

Naar een beoordeling met eDNA voor vis- -Kaderrichtlijnwater proof-

Van wetenschap naar praktische toepassing

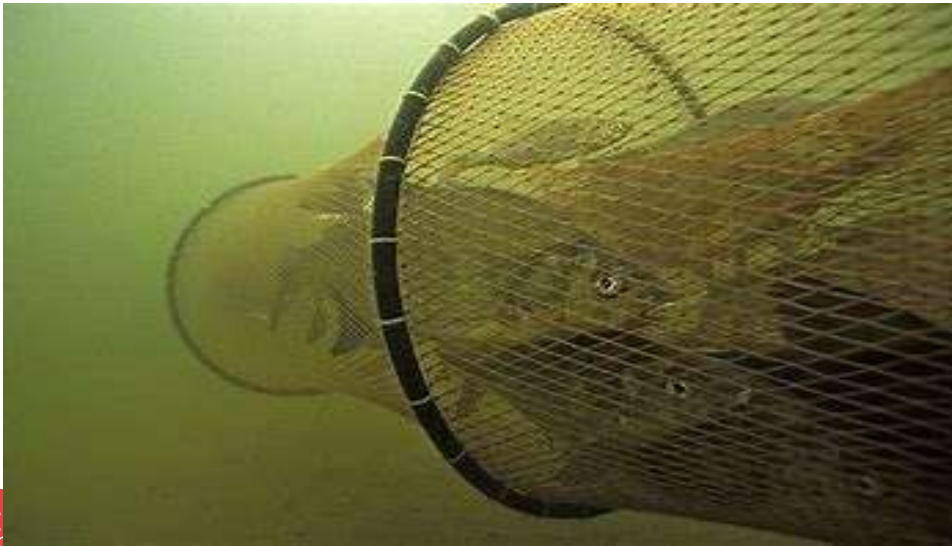
MOVE

MAATLAT ONDERZOEK VIS EDNA



Marcel van den Berg
Dennis van der Pouw Kraan
Guido Hilgeman
Miguel Dionisio

Huidige monitoring van vis



Wat vinden we van de huidige monitoring methode voor beoordeling van de KRW?

A waardeloos, zegt niets over de visstand en beoordeling is gebaseerd op drijfzand

B perfect, zeer goede schatting van visstand en beoordeling klopt altijd

C tussen A en B

Wat vinden we van deze huidige methode?

Aandachtspunten traditioneel:

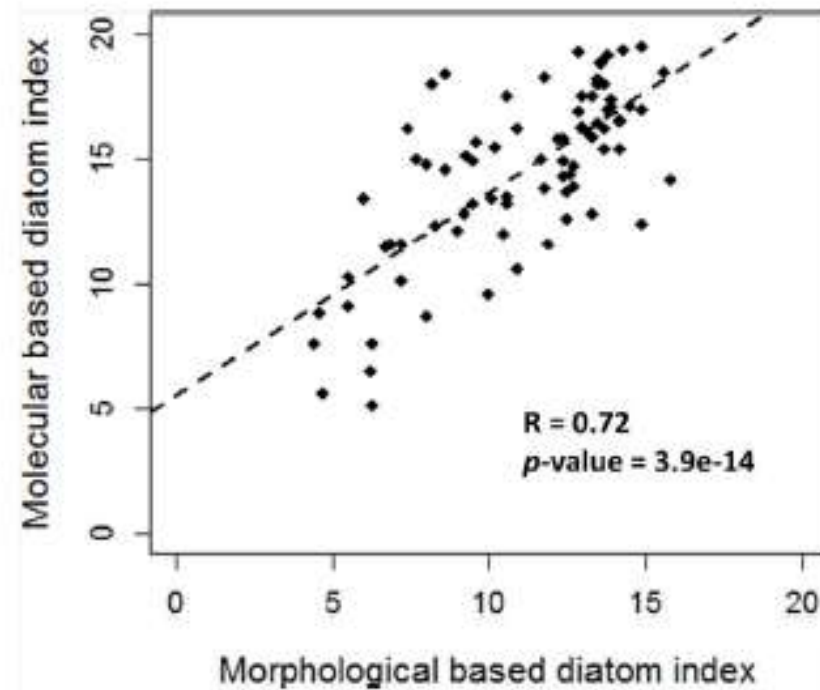
- Soorten verschillen in vangbaarheid per gebruikte methode
- Omstandigheden in het water bepalen de vangbaarheid
- Vangst efficiëntie is een schatting
- Niet alle leefgebieden zijn goed te bemonsteren
- Sommige methoden kunnen schadelijk zijn voor leefgebieden
- Er kan vissterfte optreden door de monitoring
- Arbeidsintensief cq. kostbaar

