



Voorstel voor monitoring van zoöplankton in de Noordzee

Monitoringplan zoöplankton MONS ID14

Auteur(s): Robbert G. Jak, Lodewijk van Walraven, Dick van Oevelen

Wageningen University &
Research rapport C014/22

Voorstel voor monitoring van zoöplankton in de Noordzee

Monitoringplan zoöplankton MONS ID14

Auteur(s): Robbert G. Jak¹, Lodewijk van Walraven², Dick van Oevelen²

¹Wageningen Marine Research (WMR)

²Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee (NIOZ)

Dit rapport is het eindrapport van de opdracht 'Monitoringplan MONS ID14 Zoöplankton' (kenmerk 31173144)

Wageningen Marine Research
Den Helder, 21 maart 2022

VERTROUWELIJK Nee

Wageningen Marine Research rapport C014/22

Opdrachtgever: Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat
T.a.v.: Guido Hommel
Postbus 20901
2500 EX Den Haag
Guido.hommel@minienw.nl

Dit rapport is gratis te downloaden van <https://doi.org/10.18174/566824>
Wageningen Marine Research verstrekt *geen* gedrukte exemplaren van rapporten.

Wageningen Marine Research is ISO 9001:2015 gecertificeerd.

© Wageningen Marine Research

Wageningen Marine Research, instituut
binnen de rechtspersoon Stichting
Wageningen Research, hierbij
vertegenwoordigd door
Drs.ir. M.T. van Manen, directeur
bedrijfsvoering

KvK nr. 09098104,
WMR BTW nr. NL 8113.83.696.B16.
Code BIC/SWIFT address: RABONL2U
IBAN code: NL 73 RABO 0373599285

Wageningen Marine Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor
gevolgschade, noch voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de
resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van Wageningen
Marine Research. Opdrachtgever vrijwaart Wageningen Marine Research van
aanspraken van derden in verband met deze toepassing.
Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag weergegeven en/of
gepubliceerd worden, gefotokopieerd of op enige andere manier gebruikt worden
zonder schriftelijke toestemming van de uitgever of auteur.

A_4_3_1 V31 (2021)

Inhoud

Samenvatting	6
Summary	7
1 Inleiding	8
1.1 Achtergrond MONS	8
1.2 Wat is zoöplankton?	8
1.3 Zoöplankton van de Noordzee	9
1.3.1 Structuur en functie	9
1.3.2 Kennisvragen en kennisleemtes	9
2 Kennisvraag	11
2.1 Kennisvraag	11
2.2 Doelstelling	11
2.3 Aanpak	11
2.3.1 Inventarisatie bestaande/afgeronde monitoring	11
2.3.2 Afstemming andere MONS onderdelen	12
3 Monitoring van zoöplankton	13
3.1 Doelen	13
3.1.1 Noordzeeakkoord	13
3.1.2 Doelen en vragen zoöplankton	13
3.2 Doelen vanuit beleidskaders	14
3.2.1 OSPAR	14
3.2.2 Kaderrichtlijn Mariene Strategie	15
3.2.3 Beheersdoelen Natura 2000	16
3.2.4 MBA/CPR indicatoren	16
3.2.5 HELCOM	16
3.3 Zoöplankton monitoring NCP	17
3.3.1 Overige data	19
3.4 Zoöplankton monitoring internationale Noordzee	20
3.4.1 België:	20
3.4.2 Denemarken:	22
3.4.3 Duitsland:	23
3.4.4 Verenigd Koninkrijk	25
3.5 Conventionele methodieken	27
3.5.1 Monsternamen	27
3.5.2 Conservering	28
3.5.3 Conventionele analyse	28
3.6 Innovatieve technieken	29
3.6.1 In-situ imaging	29
3.6.2 Beeldanalyse monsters	31
3.6.3 DNA	32
3.6.4 Akoestiek	33
3.7 Evaluatie methodieken	34
3.7.1 Methodiek netmonsters	34
3.7.2 Methodiek in situ imaging	34
4 Opzet voor een meetplan	37

4.1	Strategie voor de ontwikkeling van een meetplan	37
4.1.1	Analyse literatuur en informatie	37
4.1.2	Selectie monsterlocaties	37
4.2	Eenjarige pilot	40
4.2.1	Analyse van bestaande data	40
4.2.2	Desk studie naar relevante indicatoren OSPAR/KRM	40
4.2.3	Testvaartochten Noordzee	40
4.2.4	Pilot hoogfrequente monitoring vast punt	44
4.3	4 jarige monitoring	45
4.4	Kostenindicatie	46
4.4.1	1-jarig plan	46
4.4.2	Voortzetting gedurende 4 jaar	47
5	Conclusies en aanbevelingen	48
6	Kwaliteitsborging	49
	Literatuur	50
	Verantwoording	53

Samenvatting

In dit rapport is een concept-plan voor monitoring en ondersteunend onderzoek van het zoöplankton in het Nederlandse deel van de Noordzee opgesteld.

Doel is om een plan voor monitoring van zoöplankton op te stellen dat op termijn antwoord kan geven op de volgende vragen:

Wat is de samenstelling en verspreiding van zoöplankton in ruimte en tijd?

En daarnaast: wat zijn de trends (jaren en tientallen jaren) (in samenstelling en verspreiding van zoöplankton in ruimte en tijd) en wat zijn de effecten van nieuw gebruik?

De resultaten uit de monitoring dienen gebruikt te kunnen worden om de veranderingen in zoöplankton in de Noordzee te kunnen begrijpen en te voorspellen, zodat gevalideerde scenariostudies kunnen worden uitgevoerd. Dit alles ten einde de ecologische draagkracht en de effecten van individueel en cumulatief gebruik daarop te kunnen beoordelen.

Het monitoringplan bestaat uit twee fasen, een inventariserende 1-jarige studie, en een 4-jarige monitoring om te testen of met de resultaten de gestelde vragen kunnen worden beantwoord.

Allereerst is een overzicht opgesteld van beschikbare kennis over de beleidsmatige kaders en doelen voor de monitoring van zoöplankton, is een overzicht gegeven van monitoringactiviteiten in Nederland en andere Noordzeelanden en is een beschrijving gemaakt van conventionele en innovatieve technieken die worden ingezet bij zoöplankton monitoring.

Internationaal (b.v. OSPAR) is de focus op het moment vooral gericht op indicatoren die aangeven wat de rol van zoöplankton is in de voedselketen. De dichtheid en grootte-verdeling van het mesozoöplankton (0,2 – 20 mm) wordt gebruikt als indicator voor de voedselbeschikbaarheid van vis. Daarnaast is ook de biodiversiteit van belang. Deze indicatoren kunnen op verschillende manieren worden gemeten. Naast klassieke methoden, waarbij netmonsters onder de microscoop worden geanalyseerd, worden steeds vaker meer innovatieve methoden ingezet.

Fase 1: Het plan voor de eerste fase betreft een 1-jarig onderzoek gericht op het kunnen vaststellen wat de benodigde resolutie is voor het vaststellen van trends in ruimte en tijd. Aanvullend wordt deze fase gebruikt om de inzetbaarheid van verschillende (innovatieve) technieken in de monitoring van zoöplankton te onderzoeken. In het plan is opgenomen welke klassieke en innovatieve technieken ingezet kunnen worden en hoe deze kunnen bijdragen aan beantwoording van de hierboven gestelde kennisvragen. Het gaat om het verzamelen van zoöplankton met netmonsters en de analyse daarvan zoals middels microscopie, beeldanalyse of DNA metabarcoding en het toepassen van in situ technieken, zoals het slepen van een videoplankton recorder, akoestische metingen en de inzet van scanners. Er zijn hiervoor drie vaartochten voorgesteld aangevuld met metingen op vaste meetstations.

Fase 2: Het plan voor fase 2 is nu nog omgeven met onzekerheden, omdat het wordt uitgevoerd op basis van de bevindingen van fase 1. In dit project kan alleen een voorlopig plan worden opgesteld voor een 4-jarig programma en worden begroot op basis van het aantal meetlocaties en tijdstippen. Dit aantal zal geringer zijn t.o.v. de monitoring in fase 1. Ook is bij aanvang van fase 2 nog onduidelijk welke technieken uiteindelijk geselecteerd zullen worden, omdat ook hiervoor een specificatie dient te worden gemaakt.

Summary

In this report, a draft plan for monitoring and supporting research of zooplankton in the Dutch part of the North Sea has been drawn up.

The aim is to draw up a zooplankton monitoring plan that can provide answers to the following questions in due course:

What is the composition and distribution of zooplankton in space and time?

And also: what are the trends (years and decades) (in composition and distribution of zooplankton in space and time) and what are the effects of new human use?

The results from the monitoring should enable to understand and predict changes in zooplankton in the North Sea, so that validated scenario studies can be performed. All this in order to be able to assess the ecological capacity and the effects of individual and cumulative use thereon.

The monitoring plan consists of two phases, a 1-year inventory study and a 4-year monitoring to test whether the results can be used to answer the questions.

First of all, an overview was drawn up of the available knowledge about the policy frameworks and goals for zooplankton monitoring, an overview was given of monitoring activities in the Netherlands and other North Sea countries and a description was made of conventional and innovative techniques that are used for zooplankton monitoring.

Internationally (e.g. OSPAR) the focus is currently mainly on indicators that indicate the role of zooplankton in the food chain. The density and size distribution of the mesozooplankton (0.2 – 20 mm) is used as an indicator for the food availability of fish. Biodiversity is also important. These indicators can be measured in different ways. In addition to classical methods, in which net samples are analyzed under the microscope, more and more innovative methods are being used.

Phase 1: The plan for the first phase concerns a 1-year study aimed at determining the required resolution for identifying trends in space and time and the feasibility of innovative techniques to be used in the monitoring of zooplankton. The plan includes which classical and innovative techniques can be used and how these can contribute to answering the knowledge questions. This concerns the collection of zooplankton with net samples and the analysis thereof, such as by means of microscopy, image analysis or DNA metabarcoding, and the application of in situ techniques, such as dragging a video plankton recorder, acoustic measurements and the use of scanners. Three sailing trips have been proposed for this and measurements at fixed measuring stations.

Phase 2: The plan for phase 2 is still surrounded by uncertainties, because it is being implemented on the basis of the findings of phase 1. In this project, only a preliminary plan can be drawn up for a 4-year program and budgeted on the basis of the number of measurement locations and times. These will be smaller compared to the monitoring of phase 1. It is also unclear at the start of phase 2 which techniques will ultimately be selected, so that a specification must also be made for this.

1 Inleiding

1.1 Achtergrond MONS

Het programma Monitoring-Onderzoek-Natuurversterking-Soortbescherming (MONS) heeft als doel de centrale vraag te beantwoorden of en hoe het veranderende gebruik van de Noordzee past binnen de ecologische draagkracht van de Noordzee (Asjes et al., 2021), zoals voortgekomen uit het Noordzeeakkoord (Overlegorgaan Fysische Leefomgeving, 2020).

In het Noordzeeakkoord is geconstateerd dat er door het veranderend gebruik een grote behoefte is aan een integraal en systematisch onderzoeks- en monitoringsprogramma. Hiervoor is het programma Monitoring-Onderzoek-Natuurherstel-Soortbescherming (MONS) opgesteld dat zich richt op het beschikbaar maken van informatie over diverse fysische, chemische en biologische basisparameters. Voor het beleid en beheer van de Noordzee is een goed inzicht nodig wat de consequenties van gebruik zijn op de draagkracht van het Noordzee ecosysteem en hoe dit doorwerkt in de bescherming van gebieden en diersoorten en de voedselvoorziening door visserij en maricultuur.

Hoewel het zoöplankton geen onderdeel vormt van de huidige monitoring op het Nederlands Continentaal Plat is het nodig om veranderingen van het zoöplankton in de Noordzee te kunnen volgen, begrijpen en zo mogelijk te voorspellen ten einde effecten van gebruik op de draagkracht van het Noordzee ecosysteem en de interacties en gevolgen in het voedselweb te kunnen beoordelen. In het MONS programma zijn een aantal kennisvragen geschetst voor nader onderzoek aan het zoöplankton en is een aanpak voorgesteld voor monitoring en onderzoek om deze kennisvragen te beantwoorden. In het onderhavige rapport wordt een aanpak voor monitoring verder uitgewerkt tot een uitvoerbaar plan, voor het benodigde aanvullende onderzoek dienen in een later stadium projecten te worden ontwikkeld. Dat onderzoek zou zich moeten richten op de samenhang in de structuur en processen in de pelagische voedselketen, teneinde bij te dragen aan een betere modellering van de voedselstromen en daarmee de draagkracht van het pelagisch systeem, zoals beschreven in het programma MONS.

Voorgesteld is om direct te starten met het opstellen en implementeren van monitoring van zoöplankton in het Nederlandse deel van de Noordzee, omdat hiervan op dit moment geen sprake is. Met dit doel is een onderhavig "no-regret" project opgezet om een plan te ontwikkelen voor de uitvoering van zoöplankton monitoring.

1.2 Wat is zoöplankton?

Het zoöplankton bestaat uit in water levende organismen die heterotroof zijn; dus hun energie niet uit fotosynthese halen maar uit consumptie van ander organisch materiaal. Het zoöplankton omvat zowel meercellige dieren als eencelligen zoals flagellaten en ciliaten. Zoöplankton beweegt zich mee met waterstromingen en kan niet "tegen de stroom in zwemmen", alhoewel het meeste zoöplankton zich wel degelijk actief kan verplaatsen. Dit onderscheidt het plankton van dieren als vissen en inktvissen, die tot het nekton worden gerekend, dat zich wel degelijk actief kan verplaatsen.

Zoöplankton wordt onderverdeeld in twee groepen:

- **holoplankton**; organismen die hun hele leven in het plankton doorbrengen, zoals copepoden en veel kwalachtigen, en ook eencelligen,
- **meroplankton**; organismen die slechts een deel van hun levenscyclus in het plankton doorbrengen. Het meroplankton bestaat hoofdzakelijk uit larven van vissen en ongewervelden zoals schelpdieren, wormen, zakpijpen en stekelhuidigen.

Er worden ook andere systemen gebruikt om zoöplankton te classificeren, wat de grote diversiteit tussen en binnen zoöplanktongemeenschappen weerspiegelt. Indelingen zijn gebaseerd op verschillen in grootte, functie (voedsel), fylogenetische, taxonomische en leefgebied.

Op basis van grootte wordt het zoöplankton onderverdeeld in verschillende klassen:

- Megazoöplankton, 20 tot 200 µm; veelal kwalachtigen
- Macrozoöplankton, 2 tot 20 µm; veelal kwalachtigen, krill, vislarven
- Mesozoöplankton, 0.2 tot 20 µm; copepoden en een breed scala aan andere groepen
- Microzoöplankton, 20 tot 200 µm; ciliaten, rotiferen en allerlei larvenstadia

Bovenstaande definities worden in dit rapport aangehouden.

1.3 Zoöplankton van de Noordzee

1.3.1 Structuur en functie

Het zoöplankton in de Noordzee bestaat vooral uit kleine copepoden (tot ca. 3 mm), kwalachtigen en larven van bodemdieren. Het functioneren van zoöplankton is van doorslaggevend belang voor de doorgifte van de primaire productie (fytoplankton) naar de hogere trofische niveaus in en boven de waterkolom (kleine vis, grotere vissoorten, zeezoogdieren, visetende vogels).

Binnen de groep van zoöplankton/kleine pelagische vis kunnen verschuivingen in samenstelling ontstaan en daarmee in de allocatie van biomassa. Te denken valt dat klimaatverandering zal leiden tot een toename van invasieve kwalachtigen (bv. Amerikaanse langlob ribkwal), en vervroeging van de piek van soorten copepoden. Als gevolg daarvan verandert dan het voedselaanbod voor kleine pelagische vis en hun predatoren. Indirect kunnen activiteiten als aquacultuur beslag leggen op de nutriëntenvoorraad en via veranderingen in het fytoplankton de voedselstromen in en de draagkracht van het pelagische ecosysteem beïnvloeden. De waterkolom van de Noordzee lijkt te vertroebelen (dwz lager doorzicht) en aanleg van grote windparken kan dit effect versterken. Dit verminderde doorzicht kan leiden tot een vermindering van zichtjagers in het zoöplankton. Oceaanverzuring lijkt te gaan leiden tot het kleiner worden van de dominante algensoorten, vanwege een afname van grotere calcificerende soorten, waardoor de belangrijkste voedselbron van het zoöplankton verandert.

1.3.2 Kennisvragen en kennisleemtes

Voor de huidige ecosysteemmodellen is onvoldoende empirische informatie voor handen om de rol van zoöplankton te kwantificeren en voorspellingen te doen van de consequenties van verschuivingen die op kunnen treden door veranderingen in het gebruik van de Noordzee, de nutriëntenuishouding en het klimaat. In het verleden zijn enige overzichten geproduceerd over het zoöplankton van het Nederlands deel van de Noordzee. Deze worden hieronder kort behandeld.

In 1992 zijn er in het kader van het project "Watersysteemverkenningen" ecologische profielen gemaakt van enkele belangrijke vertegenwoordigers van het zoöplankton van het NCP (Reichert & Daan, 1992); *Noctiluca scintillans*, *Pleurobrachia pileus*, *Aurelia aurita*, *Calanus finmarchicus*, *Temora longicornis*, *Eurytemora affinis* en *Oikopleura dioica*. Deze ecologische profielen geven een goed overzicht van de tot dan toe beschikbare gegevens over zoöplankton op het NCP. Een citaat uit het rapport:

"Uit het literatuuronderzoek komen voor het zoöplankton een aantal belangrijke lacunes naar voren:

- De Continuous Plankton Recorder (CPR) surveys leveren veel belangrijke gegevens over de verspreiding en lange-termijn trends van het zoöplankton in de Noordzee. Het Nederlands Continentaal Plat beslaat slechts 1 à 2 van de CPR-monsterkwadranten. De diepte waarop wordt gemonsterd is 10 meter, echte kuststreken vallen dus buiten het door de CPR bestreken gebied. De analyses van de CPR-gegevens betreffen de relatieve dichtheden

(aantallen per monster); kwantitatieve gegevens over dichtheden ontbreken vrijwel geheel. Voor zover bekend zijn er op de vangstefficiëntie van de planktonrecorder tot nog toe geen kalibraties uitgevoerd.

- **Er is veel onderzoek gepubliceerd over verspreiding op kleinere schaal en seizoensvariaties van het zoöplankton in verschillende delen van de Noordzee. Problemen bij het vergelijken van deze gegevens zijn de grote verscheidenheid aan monsterapparatuur (nettype, maaswijdte, verzamelmethode, enz.), alsmede de plaatsen en tijdstippen van het monstern. Daarnaast zijn de gepubliceerde gegevens onderling vaak nauwelijks vergelijkbaar door de verschillende dimensies (aantallen, drooggewicht of natgewicht per trek, per vierkante meter of per kubieke meter van een soort tot het complex van alle gevangen soorten) waarin gegevens zijn gepresenteerd.**

- **Er zijn nauwelijks lange-termijn gegevens van het zoöplankton langs de Nederlandse kust.**

- De voedselkwaliteit (ook in verband met de graas op *Phaeocystis*) speelt bij de bestudering van de betekenis van copepoden in het ecosysteem een essentiële rol. Toch is die voedselkwaliteit vooralsnog één van de minst begrepen gebieden in het graas-onderzoek.

- In de literatuur is een beperkt aantal studies gevonden die ingaan op de rol van copepoden op het lot van contaminanten in de waterfase en de effecten van contaminanten en eutrofiëring op copepoden.

- De kennis van overwinteringsstrategieën van het zoöplankton is momenteel verre van compleet. Omdat de grootte van de overwinterende "stocks" van belang is voor de verspreiding en de populatie-ontwikkeling gedurende de rest van het seizoen, is dit een onderzoeksgebied dat meer aandacht verdient.

- Er is weinig bekend over het belang van nutriëntenregeneratie door marien zoöplankton.

Uit het literatuuronderzoek komt naar voren dat veel kennis ten aanzien van een aantal ecologische aspecten ontbreekt. Vanwege de weinig aanwezige lange-termijn gegevens en de onderling nauwelijks vergelijkbare monstermethoden, blijkt verder dat er een grote behoefte is aan langdurige meetseries, verkregen met standaard monstermethoden en niet al te lange monsterintervallen ten opzichte van de generatietijd. Er zijn dus gegronde redenen om zoöplankton op te nemen in het biomonitoringsnetwerk."

Drie decennia later is er over een aantal van de bovengenoemde ecologische aspecten wel meer bekend. Zo zijn kalibraties uitgevoerd voor de CPR en is meer kennis verworven in de effecten van graas op de samenstelling van fytoplankton, waarbij de voedselkwaliteit van belang is. De monitoring van (meso)zoöplankton op het NCP is echter nooit van de grond gekomen. Door Rijkswaterstaat is in de periode 1994 tot en met 2012 monitoring uitgevoerd van microzoöplankton op het NCP. De meeste aanbevelingen uit het rapport zijn echter nog steeds van toepassing.

In het programma MONS (Asjes et al., 2021) zijn voor zoöplankton kennisvragen opgesteld en kennisleemtes geïdentificeerd. Door het gebrek aan bestaande monitoring is er een grote behoefte aan relevante gegevens (data uit monitoring) en inzicht in het functioneren van zoöplankton en kleine pelagische soorten.

De geconstateerde kennisleemtes bestaan uit:

- een gebrek aan kwantificering van de samenstelling/ biomassa,
- de verspreiding en seizoensdynamiek,
- de rol in het voedselweb,
- de gevoeligheid van soorten voor veranderingen in gebruik van de Noordzee en klimaatverandering,
- het belang van de veranderingen in algensoorten en hun biogeochemische samenstelling als voedselbron voor zoöplankton,
- de verspreiding en trofische rol van kwalachtigen in het pelagisch voedselweb.

2 Kennisvraag

2.1 Kennisvraag

Ten einde inzicht te krijgen in de ecologische rol van het zoöplankton in tijd en ruimte is informatie nodig over de verspreiding, seizoensdynamiek, samenstelling en functioneren van het zoöplankton.

