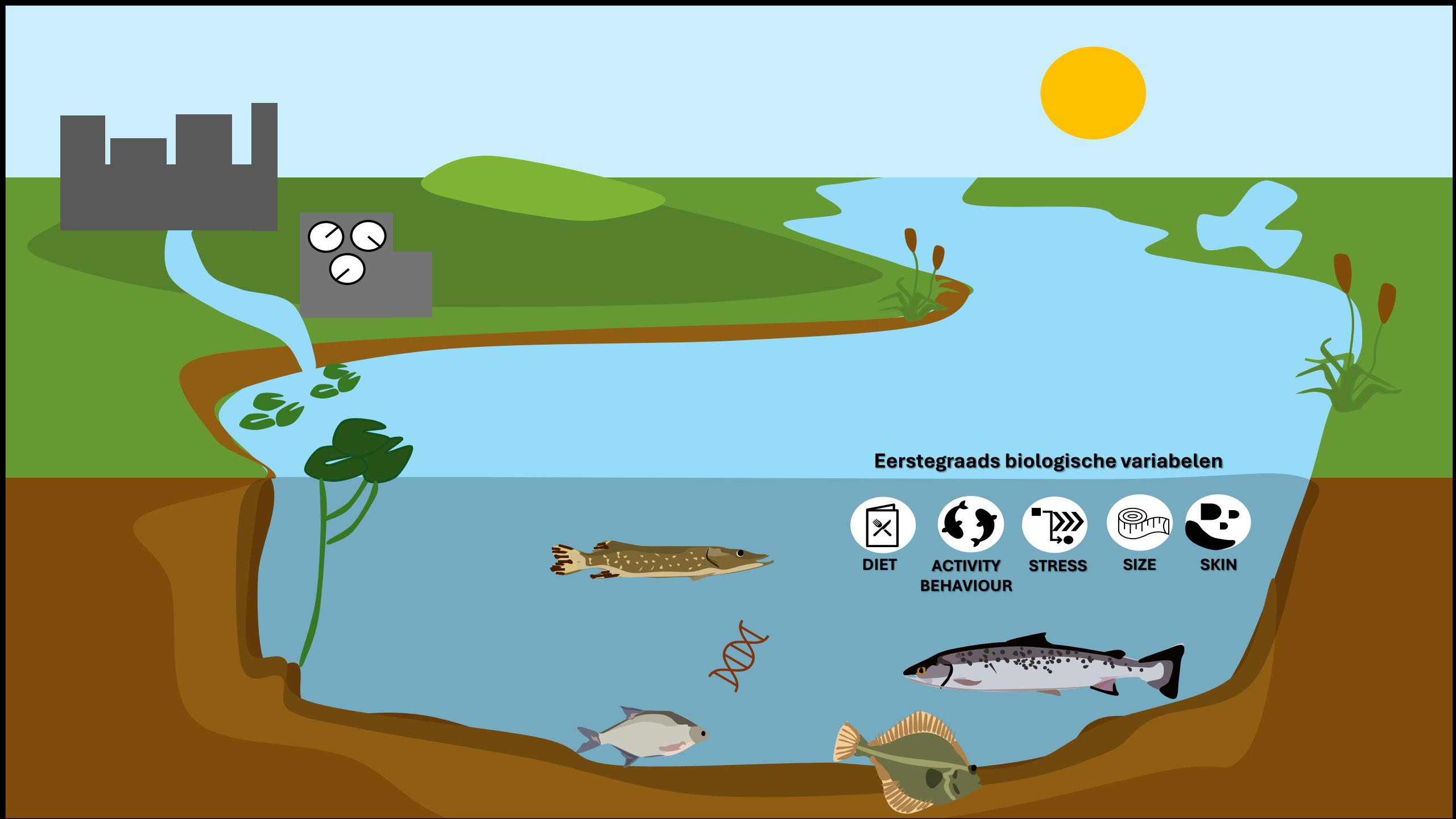
Aanpak eDNA (het proces)

