

# Op jacht naar DNA

## Effectief zoeken naar grote modderkruipers

Afgelopen jaar verscheen er in Visionair een artikel over Environmental DNA (afgekort e-DNA), een nieuwe inventarisatiemethode gebaseerd op de detectie van DNA dat in het water levende soorten daarin achterlaten. Inmiddels is er veel ervaring opgedaan met de methode voor een breed scala aan soorten.

**Tekst** Jelger Herder, Ravon  
Jan Kranenburg, Ravon  
Arthur de Bruin, Ravon  
Alice Valentini, SPYBEN

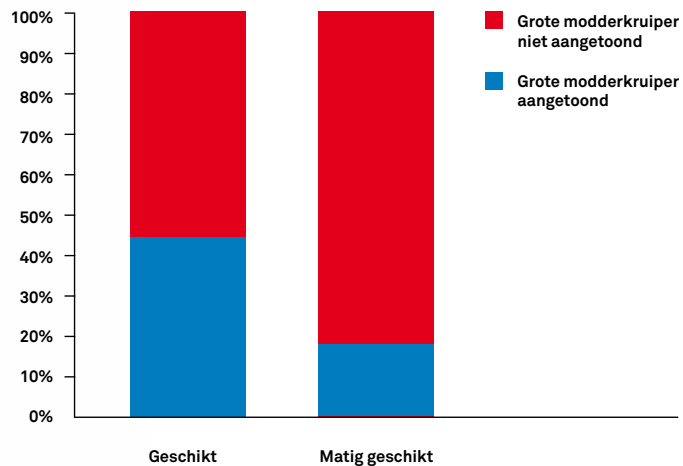
**Fotografie** Sportvisserij Nederland en Robert de Wilt

Grote modderkruipers zijn het effectiefst op te sporen met DNA.



Het gebruik van environmental DNA voor het in kaart brengen van waterdieren is relatief nieuw. In 2011 is de methode in Nederland voor het eerst getest in een pilotstudie naar de toepasbaarheid van e-DNA voor het opsporen van de grote modderkruiper (Misgurnus fossilis). De grote modderkruiper is één van de moeilijkst te inventariseren vissen in Nederland. De soort komt voor in ondiepe, vaak verlandende wateren en vlucht bij gevaar de bodem of dichte vegetatie in. De trefkans bij een eenmalige bemonstering met traditionele onderzoeksmethoden zoals het schepnet, elektrisch vissen of fuiken, is relatief laag, zeker als de soort in lage dichtheden voorkomt. Uit de pilotstudie bleek e-DNA een hoge trefkans te geven. Op zeven van de acht bemonsterde locaties werd op basis van e-DNA de aanwezigheid van de grote modderkruiper vastgesteld wat neerkomt op een trefkans van 87,5%. Hiernaast neemt het nemen van een e-DNA monster minder de tijd in beslag dan het uitvoeren van een visbemonstering met conventionele methoden, dit kan aanzienlijk in de bemonsteringskosten schelen. Op basis van deze resultaten is besloten de methode ook in te

passen in andere projecten. Vrij in het water opgelost DNA breekt binnen twee a drie weken af. Het aantonen van e-DNA van een soort in



**Grafiek 1:** deze grafiek laat het verschil zien tussen de als geschikt (n= 23) en matig geschikt (n=17) voor grote modderkruiper beoordeelde locaties. Op de als "geschikt" beoordeelde locaties werd in 42% van de gevallen ook werkelijk grote modderkruiper aangetoond terwijl op de als "matig geschikt" beoordeelde locaties slechts in 17% van de gevallen grote modderkruiper werd aangetoond met eDNA.

stilstaand water toont daardoor dus de recente aanwezigheid van de soort aan. Hierdoor is de methode uitermate geschikt voor betrouwbare en snelle inventarisaties van gebieden op het voorkomen van een soort. In 2012 zijn er in projecten voor waterschappen en adviesbureaus meer dan honderd locaties met e-DNA bemonsterd voor de grote modderkruiper.

### Soortkennis cruciaal

De e-DNA methode maakt gebruik van het oplossende vermogen van water waardoor DNA zich over het water verspreidt. In de kleine stilstaande, veelal dichtbegroeide, wateren waar de grote modderkruiper voorkomt verspreidt het DNA zich minder sterk dan in stromende wateren of wateren waarin veel golfslag aanwezig is. Het is daarom van belang dat binnen een watersysteem de e-DNA monsters in het leefgebied van de grote modderkruiper worden verzameld. Kennis over het voorkeurs habitat en gedrag van de soort is hierbij van groot belang.

