

'Environmental DNA als technologische innovatie voor inventarisatie en monitoring'
25 nov 2015 , Den Haag

9.30 uur	Inloop	
10.00 uur	Opening	Johan Burger voorzitter NGB
10.05 uur	Watertechnologie als thema van de Topsector Water Inzet van de overheid op innovatie en kennisdoorstroming; toelichting op het Innovatiethema Watertechnologie van de Topsector Water	Anne Reitsma Secretaris Kernteam Watertechnologie Ministerie van Economische Zaken
10.20 uur	eDNA als innovatie Het project "eDNA aquatische biodiversiteit" binnen het Innovatiethema Watertechnologie van de Topsector Water: theorie en techniek, validatie en innovatieve aspecten	Bart Wullings KWR Watercycle Research Institute
10.45 uur	De moleculair biologische technieken van eDNA Achtergrond van de techniek; (hoe) werkt het?	Eelco Wallaart Sylphium Life Sciences
11.10 uur	Praktijkervaring met de grote modderkruiper Praktijktoepassing van eDNA	Menno Soes Bureau Waardenburg
11.30 uur	Pauze	
11.50 uur	Praktijkervaring met macrofauna, vissen en amfibieën Praktijktoepassing van eDNA	Wouter Patberg Koeman en Bijkerk
12.10 uur	Praktijkervaring met de waterspitsmuis Praktijktoepassing van eDNA	Jeroen Koorevaar E.C.O.logisch
12.30 uur	Lunch	
13.45 uur	eDNA metabarcoding, de toekomst voor vismonitoring? Onderzoek naar nieuwe toepassingen	Jelger Herder RAVON
14.10 uur	Gebruik van eDNA door Groene Bureaus Huidig gebruik en trends	Kees van Bochove Datura
14.35 uur	eDNA als kennisbron voor exotenbeleid Bruikbaarheid van kennis op basis van eDNA voor het exotenbeleid	Jenneke Leferink NVWA Team Invasieve Exoten
15.00 uur	Pauze	
15.20 uur	eDNA als basis voor de uitvoering van de KRW Bruikbaarheid van kennis op basis van eDNA voor de KRW. Wat zijn juridische consequenties; staat herdefiniëring van waterkwaliteit voor de deur?	Roel Knobon RoyalHaskoningDHV
15.45 uur	Coreferaat: discussiepunten over eDNA Overwegingen voor de toepassing van deze techniek	Roel Strijkstra Altenburg&Wymenga
16.00 uur	Discussie Consequenties van de eDNA-technieken voor het werk van de groene bureaus	Martien Meijer bestuurslid NGB
16.30 uur	Drankje en netwerken	