Voortgang project

Resultaten en toekomst

Het Proces





Eerstegraads biologische variabelen



DIET



ACTIVITY
BEHAVIOUR



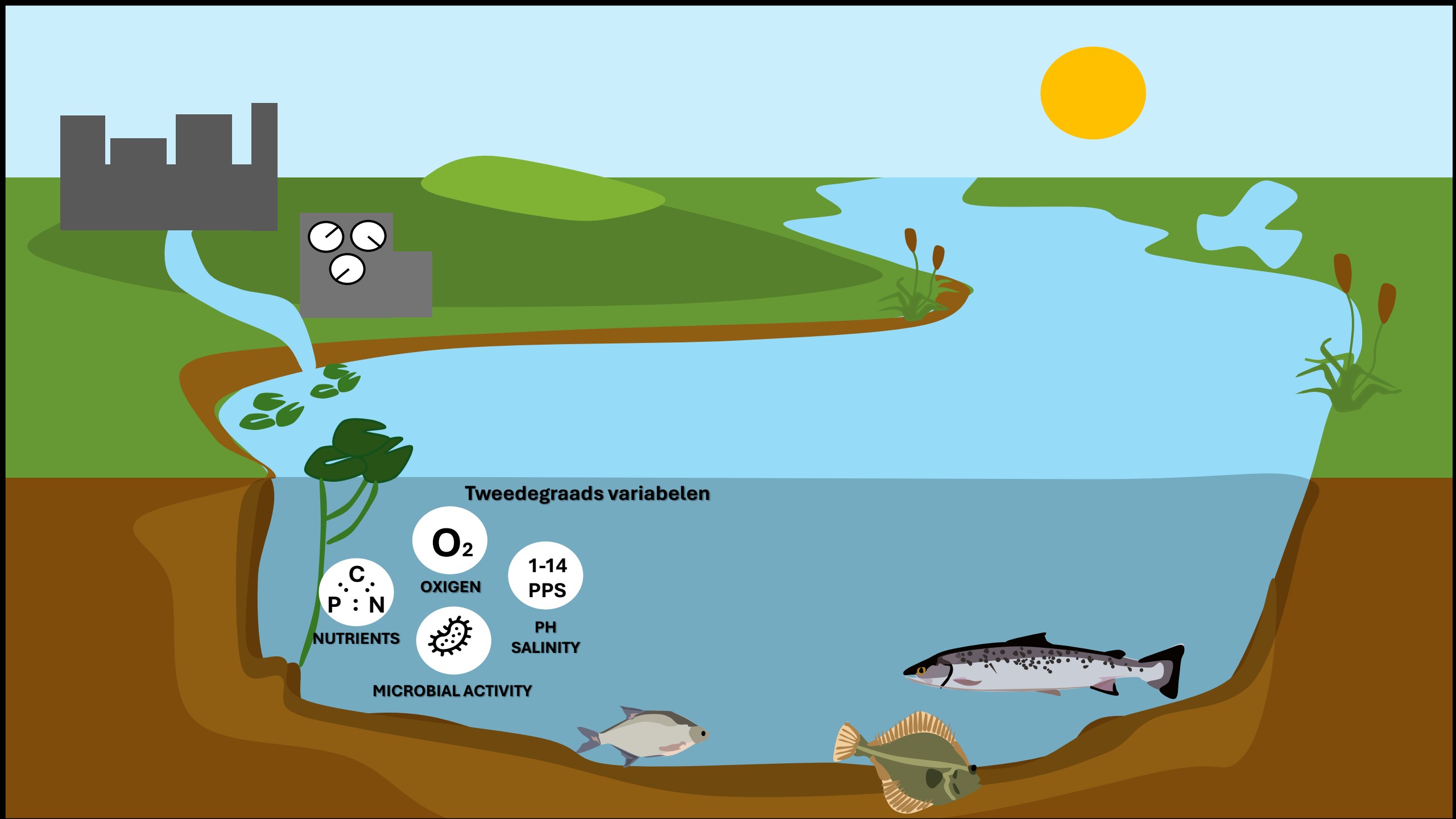
STRESS



SIZE



SKIN



Tweedegraads variabelen

O_2

OXIGEN

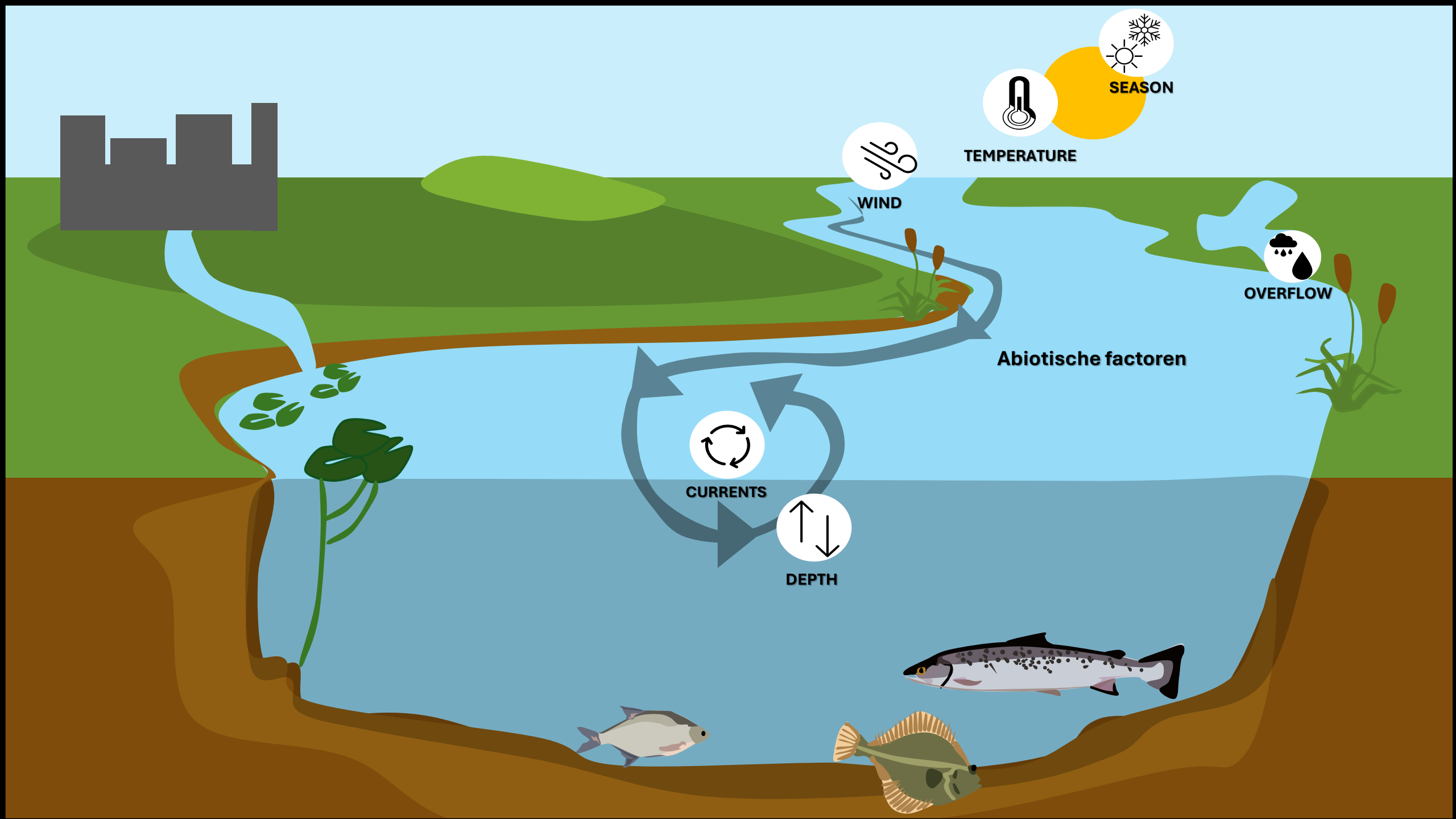
1-14
PPS

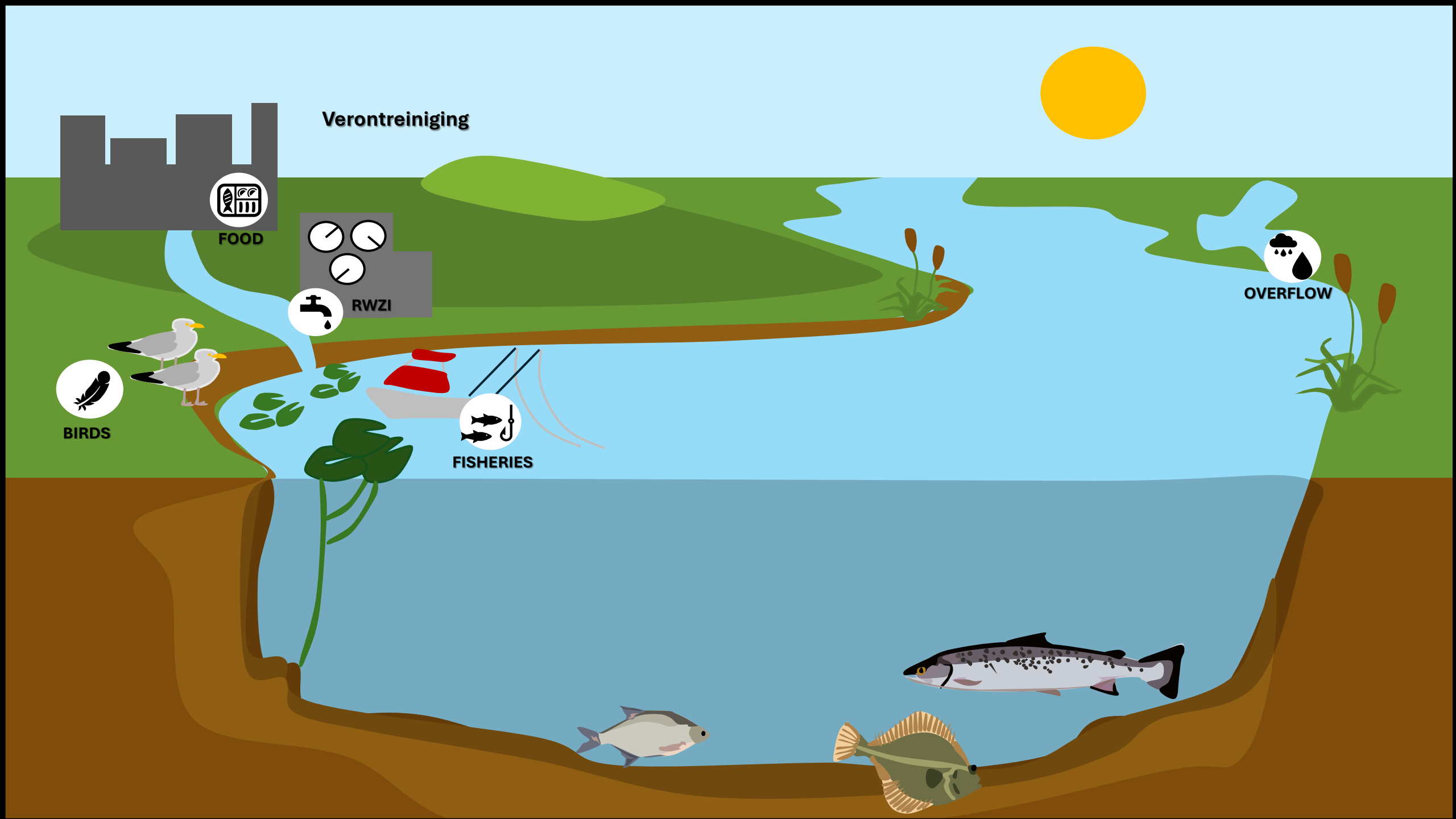
PH
SALINITY

C
 $\text{P} : \text{N}$

NUTRIENTS

MICROBIAL ACTIVITY





Verontreiniging



FOOD



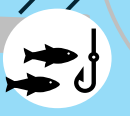
RWZI



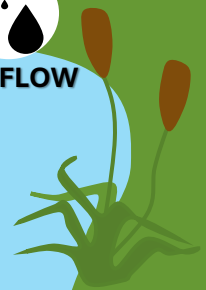
OVERFLOW



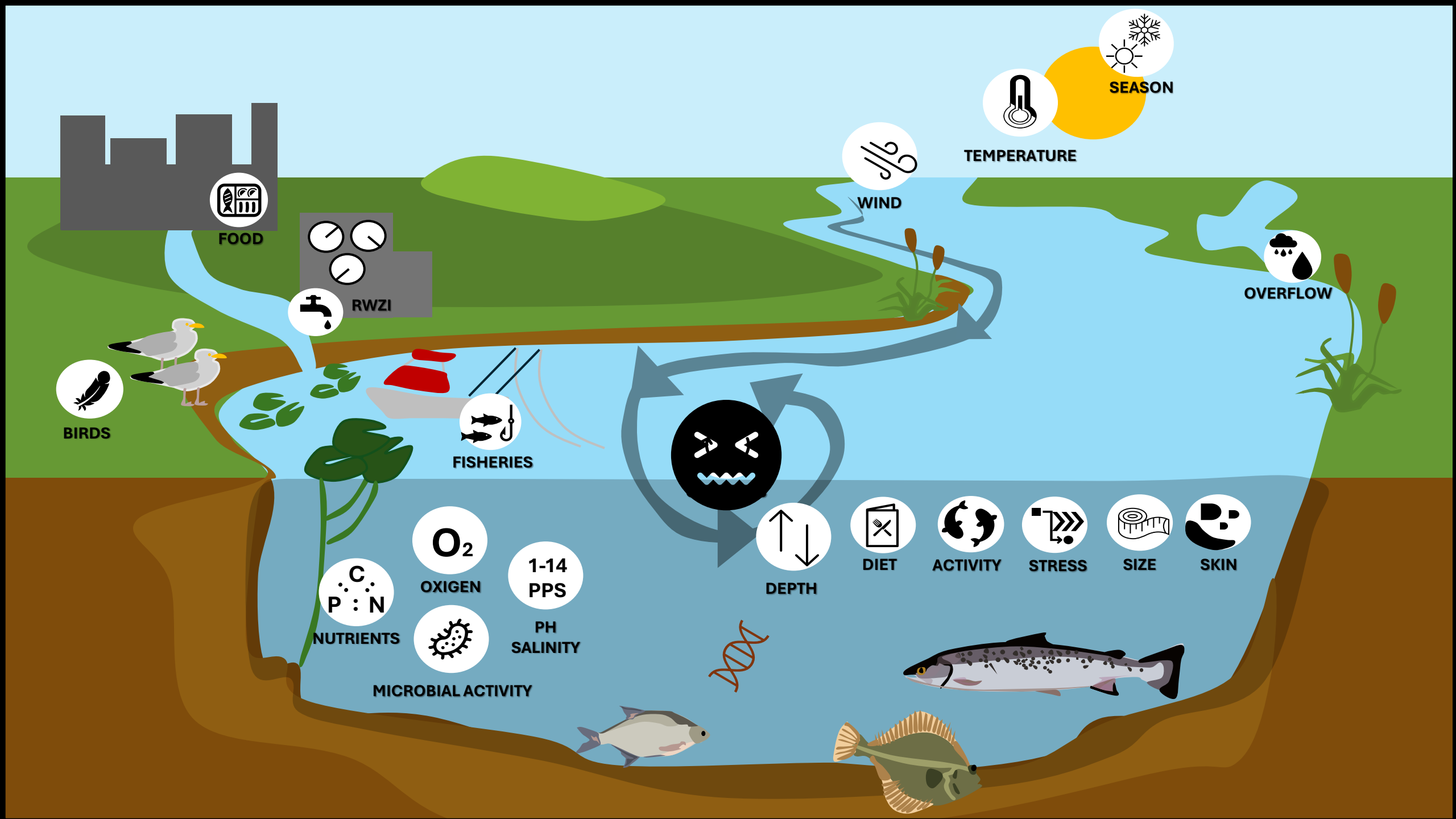
BIRDS