Bij een project in opdracht van Waterschap Groot Salland zijn vier gebieden (Zuiderzeepolder, Mandjeswaard, polder Mastenbroek en het gebied rond Nieuwleusen)

onderzocht op de aanwezigheid van grote modderkruiper met e-DNA. In deze gebieden was de soort nog nooit aangetroffen maar werd er wel vermoed gezien de aanwezigheid van geschikt habitat en de aanwezigheid van grote modderkruiper in de nabijheid van deze gebieden. Binnen de vier gebieden is de aanwezigheid van grote modderkruiper binnen 40 kilometerhokken onderzocht waarbij de sloten met het meest optimale habitat geselecteerd werden om te bemonsteren. Niet binnen elk kilometerhok was optimaal habitat aanwezig. Er is daarom bij elk e-DNA monster ook een habitatopname gemaakt waarbij de locatie als matig geschikt of geschikt werd beoordeeld. De uitkomsten van de e-DNA analyse waren verrassend, in maar liefst in 13 van de 40 kilometerhokken (>30%) werd DNA van de grote modderkruiper aangetroffen en daarmee werd de aanwezigheid van de soort aangetoond. Daarnaast kwam naar voren dat in de habitats die van te voren als geschikt waren beoordeeld tweënhalf keer vaker grote modderkruiper werd vastgesteld dan in de matig geschikt geachte habitats (zie grafiek 1). Dit onderstreept dat het habitat en de soortkennis van groot belang zijn bij het kiezen van monsterlocaties. Bij het random nemen van monsters ➤



In dergelijke milieus zijn andere onderzoeksmethodes onbruikbaar.

in een poldergebied zal de grote modderkruiper veel minder snel worden aangetroffen.

### Trefkans

Sinds 2011 zijn er door RAVON ruim honderd e-DNA monsters genomen in verschillende delen van Nederland en in verschillende watertypen. Op basis hiervan is de trefkans met e-DNA nader bekeken. Het overgrote deel van de monsters betrof locaties waarvan vooraf niet bekend was of de soort er voorkwam. Van 24 monsters was echter wel van te voren bekend dat de grote modderkruiper in de sloot of poel aanwezig was. Dit betreft monsters waar gelijktijdig met traditionele methoden bevestigd is en monsters uit een nog lopend onderzoek naar de effectiviteit van e-DNA over het seizoen. In dit onderzoek worden drie wateren (van Waterschap Rijn & IJssel en Waterschap Vallei & Veluwe) intensief gevolgd gedurende het jaar om de effectiviteit van e-DNA over het seizoen te bepalen. Op twee van deze locaties zijn ook grote modderkruipers gevangen in het kader van telemetrieonderzoek waardoor hun aanwezigheid en verdeling over de sloten gevolgd kan worden. In 75% van de 24 monsters waarvoor voorkennis aanwezig was, werd grote modderkruiper aangetoond op basis van e-DNA. Uit de voorlopige

analyse blijkt de trefkans te verschillen tussen watertypen en per seizoen.

De 24 monsters zijn onder te verdelen in poelen (n=6) en sloten (n=18). In alle poelen werd grote modderkruiper vastgesteld met e-DNA. Deze hoge score kan verklaard worden doordat de soort doorgaans niet uit poelen kan migreren. In sloten werd grote modderkruiper in een derde van de gevallen niet aangetoond. Op basis van het telemetrieonderzoek werd geconstateerd dat de dieren ten tijde van de bemonstering ver(der) verwijderd waren van de monsterpunten. Dit was met name in de voortplantingsperiode het geval. Hieruit blijkt dat het niet alleen belangrijk is om in de juiste habitats monsters te nemen maar dat het ook belangrijk is dit in het juiste seizoen te doen. Dit geldt uiteraard ook voor het inventariseren van grote modderkruiper met traditionele methoden.

### Bepalende factoren

Het al dan niet aantonen van de soort lijkt dus deels te worden bepaald door de afstand van het monsterpunt ten opzichte van de werkelijke locatie van de dieren. De grote modderkruiper is echter ook in één geval zeker gemist met e-DNA. Op de plek waar vlak daarvoor een

grote modderkruiper was gevangen scoorde het e-DNA monster negatief. Mogelijk factoren die van invloed kunnen zijn op het DNA in het water zijn onder andere de pH, temperatuur, conductiviteit, saliniteit, aanwezige DNA-afbrekende micro-organismen en het volume van het water en de daarmee samenhangende verdunning. De precieze invloed van deze factoren is onduidelijk en moeilijk te onderzoeken.