Aanmeldingen

1.	Janneke		Aarbodem-van der Loop	Tauw bv	Deventer	janneke.aarbodem@tauw.nl
2.	Nancy	de	Bakker	b&d Natuuradvies	Haarlem	n.de.bakker@bendnatuuradvies.nl
3.	Jan		Beekman	ARCADIS Nederland BV	's Hertogenbosch	jan.beekman@arcadis.com
4.	Johan	de	Bijl	Advin	Oss	johan.debijl@advin.nl
5.	Kees	van	Bochove	Datura	Delft	keesvanbochove@datura.nl
6.	Marloes		Boer	VanderHelm Milieubeheer B.V.	Berkel en Rodenrijs	mb@vdhelm.nl
7.	Astrid		Boerkamp	ATKB	Geldermalsen	a.boerkamp@at-kb.nl
8.	Tako		Brouwer	Laneco	Ede	tbrouwer@laneco.nl
9.	Johan		Burger	ATKB	Zoetermeer	j.burger@at-kb.nl
10.	Marloes	van	Delft	Bureau Viridis	Culemborg	mvandelft@bureau-iridis.nl
11.	Irma		Dekker	Eelerwoude	Culemborg	i.dekker@eelerwoude.nl
12.	Jeroen		Demmer	Advin BV	Oss	jeroen.demmer@advin.nl
13.	Willem	van	Esch	Eco-Niche	Leiden	wrvanesch@eco-niche.nl
14.	adriaan	de	gelder	Ecogroen	Zwolle	adgelder84@hotmail.com
15.	Dirk	v.d.	Goes	Van der Goes en Groot	Kwintsehl	DirkvanderGoes@vandergoesengroot.nl
16.	Arjen	de	Groot	Alterra	Wageningen	g.a.degroot@wur.nl
17.	Marc		Hartogs	Min. I&M - Rijkswaterstaat	Delft	marc.hartogs@rws.nl
18.	Jelger		Herder	RAVON	Nijmegen	j.herder@ravon.nl
19.	Gerlof		Hoefsloot	Bureau Waardenburg	Culemborg	g.hoefsloot@buwa.nl
20.	Martin	van den	Hoorn	Regelink Ecologie & Landschap	Veenendaal	Martin.vandenhoorn@regelink.net
21.	Eric		Janssen	Ekoza	Arnhem	ewajanssen@ekoza.nl
22.	Roy		Janssen	Kragten B.V.	Herten (Roermond)	rja@kragten.nl
23.	Theo	de	Jong	Bureau Viridis	Beesdeweg 3-18	tdejong@bureau-iridis.nl
24.	Roel		Knoben	RoyalHaskoningDHV	Rotterdam	roel.knoben@rhdhv.com
25.	Tjeerd		Kooij	Ekoza	Arnhem	tkooij@ekoza.nl
26.	Jeroen		Koorevaar	E.C.O.logisch	Nieuwerkerk aan den IJssel	Jeroen@eco-logisch.com
27.	Ferry	van der	Lans	vanderHelm	Berkel en Rodenrijs	f.vanderlans@vdhelm.nl
28.	Bas	van	Leeuwen	NGB	Odijk	secretariaat@netwerkgroenebureaus.nl
29.	Jenneke		Leferink	NVWA Team Invasieve Exoten	Groningen	j.leferink@nvwa.nl
30.	Daan		Liefhebber	Eelerwoude	Culemborg	d.liefhebber@eelerwoude.nl
31.	Martien		Meijer	Bureau Waardenburg	Culemborg	a.j.m.meijer@buwa.nl
32.	Kim		Meijer	Altenburg & Wymenga Ecologisch Onderzoek	Veenwouden	k.meijer@altwym.nl
33.	Stefan	van	Meijeren	Dactylis	Utrecht	s.vanmeijeren@dactylis.nl
34.	Bart		Niemeijer	Natuurbalans-Limes Divergens BV	Nijmegen	niemeijer@natuurbalans.nl
35.	Wouter		Patberg	Koeman en Bijkerk bv	Haren	w.patberg@koemanenbijkerk.nl
36.	Pieter		Pepping	Antea Group	Almere	pieter.pepping@anteagroup.com
37.	Dirk	v	Pijkereen	Laneco	Ede	dvpijkereen@laneco.nl
38.	Dennis	v.d.	Pouw Kraan	KWR watercycle institute	Nieuwegein	dennis.van.der.pouw.kraan@kwrwater.nl
39.	Tim		Puts	Witteveen+Bos	Deventer	tim.puts@witteveenbos.com
40.	Anne		Reitsma	Ministerie van EZ	Den Haag	a.m.reitsma@minez.nl
41.	Mervyn		Roos	Rijkswaterstaat	lelystad	mervyn.roos@rws.nl
42.	Hans		Ruiter	RWS	lelystad	hans.ruiter@rws.nl
43.	Esther		Schiedon	ATKB	Geldermalsen	e.schiedon@at-kb.nl
44.	Anna		Schwab	BügelHajema Adviseurs	Assen	a.schwab@bugelhajema.nl
45.	Jolanda		Snellenberg	De Groene Ruimte	Wageningen	jolanda.snellenberg@dgr.nl
46.	Menno		Soes	Bureau Waardenburg	Culemborg	d.m.soes@buwa.nl
47.	Margreet	ter	Steege	Buro Bakker	Assen	info@burobakker.nl
48.	Roel		Strijkstra	Altenburg&Wymenga	Feanwâlden	r.strijkstra@altwym.nl
49.	Sanne		Tummers	RPS advies- en ingenieursbureau	Leerdam	sanne.tummers@rps.nl
50.	David	v.d.	Veen	Grontmij NL B.V.	Alkmaar	david.vanderveen@grontmij.nl
51.	Sjuul		Verhaegh	Aveco de Bondt	Amersfoort	sverhaegh@avecodebondt.nl
52.	Eelco		Wallaart	Sylphium Life Sciences	Groningen	t.e.wallaart@rug.nl
53.	Jan		Warmink	Sylphium Life Sciences	Groningen	j.a.warmink@rug.nl
54.	Leontien		Witjes	Stichting Staring Advies	Hoog-Keppel	leontienwitjes@staringadvies.nl
55.	Bart		Wullings	KWR	Nieuwegein	Bart.Wullings@kwrwater.nl
56.	Antje		Zandstra	Ekoza	Arnhem	azandstra@ekoza.nl
57.	Johan		Zwanenburg	Ecologica BV	Maarheeze	johan.zwanenburg@ecologica.eu

Ministerie van Economische Zaken

Kansen voor Groene bureaus en eDNA in de Topsector Water

Anne Reitsma,
accountant/inhoud Topsector Water,
Ministerie Economische Zaken
november 30, 2015

Inhoud

- Topsectorbeleid: wat is dat?
- Topsector Water
- Innovatiethema's Watertechnologie
- Meedoen

2 Ministerie van Economische Zaken
november 30, 2015

Topsectorbeleid: wat is dat? (I)

Beleids-thema's en -doelen innovatie

Bedrijfsbeleid

1

2

3

Doelen:

- NL in top 5 kenniseconomieën in 2020
- R&D naar 2.5% van BBP in 2020
- TKI's met ten minste €800 mln. aan financiering, waarvan 40% door bedrijfsleven in 2020

- + Stimuleren van publiek-private samenwerking
- + Oplossen van maatschappelijke vraagstukken

3 Ministerie van Economische Zaken
november 30, 2015

Topsectorbeleid: wat is dat? (II)

- 9 topsectoren
- Integrale agenda:
 - Innovatie
 - Human capital
 - Internationalisering
 - Wegnemen belemmeringen
- Uitgewerkt door 'gouden driehoek'
- Gericht op versterking concurrentievermogen en bijdragen aan maatschappelijke uitdagingen

4 Ministerie van Economische Zaken
november 30, 2015

Topsectorbeleid: wat is dat? (III)

Innovatie uitgewerkt via:

- Topconsortia voor Kennis en Innovatie (TKI's)
 - Agendazetting en programmering over hele keten
 - Netwerkvorming
 - Consortiavorming publiek private initiatieven
- Geormerkte publieke onderzoekscapaciteit en -middelen
- Ondersteunende subsidies:
 - TKI-toeslag
 - MIT
 - Matchingsgelden voor Europese samenwerking

