



Dieet van jonge haring in het Eems-Dollard gebied in het najaar

Een verkennende studie door middel van DNA metabarcoding – nanopore sequencing

Auteur(s): Bram Couperus, Reindert Nijland, Ingrid Tulp, Daniel van Berkel en Sophie Valk

Wageningen University &
Research rapport C074/22

Dieet van jonge haring in het Eems-Dollard gebied in het najaar

Een verkennende studie door middel van DNA metabarcoding – nanopore sequencing

Auteurs: Bram Couperus, Reindert Nijland, Ingrid Tulp, Daniel van Berkel en Sophie Valk



Wageningen University & Research - Wageningen Marine Research

Wageningen University & Research – Mariene Dierecologie

Wageningen Marine Research
IJmuiden, november 2022

VERTROUWELIJK Nee

Wageningen Marine Research rapport C074/22

© 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

A_4_3_1 V32 (2021)

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.

Keywords: Haring, Dieet, Eems-Dollard, DNA-metabarcoding.

Opdrachtgever: Provincie Groningen
T.a.v Mevrouw F. Heijman
Postbus 610
9700 AP GRONINGEN

Dit rapport is gratis te downloaden van <https://doi.org/10.18174/580829>

Wageningen Marine Research verstrekt *geen* gedrukte exemplaren van rapporten.

Wageningen Marine Research is ISO 9001:2015 gecertificeerd.

Foto omslag: Bram Couperus

Inhoud

Samenvatting	6
1 Inleiding	7
1.1 Vraagstelling	7
1.2 Het gebied	9
2 Methode	11
2.1 Verzameling haring	11
2.2 Bewerking van de monsters	12
2.3 Meta barcoding analyse	12
3 Resultaten	13
3.1 Vertering en maagvulling	13
3.2 Soortnamenstelling	15
3.2.1 Verschillen in dieet tussen locaties en getijfase	17
4 Discussie	18
4.1 Haring in de Eems: voedsel en gedrag	18
4.2 Vergelijking met andere gebieden	19
5 Conclusies en aanbevelingen	25
5.1 Conclusies	25
5.2 Aanbevelingen	25
6 Dankwoord	27
7 Kwaliteitsborging	28
Literatuur	29
Verantwoording	31
Bijlage 1 Duitse beheer status van het Eems-Dollard gebied	32
Bijlage 2 Handleiding maagmonsters voor metabarcoding-analyse	33

Samenvatting

In de Eems komt relatief veel jonge haring voor. Dat is bekend door monitoring met de ankerkuil die sinds 2006 in het kader van de Kaderrichtlijn Water tweemaal per jaar wordt uitgevoerd door Bioconsult in opdracht van Nederland en Duitsland. Omdat er weinig gegevens bekend zijn over pelagische vis in de Waddenzee is het niet duidelijk of de situatie in de Eems-Dollard wezenlijk anders is of dat er op andere plekken in de Waddenzee ook veel haring voorkomt.

In deze studie richten we ons op het voedsel als sturende factor. Op verzoek van ED2050 hebben we in najaar 2021 een eerste onderzoek uitgevoerd waarbij het dieet van haring, gevangen op twee plekken in de Eems (Spijk en Oterdum), is geanalyseerd met behulp van DNA metabarcoding om de soortensamenstelling van de maaginhoud te bepalen. Behalve het dieet hebben we ook de maagvulling, de staat van vertering en de conditie van de jonge haring geanalyseerd.

Op beide locaties is gedurende twee dagen zowel bij eb als bij vloed bemonsterd, waardoor ook een beeld is verkregen van het effect van het getij op het foerageergedrag en dieet. Het is namelijk voorstelbaar dat haring vooral op een bepaald moment in het getij foerageert.

De vragen die we met de studie wilden beantwoorden waren:

1. Waaruit bestaat het voedsel van de jonge haring in de Eems?
2. Zijn er verschillen in dieet of andere voedselgerelateerde factoren (maagvulling, mate van vertering of conditie) tussen de twee plekken in het gebied en tussen getijfasen?
3. Geeft de soortensamenstelling in de magen een indicatie of de haring ter plekke heeft gefoerageerd?

Uit de DNA metabarcoding analyse bleek dat het voedsel van de jonge haring vooral bestond uit *Mysidae* (aasgarnalen), waarbij *Neomysis americana* en *Neomysis integer* veel voorkomende soorten waren. Ook *Acartidae* (roeipootkreeften) zijn veel gevonden. In het dieet kwam ook relatief vaak haring voor. Dat wordt waarschijnlijk veroorzaakt door materiaal van de maagwand van de haringen zelf, maar consumptie van haringlarven kan niet uitgesloten worden.

Er zijn subtiele gebiedsverschillen in dieet, maar geen grote verschillen in het dieet tussen eb en vloed. De conditie vertoonde gebiedsverschillen waarbij de haring in (het zuidelijker gelegen) Oterdum een slechtere conditie had dan de haring in Spijk. Het verschil gebaseerd op de lengte-gewicht verhouding was 9%.

Het percentage lege magen bedroeg ca 10%, verschilde weinig tussen beide locaties en wijkt niet af van wat gevonden wordt in de Waddenzee en Noordzee. De magen bij Oterdum waren iets meer gevuld dan bij Spijk, maarwat verder verteerd. De verschillen tussen eb en vloed in mate van vertering waren klein.

Uit deze gegevens concluderen we dat de vissen actief aan het foerageren waren ten tijde van de vangst en dat ze dus zowel bij opkomend als afgaand tij eten. Het gebiedsverschil in maagvulling en mate van vertering suggereert dat het voor de vissen bij Spijk iets langer geleden was dat ze gegeten hadden, vergeleken met de meer zuidwaarts gevangen vissen bij Oterdum.

Een vergelijking met aangrenzende gebieden (Waddenzee, Noordzee, Oostzee) laat zien dat het dieet van jonge haring uit dezelfde soortgroepen - aasgarnalen en roeipootkreeften - bestaat. Zowel in de Noordzee als in de Eems-Dollard wordt het dieet gedomineerd door één soort roeipootkreeft- en één soort aasgarnaal, terwijl de aantallen aasgarnalen in het gebied vrij laag zijn. Mogelijk vormen aasgarnalen een aantrekkelijke prooi, omdat ze relatief groot zijn.

In de discussie van dit rapport wordt uitgebreid ingegaan op het belang van de kinderkamerfunctie van het Eems-Dollard gebied. Er worden aanbevelingen gedaan voor verder onderzoek om duidelijkheid te verkrijgen over de functie als opgroeigebied van de Eems-Dollard.

1 Inleiding

1.1 Vraagstelling

Jonge haring vormt samen met zandspiering en sprout een belangrijke voedselbron voor visetende vogels, (visetende) vis en zeezoogdieren. Haring leeft op zijn beurt voornamelijk van zoöplankton en is daarmee een fundamentele schakel in het voedselweb tussen de lagere en de hogere trofische niveaus.

Uit de sinds 2009 uitgevoerde halfjaarlijkse pelagische bemonsteringen door BioConsult is naar voren gekomen dat er sinds ca 2013 een toename is van jonge haring (0+) in de Eems-Dollard. Van alle gevangen vissoorten in de KRW-bemonstering maakt haring op beide plekken de bulk uit (meer dan 80% van de gevangen aantallen en gewicht in het laatste decennium). De verschillen in soortensamenstelling tussen de twee locaties Spijk en Oterdum tijdens de bemonstering voor deze studie waren marginaal (Kopetsch en Scholle 2021). Vooral in september is van de gevangen vis het aandeel jonge haring zeer groot (>95%). Andere vissoorten komen in veel lagere aantallen voor. Naast haring, worden ook nog wijting, sprout, spiering, slakdolf, rivierprik, kleine zeenaald, dikkopje, ansjovis, fint, schar en bot gevangen (van Rijssel *et al.* 2021). Van deze groep zijn net als jonge haring met name sprout, spiering, fint en ansjovis zoöplanktoneters.

Over het voorkomen van pelagische vis in de hele Waddenzee is weinig bekend. Het vermoeden bestaat dat de Waddenzee (inclusief de Eems-Dollard) tegenwoordig vooral gebruikt wordt als opgroeigebied en veel minder als paaigebied. Vroeger paaide haring ook in de Eems-Dollard, net zoals in de Zuiderzee voor de aanleg van de Afsluitdijk (Zuiderzeeharing).

De vraag die door ED2050 gesteld is, is of het relatief veel voorkomen van 0+ haring in de Eems-Dollard, o.a. ten opzichte van andere pelagische vissoorten, een relatie heeft met het voedsel dat jonge haring kan vinden in het gebied. Het is mogelijk dat jonge haring hier alleen terecht komt door de (getijde)stroming en niet afkomt op het specifieke voedselaanbod of door aantrekking van het relatief zoete water uit de Eems. Een hoog aandeel jonge haring hoeft niet automatisch een aanwijzing te zijn dat jonge haring zich thuis voelt in het gebied. Om dit te onderzoeken zou eigenlijk een vergelijking gemaakt moeten worden met jonge haring in andere delen van de Waddenzee. Als de jonge haring als gevolg van de hogere slibconcentratie weinig voedsel in de Eems-Dollard kan vinden, zullen de magen van de jonge haring minder gevuld zijn dan van Waddenzee-haring. Ook zal de conditie van de jonge vis dan waarschijnlijk slechter zijn. Helaas is er nauwelijks informatie beschikbaar over haring in de Waddenzee.

De intentie van voorliggend onderzoek is om een eerste inzicht te verkrijgen in de huidige voedselsituatie in de Eems-Dollard voor de jonge haring. Hiermee wordt bijgedragen aan hypothesevorming, waarmee vervolgonderzoek kan worden uitgevoerd.

Om een begin van een antwoord te vinden op deze vraag is voorliggend verkennend onderzoek uitgevoerd naar de maaginhoud en conditie van de jonge haring in de Eems-Dollard. Hiervoor is haring verzameld die tijdens de halfjaarlijkse ankerkuilbemonstering in september in de Eems-Dollard wordt uitgevoerd door Bioconsult. Het doel van het onderzoek is het bepalen van de maaginhoud, de soortensamenstelling in het dieet van de haring, en de conditie van de jonge haring.

De mate van maagvulling tijdens de eb- en vloed-bemonstering kan een aanwijzing geven of de haring op de vangstlocatie op het moment van vangst aan het foerageren was of dat het waarschijnlijker is dat dit stroomop- of -afwaarts gebeurt.

De onderzoeksvragen zijn:

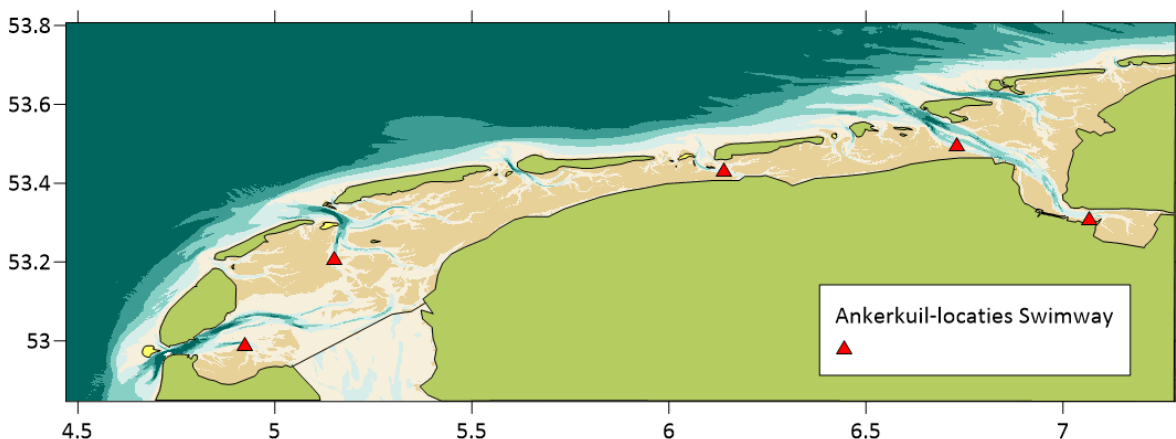
1. Waaruit bestaat het voedsel van de jonge haring in de Eems?
2. Zijn er verschillen in dieet of andere voedsel gerelateerde factoren (maagvulling, mate van vertering of conditie) tussen de jonge haring gevangen op de twee locaties en tussen de getijfasen?
3. Geeft de maagvulling, de conditie van de vis en de soort samenstelling in de magen een indicatie of de haring ter plekke heeft gevoerd?