De centrale kennisvraag voor het monitoringprogramma is daarom als volgt:

Wat is de samenstelling en verspreiding van zoöplankton in ruimte en tijd?

En daarnaast: wat zijn de trends (jaren en tientallen jaren) (in samenstelling en verspreiding van zoöplankton in ruimte en tijd) en wat zijn de effecten van nieuw gebruik?

Met nieuwe gebruik worden met name de energie-, voedsel- en natuurtransitie bedoeld. Uiteraard zullen ook huidige gebruiksfuncties van invloed zijn op het zoöplankton, zoals visserij en lozen van verontreinigende stoffen (bv. nutriënten). Daarnaast is bekend dat ook klimaatfenomenen van grote betekenis zijn op het zoöplankton.

2.2 Doelstelling

De doelstelling van het onderhavige project is om een plan op te stellen voor de monitoring van het zoöplankton van de Nederlandse Noordzee dat deze kennisvragen kan beantwoorden.

De resultaten uit de monitoring dienen gebruikt te kunnen worden om de veranderingen in zoöplankton in de Noordzee te kunnen begrijpen en te voorspellen, zodat gevalideerde scenariostudies kunnen worden uitgevoerd. Dit alles ten einde de ecologische draagkracht en de effecten van individueel en cumulatief gebruik daarop te kunnen beoordelen.

Onderhavig voorstel betreft een onderbouwing van keuzes om tot een monitoringplan te komen, waarbij wordt een gefaseerde aanpak voorgesteld met een 1-jarige pilotstudie en een 4-jarige monitoring. Deze aanpak is in de volgende paragraaf verder uitgewerkt.

2.3 Aanpak

Voor de ontwikkeling van het monitoringsplan zijn de volgende stappen gevolgd:

1. Inventarisatie bestaande / afgeronde zoöplankton monitoring NL en buitenland
2. Inventarisatie beleidskaders zoöplankton monitoring
3. Beknopte inventarisatie van de beschikbare technieken
4. Evaluatie beschikbaarheid/inzetbaarheid klassieke en innovatieve technieken
5. Formuleren monitoringsdoelen
6. Selectie klassieke en innovatieve technieken
7. Ontwerp monitoringsstrategie zoöplankton in ruimte en tijd
8. Identificatie kennishiaten voor opzet nieuwe zoöplankton monitoring
9. Voorstel ontwerp 1-jarige pilotstudie
10. Voorstel ontwerp 4-jarige monitoring

2.3.1 Inventarisatie bestaande/afgeronde monitoring

Als eerste is een inventarisatie uitgevoerd van in het verleden uitgevoerde zoöplankton monitoring in Nederland. Daarnaast is een inventarisatie uitgevoerd van de ervaring met- en status van

zoöplanktonmonitoring in Nederland. In andere Noordzeelanden is een aantal experts benaderd vanuit het netwerk van de auteurs van dit advies. Hen is gevraagd (deels per mail, deels per overleg op afstand) wat er op dit moment aan zoöplankton monitoring wordt gedaan in hun deel van de Noordzee, hun ervaringen hiermee en of zij nog aanbevelingen hebben voor de opzet van een nieuw monitoringsprogramma. Gezien de beperkt beschikbare tijd is er geen terugkoppeling geweest met deze experts.

De benaderde personen/instituten zijn:

- Anouk Ollevier, Vlaams Instituut voor de Zee (VLIZ), België
Promovendus, bezig met zoöplankton onderzoek binnen LifeWatch project
- Dr. Sophie Pitois, Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Science (CEFAS), Verenigd Koninkrijk
Zoöplankton monitoring expert, ervaring met CPR en imaging techniek. Tevens voorzitter ICES zoöplankton werkgroep WGZE
- Prof. Dr. Maarten Boersma, Alfred Wegener Instituut (AWI), Duitsland
Hoofd afdeling Ecologie Kustsystemen, tevens verantwoordelijk voor Helgoland Roads plankton tijdserie
- Dr. Klas Ove Möller, Helmholtz Zentrum Hereon, Duitsland
Planktononderzoeker, expert op het gebied van plankton imaging
- Prof. Dr. Eva-Friis Möller, Aarhus University, Denemarken
Hoofd afdeling Mariene Ecologie en Modelling
- Dr. Hans Jakobsen, Aarhus University, Denemarken
Onderzoeker, adviseur op het gebied van plankton
- Mikael Hjort Jensen, Environmental Agency Fyn, Danish Ministry of Environment, Denemarken
Marien bioloog belast met uitvoeren monitoring voor Ministerie van Milieu
- Dr. Cindy van Damme, Wageningen Marine Research, Nederland
Expert op het gebied van vislarven en monitoring daarvan

2.3.2 Afstemming andere MONS onderdelen

Afstemming is gezocht met andere no-regret onderdelen van het MONS programma. Voor het zoöplankton is vooral de link in het voedselweb met het voedsel in de vorm van fytoplankton en predatoren in de vorm van kleine pelagische vis van belang. Verder is voor een goede interpretatie van biologische monitoringdata ook inzicht in de abiotische omstandigheden van belang.

Met de volgende onderdelen is contact geweest:

Abiotiek	23 november; overleg met Anouk Blauw (Deltares)
Fytoplankton	Dick van Oevelen, mede-auteur van dit rapport
Kleine pelagische vis	19 november; deelname aan WMR workshop

Gezocht is naar mogelijkheden om monitoringactiviteiten in praktische zin te kunnen combineren en om in de toekomst verworven data met elkaar in relatie te kunnen brengen.

3 Monitoring van zoöplankton

In dit hoofdstuk wordt een overzicht gegeven van de stand van zaken op het gebied van zoöplanktonmonitoring in het Noordzeegebied. Eerst wordt een overzicht gegeven van beheer- en beleidsdoelen waarvoor in het Noordzeegebied zoöplankton monitoring van belang kan zijn. Daarna wordt een overzicht gegeven van de huidige zoöplankton monitoringsactiviteiten van Nederland en andere Noordzeelanden. Als laatste wordt een overzicht gegeven van de beschikbare methodieken, hun voor- en nadelen en in welke ontwikkelingsfase de technieken verkeren.

3.1 Doelen

3.1.1 Noordzeeakkoord

In het MONS rapport (Asjes et al., 2021) staan de doelen in relatie tot het Noordzeeakkoord (NZA) als volgt beschreven:

“Het (NZA) omvat afspraken over een reeks van beleidsmatige onderwerpen die spelen op de Noordzee. Tot de scope van MONS behoren echter alleen de kennisvragen verbonden aan de transities op de Noordzee zoals behandeld in het NZA, i.e. de Energietransitie, de Voedseltransitie en de Natuurtransitie. Kennisvragen over de impact van klimaatverandering vallen ook onder dit kader, aangezien dit een (indirecte) drukfactor is met temperatuurstijging en verzuring als belangrijke drivers die in tal van de mariene processen kunnen doorwerken. Deze factoren grijpen in potentie in op het ecosysteem als geheel en zijn daarom belangrijk om te bestuderen omdat ze andere ‘effecten’ kunnen maskeren of overstijgen.”

Voor de monitoring van zoöplankton gaat het om het op orde brengen van de basisinzichten in het functioneren van Noordzee ecosysteem. Hetzelfde geldt voor fytoplankton en abiotiek.

3.1.2 Doelen en vragen zoöplankton

Teneinde inzicht te krijgen in de ecologische rol van het zoöplankton in tijd en ruimte is informatie nodig over de verspreiding, seizoensdynamiek, samenstelling en functioneren van het zoöplankton.

De kennisvraag voor het project is daarom als volgt:

Wat is de samenstelling en verspreiding van zoöplankton in ruimte en tijd?

En daarnaast: wat zijn de trends (jaren en tientallen jaren) en wat zijn de effecten van nieuw gebruik?

De doelstelling van onderhavige project is om een plan op te stellen voor de monitoring van het zoöplankton, met name het mesozoöplankton, van de Nederlandse Noordzee dat deze kennisvragen kan beantwoorden.

De resultaten uit de uiteindelijk uit te voeren langjarige monitoring dienen gebruikt te kunnen worden om de veranderingen in zoöplankton in de Noordzee te kunnen begrijpen en te voorspellen, zodat gevalideerde scenariostudies kunnen worden uitgevoerd. Dit alles ten einde de ecologische draagkracht en de effecten van individueel en cumulatief gebruik daarop te kunnen beoordelen.

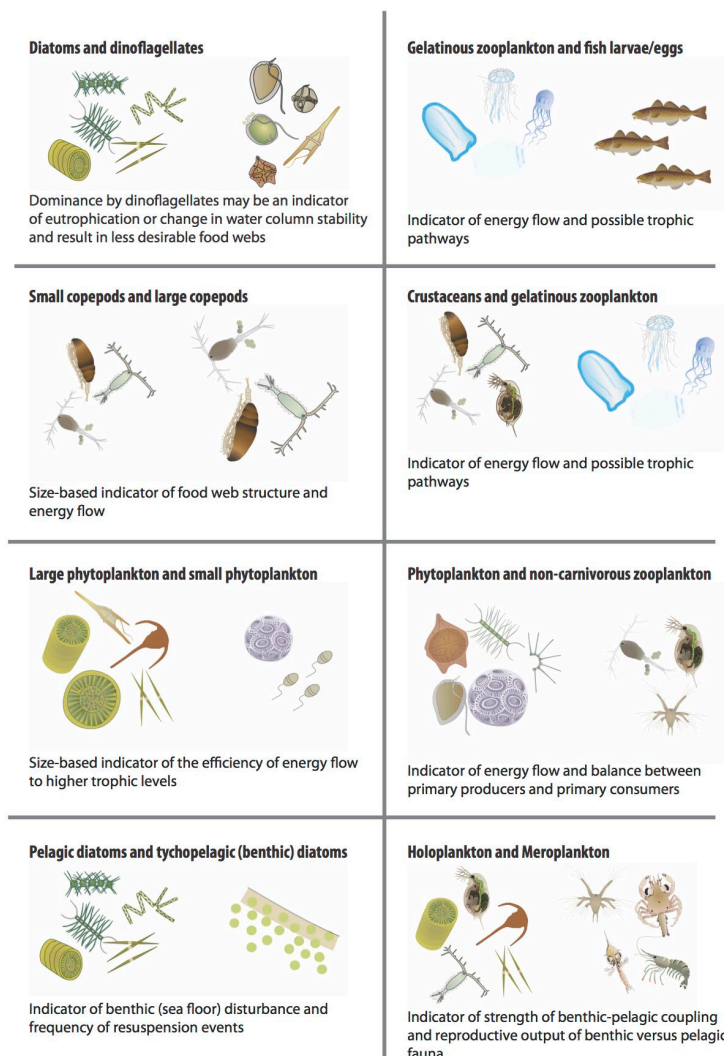
In het 5-jarig meetplan wordt voorgesteld welke stappen kunnen leiden tot de ontwikkeling van een langjarige monitoring van het zoöplankton.

3.2 Doelen vanuit beleidskaders

3.2.1 OSPAR

In het OSPAR Coordinated Environmental Monitoring Programme (CEMP) zijn pelagische indicatoren PH1, PH2 en PH3 opgenomen in appendices BB10 – 12. Alleen in BB11 over “plankton biomass and/or abundance” wordt zooplankton in samenhang met copepodenvoorkomen genoemd als te meten parameter, waar echter geen richtlijnen voor zijn (naar BLMP 2021).

In de OSPAR CEMP richtlijn “Common indicator: PH1/FW5 Plankton lifeforms ” (OSPAR, 2018) wordt de ontwikkeling van biodiversiteitsindicatoren beschreven op basis van “plankton lifeform pairs”, waarbij met “lifeform” een functionele groep wordt bedoeld. De eerste resultaten hiervan zijn te vinden in het OSPAR Intermediate Assessment 2017 (OSPAR, 2017). Het idee achter deze indicator is dat veranderingen in de verhouding tussen twee functionele groepen een indicator kunnen zijn voor bepaalde veranderingen in ecosysteemstatus (zie *Figuur 1*). Bijvoorbeeld een verschuiving van de verhouding dinoflagellaten/diatomeeën naar meer dinoflagellaten zou een indicator voor eutrofiëring of een verandering in waterkolomstabiliteit kunnen zijn. Meer informatie is te vinden in de rapporten van het EU project EcAprHA¹.



Figuur 1. Voorbeelden van “functional group pairs” als mogelijke indicatoren van ecosysteemstatus voor OSPAR PH1/FW5 Plankton lifeforms OSPAR (2017).

¹ Applying an Ecosystem Approach to (sub) Regional Habitat Assessment, <https://www.ospar.org/work-areas/bdc/ecaprha/reports>

Een citaat uit BLMP 2021, automatisch vertaald vanuit het Duits:

“In de Noordzee zijn in het kader van OSPAR geen individuele indicatoren voor zoöplankton gespecificeerd voor de beoordeling van pelagische habitats. De beoordeling van de pelagische habitats (pelagische habitats: PH) wordt uitgevoerd met behulp van drie overeengekomen indicatoren, de zogenaamde gemeenschappelijke indicatoren, die zowel zoöplankton als fytoplankton omvatten:

PH1 / FW5: Veranderingen in plankton-functionele typen (levensvorm) indexverhouding

PH2: Plankton biomassa en/of abundantie

PH3: Veranderingen in biodiversiteitsindex(en)

Voor de evaluatie van het voedselweb (voedselweb: FW) is er een zoöplankton-indicator (FW6: Zooplankton community size structure in relatie tot biomassa / abundantie) voor de schatting van de productiviteit van zoöplankton. OSPAR heeft noch prioriteit noch lead management. Tot nu toe is er alleen een CEMP-richtlijn voor PH1 / FW5 (CEMP-richtlijn PH1 / FW5 Overeenkomst 2018-07). In tegenstelling tot fytoplankton heeft OSPAR geen aparte monitoringrichtlijn voor het bemonsteren van zoöplankton.

Voor OSPAR-regio II, waartoe ook de Duitse Noordzeewateren behoren, zijn de indicatoren PH1 en PH2 op elkaar afgestemd, terwijl PH3 tot nu toe alleen is gebruikt in het gebied van de Keltische Zee (OSPAR-regio III). Alle drie de indicatoren omvatten zowel fyto- als zoöplankton, maar fytoplankton of alleen zoöplanktongegevens kunnen ook gebruikt worden voor een beoordeling. Tot nu toe zijn er geen drempelwaarden afgesproken voor de indicatoren, omdat ze voornamelijk veranderingen in de planktongemeenschap aangeven en geclassificeerd zijn als surveillance-indicatoren. Met hun hulp kunnen afwijkingen en anomalieën worden vergeleken met een eerdere periode (vergelijkingsperiode, uitdrukkelijk geen referentiecondities) en trends worden bepaald in langetermijngegevens en fungeren daarmee als een soort early warning system. Door het ontbreken van drempelwaarden is alleen een beschrijving van de veranderingen in de planktongemeenschap mogelijk.”

3.2.2 Kaderrichtlijn Mariene Strategie

De Europese Kaderrichtlijn Mariene Strategie (KRM/MSFD, 2008/56/EC)² streeft naar het bereiken van een Goede Milieu Toestand van de Europese zeeën. Het verplicht de EU-lidstaten om het niveau van antropogene effecten op hun mariene systemen in te schatten met behulp van 11 -grotendeel kwalitatieve- descriptor. Verschillende van deze descriptor hebben ook betrekking op zoöplankton:

Descriptor 1: Biodiversiteit

Descriptor 2: Invasieve soorten

Descriptor 4: Mariene voedselwebben

Descriptor 5: Eutrofiëring

Er zijn hiervoor nog geen indicatoren vastgesteld, maar voorstellen voor verdere uitwerking betreffen bijvoorbeeld de samenstelling (en veranderingen) van de zoöplankton gemeenschap aan de hand van indicator-soorten, soortenrijkdom, biomassa en verspreiding daarvan en veranderingen van functionele groepen binnen het zoöplankton. Hieruit volgt dat het nodig is om data te verzamelen die inzicht geven in de ruimtelijke verspreiding, biomassa en soortenrijkdom van zoöplankton. Deze data kan dan weer gebruikt worden voor informatie in de vorm van indicatoren.

In Duitsland wordt zoöplankton bemonsterd in het kader van de KRM (MSRL genoemd in Duitsland) voor de aan bovengenoemde descriptor verbonden doelen:

- (1) biologische diversiteit wordt behouden;
- (2) niet-inheemse soorten veranderen het ecosysteem niet;
- (4) alle elementen van de mariene voedselketens komen voor in normale dichtheden en diversiteit

In KRM Annex III tabel 1 onder “Biologische kenmerken” wordt zoöplankton genoemd:

² <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/?uri=celex%3A32008L0056>

“Een beschrijving van de levensgemeenschappen die met de meest voorkomende habitats van de zeebodem en de waterkolom zijn geassocieerd. Dit omvat informatie over fytoplankton- en **zoöplanktongemeenschappen**, met inbegrip van soorten en geografische spreiding en seizoensvariabiliteit;

De volgende zesjaarlijkse actualisering van het monitoringsprogramma voor de KRM staat gepland voor 2026.

3.2.3 Beheersdoelen Natura 2000

3.2.3.1 Habitatrichtlijn

Het zoöplankton is van belang als voedsel van habitatrichtlijnsoorten zoals: H1103 – Fint en als voedsel van prooidieren van predatoren die onder de habitatrichtlijn vallen zoals: H1351 – Bruinvis, H1364 – Grijze zeehond, H1365 – Gewone zeehond.

Daarnaast zijn veel typische soorten van habitattypen zoals riffen (H1170) en permanent overstroomde zandbanken (H1110) voor hun verspreiding afhankelijk van het plankton; hun larven leven enige tijd in het plankton voordat zij zich op de bodem vestigen. Veel van deze soorten zijn bovendien voor een groot deel van hun voedselvoorziening afhankelijk van het plankton.

3.2.3.2 Vogelrichtlijn

Diverse vogelrichtlijngebieden zijn aangewezen omdat zij een belangrijk fourageergebied zijn voor visetende vogels. De beschikbaarheid van pelagische vis als voedsel voor visetende vogels is afhankelijk van de aanwezigheid van hun voedsel; zoöplankton.

3.2.4 MBA/CPR indicatoren

Het doel van de monitoring met de Continuous Plankton Recorder (CPR) is om planktongemeenschappen van grote watersystemen (oceanen, zeeën) gedurende vele decennia te volgen, zodat veranderingen in het mariene milieu, die verder gaan dan natuurlijke variaties en trends, herkend worden. De CPR bemonstert zowel fytoplankton als zoöplankton, waarbij kleiner plankton het net van 270 µm passeert en groot plankton door de beperkte opening ('mond') van de CPR begrensd wordt (1,6 cm²).

Er zijn verschillende indicatoren voorgesteld in relatie tot OSPAR en KRM, voor klimaat, biodiversiteit, gezondheid van het ecosysteem, en verzuring van de oceanen (Edwards et al., 2016). Voor klimaat gaat het om de verschuiving van bepaalde soorten copepoden naar noordelijker of zuidelijker water en de timing in het seizoen van de larven van benthische soorten. Voor biodiversiteit gaat het om soortenrijkdom, het verschijnen van ongebruikelijke en invasieve soorten.

De indicatoren voor de gezondheid van het ecosysteem hebben betrekking op fytoplankton (in relatie tot eutrofiëring), marine pathogenen en microplastics. Voor verzuring van de oceanen zijn calcificerende soorten als indicator voorgesteld.

3.2.5 HELCOM

Alhoewel niet van toepassing op de Noordzee, is het toch interessant om te kijken hoe zoöplankton in de Oostzee wordt gemonitord in het kader van HELCOM. Binnen HELCOM is er namelijk wél een indicator voor Goede Milieu Toestand op basis van de structuur van de zoöplanktongemeenschap (HELCOM 2018), en is er een protocol ontwikkeld voor het bemonsteren van mesozooïplankton (HELCOM 2021). Dit kan nuttig zijn bij het ontwikkelen van een protocol voor de Noordzee.

De HELCOM zoöplankton indicator MSTs (Zooplankton Mean Size and Total Stock) is een tweedimensionale indicator voor de groottestructuur van de zoöplanktongemeenschap in relatie tot de totale zoöplanktonbiomassa en -abundantie, waarbij zowel biomassa/abundantie als gemiddelde lichaamsgrootte van het zoöplankton boven een bepaalde drempelwaarde moeten liggen. Het idee is dat er bij een hoge gemiddelde lichaamsgrootte in combinatie met een hogere biomassa er voldoende voedsel beschikbaar is voor pelagische vis, en er een efficiënt transport is van primaire productie naar

hogere trofische niveaus in het voedselweb. Een lage gemiddelde lichaamsgrootte van zoöplankton kan duiden op problemen met eutrofiëring.

Binnen het OSPAR gebied is gekeken of hier een vergelijkbare indicator kan worden toegepast als de HELCOM MSTs indicator. Deze studie is gedaan voor de Keltische Zee (Pitois et al., 2021). Interessant is dat hierbij voor het bepalen van de groottestructuur van het zoöplankton gebruik is gemaakt van in-situ plankton imaging.

3.3 Zoöplankton monitoring NCP

In dit hoofdstuk wordt een overzicht gegeven van beschikbare databronnen van zoöplanktongegevens van het NCP. De focus ligt daarbij op het mesozoöplankton.

Microzoöplankton

Van 1992 tot 2014 heeft Rijkswaterstaat op verschillende plekken op het NCP microzoöplankton bemonsterd (Verweij et al., 2013, Verweij et al., 2014, Schneider et al. 2020). Dit heeft interessante inzichten opgeleverd in het aandeel van fototroof, heterotroof en mixotroof microplankton, waarbij het grootste aandeel mixotroof plankton voorkwam in gebieden- en periodes met gelaagdheid en het opraken van nutriënten (Schneider et al. 2020). Mesozoöplankton is ook in deze monsters gevonden, echter een monstervolume van 1 L zoals gebruikt in de studie is te weinig voor een kwantitatieve analyse van het minder algemene mesozoöplankton. Het microzoöplankton wordt namelijk op een zelfde wijze bemonsterd als fytoplankton, dat wil zeggen met behulp van watermonsters (dus geen netmonsters) die worden geconserveerd.