Voordelen traditioneel:

- Bij gevangen vis weet je zeker dat de vis daar ook daadwerkelijk gezwommen heeft
- Kwantitatieve schattingen mogelijk met sommige methoden

eDNA toepassing veel toegepast vb. vergelijking kwaliteits index diatomeeën morfologie vs. DNA

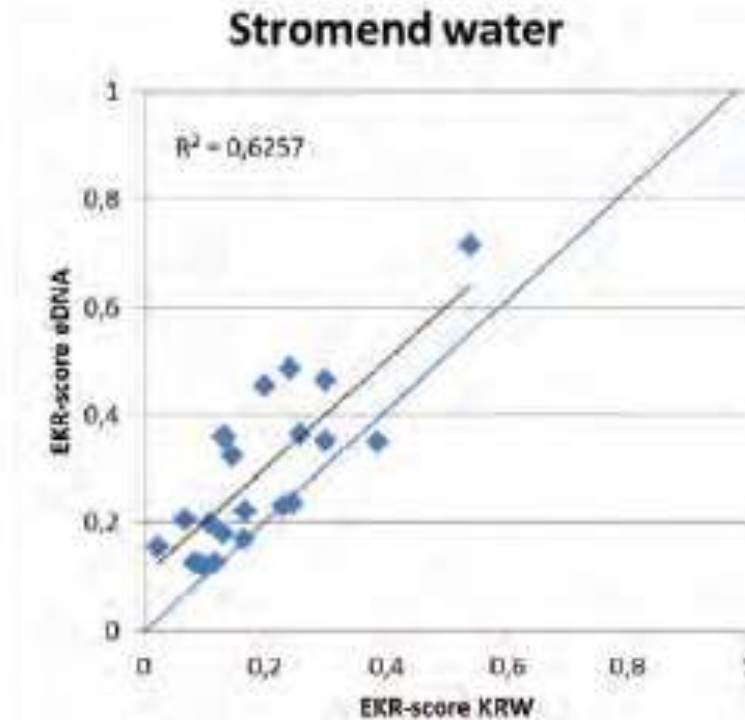
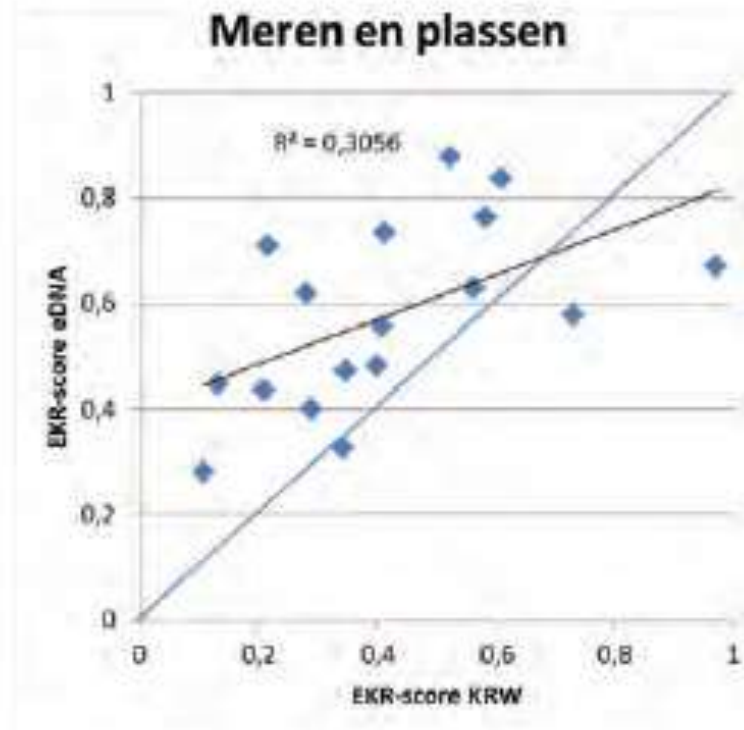
Ecological Indicators 82 (2017) 1–12