Voor dit onderzoek zijn alleen haringmonsters genomen. Om te bepalen of de jonge haring lokaal voedsel foerageert, is het relevant om ook zoöplankton-monsters te nemen. Helaas was er in dit project geen ruimte om tegelijkertijd zoöplanktonmonsters te verzamelen en te analyseren. Hierdoor blijft het potentiële voedselaanbod (zoöplankton) dat beschikbaar is voor vis onbekend.

Uit eerdere bemonsteringen in de Waddenzee (Marsdiep 2010 en 2011) is gebleken dat vrijwel alle haring in de Waddenzee 1-jarig (0+) is, dat wil zeggen afkomstig uit de paaiperiode september-december in de Noordzee en het Kanaal (Couperus *et al.* 2016). Deze haring is in mei nog erg klein (40 mm) en eigenlijk te klein om goed gevangen te worden in de KRW-bemonstering van vis in het voorjaar in de Eems-Dollard met de ankerkuil. Daarom is de haring voor het dieetonderzoek alleen tijdens de najaarsbemonstering verzameld.

De bemonsterde haring is verzameld tijdens de ankerkuilbemonstering in september op de twee KRW-monitoring locaties Krummhörn/Oterdum en Spijk, zie figuur 3. Op beide locaties zijn monsters verzameld zowel tijdens eb als vloed. Door de maaginhouden tussen deze twee locaties en tijdens de eb- en vloedstroom met elkaar te vergelijken, kan het relatieve belang van elk van de bovenstroomse deelgebieden als voedselgebied voor haring worden onderzocht.

De vergelijking van de mate van vertering van de maaginhouden van de eb- en de vloedstroom kan een indicatie geven over het foerageergedrag van de haring: wordt er op dat moment van het getij op de locatie gevoerd of is het waarschijnlijker dat dit stroomop- of -afwaarts gebeurt. De mate waarin de maag gevuld is – in aanvulling op de mate van vertering – kan informatie geven over het belang van de locatie, de verschillen tussen de locaties onderling en de Eems-Dollard als voedselgebied ten opzichte van de Waddenzee/Noordzee. Idealiter moeten hiervoor de gegevens uit de Eems-Dollard vergeleken worden met andere locaties. Dat kan in deze studie niet gedaan worden, omdat er alleen nog dieetgegevens in de Eems-Dollard verzameld zijn. Later zullen de resultaten gecombineerd kunnen worden met die uit het Swimway project (2020-2024), waarin op meerdere locaties (en alle maanden) magen onderzocht worden op de locaties aangegeven in figuur 1. In Swimway wordt het dieet van pelagische vis en het voorkomen van zoöplankton in de Waddenzee onderzocht.



Figuur 1. Locaties van de maandelijkse ankerkuilbemonstering in het kader van Swimway in 2021. Als gevolg van de weersomstandigheden, konden niet alle locaties maandelijks bemonsterd worden. De locatie in de Westereems kon slechts tweemaal worden bemonsterd. Voor de andere maanden werd uitgeweken naar de locatie in de binnen-Eems (dit komt ongeveer overeen met de locatie Oterdum van KRW).

In deze studie is de maaginhoud geanalyseerd door middel van DNA metabarcoding. Deze methode wordt recent vaak toegepast, onder meer in het Swimway project. Bij DNA metabarcoding kan door middel van het koppelen van genetisch materiaal in maagmonsters met een bibliotheek van genetisch materiaal van mogelijke prooisorten (barcodes) het dieet kwalitatief worden vastgesteld. Men koppelt dus eigenlijk de barcode van het materiaal uit de maag aan die van een bibliotheek met barcodes van soorten.

Het voordeel van metabarcoding is dat het relatief kosteneffectief is.

Het nadeel is dat vooral de aan/afwezigheid van soorten gedetecteerd wordt, maar niet de hoeveelheden, en maar in beperkte mate de soortverhoudingen. De hoeveelheden en verhoudingen tussen soorten zijn erg afhankelijk van de verteringssnelheid, maar die kan sterk variëren.

Aangezien de Waddenzee inclusief de Eems-Dollard in open verbinding staat met de zee, wordt in dit rapport de gevonden set aan prooisorten besproken in de context van het grotere gebied waar de Waddenzee deel van uitmaakt: de zuidelijke Noordzee. Een vergelijking van de kwaliteit van de Eems-Dollard met andere delen van de Waddenzee, als voedselgebied voor haring, valt vooralsnog buiten de scope van dit rapport. Deze vergelijking is echter wel belangrijk om het functioneren van de Eems-Dollard voor haring in groter perspectief te plaatsen.

1.2 Het gebied

Het Eems-estuarium vormt de overgangszone tussen het zoete en het mariene milieu. Als zodanig heeft het enkele kenmerken van beide omgevingen, maar heeft het ook unieke eigen eigenschappen (Ketchum 1983). Geografisch kan het worden opgedeeld in een bovenrivierachtig gedeelte tussen de getijdenstuw bij Herbrum en Pogum (nabij Emden) en de Dollard (een ondiepe baai, gedeeltelijk gescheiden door een lage geleidedam genaamd Geisedam). Het trechtervormige deel, stroomafwaarts van de Dollard, loopt door tot in de Eemshaven, waar de benedenloop onderdeel uitmaakt van de Waddenzee (Figuur 2).

Het Eems-estuarium vertoont een typische estuariene zoutgradiënt als gevolg van mengprocessen van de (Wadden)zee en de rivier. De overgang is zeer variabel door getijden, veranderende zoetwatervoorziening en wind. De overgangswateren van de Eems kunnen worden onderverdeeld in verschillende saliniteitszones, die volgens het Venetië-systeem (ITO 1959) ruwweg als volgt kunnen worden gelokaliseerd (IBL 1997; Kopetsch en Scholle 2021):

- zoetwater tussen km 9 (Herbrum) en km 20 (Critzum) (zoutgehalte < 0,5)
- oligohalien tussen km 20 en 30 (Oldersum) (zoutgehalte 0,5 – 5)
- mesohalien tussen km 30 en 51 (Knock) (zoutgehalte 5 – 18)
- polyhalien tussen km 51 en 97 (Borkum) (zoutgehalte 18 – 30)
- euhaline, marine vanaf km 97 (Borkum) (zoutgehalte 30 – 35).

Vanwege het ecologische belang zijn grote delen van het estuarium aangewezen als natuurbeschermingsgebied onder Natura 2000 (Ministerie van Economische Zaken 2017). Een deel van het gebied valt onder het Eems-Dollard verdrag en wordt door Nederland en Duitsland gezamenlijk beheerd. De Duitse en Nederlandse beheerstatus van het gebied is erg complex en beschreven in Bijlage 1.

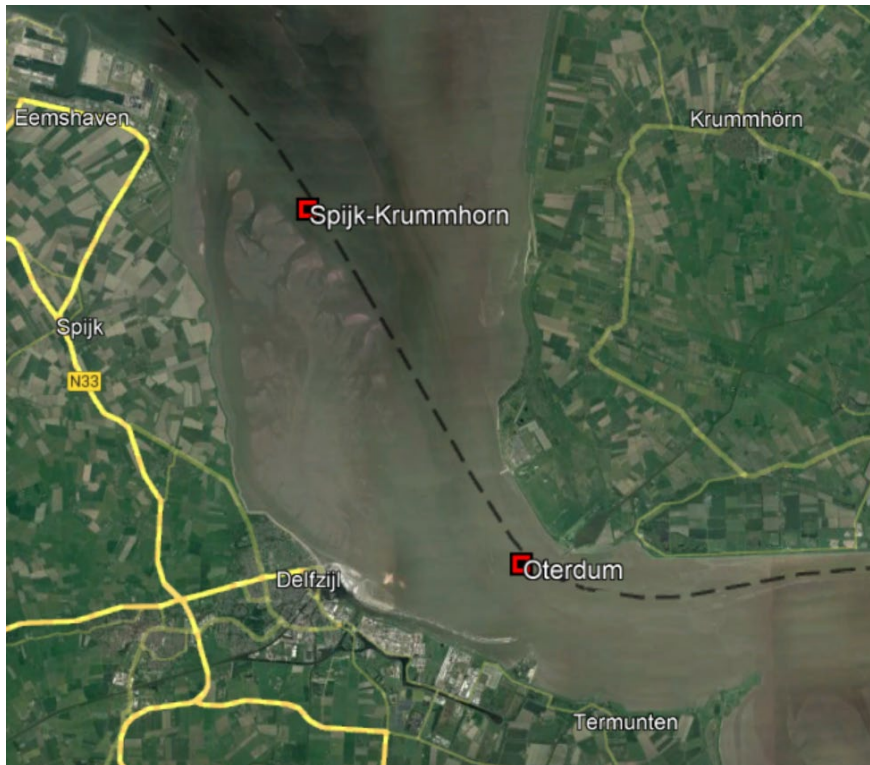


Figuur 2. Noordelijke loop van de Eems. De stuw bij Herbrum markeert het punt tot waar er getijdewerking is. Het Binnenste Estuarium loopt van Herbrum tot Pogum. Daar begint de Buiteneems. Deze wordt onderverdeeld in de Dollard (van Pogum tot de punt van Reide), de "Hals" (tussen het punt van Reide en de monding van de haven van Delfzijl), de Middelste Eemsmonding (tussen de havenmonding van Delfzijl en Eemshaven) en de Wester- en Oostereems aan de weerskanten van Borkum (Bron: https://nl.m.wikipedia.org/wiki/Bestand:Tidenems_map.png).

2 Methode

2.1 Verzameling haring

De haring is in september 2021 tijdens de jaarlijkse ankerkuilbemonstering in de Eems-Dollard door Bioconsult verzameld. Hiervoor is de commerciële sleepnetketter "Ostetal" door BioConsult gecharterd van 13 t/m 15 september 2021. De locaties van de stations in de Eems-Dollard en de visdata zijn weergegeven in Tabel 1 en Figuur 3.



Figuur 3. Kaartje van de vislocaties in de Eems

Tabel 1. Gegevens van de twee bemonsteringen.

Datum	Station	Saliniteits zone	Positie N	Positie O
14.09.2021	Spijk	polyhalien	53°25.020	6°55.626
15.09.2021	Oterdum	mesohalien	53°20.056	7°00.455

Op beide bemonsteringspunten (Krummhörn/Spijk en Oterdum) zijn tijdens de eb- en vloedstromen 40 haringen verzameld, dus in totaal $4 \times 40 = 160$ haringen, en bewaard in 96% ethanol. Voor de metabarcoding-analyse werden telkens 5 haringen bij elkaar gevoegd, waardoor elke bemonstering dus 8 monsters opleverde. De haringen werden willekeurig gekozen in de lengteklasse 6,5-8,5 cm: deze haringen hebben nog geen winterring in de otoliet en zijn in het najaar naar schatting 1 jaar oud.

2.2 Bewerking van de monsters

Voorafgaand aan de dissectie in het lab zijn lengte (TL, in mm) en lichaamsgewicht (geconserveerd in ethanol, in g) gemeten. De maag is uit het lichaam gesneden door eerst het maag-darmkanaal uit de buikholte te verwijderen. De maag is aan de voorzijde ter hoogte van de kieuwspleten afgesneden, waarbij een klein deel van de slokdarm is meegenomen. In overeenstemming met Valk (2021), is alleen de maaginhoud verzameld en niet de darminhoud. Volle magen zijn gewogen en opengesneden. Vervolgens werd de maaginhoud verzameld met een pincet en scalpel, waarbij het schrapen van maagweefsel zoveel mogelijk werd vermeden. De maaginhoud van vijf vissen van gelijke grootteklasse, bemonsterings- en bemonsterings-maand zijn samengevoegd in een 1,5 ml DNA LoBind Microcentrifuge Eppendorf-buis (Eppendorf, Hamburg, Duitsland) en geconserveerd in 96% ethanol. Monsters zijn vervolgens bewaard bij -20°C tot verdere analyse.

Om kruisbesmetting te voorkomen, is de gebruikte apparatuur voor het verzamelen van de maaginhoud na elke monsterafname grondig gesteriliseerd met 0,5% bleekmiddel (van der Loos en Nijland 2021).

