

iStockphoto



## AUTEURS



Marloes  
van der Kamp  
(Witteveen+Bos)



Marco Beers  
(Waterschap  
Brabantse Delta)



Michiel Hootsmans & Bart Wullings  
(KWR Watercycle Research Institute)



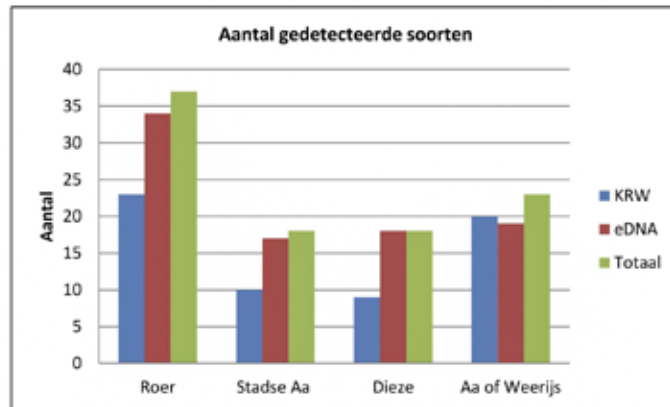
## MONITORING VAN VISPOPULATIES MET EDNA: DE NL-VISPOPULATIESCAN ALS KANSRIJKE BENADERING

**Vanuit de Kaderrichtlijn Water (KRW) zijn waterbeheerders verplicht om periodieke monitoring van de visstand uit te voeren. De huidige monitoringspraktijk kent echter beperkingen. De NL-Vispopulatiescan, op basis van eDNA, vormt in potentie een goed alternatief voor het onderdeel soortensamenstelling in de huidige KRW-monitoring.**

Waterbeheerders zijn verplicht om de visstand te monitoren. Traditionele vis inventarisatiemethoden hebben beperkingen voor het opsporen van zeldzame en moeilijk vangbare soorten. Bovendien zijn deze technieken arbeidsintensief en daarmee kostbaar en verstoren ze de vissen en het leefgebied.

Nieuwe methoden die zich richten op de aanwezigheid van eDNA (sporen) zijn een diervriendelijker, beter te standaardiseren, mogelijk ook betrouwbaarder en op termijn goedkoper alternatief voor de bepaling van de soortensamenstelling van een vispopulatie.

In 2017 hebben KWR, Waterschap Limburg, Waterschap Aa en Maas, Waterschap Brabantse Delta, ATKB, BaseClear en Witteveen+Bos een nieuwe eDNA metabarcoding methode ontwikkeld, de NL-Vispopulatiescan. In editie 2 van Water Matters 2017 zijn Wullings et al. (2017) ingegaan op de ontwikkelde methode en de laboratoriumvalidatie van de NL-Vispopulatiescan aan de hand van een mock community. In dit vervolgartikel worden de uitkomsten van de NL-Vispopulatiescan in de praktijk vergeleken met de resultaten van traditionele visstandbemonsteringen in de Roer, Dieze, Stadse Aa en Aa of Weerijs. Een belangrijke kanttekening bij deze vergelijking is dat beide methoden een mogelijke bias hebben, o.a. door de trefkans van de methode of door toevalsprocessen als gevolg van een beperkte steekproef.



Figuur 1 Aantal gedetecteerde soorten per onderzocht waterlichaam

### Onderzoekopzet

In de nazomer van 2017 hebben in de Roer, Stadse Aa, Dieze, en Aa of Weerijis op respectievelijk 7, 2, 2, en 5 locaties gelijktijdig eDNA monsternames voor metabarcoding analyse en traditionele visstandsbemonsteringen plaatsgevonden. Op één locatie in de Dieze werd met de KRW bevissing geen vis gevangen. Op twee locaties in de Aa of Weerijis kon te weinig DNA worden geëxtraheerd voor de analyse. Deze locaties zijn daarom niet meegenomen in deze studie. De beschikbare resultaten zijn samengevoegd op waterlichaamniveau en met elkaar vergeleken. Zowel de visstand- als eDNA bemonstering heeft langs een traject van 250 m plaatsgevonden. Voor de eDNA analyse is op elk traject één monster genomen bestaande uit 10-20 mengmonsters. In de analyses is voor elk monster een blanco monster meegenomen. De KRW-visbemonsteringen zijn uitgevoerd conform de richtlijnen in het Handboek Hydrobiologie (Bijkerk, 2014).