$R^2=0,52=$ te laag!

Fig. 5. Correlation between the diatom Specific Pollution Index (SPI) based on molecular (y axis) and morphological (x axis) inventories for all 80 samples. The linear regression model is represented by the dotted line, r and p -value are indicated. SPI values are in the range from 1 (bad quality status) to 20 (high quality status).

Voorbeeld vergelijking kwaliteits index KRW met eDNA vs. huidig



stowa

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

Jelger Herder en Jan Kranenburg RAVON

De beren op de weg:

- Beken een redelijk goede relatie maar net onvoldoende (voorwaarde $R^2 > 0,80$)
- Meren onvoldoende relatie
 - te weinig eDNA monsters irt omvang?
 - te weinig informatie om biomassa deelmaatlat goed te benaderen?
 - veel onzekerheden door hoge gevoeligheid door zuurstoftolerante vissoorten?
 - geeft traditionele visbemonstering wel een goed beeld?
- Er is meer nodig om eDNA in de praktijk toe te kunnen passen!

Aanpak Maatlat Onderzoek Vis eDNA (MOVE)

- **Bouwen aan data**
 - Jaarlijks ca. 250 eDNA samples nemen in ca. 70 waterlichamen
 - Vergelijken met traditionele monitoring
 - Bemonsteren van referentie wateren of wateren met goede of zeer goede kwaliteit voor vis
 - Rol van vervuiling van eDNA van elders, zoals RWZI's
 - Vergelijken van verschillende eDNA methodes
 - Valideren van een nieuwe maatlat



eDNA METHODE VERGELIJKING

Voorlopige data *vergelijkingen onderzoek
tussen 2 metabarcoding en traditionele
bemonstering*