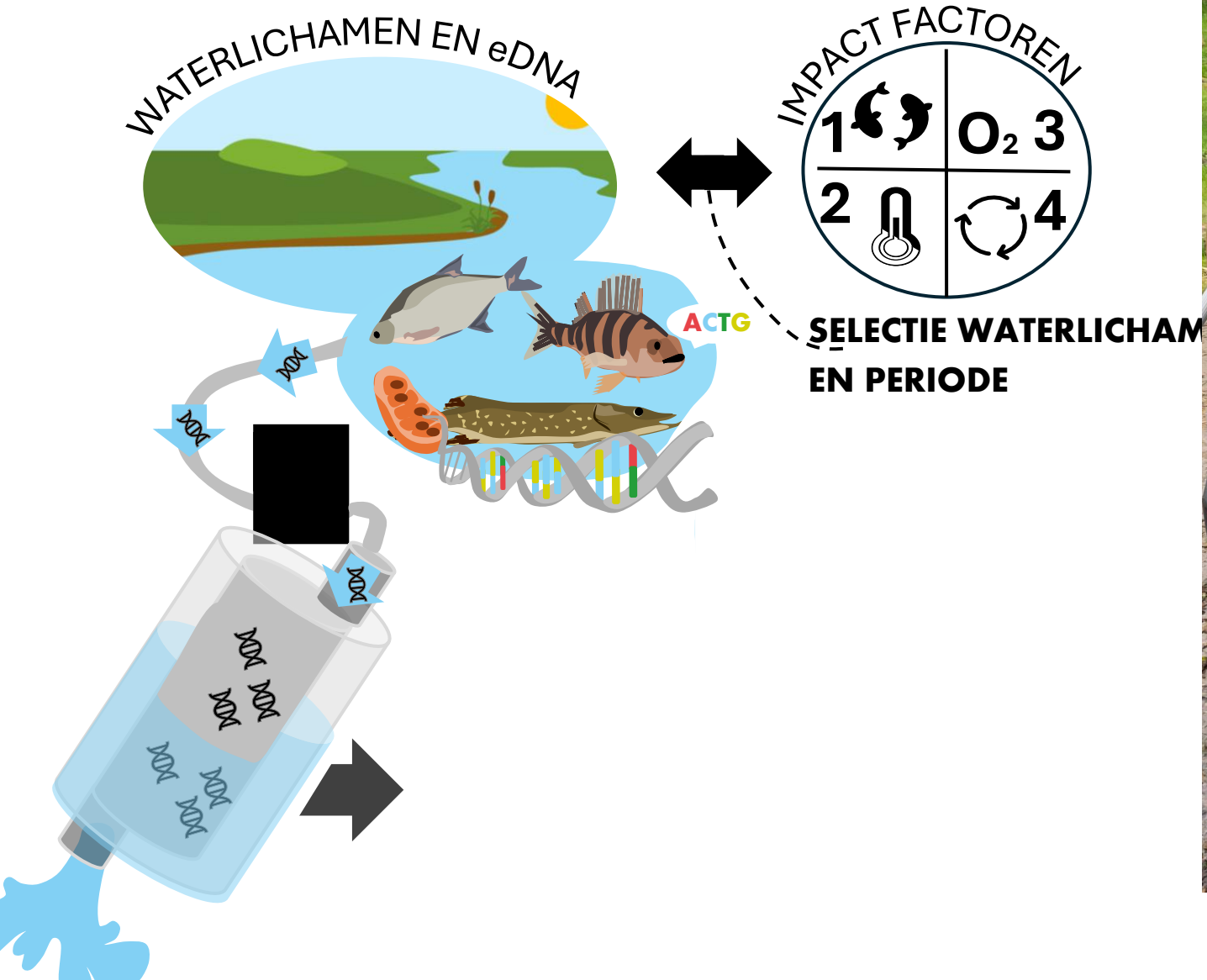
FISHERIES



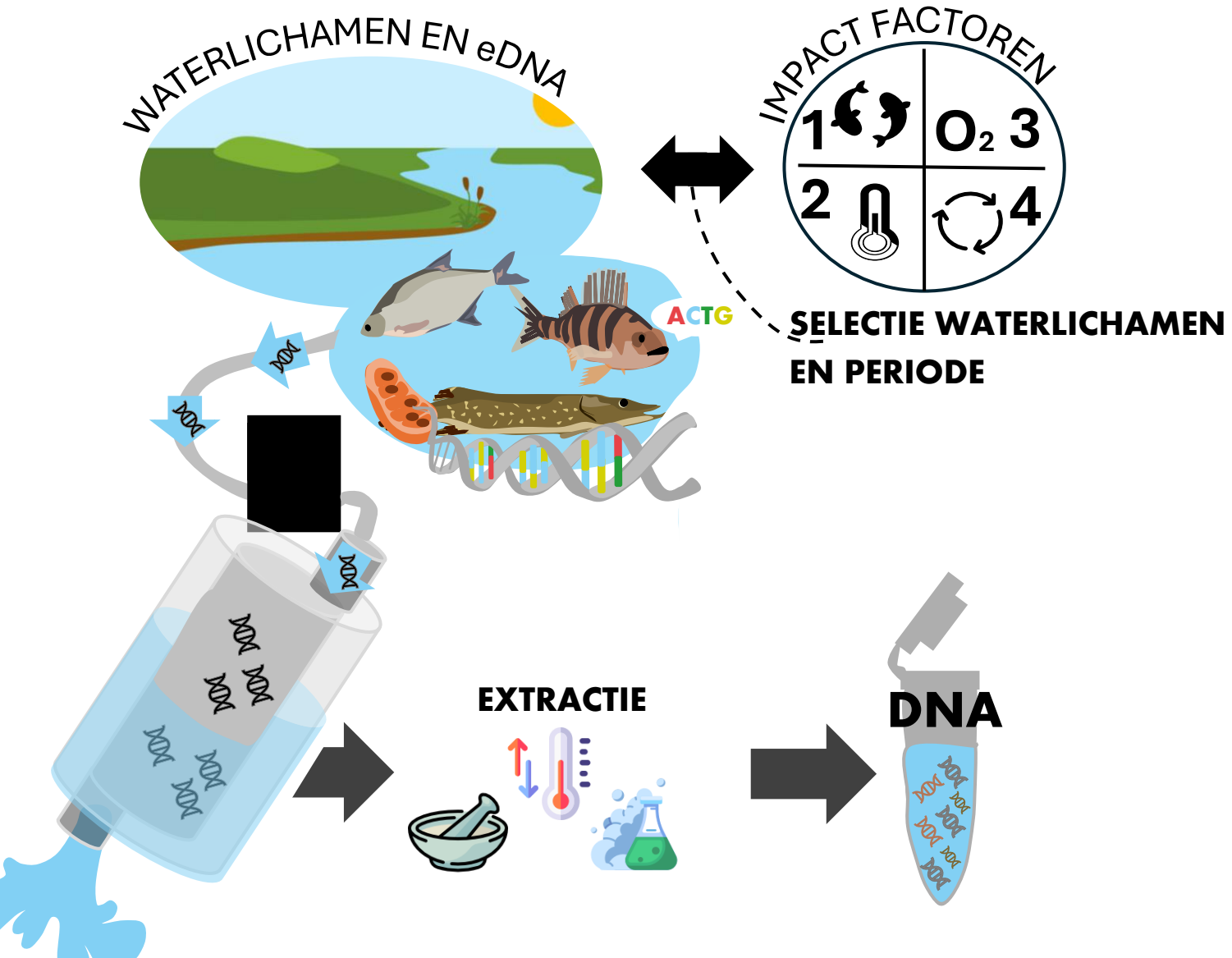
OVERFLOW



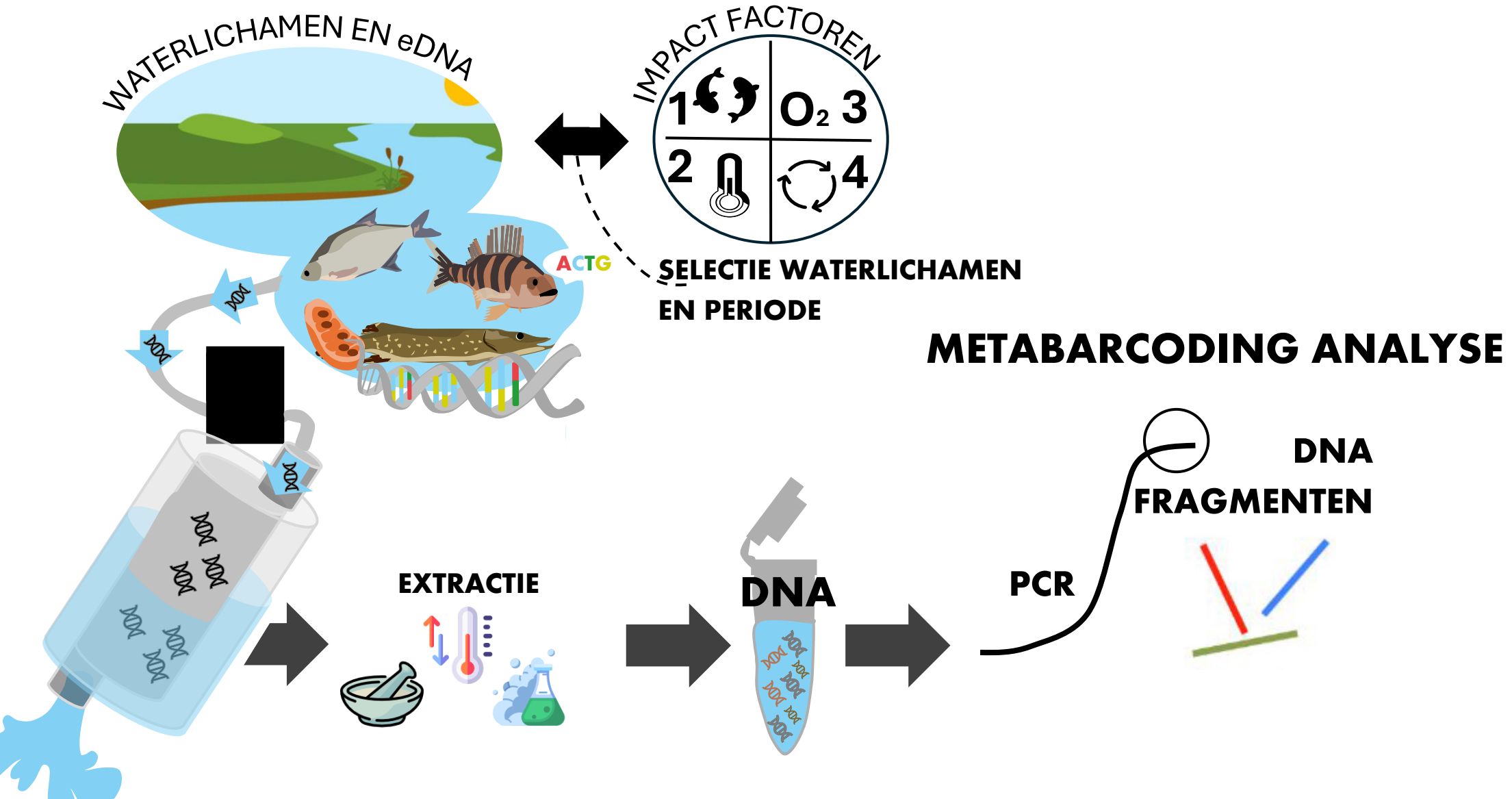
Het Proces



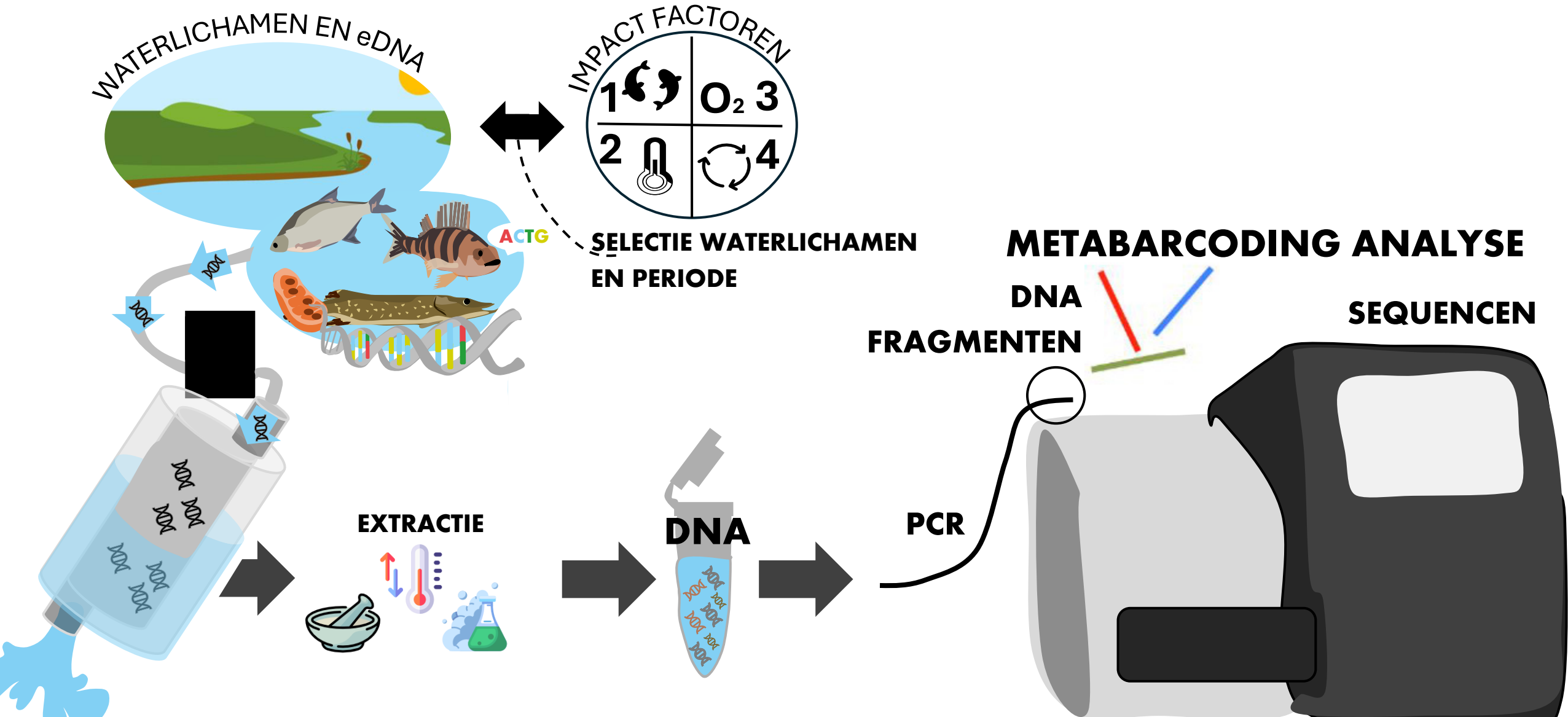
Het Proces



Het Proces

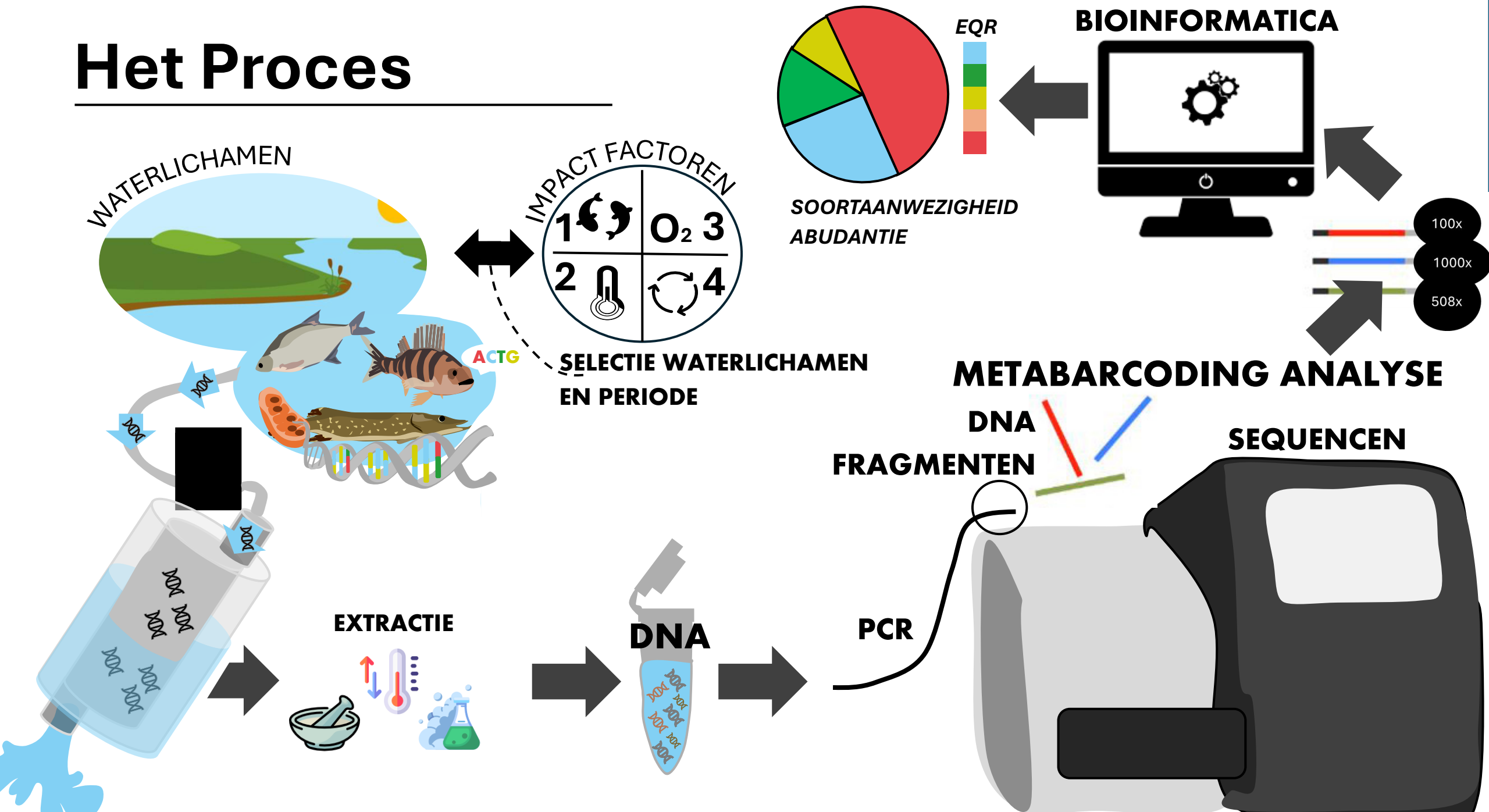


Het Proces



**Vermeerderen van alle soorten DNA (pcr), daarna de
soortspecifieke fragmenten uitlezen met sequenzen**

Het Proces



VAN MOLECUUL TOT MAATLAT

Inhoud

Maatlat

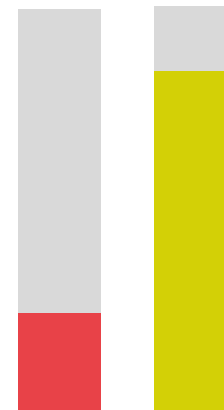
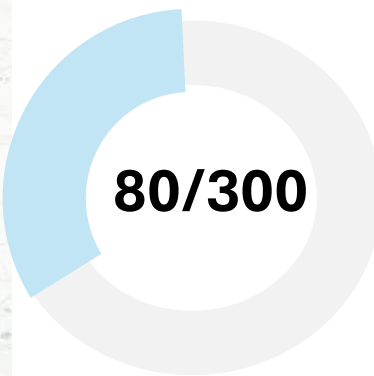
Molecuul

MOVE

Aanpak eDNA (het proces)