Na het verzamelen van de maaginhoud is de lege maag gewogen om het gewicht van de maaginhoud te schatten, gedefinieerd door het verschil tussen het gewicht van een volle en lege maag. Maagvulling (SFD; mg/mm) is gedefinieerd als:

$$SFD = W_{sc}/TL$$

waarbij W_{sc} het gewicht van de maaginhoud (mg) is en TL de geconserveerde totale vislengte in mm (Bachiller en Irigoien 2015). Omdat de TL van de vissen niet wordt beïnvloed door ethanolconservering (Valk 2021), is aangenomen dat de maagvullingsgraad een betrouwbare schatting geeft voor de voedingsintensiteit.

Naast de FSD werd ook de Fulton's K, een maat voor de lichaamsconditie berekend:

$$Fulton's K = W_{Fish}/TL^3$$

Terwijl de maagvulling informatie geeft over recente voedingscondities, geeft Fulton's K inzicht in de voedingsgeschiedenis op de lange termijn als een maat voor de lichaamsconditie op lange termijn.

Per maag is ook op het oog een schatting gemaakt van de mate waarin de inhoud verteerd was, in vier klassen: volledig verteerd, voor het grootste deel verteerd, gedeeltelijk verteerd of leeg.

Zie Bijlage 2 voor het gevolgde protocol.

2.3 Meta barcoding analyse

Metabarcoding is een manier van codering van DNA waarbij veel taxa binnen hetzelfde monster tegelijk geïdentificeerd kunnen worden. Een barcode bestaat uit een kort variabel gengebied dat gebruikt kan worden voor taxonomische identificatie, geflankeerd door sterk geconserveerde gengebieden die kunnen worden gebruikt voor het ontwerpen van primers. De metabarcoderingsprocedure bestaat, net als gewone barcoding, uit achtereenvolgens DNA-extractie, PCR-amplificatie, *sequencing* en geautomatiseerde gegevensanalyse. Als het doel is om meerdere soorten in een monster te metabarcoderen wordt een meer universeel gen gebruikt. Door het koppelen van de barcodes aan een database met daarin alle mogelijke organismen wordt achterhaald welke organismen in het dieet voorkwamen. De soortnamenstelling werd afgelezen op twee DNA barcodes op het mitochondriale genoom: COI en 18S.

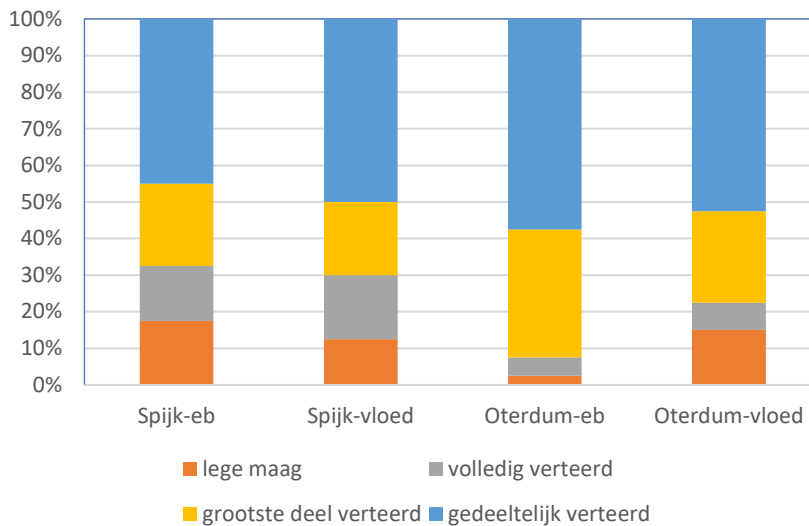
Voor de technische details rondom de analyses verwijzen we naar Valk (2021).

3 Resultaten

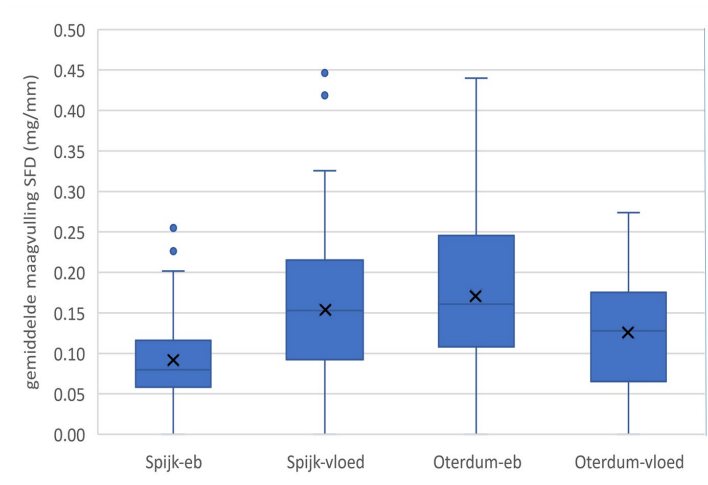
3.1 Vertering en maagvulling

In totaal werden 160 haringmagen (32 monsters van ieder 5 haringen) geanalyseerd. De monsters waren verdeeld over de twee locaties en de twee getijdedefasen; resulterend in 8 monsters per locatie-getijde (8x2x2). Van de geanalyseerde magen waren er 17 leeg (10,6%).

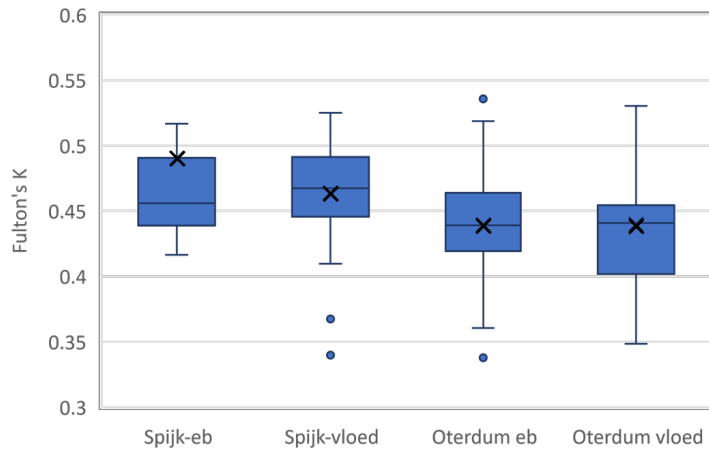
Vertering zoals geregistreerd op het oog in het laboratorium en maagvulling (SFD) zijn weergegeven in figuur 4 en 5. Deze waarden geven een ruwe indicatie van de mate van vertering. Het percentage lege magen varieerde tussen 2 en 18%. De magen van de haring bij eb op locatie Oterdum zijn significant voller dan haring van Spijk bij eb (fig 5; Dunn test; $p < 0.05$). De maaginhoud bij eb op locatie Oterdum was ook het verst in de vertering (fig 4). Bij Spijk waren de magen bij vloed voller dan bij eb, bij Oterdum was er geen significant verschil (Dunn test).



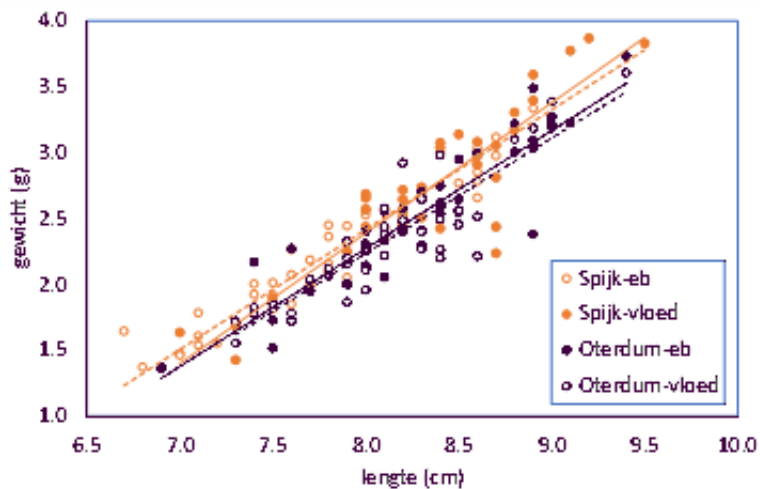
Figuur 4. Procentuele verdeling van de mate van vertering op de vier getijde-locatie combinaties (per staaf: n=40 (5x8)).



Figuur 5. Gemiddelde maagvulling (SFD) op de vier getijde-locatie combinaties. De kruisjes geven het gemiddelde aan. Uitleg boxplot: de horizontale streep in het midden is de mediaan. De onder – en de bovenkant van de blauwe "box" geven respectievelijk het eerste en derde kwartiel aan (1^{ste} kwartiel is de mediaan van de eerste helft van de getallen; het 3^{de} kwartiel is de mediaan van de tweede helft van de getallen). De uitersten van de verticale lijnen geven de maxima en minima aan.



Figuur 6. Boxplots van de conditie (Fulton's K, g/cm^3) op de vier getijde-locaties. De kruisjes geven het gemiddelde aan.



Figuur 7. Lengte-gewichtrelaties van haring op de twee locaties tijdens eb en vloed.

De conditiefactor (Fulton's K) van de haringen vertoonden geen duidelijk patroon in relatie tot het getij, maar verschilde wel tussen de locaties: de conditie van de haring bij Spijk is iets beter dan bij Oterdum (fig. 6; Dunn test; $p < 0.05$).

In figuur 7 zijn de lengte-gewicht-relaties van de jonge haringen weergegeven. Het verschil tussen de asafsnedes (intercepts) van de lijnen van Oterdum en Spijk is 9% ($F_{1,154} = 18.594$, $P < 0.001$) en indiceert dat de conditie van de jonge haring bij Oterdum iets slechter is dan bij Spijk.

Gezien de geringe afmetingen van de vis kan het wel/niet kunnen foerageren snel invloed hebben op de maaginhoud en daarmee op het gewicht van de vis. De lengte-gewicht-relaties wijzen niet op conditieverschillen tussen eb en vloed, maar wel op conditieverschillen tussen Oterdum en Spijk. De jonge haring bij Oterdum heeft minder kunnen foerageren dan bij Spijk.