Mesozoöplankton

Het mesozoöplankton wordt op het NCP alleen gemonitord met behulp van de Continuous Plankton Recorder (CPR). De informatie hieruit geeft vooral inzicht in de grootschalige ruimtelijke patronen van zoöplankton verspreiding en (meerjarige) trends in de tijd. Een analyse van deze gegevens van 1970 tot en met 2008 is uitgevoerd door Alvarez-Fernandez et al. (2012). Nederland is ook niet meer actief betrokken bij de monitoring en het onderzoek met de CPR.

Door het NIOZ is in de periode 1973 – 1994 onderzoek naar de soortensamenstelling en verspreiding van zoöplankton in de Noordzee uitgevoerd (Fransz, 2000, zie ook *Tabel 1*). Daarna zijn er slechts incidenteel bemonsteringen geweest in het Nederlandse deel van de Noordzee. De bemonsteringen zijn uitgevoerd met horizontaal en verticaal gesleepte netten over de gehele waterkolom met twee maaswijdten (50 en 300 µm). Deze werden simultaan gebruikt om alle groottestadia van alle soorten te verzamelen. Ook de juveniele stadia werden geïdentificeerd. In deze monsters werden 67 taxa onderscheiden. Fransz (2000) heeft een analyse uitgevoerd op alle bij hem beschikbare data en beschikbare CPR-data over deze periode. Doel was indices voor biodiversiteit te ontwikkelen. Hij stelde voor om gidssoorten te gebruiken die duiden op de instroom van oceanisch water in de Noordzee. Het gaat dan om *Oithona similis* en *O. nana*, *Calanus finmarchicus* en *C. helgolandicus*, en *Microsetella norvegica*. Deze soorten, voor zover waargenomen in de gebruikte referentiebestanden, toonden veel samenhang met de verandering in het ecosysteem in de jaren 70. Fransz vond geen duidelijke aanwijzingen dat de soortendiversiteit van zoöplankton in de Nederlandse sector van de Noordzee sterk beïnvloed werd door gevolgen van processen op het land, zoals eutrofiëring en vervuiling.

Macro- en megazoöplankton

Het macro- en megazoöplankton bestaat voornamelijk uit kwalachtigen. Door hun grootte worden deze groepen niet bemonsterd in het CPR programma. Het bemonsteren van kwalachtigen is vaak lastig te combineren met bemonstering van andere groepen zoals vissen en mesozoöplankton. De afgelopen 50 jaar is er vrijwel geen monitoring uitgevoerd aan kwalachtigen op het NCP.

Op dit moment worden kwalachtigen op het NCP gemonitord door de Franse onderzoekers van IFREMER in hun deel van het IBTS (International Bottom Trawl Survey) van ICES.

Uit een analyse van 50 jaar aan kwallenvangsten in de NIOZ fuik in het Marsdiep bij Texel (van Walraven et al., 2015) bleek dat de vangsten van de meest algemene soorten kwallen waren afgenomen in de tijd. Deze afname viel samen met de afname van de eutrofiëringsproblematiek op de Noordzee, maar een relatie tussen kwallenvangsten en eutrofiëring kon niet aangetoond worden door de hoge variatie in kwallenvangsten. Ook was het seizoenspatroon van de kwallen veranderd; sommige soorten arriveerden eerder in het jaar of waren langer aanwezig, gerelateerd aan de watertemperatuur. Van “verkwalling” van de Noordzee lijkt nog geen sprake te zijn, wel is in de kustwateren de invasieve Amerikaanse ribkwal *Mnemiopsis leidyi* erg algemeen (van Walraven, 2016).

Viseieren en -larven

Naast de gerichte zoöplankton bemonsteringen worden er ook bemonsteringen uitgevoerd gericht op viseieren en larven waarvan een deel van de monsters genomen is en wordt op het NCP.

Eisurveys hebben in de 1989 januari tot juli (van der Land, 1991), en van april 2010 tot maart 2011 (van Damme et al., 2011). De bemonstering vond plaats met een Gulf VII plankton sampler welke met een snelheid van ~5 knopen door het water werd getrokken waarbij de sampler een oblique beweging door de waterkolom maakt van het oppervlakte tot 5 m boven de bodem. Uit de monsters werden aan boord alle vislarven gehaald, het overgebleven monster werd bewaard op 4% formaldehyde. Uit het overgebleven monster zijn alleen de eieren gedetermineerd. Het overige plankton wat wel in de monsters aanwezig is wordt niet gedetermineerd.

Larvensurveys zijn onderdeel van het regulier WOT programma gericht op het creëren van een index van juveniele vis, met name haring. Er worden jaarlijks verschillende haringlarvensurveys uitgevoerd welke gericht zijn op het verkrijgen van verschillende indices. De Gulf VII plankton surveys zijn gericht op larven die net uit ei komen en worden door Nederland uitgevoerd in de 2 helft van september en de tweede helft december. Voor 2018 werd er nog een derde uitgevoerd begin januari, Duitsland voert in de eerste helft van januari nog wel de monsterring uit in de zuidelijke Noordzee.

Daarnaast werden er twee surveys uitgevoerd welke een indruk geven van de jaarklassterkte van haring (Couperus et al., 2020), deze zijn uitgevoerd met een midwater ringnet (MIK-net, 500 µm). Deze bemonstering vindt al sinds 1977 plaats en wordt 's nachts uitgevoerd als onderdeel van de internationale bottom trawl survey (IBTS) in het eerste kwartaal. Zowel door Nederland als door Frankrijk wordt er bemonsterd op het NCP. Sinds 2016 is er een kleinere ring bevestigd aan het MIK-net (MIKey-net 350 µm) (ICES, 2017).

Sinds 2019 wordt er een survey uitgevoerd waarbij dag en nacht met het MIK-net wordt gevist onder de naam Downs recruitment survey (DRS). Deze bemonstering vindt plaats in de tweede helft van april.

In de larven surveys worden de planktonmonsters opgeslagen in formol en in het lab uitgezocht op Clupeide larven (haring, spruit, sardine), en sinds kort ook op enkele andere vislarven. Het overige plankton wordt niet verder uitgezocht.

Bijvangst van zoöplankton

In de meest vissurveys uitgevoerd onder de WOT worden naast het vis en bentische soorten ook de verschillende kwallen soorten geteld. Op het NCP gaat het hierbij om de IBTS (Q1), de BTS, DFS en SNS (Q3). Deze gegevens worden net als de vis gegevens opgeslagen in de WMR FRISBE database. Ook de Franse IBTS survey in Q1 registreert de aantallen kwallen welke bijgevangen worden in het visnet.

Ook tijdens verschillende observer-reizen uitgevoerd aan boord van commerciële visserij schepen worden de kwallen in de vangst geregistreerd.

Tabel 1. Mesozoöplankton biomassa in de zuidelijke Noordzee. Bronnen: 1- van Beusekom & Diel-Christiansen, 1993; 2-Daan, 1989; overgenomen uit Jak & Michielsen, 1996)).

Gebied	Periode	Biomassa $\mu\text{g C l}^{-1}$	Referentie	Bron
NL kust	juni-jul 1973	50-100	Fransz & Gieskes, 1984 Fransz, 1980	1
NL kust	juni-juli 1973	>100*	Fransz <i>et al.</i> , 1978	1
NL kust	juli-augustus 1984	80	Daan, 1989	1
NL kust	juli 1985	160	Daan, 1989	1
Westelijke Waddenzee	juni-juli 1973-1975	50-100	Fransz, 1980	1
NL kust	juni-juli 1985	120-165	Daan, 1989	2
NL kust	eind juli 1984	80	Daan, 1989	2
NL kust	begin augustus 1984	30	Daan, 1989	2
NL kust	augustus 1985	25-30	Daan, 1989	2
NL kust	januari 1973	<10	Fransz, 1980	1
Westelijke Waddenzee	januari-februari 1973-1975	<10	Fransz, 1980	1

*Indien drooggewichten zijn opgegeven zijn deze omgerekend uitgaande van een koolstofpercentage van 40% op basis van drooggewicht.

3.3.1 Overige data

Op 18-10-2021 zijn uit GBIF³ alle records van copepoden binnen Nederland gedownload inclusief zoete en brakke binnenwateren. Deze roeipootkreeftjes vormen de dominante soortgroep in het mesozoöplankton.

In totaal waren er 67,976 records van Calanoida aanwezig waarvan 32,074 uit dataset "The CPR Survey" (Johns et al. 2020) en 34.469 uit dataset "Continuous Plankton Recorder Dataset (SAHFOS)" (SAHFOS). Waarschijnlijk zit hier veel overlap in aangezien het CPR survey van SAHFOS tegenwoordig is ondergebracht bij de Marine Biological Association of the UK. In GBIF was data van de CPR te vinden t/m december 2017.

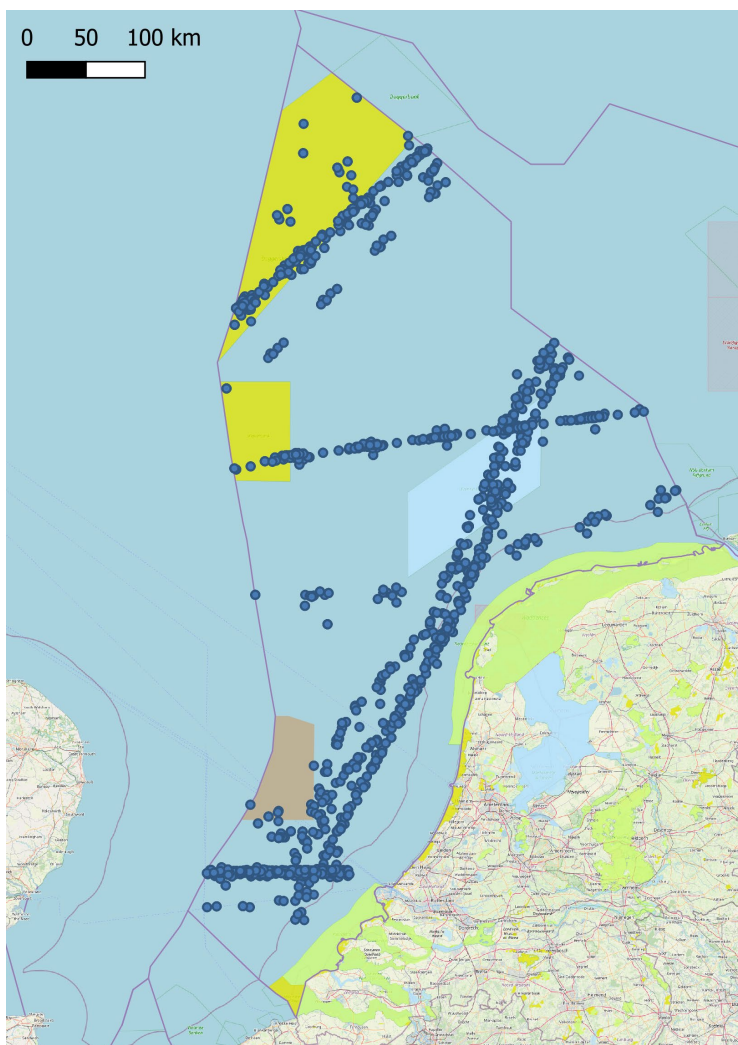
Behalve de CPR data waren er ook 1,339 records van STOWA te vinden, wat vrijwel alleen data van binnenwateren betreft. Daarnaast nog enkele tientallen records van voornamelijk Westerschelde.

3.3.1.1 Continuous Plankton Recorder survey

Omdat de CPR de enige gegevensbron van Calanoiden data binnen het NCP in GBIF was, wordt alleen deze dataset verder besproken. Een handleiding voor het gebruik van CPR data is te vinden in Richardson et al. (2006).

Omdat de CPR gesleept wordt door koopvaardij schepen is de meeste CPR data beperkt tot de scheepvaartroutes op het NCP van Rotterdam naar Harwich/Hull en de doorgaande routes van Calais/Dover naar de Duitse Bocht en Oostzee (Figuur 2).

³ Global Biodiversity Information Facility; <https://www.gbif.org/>



Figuur 2. Kaart van het NCP met alle CPR-datapunten van Calanoida van na 2010. Huidige Natura 2000 gebieden zijn aangegeven met geel (Habitatrichtlijn), blauw (Vogelrichtlijn) en groen (Zowel habitatrichtlijn als Vogelrichtlijn). De bruine bank, waarvoor een ontwerpbesluit voor aanwijzing als Vogelrichtlijngebied ligt, is aangegeven in bruin.

3.4 Zoöplankton monitoring internationale Noordzee

3.4.1 België:

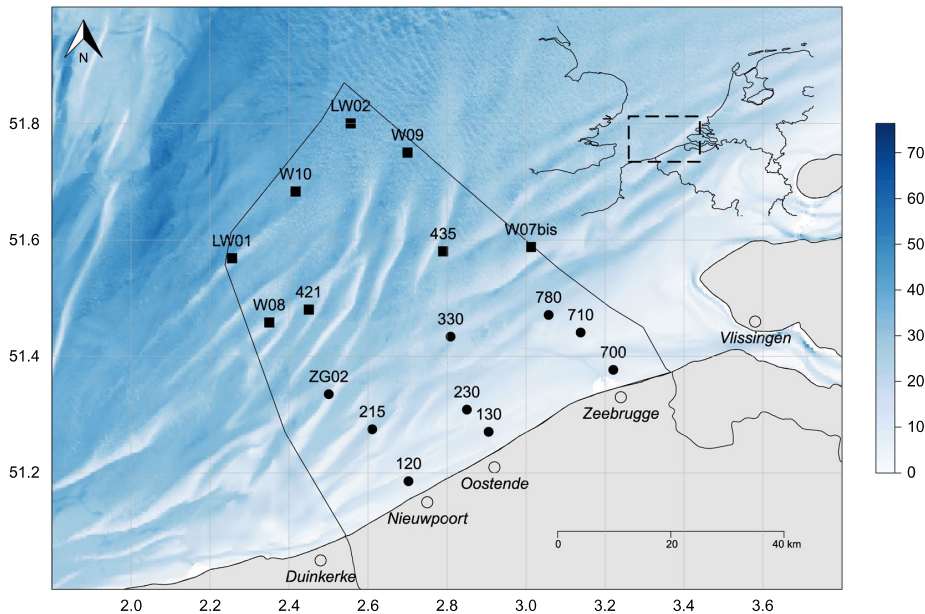
Het VLIZ (Vlaams Instituut voor de Zee) is verantwoordelijk voor de monitoring van het Belgische deel van de Noordzee⁴ dat gekaderd is binnen het Europese LifeWatch bioversiteitsprogramma⁵ en valt binnen het LTER (Long-Term Ecological Research) netwerk. De monitoring van zoöplankton binnen het Lifewatch programma bouwt verder op het werk van van Ginderdeuren et al (2014), die in 2009 en 2010 maandelijks gemonsterd heeft en de mesozöoplankton gemeenschap van de Belgische Noordzee heeft beschreven.

Het VLIZ-LifeWatch programma heeft een grid van negen stations voor de kustnabije zone, welke maandelijks worden bemonsterd met het onderzoeksschip *Simon Stevin* en 8 stations langs een offshore-inshore gradiënt die seizoenaal worden bemonsterd (Mortelmans et al. 2019a,b, *Figuur 3*). Parameters die worden gemeten zijn zoöplankton, fytoplankton, diepteprofielen van de waterkolom voor temperatuur, zoutgehalte, troebelheid, zuurstofgehalte, lichtpenetratie en zuurtegraad, watermonsters voor nutriënten, pigmenten en zwevende stof, secchidiepte, macrobenthos en

⁴ BPNS, <https://www.vliz.be/nl/vliz-monitoring>

⁵ <https://www.vliz.be/nl/lifewatch>

korrelgrootte van het sediment. De tijdserie is gestart in 2002, maar zoöplankton is pas in 2012 toegevoegd (Mortelmans et al. 2019b).



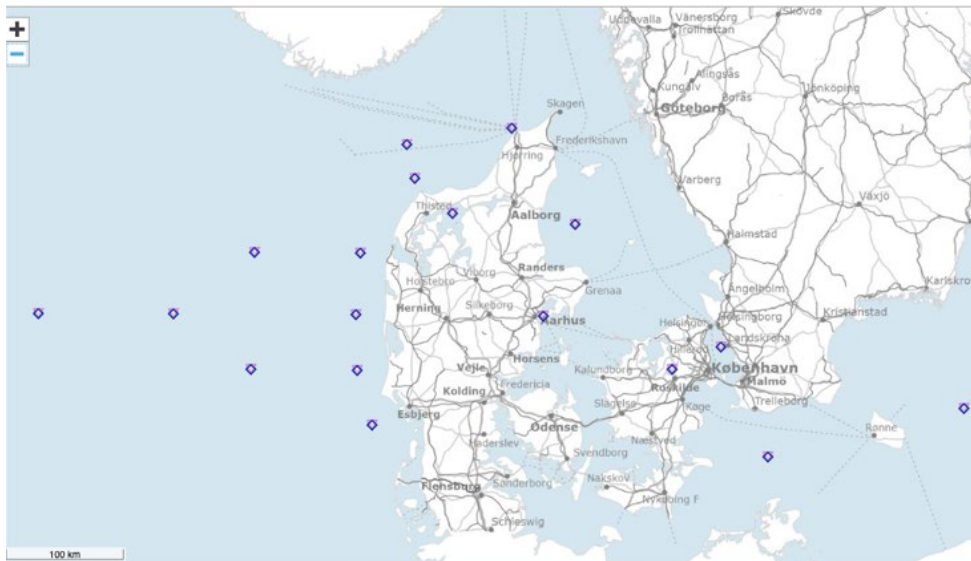
Figuur 3. Bathymetrisch kaart (diepte in meters) met de LifeWatch stations voor het BCP van de Noordzee (aangegeven met zwarte polygoon). De zwarte cirkels zijn de nearshore stations die maandelijks worden bemonsterd en de zwarte vierkanten zijn de offshore stations die seizoensaal worden bemonsterd. Kaart is uit Mortelmans et al. 2019a.

Details en data van de LifeWatch monitoring voor nutriënten, turbiditeit en zwevend stof staan in Mortelmans et al. (2019a), voor fytoplankton in Martinez et al. (2020) en voor zoöplankton in Mortelmans et al. (2019b). Zoöplankton bemonstering vindt plaats op de volgende 3 manieren: 1) voor de periode juli-augustus 2012 werd een planktonpomp gebruikt, 2) tussen augustus 2012 en december 2013 werd gebruik gemaakt van emmers en 3) gehele waterkolom sampling met een WP2 net en verwerking met een ZooScan van juli 2014 tot heden. Aangezien voor methodes 1 en 2 alleen oppervlaktewater bemonsterd werd is de overstap naar methode 3 gemaakt. Meer specifiek wordt een WP2 (2.6 meter lang, 200 µm) net tot net boven de bodem neergelaten en opgehaald met een snelheid van 1 m/s. Aan het monster wordt soda water, om het zoöplankton te verdoven, en formaldehyde (6% concentratie) toegevoegd. Na ongeveer 1 maand wordt het formaldehyde uitgespoeld en wordt het monster opgeslagen in 70% ethanol. Het monster wordt vervolgens gescand met de ZooScan, wat beelden oplevert van hoge resolutie (4600 dpi en 10.6 µm per pixel). Per scan kunnen ongeveer 3,000-4,000 deeltjes/plankton worden gescand en om deze dichtheid te bereiken worden samples gesplitst met een Motoda splitter. Per sample kost dit ongeveer 20-30 minuten. De scan wordt vervolgens opgeknipt in ROIs (regions of interest) met de ZooProcess software. Per ROI worden verschillende parameters gemeten (bv lengte, vorm etc) en wordt de open source Plankton Identifier gebruikt voor manuele en automatische classificatie, gevolgd door een kwaliteitscontrole. Data worden opgeslagen in de online MongoB database, waarin data ook voor externen beschikbaar zijn en kunnen worden opgenomen in OBIS en EMODnet. In totaal zijn er 24 zoöplankton taxa gevonden op 673,017 ROIs. Uit deze tijdserie is recent een paper ingediend waarin de ontwikkeling van *Noctiluca scintillans* wordt beschreven (Ollevier et al. subm.).

In aanvulling op deze WP2 net bemonstering vindt er ook regelmatige inzet van de Video Plankton Recorder plaats in het kader van een PhD-onderzoek van Anouk Ollevier (VLIZ). Tijdens deze bemonstering wordt de VPR gesleept met het onderzoeksschip Simon Stevin van oppervlakte tot bodem gedurende 1-2 uur om de verticale verdeling van het zoöplankton te bestuderen. De ervaring leert dat de kuststations te troebel zijn om de VPR met succes in te zetten, maar dat de offshore stations succesvol zijn.

3.4.2 Denemarken:

In Denemarken is de Danish Environmental Protection Agency verantwoordelijk voor de monitoring van de Noordzee en daarbinnen wordt micro- en mesozooplankton gemonitord binnen het NOVANA programma. Het programma is 5 jaar geleden gestart en op 18 stations rond Denemarken wordt zoöplankton gemonitord (*Figuur 4*) met een frequentie variërend van 1-20x per jaar. De metadata worden gedeeld via een website⁶. De 10 Noordzee/Skagerrak stations worden 2x per jaar bemonsterd (i.v.m. de hoge scheepskosten), terwijl de 10 stations in de binnenwateren 20x per jaar bemonsterd worden. De data worden opgeslagen en gedeeld in de 'National database for Marine Data'⁷. In 2022 wordt het monitoringsprogramma geupdate naar een nieuw programma (NOVANA 2023-27) waarbij de stations kunnen wijzigen. De wetenschappelijke adviescommissie heeft reeds opgemerkt dat de frequentie voor de Noordzee/Skagerrak stations onvoldoende is.