Voortgang project

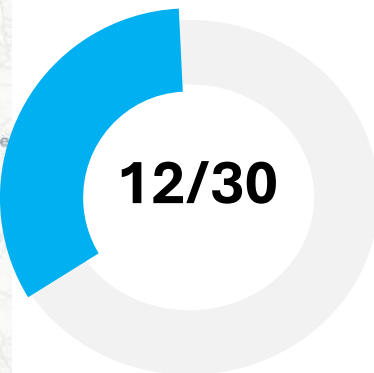
Resultaten en toekomst



80 Waterlichamen

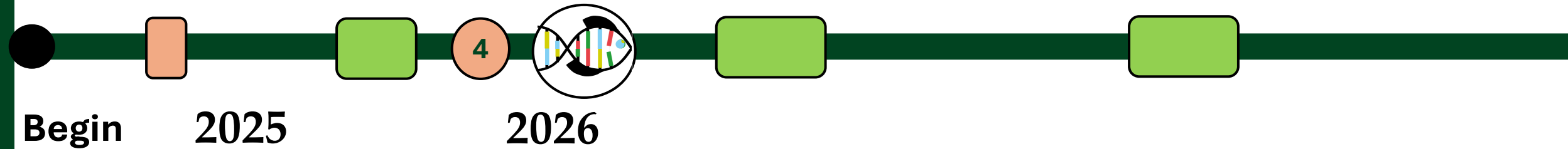
>5600 Detecties

+ - 55 soorten



12 Referentie wateren

Naar bouwen van een nieuwe maatlat



- 4 Resultaat volledig uitwerken vergelijkingsonderzoeken tussen genetische methoden

Achtergrond

-  **In Nederland voornamelijk 2 methoden**
DATURA/RWS
SPYGEN/RAVON/STOWA
-  **Idealiter een brede toepasbaarheid voor markt en waterbeheerders**
-  **Waar zitten de verschillen tussen methoden?**
-  **Zoveel mogelijk data kunnen gebruiken**