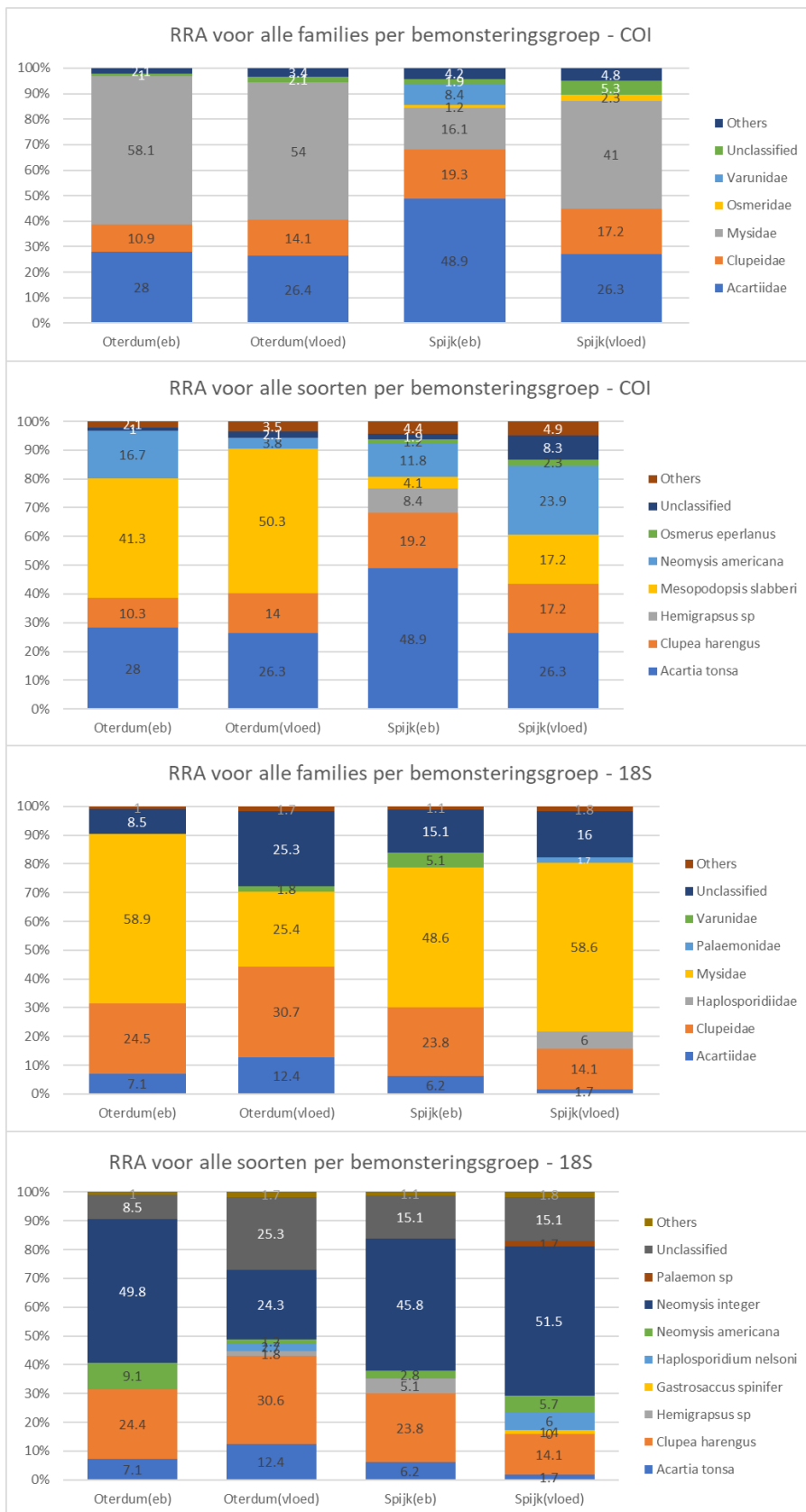
3.2 Soortsamenstelling

De extractie, amplificatie en *sequencing* was succesvol voor alle 40 monsters. De soortsamenstelling werd afgelezen op twee DNA barcodes op het mitochondriale genoom: COI en 18S. Alleen prooifamilies met meer dan 1% van het totaal aantal aflezingen (*Relative Read Abundance: RRA*) worden in de onderstaande figuren weergegeven. Families met een RRA van minder dan 1% zijn weergegeven in de categorie "other". De aflezingen worden zowel op soort- als op familieniveau gepresenteerd. De categorie 'unclassified' is laag. Dit betreft DNA barcodes uit de maaginhoud die geen match hebben met de DNA database, deze konden daarom niet op soort gebracht worden worden.

Tabel 2. Soorten en families waarvoor het aantal aflezingen (RRA) groter is dan 1%, op basis van de COI en de S18 primer. De kolommen COI en S18 geven aan op welke DNA barcodes de soort of de familie is afgelezen.

Soort	COI	S18	familie	COI	S18	NL-naam
<i>Acartia tonsa</i>	x	x	Acartiidae	x	x	langsprietroeipootkreeft
<i>Clupea harengus</i>	x	x	Clupeidae	x	x	haring
<i>Gastrosaccus spinifer</i>		x	Mysidae	x	x	
<i>Haplosporidium nelsoni</i>		x	Haplosporidiidae		x	oesterziekte(MSX)-bacterie
<i>Hemigrapsus</i> sp	x	x	Varunidae	x	x	penseelkrab of blaasjeskrab
<i>Mesopodopsis slabberi</i>	x		Mysidae	x	x	steeloogaasgarnaal
<i>Neomysis americana</i>	x	x	Mysidae	x	x	Amerikaanse aasgarnaal
<i>Neomysis integer</i>		x	Mysidae	x	x	brakwateraasgarnaal
<i>Osmerus eperlanus</i>	x		Osmeridae	x		spiering
<i>Palaemon</i> sp		x	Palaemonidae		x	Steurgarnalen

Het algemene beeld (fig. 8) is dat de maaginhouden voornamelijk bestaan uit *Acartiidae* (roeipootkreeften) en *Mysidae* (aasgarnalen), waarbij het binnen de *Acartiidae* gaat om de langsprietroeipootkreeft (*Acartia tonsa*). Binnen de *Mysidae* (aasgarnalen) is het minder duidelijk om welke soort(en) het precies gaat. Van deze familie wordt de invasieve exoot Amerikaanse brakwateraasgarnaal (*Neomysis americana*) op beide DNA barcodes afgelezen. In de analyse op basis van de 18S primer worden twee *Neomysis*-soorten afgelezen: *N. americana* en *N. integer*, terwijl op basis van de COI primer de steeloogaasgarnaal (*Mesopodopsis slabberi*) algemeen voorkomt. Over het algemeen zijn er meer soorten in de analyse op basis van de 18S primer afgelezen dan op die op basis van de COI primer. De resultaten geven ook vaak haring (*Clupea harengus*), maar dit is naar alle waarschijnlijkheid afkomstig van DNA-materiaal van de maagwand.



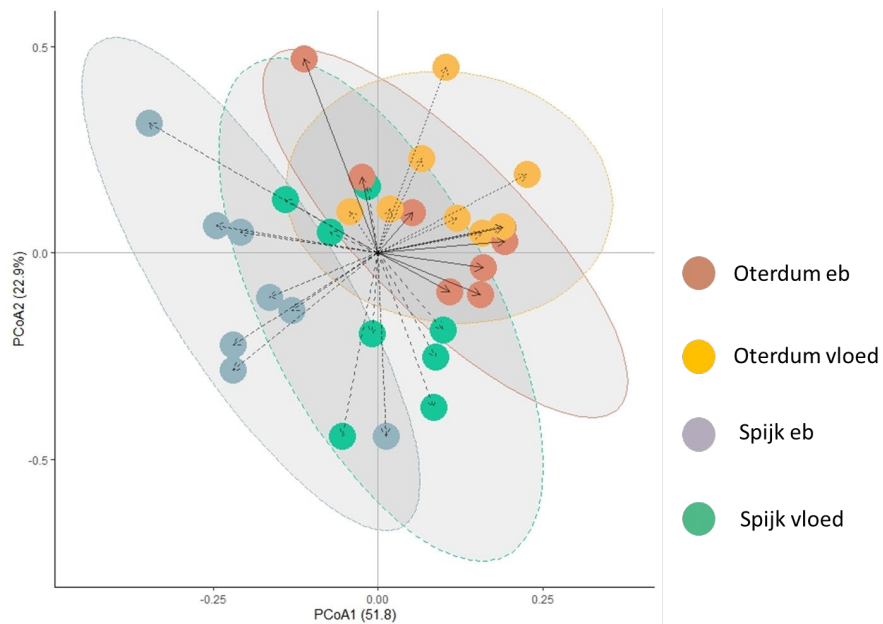
Figuur 8. "Relative Read Abundance" (RRA) (relatief voorkomen) van soorten en familie voor de COI – en de S18 primer.

3.2.1 Verschillen in dieet tussen locaties en getijfase

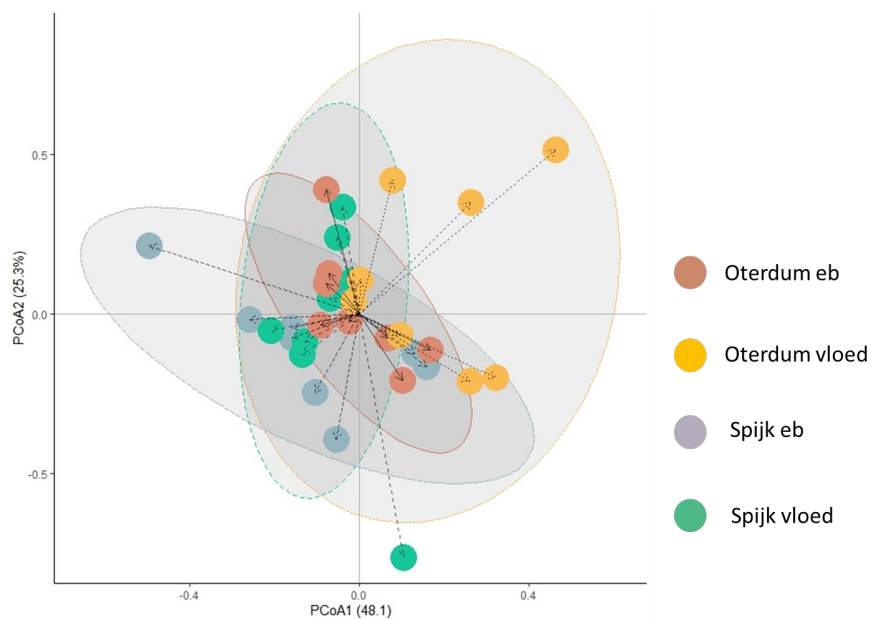
Om de vraag te beantwoorden of er verschillen zijn in dieetsamenstelling tussen gebieden en/of getijfasen, is een principale coördinaten analyse (PCoA) uitgevoerd op basis van paarsgewijze vergelijkingen van de Bray-Curtis dissimilariteiten.

PCoA is een non-parametrische multivariate analysemethode in de statistiek om een grote hoeveelheid gegevens te beschrijven met een kleiner aantal relevante grootheden, de hoofdcomponenten of principale componenten.

Uit de plots (fig. 9 voor COI 9 en 10 voor 18S10) blijkt dat er veel overlap is tussen de monsters, met name op basis van 18S. Echter Spijk en Oterdum bij vloed overlappen nauwelijks (fig. 9). Ook voor de soortensamenstelling lijkt dus het gebiedseffect groter dan het getij-effect.



Figuur 9. Principale coördinaten analyse van soorten en familie op het COI DNA barcode.



Figuur 10. Principale coördinaten analyse van soorten en familie op het 18S DNA barcode.

4 Discussie

4.1 Haring in de Eems: voedsel en gedrag

Bij aanvang van de studie zijn een aantal vragen gesteld (zie 1.1), waarbij het vooral ging om de voedselkeuze en conditie van haring in het Eems-Dollardgebied en mogelijke verschillen die door locatie of getij verklaard kunnen worden. Hierbij is ook de maagvulling onderzocht.

Over het algemeen kan gesteld worden dat de methode van *nanospore sequencing* behoorlijk succesvol is. De onderzoeksvragen (zie 1.1) zijn voor een deel beantwoord. Het voedsel van de jonge haring blijkt vooral te bestaan uit *Mysidae* (aasgarnalen), waarbij *Neomysis americana* en *Neomysis integer* veel voorkomende soorten waren. Ook *Acartidae* (roeipootkreeften) zijn veel gevonden. De relatief grote fractie haring wordt waarschijnlijk veroorzaakt door materiaal van de maagwand van de haringen zelf, maar er kan niet uitgesloten worden dat er ook daadwerkelijk haringlarven gegeten wordt (Valk, 2021).

Opvallend is dat er verschillen zijn tussen de resultaten gebaseerd op de twee verschillende DNA barcodes. Van 18S is bekend dat de beschikbare *barcode database* voor mariene soorten net iets minder compleet is dan die van COI. De *barcode database* voor beide *DNA barcodes* worden nog steeds verder aangevuld. Verschillen kunnen ook zijn veroorzaakt door de gebruikte primers, er is bekend dat deze niet voor alle soorten even goed werken.

Er zijn (subtiële) verschillen in dieet tussen de getijfasen op beide locaties. Bij eb zijn de magen bij Oterdum het volst, maar de inhoud lijkt het verst verteerd. Bij Spijk zijn de magen bij eb juist leger en het minst ver verteerd. Bij vloed zijn de verschillen tussen de locaties veel kleiner.

De conditie van de vissen verschilt tussen de locaties veel meer dan tussen eb en vloed. De haring bij Spijk heeft een iets betere conditie dan de haring bij Oterdum, gebaseerd op de Fulton's K score. Dit komt overeen met de lengte-gewichtrelaties op beide locaties: deze verhouding is voor haring bij Spijk is gemiddeld 9% hoger dan bij Oterdum

Het percentage lege magen bedroeg gemiddeld ca 10% en verschilde weinig tussen beide locaties.