Figuur 4. Bemonsteringsstations rond Denemarken voor micro- en mesozooplankton.

Voor bemonstering wordt uitgegaan van de HELCOM handleiding⁸ met aanvullingen voor mesozooplankton⁹. Specifieke aanpassingen zijn echter gedaan voor het micro- en mesozooplankton, welke beschreven zijn in 2 PDF documenten (beschikbaar bij de auteurs van dit rapport) en in de artikelen Zervoudaki et al. (2009) en Lyngsgaard et al. (2017).

In het kort, oppervlaktemonsters worden verzameld voor microzoöplankton. Monsters worden gefixeerd met Lugol (3% concentratie) waarvan 50 tot 100 mL wordt uitgezocht na 24u-sedimentatie met een omkeermicroscop. Abundantie, biovolume en C-biomassa van ciliaten en dinoflagellaten wordt bepaald (Zervoudaki et al. 2009).

Het mesozooplankton wordt bemonsterd met (verticale trekken) met een WP2 net (100 µm) met een snelheid van ongeveer 0.5 m/s of plankton pomp van maximaal 25 m diep. Aanvullende aanbevelingen worden gedaan met betrekking tot diepte sampling, een eventuele anoxische laag wordt bijvoorbeeld niet bemonsterd. Monsters worden tegenwoordig gepreserveerd met Lugol in verband met geldende veiligheidsvoorschriften, terwijl dit voordien in formaldehyde was.

3.4.2.1 Opmerkingen/aanbevelingen Denemarken:

- Deze huidige bemonstering loopt al ±30 jaar, maar als er een nieuwe serie wordt opgezet wordt sterk aangeraden om gebruik te maken van modernere technieken zoals imaging met de ZooScan en moleculaire methoden.

⁶ <https://miljoegis.mim.dk/cbkort?profile=novana2017-21> (klik linksboven op 'Hav og Fjord' om naar zoöplankton te gaan)

⁷ MADS, <https://www.gbif.org/dataset/7a47414c-f762-11e1-a439-00145eb45e9a>

⁸ <https://helcom.fi/media/publications/Manual-for-Marine-Monitoring-in-the-COMBINE-Programme-of-HELCOM.pdf>

⁹ <https://www.helcom.fi/wp-content/uploads/2019/08/Guidelines-for-monitoring-of-mesozooplankton.pdf>

-
- Een sampling schema van minstens 2x per maand wordt sterk aangeraden om langjarige trends te onderscheiden uit seizoenale variatie.
 - Meten van de lengte van de carapace van copepoden wordt als essentieel gezien.

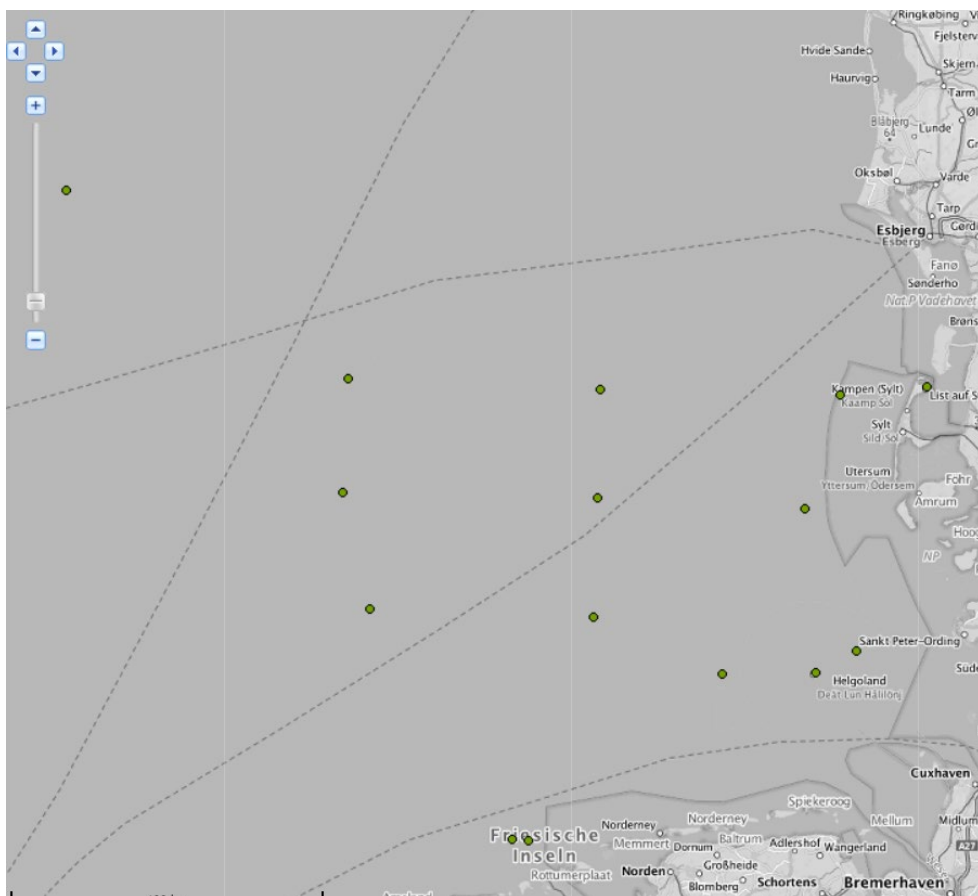
3.4.3 Duitsland:

In Duitsland ligt de verantwoordelijkheid voor de monitoring van het Noordzeegebied bij verschillende partijen. De deelstaten Nedersaksen en Schleswig-Holstein zijn verantwoordelijk voor de monitoring in hun kustwateren en de federale overheid is verantwoordelijk voor de monitoring in de open Noordzee. Voor het overzicht van de monitoring gedaan door Duitsland is er literatuuronderzoek gedaan. Daarnaast is er gesproken met Prof. Dr. Maarten Boersma van het Alfred Wegener Institute (AWI), die onder andere verantwoordelijk is voor de Helgoland Roads zoöplankton monitoring.

3.4.3.1 MSFD monitoring Duitsland

De Duitse monitoring van zoöplankton voor de MSFD (KRM, in Duitsland MSRL genoemd) wordt omschreven in een online handboek (BLMP, 2021). Er wordt gemonitord in de kustwateren van de deelstaten Nedersaksen (sinds 2016) en Schleswig-Holstein (sinds 2018), zie *Figuur 5*. Op de open Noordzee is gemonitord van 2008-2011, echter in 2012 is hier mee gestopt. Volgens Prof. Dr. Boersma zijn er plannen om de monitoring op de open Noordzee op korte termijn te hervatten, maar details hierover zijn nog niet bekend.

In het Duitse deel van de Oostzee wordt zoöplankton uitgebreider bemonsterd in het kader van HELCOM. Binnen HELCOM zijn zoöplankton indicatoren ontwikkeld (totale zoöplanktonbiomassa, -abundantie en gemiddelde individuele zoöplanktongrootte, zie HELCOM 2018). Voor deze bemonstering zijn uitgebreide richtlijnen beschikbaar (HELCOM 2021) voor zowel monsternamen als analyse en kwaliteitscontrole. Er worden verticale monsters genomen met een 100 µm WP2 net. De aanpak van zoöplanktonmonitoring binnen HELCOM in de Oostzee kan als voorbeeld dienen voor de monitoring op de Noordzee.



Figuur 5. Overzicht van monsterpunten in de Duitse Noordzee van BLMP (2021).

3.4.3.2 Helgoland Roads

De Helgoland Roads tijdserie is één van de langst lopende mariene plankton tijdseries van Europa¹⁰. Sinds 1975 wordt drie keer per week het zoöplankton bemonsterd op een station nabij Helgoland waarbij een diagonale trek wordt gedaan met een 150 µm Nansen net (opening 17 cm, lengte 100 cm) tot ca 5 meter diepte, en een horizontale trek wordt gedaan met een 500 µm CalCOFI net (100 mm diameter, 4 meter lengte). Monsters worden geconserveerd in 4 % formaldehyde (sinds 1981, daarvoor levend geanalyseerd). Zie voor een gedetailleerde beschrijving van de dataset en resultaten Greve et al. (2004) en Wiltshire et al. (2010).

3.4.3.3 Helgoland Underwater Observatory

Het Helgoland Underwater Observatory is een systeem van onderwater nodes¹¹ (aansluitingen voor data en stroom) waar partijen apparatuur kunnen neerzetten voor onderzoeken en tests. Op dit moment wordt hier ook getest met een CPICS onderwatermicroscop¹².

3.4.3.4 Opmerkingen/aanbevelingen Duitsland:

- Bij zoöplankton is de variatie in samenstelling en abundantie in ruimte en tijd dusdanig dat er gestreefd moet worden naar een zo hoog mogelijke resolutie in ruimte en/of tijd. Een praktisch compromis hierbij is om een klein aantal punten met een hoge frequentie te bemonsteren (één keer per week) en een groter aantal punten met een lagere frequentie (een aantal keer per jaar).
- Alvorens de monitoring begint dient er een lijst te worden gemaakt met aanwezige soorten en in de analyse te onderscheiden soorten/groepen.

¹⁰ <https://www.awi.de/en/science/biosciences/shelf-sea-system-ecology/working-groups/long-term-observations-lto/helgoland-roads-zooplankton.html>

¹¹ <https://www.awi.de/en/science/biosciences/shelf-sea-system-ecology/main-research-focus/cosyna/underwater-node-helgoland.html>

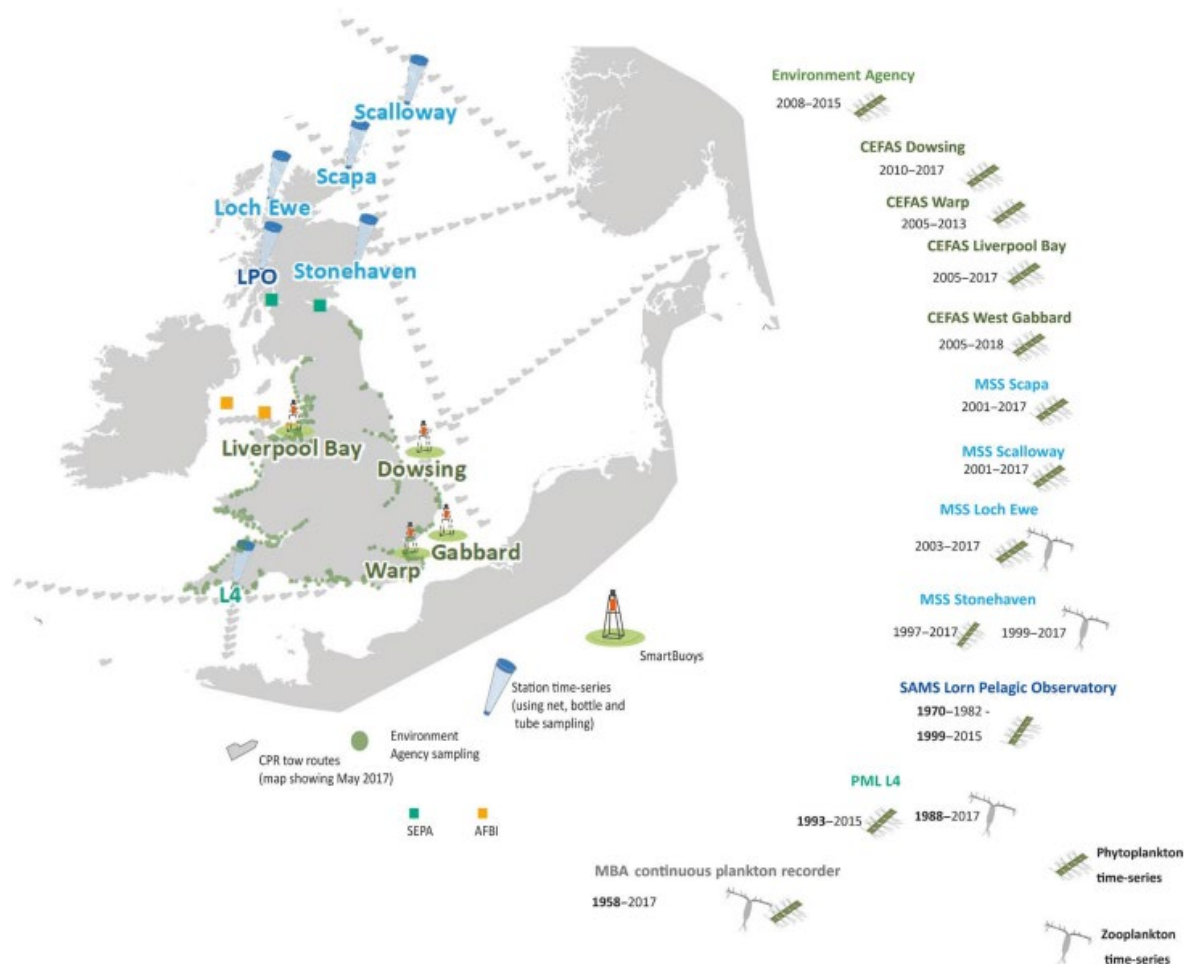
¹² <https://www.jerico-ri.eu/2021/07/21/the-helgoland-underwater-observatory-huwo-part-of-the-jerico-ri-north-sea-pilot-supersite-begins-to-collect-real-time-images-of-plankton/>

- Veel taxa, waaronder de meeste meroplanktonische larven, worden slechts tot zeer lage taxonomische resolutie geanalyseerd, ook in de Helgoland Roads monitoring. Het zou waardevol zijn als ook deze groepen op hogere taxonomische resolutie worden gemonitord.
- Bij de inzet voor langere termijn monitoring van vernieuwende technieken die nog volop in ontwikkeling zijn, is het belangrijk om na te denken over hoe de consistentie van de monitoringsresultaten gedurende de gehele monitoringsperiode gehandhaafd blijft.
- Voor DNA metabarcoding is er de aanbeveling om een extra set monsters te nemen en deze in te vriezen als archief, zodat toekomstige, verbeterde analysetechnieken ook op eerdere monsters kunnen worden toegepast.
- Er is op dit moment een gebrek aan personele capaciteit voor het analyseren van zoöplanktonmonsters doormiddel van morfologische taxonomie. Bij uitbesteding van de analyse kunnen de resultaten wisselend zijn. Voor de vergelijking van data van verschillende Noordzeelanden en consistentie van de monitoring in ruimte en tijd wordt aanbevolen om samenwerking te zoeken voor de analyse van de monsters.

3.4.4 Verenigd Koninkrijk

Planktonmonitoring in het Verenigd Koninkrijk bestaat uit een combinatie van continue, offshore bemonstering langs transecten met de Continuous Plankton Recorder, uit surveys van stations langs de kust en bemonsteringsprogramma's binnen 1 zeemijl van de kust (Bedford et al, 2020, *Figuur 6*). De CPR monitoring wordt elders in dit rapport behandeld.

Het netwerk in het VK omvat naast de offshore CPR bemonstering alleen kuststations die zijn bemonsterd door Plymouth Marine Laboratory (PML), Marine Scotland Science (MSS), de Scottish Association for Marine Science (SAMS) en het Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Science (Cefas), als ook de Environment Agency (EA) voor de bemonstering van de kustwaterkwaliteit. PML maakt daarbij gebruik van verticale trekken tot 50 m diepte met een 200µm WP2 net, terwijl MSS verticale trekken uitvoert tot een diepte van 40-45 meter met een 40 cm diameter Bongo net, ook met een maaswijdte van 200 µm. Het zoöplankton wordt geconserveerd in formaline en onder een lichtmicroscopio geanalyseerd op het aantal individuen van de soorten per m³ (Bedford et al. 2020).



Figuur 6. Plankton surveys die bijdragen aan het Britse plankton-monitoringnetwerk voor biodiversiteit overgenomen uit Bedford et al., 2020).

Naast deze monitoring in de Noordzee is in de Keltische zee een meer innovatief monitoringprogramma opgezet met behulp van in situ beeldanalyse (zie ook paragraaf 3.11.1) in combinatie met akoestiek data voor pelagische vis (Pitois et al., 2021). Doel is om een binnen HELCOM ontwikkelde indicator voor de gemiddelde lengte van copepoden en de totale dichtheid rechtstreeks te koppelen aan de ruimtelijke verdeling van de biomassa van pelagische vissoorten.

Haring, de soort met de sterkste voorkeur voor grotere prooien, was de enige vis met een statistisch significante positieve correlatie met de gemiddelde grootte van copepoden. De ruimtelijke verdeling toont een sterk patroon van de verspreiding van haring gerelateerd aan gebieden waar copepoden het grootste waren, ongeacht of de dichtheid daarvan het hoogst was. Dit laat zien dat de gemiddelde grootte van het zoöplankton een belangrijke indicatie kan zijn van de voedselwaarde in het voedselweb, in ieder geval voor de belangrijke pelagische vissoort haring die zelf een belangrijk voedsel vormt voor tal van grotere vissoorten, zeevogels en zeezoogdieren. De grootteverdeling van het zoöplankton zou met in situ imaging kunnen worden bepaald.

De plankton imager wordt door CEFAS tegelijkertijd met een FerryBox ingezet, zodat continu zowel zooplanktonsamenstelling als temperatuur, zoutgehalte en Chlorophyll A fluorescentie worden gemeten (Scott et al. 2022).

3.5 Conventionele methodieken

Een uitgebreide discussie van de beschikbare monsternametechnieken voor zoöplankton is te vinden in Castellani & Edwards (2017).

3.5.1 Monsternamen

Planktonnet

Een planktonnet bestaat uit een frame met daarin een netzak gemaakt van gaas met een bepaalde maaswijdte. Het planktonnet wordt door het water gesleept, waarbij het plankton dat niet door de mazen heen past in het net achterblijft, en uiteindelijk in een verzamelpot aan het eind van het net wordt geconcentreerd. Een planktonnet kan zowel horizontaal, verticaal als diagonaal (oblique) worden gesleept. Er bestaan ook planktonnetten die op diepte geopend en/of gesloten kunnen worden, zodat discrete waterlagen kunnen worden bemonsterd.

Met een planktonnet kan veel water worden gefilterd in korte tijd zodat ook organismen die in lage dichtheid voorkomen in voldoende aantallen kunnen worden verzameld. Het nadeel hiervan is dat het planktonnet bij een hoge dichtheid aan plankton verstopt kan raken. Verstopping van het planktonnet kan leiden tot onderschatting van abundantie doordat een groot deel van het water niet gefilterd wordt, maar langs de netopening stroomt.

Om verstopping en beschadiging te voorkomen worden planktonnetten meestal langzaam (met 1,5 knopen of minder) door het water gesleept. Hierom moet voor een bemonstering met een planktonnet het schip worden gestopt of de vaarsnelheid worden verminderd.

Een planktonnetbemonstering levert een gemiddelde planktondichtheid en -samenstelling over de door het net afgelegde afstand door het water.

Er is een grote variatie aan planktonnettypen met verschillende maaswijdtes en oppervlakte netopening. Dit maakt de onderlinge vergelijking van planktondataseries van verschillende monsterprogramma's vaak erg lastig.

De meest gebruikte monstermethode is een planktonnet omschreven als "WP-2 net". Dit is een standaard net, ontwikkeld door een werkgroep in opdracht van SCOR, ICES en UNESCO in de jaren 60 (UNESCO 1968). De WP-2 standaard bevat richtlijnen voor parameters zoals diameter van de netopening, lengte, ratio filterend oppervlak/netopening en ook maaswijdte. De standaard maaswijdte van het WP-2 net is 200 µm. Het HELCOM-protocol voor zoöplanktonbemonstering gaat echter uit van een maaswijdte van 100 µm. Wellicht voorkomt de beperkte trek lengte van 25 – 50 m dat het net verstopt. Bij een kleinere maaswijdte worden bepaalde groepen organismen beter verzameld, waaronder larven van bijvoorbeeld schelpdieren en de juveniele stadia van copepoden.

Daarnaast wordt in diverse monitoring (zie H3.3) gebruik gemaakt van andere typen netten, waaronder MIK (500 µm) en MIKey (200µm)-netten.

Planktontorpedo

Een planktontorpedo is in feite een planktonnet dat aan de voorzijde is voorzien van een kegel met een kleinere opening dan de diameter van de opening van het net. Dit zorgt ervoor dat de stroomsnelheid door het net vermindert, waardoor er met hogere snelheid kan worden gemonsterd dan met een planktonnet.

Continuous Plankton Recorder (CPR)

De CPR is een autonoom bemonsteringsapparaat wat achter een schip op een standaard diepte wordt gesleept, veelal door koopvaardij schepen op vaste routes met hoge snelheid tot wel 25 knopen. De CPR heeft een kleine opening (1.61 cm²) waardoor water naar binnen stroomt, dat gefilterd wordt

over planktongaas met 270 µm maaswijdte. Het gaas zit op een rol die, aangedreven door een impeller in de waterstroom, langzaam langs de opening passeert en opgerold wordt in een bad met formaline. Op deze manier wordt een continuumeting van planktondichtheid en -samenstelling verkregen.

Steekbuis

De steekbuis wordt voornamelijk in zoete binnenwateren gebruikt voor het nemen van oppervlaktemonsters (zie RWSV voorschrift 913.00.B300).

Waterhapper

Voor het nemen van watermonsters op een bepaalde diepte wordt een waterhapper gebruikt. De meest gebruikte waterhapper is de Niskin-fles. Op diepte wordt de fles op afstand gesloten. Meerdere Niskin flessen gecombineerd met een CTD sensor worden in RWS documentatie een rosettesampler genoemd.

Pomp

Met een pomp kan water opgepompt worden van een bepaalde diepte. Hiermee zijn grotere monstervolumes te verkrijgen dan met de waterhapper. Als pomp kan een speciale planktonpomp worden gebruikt, zoals de Continuous Underway Fish Eggs Sampler (CUFES). Ook wordt er door RWS gebruik gemaakt van een pomp op de meetvis. Het is ook mogelijk om gebruik te maken van de waterinlaat van het schip zelf, zoals bij de ferrybox.