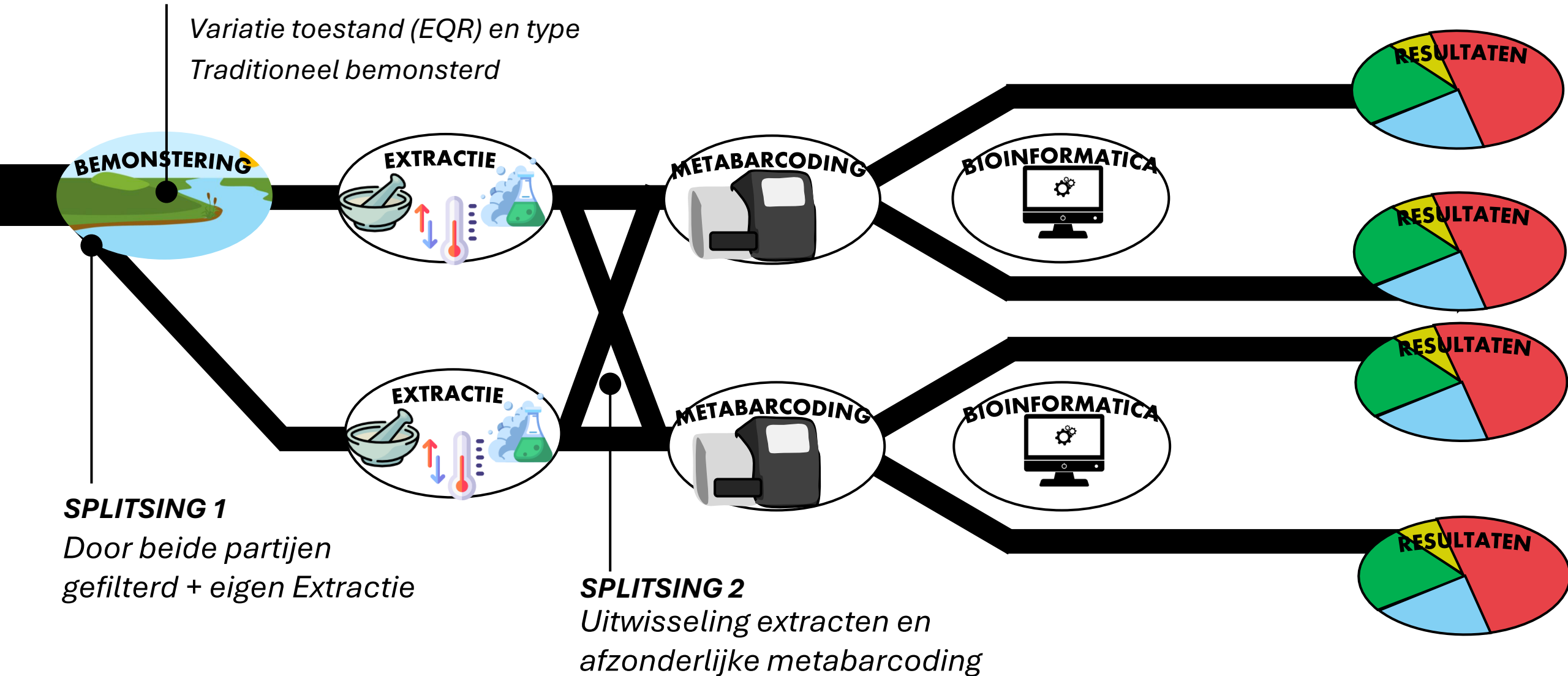


Het naast elkaar leggen van methoden en testen waar het grootste verschil zit en zo (met mogelijk vervolgonderzoek) de vinger leggen op het vastleggen van methoden.

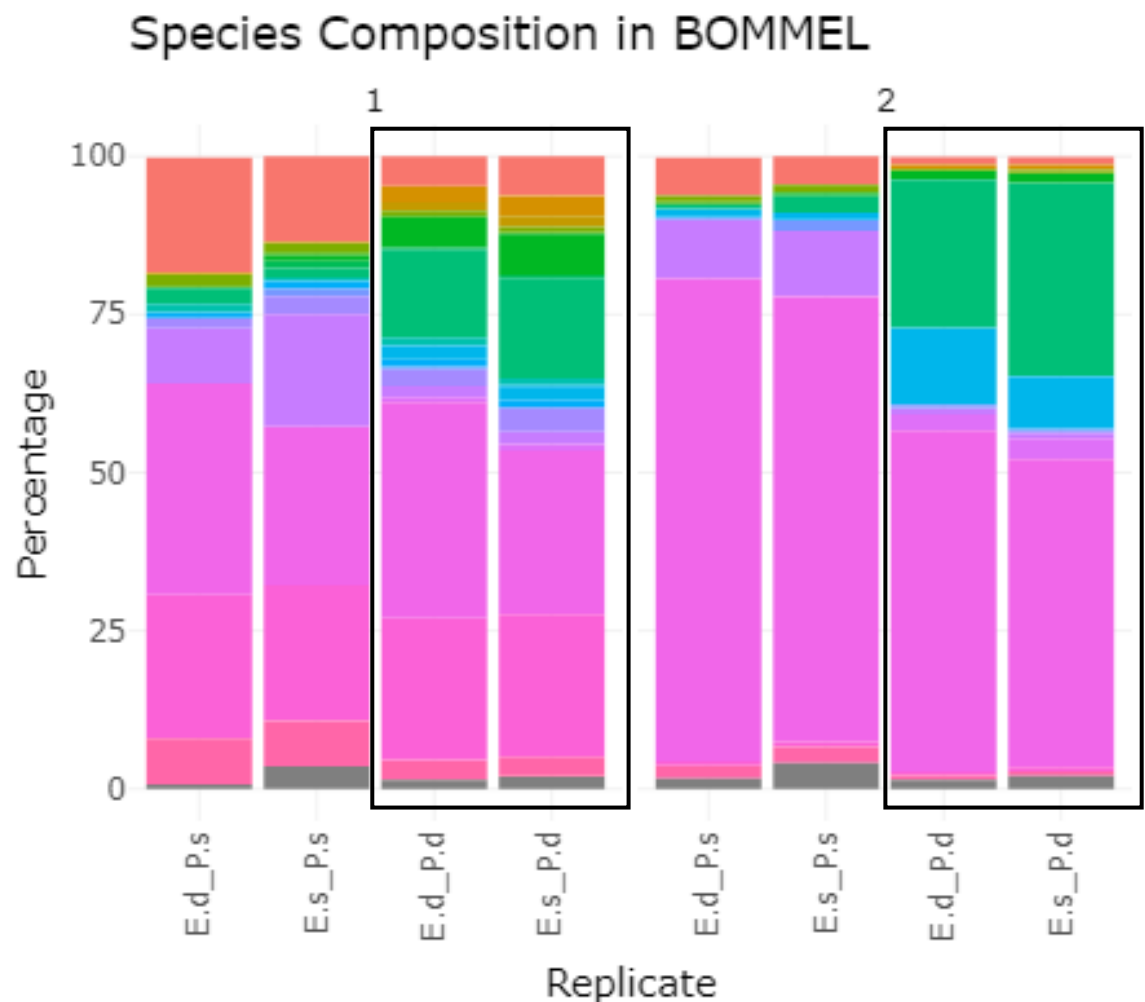
Opzet

17 Waterlichamen

*Variatie toestand (EQR) en type
Traditioneel bemonsterd*



Voorlopig resultaat

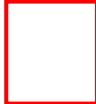
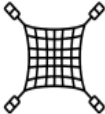


Primers geven veel meer verschil

Extractie veel minder verschil

Bouwen aan data

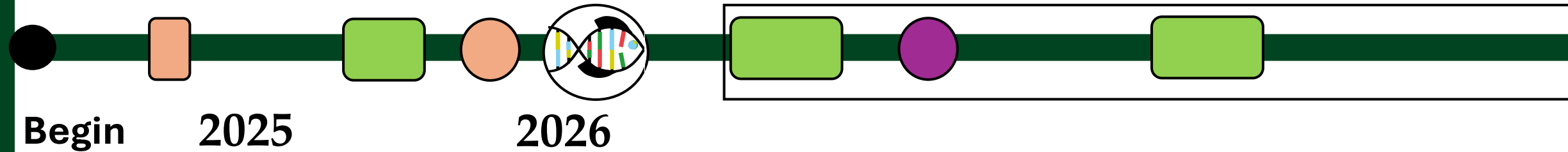
Voorbeeld: Het WeerWater

	eDNA	WW_ED_1	%		BAARS	
		WW_ED_2	%		BLANKVOORN	
		WW_ED_3	%		BRASEM	
		WW_ED_4	%		DR.ST.BAARS	
	ELEKTRO	WW_EL1	% n		KARPER	
		WW_EL2	% n		KAUK.GRONDEL	
		WW_EL3	% n		KL.MODD.KRUIP	
	STORTKUIJL	WW_SK1	% n		KOLBLEI	
		WW_SK2	% n		MA.GRONDEL	
		WW_SK3	% n		RIETVOORN	
		WW_SK4	% n		SNOEKBAARS	
		WW_SK5	% n		ZB.GRONDEL	
		WW_SK6	% n		ZEELT	
						BAST.MODD.KRUIP
						KES.GRONDEL
						POS
						SNOEK

	0> 1
	1--2
	3--5
	5--10
	10--25
	25--50
	50>

Voorbeeld Weerwater

Naar bouwen van een nieuwe maatlat



 **Data dashboard af met vooranalyses**

Het bouwen van de maatlat

- Laatste 2 jaar data verzamelen
- Verder verzamelen van menselijke druk data
- Experts en gebruikersgroep meetings voor een kwalitatief sterke afronding