5 Ministerie van Economische Zaken
november 30, 2015

Topsector Water

TKI Maritiem

- Winnen op zee
- Schone schepen
- Slim en veilig varen
- Effectieve infrastructuur

TKI Delta-technologie

- Waterviligheid
- Duurzame deltasteden
- Natte infrastructuur
- Watermanagement
- Water & voedsel
- Water & energie
- Waterk ict
- Eco-engineering
- Duurzaam functioneren watersystemen
- Duurzaam gebruik estuaria, zeeën, oceanen

TKI Water-technologie

- Resource efficiency
- Smart Water systems
- Sustainable Cities

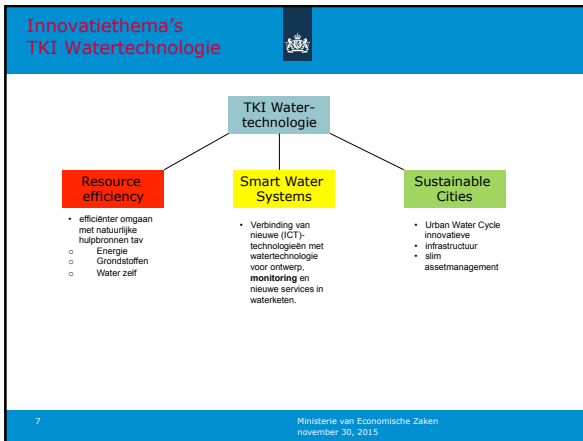
Human capital

- Image & instroombevordering
- Onderwijs & onderzoek
- Human resources
- Internationalisering

Export en promotie

- Business cases
- Economische diplomatie
- Marktwerking
- Internationaliseringsstrategie

6 Ministerie van Economische Zaken
november 30, 2015



Innovatiethema's
TKI Watertechnologie

Smart Water Systems:

- Ambitie: controleerbare en snellere, kwantificeerbare monitoring voor veilige en betrouwbare watervoorziening
- Hoogwaardige data gebaseerde technologie vertalen naar toepassing in de watersector en daarmee het vergroten van de markt voor aanbieders van hoogwaardige en innovatieve monitoring- en controlesystemen
- Afgelopen twee jaar en komend jaar aantal projecten op gebied DNA-technieken
 - Glasaal gespot met DNA technieken
 - Mobiele microbiologische DNA-analyse
 - DNA Watersystem Scan & Reference Tool
 - Identifieren van eDNA t.b.v. inzicht in aquatische biodiversiteit
 - DNA-technieken voor blauwalgopsparing in zwemwater

8 Ministerie van Economische Zaken
november 30, 2015

Meedoen

Hoe:

- Samenwerken met (publieke) kennisinstelling via project of programma; voorstellen indienen via het TKI
- Of via R&D-samenwerking mkb (MIT-regeling)

Wat brengt dat:

TKI:

- TKI-toeslag (€ 0,25 toeslag voor elke € 1 aan private (cash)bijdrage aan samenwerking met kennisinstelling)
- Netwerk- en consortiumpartners
- Connectie met eindgebruikers

MIT:

- Max. € 250.000,- voor R&D-samenwerkingsproject.

9 Ministerie van Economische Zaken
november 30, 2015

Meedoen

Projectidee?

www.tkiwatertechnologie.nl, Over ons

Betrokken raken?

14 januari: netwerkbijeenkomst voor vergroten betrokkenheid ingenieursbureaus.

10 Ministerie van Economische Zaken
november 30, 2015

Project op een bierviltje

Stroomschema

Doelsoorten TKI:

- Waterwantsen (Heteroptera) en Bootsmanneke (Notonecta glauca)
- Kevers (Coleoptera) en Waterroofkevers (Dytiscidae)
- Aarvederkruid (Myriophyllum)
- Zoet opp. water KRW-type M10

KWR Watercycle Research Institute

Projectactiviteiten

TKI

Twee strategieën van detectie van macrofauna

A. Direct uit water (eDNA)

- DNA sporen in water (lage concentratie DNA)
- Waterbemonstering volgens werkvoorschrift eDNA (nieuw)
- Geen specialisten noodzakelijk voor determinatie
- Snel, goedkoop (grootste besparing)

B. DNA uit organismen

- Klassieke bemonstering en snelle determinatie op hoofdgroepen
- Extractie van DNA per hoofdgroep (blender)
- hoge concentratie DNA
- besparing op determinatie in het laboratorium

KWR Watercycle Research Institute

Projectactiviteiten

Werkpakketten

1. Monstername protocollen: KWR, Koeman en Bijkerk
2. Ontwikkeling en testen eDNA primerssets: KWR
3. Betrouwbare DNA methodiek: BaseClear, Naturalis
4. Bio-informatica: BaseClear
5. Bibliotheek van barcodes en vouchers: Naturalis, EIS
6. Toepassing KRW maatlat: Royal HaskoningDHV

KWR Watercycle Research Institute

Resultaten

Werkpakket 1

Werkvoorschrift voor Bemonstering van eDNA van macrofauna in zoet oppervlaktewater van het KRW-type M03 en M10

KWR Watercycle Research Institute

Resultaten

Werkpakket 5

- Verzamenen en borgen van collectie soorten "vouchers"