Bij bemonstering met steekbuis, waterhapper en planktonpomp worden mesozooplanktonmonsters geconcentreerd door filtratie over gaas met een bepaalde maaswijdte. Microzooplanktonmonsters worden meestal niet geconcentreerd.

3.5.2 Conservering

Kwantitatieve zoöplanktonmonsters moeten na monsternamen direct worden geconserveerd om bederf en predatie in het monster te voorkomen. Hiervoor zijn verschillende manieren. Voor een beschrijving van de gebruikte chemicaliën wordt verwezen naar bijlage 12 STOWA handboek (Bijkerk & Beers, 2010).

De meest gebruikte methode van conservering van mesozooplanktonmonsters is toevoegen van een gebufferde 37% formaldehyde oplossing (formaline) tot een eindconcentratie van > 4% formaline. Daarna kan eventueel het formaldehyde worden uitgespoeld en het monster opgeslagen in 70 % ethanol. In sommige landen is het gebruik van formaldehyde niet meer toegestaan en wordt in plaats daarvan het minder schadelijke Lugol gebruikt. Voor microzooplankton wordt voornamelijk Lugol gebruikt.

Indien er genetische (DNA) analyses op de monsters moeten worden gedaan dan moeten deze geconserveerd worden in 96% ethanol en vervolgens worden ingevroren. Alhoewel het niet onmogelijk is om DNA te extraheren uit formaline geconserveerde monsters, zijn de resultaten daarvan erg variabel.

3.5.3 Conventionele analyse

Voor het bepalen van de dichtheid en samenstelling van zoöplankton in een monster wordt traditioneel gebruik gemaakt van een stereomicroscoop, waarmee de aantallen per taxon in een monster worden geteld. Omdat verschillende zoöplanktongroepen meestal in verschillende dichtheden voorkomen is het vaak nodig om deelmonsters te nemen voor de groepen die in hoge dichtheden voorkomen.

Voor het determineren van zoöplankton tot op soortniveau is het nodig om een preparaat te maken van het te determineren organisme en dit te bekijken met een samengestelde microscoop met hogere vergroting. Het determineren tot op soortniveau van zoöplankton vereist veel expertise en ervaring, en is vooral voor larven- en juveniele stadia van organismen erg lastig en vaak niet mogelijk. Ook is de analyse van zoöplanktonmonsters daarom erg tijdrovend; één enkel monster kost een ervaren

analist meerdere uren tot meerdere dagen, afhankelijk van de gewenste taxonomische resolutie en de diversiteit in het monster. Om deze reden wordt er vaak voor gekozen om zoöplanktonmonsters op lagere taxonomische resolutie te analyseren, op geslachts-niveau of zelfs tot op hoofdgroepen. Taxonomische expertise op het gebied van zoöplankton is erg schaars geworden. Meestal wordt de analyse van zoöplanktonmonsters uitbesteed aan specialistische laboratoria.

Het bepalen van de biomassa van zoöplankton kan zowel op basis van volume als op gewicht, waarbij bepaling op basis van volume het minst nauwkeurig is. Vaak wordt het versgewicht, drooggewicht en/of asvrij drooggewicht en/of koolstof- en stikstofhalte bepaald. In plaats van directe bepalingen van biomassa wordt er soms gebruik gemaakt van standaard omrekeningsfactoren voor verschillende taxa. Dit is het meest nauwkeurig als dit gebeurt op basis van metingen van grootteverdeling van de verschillende organismen, aangezien deze erg variabel kan zijn.

3.6 Innovatieve technieken

Bovengenoemde conventionele analysetechnieken voor zoöplankton vereisen schaarse expertise, zijn erg tijdrovend en daarom kostbaar. Gecombineerd met de vaak enorme variatie in ruimte en tijd van zoöplanktonsamenstelling en -dichtheden en de daarom nodige hoge monsterresolutie maakt dit het uitvoeren en onderhouden van zoöplanktonmonitoring een kostbare aangelegenheid.

De afgelopen decennia worden er echter steeds meer innovatieve technieken ontwikkeld die het mogelijk kunnen maken om zoöplankton op de benodigde hoge taxonomische, ruimtelijke en/of temporele resolutie (kosten)efficiënt te bemonsteren. Elke techniek heeft zijn voor- en nadelen, en geen enkele techniek zal een allround oplossing zijn voor zoöplanktonbemonstering. In dit deel wordt een overzicht gegeven van de beschikbare innovatieve monstertechnieken en hun voor- en nadelen. Een gedetailleerd overzicht van technieken beschikbaar voor het monitoren van plankton is te vinden in Lombard et al. (2019). Voor deze technieken geldt ook dat expertise nog schaars is, maar wel ontwikkeld wordt.

3.6.1 In-situ imaging

Bij in-situ imaging worden beelden verzameld van plankton en andere deeltjes in de natuurlijke omgeving. Deze techniek maakt gebruik van verschillende technologische ontwikkelingen:

1. Verbetering in de resolutie en lichtgevoeligheid van beeldsensoren maken het mogelijk om hoge resolutie beelden te verzamelen van microscopisch kleine bewegende deeltjes,
2. Toename van snelle data opslagcapaciteit maakt het mogelijk om hoge resolutie beelden met hoge frequentie weg te schrijven en op te slaan,
3. Ontwikkeling van computeralgoritmen voor het automatisch classificeren van beelden in verschillende planktongroepen maakt het mogelijk om de miljoenen verzamelde beeldjes efficiënt te classificeren.

Voordelen

Het grote voordeel van in-situ imaging ten opzichte van netmonsters is de grote resolutie in ruimte en tijd die in potentie mogelijk is. Er hoeven geen fysieke monsters verzameld en geanalyseerd te worden waardoor de techniek erg goed schaalbaar is, mits er gebruik wordt gemaakt van automatische classificatie. Als er simultaan met de plankton imaging bemonstering omgevingsvariabelen worden gemeten kunnen deze gegevens gekoppeld worden aan de beelden zodat van elk beeldje bekend is bij bijvoorbeeld welke diepte, temperatuur en zoutgehalte deze is verzameld. Verder kunnen de organismen op de beelden worden gemeten voor bijvoorbeeld grootteverdelingen en biomassaschattingen.

Nadelen

Een nadeel is dat er nog geen gestandaardiseerde methode is en verschillende systemen toegepast en verder ontwikkeld worden. Daarnaast kan door het ontbreken van fysieke monsters geen andere

controle plaatsvinden dan op basis van de gemaakte beelden. De aanwezigheid van grote hoeveelheden deeltjes als slib of zand zorgt voor de opslag van irrelevante data. Dit stelt eisen aan de dataopslagcapaciteit.

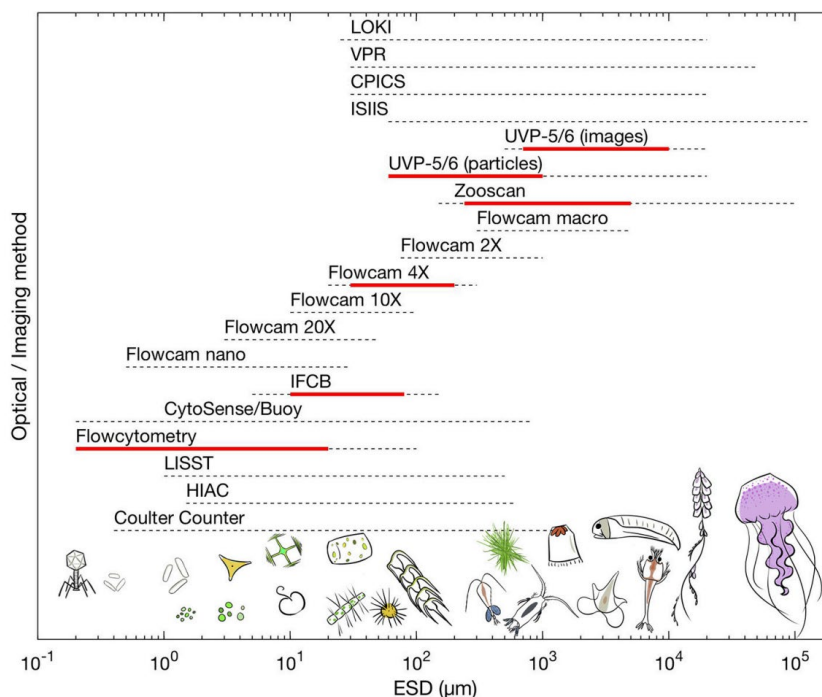
Hoe het werkt

Er zijn imaging systemen die gesleept worden achter een schip en systemen die verticaal worden gebruikt. Van het langs stromende water worden met hoge frequentie beelden gemaakt. Er zijn ook systemen voor gebruik aan boord van een schip of vanaf de wal, waarbij water wordt opgepompt en door een flow cell stroomt waarin de beelden worden gemaakt.

De meeste systemen bestaan uit een lichtbron die een bepaald volume aan water belicht, waarbij het door deeltjes gereflecteerde licht wordt gefocust door een set lenzen en geregistreerd door een beeldsensor. De beelden kunnen worden opgeslagen voor latere analyse maar er zijn ook systemen waarbij direct de deeltjes (Regions Of Interest, ROI) worden uitgeknipt op basis van selectiecriteria als contrast, grootte en scherpte. Dit zorgt ervoor dat er minder opslagruimte nodig is voor opslag van de beelden. Ook het direct in situ classificeren van de beelden in verschillende groepen met computeralgoritmen is mogelijk, alhoewel dit nog sterk in ontwikkeling is. Het nadeel van het direct selecteren en/of classificeren van ROIs in situ is dat kwaliteitscontrole achteraf lastiger is, en dat bij nieuwe ontwikkelingen op het gebied van ROI selectie en classificatie de data niet opnieuw met de best beschikbare technieken kan worden geanalyseerd.

Keuze van systemen

Plankton bestaat uit een breed scala aan grootteklassen variërend binnen zes ordes van grootte, van virussen tot grote kwallen, waarvan het voorkomen in het water ook met net zoveel ordes van grootte varieert. Over het algemeen geldt hoe groter het organisme, hoe lager de dichtheid. Geen enkel systeem is geschikt voor het kwantitatief bemonsteren van alle grootteklassen. Systemen met een hoge resolutie geschikt voor kleine deeltjes hebben doorgaans een geringe scherptediepte en bemonsteren dus een beperkt volume aan water, terwijl systemen gericht op grotere deeltjes in grotere watervolumes niet geschikt zijn voor het bemonsteren van kleinere grootteklassen. Door deze trade-off is het bij de keuze voor een imaging systeem erg belangrijk om te kijken wat de beoogde grootteklassen zijn die gemonitord moeten worden, in welke dichtheden deze organismen voorkomen en of het monstervolume van het imaging systeem groot genoeg is om de doelgroepen kwantitatief te bemonsteren. In *Figuur 7* zijn een aantal voorbeelden van systemen en het deeltjesgroottebereik waarvoor zij inzetbaar zijn.



Figuur 7. Overzicht van een aantal imaging systemen en de grootteklasse van deeltjes die met deze systemen kunnen worden gedetecteerd (uit Lombard et al. 2019).

Het deeltjesgroottebereik dat een instrument ook daadwerkelijk nauwkeurig genoeg kwantitatief kan bemonsteren is vaak kleiner dan het totale deeltjesgroottebereik aangezien dit ook afhangt van de hoeveelheid water die het instrument per ruimte- en tijdseenheid kan bemonsteren en de dichtheid van de te bemonsteren deeltjes.

Voor een overzicht van een aantal systemen, hun eigenschappen en kosten, zie tabel 1 in Lombard et al. (2019). Op dit moment zijn er al diverse instituten in Noordzee-landen die plankton imaging toepassen:

- NIOZ:
 - Continuous Particle Imaging and Classification System (CPICS)
 - In-Situ Ichthyoplankton Imaging System Technology (ISIIS)
- VLIZ (België): Video Plankton Recorder (VPR)
- CEFAS (Verenigd Koninkrijk): Plankton Imager
- HEREON (Duitsland): Diverse systemen, o.a. CPICS

Voorbeelden van toepassingen

In de Noordzee is de Video Plankton Recorder gebruikt bij een studie naar de impact van windmolenparken op het pelagische systeem (Floeter et al., 2017). Met de VPR werden transecten gevaren terwijl het instrument unduleerde tussen bodem en oppervlak. Hiermee konden duidelijke patronen in ruimtelijke verspreiding van verschillende planktongroepen worden onderscheiden.

In de oostelijke kanaalregio is tijdens een CEFAS survey voor pelagische vis een Plankton Imager ingezet. Dit apparaat onderscheidt zich van de meeste andere imaging systemen doordat het aan boord van het schip staat; met een pomp wordt water ingenomen dat door een flow cell met camera stroomt (Pitois et al., 2021). Het apparaat kan tegelijk met een FerryBox worden gebruikt zodat simultaan data over zoöplankton, temperatuur, zoutgehalte en Chlorophyll-A (hoeveelheid algen) kan worden verzameld (Scott et al., 2022).

Op het Grevelingenmeer en de Oosterschelde is door NIOZ een monitoringsprogramma uitgevoerd waarbij parallel metingen met de CPICS werden gedaan, en diepte-gestratificeerde netmonsters werden genomen, om o.a. onderzoek te doen naar de gevolgen van zuurstofgebrek in het Grevelingenmeer voor het pelagisch systeem.

3.6.2 Beeldanalyse monsters

Er zijn verschillende optische technieken die gebruikt kunnen worden voor detectie en identificatie van zoöplankton. Hierbij wordt een optisch beeld vastgelegd van een bepaald volume water (monster), gevolgd door digitale beeldverwerking voor detectie van de individuele organismen. De grootte en morfologie die van deze individuen zijn verkregen, maakt vervolgens classificatie en taxonomische identificatie van de organismen mogelijk, evenals bruikbare kwantitatieve statistieken zoals biovolume. Het voordeel van beeldanalyse systemen is dat het geautomatiseerd kan worden en daarmee tijdrovende microscopische identificatie niet nodig is. Het systeem dient vooraf echter wel geleerd te worden welke taxonomische groepen herkend kunnen worden.

Hoewel optische bemonsteringssystemen voor zoöplankton al meer dan twee decennia in gebruik zijn, zijn de verbeteringen nog steeds aan de gang en zijn er nog geen gestandaardiseerde methoden (Benfield et al., 2007; Lombard et al., 2019). Bij verschillende laboratoria worden systemen ontwikkeld, die zijn aangepast aan de eigen behoeften, meestal op prototypeniveau voor verschillende in-situ toepassingen in verschillende habitats, waaronder zoetwater-, kust- of oceanische zones (Lombard et al., 2019). De belangrijkste systemen zijn in *Tabel 2* samengevat.

ZooScan is een van de meest gebruikte systemen en bijna een wereldwijde standaard. Met dit systeem kunnen geconserveerde monsters worden geanalyseerd die met netten of pompen verzameld

en geconcentreerd zijn. De basis van het systeem is een flatbed scanner die het mogelijk maakt om een afbeelding met een zeer hoge resolutie van monsters te maken die met een net zijn verzameld. Het aantal individuele organismen dat bij elke scan wordt verwerkt, kan tussen 1000 - 2000 liggen. Nadat het scannen is voltooid, worden de afbeeldingen verwerkt met het ZooProcess en geüpload naar EcoTaxa (Picheral et al., 2017¹³), die semi-automatische classificatie mogelijk maakt. Semi-automatische classificatie verwijst naar de annotatieprocedure, een automatische classificatie gevolgd door handmatige verificatie.

Tabel 2. Beknopt overzicht van beeldanalyse systemen

Naam	Grootte bereik	Monster volume	Gebruik aan boord	Monster behandeling	Referentie
Zooscan	>200 µm	200 -1000 ml / sample	Nee	Flatbed Scanner	(Gorsky et al. 2010)
FlowCam	3 – 3000 µm	750 ml/ min	Ja	Doorstroom	(Le Bourg et al. 2015)
ZooCam	> 300 µm	280 – 1700 ml / min	Ja	Doorstroom	(Colas et al. 2018)
LiZA/PIA (Line scanning Zooplankton Analyser)	>200 µm	10/20 liter / minuut	Ja	Doorstroom	(Culverhouse et al. 2015)

3.6.3 DNA

DNA-metabarcoding is een moderne methode om soorten te identificeren. Het kan dan ook gebruikt worden om snel de samenstelling van zoöplanktonsoorten te bepalen. Het maakt de identificatie mogelijk van veel verschillende soorten die tot één of meerdere taxonomische groepen behoren, zonder enige voorkennis van de verspreiding van soorten in het studiegebied. DNA-metabarcoding is vooral krachtig voor het oplossen van taxondiversiteit in groepen die morfologisch moeilijk te onderscheiden zijn, zoals larvale stadia van scheldpieten en andere ongewervelden of vissoorten die onderscheidende morfologische kenmerken missen. DNA metabarcoding wordt al veelvuldig toegepast in onderzoeken naar diversiteit van zoöplankton (Bucklin et al., 2016).

Bij DNA-metabarcoding kan onderscheid worden gemaakt in environmental DNA (eDNA), DNA uit losse cellen, slijm, uitwerpselen e.d., en bulk DNA, DNA van verzamelde organismen uit bijvoorbeeld een netmonster. Bij eDNA hoeft er slechts een watermonster genomen worden. Het nadeel van eDNA bemonstering is dat allerlei factoren de aanwezigheid van eDNA kunnen beïnvloeden en ook de gebruikte analysemethode veel invloed kan hebben op de resultaten. Hierdoor is kwantitatieve analyse lastig. Bij bulk DNA monsters wordt veel meer materiaal gebruikt en is kwantificatie van taxa in het monster doormiddel van aantal afgelezen DNA sequenties (read abundance) per taxon beter mogelijk.

Verzamelde monsters dienen zo schoon mogelijk verzameld te worden en geconserveerd te worden met 96% ethanol en voorafgaand aan de analyse bij -20°C opgeslagen te worden.

Bij DNA-metabarcoding wordt een monster geanalyseerd door PCR-amplificatie van een of enkele orthologe DNA-regio's, barcodes genaamd, met behulp van universele PCR-primers die deze regio versterken voor een hele groep soorten (bijvoorbeeld vissen, roeipootkreeftjes of raderdiertjes, of alle eukaryoten). Na PCR-amplificatie worden de producten (amplicons) gesequenced door Next-Generation Sequencing (NGS). NGS-technologieën maken de bepaling van de nucleotidesequentie van de afzonderlijke streepjescodes in een mengsel mogelijk en produceren duizenden of miljoenen sequenties tegelijk. De geamplificeerde sequenties worden vervolgens gekoppeld aan sequenties in een referentiedatabase om een lijst van aanwezige soorten te genereren. Het is bij metabarcoding erg

¹³ <https://ecotaxa.obs-vlfr.fr/>

belangrijk dat de referentiedatabase waarmee sequenties worden gekoppeld compleet en gestandaardiseerd is. Hiervoor lopen verschillende initiatieven. Voor zoöplankton wereldwijd is er de MetaZooGene Barcode Atlas and Database (MZGdb, Bucklin et al., 2021). In Nederland is er het initiatief van ARISE van Naturalis e.a. waarbij het doel is om een database van alle meercellige organismen van Nederland aan te leggen (www.arise-biodiversity.nl).

Een pilotstudie in 2018 waarbij zoöplanktonmonsters werden genomen langs een transect in de Nederlandse en Britse Noordzee met metabarcoding werden geanalyseerd liet een hoge diversiteit zien, waaronder erg veel meroplankton (larven). Er was een duidelijke trend in read abundance versus locatie te zien in verschillende taxa. Wel bleek dat voor veel taxa er nog geen goede referentiesequentie aanwezig was (Macher et al. 2020).

Met DNA technieken kunnen gericht exoten worden gedetecteerd, mits er gegevens in referentie databases beschikbaar zijn (Bucklin et al., 2016). Ook kan er afhankelijk van de gebruikte merker vaak zelfs intraspecifieke variatie worden gemeten, wat bruikbare informatie over populatiestructuur, verspreidingspatronen of herkomst van exoten kan opleveren.

Formaline is niet geschikt voor conservering van monsters voor genetische analyse, echter recente ontwikkelingen laten zien dat het wel degelijk mogelijk is om DNA metabarcoding toe te passen op oude formale monsters (Shiozaki et al. 2021), bijvoorbeeld die van de CPR.

3.6.4 Akoestiek

Onderwater akoestische technieken die worden gebruikt om mariene organismen te bestuderen, zijn gebaseerd op twee verschillende principes; actieve en passieve akoestiek. Passieve akoestische technieken zijn voornamelijk gericht op het signaleren van onderwatergeluiden om het onderwatergeluid, akoestische ruis en het gedrag van organismen waar te nemen. Bij actieve akoestische apparatuur wordt een geluidspuls in het water uitgezonden en worden de terugkerende echo's gemeten. De kwantitatieve schatting van de abundantie van mariene organismen wordt voornamelijk uitgevoerd door actieve akoestiek. De uitgezonden akoestische puls is kort (in de orde van milliseconden of minder), energie-intens en nauw gefocust. De reistijd en sterkte van de geretourneerde echo's worden omgezet in diepte en volumetrische grootheden ten opzichte van het uitgezonden vermogen. Deze hoeveelheden worden uiteindelijk omgezet in biologische grootheden zoals abundantie en biomassa. De actieve akoestische technieken vereisen dat de organismen van belang een voldoende impedantieverschil (dichtheid en geluidssnelheidcontrast) hebben ten opzichte van het water. Bovendien moet hun grootte groot genoeg zijn ten opzichte van de akoestische frequentie (golflengte). Wanneer aan deze voorwaarde is voldaan, kunnen deze doelen echo's genereren die sterk genoeg zijn (sterker dan het achtergrondgeluid) om te worden gedetecteerd en gemeten door de akoestische apparatuur. De belangrijkste overwegingen voor deze techniek zijn ruis, bereik van geluiddemping en het samen voorkomen van verschillende soorten met verschillende backscattering eigenschappen.