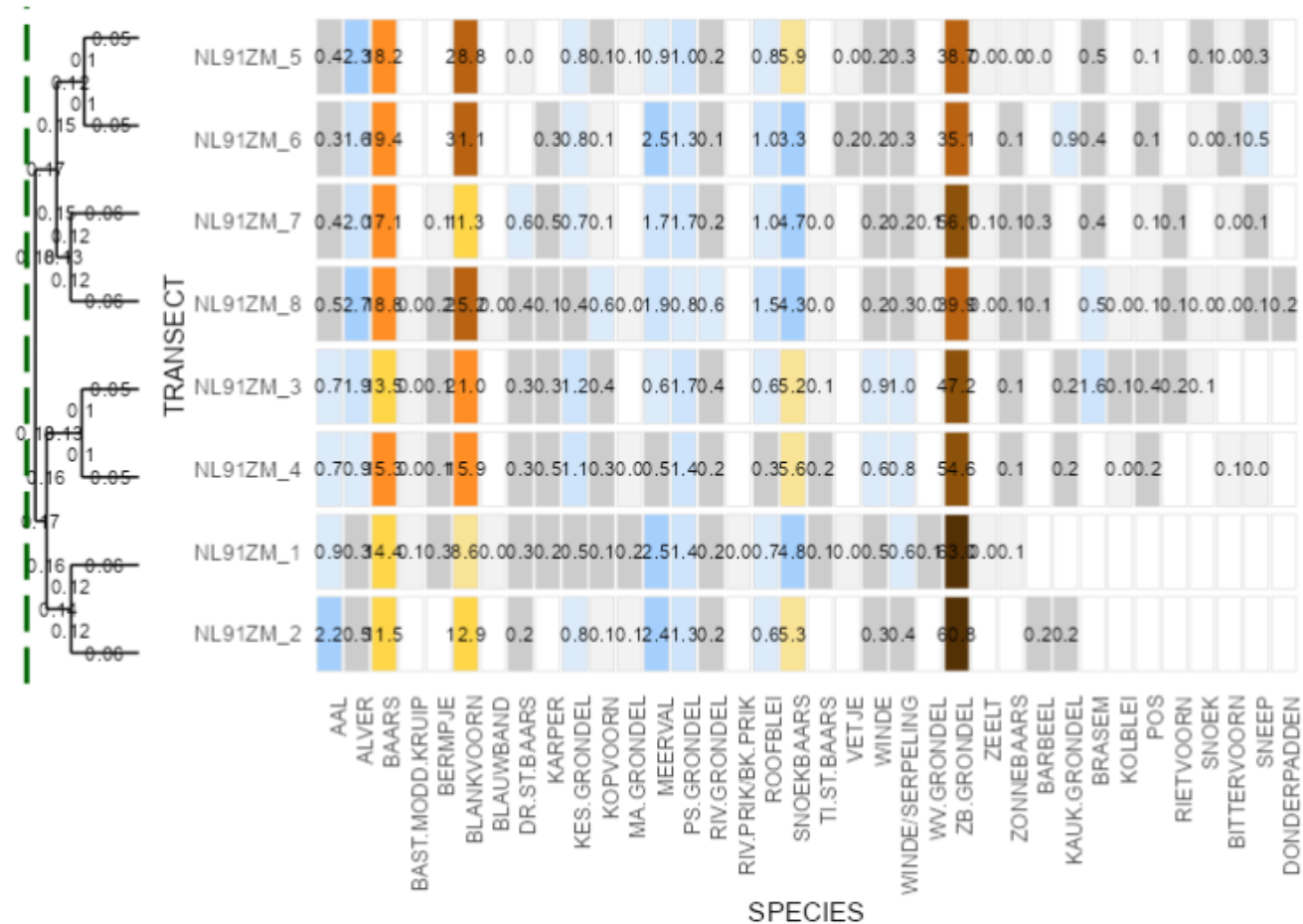
Rivieren

Grote rivieren 2026 +2027

+ - elke 20 km 2 transecten met boot



Minimale verschillen in de Zandmaas gevonden



Referentie wateren

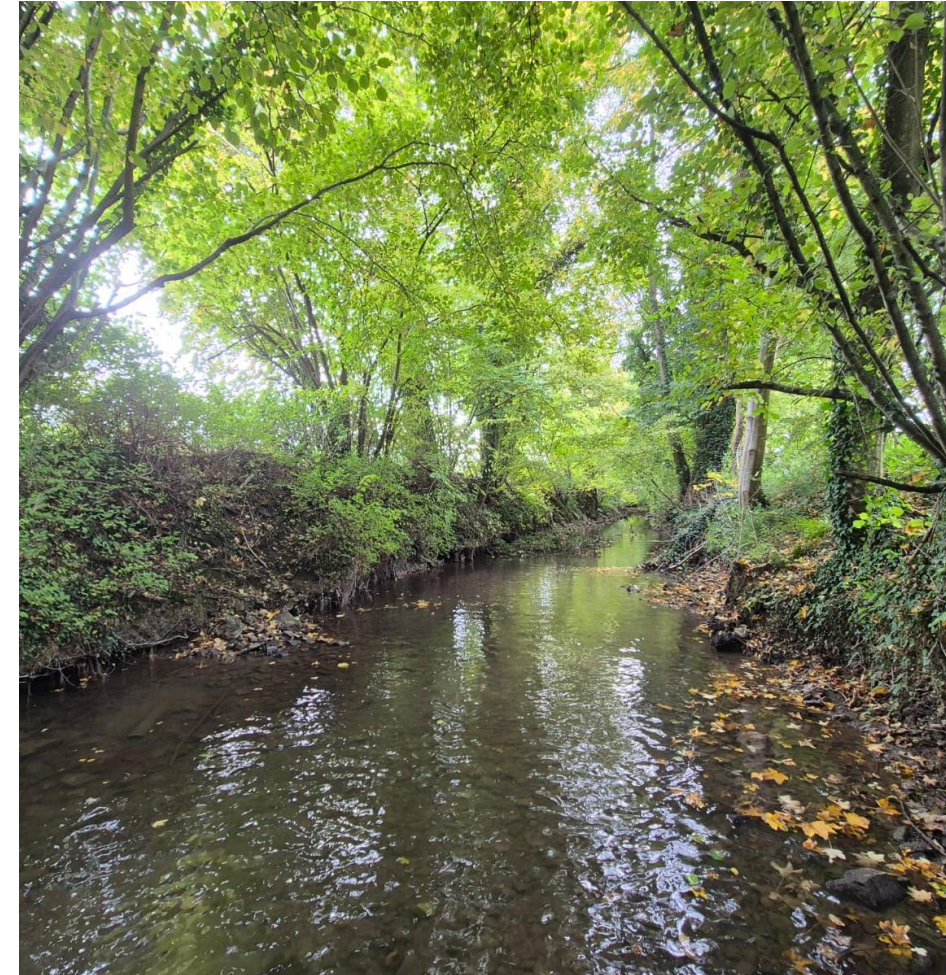
12 Wallonië

INSTITUUT
NATUUR- EN
BOSONDERZOEK



RAVON

Reptielen Amfibieën Vissen Onderzoek Nederland



Plannen voor Duitsland en of Polen

- Focus op diepe (tot gem. 15m) en ondiepe meren (<3m), selectie op hydromorfologisch (bijna) natuurlijk, en zeer goede of juist slechte toestand vis
- Laaglandbeken/rivieren



Slecht



Zeer goed

Uitdagingen eDNA

Indirecte methode *eDNA factoren + complex*

Veel stappen in dataverwerking

Veel verschillende labs, en protocollen

Problemen met abundantie/
leeftijdsopbouw? *eDNA factoren invloed op soorten?*

Methode vergelijking

Hoe vertaal je data van 20 jaar naar nieuwe
monitoring technieken?

Kun je dan nog wel effecten en restauratie
meten?

**Nieuwe Maatlat bouwen?
Of Data vergelijken**

Stelling

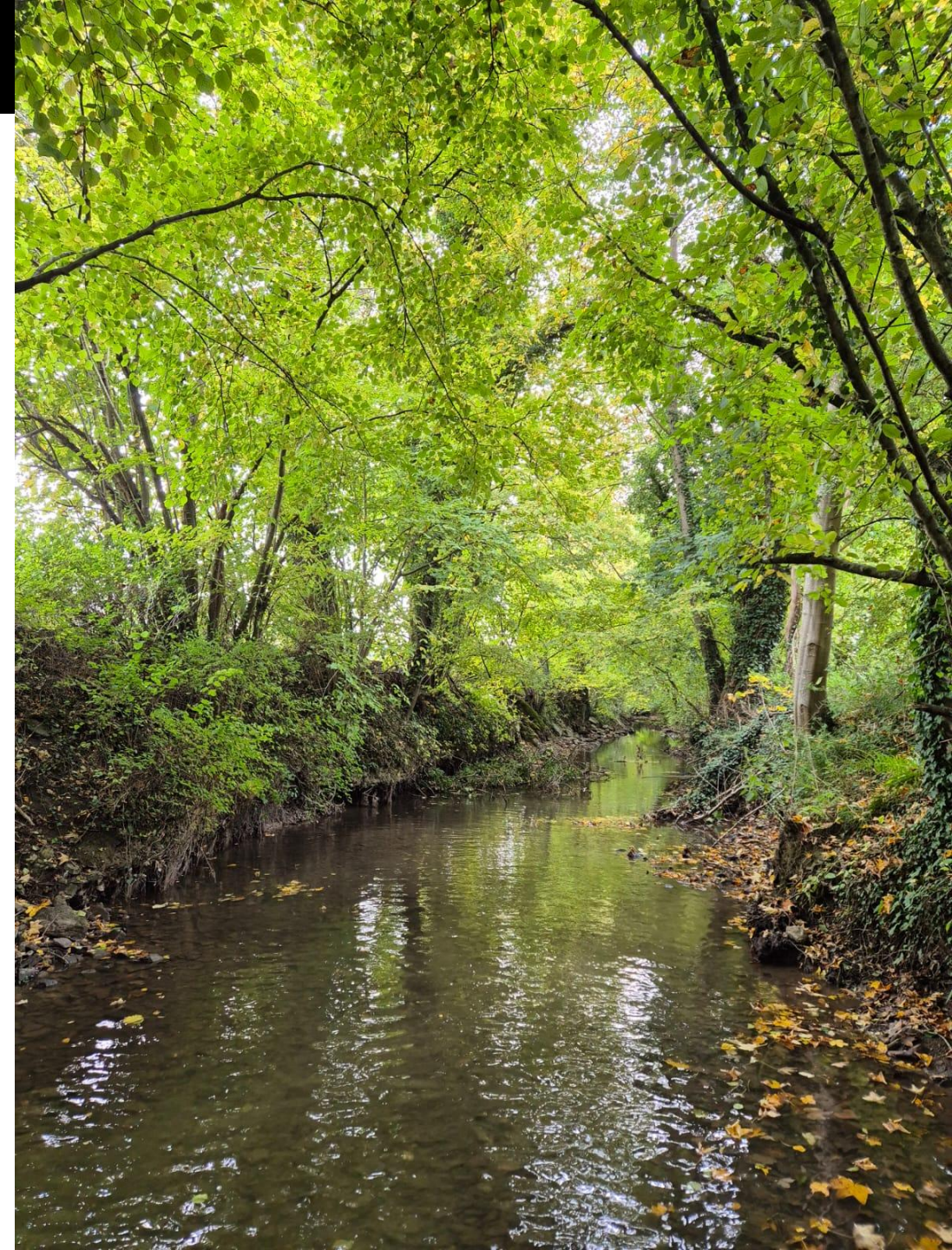
Traditionele monitoring van de visserij moet al worden aangevuld met innovatieve technieken, ondanks dat deze nog niet zijn bewezen.

Bedankt voor de aandacht
Zijn er nog vragen?



Stel...