KWR Watercycle Research Institute

Resultaten

Werkpakket 2

Ontwikkeling en validatie van (q)PCR primersets

- Generieke primersets:
 - Notonectidae (KWR, Kimberly Learbuch) 171 bp
 - Dytiscus (Naturalis, Kevin Beentjes) 163 bp
 - Coleoptera (Gibson, 2014) 310 bp
 - Hemiptera (Gibson, 2014) 310 bp
- Specifieke primersets:
 - Notonecta glauca (KWR, Kimberly Learbuch) (175 bp)
 - Dytiscus latissimus (Naturalis, Kevin Beentjes) (brede geelgerande waterkever) (107 bp)
 - Graphoderus cinereus (KWR, Kimberly Learbuch) ontwikkeld, maar nog niet getest
 - Myriophyllum aquaticum (Naturalis, Barbara Gravendeel; matK) (972 bp)
 - Myriophyllum aquaticum (Scriver, 2015; matK) (213 bp)

KWR Watercycle Research Institute

Resultaten
Werkpakketten 2,3,4

- Bemonstering van een selectie van M10 wateren

Nummer	Beschrijving	Monsterdatum
9B	Nokvaart, Fjalleberd	14-11-2014
10B	Polderhoofdkanaal	14-11-2014
11B	Aldemiede, Oude Lune	14-11-2014
12B	De Wiel, thv Veenwouden	14-11-2014
13B	Wolddiep	14-11-2014
14B	Doezumerocht, Peebosch	14-11-2014
20B	Wolddiep	13-5-2015
21B	De Wiel, thv Veenwouden	13-5-2015
22B	Polderhoofdkanaal	13-5-2015
23B	Nokvaart, Fjalleberd	13-5-2015
24B	Doezumerocht, Peebosch	13-5-2015
25B	Aldemiede, Oude Lune	13-5-2015

Resultaten
Werkpakketten 2,3,4

- Macrofaunamonsters klassiek gedetermineerd en kevers en wantsen verzameld (blendermethode)
- Water bemonsterd en geconcentreerd
- Pallet aan qPCR analyses en generieke PCR voor metabarcoding
 - 3 verschillende NGS analyses:
 - Generieke COI (Folmer et al 1994) (710 bp)
 - Notonectidae
 - Dytiscus

Resultaten
NGS analyse (eerste resultaten)

- Locatie Nokvaart, Fjalleberd, 14-11-2014

Doelsoort	Soorten	Telling	NGS Blender (%)	NGS Water (%)
Wantsen	<i>Hydrotetra stagnorum</i>	1	2,9	+
	<i>Notonecta glauca/Notonecta obliqua</i>	3	11,7	+
	<i>Ranatra linearis</i>	1	2,5	+
	<i>Sigara falleni/Sigara longipalis</i>	1	11,8	-
	<i>Sigara strigata</i>	1	35,0	+
Kevers	<i>Anacaena limbata</i>	1	33,2	-
	<i>Halpius heydeni</i>	-	3,2	-
	<i>Halpius laminatus</i>	-	12,1	-
	<i>Halpius ruficollis</i>	1	-	-
	<i>Laccophilus hyalinus</i>	1	48,1	-
	<i>Galerucella nymphaeae</i>	2	-	-

Vervolg
Werkpakketten 2,3,4,5,6

- Analyseren van watermonsters met beschikbare qPCR's
- NGS analyse van *Notonectidae* en *Dytiscus*
- Optimalisatie van identificatie van NGS data
 - Uitbreiden barcodes collectiesoorten
- Vertaalslag maken naar praktijk
 - Klassieke analyse
 - KRW maatlatten
 - Inschatting haalbaarheid




De moleculair biologische technieken van eDNA

Netwerk Groene Bureaus, Themabijeenkomst
25-nov.-2015

Eelco Wallaart

Sylphium molecular ecology

- Start: 2012
- Ontwikkeling moleculaire technieken (eDNA) voor ecologisch onderzoek
- Dienstverlener voor ecologische adviesbureaus
 - Zwemmersjeuk
 - Vissen
 - Amfibieën
 - Zoogdieren
 - Blauwalgen*

*project wordt medefinancierd door Samenwerkingsverband Noord-Nederland

Wat is eDNA technologie?

watermonster

DNA isolatie

Analyse

rapport

Wat is eDNA technologie?

Genoom

```

AAACTATATAAFAAGATAAAAACTAACCTTGCCTG
CGCACCGAAGTATTTTAAAGTACACCACTCGAAGT
GATTTCTTACTCTTGAACCCAGCAACTAGGAAA
CAAACCTGGATTAGATACCCCACTATGCTAGCAT
AACTTTGATTTCCCGCAGACTACAGACTACA
GCTTAAACTCAAGGACTTGTAAAGTCAAACTTAG
CGTGTTCACACCCCTAGAGGAGCTGTTCTAT
AATCGATAAFCGCCGATAACCTCACACTATGTC
CAATACAGCCTATATACCCCGCTAGCCGCCCTT
CAAAAGGTAAACAGCAGGCAATATATAAATPAA
AACTCAGTCAAGGTGAGCAATAGGTGGAAG
AAATGGGCTACATTTCTACTTGAATAACAGGAC
GATTTCTAGAAATATCTCTGAAGGAGATTAGCA
GTAAAAAGAAATAGAGTGTCTTTTAAAGCGCA
ATAAGCGCGCACACACCGCCCTCACCTTTCAA
ATAATTTAAATTAATAAATAAAGTCAACAGT
AAGAAGGCAAGTCTAACAATGTAAGTACCGG
AAGTGGCTGGATATCAACTGCTAGCTTAACATA
AAGCATTTCTTACCAAGCAAAATACCCGTTAAA
CCCGACTAAGTGTAGTATAACTTAGCCCA
CATACCAATAAATCTACTAACAATAAATAATC
ATTTAATATGAAATATAGCGATAGAAACCTCA
TTGAGCAATAGAAATACTCTCAAGCTAAGT
AAATAAATAAATAGATTAACCTAAACGATATAA
GAAAGACTAAGCTTATACCTTAAGTCTAACAA
AAGAGATAGAGTAAATTTCCCGCAACTAGCAG
CTACTTAGAGGAGCATATACAGAAATACCTCTC
TGTGCAAAAGTGGGATGACTCTTAAGTGGGOT
    
```

Wat is eDNA technologie?

watermonster

bibliotheek

Wat is eDNA technologie?