#### eDNA en metabarcoding methode

De eDNA methodiek van de NL-Vispopulatiescan is gebaseerd op het identificeren van DNA-sporen die levende vissen achterlaten in het milieu. Het betreft sporen van uitwerpselen, slijm, huid of schubben. Met de metabarcoding analyse worden de aanwezige vissoorten geïdentificeerd op basis van hun unieke DNA-code. Hiervoor is een kort mitochondriaal DNA-fragment van ongeveer 110 bouwstenen geselecteerd. Dit DNA-fragment wordt uit het bemonsterde eDNA selectief vermenigvuldigd (100.000 keer), waarna het met metabarcoding kan worden geanalyseerd. Door de uitkomsten van de vermenigvuldigde fragmenten te matchen met een database kunnen de aangetroffen vissoorten worden bepaald.

### Resultaten

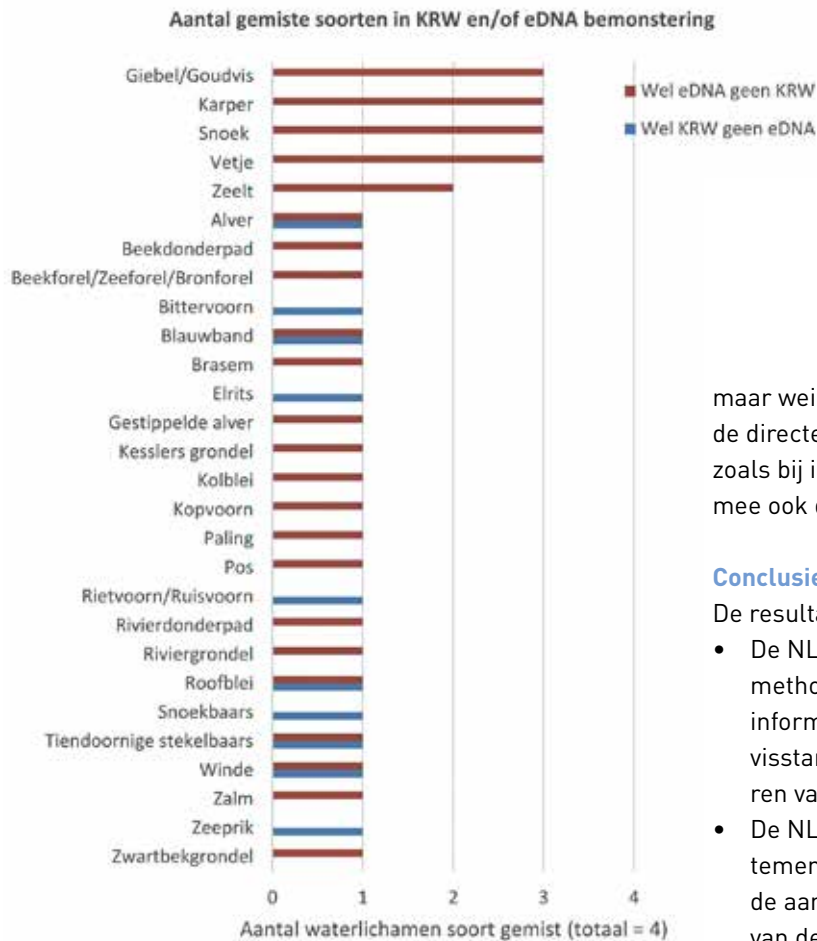
De resultaten van de samenvoeging laten zien dat met de NL-Vispopulatiescan in de Roer, Stadse Aa en Dieze meer soorten werden gedetecteerd dan met traditionele vangstmethode (figuur 1). In de Aa of Weerijis is tijdens de KRW-bemonstering in totaal één soort meer aangetroffen dan met de eDNA bemonstering.

De beide methoden vertonen veel overeenkomsten in de aangetroffen soorten. Circa 60% procent van de soorten wordt in beide methoden aangetroffen. Er zijn echter ook verschillen. Zo zijn in de Aa of Weerijis alleen met eDNA de soorten Paling, Zwartbekgrondel en Beekdonderpad aangetroffen, en alleen in de KRW-bemonstering werden daar Snoekbaars, Roofblei, Blauwband en Winde gevangen. Het betreft soorten die in zeer lage dichtheden voorkomen, waardoor trefkans/toeval een rol speelt.