MOVE



MAATLAT ONDERZOEK VIS EDNA



RAVON

Reptielen Amfibieën Vissen Onderzoek Nederland



Rijkswaterstaat
Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat

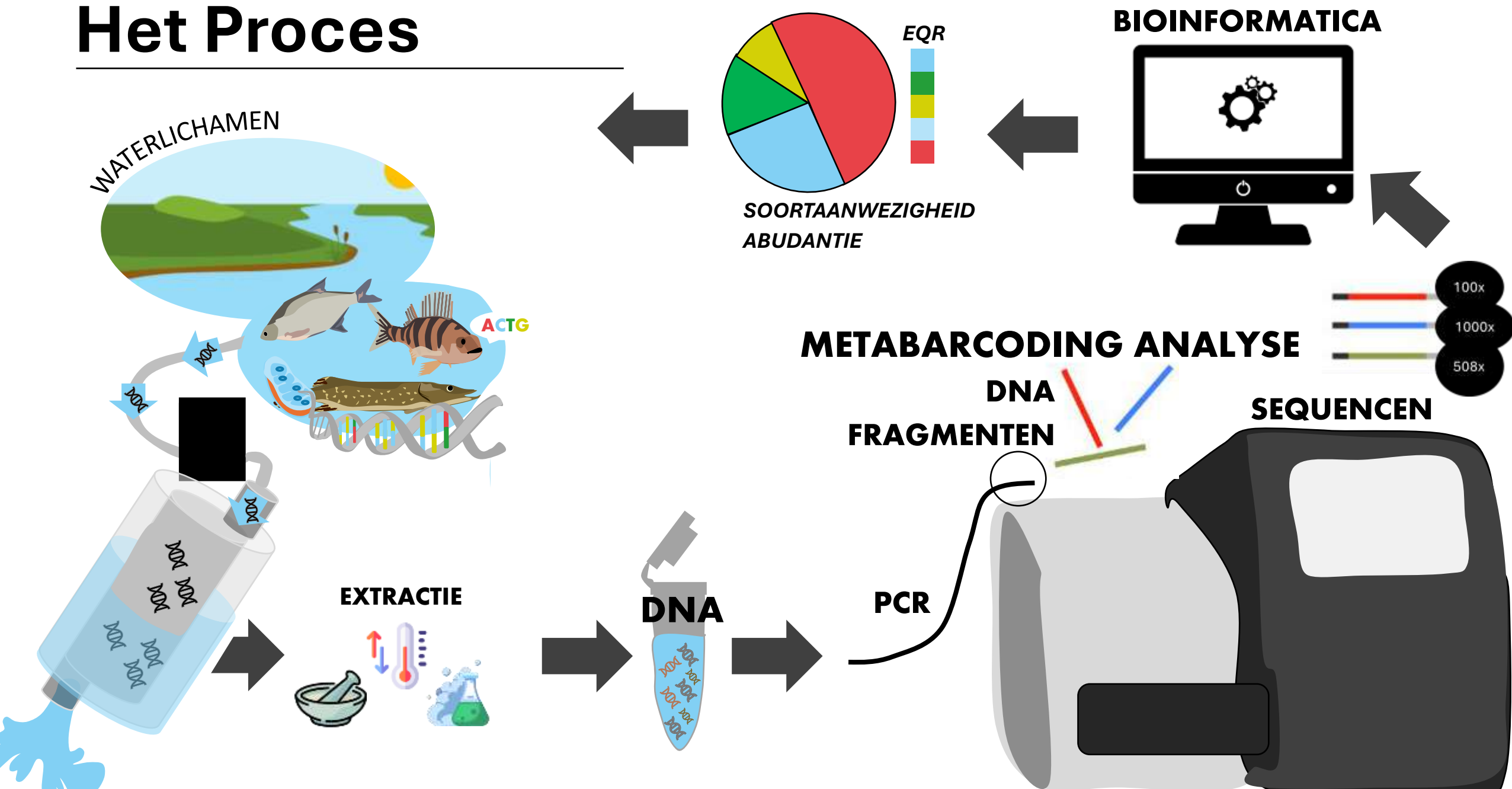
Achtergrond

-  **In Nederland voornamelijk 2 methoden**
DATURA/RWS/WITTEVEEN EN BOS
SPYGEN/RAVON/STOWA
-  **Idealiter een brede toepasbaarheid voor markt en waterbeheerders**

 **Waar zitten de verschillen tussen methoden?**

 **Zoveel mogelijk data kunnen gebruiken dus uitwisselbaarheid is gewenst**

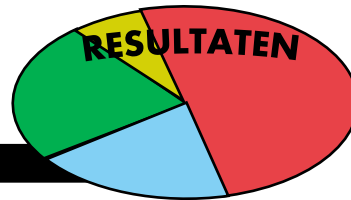
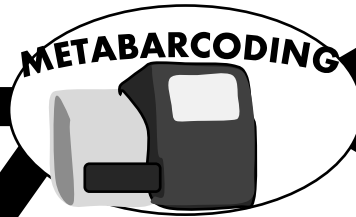
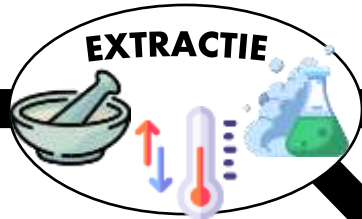
Het Proces



Opzet

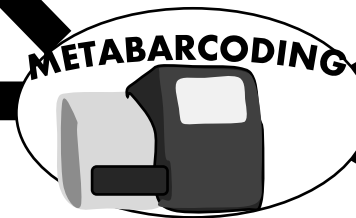
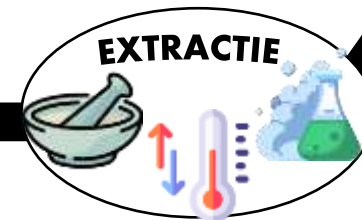
17 Waterlichamen 50 monsters