Genoom

Zoektermen = primers

PCR = Googlen van de moleculaire Biologie

```

AAACTATATAAFAAGATAAAAACTAACCTTGCCTG
CGCACCGAAGTATTTTAAAGTACACCACTCGAAGT
GATTTCTTACTCTTGAACCCAGCAACTAGGAAA
CAAACCTGGATTAGATACCCCACTATGCTAGCAT
AACTTTGATTTCCCGCAGACTACAGACTACA
GCTTAAACTCAAGGACTTGTAAAGTCAAACTTAG
CGTGTTCACACCCCTAGAGGAGCTGTTCTAT
AATCGATAAFCGCCGATAACCTCACACTATGTC
CAATACAGCCTATATACCCCGCTAGCCGCCCTT
CAAAAGGTAAACAGCAGGCAATATATAAATPAA
AACTCAGTCAAGGTGAGCAATAGGTGGAAG
AAATGGGCTACATTTCTACTTGAATAACAGGAC
GATTTCTAGAAATATCTCTGAAGGAGATTAGCA
GTAAAAAGAAATAGAGTGTCTTTTAAAGCGCA
ATAAGCGCGCACACACCGCCCTCACCTTTCAA
ATAATTTAAATTAATAAATAAAGTCAACAGT
AAGAAGGCAAGTCTAACAATGTAAGTACCGG
AAGGTGACTGGATATCAACTGAGCTTAACATA
AAGCATTTCTTACCAAGAAATAACCTTTAAA
CCCGACTAAGTGTAGTATAAATCTAGCCACCCA
CTAACCAATAAATCTACTAACAATAAATAATC
    
```


Polymerase chain reaction (PCR)

Exponential amplification

M1 M2 M3 POS NEG

7/18

Polymerase chain reaction (PCR)

Exponential amplification

8/18

- PCR = Methode om m.b.v primers, kopieën van een specifiek stuk DNA te maken
- Primer:**
- Stukje synthetisch enkelstrengs DNA code
- Primers binden op een specifieke plaats van het doelsoort DNA
- Het stuk DNA tussen een primer paar wordt gekopieerd
- Na 36 cycli 68 miljard kopieën

qPCR = DNA vorming in PCR-proces met fluorescent-label volgen

eDNA metabarcoding

Zeeken met algemene termen = PCR met universele primers

9/18

Polymerase chain reaction (PCR)

Samenvatting toepassingen verschillende PCR technieken

- PCR: aantonen van specifieke doelsoorten
- qPCR: kwantitatief aantonen van specifieke doelsoorten
- Metabarcoding: (kwantitatief) in kaart brengen van de soortensamenstelling

10/18

Aantoonbaarheid eDNA in het veld

Mitochondrium:

- >100 kopieën per cel
- Genetisch zeer stabiel binnen soort
- Afkomstig van moeder
- Meerdere delen in databanken beschikbaar (CytB, CO1, d-loop, 16S rRNA, etc)

11/18

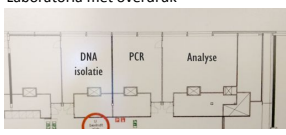
Aantoonbaarheid eDNA in het veld

(Strickler, 2015)

12/18


DNA contaminaties en hoe te voorkomen

- Monstername
 - Materiaal tussen monsters nemen reinigen
- Verwerken monster
 - Gescheiden laboratoria (eDNA isolatie, PCR, Analyse)
 - Laboratoria met overdruk




- Controles
 - Positieve en negatieve PCR controles
 - Interne positieve en negatieve controles

Voorbeelden van eDNA detectie

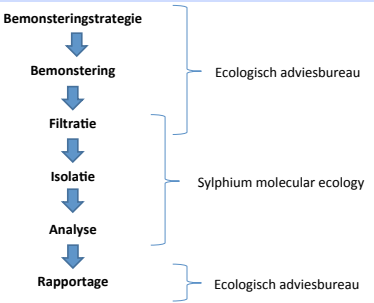


- Zwemmersjeuk / eikenprocessierups in zwemplassen
- Vissoorten en amfibieën in oppervlaktewateren aantonen
- Muizen aantonen met fecaliën (Noordse woelmuis, waterspitsmuis)
- Haplotype bepaling van Kwabaal
- Metabarcoding van oppervlaktewateren



Sylphium.com/eDNA

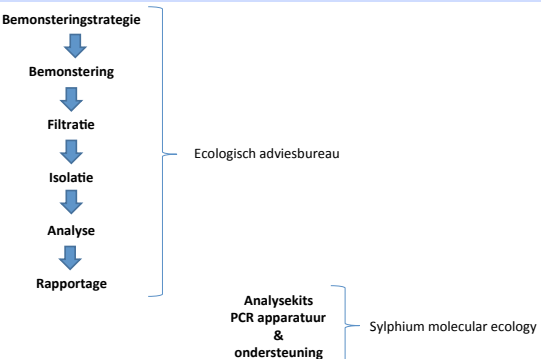
Werkwijze/taakverdeling



Bemonsteringstrategie → **Bemonstering** → **Filtratie** → **Isolatie** → **Analyse** → **Rapportage**