**Nieuw Restoratie project
uitzet Kwetsbare soorten
verwijdering van Barrières
Verbetering vegetatie**



Toekomst VIS-ie

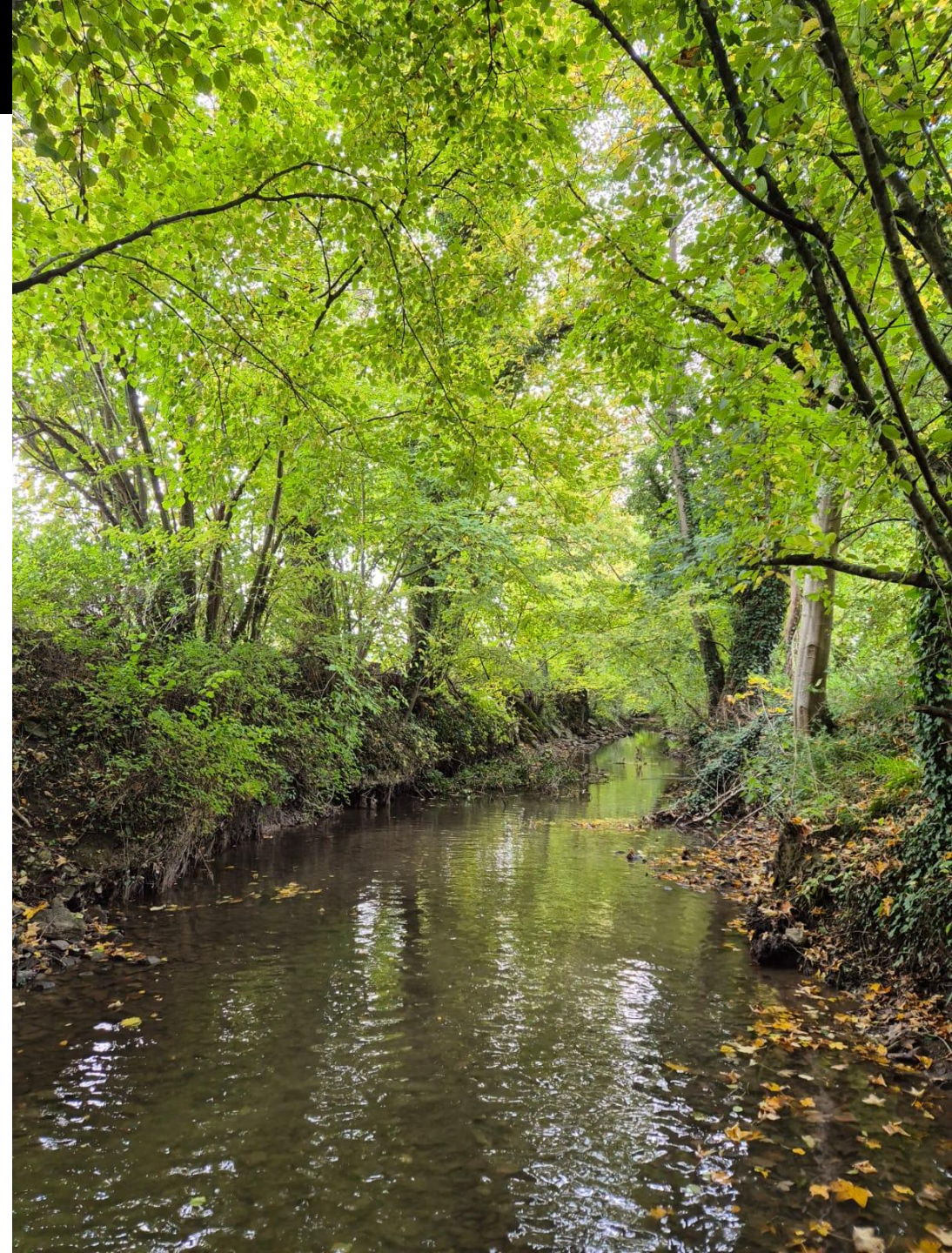
Nieuwe Beekrestoratie (10km)

uitzet kwetsbare soorten

verwijdering van Barrières

Verbetering vegetatie

**Traditioneel monitoren lastig?
Kan niet te vaak vissen?
misschien duurder traditioneel?**



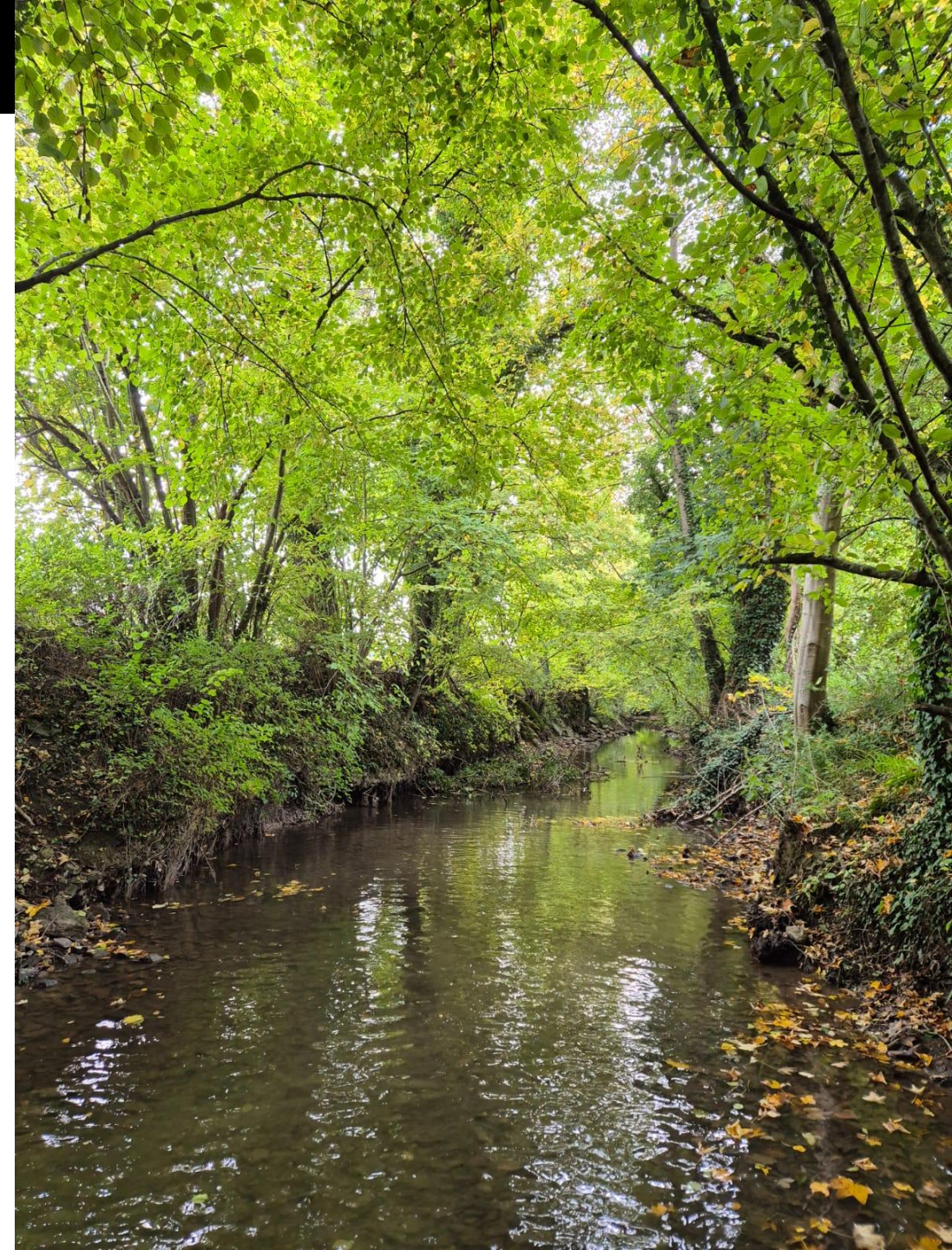
Toekomst VIS-ie (Invriezen)

Nieuwe Beekrestoratie
uitzet forel
verwijdering van Barrières
Verbetering vegetatie

eDNA kan **2-3x per jaar**
Niet invasief



Geeft meer
informatie naast
traditioneel
(kan dan elke paar jaar)



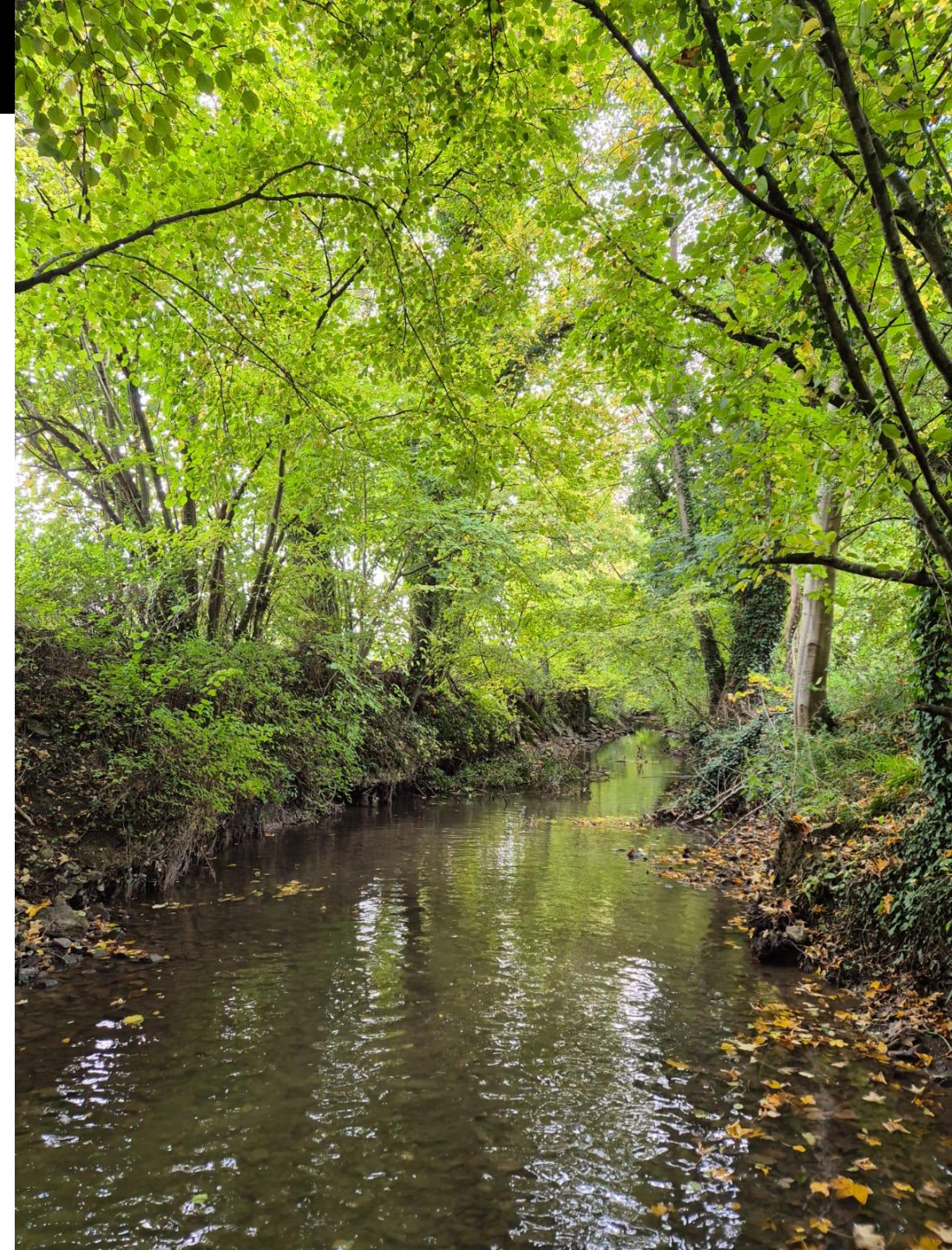
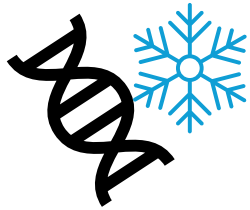
Toekomst VIS-ie (Invriezen)

MAAR

2026...