De soorten die met de NL-Vispopulatiescan in de Roer, Stadse Aa, Dieze en Aa of Weerijis aanvullend zijn aangetroffen passen binnen de onderzochte systemen.

De soorten Karper, Snoek, Giebel/Goudvis en Vetje zijn in drie van de vier waterlichamen gemist bij de bevissing (figuur 2). Zeelt werd tweemaal gemist. In al deze gevallen betrof het een laag aandeel (<10%) in het totaal aantal eDNA gemeten sequenties. In onderzoek van Herder & Kranenburg (2016) met eDNA metabarcoding werden Karper, Giebel/Goudvis en Vetje eveneens vaker gemist in de KRW-visbemonstering ten opzichte van de eDNA inventarisatie. Een mogelijke verklaring voor het relatief vaak missen van Karper en Giebel/Goudvis ligt in het feit dat dit veelal grote volwassen vissen betreft die regelmatig voorkomen in lagere dichtheden en die goed kunnen vluchten. Vetje en Zeelt zijn plantminnende

NL-vispopulatie-  
scan  
12



Figuur 2 Per soort het aantal waterlichamen (maximaal 4) waarin de soort wel met eDNA is aangetoond, maar niet bij de KRW visstandbemonstering is gevangen en vice versa. NB: de Zeeprik zat niet in de DNA database en kon dus ook niet met eDNA worden gedetecteerd

soorten die bij hoge vegetatiedichtheid moeilijk te vangen zijn als ze in lage dichtheden voorkomen. Voor de overige 'gemiste' soorten gaat het slechts om één waterlichaam en toeval kan daarbij ook een rol gespeeld hebben, zeker als soorten in lage dichtheden voorkomen.

Met de eDNA bemonstering zijn ook één of soms enkele soorten gemist die wel met de KRW-bevising zijn gevangen (Figuur 2). Meestal betrof het soorten die in relatief lage dichtheden zijn aangetroffen (<0.2 kg/ha). In de Aa of Weerijts betrof het ook een relatief grote populatie Winde (ca. 35 kg/ha) en Snoekbaars ca. 10 kg/ha). Winde en Snoekbaars maakten circa 20 en 12% van de biomassa van de aangetroffen populaties (op trajectniveau) uit. Vooral bij Snoekbaars ging het om grote exemplaren, waardoor de dichtheid in aantallen laag is.

In het algemeen kan worden gesteld dat ondanks de hoge detectiegevoeligheid, soorten toch ook met een eDNA analyse kunnen worden gemist. Bij (zeer) lage visdichtheden is bijvoorbeeld naar verwachting ook

maar weinig eDNA aanwezig, en dan voornamelijk in de directe omgeving van de betreffende vissen. Net zoals bij iedere bemonsteringsmethode speelt daarmee ook de trefkans een belangrijke rol.

### Conclusies

De resultaten op waterlichaamniveau laten zien dat:

- De NL-Vispopulatiescan een geavanceerde methodiek is waarmee relatief snel en effectief informatie over de soortensamenstelling van de visstand in zowel stilstaande als stromende wateren valt te bepalen.
- De NL-Vispopulatiescan in de onderzochte systemen een belangrijk aanvullend beeld geeft van de aanwezige diversiteit aan soorten ten opzichte van de KRW visstandbemonstering. Er worden met deze aanpak in drie van de vier onderzochte systemen meer en aanvullende soorten gedetecteerd die ook verwacht mogen worden in de onderzochte systemen. De methode lijkt daarmee betrouwbaarder. Deze resultaten zijn in lijn met eerdere bevindingen (Herder & Kranenbarg, 2016). Deze toename in aantal gedetecteerde soorten is waarschijnlijk het gevolg van de gevoeligheid van de metabarcoding methode. Ook heel kleine hoeveelheden eDNA worden gedetecteerd. Door die hoge gevoeligheid bestaat er tevens een vergrote kans op vals positieve waarnemingen. In dit onderzoek is dit uitgesloten door gebruik van een blanco.
- De gebruikte eDNA extractiemethode (precipitatie in het veld met isopropanol) blijkt in sommige wateren gevoelig voor verstoringen. De oorzaak hiervan is nog niet achterhaald. Momenteel wordt gewerkt aan een tweede extractiemethode op basis van labfiltratie die bij nieuwe monsters wel leidde tot een succesvolle extractie. Deze methode verdient nog verdere optimalisatie.
- Ook bij de NL-Vispopulatiescan kunnen soorten worden gemist. Bij (zeer) lage visdichtheden is

naar verwachting ook maar weinig eDNA aanwezig, en dan voornamelijk in de directe omgeving van de betreffende vissen. En net zoals bij iedere bemonsteringsmethode speelt daarmee de trefkans een belangrijke rol. Aanvullend onderzoek is nodig om te bepalen of bij een hogere bemonsteringsinspanning te betrouwbaarheid van de methode toeneemt.