De vraag is wat deze gegevens ons kunnen vertellen over hoe haring het gebied gebruikt. Spijk ligt noordelijker dan Oterdum en dus dichterbij de Noordzee. We gaan er vanuit dat haring van deze afmeting zich grotendeels laat meevoeren met de stroming. Dat zal ook gebeuren met het merendeel van hun voedsel. Gezien de verteringsnelheid - in de orde van 0,5-2 uur (Hallfredsson *et al.* 2007; Amen 2014) - die je mag verwachten van de gevonden soorten, is het dus waarschijnlijk dat de bemonsterde dieren actief aan het foerageren waren ten tijde van de vangst en dat ze dus zowel bij opkomend als afgaand water foerageren. Het verschil in conditie - zowel voor de lengte-gewichtsverhouding (9%) als voor de Fulton's K conditie factor (ca 4.5%, zie figuur 6) - tussen de twee locaties is mogelijk te verklaren uit de hogere slibconcentratie bij Oterdum dan bij Spijk. Ook is het aantal vissen dat gevangen wordt bij Oterdum zo'n zesmaal lager dan bij Spijk.

Over de beweging van haring met het tij in de zeegaten is weinig bekend. Het kan zijn dat vissen bemonsterd zijn die langere tijd in het gebied zelf verblijven of die zich op de getijbeweging mee in en uit laat voeren.

Uit de gedetailleerde analyse van de KRW-najaarsbemonstering blijkt dat de gevangen hoeveelheden haring per volume water (CPUE) ter hoogte van Spijk een factor 2 tot 6 hoger liggen dan bij Oterdum (van Rijssel *et al.* 2021). Op een veel minder zout station met veel hogere slibconcentraties, verder stroomopwaarts de Eemsvier op is de dichtheid aan vis nog veel lager. De vraag dient zich dan aan of de haring het Eems-Dollard gebied aandoet omdat ze daar actief naartoe zwemmen en ter plekke blijven of omdat ze er met de waterstroom mee, terecht zijn gekomen.

Het verschil tussen de Waddenzee en de Noordzee als habitat, is vooral terug te voeren op het verschil in saliniteit. Het is onbekend of haring in het algemeen en in de Waddenzee wordt aangetrokken door lagere zoutgehaltes. Er is geen bewijs dat de hoeveelheid jonge haring in de Waddenzee groter is dan in de Noordzeekustzone. Uit de literatuur is bekend dat haring goed kan overleven bij lage zoutgehaltes (Havinga 1954); (Brawn 1960). Havinga nam ook waar dat haring zich zelfs nog in lage zoutconcentraties (ca 1.8 promille) kon voortplanten en dat de larven en juvenielen zich ook nog bij deze zoutconcentratie konden ontwikkelen.

Op dit moment vindt er bij WMR een studie plaats naar de relatie tussen vangsten van een aantal soorten in een fuik bij Kornwerderzand en het spuiregime aldaar (Van Elderen in voorbereiding). Er lijkt een lichte toename te zien van jonge haring in het voorjaar (1 maart - 30 juni) op momenten dat er veel (zoet) water gespuid wordt bij de spuisluizen, terwijl er gedurende de rest van het jaar tussen de jaren juist een afname is van de hoeveelheid haring. Opvallend is dat de toename in het voorjaar niet wordt waargenomen voor volwassen haring, terwijl dit toch de periode is waarin vroeger de volwassen haring naar de Zuiderzee zwom.

Het is niet duidelijk waardoor de lichte toename bij het spuien in het voorjaar wordt veroorzaakt. Mogelijk komt een zoetwaterplanktonsoort mee bij het spuien. Volgens van Elderen speelt mogelijk ook het zuurstofgehalte een – complexe - rol. In de Zeeschelde leek het voorkomen van haring vooral verklaard te kunnen worden met het beschikbare zuurstof (Maes *et al.* 1998). Het is bekend dat haring minder zuurstof opneemt bij lagere zoutgehaltes (Almatar 1984). Het zuurstofgehalte tijdens het spuien van het zoete water neemt wellicht tijdelijk toe, waardoor het totale effect voor het voorkomen van de haring waarschijnlijk klein is.

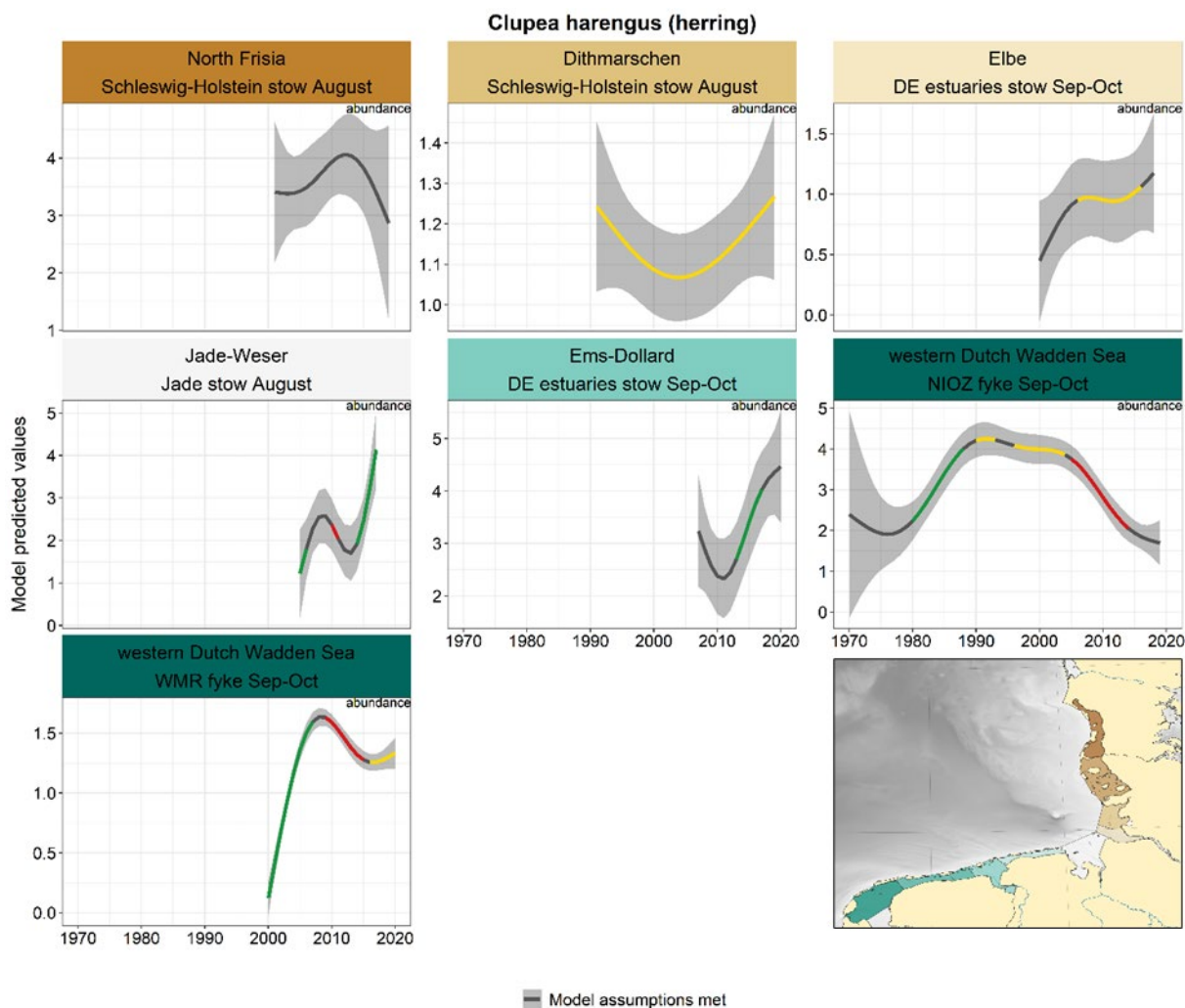
Een belangrijke factor in de voedselstrategie van vis is de afmeting van de prooi-soorten. Zo is bijvoorbeeld aangetoond dat de groei van jonge kabeljauw sterk afhangt van de gemiddelde grootte van het zoöplankton (Beaugrand en Reid 2003). Als die te klein wordt, kan dat betekenen dat een vis niet meer efficiënt kan foerageren, met gevolgen voor groei en overleving. Omdat we geen zoöplankton bemonsterd hebben, hebben we hier geen zicht op. Binnen het Swimway project is dat wel gebeurd en worden ook de groottes van het zoöplankton vastgesteld, maar de resultaten hiervan zullen pas in de komende jaren beschikbaar komen.

4.2 Vergelijking met andere gebieden

De aantalsontwikkeling van haring laat in veel van de meer oostelijk gelegen gebieden in het Waddenzeegebied stijgende trends zien in de laatste tien jaar (fig. 11). Dat zien we niet terug in de meer westelijk gelegen delen en ook niet in de Westerschelde (van Rijssel *et al.* 2021). Zoals hierboven in paragraaf 4.1 al is gebleken, is het niet duidelijk wat de achterliggende oorzaak is.

Gegevens om onze resultaten mee te vergelijken zijn schaars. In het afgelopen jaar heeft een jaarrond dieetbemonstering van haring plaatsgevonden in het Marsdiep en het Westgat in het kader van het programma Swimway. Op dit moment zijn alleen de gegevens van de maanden april-juli uitgewerkt (Valk 2021). De maandverschillen in het dieet bleken groter dan de verschillen tussen de gebieden. *Acartiidae* en *Temoridae* (roeipootkreeften), *Balanidae* (zeepokken), en *Clupeidae* (haringachtigen) kwamen het vaakst voor in de magen. In de Eems kwamen *Temoridae* en *Balanidae* niet voor in de septembermonsters. Een goede vergelijking is alleen mogelijk met de septembermonsters uit de Waddenzee, maar die zijn nog niet uitgewerkt.

Vergeleken met Valk (2021) voor haring in het voorjaar van 2021 zijn de conditiewaarden van haring (najaar 2021) bij met name Spijk relatief hoog. Dat is op zich niet verwonderlijk gegeven het verschil in seizoen, omdat de haring in september er een heel groeiseizoen op heeft zitten. De mate van vertering was in dezelfde orde van grootte.



Figuur 11. Trendanalyse van haring bemonsterd met fuiken of ankerkuilen in andere gebieden en de Eems (data KRW bemonstering). Uit Quality Status Report 2022 (in druk).

In de Noordzee hebben van Ginderdeuren *et al.* (2014) maandelijks onderzoek gedaan naar het dieet van kleine pelagische vis en het voorkomen van zoöplankton in de Belgische Noordzee. De in die studie onderzochte haring werd gedomineerd door juveniele vis. Ze vonden over het hele jaar dat 12% van de magen leeg was, ongeveer gelijk aan de haringen uit deze studie en overigens ook heel vergelijkbaar met kleine pelagische vis uit andere studies. De maaginhoud (biomassa) werd gedomineerd door een copepode (roeipootkreeft), *Temora longicornis*, en een mysid (aasgarnaal), *Schistomysis kervillei*, wederom vergelijkbaar met deze studie, waar de copepode *Acartia tonsa* en de mysid *Neomysis* de best vertegenwoordigde prooi-soorten zijn. In de zuidelijke Noordzee, bestond het dieet uit voornamelijk kreeftachtigen (Segers *et al.* 2007). Opvallend is dat Van Ginderdeuren *et al.* (2014) geen verband vond tussen de abundantie van zoöplanktonsoorten in zee en in de magen, hetgeen erop duidt dat haring selectief foerageert. Dit wordt ook gevonden in het Duitse deel van het Waddengebied (Kellnreitner 2012; Kellnreitner *et al.* 2012) en het Baltische gebied (Sandström 1980; Last 1987; Arrhenius 1996). De kwantitatieve soortsaanstelling in de magen weerspiegelt dus niet die van de zoöplankton in het gebied. Dit betekent dat de totale hoeveelheid plankton in het gebied waarschijnlijk minder beperkend is voor het voorkomen van juveniele haring. Omgekeerd betekent dit dat veranderingen in geprefereerde voedselsoorten daarentegen wel een groot effect kunnen hebben.