Oud Restauratie project

Maar DNA sample blijft



2040...2500?

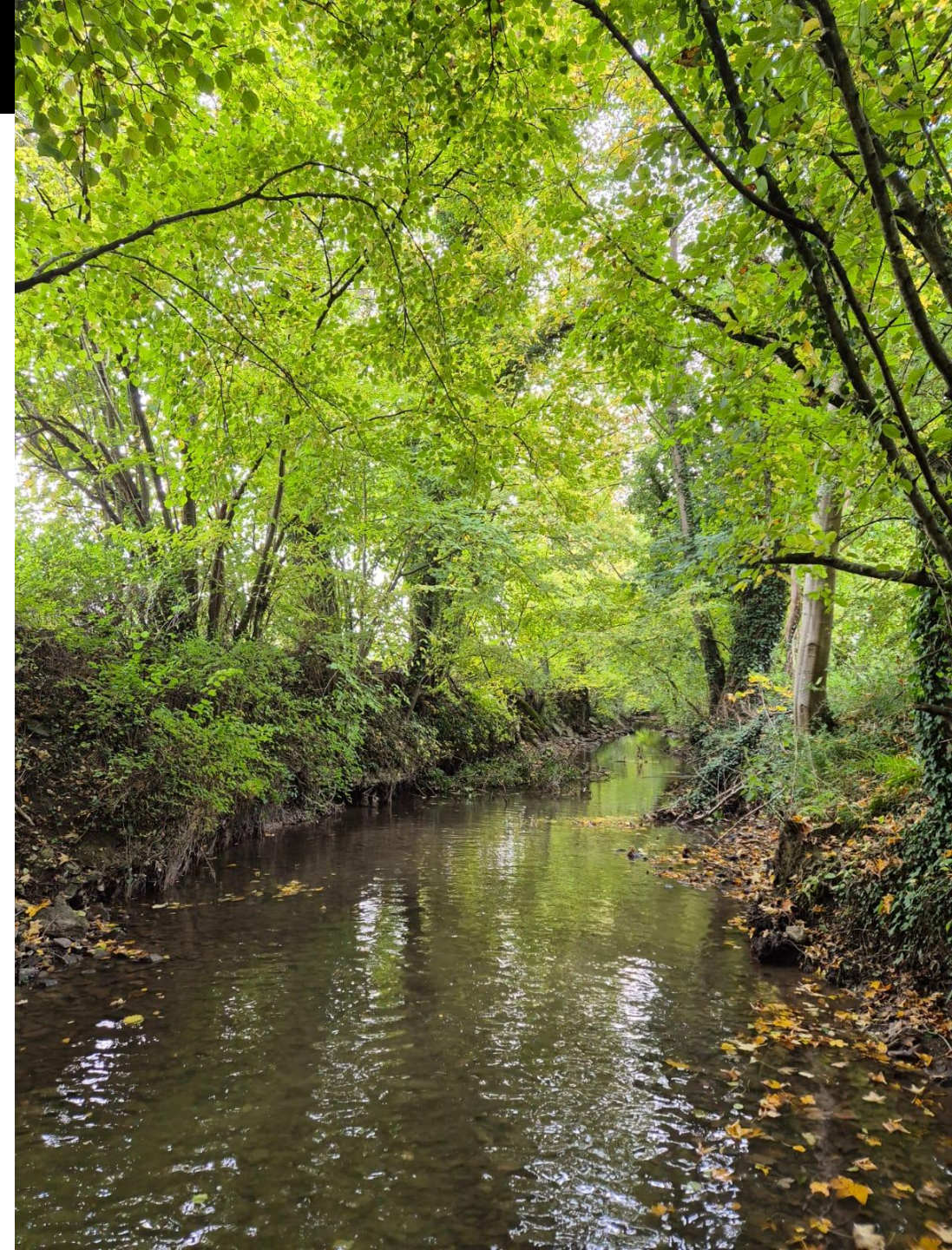
Veel bewaarde samples
Nationale databank?

Goedkopere (her) analyses?

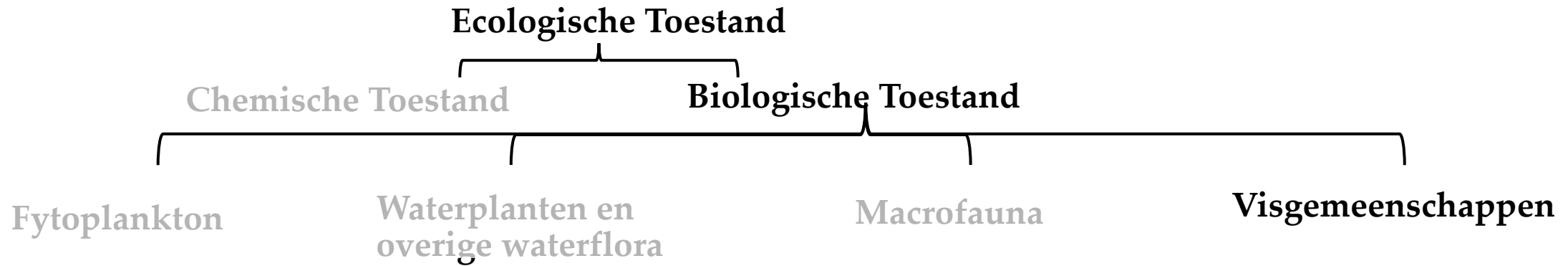
Uitgebreidere analyses?



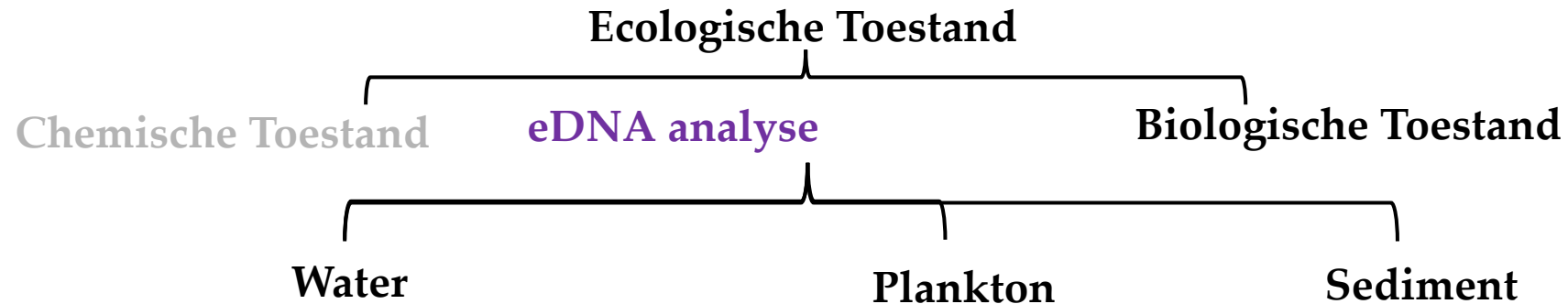
**Bemonsteren; Geen momentopname
maar veranderd in een investering**



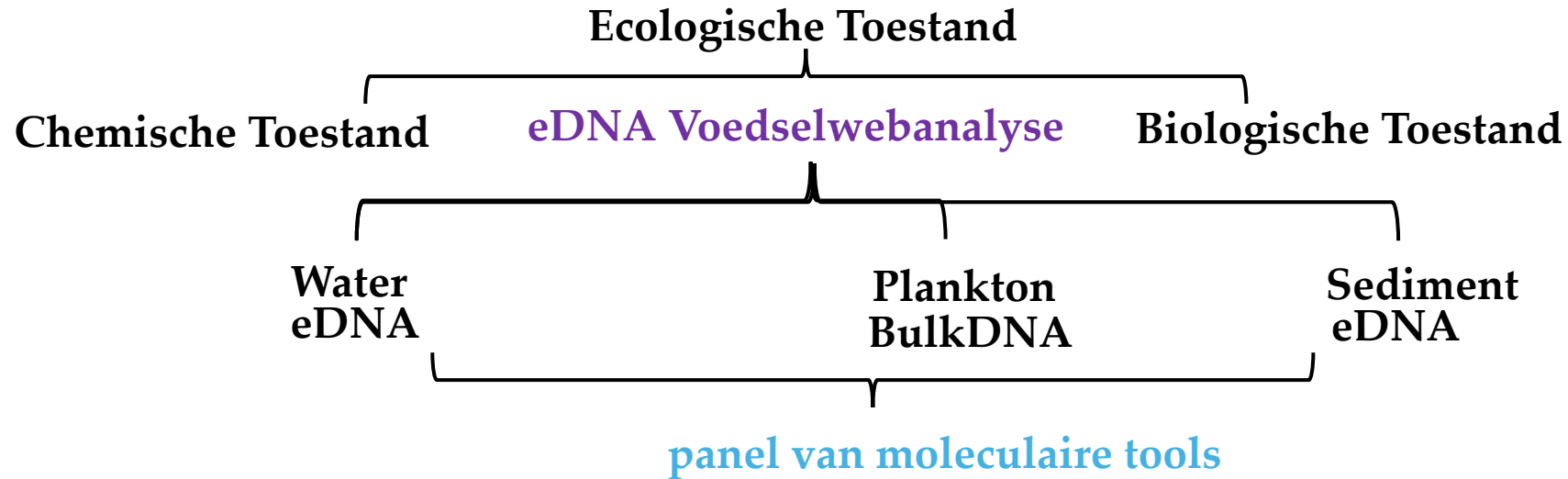
Toekomst VIS-ie (structureel)



Misschien is het scheiden van expertise niet nodig?



Toekomst VIS-ie (structureel)



Kost efficient
(minder werk) en maar
3 type sampling nodig



Minder geld per waterlichaam en niet
invasief > meer monitoren

Fytoplankton

Macrofauna

Visgemeenschappen

Schimmels? Bacterien? Zooplankton?

Vogels (uitwerpselen)?

Bedankt voor de aandacht
Zijn er nog vragen?