### Toekomst

De inzet van eDNA voor de monitoring van vispopulaties vormt in potentie een goed alternatief voor het bepalen van de soortensamenstelling. Om van eDNA echter een volwaardig alternatief voor de KRW-monitoring te maken zijn een aantal ontwikkelingsrichtingen denkbaar:

1. Vergelijking van meerdere in ontwikkeling zijnde eDNA metabarcoding methoden om te komen tot een landelijke of Europese standaard voor toepassing. Hieronder valt o.a. de standaardisatie en/of harmonisatie van monsternamen, extractie en bio-informatica. Landelijke/Europese afstemming en het doen van ringtesten en opname in Handboek Hydrobiologie lijken hierbij op zijn plaats. Mogelijk kan ook worden gedacht aan NEN-certificering.
2. Aanpassing van de KRW-maatlatten voor de beoordeling van de visstand op de mogelijkheden van eDNA. De huidige KRW-beoordeling vindt plaats op basis van de soortensamenstelling en verhoudingen tussen soorten in aantallen en biomassa's. Een verkennende analyse laat zien dat de voor de huidige KRW-monitoring benodigde informatie over aantallen en/of biomassa's (nog) niet voldoende betrouwbaar met eDNA kan worden bepaald. Vanwege de meerwaarde van de techniek en de kosteneffectiviteit wordt er toch al gesproken over een eventuele aanpassing voor de beoordeling. Afhankelijk van het doel kunnen de beide methoden parallel aan elkaar ingezet worden.

Financiering voor dit onderzoek kwam mede uit de Toeslag voor Topconsortia voor Kennis en Innovatie (TKI's) van het ministerie van Economische Zaken (Topsector Water).

Marloes van der Kamp  
(Witteveen+Bos)

Marco Beers  
(Waterschap Brabantse Delta)

Michiel Hootsmans & Bart Wullings  
(KWR Watercycle Research Institute)

### Literatuur

J.E. Herder & J. Kranenbarg, 2016. eDNA metabarcoding vissen – Verkennend onderzoek naar de mogelijke toepassing van eDNA voor de KRW vismonitoring, RAVON/STOWA rapport 2016-19.

B. Wullings, D. van der Pauw Kraan, E. Kardinaal, M. Hootsmans, 2017. Characterising fish populations quickly and efficiently using eDNA metabarcoding. Water Matters 2017-2.

R. Bijkerk (red.), 2014. Handboek Hydrobiologie. Biologisch onderzoek voor de ecologische beoordeling van Nederlandse zoete en brakke oppervlaktewateren. Deels aangepaste versie. Stowa rapport 2014-02.

NL-vispopulatie-  
scan

### SAMENVATTING

Waterbeheerders zijn verplicht om de visstand te monitoren. De huidige praktijk kent echter beperkingen. Nieuwe methoden op basis van eDNA lijken een goed alternatief voor de bepaling van de soortensamenstelling van een vispopulatie. In 2017 hebben KWR, Waterschap Limburg, Waterschap Aa en Maas, Waterschap Brabantse Delta, ATKB, BaseClear en Witteveen+Bos een nieuwe eDNA metabarcoding techniek ontwikkeld, de NL-Vispopulatiescan. De NL-Vispopulatiescan werd toegepast in de Roer, Stadse Aa, Dieze en Aa of Weerijds. De resultaten werden vergeleken met de resultaten van traditionele visstandbemonsteringen en lieten zien dat de NL-Vispopulatiescan in de onderzochte systemen een goed beeld geeft van de aanwezige diversiteit aan soorten. Met de NL-Vispopulatiescan worden in vrijwel alle gevallen meer soorten gedetecteerd dan met traditionele vangstmethodieken. De soorten die met de NL-Vispopulatiescan aanvullend zijn aangetroffen, kunnen in de onderzochte watersystemen verwacht worden. De NL-Vispopulatiescan vormt in potentie een goed alternatief voor het onderdeel soortensamenstelling in de huidige KRW-monitoring.