Voor de detectie van verschillende typen van organismen kunnen verschillende frequenties worden toegepast. Met de detectie van vissen, met name die met een zwemblaas, worden goed toepasbare resultaten behaald om de ruimtelijke verspreiding van (scholen) van vis in de waterkolom te bepalen. Voor de detectie van zoöplankton zijn er duidelijke beperkingen. Dit hangt samen met de geringe grootte van de organismen, het zachte weefsel waaruit zoöplankton doorgaans bestaat en het minder geclusterd voorkomen in de waterkolom ten opzichte van vis. Daarnaast bevat vooral het kustwater ook veel slibdeeltjes die wat betreft grootte en dichtheid vergelijkbaar zijn met zoöplankton. Om deze redenen is er altijd verificatie nodig door middel van (diepte gestratificeerd) net-bemonsteringen om te bepalen waar het waargenomen akoestische signaal betrekking op heeft.

Door Pitois et al. (2021) is de akoestische monitoring van pelagische vis gekoppeld aan in situ imaging van zoöplankton om zo de relatie te bepalen tussen ruimtelijke grootte-verdeling van het zoöplankton en de aanwezigheid van predatoren. Dit lijkt een veelbelovende aanpak voor de studie naar de voedselbeschikbaarheid van pelagische vis in de vorm van zoöplankton op een relevante ruimtelijke schaal.

3.7 Evaluatie methodieken

Een samenvatting van de verschillende methodieken en hun voor- en nadelen is te vinden in *Tabel 3*. Een combinatie van verschillende technieken is waarschijnlijk de beste optie. Wij bevelen aan om in de basis netmonsters te nemen en deze met verschillende technieken te analyseren.

Voor het beantwoorden van de kennisvragen van de monitoring zijn ook onderzoeken nodig met een hoge resolutie in ruimte en tijd. Met traditionele morfologische analyse van monsters wordt dit erg kostbaar. In-situ imaging, waar mogelijk aangevuld met akoestische metingen, is hiervoor de aangewezen methode.

3.7.1 Methodiek netmonsters

Om een goede vergelijking te kunnen maken tussen de verschillende analysetechnieken van monsters wordt aanbevolen om de verzamelde monsters op de volgende manier te analyseren.

Aanbevolen wordt om voor de standaard verticale netbemonstering een vergelijkbare aanpak en analysemethode te kiezen als gebruikt wordt door het VLIZ:

- Monsternamen met een WP2 net, verticaal van bij de bodem tot het oppervlak. Hierbij wordt op elke monsterpunt minimaal genomen:
 - Twee monsters geconserveerd op formaline zoals omschreven in Lifewatch protocol,
 - Twee monsters geconserveerd op Ethanol zoals omschreven bij het onderdeel "DNA metabarcoding".
- Analyse van de formaline monsters met de Zooscan volgens Lifewatch protocol. Ook CEFAS gebruikt de Zooscan.
- Analyse van een deel van de formalmonsters op soortensamenstelling door middel van morfologische identificatie. Vanwege een gebrek aan huidige capaciteit en expertise in Nederland adviseren wij om deze in Nederland uit te breiden of uit te besteden aan een hierin gespecialiseerde partij zoals het NMFRI Plankton Sorting and Identification Center (Polen) of het lab van de Marine Biological Association (UK) waar de CPR monsters worden geanalyseerd.
- Analyse van ethanolmonsters voor biodiversiteit/soortensamenstelling door middel van DNA metabarcoding volgens best beschikbare techniek. Eventueel eerst één van de duplo monsters analyseren en het andere monster bewaren ter referentie.

Aandachtspunt: maaswijdte

De maaswijdte van planktonnetten gebruikt in bestaande monitoringsprogramma's is erg variabel; 200 µm (VLIZ, WP2 "standaard"), 150 µm (AWI, Helgoland Roads), 80 µm (CEFAS), 100 µm (HELCOM). Het is daarom lastig om hier een eenduidig advies te geven. Indien gekozen wordt voor een programma gelijkend aan dat van het VLIZ dan zou 200 µm aan te bevelen zijn. Eventueel kunnen er extra pilotbemonsteringen met een 100 µm net worden gedaan om te kijken hoe welke fractie plankton door het 200 µm wordt gemist. Gallienne & Robins (2001) geven een duidelijk overzicht van wat er wordt gemist met een 200 µm maaswijdte. Dit zijn vooral juveniele stadia van copepoden, meroplankton en kleine Cyclopoide copepoden (*Oithona* sp.).

3.7.2 Methodiek in situ imaging

Er zijn veel verschillende in situ imaging systemen ontwikkeld of in ontwikkeling, elk met zijn eigen optimale grootteklasse/volumebereik en toepassing. Tests met verschillende systemen zijn daarom aanbevolen voordat definitief gekozen wordt voor een bepaald systeem.

Systeem aan boord

Voor routinematige monitoring langs vaste transecten is misschien een ferrybox-achtig systeem aan boord van een schip beter geschikt. De eerder beschreven Plankton Imager wordt door CEFAS reeds tegelijkertijd met de FerryBox ingezet (Scott et al. 2022) en er worden data mee verzameld die gebruikt worden voor mogelijke OSPAR indicatoren (Pitois et al. 2021). Dit systeem lijkt het meest geschikt voor reguliere monitoring van zoöplankton omdat er geen extra scheepstijd voor nodig is en er toch met hoge resolutie in ruimte en tijd wordt gemonsterd. Het zou wellicht een aanvulling kunnen

zijn op de geplande FerryBox monitoring van RWS (Knotters et al. 2021). Een nadeel is dat met deze bemonstering alleen oppervlaktewater wordt bemonsterd.

Gesleept systeem

Voor het bepalen van de verticale verdeling van plankton in relatie tot gelaagdheid en nieuw gebruik, zoals windmolenparken, is een gesleept systeem nodig. Belangrijk bij gesleepte systemen is dat het bemonsterde watervolume in ruimte en tijd aangepast is aan de te verwachten dichtheden van de doel-planktongroepen. Voor groepen met een lagere dichtheid zoals vislarven en kwalachtigen moet het bemonsterde watervolume veel groter zijn als voor copepoden die in hogere dichtheid voorkomen. Het NIOZ heeft na een evaluatie van de beschikbare systemen gekozen voor het ISIIS (In Situ Ichtyoplankton Imaging System). Dit systeem wordt in 2022 door NIOZ ingezet en getest op de Noordzee. Door gebruik van de "shadowgraph" techniek kan met dit systeem een groot volume aan water worden bemonsterd, wat het systeem bij uitstek geschikt maakt voor mesozooplankton maar ook macrozooplankton zoals vislarven en kwalachtigen.

Dataverwerking plankton imaging

De hoeveelheid beelden die worden verzameld bij plankton imaging is al snel in de orde grootte van miljoenen; het is dus nodig om deze met computer algoritmen te classificeren.

Voor het bepalen van de verticale verdeling van plankton in relatie tot gelaagdheid en nieuw gebruik, zoals windmolenparken, is een gesleept systeem nodig. Voor routinematige monitoring langs vaste transecten is misschien een ferrybox-achtig systeem aan boord van een schip beter geschikt.

Volgende pagina:

Tabel 3. Overzicht van beschikbare methodieken met hun toepassingen, voor- en nadelen. Met een kleurcode is de geschiktheid van de techniek voor het meten van de parameter aangegeven; groen: geschikt, oranje: potentieel geschikt/suboptimaal, rood: niet geschikt. Een kwalitatieve indicatie van de kosten wordt gegeven door €: lage kosten, €: gemiddelde kosten, €€€: hoge kosten.

Methode	Doelgroep	Geschikt voor			kosten		schaalbaarheid	belangrijkste voordelen	belangrijkste nadelen
Bemonstering	Analyse	dichtheid	grootte verdeling	biomassa	biodiversiteit	(hoge) resolutie	initieel per monster		
water bemonstering (net, pomp, bemonsterapparaat)	microscopische ID						€	standaard, bewezen methode, meer dan een eeuw gebruikt. Monsters kunnen worden gearchiveerd voor referentie. Determinatie tot op soortniveau mogelijk voor veel taxa.	Gifige stoffen nodig voor conservering, waardoor veiligheidsaspecten voor monsternamen, -opslag en -analyse hoog zijn. Taxonomische expertise is schaars. Analyse kan erg veel tijd kosten, vooral als hoge taxonomische resolutie is gewenst.
water bemonstering (net, pomp, bemonsterapparaat)	zooscan imaging						€	kan worden gebruikt in troebel water, kan toegepast worden op standaard netbemonstering. Kosteneffectief omdat een deel van de analyse kan worden geautomatiseerd. Op de beelden kunnen organismen worden gemeten voor grootteverdeling en biomassa schatting. Beelden kunnen worden gearchiveerd.	Gifige stoffen nodig voor conservering, waardoor veiligheidsaspecten voor monsternamen, -opslag en -analyse hoog zijn. Taxonomische resolutie lager dan bij microscopische identificatie.
water bemonstering (net, pomp, bemonsterapparaat)	DNA metabarcoding	potentieel	potentieel				€	kan worden gebruikt in troebel water, kan toegepast worden op standaard netbemonstering. Hoogste taxonomische resolutie van alle methoden, tot zelfs intra-specifieke variatie.	Resultaten afhankelijk van kwaliteit en compleetheid DNA referentiedatabase. Bruikbaarheid voor kwantitatieve monitoring nog beperkt, maar veel ontwikkeling op dit vlak. Conserveringsmethode belangrijk. Vriescapaciteit nodig voor opslag.
In-situ imaging	onboard systeem (Plankton Imager)					geen verticale resolutie	€	Hoge resolutie in ruimte en tijd mogelijk. Automatische classificatie beelden mogelijk. Op de beelden kunnen organismen worden gemeten voor grootteverdeling en biomassa schatting. Verzamelen, analyseren en bewaren fysieke monsters niet nodig. Kan tegelijk met andere scheepsactiviteiten worden uitgevoerd.	Taxonomische resolutie beperkt. Bemonstering op één vaste waterdiepte. Niet geschikt voor grote en fragiele organismen door pomp en inlaatgrootte.
In-situ imaging	in-water systeem						€	Hoge resolutie in ruimte en tijd mogelijk, ook in het verticaal. Automatische classificatie beelden mogelijk. Op de beelden kunnen organismen worden gemeten voor grootteverdeling en biomassa schatting. Verzamelen, analyseren en bewaren fysieke monsters niet nodig. Kan op verschillende platformen worden ingezet.	Taxonomische resolutie beperkt. Niet mogelijk in troebel water. Specialistische apparatuur nodig.
Akoestiek	zooplankton/vis						€	Hoogste resolutie in ruimte en tijd, inclusief verticaal. Geeft ook informatie over pelagische vis.	Geen taxonomische identificatie mogelijk

4 Opzet voor een meetplan

4.1 Strategie voor de ontwikkeling van een meetplan

Uit deze verkennende studie naar de mogelijkheden voor zoöplanktonmonitoring op het NCP komt naar voren dat er diverse innovatieve monstermethodes zijn die veelbelovend zijn maar die nog wel getest moeten worden voordat zij voor de routinematige monitoring worden ingezet. Ook om te bepalen hoeveel tijd en analysecapaciteit er nodig is voor de uit te voeren monitoring is het belangrijk dat er eerst een aantal testvaartochten worden gedaan voordat met de daadwerkelijke monitoring wordt begonnen. Daarom bevelen wij aan om in de eenjarige pilotfase niet meteen te beginnen met hoge resolutie monitoring maar in plaats daarvan met een aantal gerichte pilotvaartochten en –studies om de openstaande vragen te beantwoorden, de benodigde informatie te verzamelen en onzekerheden weg te nemen.

Globaal is de fasering als volgt.

1e jaar focus op:

- analyse van literatuur en informatie van (buitenlandse) experts en OSPAR
- Selecteren van locaties en frequentie
- Analyse van bestaande data (o.a. CPR), beschikbare monsters
- ontwikkelen technieken in veldsurvey
- Verzamelen referentiegegevens voor:
 - Lijst met (potentiële) soorten
 - DNA metabarcoding
 - imaging
- testen van een of twee monitoringcampagnes,

2e-5e jaar uitvoering volledig monitoringprogramma

4.1.1 Analyse literatuur en informatie

Het is van groot belang dat het te ontwikkelen monitoringprogramma goed aansluit bij internationale ontwikkelingen en afspraken. Dit jaar brengt OSPAR een beoordeling van pelagische habitats, dus ook zoöplankton, uit. Dit gebeurt momenteel door academici uit het Verenigd Koninkrijk en Frankrijk en voor zoöplankton vooral gebaseerd op CPR data. Verwacht wordt dat klimaatverandering naar voren zal komen als een drijvende factor achter veranderingen in samenstelling abundantie en grootte (van individuen).

Contact dient te worden opgenomen met de Nederlandse betrokkenen bij OSPAR en met buitenlandse experts die hier inhoudelijke inbreng leveren.

4.1.2 Selectie monsterlocaties

4.1.2.1 Afstemming monitoring voedselweb

Zoöplankton vormt de schakel tussen primaire producenten (fytoplankton) en hogere trofische niveaus (vissen, zeezoogdieren). Daarom is het belangrijk dat een zoöplanktonmonitoringsprogramma goed aansluit bij de monitoring van deze andere onderdelen van het voedselweb, en de OSPAR/KRM indicatoren die daarvoor worden gemonitord.

Afstemmen met andere MONS projecten

Prim Prod	Dick, Karline
Pelagische vis	Ralf van Hal
Abiotiek	Anouk Blauw

Kaart(en) met:

- MWTL stations
- Natura 2000 gebieden
- Windparken (ruimtelijk gebruik van het NCP)
- Stratificatie (bijv. ecohydrodynamische zones, van Leeuwen et al. 2015)
- Coverage CPR
- ICES kwadranten
- Eutrofiëringsgebieden OSPAR

Ecohydrodynamische zones zijn gebaseerd op waterkolomeigenschappen zoals optreden van- en frequentie van stratificatie en de invloed van zoetwater input. Op basis van deze kenmerken zijn er in van Leeuwen et al. 2015, *Figuur 8*) verschillende ecohydrodynamische zones onderscheiden in de Noordzee; zones die permanent gestratificeerd zijn, zones die seizoensgebonden gestratificeerd zijn, zones die permanent gemengd zijn, zones beïnvloed door zoetwater input en zones die onregelmatig gestratificeerd zijn.

In de Nederlandse Noordzee komt seizoensgebonden gelaagdheid voor in het Noordelijke deel, de Oestergronden. Vrijwel de hele kustzone van de Nederlandse Noordzee wordt gekenmerkt door beïnvloeding door zoetwater input, Verder offshore is de Nederlandse Noordzee onregelmatig gestratificeerd met grote verschillen tussen de jaren.

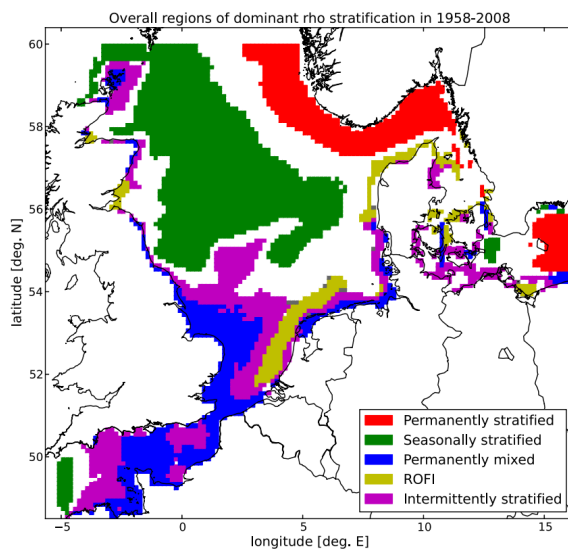


Figure 5. Time median results of the modelled, annual regions in the North Sea based on density stratification. Transparent areas indicate areas where the dominant regime occurs for less than 50% of the time (less visible due to minimal occurrence).

Figuur 8. Ecohydrodynamische zones in het Noordzeegebied (van Leeuwen et al., 2015).

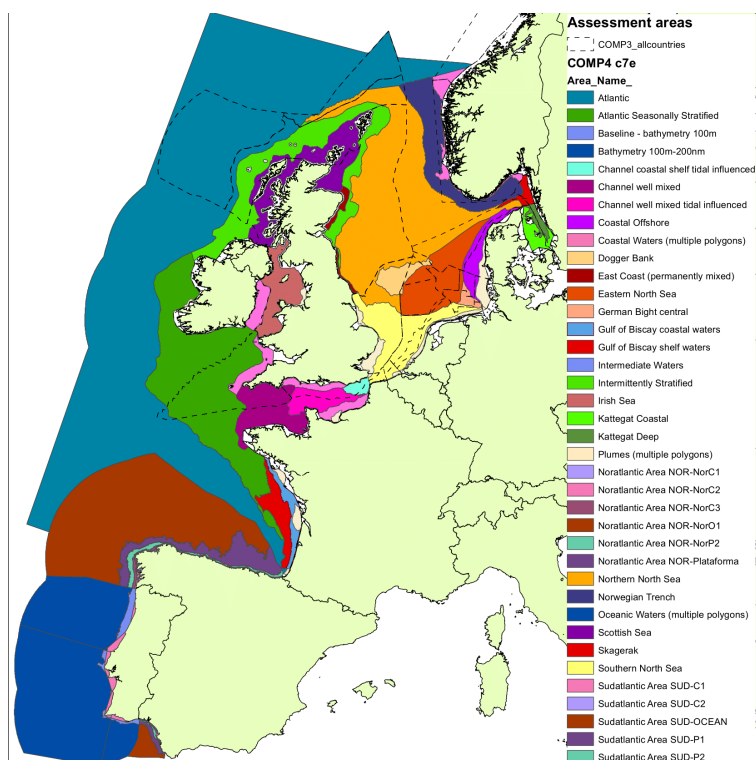
Voor de monitoring van eutrofiëring is de OSPAR regio op een vergelijkbare manier in gebieden opgedeeld, waarbij is gekeken naar gelaagdheid en seizoenspatronen van chl a, diepte, stratificatie en saliniteit (OSPAR COMP4 assessment units, *Figuur 9*). Voor eutrofiëring is het plan om oppervlakteconcentratie chl a te meten door middel van remote sensing, aangevuld en gevalideerd met in situ metingen¹⁴. Voor deze monitoring is het plan dat er in elk deelgebied (zie *Figuur 10*) in drie perioden in het jaar een monster genomen wordt, waarbij de perioden zijn:

- 1e periode maart – april
- 2e periode mei – juni
- 3e periode juli – september

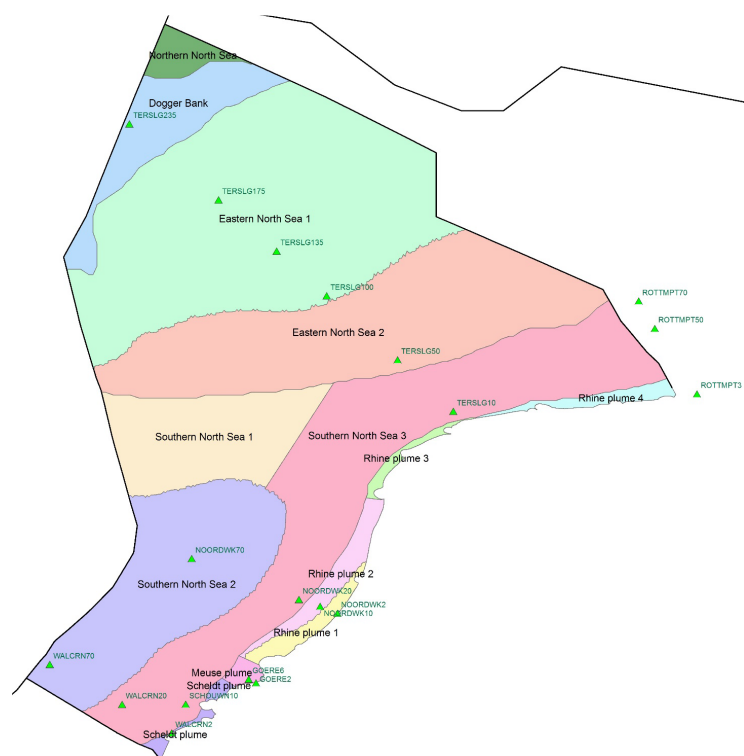
Voor de zoöplanktonmonitoring zouden deze perioden ook aangehouden kunnen worden waarbij moet worden opgemerkt dat de zoöplanktonbloei in het voorjaar volgt op die van het fytoplankton. Daarom,

¹⁴ <https://www.informatiehuismarien.nl/projecten/algaeevaluated/>

en ook omdat rond de meimaand dichte bloeien van *Phaeocystis* het nemen van zoöplankton netmonsters lastig kan maken, is het beter om in juni te monstern dan in mei.



Figuur 9. OSPAR COMP4 beoordelingsgebieden voor chlorofyl a. Deze gebieden zijn gebaseerd op seizoenspatronen van chl a, diepte, stratificatie en saliniteit uit concept meetplan chlorofyl A RWS (Knotters et al., 2021).



Figuur 10. Deelgebieden eutrofiëeringsmonitoring NCP uit concept meetplan chlorofyl A RWS (Knotters et al., 2021).

4.1.2.2 Afstemming monitoring aangrenzende gebieden

Nationaal

In de zoute en brakke binnenwateren vallende onder de KRW (inclusief Waddenzee) wordt op dit moment ook geen zoöplankton gemonitord, behalve op projectbasis, zoals in de Westerschelde (MONEOS) en in het zoete Haringvliet (KRW) in verband met De Kier. Sommige monitoringslocaties op de grens tussen Noordzee en binnenwateren, zoals riviermondingen en zeegaten kunnen relevant zijn voor zowel Noordzee als binnenwater, en het is daarom belangrijk dat de monitoring op deze punten goed wordt afgestemd tussen beheersinstanties van de binnenwateren en de Noordzee.

Voor de Waddenzee wordt er op dit moment gewerkt aan een analysedocument zoöplankton met adviezen over mogelijke in de Basismonitoring Wadden op te nemen zoöplanktonmonitoring. Dit advies wordt verwacht in april 2022.