*Variatie toestand (EQR) en type
Traditioneel bemonsterd*



SPLITSING 1

*Door beide partijen
gefilterd + eigen Extractie*



SPLITSING 2

*Uitwisseling extracten en
afzonderlijke metabarcoding*

M3

Lineair stilstaand

Bommelewaard sloten west
 Schoterlandse Compagnonsvaart
 Heerhugowaard
 Kanalen Vijfheerenlanden
 Tielwaarden

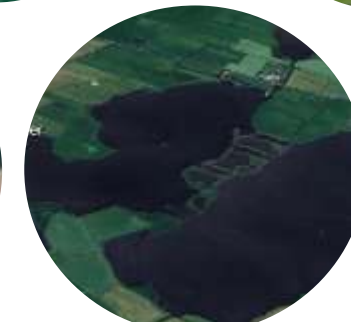
goed
 matig
 matig
 goed
 goed

M14
M20

Meren

Kralingse Plas
 Zandmeer
 Gat van den Ham

matig
 goed
 matig



Gaasperplas
 Ouderkerkerplas
 Bussloo

goed
 goed
 matig



Rivieren

R4-5

Beken Groesbeek
 Ruenbergerbeek

R4a ontoereikend
 R5 matig



R6

Essche Stroom
 Beneden Linge
 Beneden Dinkel

R6 ontoereikend
 R6 ontoereikend
 R6 slecht





Spygen gebruikt Teleo primers (12S)



Datura een mix van 2 fragmenten (16S +12S)



Vissamenstelling in vier unieke combinaties per sample

Extract Spygen Primer Spygen

Extract Spygen Primer Datura

Extract Datura Primer Spygen

Extract Datura Primer Datura



**Metabarcoding methoden moeten nog worden uitgeschreven in detail
zit wel wat verschil in**

EXTRACTIE

An illustration within an oval frame showing three items: a mortar and pestle on the left, a thermometer in the center, and a flask with green liquid on the right. Between the mortar and the thermometer are two vertical arrows, one red pointing up and one blue pointing down.

RESULTATEN

Resultaat	Percentage
40%	40%
30%	30%
20%	20%
10%	10%

Primer Detection

- Both
- Datura
- Spygen

Species (Y-axis):

- Umbra.pygmaea
- Tinca.tinca
- Squalius.cephalus
- Silurus.glanis
- Scardinius.erythrophthalmus
- Sander.lucioperca
- Salmo.trutta
- Rutilus.rutilus
- Rhodeus.amarus
- Pungitius.pungitius
- Pseudorasbora.parva
- Proterorhinus.semilunaris
- Ponticola.kessleri
- Perca.fluviatilis
- Osmerus.eperlanus
- Oncorhynchus.mykiss
- Neogobius.melanostomus
- Neogobius.fluviatilis
- Misgurnus.fossilis
- Leuciscinae
- Leucaspius.delineatus
- Lepomis.gibbosus
- Lampetra.spp
- Kripowitschia.caucasica
- Gymnocephalus.cernua
- Gobius.niger
- Gobio.gobio
- Gasterosteus.aculeatus
- Esox.lucius
- Dicentrarchus.labrax
- Cyprinus.carpio
- Cottus.sp
- Cobitis.taenia
- Cobitis.elongatoides
- Chelon.sp
- Carassius.sp
- Blicca.bjoerkna
- Barbatula.barbatula
- Aspius.aspius
- Anguilla.anguilla
- Alburnus.alburnus
- Abramis.brama

Primer Pairs (X-axis):