- Ecologisch adviesbureau: Bemonstering, Rapportage
- Sylphium molecular ecology: Filtratie, Isolatie, Analyse

Taakverdeling toekomst



Bemonsteringstrategie → **Bemonstering** → **Filtratie** → **Isolatie** → **Analyse** → **Rapportage**


- Ecologisch adviesbureau: Bemonstering, Filtratie, Isolatie, Analyse, Rapportage
- Sylphium molecular ecology: Analysekits, PCR apparatuur & ondersteuning

Prijstelling 2015

	1 soort	2 soorten	3 soorten
1 monster	€147,-	€221,-	€296,-
3 monsters	€76,-	€109,-	€142,-
5 monsters	€63,-	€89,-	€115,-
10 monsters	€53,-	€72,-	€91,-
20 monsters	€47,-	€60,-	€74,-

Prijs per monster exclusief BTW

Dank voor uw aandacht



Vragen?


Praktijkervaring met de grote modderkruiper

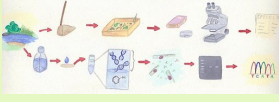
Menno Soes
Bureau Waardenburg






Praktische toepassing

(nog) geen moleculair lab

Barcodering 



eDNA

Voorbeelden

Identificatie exotische Wolffia's  Aantonen voorkomen kreeftenpest soortspecifieke qPCR 

Identificatie bananenslak 

samenwerking 




Toepassing eDNA in Ffwet-onderzoek

grote modderkruiper

kleine modderkruiper
kamsalamander
waterspitsmuis
rivierkreeften





Grote modderkruiper specialist

- concurrentiearme wateren
- bestand tegen lage zuurstofwaarden
- bestand tegen korte periodes van droogval
- vooral in vrij ondiepe, stilstaande, plantenrijke wateren met een sliblaag





Beschikbare methoden inventarisatie grote modderkruiper

- zaklampvissen
- schepnet
- elektrovisserij
- fuiken
- eDNA





Zaklampvissen

Voordelen

- werkt ook bij lage dichtheden
- subtiel/eigen milieu
- schatting lengteverdeling adulten

Beperkingen

- arbeidsintensief
- veeleisend t.a.v. waterdiepte, helderheid water, breedte, begroeiing, begaanbaarheid oever
- juvenielen snel gemist





Schepnet

Voordelen

- handzaam
- vrij breed toepasbaar
- geslachtsverhoudingen
- lengteverdeling
- larven/juvenielen
- bijvangst

Beperkingen

- arbeidsintensief
- begaanbaarheid watergang
- dichte vegetaties verlagen vangkans
- minder betrouwbaar gebleken bij lage dichtheden





Elektrovisserij








Elektrovisserij

Voordelen

- vrij grote vangkans
- geslachtsverhoudingen
- lengteverdeling
- bijvangst

Beperkingen algemeen

- relatief duur (2 personen)
- ontheffingen, visrechten

Beperkingen draagbaar

- alleen ondiep water met goed doorzicht en niet te dichte vegetaties
- begaanbaarheid bepalend

Beperkingen boot (gelijkstroom)

- boot moet passen en vooruit kunnen
- bereikbaarheid bepalend





Fuikvisserij








Fuikvisserij

Voordelen

- grote vangkans
- geslachtsverhoudingen
- lengteverdeling adulten (bij amf-fuik ook juvenielen)
- bijvangst

Beperkingen

- vandalisme, diefstal, schonen
- ontheffingen, visrechten
- vaak vrij arbeidsintensief
- missen juvenielen bij palingfuik
- bijvangst



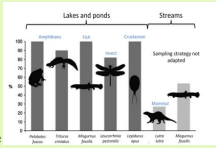


Voordelen eDNA bij grote modderkruiper


hoge betrouwbaarheid

Redenen

- produceert veel eDNA
- ideaal biotoop



Thomsen et al. 2012



<http://www.environmental-dna.nl/>

Voordelen eDNA

vrij eenvoudig veldwerk



Besmettingen voorkomen wel een gedoe

Snelle en goedkope oplossing:

- niet het water in
- wegwerpmateriaal



Voordelen eDNA

overall toepasbaar



Voordelen eDNA

materiaal niet beperkend voor bereikbaarheid



vandalisme en dergelijke geen issue

Voordelen eDNA

weinig formele rompslomp

alleen evt. toestemming betreding nodig



Voordelen eDNA

Sterke vermindering kans op verspreiding ziektes en exoten



Batrachochytrium sp.
Ranavirus



Beperkingen eDNA

weinig informatie populatie






larf

♀ ♂



Beperkingen eDNA

wachtijd en niet altijd goedkoop

Kosten per monster sterk afhankelijk van aantal monsters




Beter af met schepnet




eDNA economisch


Vislocaties Noordrijke IJsselvallei en Smallersebeek



Vislocaties Arnhem



80 eDNA monsters



Conclusies t.a.v. eDNA bij Ffwet- onderzoek grote modderkruiper

In veel gevallen eDNA de optimale methode om aan- of afwezigheid aan te tonen. Blijven we dus doen.


Solo te weinig info over de populatieopbouw.