Internationaal

Uit de inventarisatie van zoöplanktonmonitoring door overige Noordzeelands blijkt dat, met uitzondering van België, de monitoringsinspanning zeer beperkt is. Voor Duitsland en Denemarken zijn er signalen dat men daar ook van plan is om op termijn de monitoring van zoöplankton binnen KRM/OSPAR uit te breiden. Onderlinge afstemming van methoden is daarom belangrijk. Hierbij kan een voorbeeld genomen worden aan hoe de zoöplanktonmonitoring op de Oostzee is geregeld binnen HELCOM.

4.2 Eenjarige pilot

4.2.1 Analyse van bestaande data

Een analyse van reeds beschikbare informatie kan gebruikt worden om meer inzicht in de ruimtelijke verspreiding en temporele dynamiek van het zoöplankton te verkrijgen. Dit zal vooral CPR data zijn.

Bij zowel WMR als NIOZ zijn er waarschijnlijk nog niet- of deels geanalyseerde Noordzee-zoöplanktonmonsters beschikbaar die een eerste indruk kunnen geven van de te verwachten diversiteit. Deze zouden (evt door een externe partij) kunnen worden geanalyseerd.

Soortenlijst

Op basis van bestaande data kan er een lijst met te verwachten soorten worden gemaakt, waarbij wordt gekeken:

- Of er van de soort genetisch referentiemateriaal aanwezig is voor de in de metabarcoding onderzochte merkers,
- Of de soort al opgenomen is in TaxaInfo/TWN lijst. Martin Soesbergen (RWS) is al bezig met een soortenlijst voor verschillende groepen.
- Door middel van een Horizon Scan kan ook een inschatting gemaakt worden van te verwachten exoten, zodat deze op tijd in de monitoring kunnen worden gedetecteerd.

4.2.2 Desk studie naar relevante indicatoren OSPAR/KRM

Een verdieping naar bruikbare indicatoren kan verder worden uitgewerkt om een beter inzicht te krijgen in de benodigde informatie over de structuur en functie van het zoöplankton die uit monitoring data verkregen kan worden. Met name indicatoren die relevant zijn voor de KRM, en al in ontwikkeling zijn binnen OSPAR, zouden verder uitgewerkt kunnen worden. Uitgezocht moet worden hoe de combinatie van in te zetten technieken de benodigde informatie oplevert.

4.2.3 Testvaartochten Noordzee

Voorgesteld wordt om een aantal onderzoeksvaartochten uit te voeren met verschillende doelen.

4.2.3.1 Vaartocht 1: Kustzone

De eerste vaartocht is vooral gericht op de volgende doelen:

- Testen monstermethodes
- Verzamelen referentiemonsters en -data
- Verzamelen data verspreiding, samenstelling en biomassa zoöplankton in kustzone
- Onderzoeken naar de ruimtelijke verdeling zoöplankton in relatie tot het voorkomen van pelagische vis

Methoden die ingezet worden (naast wat nodig is voor pelagische vis):

- Netbemonstering; gericht op het verzamelen van zoöplankton voor verdere analyse met behulp van DNA analyse en (afzonderlijk) voor beeldanalyse met behulp van Zooscan en microscopie
- Watermonsters voor het bepalen van (a)biotische parameters
- In situ beeldanalyse (Imaging) van het zoöplankton in de afgelegde transecten

Voor de netbemonstering kan gebruik worden gemaakt van verticale trekken met een WP2 net met een maaswijdte van 100 µm of 200 µm. Voor de analyse met behulp van DNA is het nodig de monsters te conserveren in ethanol en direct aan boord in te vriezen.

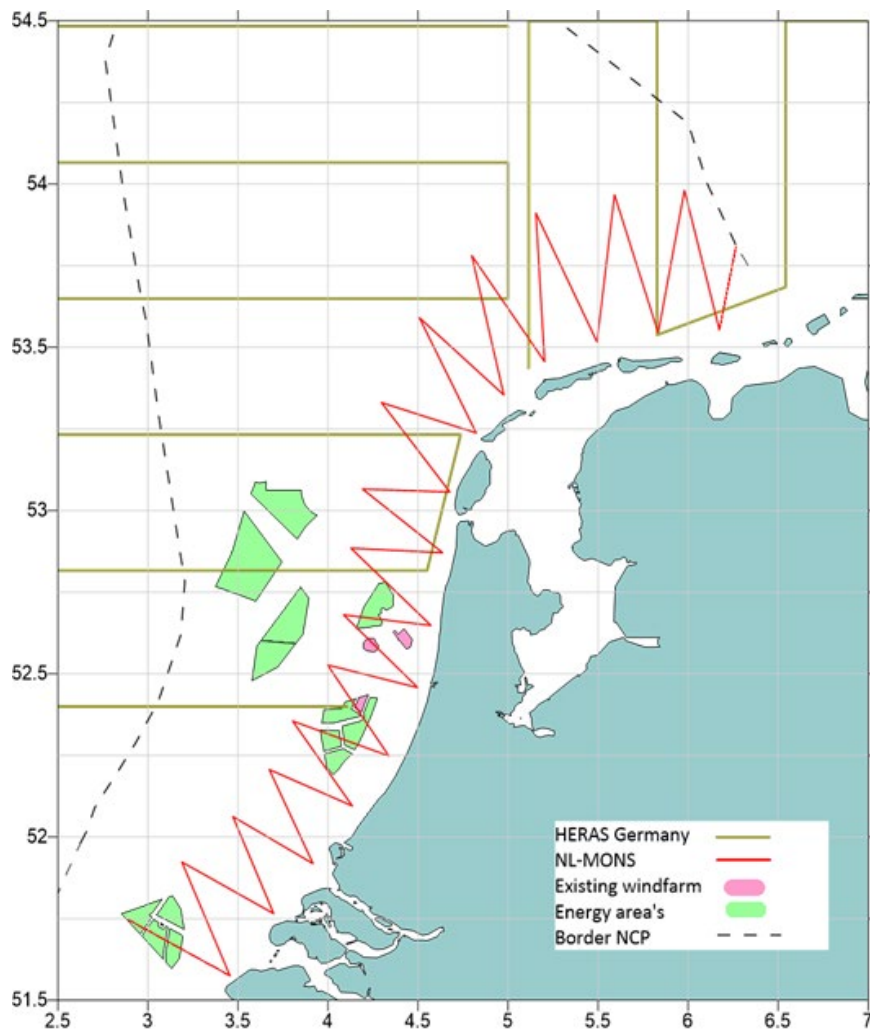
Deze vaartocht zou goed samen kunnen gaan met de voorgestelde vaartocht voor kleine pelagische vis, zie *Figuur 11*.

Periode: Juni (afstemming nodig met Pelagische vis bemonstering)

Locatie: Kustzone

Benodigd materiaal:

- WP2 plankton net verticaal
- CTD profiler
- Niskin flessen/rosettesampler
- Plankton imaging systeem



Figuur 11. Zigzag transect voorgesteld voor de NL-MONS vaartocht voor akoestische monitoring van kleine pelagische vis.

4.2.3.2 Vaartocht 2: Offshore transect

Periode: Augustus

Doelen:

- Testen monstermethodes
- Verzamelen referentiemonsters en -data
- Verzamelen data verspreiding, samenstelling en biomassa zoöplankton hele NCP
- Onderzoeken variatie zoöplanktonsaamenstelling tussen verschillende ecohydrodynamische zones/OSPAR eutrofiërings (deel) gebieden
- Onderzoeken verticale verdeling zoöplankton in relatie tot stratificatie

Methoden ingezet:

- Netbemonstering
- Watermonsters
- Imaging transecten en/of verticale casts

Benodigd materiaal:

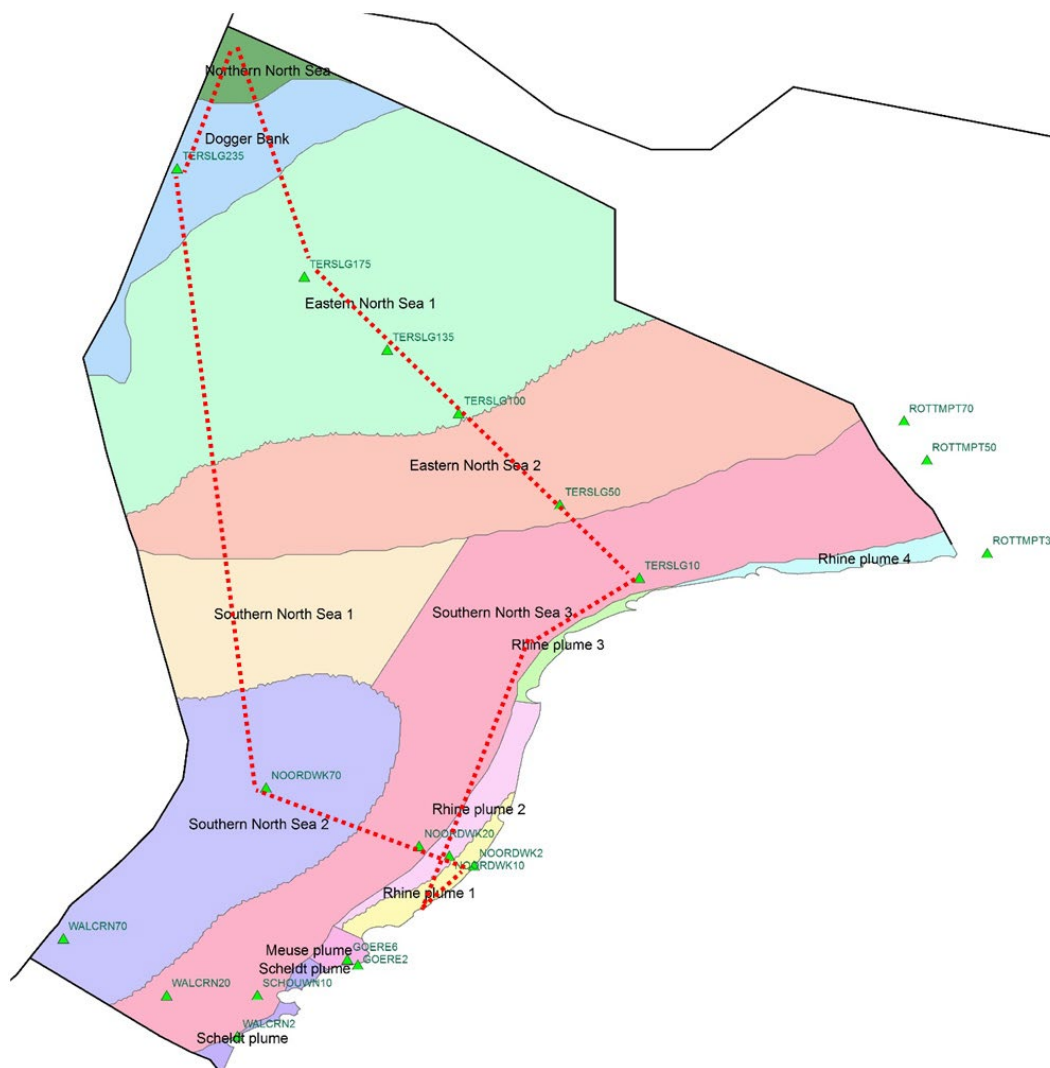
- WP2 plankton net verticaal
- CTD profiler
- Niskin flessen/rosettesampler
- Plankton imaging systeem

Locatie:

Het doel is dat een selectie aan gebieden wordt bemonsterd met een zo groot mogelijke variatie in parameters zoals gelaagdheid, zoutgehalte, diepte en chl a.

Een voorbeeld transect zou zijn: Scheveningen, kustzone, Terschelling raai zuid – noord, noordflank Doggersbank, Oestergronden, Noordwijk raai west – oost, Scheveningen (*Figuur 12*).

Het nadeel van dit transect is dat het meest zuidelijke deel van het NCP niet wordt bemonsterd. Een andere optie zijn om de vaartocht in tweeën te splitsen en één week Scheveningen – Doggersbank – Scheveningen te doen en één week Noordwijk raai en Walcheren raai. Nóg een andere optie is voor de bemonstering van stations in het zuidelijke deel van het NCP (Walcheren raai) samenwerking te zoeken met VLIZ en het Lifewatch project.



Figuur 12. Hypothetisch transect tocht 2 Ingetekend in kaart met deelgebieden eutrofiëringmonitoring NCP uit concept meetplan chlorofyl A RWS (Knotters et al., 2021).

Mogelijke combinatie met:

- MWTL monitoring
- OSPAR eutrofiëring chl-a match-up bemonstering
- MONS primaire productie activiteiten.
- VLIZ lifewatch monitoring België.

4.2.3.3 Vaartocht 3:

Periode: September/oktober

Doelen:

- Onderzoeken of hoge resolutiemetingen, in ruimte en tijd, met innovatieve methoden zoals akoestische methoden en verticale imaging succesvol ingezet kan worden om de effecten van

nieuw gebruik van de Noordzee, zoals windparken, op de dichtheid en samenstelling van zoöplankton gebruikt kan worden

- Onderzoeken of innovatieve methoden succesvol zijn in de bemonstering van zoöplankton samenstelling en dichtheid in het najaar.
- Hiertoe worden data verzameld met de innovatieve methode en vergeleken met referentiemonsters en -data

Methoden ingezet:

- Netbemonstering
- Watermonsters
- Imaging transecten en/of verticale casts
- Akoestische methoden

Benodigd materiaal:

- WP2 plankton net verticaal
- CTD profiler
- Niskin flessen/rosettesampler
- Plankton imaging systeem

Locatie:

Om de effecten van nieuw gebruik zoals een windmolenpark te meten is het belangrijk om een aantal transecten te bemonsteren stroomopwaarts en stroomafwaarts van een windmolenpark. Floeter et al. (2017) hebben een vergelijkbaar experiment waarbij transecten van 25-75 km lang zijn gevaren. Voor deze campagne zouden we in overleg met de eigenaren 2 windparken willen bemonsteren in verschillende omstandigheden, zoals troebelheid en gelaagdheid.

Hierbij zou bijvoorbeeld voor het windpark 'Hollandse Kust Zuid' of 'Prinses Amaliapark' en GEMINI (boven Terschelling) gekozen kunnen worden. De campagne kan waarschijnlijk goed gecombineerd worden met MONS-abiotiek, MONS-primaire productie en wellicht met de MONS no regret acties die zich richten op hogere trofische niveaus.

4.2.4 Pilot hoogfrequente monitoring vast punt

Periode: 1 jaar

Doelen:

- Testen monstermethodes
- Verzamelen referentiemonsters en -data
- Verzamelen data verspreiding, samenstelling en biomassa zoöplankton Rijnpluim/kustzone
- Bepalen variatie in tijd voor keuze optimale monsterfrequentie

Methoden ingezet:

- Netbemonstering/pompbemonstering
- Watermonsters
- Continubemonstering imaging pomp

Benodigd materiaal: Afhankelijk van beschikbaarheid bestaande faciliteiten.

Locatie:

Voor de locatie is het van belang dat er met hoge frequentie (idealiter één keer per week) bemonsterd kan worden. Verder is het belangrijk dat op hetzelfde punt of in de nabijheid óók met vergelijkbare frequentie abiotische factoren als temperatuur, zoutgehalte en doorzicht worden gemeten. Idealiter wordt er ook chl a, primaire productie, microplankton en macronutriënten (N, P, Si) gemeten.

Een voor de hand liggend punt is het Marsdiep, waar op dit moment vanaf de NIOZ steiger de volgende parameters 40 keer per jaar worden gemeten bij hoogwater:

- Temperatuur
- Zoutgehalte
- Doorzicht (Secchi)
- SPM
- Nutriënten
- Fytoplankton (biomassa, soortensamenstelling, PE-curves voor productieberekeningen)
- Schelpdierlarven (aan-/afwezigheid m.b.v. PCR)

Naast deze metingen worden hier continuummetingen gedaan van saliniteit, zuurstof, CDOM "Yellow substance", PAR (Photosynthetically active radiation), waterstand, lichtspectra, temperatuur.

Ook bij Yerseke in de Oosterschelde worden continuummetingen gedaan van abiotische factoren en fluorescentie (chl a) aan de Rijkswaterstaat waterhoogte meetpaal, alsmede maandelijkse monsternamen voor o.a. nutriënten, pigmenten en primaire productie. Hier zouden eventueel ook tests mogelijk zijn, alhoewel deze locatie niet op de Noordzee ligt zijn de omstandigheden deels vergelijkbaar met die in de Noordzeekustzone. Wel wordt het gebied beïnvloed door de aanwezigheid van schelpdiercultures, waardoor potentieel veel larven van (bentische) exoten verwacht kunnen worden. Vooralsnog heeft de locatie op Texel de voorkeur.

4.3 4 jarige monitoring

Op voorhand is het moeilijk om zonder de resultaten van het eerste jaar een 4-jarig monitoringprogramma uit te werken, omdat dit mede afhangt van de resultaten van de 1-jarige pilot.

Het programma zou bij voorkeur uitgevoerd worden met andere monitoring, waarbij data verzameld worden over abiotische parameters (temperatuur, saliniteit, nutriënten, SPM, doorzicht), en fytoplankton (biomassa, soortensamenstelling, PE-curves, primaire productie). Een combinatie van deze gegevens geeft inzicht in de samenhang lagere trofische componenten van de voedselketen onderling en in relatie tot abiotische factoren. Hierdoor kunnen lange termijn trends in potentie beter verklaard worden. Ook kan op deze manier op de uitvoeringskosten worden bespaard.

Daarnaast zou aangesloten kunnen worden bij een eventueel vervolg op de monitoring van kleine pelagische vis, waarbij de focus ligt op de relatie van zoöplankton als voedsel voor vis.

Met de volgende aannames kan worden gewerkt:

- Raai NCP gevaren zoals aangegeven in Figuur 12,
- Ca. 25 monsterpunten (netmonsters)
- Frequentie 15 x per jaar
 - Periode mei-juli 2 wekelijks
 - Periode augustus-april maandelijks

De volgende methodieken kunnen worden ingezet:

- Continue Ferrybox-metingen (abiotiek en fytoplankton groepen) tijdens het gevaren transect
- In situ plankton imaging tijdens het gevaren transect
- Zoöplankton netbemonsteringen, afzonderlijk voor voor zooscan (en eventueel microscopie) en voor DNA analyse

Voor MONS-abiotiek en MONS-primaire productie is gevraagd om 2 vaste meetlocaties in richten in het Nederlandse gedeelte van de Noordzee. Hierin wordt voorgesteld om op continue metingen te doen op verschillende hoogtes in de waterkolom van fysische (temperatuur, saliniteit en druk), biochemische (zuurstof, turbiditeit en fluorescentie) en biologische (primaire productie en fytoplanktonsamenvatting) variabelen. Voor zoöplankton zijn er goede mogelijkheden om hierbij aan te sluiten door het toevoegen van akoestische of imaging methoden op deze vaste meetlocaties. Overleg met Helmholtz-Zentrum Hereon (Duitsland) heeft geleerd dat zij op een vaste meetlocatie een imaging systeem hebben toegevoegd dat continue beelden maakt van deeltjes en zoöplankton doorheen de hele waterkolom. Een vergelijkbare toevoeging op de vaste meetstations binnen MONS wordt dan ook zeer aangeraden.

4.4 Kostenindicatie

Hieronder worden de aannames beschreven voor *indicatieve* kostenschattingen welke globaal is uitgewerkt in *Tabel 4*.

4.4.1 1-jarig plan

Voor het in inschatten van de kosten zijn de hieronder beschreven aannames gedaan.

Eenmalige kosten

Voor de gehele pilot is gebruik en aanschaf van apparatuur nodig.

Het gaat om de aanschaf van:

- planktonnetten,
- een plankton imager

Daarnaast huur voor één jaar van:

- een In-Situ Ichthyoplankton Imaging System (ISIIS).

Aanname is dat een Ferrybox op het schip aanwezig is.

Daarnaast wordt uitgegaan van dat er géén kosten voor het gebruik van waterbemonsteringsapparatuur voor aanvullende metingen (CTD, niskin bottles, rosette sampler).

Analyse van bestaande data en deskstudie indicatoren

Er wordt uitgegaan van analyse van 10 aanvullende monsters uit eerdere projecten of (vis)monitoring om een indicatie te krijgen van de aanvullende bruikbaarheid. Het zal gaan om microscopische analyse.

Daarnaast is een analyse van CPR gegevens en van bestaande soortenlijsten begroot.

Vaartocht 1.

Aanname bij vaartocht 1 is dat meegevaren kan worden met de akoestische (zig-zag kust-)survey voor kleine pelagische vis in juni.

Voor het zoöplankton worden op 15 locaties (in duplo) 30 *netbemonsteringen* uitgevoerd voor:

- microscopische analyse (uit te besteden aan een buitenlands gespecialiseerd laboratorium),
- Zooscan analyses,
- DNA analyses.

Daarnaast worden continue uitgevoerd aan *opgepompt* water:

- ferryboxmetingen (abiotische gegevens)
- Plankton Imager

Werkuren worden gemaakt aan boord van het schip en voor data verwerking en rapportage.

Vaartocht 2 en 3

Uitgegaan wordt dat deze twee vaartochten, uitgevoerd in de periode augustus-oktober dezelfde kosten hebben. Kosten voor het gebruik van een vaartuig zijn buiten beschouwing gelaten.

Dezelfde kostenposten als voor vaartocht 1 gelden, maar er wordt op 25 locaties in duplo bemonsterd. Daarnaast worden uitgebreidere transecten gevaren, waardoor de hoeveelheid verzamelde data met de Ferrybox en de Plankton Imager groter is en daarmee ook de verwerking van gegevens meer tijd vergt.

Hoogfrequent meetpunt

Uitgegaan wordt van een enkel meetpunt dat met hoge frequentie bemonsterd wordt voor zoöplankton. Gekozen wordt voor de steiger van het NIOZ op Texel.