Doordat we geen zoöplankton hebben bemonsterd, is het niet mogelijk om iets te zeggen over de selectiviteit in de prooi-keuze van juveniele haring in de Eems-Dollard. In het kader van het bovengenoemde Swimway project zijn al wel zoöplanktonbemonsteringen uitgevoerd in de Waddenzee (niet in het Eems-Dollard), maar deze moeten nog worden geanalyseerd. De enige gegevens over het voorkomen van zoöplankton in de Eems-Dollard die bij ons bekend zijn, zijn uit de tachtiger jaren (Baretta en Malschaert, 1988) en dus gedateerd. Baretta en Malschaert (1988) vonden dat vangsten in augustus en september werden gedomineerd door de roeipootkreeft

Acartia tonsa. Deze soort is prominent aanwezig in de magen van jonge haring volgens de RRA voor de COI- en in mindere mate voor de S18 primer. Aasgarnalen (*Mysidae*, met name *Neomysis sp.*) domineerde in de haringmagen in deze studie, maar kwamen wel voor in de vangsten in de nazomer, maar in relatief veel lagere aantallen. Dit zou kunnen wijzen op selectieve predatie op aasgarnalen door de jonge haring. *Mysidae* zijn in september (lengte ca. 5-10mm; Mees *et al.* 1994) veel groter dan *Calanidae* (lengte *Acartia tonsa* ca. 1 mm). Dit kan betekenen dat jonge haring kleinere zoöplanktonsoorten prefereert. Zoals hierboven al is opgemerkt, is de grootte van het zoöplankton een belangrijke factor in de voedsel生态学 van opgroeiende (pelagische) vis en het zou een eventuele selectieve voedselkeuze kunnen verklaren.

Wat zeggen de gevonden resultaten over de kinderkamer(opgroei)functie van de Eems-Dollard? Een kinderkamer kan aan de hand van vier factoren geïdentificeerd worden: dichtheid, groei, overleving ten opzichte van andere gebieden en verplaatsing van de juveniele naar adulte leefgebieden (Beck *et al.*, 2001). Een gebied is een kinderkamer wanneer minstens één van deze vier factoren hoger is dan in andere gebieden. De ultieme maat is uiteindelijk de biomassa van alle individuen die rekruteren in de adulte populatie (Beck *et al.*, 2001).

Deze studie was niet ontworpen om één of meer van deze factoren te identificeren, alleen al omdat in het onderzoek andere mogelijke kinderkamergebieden als referentie meegenomen zou moeten worden. De eerdergenoemde SWIMWAY-studie, die op dit moment loopt en waarin onder meer groei en dichtheid worden gemeten op meerdere locaties in de Waddenzee, kan mogelijk duidelijkheid verschaffen over de rol van de Eems-Dollard als kinderkamer door de vergelijking met de Waddenzee.

Als gevolg van het vaak ontbreken van onderzoeksgegevens dat daadwerkelijk het belang toetst van een gebied als opgroei gebied voor juveniele vis (zie voorgaande alinea), wordt als alternatief hiervoor, er vaak vanuit gegaan dat een gebied een belangrijke kinderkamerfunctie heeft als er veel juveniele vis van de soort of populatie in het gebied aanwezig is (zie bijvoorbeeld de brochure van ED2050, *Meerjarig adaptief programma Eems-Dollard - De toestand van de natuur, de projecten en het programma in 2019*). Volgens dit criterium zou de Eems-Dollard een belangrijke kinderkamer zijn, aangezien jonge haring in vrijwel alle jaren sinds de start van de ankerkuilbemonstering in 2006 de dominante soort in de vangst is: alleen in het startjaar 2006 was de haring niet dominant in de vangst. De hoeveelheid haring is sinds 2013 zelfs sterk toegenomen (Van Rijssel, 2021). Deze toename gaat in tegen de trend van de Noordzee-haring, die sinds 2002 lager dan gemiddeld jaarklassen heeft geproduceerd. Alleen in 2013 is er een lichte opleving in de aanwas (recruitment) van Noordzee najaarspaaiers (ICES 2021; fig. 12) geweest. Deze kleine piek in 2013 valt samen met de start van de toename van jonge haring in de Eems-Dollard. In de periode 2018-2020 zijn hoeveelheden jonge haring in de ankerkuilvangsten een veelvoud van de hoeveelheden vóór 2013, maar dit wordt dus niet gereflecteerd in de volwassen populatie in de Noordzee in latere jaren.



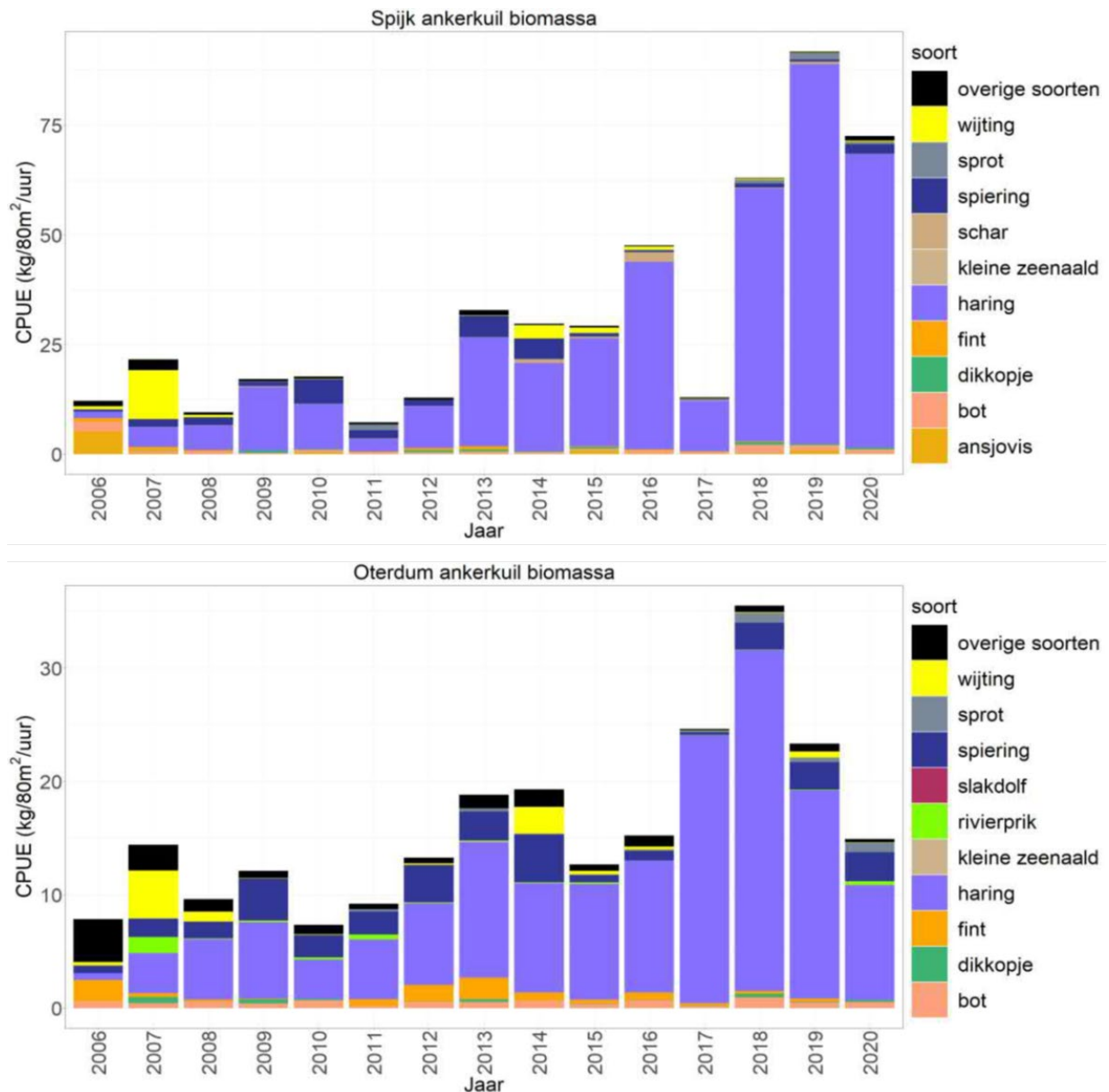
Figuur 12. Sterkte van de nieuwe jaarklassen van haring (Noordzee najaarspaaiers; ICES 2021)

De grotere ankerkuilvangsten tegen de trend in van zwakke jaarklassen in de Noordzee stelt de aanname dat de status van de Eems-Dollard als belangrijke kinderkamer voor haring ter discussie, aangezien men juist zou verwachten dat de jaren van sterke jaarklassen worden weerspiegeld in de kinderkamers. Het roept wel de vraag op waardoor de sterke toename van haring in de ankerkuilvangsten dan wél wordt veroorzaakt.

De toegenomen troebelheid van het middengebied van de Eems, waar de locaties bij Spijk en Oterdum onder vallen, zou mogelijk een negatieve invloed kunnen hebben op de verspreiding van pelagische vissoorten en de prooidieren waarvan ze afhankelijk zijn (González-Ortegón et al, 2010). Deze studie geeft aan dat de haring in het gebied van de Eems foerageert op diergroepen die ook normaliter voorkomen in het aangrenzende gebied. De haring was in goede conditie en was niet sterk vermagerd. De conditie van de haring (de verhouding tussen lengte en gewicht) kan niet direct vergeleken worden met waarden uit de Noordzee, omdat de metingen zijn uitgevoerd op in alcohol geconserveerde exemplaren. De conditie op grond van de metingen op geconserveerde dieren valt in de dezelfde orde als die in de Waddenzee (Valk, 2021). De hypothese dat haring niet meer goed zou kunnen foerageren in het gebied als gevolg van de toegenomen slibgehalte is niet waarschijnlijk. Er lijkt genoeg voedsel aanwezig te zijn in het middengebied van de Eems-Dollard. Het is ook nog mogelijk dat een eventuele minder goede voedselproductie in de Dollard en de Eemsrivier, wordt "gecompenseerd" door de getijdenwerking: de haring bij Spijk en Oterdum zou dan nog profiteren van de aanvoer van voedsel uit de minder troebele Waddenzee. De voedselsituatie voor haring in de – niet onderzochte - zeer troebele Dollard kan wel ongunstiger zijn. Over het voorkomen van haring in de Dollard zelf - net als over dieet en conditie - is echter niets bekend omdat daar geen bemonstering plaatsvindt.

De lagere vangsten en de iets lagere conditie van de jonge haring bij Oterdum, stroomopwaarts van Spijk lijken de aanname dat de voedingscondities dieper in de Dollard afnemen te ondersteunen, maar de gevonden verschillen zijn in tegenspraak met het feit dat de maaginhoud in Oterdum juist weer hoger was (alleen bij eb significant hoger).

Overigens heeft de toegenomen troebelheid invloed op de vangbaarheid, doordat vis het net niet kan zien onder troebele omstandigheden. Onder vissers is het algemeen bekend dat de vangbaarheid van vis toeneemt, naarmate het doorzicht afneemt. Toch lijkt een toename van de vangbaarheid van vis niet de verklaring voor de toegenomen haringvangst, omdat de slibconcentratie al ver voor 2006 sterk is toegenomen en de overige vissoorten geen toename laten zien (Van Rijssel, 2021; figuur 13).



Figuur 13. Vangstgewichten per soort in de jaarlijkse ankerkuilbemonstering bij Spijk en Oterdum (Van Rijssel, 2020).

Er is nog een verklaring mogelijk voor de grotere ankerkuilvangsten tegen de trend in van zwakke jaarklassen van haring: mogelijk behoort een deel van de haring in de Eems niet tot de populatie van de Noordzee najaarspaaiers, maar tot een plaatselijk bestand van voorjaarspaaiers. Haring in de Noordzee wordt gedomineerd door het bestand van de Noordzee najaarspaaiers, maar in werkelijkheid zijn er veel kleine (sub)populaties in het noordoost Atlantische gebied (Hay et al, 2001). Individuen van jonge haring, gevangen tijdens onderzoek in de Waddenzee, kunnen soms opvallend van elkaar verschillen (figuur 14). Het is niet bekend of deze uiterlijke verschillen fenotypisch zijn (veroorzaakt door de leefomgeving) of een genetische oorsprong hebben en de jonge haring in de Waddenzee uit verschillende populaties bestaat. Dit laatste is niet uitgesloten, want er wordt incidenteel paarijpe haring gevangen in het voorjaar in de NIOZ-fuik bij Texel. Deze paarijpe haring zou bijvoorbeeld afkomstig kunnen zijn van een plaatselijke populatie van voorjaarspaaiers, mogelijk gerelateerd aan het bestand dat ooit paaide in de Zuiderzee.

Een mogelijke verklaring voor de uiterlijke verschillen zou kunnen zijn dat de exemplaren met een relatief groot oog zich langer in de Waddenzee bevinden en daardoor een groeiachterstand hebben opgelopen. Een vergroot oog is namelijk een indicator voor groeiachterstand, en waargenomen bij een zoetwater sardiensoort *Limnothrissa miodon* (Paulsen, 1996) en bij haring in het Baltische gebied (Parmanne, 1990 in Paulsen, 1996).