Voorkeursaanpak:

- Voor kleine klus eerst traditioneel en bij negatief resultaat daarna eventueel eDNA;
- Voor grote klus eerst eDNA, daarna traditioneel op positieve locaties.

Ook extra vermindering impact van besmettingen.

Knelpunt:
Opdrachtgevers zien eDNA te veel als volledige vervanging en willen de kosten van de voorkeursaanpak veelal niet dragen.




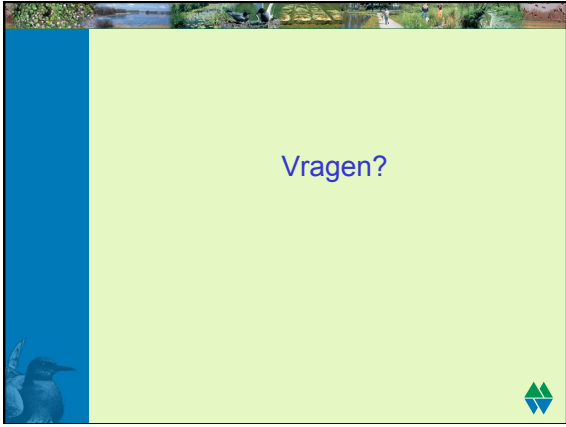
Wensen


Open deur:
Stabiel veld van goedkope aanbieders om de analyses te kunnen laten uitvoeren.

Maar:
vergelijkbaarheid ringtest?

kwaliteitgarantie veld- en labwerk
opstellen richtlijnen?
bijv. periodes & controles
≈ soortenstandaarden RVO.nl







Adviesbureau E.C.O. Logisch

eDNA waterspitsmuis

Jeroen Koorevaar, Adviesbureau E.C.O. Logisch

Inhoud

- Onderzoek met inloopvallen
- Onderzoek met eDNA
- Vergelijking inloopvallen / eDNA
- Voor- en nadelen beide methodes
- Wetgeving
- Kansen


Onderzoek waterspitsmuis

- Inloopvallen
 - Prepareren vallen (voedsel, hooi)
 - Plaatsen vallen, 20 / raai
 - Vallen op scherp
 - 4-6 controles
 - Opruimen vallen
- Intensief
- Kostbaar
- Betrouwbaarheid (?)



Onderzoek waterspitsmuis

- eDNA
 - 2 monsterpotjes / watergang
 - Handschoenen en labels
 - 1 locatiebezoek
 - Analyse laborant
- Minder intensief
- Lagere kosten
- Betrouwbaarheid 65%



Vergelijking vangen - eDNA

Inloopvallen		eDNA	
Vanglocaties	Vangsten	Monsterpunten	Positief
15	0	15	0
5	0	5	1
2	0	2	0
7	0	7	0
7	0	5	0
7	0	6	3
9	0	9	0
5	0	5	0
7	1	-	-

Voor- en nadelen

	Inloopvallen	eDNA
Materiaal	-	+
Kosten	-	+
Betrouwbaarheid	-	+/-
Bepalen dichtheid	+	-
Invasief	-	+

Wetgeving

- Wel indicatie van aanwezigheid
- Geen beeld van dichtheden / aantallen
- Nog geen ervaring met beoordeling RvO

Kansen

- Financieel aantrekkelijk
- Gerichter onderzoek
 - Onderzoek gericht op de positieve locaties
 - Alleen bij aanwezigheid eDNA aanvullend onderzoek

eDNA metabarcoding de toekomst van vismonitoring?

Jelger Herder

Den Haag, 25 november 2015



Stichting RAVON | REPTIELEN AMFIBIEËN VISSSEN ONDERZOEK NEDERLAND

Sommige soorten zijn lastig te monitoren



- Grote modderkruiper (*Misgurnus fossilis*)
 - Vrijwilligers → schepnet
 - Professionals → electrovissen
 - Maar pit-tag onderzoek liet zien lage trefkans zien
 - Habitat
 - Environmental DNA




2/18

Eerste eDNA studie in Nederland

- In 2011 hebben RAVON en SPYGEN een pilotstudie naar de toepassingsmogelijkheid van eDNA methode voor grote modderkruiper (*Misgurnus fossilis*)
 - Trefkans met eDNA 87,5% (7 van de 8 locaties)
 - Negatieve veldcontroles allen negatief (4 locaties)

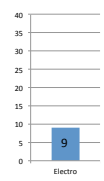




Herder et al., 2012 – H2O

3/18

Hogere trefkans met eDNA

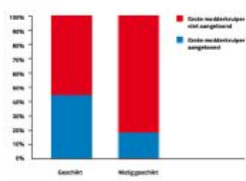
- Vergelijking in het veld: 48 wateren electrovissen vs eDNA
 - Trefkans eDNA ~ 3x hoger
 - Trefkans electrovissen max 37,5%
 - Electro vangst → eDNA positief (100%)


Kranenborg et al., 2014 – H2O

4/18

Habitatkennis cruciaal voor succes



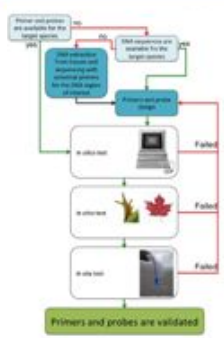
- 2.5 x meer succes in habitats die als geschikt waren beoordeeld



Herder et al., 2013 - Visionair

5/18

Ontwikkeling betrouwbare eDNA-methode



- Primers ontwikkelen
 - uniek voor doelsoort
 - kort fragment
- Bioinformatisch testen
- In het lab testen
- In het veld testen
 - positieve tests → trefkans
 - negatieve tests → controle