- Er wordt 40 keer in duplo bemonsterd met een planktonnet.
- Monsters worden genomen voor microscopische analyse. Daarnaast wordt water opgepompt voor on-line met een Plankton Imager (opgepompt water).

Tabel 4. Overzicht van de indicatieve kosten voor de uitvoering van de in deze 1-jarige pilot beschreven onderdelen

<u>Aanschaf en installatiekosten</u>	<u>k€</u>
Planktonnetten	10
Plankton Imager	90
Huur ISIIS	10
Installatiekosten	25
Subtotaal	135
<u>Analyse data en deskstudies</u>	
Monsteranalyse	25
CPR data-analyse	20
Soortenlijst en indicatoren	20
Subtotaal	65
<u>Vaartocht 1 (juni)</u>	
Monsteranalyses	15
Metingen aan boord	10
Werk op zee	50
Dataverwerking en rapportage	30
Onvoorzien	10
Subtotaal	115
<u>Vaartocht 2 (augustus)</u>	
Monsteranalyses	20
Metingen aan boord en in situ	25
Werk op zee	50
Data verwerking en rapportage	50
Onvoorzien	15
Subtotaal	160
<u>Vaartocht 3 (september-oktober)</u>	
Subtotaal (als vaartocht 2)	160
<u>Hoogfrequente monitoring (locatie Texel)</u>	
Monsternamen	40
Plankton Imager installatie	15
Monsteranalyse	10
Data-analyse	20
Onvoorzien	10
Subtotaal	95
Totaal	730

4.4.2 Voortzetting gedurende 4 jaar

De kosten kunnen pas na uitvoering van het 1-jarig plan worden beraamd.

Een programma zou kunnen worden opgezet waarin ook inzet van een PhD en/of Postdoc onderzoeker wordt opgenomen.

5 Conclusies en aanbevelingen

De centrale kennisvraag voor het monitoringprogramma is daarom als volgt:

Wat is de samenstelling en verspreiding van zoöplankton in ruimte en tijd?

En daarnaast: wat zijn de trends (jaren en tientallen jaren) (in samenstelling en verspreiding van zoöplankton in ruimte en tijd) en wat zijn de effecten van nieuw gebruik?

In het hier voorgelegde werkplan zetten we uiteen hoe toe gewerkt kan worden tot een monitoring van zoöplankton die deze vragen kan beantwoorden. Hierbij is rekening gehouden met beschreven aanvullende randvoorwaarden en doelen van het MONS programma. Een belangrijk element daarin is het bepalen van de draagkracht van de Noordzee en de rol van het zoöplankton daarin als schakel in het voedselweb tussen primaire producenten en pelagische vis.

Daarnaast is ook onderzocht welke beleidsmatige doelen in (inter)nationaal gelden en hoe dit in de verschillende ons omringende landen in monitoring geïmplementeerd wordt. Er is nog weinig sprake van een gestructureerde monitoring, laat staan dat deze internationaal gecoördineerd is. Maar, in OSPAR-kader en in ICES WGZE¹⁵ wordt wel invulling gegeven aan doelen die ook in relatie staan tot de descriptoren van de Kader Richtlijn Marien. De focus ligt hier op de dichtheid en grootte-verdeling van het (meso)zoöplankton, welke als belangrijke indicator wordt gezien voor de voedselbeschikbaarheid van pelagische vis.

Verschillende klassieke en innovatieve methoden voor de monitoring van zoöplankton zijn in dit rapport beschreven en de belangrijkste voor- en nadelen geëvalueerd (zie *Tabel 3*). Aan alle methoden zijn voor- en nadelen verbonden en/of kunnen slechts een op deel van de gestelde vragen antwoord geven. In Hoofdstuk 4 is een 1-jarige pilot beschreven die informatie moet opleveren voor het opstellen van een uitgewerkt monitoring plan. Het gaat daarbij om het uit-ontwikkelen van innovatieve technieken, het verkrijgen van inzicht in de relevante ruimtelijke en temporele schalen en in de logistieke mogelijkheden en beperkingen van de monitoring, ook in combinatie met andere monitoring doelen (bv. abiotiek, primaire productie, pelagische vis). Daarnaast is een *indicatieve* kostenschatting gemaakt voor de 1-jarige pilot.

Voor het voorgestelde onderzoek worden de volgende aanbevelingen gedaan:

- Stem de te ontwikkelen zoöplanktonmonitoring af met die van andere Noordzeelanden. België is hier een goed voorbeeld. Ook in Duitsland en Denemarken is er de wens om de zoöplanktonmonitoring uit te breiden. Hiervoor zouden platformen als ICES gebruikt kunnen worden.
- De indicatoren zoals toegepast, respectievelijk in ontwikkeling binnen HELCOM en OSPAR zijn veelbelovend en kunnen houvast geven aan het ontwikkelen van een nieuw zoöplankton monitoringsprogramma en het mogelijk maken om veranderingen in zoöplankton te linken aan factoren als klimaatverandering en eutrofiëring.
- Innovatieve technieken zoals DNA metabarcoding en plankton imaging zijn veelbelovend en omdat zij het mogelijk maken om plankton met zeer hoge taxonomische resolutie (DNA metabarcoding) of resolutie in ruimte en tijd (plankton imaging) te monitoren. Wel is het belangrijk dat, zeker in de pilotfase, er ook nog reguliere netbemonsteringen met morfologische identificatie worden uitgevoerd.
- Het is essentieel dat de monitoring van zoöplankton gecombineerd wordt met monitoring van abiotische parameters en monitoring van productie/biomassa van phytoplankton/eutrofiëring.
- Naast monitoring is aanvullend onderzoek nodig naar de functionele ecologische aspecten van het zoöplankton, waaronder processtudies en de effecten van 'nieuw gebruik'.

¹⁵ Working Group on Zooplankton Ecology

6 Kwaliteitsborging

Wageningen Marine Research beschikt over een ISO 9001:2015 gecertificeerd kwaliteitsmanagementsysteem. De organisatie is gecertificeerd sinds 27 februari 2001. De certificering is uitgevoerd door DNV.

Literatuur

- Alvarez-Fernandez, S., H. Lindeboom & E. Meesters, 2012. Temporal changes in plankton of the North Sea: community shifts and environmental drivers. *Mar Ecol Prog Ser* 462:21-38. doi: 10.3354/meps09817
- Asjes, J, H. Merkus, O.G. Bos, J. Steenbergen, S. Stuijzand, I. van Splunder, T. van Kooten, S. Rivero & G.A.J. Vis (2021). Monitoring en Onderzoek Natuurversterking en Soortenbescherming (MONS). Definitieve versie: 4 oktober 2021.
- Bedford J., Ostle C., Johns D.G., Atkinson A., Best M., BVresnan E., Machairopoulou M., Graves C.A., Devlin M., Milligan A., Pitois S., Mellor A., Tett P., McQuatters-Gollop A., 2020. Lifefroms indicators reveal large-scale shifts in plankton across the North-West European shelf. *Global Change Biology*. 2020;00:1-16. DOI: 10.1111/gcb.15066.
- Benfield, M.C., P. Grosjean, P.F. Culverhouse, X. Irigoien, M.E. Sieracki, A. Lopez-Urrutia, H.G. Dam, Q. Hu, C.S. Davis, A. Hansen, C.H. Pilskaln, E.M. Riseman, H. Schultz, P.E. Utgoff, and G. Gorsky. 2007. RAPID: Research on Automated Plankton Identification. *Oceanography* 20(2):172-187, <https://doi.org/10.5670/oceanog.2007.63>.
- Bijkerk, R., Beers, M., 2010. Handboek hydrobiologie : biologisch onderzoek voor de ecologische beoordeling van Nederlandse zoete en brakke oppervlaktewateren, Rapport / STOWA;nr. 2010-28. STOWA, Amersfoort.
- BLMP, 2021. Zooplankton (Stand: 15.10.2020) [WWW Document]. BLMP Monitoring-Handbuch. URL <https://mhb.meeresschutz.info/de/kennblaetter/neue-kennblaetter/details/pid/7> (accessed 25-10-2021).
- Bucklin, A., Lindeque, P.K., Rodriguez-Espeleta, N., Albaina, A., Lehtiniemi, M., 2016. Metabarcoding of marine zooplankton: prospects, progress and pitfalls. *J Plankton Res* 38, 393-400. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbw023>
- Bucklin, A., Peijnenburg, K.T.C.A., Kosobokova, K.N., O'Brien, T.D., Blanco-Bercial, L., Cornils, A., Falkenhaus, T., Hopcroft, R.R., Hosia, A., Laakmann, S., Li, C., Martell, L., Questel, J.M., Wall-Palmer, D., Wang, M., Wiebe, P.H., Weydmann-Zwolicka, A., 2021. Toward a global reference database of COI barcodes for marine zooplankton. *Mar Biol* 168, 78. <https://doi.org/10.1007/s00227-021-03887-y>
- Castellani, C., Edwards, M., 2017. *Marine Plankton: A Practical Guide to Ecology, Methodology, and Taxonomy*. Oxford University Press, Oxford.
- Couperus, B., S. Sakinan en D. Burggraaf (2020) Small pelagic fish and zooplankton in the Dutch coastal surf zone during the EGS-II survey in 2017-2018. Wageningen Marine Research.
- Daan, R., 1989. Factors controlling the summer development of copepod populations in the Southern Bight of the North Sea. *Neth. J. Sea Res.* 23:305-322.
- de Jonge, V.N., 2007. Toward the application of ecological concepts in EU coastal water management. *Marine Pollution Bulletin* 55, 407-414.
- Edwards, M., Helaouet, P., Alhaija, R.A., Batten, S., Beaugrand, G., Chiba, S., Horaeb, R.R., Hosie, G., Mcquatters-Gollop, A., Ostle, C., Richardson, A.J., Rochester, W., Skinner, J., Stern, R., Takahashi, K., Taylor, C., Verheye, H.M., & Wootton, M. 2016. Global Marine Ecological Status Report: results from the global CPR Survey 2014/2015. SAHFOS Technical Report, 11: 1-32. Plymouth, U.K. ISSN 1744-0750
- Reichert J., van Beusekom, J.E.E., Auch, D., Callies, U., Carpenter, J., Dudeck, T., Eberle, S., Eckhardt, A., Gloe, D., Hänselmann, K., Hufnagel, M., Janßen, S., Lenhart, H., Möller, K.O., North, R.P., Pohlmann, T., Riethmüller, R., Schulz, S., Spreizenbarth, S., Temming, A., Walter, B., Zielinski, O., Möllmann, C., 2017. Pelagic effects of offshore wind farm foundations in the stratified North Sea. *Progress in Oceanography* 156, 154-173. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2017.07.003>
- Fransz, H.G., 2000. Graadmeter soortendiversiteit zoöplankton (No. GONZ2000). NIOZ.
- Gallienne, C.P., Robins, D.B., 2001. Is Oithona the most important copepod in the world's oceans? *J Plankton Res* 23, 1421-1432. <https://doi.org/10.1093/plankt/23.12.1421>

- Greve, W., Reiners, F., Nast, J., Hoffman, S., 2004. Helgoland Roads meso- and macrozooplankton time-series 1974 to 2004: lessons from 30 years of single spot, high frequency sampling at the only off-shore island of the North Sea. *Helgol. Mar. Res.* 58, 274–288.
- Johns D, Broughton D, Team D, 2020. The CPR Survey. Version 1.2. Marine Biological Association. Sampling event dataset <https://doi.org/10.17031/1629> accessed via GBIF.org on 2021-10-18.
- HELCOM, 2018. HELCOM core indicator report 2018 - Zooplankton mean size and total stock (MSTS). URL <https://helcom.fi/wp-content/uploads/2019/08/Zooplankton-mean-size-and-total-stock-HELCOM-core-indicator-2018.pdf> (accessed 04-11-2021)
- HELCOM, 2021. Guidelines for monitoring of mesozooplankton (2021). URL <http://www.helcom.fi/Lists/Publications/Guidelines%20for%20monitoring%20of%20mesozooplankton.pdf> (accessed 04-11-2021)
- ICES (2017) Manual for the Midwater Ring Net sampling during IBTS Q1.
- Jak, R.G., B.F. Michielsen, 1996. Algenbegrazing: een nadere analyse van de invloed van toxicanten op het ontstaan van eutrofiëringsproblemen. BEON Rapport 96(4). RIKZ: Den Haag. 56 pp.
- Knotters, A., A. Oyen, Hartogs, M., Enserink, L., Rietveld, M., 2021. Operationeel meetplan voor monitoring van chlorofyl a op het NCP.
- Lombard, F., Boss, E., Waite, A.M., Vogt, M., Uitz, J., Stemmann, L., Sosik, H.M., Schulz, J., Romagnan, J.-B., Picheral, M., 2019. Globally consistent quantitative observations of planktonic ecosystems. *Frontiers in Marine Science* 6, 196.
- Lyngsgaard, M.M., Markager, S., Richardson, K., Møller, E.F., Jakobsen, H.H., 2017. How Well Does Chlorophyll Explain the Seasonal Variation in Phytoplankton Activity? *Estuaries and Coasts* 40, 1263–1275. <https://doi.org/10.1007/s12237-017-0215-4>
- Macher, J.-N., van der Hoorn, B.B., Peijnenburg, K., van Walraven, L., Renema, W., 2020. Metabarcoding reveals different zooplankton communities in northern and southern areas of the North Sea. *bioRxiv*.
- Martínez, L.A., Mortelmans, J., Dillen, N., Debusschere, E., Deneudt, K., 2020. LifeWatch observatory data: phytoplankton observations in the Belgian Part of the North Sea. *Biodivers. Data J.* 8, 1–18. <https://doi.org/10.3897/BDJ.8.E57236>
- Mortelmans, J., Deneudt, K., Cattrijsse, A., Beauchard, O., Daveloose, I., Vyverman, W., Vanaverbeke, J., Timmermans, K., Peene, J., Roose, P., Knockaert, M., Chou, L., Sanders, R., Stinchcombe, M., Kimpe, P., Lammens, S., Theetaert, H., Gkritzalis, T., Hernandez, F., Mees, J., 2019a. Nutrient, pigment, suspended matter and turbidity measurements in the Belgian part of the North Sea. *Sci. Data* 6, 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41597-019-0032-7>
- Mortelmans, J., Goossens, J., Martínez, L.A., Deneudt, K., Cattrijse, A., Hernandez, F., 2019b. LifeWatch observatory data: Zooplankton observations in the Belgian Part of the North Sea. *Geosci. Data J.* <https://doi.org/10.3897/BDJ.8.E57236>
- OSPAR, 2017. Changes in Phytoplankton and Zooplankton Communities [WWW Document]. URL <https://oap.ospar.org/en/ospar-assessments/intermediate-assessment-2017/biodiversity-status/habitats/changes-phytoplankton-and-zooplankton-communities/> (accessed 10.25.21).
- OSPAR, 2018. OSPAR CEMP Guideline: Common Indicator: PH1/FW5 Plankton lifeforms (Agreement 2018-07). <https://www.ospar.org/documents?v=39001> (accessed 10.25.21). Richardson, A.J., Walne, A.W., John, A.W.G., Jonas, T.D., Lindley, J.A., Sims, D.W., Stevens, D., Witt, M., 2006. Using continuous plankton recorder data. *Progress in Oceanography* 68, 27–74. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2005.09.011>
- Overlegorgaan Fysieke Leefomgeving, 2020. Onderhandelaarsakkoord voor de Noordzee, juni 2020. <https://www.noordzeeloket.nl/nieuws/nieuws/2020/noordzeeakkoord/@236897/onderhandelaarsakkoord-noordzee-juni-2020/>
- Picheral, M.; Colin, S.; Irissou, J.O., 2017. EcoTaxa - A tool for the taxonomic classification of images. <http://ecotaxa.obs-vlfr.fr/>.
- Pitois, S.G., Graves, C.A., Close, H., Lynam, C., Scott, J., Tilbury, J., van der Kooij, J., Culverhouse, P., 2021. A first approach to build and test the Copepod Mean Size and Total Abundance (CMSTA) ecological indicator using in-situ size measurements from the Plankton Imager (PI). *Ecological Indicators* 123, 107307.
- Reichert, M., Daan, R., 1992. Ecologische profielen van marien zoöplankton : *Noctiluca scintillans*, *Pleurobrachia pileus*, *Aurelia aurita* *Calanus finmarchicus*, *Temora longicornis*, *Eurytemora affinis* *Oikopleura dioica* (No. WSV 93.083), Watersysteemverkenningen. NIOZ.

-
- Richardson, A.J., Walne, A., John, A.W.G., Jonas, T., Lindley, J.A., Simms, D.W., Stevens, D., Witt, M., 2006. Using Continuous Plankton Recorder Data. *Prog Oceanogr* 68:27–74
- Schneider, L.K., Flynn, K.J., Herman, P.M.J., Troost, T.A., Stolte, W., 2020. Exploring the Trophic Spectrum: Placing Mixoplankton Into Marine Protist Communities of the Southern North Sea. *Frontiers in Marine Science* 7, 997. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.586915>
- Scott, J., Pitois, S., Creach, V., Malin, G., Culverhouse, P., Tilbury, J. 2022. Resolution changes relationships: optimizing sampling design using fine scale zooplankton data. Presentation at Ocean Science Meeting 2022, 01-03-2022.
- Shiozaki, T., Itoh, F., Hirose, Y., Onodera, J., Kuwata, A., Harada, N., 2021. A DNA metabarcoding approach for recovering plankton communities from archived samples fixed in formalin. *PLOS ONE* 16, e0245936. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245936>
- SAHFOS (Sir Alister Hardy Foundation for Ocean Science). Continuous Plankton Recorder Dataset (SAHFOS). Version 1.0. Occurrence dataset <https://doi.org/10.15468/ygwilu> accessed via GBIF.org on 2021-10-18. UNESCO, 1968. Zooplankton sampling. Monographs on oceanographic methodology 2. URL <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000071517>
- Van Damme, C.J.G., Hoek, R., Beare, D., Bolle, L.J., Bakker, C., van Barneveld, E., Lohman, M., Os-Koomen, E., Nijssen, P., Pennock, I. and Tribuhl, S. (2011) Shortlist Master Plan Wind Monitoring fish eggs and larvae in the Southern North Sea, Final. Report. Report number C098/11.
- Van der Land, M. A., 1991. Distribution of flatfish eggs in the 1989 egg surveys in the southeastern North Sea, and mortality of plaice and sole eggs. *Neth. J. Sea Res.* 27:277–286. [https://doi.org/10.1016/0077-7579\(91\)90030-5](https://doi.org/10.1016/0077-7579(91)90030-5)
- Van Ginderdeuren, K., G. Van Hoey, M. Vincx & K. Hostens, 2014. The mesozooplankton community of the Belgian shelf (North Sea). *J. Sea Res.* 85:48–58.
- Van Leeuwen, S., Tett, P., Mills, D., van der Molen, J., 2015. Stratified and nonstratified areas in the North Sea: Long-term variability and biological and policy implications. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 120, 4670–4686. <https://doi.org/10.1002/2014JC010485>
- Wiltshire, K.H., Kraberg, A., Bartsch, I., Boersma, M., Franke, H.-D., Freund, J., Gebühr, C., Gerdtts, G., Stockmann, K., Wichels, A., 2010. Helgoland roads, North Sea: 45 years of change. *Estuaries and Coasts* 33, 295–310.
- Van Walraven, L., Langenberg, V.T., Dapper, R., Witte, J.IJ., Zuur, A.F., Van der Veer, H.W., 2015. Long-term patterns in 50 years of scyphomedusae catches in the western Dutch Wadden Sea in relation to climate change and eutrophication. *J. Plankton Res.* 37, 151–167.
- Van Walraven, L. Flexible Filter Feeders: The Gelatinous Zooplankton Community in the Netherlands after the Invasion of the Ctenophore *Mnemiopsis leidyi*. PhD thesis University of Groningen, 2016.
- Verweij, G.L., A. van den Oever & T. Koeman 2013. Geannoteerde soortenlijst biomonitoring microzoöplankton Nederlandse zoute wateren 1994 – 2012. Koeman en Bijkerk B.V., Haren.
- Verweij GL, van den Oever A & Wanink JH (2014) Microzoöplanktononderzoek in de zoute Rijkswateren, MWTL 2013. KenB rapport 2014-033. Koeman en Bijkerk bv, Haren.
- Wiltshire, K.H., Kraberg, A., Bartsch, I., Boersma, M., Franke, H.D., Freund, J., Gebühr, C., Gerdtts, G., Stockmann, K., Wichels, A., 2010. Helgoland Roads, North Sea: 45 Years of Change. *Estuaries and Coasts*. DOI 10.1007/s12237-009-9228-y
- Zervoudaki, S., Nielsen, T.G., Carstensen, J., 2009. Seasonal succession and composition of the zooplankton community along an eutrophication and salinity gradient exemplified by Danish waters. *J. Plankton Res.* 31, 1475–1492. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbp084>

Verantwoording

Rapport C014/22

Projectnummer: 4315100187

Dit rapport is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door een collega-onderzoeker en het verantwoordelijk lid van het managementteam van Wageningen Marine Research

Akkoord: Ir. R. van Hal
Onderzoeker

Handtekening:



Datum: 21 maart 2022

Akkoord: Drs. J. Asjes
Manager Integratie

Handtekening:



Datum: 21 maart 2022

Wageningen Marine Research
T: +31 (0)317 48 70 00
E: marine-research@wur.nl
www.wur.nl/marine-research

Bezoekers adres:

- Ankerpark 27 1781 AG Den Helder
- Korringaweg 7, 4401 NT Yerseke
- Haringkade 1, 1976 CP IJmuiden

Wageningen Marine Research levert met kennis, onafhankelijk wetenschappelijk onderzoek en advies een wezenlijke bijdrage aan een duurzamer, zorgvuldiger beheer, gebruik en bescherming van de natuurlijke rijkdommen in zee-, kust- en zoetwatergebieden.



Wageningen Marine Research is onderdeel van Wageningen University & Research. Wageningen University & Research is het samenwerkingsverband tussen Wageningen University en Stichting Wageningen Research en heeft als **missie**: 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'