Figuur 14. Twee verschillende typen haring in de vangst tijdens de SWIMWAY akoestische survey in mei 2022. Het is niet bekend wat er ten grondslag ligt aan het verschil in uiterlijk tussen drie exemplaren aan de linkerkant en de twee exemplaren aan de rechterkant (met duidelijk grotere ogen en een minder langgerekte vorm).

5 Conclusies en aanbevelingen

De uitgevoerde studie was beperkt in omvang en had een verkennend karakter. Het was tevens de bedoeling om met behulp van de gevonden resultaten beter in staat te kunnen zijn (werk)hypothesen te formuleren en realistische haalbare voorstellen te doen voor vervolgonderzoek.

5.1 Conclusies

Er lijken geen grote verschillen in het dieet van jonge haring te zijn tussen de getijfasen.

De conditie vertoont gebiedsverschillen waarbij de haring in Spijk een iets betere conditie heeft dan de haring in Oterdum. Er zijn geen aanwijzingen voor voedseltekort.

De magen bij Oterdum waren meer gevuld dan bij Spijk, het percentage lege magen bedroeg ca 10% en verschilde weinig tussen beide locaties en is eerder gevonden in vergelijkbaar onderzoek elders.

De inhoud van de magen bij Spijk leek wat verder verteerd. Ook hierbij waren de verschillen tussen eb en vloed zijn klein.

5.2 Aanbevelingen

Om daadwerkelijk te toetsen wat het belang van het Eems-Dollard gebied is voor de opgroei van haring (kinderkamerfunctie), moet het onderzoek zich richten op de vraag wat de bijdrage van de Eems-Dollard is aan de biomassa van het paaibestand in het leefgebied van de volwassen haring, de Noordzee. Onderzoek naar verwantschap van adulte haring met de verschillende vermeende kinderkamers, zou hier een antwoord op kunnen geven. Op dit moment bevindt onderzoek naar de typering van subpopulaties in de Noordzee door WMR zich in een vroege fase. Het verdient de aanbeveling om, hierop vooruitlopend, alvast haringmonsters uit de Eems-Dollard te verzamelen voor DNA-analyse, zodat deze beschikbaar zijn voor toekomstig internationaal gecoördineerd onderzoek, bijvoorbeeld in relatie tot de akoestische bestandsopnamen door ICES.

De in dit onderzoek toegepaste methode voor het determineren van de prooidieren op basis van metabarcoding brengt nog wat onzekerheden met zich mee. Van een aantal gevonden DNA sequenties was geen referentie beschikbaar in de DNA referentie bibliotheken zodat niet bepaald kon worden om welke soort het ging. Als over een aantal jaar de databank verder is aangevuld kan meer zekerheid worden verkregen over de soortensamenstelling.

Om een beter inzicht te krijgen in de mate waarin haring selectief foerageert kunnen de hier gepresenteerde dieet-data op basis van metabarcoding, in een later stadium nog vergeleken worden met de resultaten van zoöplanktonbemonstering in Swimway. Het Eems-Dollard gebied zelf wordt echter niet seizoensmatig bemonsterd op zoöplankton binnen Swimway. Op dit moment is er alleen de publicatie van Baretta en Malschaert (1988) uit de tachtiger jaren. Overigens vindt in Duitsland wel monitoring van zoöplankton plaats, maar hiervan hebben wij geen publicatie kunnen vinden. Een nieuwe studie naar de huidige seizoensdynamiek van zoöplankton in het gebied, bij voorkeur in afstemming met de Duitse bemonstering en toekomstige Nederlandse bemonstering op de Noordzee,

zou belangrijke informatie kunnen geven omtrent de achterliggende redenen dat de hoeveelheid jonge haring in het gebied sinds 2013 is toegenomen (Zie ook de voorzet van Jak en Van Walraven 2022). Een integrale bemonstering van magen door middel van metabarcoding, gecombineerd met simultane bemonstering van zoöplankton en groei van haring in de Noordzee, de Waddenzee en de Eems-Dollard, zou hierover duidelijkheid kunnen verschaffen.

Omdat in de huidige studie het vanwege de logistieke beperking niet mogelijk was om een extra persoon aan boord te laten meevaren voor bemonstering tijdens de reguliere jaarlijkse ankerkuilbemonstering, is voor een toekomstige simultane zoöplankton- en maagbemonstering de inzet van een extra onderzoeksschip vereist. De extra werklust aan boord was voor deze studie het maximaal haalbare.

De huidige studie is een momentopname geweest. Het is de verwachting dat de huidige, lopende bemonstering in het kader van Swimway, meer inzicht geeft in verschillen tussen de seizoenen. Op basis van de Swimway-resultaten, zal moet worden bezien of het zinvol is om aanvullende bemonsteringen uit te voeren in andere seizoenen in het Eems-Dollard gebied.

Er zijn op dit moment geen gegevens beschikbaar over de groei van haring in het Eems-Dollard gebied. Juist de groeisnelheid in het gebied en in vergelijking met de Waddenzee, zou inzicht geven in de waarde als opgroeigebied van jonge haring. Aangezien er tijdens de maandelijkse ankerkuilbemonstering in het kader van Swimway ook gegevens zijn verzameld in de buurt van Spijk en Oterdum – de vaste bemonsteringslocatie binnen Swimway, ligt veel verder stroomopwaarts, maar als gevolg van slecht weer tijdens de bemonstering werd een aantal keer uitgeweken naar een locatie in de buurt van de KRW-locaties – is het mogelijk dat hierover meer duidelijkheid komt.

Met de lagere vangsten stroomopwaarts (bij Oterdum) in combinatie met de iets hogere conditie van haringen in Spijk lijkt het alsof de voedingscondities dieper in de Dollard afnemen (al was de maaginhoud in Oterdum juist weer hoger). Hoewel bewijs voor deze hypothese ontbreekt, is het een interessant uitgangspunt voor verder onderzoek.

6 Dankwoord

Deze studie is gefinancierd door ED2050. Namens ED2050 trad Charlotte Schmidt van Rijkswaterstaat WVL op als opdrachtgever. We danken David Kopetsch en zijn medeonderzoekers van Bioconsult voor de extra inspanning die ze hebben geleverd voor het verzamelen van de haringmonsters aan boord. Ineke Pennock heeft het voorbereidende werk gedaan in het lab IJmuiden en Lydia Cornelissen heeft geholpen met de voorbereiding en de verzending van de monsters.

7 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.

Het Chemisch en Benthos laboratorium beschikken over een EN-ISO/IEC 17025:2017 accreditatie voor testlaboratoria met nummer L097. Deze accreditatie is verleend door de Raad voor Accreditatie. Het Chemisch en Benthos laboratorium hebben hierdoor aangetoond in staat te zijn op technisch bekwaame wijze valide resultaten te leveren en te werken volgens de ISO17025 norm. De scope (L097) met de geaccrediteerde analysemethoden is te vinden op de website van de Raad voor Accreditatie (www.rva.nl).

Op grond van deze accreditatie is het kwaliteitskenmerk Q toegekend aan de resultaten van die componenten die op de scope staan vermeld, mits aan alle kwaliteitseisen is voldaan. Het kwaliteitskenmerk Q staat vermeld in de tabellen met de oorspronkelijke onderzoeksresultaten.

De kwaliteit van de analysemethoden wordt op verschillende manieren gewaarborgd. De juistheid van de analysemethoden wordt regelmatig getoetst door deelname aan ringonderzoeken cq bekwaamheidsonderzoeken (3^e lijnscontrole). Daarnaast worden bij iedere meetserie nog andere kwaliteitscontroles uitgevoerd waaronder 1^e lijns (controlemonsters) en 2^e lijns controles.

Indien gewenst kunnen gegevens met betrekking tot de prestatiekenmerken van de analysemethoden bij het laboratorium worden opgevraagd.

Indien sprake is van onbeheerste kwaliteit worden passende maatregelen genomen.

Literatuur

- Almatar, S. (1984). Effects of acute changes in temperature and salinity on the oxygen uptake of larvae of herring (*Clupea harengus*) and plaice (*Pleuronectes platessa*). *Marine biology* 80(2): 117-124.
- Amen, R. (2014). Temperature Impact on the Feeding Dynamics and Ammonium Excretion of Larval Herring (*Clupea harengus*).
- Arrhenius, F. (1996). Diet composition and food selectivity of 0-group herring (*Clupea harengus* L.) and sprat (*Sprattus sprattus* (L.)) in the northern Baltic Sea. *ICES Journal of Marine Science* 53(4): 701-712.
- Bachiller, E. en X. Irigoien (2015). Trophodynamics and diet overlap of small pelagic fish species in the Bay of Biscay. *Marine Ecology Progress Series* 534: 179-198.
- Baretta, J. en J. Malschaert (1988). Distribution and abundance of the zooplankton of the Ems estuary (North Sea). *Netherlands Journal of Sea Research* 22(1): 69-81.
- Beaugrand, G. en P. C. Reid (2003). Long-term changes in phytoplankton, zooplankton and salmon related to climate. *Global Change Biology* 9(6): 801-817.
- Beck, M. W., Heck, K. L., Able, K. W., Childers, D. L., Eggleston, D. B., Gillanders, B. M., Halpern, B., Hays, C. G., Hoshino, K., Minello, T. J., Orth, R. J., Sheridan, P. F., & Weinstein, M. P. (2001). The identification, conservation, and management of estuarine and marine nurseries for fish and invertebrates. *BioScience*, 51(8): 633-641.
- Brawn, V. M. (1960). Survival of herring (*Clupea harengus* L.) in water of low salinity. *Journal of the Fisheries Board of Canada* 17(5): 725-726.
- Couperus, B., S. Gastauer, S. M. M. Fässler, I. Tulp, H. W. van der Veer en J. J. Poos (2016). Abundance and tidal behaviour of pelagic fish in the gateway to the Wadden Sea. *Journal of Sea Research* 109: 42-51.
- González-Ortegón, E., M. D. Subida, J. A. Cuesta, A. M. Arias, C. Fernández-Delgado en P. Drake (2010). The impact of extreme turbidity events on the nursery function of a temperate European estuary with regulated freshwater inflow. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 87(2): 311-324.
- Hallfredsson, E. H., T. Pedersen en K. Præbel (2007). Estimation of digestion rates for herring *Clupea harengus* L. feeding on fish larvae. *Journal of Fish Biology* 70(2): 638-643.
- Havinga, B. (1954). *VissenNederlandsche Dierkundige Vereniging. Veranderingen in de Flora en Fauna van de Zuiderzee (thans IJsselmeer) na de afsluiting in 1932. Den Helder, Nederlandsche Dierkundige Vereniging. Speciaal 258, 259: 253-267.*
- Hay, D., R. Toresen, R. Stephenson, M. Thompson, R. Claytor, F. Funk, E. Ivshina, J. Jakobsson en T. Kobayashi (2001). 381-454.
- IBL (1997). UVS zum Antrag auf Planfeststellung für die Errichtung eines Emssperrwerks zwischen Gandersum und Nendorp bei Strom-km 32,2. - Studie im Auftrag der Bezirksregierung Weser-Ems - Projektteam "Bau eines Emssperrwerks" Oldenburg, unveröffentlicht., rapport. Oldenburg, not published.
- ITO, T. (1959). The Venice system for the classification of marine waters according to salinity: Symposium on the classification of brackish waters, Venice, 8-14 April 1958. *Japanese Journal of Limnology (Rikusuigaku Zasshi)* 20(3): 119-120.
- Jak, R. G., & van Walraven, L. (2022). Sleutelaspect zoöplankton : analysedocument voor de basismonitoring Wadden. (Wageningen Marine Research rapport; No. C030/22). Wageningen Marine Research. <https://doi.org/10.18174/571479>
- Ketchum, B. H. (1983). Estuarine characteristics. In : Ketchum (ed.): *Ecosystems of the world* 26, Estuaries and enclosed seas. Elsevier Scientific Publ. Com., Amsterdam, 500pp. Estuaries and enclosed seas. B. H. Ketchum. Amsterdam, Elsevier Scientific Publications: 500p.
- Kellnreitner, F. (2012). The trophic structure of a Wadden Sea fish community and its feeding interactions with alien species, Kiel, Christian-Albrechts-Universität, Diss., 2012.
- Kellnreitner, F., M. Pockberger en H. Asmus (2012). Seasonal variation of assemblage and feeding guild structure of fish species in a boreal tidal basin. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 108: 97-108.
- Kopetsch, D. en J. Scholle (2021). Stow net fishery Ems 2019 - Fish fauna study within the framework of water status monitoring in accordance with the WFD. Bioconsult/Wageningen Marine Research, rapport. Bremen.
- Last, J. M. (1987). The food of immature sprat (*Sprattus sprattus* (L.)) and herring (*Clupea harengus* L.) in coastal waters of the North Sea. *J. Cons. Int. Explor. Mer* 44: 73-79.
- Maes, J., P. Van Damme, A. Taillieu en F. Ollevier (1998). Fish communities along an oxygen-poor salinity gradient (Zeeschelde Estuary, Belgium). *Journal of Fish Biology* 52(3): 534-546.