- BOMMEL_1
- BOMMEL_2
- BUSSLO_1
- BUSSLO_2
- BUSSLO_3
- BUSSLO_4
- DINKEL_1
- DINKEL_2
- ESSCHE_1
- ESSCHE_2
- ESSCHE_3
- GAASPE_1
- GAASPE_2
- GAASPE_3
- GATVAN_1
- GATVAN_2
- GATVAN_3
- GROESB_1
- GROESB_2
- HEERHU_1
- HEERHU_2
- HEERHU_3
- KRALIN_1
- KRALIN_2
- KRALIN_3
- LINGE_1
- LINGE_2
- LINGE_3
- LINGE_4
- LINGE_5
- LINGE_6
- OUDEKX_1
- OUDEKX_2
- OUDEKX_3
- RATUMS_1
- RATUMS_2
- RATUMS_3
- RUENBE_1
- RUENBE_2
- SCHOTE_1
- SCHOTE_2
- SCHOTE_3
- TIELWA_1
- TIELWA_2
- VIJFHE_1
- VIJFHE_2
- VIJFHE_3
- ZANDME_1
- ZANDME_2
- ZANDME_3



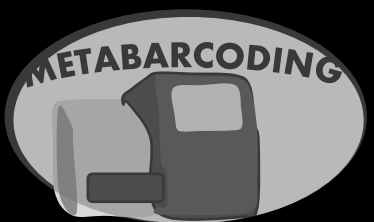
M3

Lineair stilstaand

Bommelewaard sloten west
Schoterlandse Compagnonsvaart
Heerhugowaard
Kanalen Vijfheerenlanden
Tielwaarden

Elektro Zegen



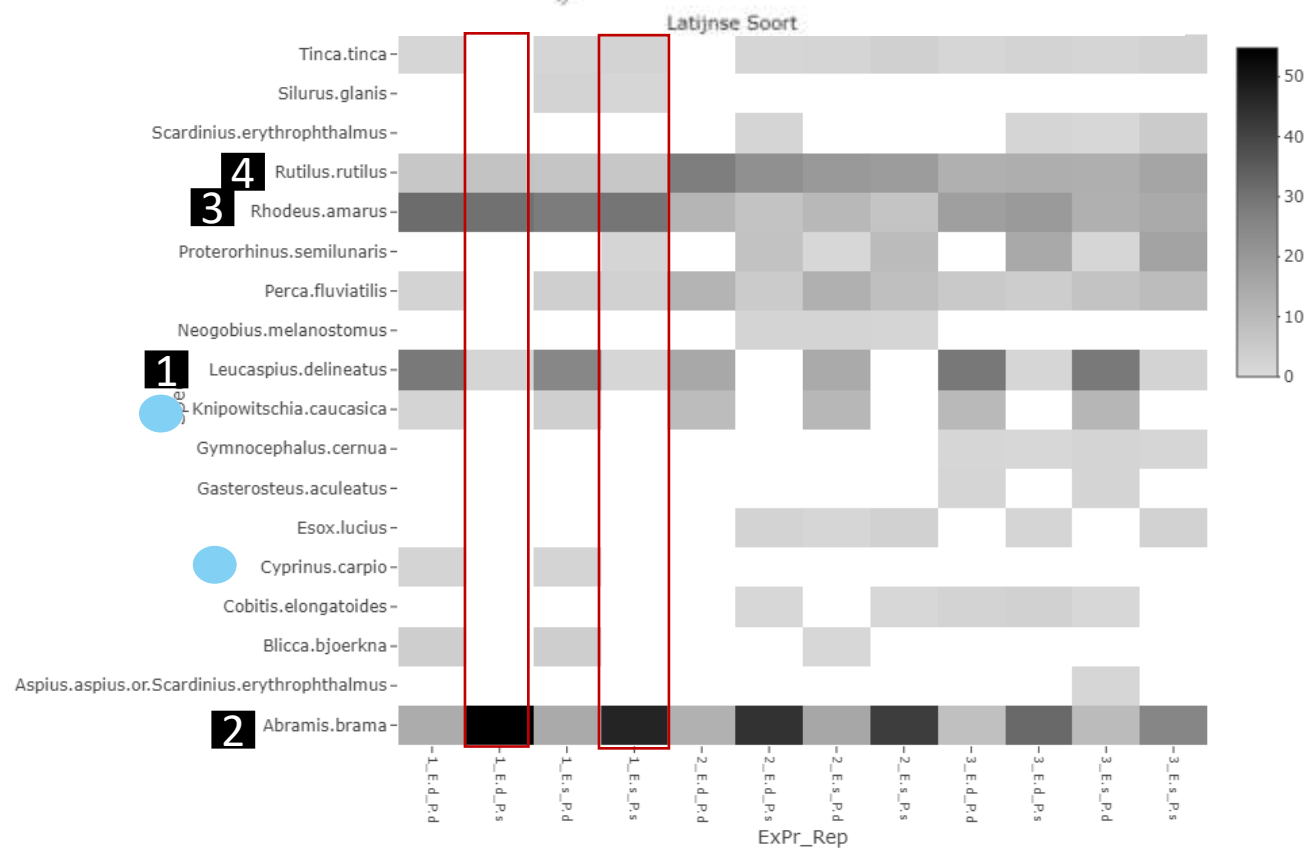
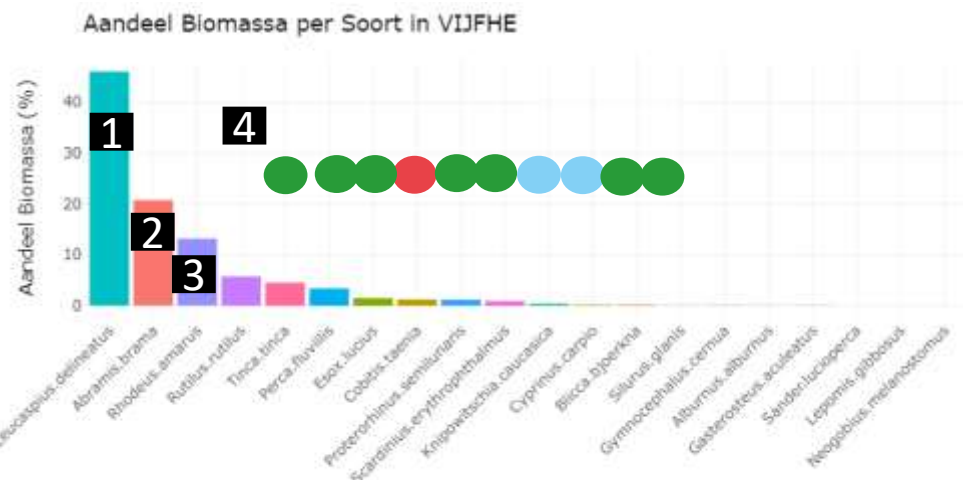