### Effectieve methode

De trefkans van een grote modderkruiper met behulp van e-DNA is hoog, meestal hoger dan 75%. Trefkansonderzoek met conventionele methoden zoals het schepnet en elektrisch schepnet is weinig uitgevoerd. In de Zouweboezem en het Rijswijkse veld werd de soort in het kader van een methodologisch onderzoek jaarrond bemonsterd met het schepnet, het elektrisch schepnet en amfibiezuigen. De effectiviteit van amfibiezuigen was gering. De effectiviteit van het schepnet en het elektrisch schepnet was vergelijkbaar. Voor het schepnet werd een trefkans van 61% en voor het elektrisch schepnet 69% vastgesteld bij het bevissen van 50 meter water (15 minuten met twee personen). Hierbij dient echter wel opgemerkt te worden dat de onderzoeksgebieden een zeer hoge



Ook de knoflookpad en de kamsalamander kunnen via DNA worden aangetroffen.



dichtheid aan grote modderkruipers herbergen. In gebieden met lage dichtheid ligt de trefkans met de traditionele methodes naar verwachting aanzienlijk lager. Bij een onderzoek in de omgeving van Zwolle (in opdracht van waterschap Groot Salland) werden twaalf wateren onderzocht met e-DNA waarvan in acht wateren ook met twee personen een elektrobevissing is uitgevoerd. Tijdens de elektro-bevissing werden er geen grote modderkruipers aangetoond terwijl met behulp van e-DNA de soort op twee locaties werd aangetoond.

### Grote toekomst

Environmental DNA lijkt een grote toekomst tegemoet te gaan bij de monitoring van in water voorkomende soorten. Environmental DNA biedt nu al goede mogelijkheden voor onderzoek naar moeilijk te inventariseren soorten als de grote modderkruiper. Het is hierbij belangrijk om nauwkeurig en zorgvuldig te werk te gaan en de methode (zowel het veldwerk als het labwerk) en de gebruikte primers goed in de praktijk te testen waarbij ook aandacht is voor de wijze (seizoen, watertype, habitat) waarop de e-DNA monsters genomen worden. Op deze manier wordt informatie verkregen over de kracht en de

betrouwbaarheid van de methode voor verschillende soorten. Momenteel zijn er voor ongeveer vijftien soorten die in het Nederlandse zoetwater voorkomen primers ontwikkeld. Naar verwachting zullen op korte termijn voor nog meer soorten primers ontwikkeld worden. Daarnaast wordt veel verwacht van de multi-soortbenadering waarbij vanuit een watermonster een soortenlijst van een bepaalde groep gecreëerd wordt. Deze benadering is complexer en vraagt om speciale software en super computers om de monsters te analyseren, dit vanwege het grote aantal DNA-codes – tot wel zes miljard – die tijdens een bemonstering worden aangetroffen. RAVON heeft in samenwerking met

het bedrijf SPYGEN het afgelopen jaar de multi-soortbenadering op kleine schaal getest in wateren van Waterschap Rijn en IJssel. Op moment van schrijven zijn de monsters nog niet compleet geanalyseerd maar zijn er toch reeds negentien soorten gevonden met e-DNA tegenover twintig vastgestelde soorten bij een gelijktijdige elektrovisbemonstering. De methode heeft daarmee een grote potentie als instrument om de soort samenstelling van een waterlichaam snel, betrouwbaar en kostenefficiënt te bepalen. Het is de wens om de multi-soortbenadering voor vissen in 2013 verder te testen in samenwerking met de STOWA en enkele waterschappen. **V**

### Niet alleen vissen

De ontwikkelingen op het gebied van environmental DNA volgen elkaar in rap tempo op. De methode is reeds voor een groot aantal soorten succesvol toepasbaar. Zo is de bedreigde knoflookpad met e-DNA herontdekt op 6 van de 23 onderzochte locaties waarvan gedacht werd dat de soort was uitgestorven. Daarnaast is e-DNA succesvol toegepast in onderzoek naar de kamsalamander en Amerikaanse bulkikker. Ook zijn er in samenwerking met De Vlinderstichting en Zoogdierverseniging pilotstudies uitgevoerd naar de toepasbaarheid voor libellen en kleine zoogdieren.

Surf voor meer informatie over de methode, soorten waarvoor de methode reeds toepasbaar is en publicaties van onderzoeken, naar [www.environmental-dna.nl](http://www.environmental-dna.nl).

De geraadpleegde literatuur is terug te vinden op [www.invisionair.nl](http://www.invisionair.nl)