-
- Mees, J., Z. Zekeria en O. Hamerlynck (1994). Life history, growth and production of *Neomysis integer* in the Westerschelde Estuary (SW Netherlands). *Marine Ecology-progress Series - MAR ECOL-PROGR SER* 111: 43-57.
- Ministerie van Economische Zaken (2017). Wijzigingsbesluit Natura 2000-gebied # 1 Waddenzee, rapport.
- Parmann, R. 1990. Growth, morphological variation and migrations of herring (*Clupea harengus* L.) in the northern Baltic Sea. *Finnish Fisheries Research* 10: 1-48.
- Paulsen, H. (1996). Large eyes as indicators of reduced growth. *International Congress of Fish Biology*.
- Postma, R., Iedema, W., Schmidt, C., Mulder, H., Van Es, K., Onwezen, M., Brenninkmeijer, A. and Haarman, F. (2020). Meerjarig adaptief programma Eems-Dollard - De toestand van de natuur, de projecten en het programma in 2019. ED2050, oktober 2020: 42
- Sandström, O. (1980). Selective feeding by baltic herring. *Hydrobiologia* 69(3): 199-207.
- Segers, F., M. Dickey-Collas en A. Rijnsdorp (2007). Prey selection by North Sea herring (*Clupea harengus*), with special reference to fish eggs. *ICES Journal of Marine Science* 64(1): 60-68.
- Valk, S. (2021). Food for thought: The feeding ecology of Atlantic herring and European sprat in the Dutch Wadden Sea. Wageningen University, rapport. Wageningen.
- van der Loos, L. M. en R. Nijland (2021). Biases in bulk: DNA metabarcoding of marine communities and the methodology involved. *Molecular Ecology* 30(13): 3270-3288.
- Van Elderen, T. (in voorbereiding). Attraction of diadromous species to freshwater plumes originating from the discharge sluices at Kornwerderzand. Wageningen Marine Research, rapport. IJmuiden.
- Van Ginderdeuren, K., S. Vandendriessche, Y. Prössler, H. Matola, M. Vincx en K. Hostens (2014). Selective feeding by pelagic fish in the Belgian part of the North Sea. *ICES Journal of Marine Science* 71(4): 808-820.
- Van Maren, D.S., H.J. Pierik, P.J.T. Dankers & C. Schmidt, 2020. De verslibbing van het Eems-estuarium. *Landschap* 37 (3), 112-121.
- van Rijssel, J. C., O. A. van Keeken en J. J. de Leeuw (2021). Vismonitoring rijkswateren t/m 2020. Deel 1 toestand en trends. Wageningen University & Research rapport C096/21, rapport.

Verantwoording

Rapport C074/22

Projectnummer: 4316100254

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: Dr. Lodewijk van Walraven
Onderzoeker

Handtekening:



Datum: 11/11/2022

Akkoord: Drs. Jakob Asjes
MT lid Integratie

Handtekening:



Datum: 11/11/2022

Bijlage 1 Duitse beheer status van het Eems-Dollard gebied

Bron: M. Baptist

Een deel van het gebied valt onder het Eems-Dollard verdrag en wordt door Nederland en Duitsland gezamenlijk beheerd. Het KRW-overgangswater van de Eems-Dollard wordt afgebakend door twee deels overlappende waterlichamen, de Nederlandse Eems-Dollard en de Duitse Übergangsgewässer Ems. Deze laatste eindigt in de Eems net stroomopwaarts van Leer bij de samenvloeiing met de Leda, vanwaar de Eems overgaat in een getijden zoetwaterrivier tot Herbrum. De uiterwaarden van de rivier zijn deels aangewezen als Natura 2000-gebieden, maar niet als KRW-waterlichaam. Alle kwelders aan de Duitse kust (inclusief Dollard) zijn EU Natura 2000-gebied, maar niet opgenomen als KRW-waterlichaam, terwijl aan Nederlandse kant de Dollard-kwelders deel uitmaken van beide. De Polder Breebaart in Nederland is Natura 2000-gebied, maar geen onderdeel van de KRW. De Eemshaven en de haven van Delfzijl zijn opgenomen als KRW-waterlichaam, de haven van Emden is uitgesloten als KRW-waterlichaam. Deze havens vallen allemaal niet onder het Natura 2000-gebied. Binnen het Eems-Dollard Verdragsgebied zijn er twee Natura 2000-gebieden met overlappende bevoegdheden, dit zijn het wad Hond-Paap/Hund und Paapsand en een gebied in het noordelijke deel van de Dollard met de Duitse naam Emsmarsch von Leer bis Emden.

In de monding van de Eems bevinden zich meerdere KRW-waterlichamen. Het noordoostelijke deel van de Nederlandse Waddenzee strekt zich uit tot in het Nederlandse Eems-Dollard kustwater, dat binnen het Verdragsgebied deels overlapt met de Duitse Polyhalines offenes Küstengewässer des Ems-Ästuars. In het voor de kust gelegen deel van de Eemsmonding, buitengaats Rottumeroog en Borkum, strekt zich het Duitse Küstenmeer Ems-Ästuar uit. De kustzijde van de Duitse Waddeneilanden vormt de Euhalines offenes Küstengewässer der Ems, die verder uit de kust wordt gevolgd door het Küstenmeer Ems. De contouren van de Natura 2000-gebieden, zowel in Nederland als in Duitsland, lopen niet gelijk met de grenzen van de KRW-waterlichamen.

De Europese Kaderrichtlijn Mariene Strategie (KRM) is van toepassing op alle mariene wateren die zich uitstrekken van de basislijn van de territoriale zee tot het uiterste bereik van het gebied waar een lidstaat jurisdictierechten heeft en/of uitoefent. De KRM omvat ook de "kustwateren" zoals gedefinieerd in de KRW. Overgangswateren vallen niet onder de KRM, behoudens die delen die zich zeewaarts uitstrekken voorbij de Europese één-zeemijllijn. Duitsland past alle elf descriptors van de KRM toe op de kustwaterlichamen van de Waddenzee. Alleen het overgangswaterlichaam Übergangsgewässer Ems is binnen Duitsland uitgesloten van het toepassingsgebied van de KRM. Op basis van de Nederlandse wetgeving ter implementatie van UNCLOS zijn de wateren van de Waddenzee echter binnenwateren. De KRM is niet van toepassing op de binnenwateren zoals gedefinieerd in het zeerechtverdrag, aangezien deze binnenwateren zich aan de landzijde van de basislijn van de territoriale zee bevinden. Dit betekent dat de KRM niet van toepassing is op de Nederlandse kustwaterlichamen, maar alleen op het Nederlandse KRW waterlichaam Waddenkust kustwater dat zeewaarts van de basislijnen van de eilanden ligt. Binnen het Verdragsgebied maken de overlappende kustwaterlichamen Eems-Dollard kustwater en Polyhalines offenes Küstengewässer des Ems-Ästuars deel uit van de KRM voor de Duitse autoriteiten, maar niet voor de Nederlandse autoriteiten.

Bijlage 2 Handleiding maagmonsters voor metabarcoding-analyse

Protocol for the collection of stomach samples of pelagic fish for DNA metabarcoding analysis

Sophie Valk
Created: 10/2021



Consumables

- >80% ethanol
- 0.5% bleach
- 1.5 mL Eppendorf DNA LoBind tubes
- Sterile packed pasteur pipettes
- Tweezer
- Sterile scalpels
- Cutting board
- Petri dishes (12-15 cm)

Click on the fish that be guided to a virtual schematic overview of all fish parameters measured in advance to collection of stomach content samples.



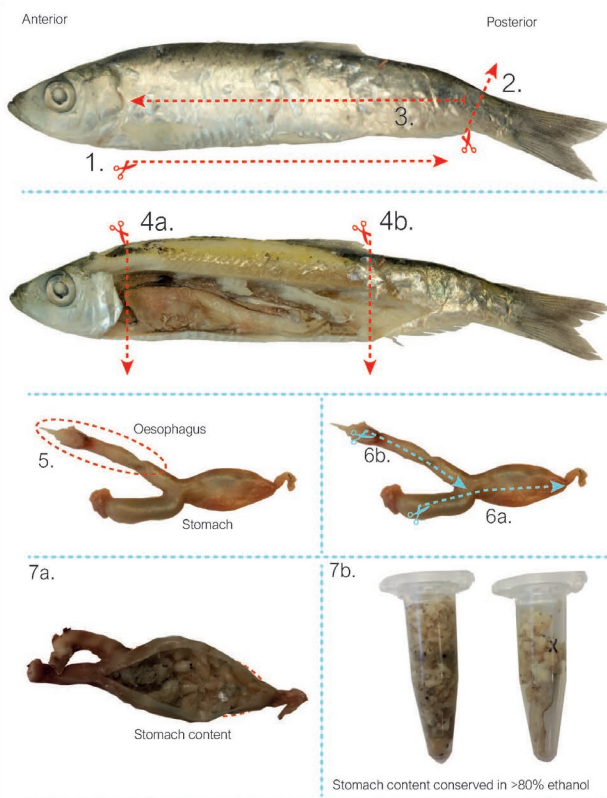
Equipment

- Analytical balance

Instructions

- Position the fish on its lateral right side with its head (anterior) pointing left from the perspective of the observer. Multiple measurements on fish size, weight, etc. are performed. See the hyperlink in the upper right corner for details.

1. **M**ake a ventral incision to open the abdominal cavity, starting from the height of the last gill slit to the cloaca.
2. **M**ake a small lateral incision from the cloaca up to the dorsal side of the tail fin along the base of the tail
3. **U**se a tweezer to pull the skin off the fish starting from the fin base (incision 2) in a posterior-anterior direction, uncovering the abdominal cavity
4. **R**emove the gastrointestinal tract from the abdominal cavity by (a) cutting the esophagus at the anterior side (behind the gill slits) and by (b) cutting the intestine at the point nearest to the cloaca at the posterior side.
5. **I**t is possible that some liver tissue is still attached to the gastrointestinal tract. Remove this tissue and prevent cutting the esophagus or stomach. Determine the weight of the full stomach.
6. **T**o carefully open the stomach, make two consecutive incisions in the stomach. The first incision (a) from the stomach lobe to the posterior end of the stomach, the second incision (b) from the beginning of the esophagus in the direction to the stomach lobe.
- 7a. **A**fter opening the stomach, the content can be collected. Use a tweezer and scalpel to carefully remove all stomach content and thereby prevent scraping off any stomach tissue.
- 7b. **C**ollect stomach contents in a 1.5 mL Eppendorf LoBind tube and dissolve all matter in >80% ethanol. After collecting all content from the stomach, rinse the stomach tissue once by pipetting ethanol on the stomach tissue. Also collect this ethanol in the same Eppendorf tube.



8. **W**hen the content of a stomach is collected, the empty stomach is weighed. This is done to estimate the weight of the stomach contents by subtracting the weight of the empty stomach from the weight of the full stomach.
9. **A**fter conserving stomach content samples in >80% ethanol, samples can be stored at -20 °C until further analysis.
10. **M**ake sure that all materials used for dissection and collection of stomach samples are thoroughly cleaned with 0.5% bleach and subsequently rinsed with water/ethanol. This cleaning step should be performed between handling different samples and is done to prevent any cross-contamination between samples.

***Note:** The number of fish stomachs used for the creation of one final stomach content sample depends mostly upon the research question asked and can vary from the inclusion of one fish stomach to more than one. This should be considered beforehand because once the contents of multiple stomachs are pooled into one Eppendorf tube, separation of individual stomach contents is no longer possible.