M3

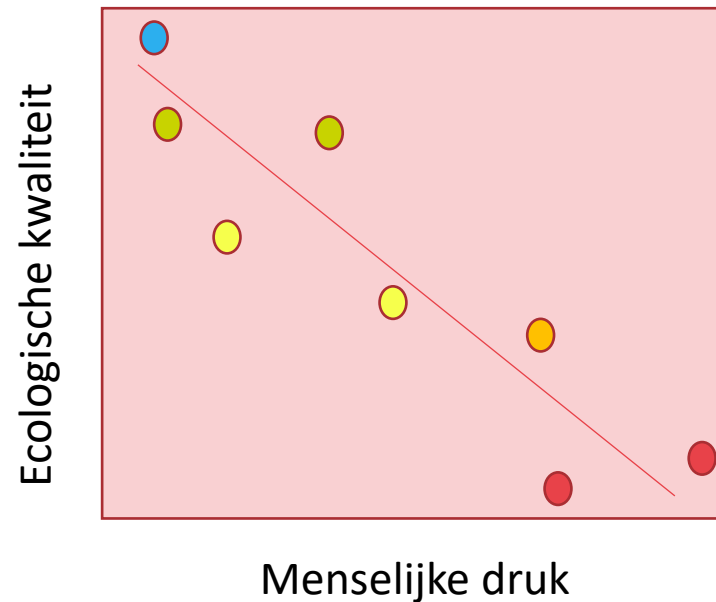
Lineair stilstaand Kanalen Vijfheerenlanden

Traditioneel

Genetica



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



Vragen?