6/18


Detectiekans

- Testen in pilot
 - Locaties hoge dichtheid
 - Locaties lage dichtheid
 - Verschillende habitats
 - Controle locaties
- Zelf testen → detectiekans afhankelijk van veel factoren
 - Monstername (methode, strategie, volume, veldkennis)
 - Analyse (primers, extracties, PRC, labervaring etc.)
- Detectiekans = cruciaal voor toepassing in het veld



7/18

Soort specifiek onderzoek succesvol



Bemonsterde locaties
2011-2015

8/18

Soortenlijsten uit één monster

Tot enkele soorten → met soort specifieke aanpak

Hele soortenlijst → soort specifieke aanpak niet geschikt


- Kunnen maar enkele primers aan PCR toegevoegd → dus monster moet verdeeld worden over PCRs
- Je vindt alleen "verwachte soorten"



9/18

Soortenlijst → eDNA metabarcoding

- Universele primer voor soortgroep
- Al het DNA van deze soortgroep wordt vermeerderd in PCR
- Het vermeerderde DNA wordt uitgelezen met Next Generation Sequencing (NGS)
- Uitgelezen DNA-codes worden vergeleken met een referentie database → soortenlijst




10/18

eDNA metabarcoding vissen

- Vergelijking KRW bemonstering en eDNA metabarcoding.
STOWA, Rijn & IJssel, Brabantse Delta, De Dommel en Vallei en Veluwe

Stilstaand water



Aantal soorten gedetecteerd

Locatie	eDNA	Electrovis	Samen
Lummerwetering	17	12	18
Terwoldse wetering	8	8	12
Nieuwe wetering	11	7	13
Dijkwetering	11	11	13


Met eDNA metabarcoding een gelijk of hoger aantal soorten aangetoond

Onderdeel Europese studie samen met Franssen en Denen (Valentini et al 2015)

11/18

eDNA metabarcoding vissen


- Soorten gemist met eDNA-metabarcoding:
 - Veelal kleinere soorten (bv. stekelbaars en vetje)
 - Soorten in lage dichtheden (1 of 2 individuen in KRW)
- Algemene soorten **niet** gemist met eDNA




12/18

eDNA metabarcoding vissen

- "Snelle soorten" vaak gemist met electrovissen



Karper (*Cyprinus carpio*)
Gemist op 2 van de 2 locaties (100% gemist)



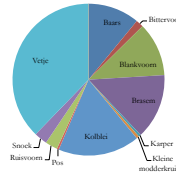
Brasem (*Abramis brama*)
Gemist op 2 van de 4 locaties (50% gemist)

13/18

eDNA metabarcoding – relatieve dichtheid

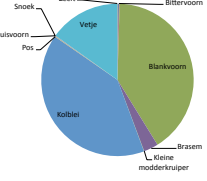
- Dijkwetering (Vallei en Veluwe) - stilstaand

eDNA metabarcoding



eDNA fragmenten per soort

Electrovissen



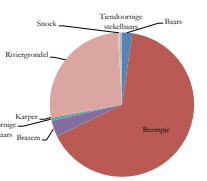
Individen gevangen per soort

14/18

eDNA metabarcoding – relatieve dichtheid

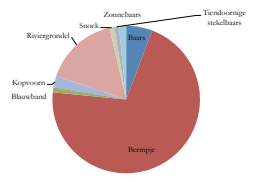
- Merkske (Brabantse Delta) – snel stromend

eDNA metabarcoding



eDNA fragmenten per soort

Electrovissen




Individen gevangen per soort

15/18

Vervolg eDNA metabarcoding 2015

- Vergelijking met KRW in groter aantal water(typen)
 - Soortensamenstelling
 - Kwantificering (veel factoren spelen een rol!)
 - Reproduceerbaarheid


→ Experimentele opzet visvijvers



16/18


Toekomst eDNA voor vismonitoring / KRW?

- eDNA in potentie:
 - goed beeld visstand
 - niet invasief
 - gestandaardiseerd
 - kostenbesparend
- Verder valideren eDNA methode voor soortensamenstelling en (relatieve) kwantificering
- Nieuwe maatlatten?




17/18

Verder lezen



Uitgebreid review
Do's and Don'ts
eDNA onderzoek



www.environmental-dna.nl
(info & publicaties)

18/18

Gebruik van eDNA door Groene Bureaus
Huidig gebruik en trends




Kees van Bochove
November 2015

Gebruik van eDNA door Groene Bureaus

- Identificatie van weefsel/ uitwerpselen
- Populatie genetica
- eDNA





Identificatie

- Met name vleermuizen keutels
- Sommige bureaus nemen standaard enkele DNA analyses op als stelpost in offerte




Identificatie

- Keutels van noordse woelmuizen zijn voor zover mij bekend nog niet gebruikt voor inventarisatie.




Categorie	eDNA keutels	Insect keutels
voerresten	~100%	~100%
valtenpaar	~40%	~100%

per raai/locatie per valtenpaar




Populatie genetica

- Populatie genetica wordt vooral ingezet bij grote projecten.




Populatie genetica

- Populatie genetica wordt vooral ingezet bij grote projecten.

Voorbeeld: hybride modderkruipers in Nederland





Datura  **Populatie genetica**

- Populatie genetica wordt vooral ingezet bij grote projecten.

Voorbeeld: Herkomst populatie groot zeegras





Foto: Rijkswaterstaat

Datura  **Populatie genetica**

- Toekomst: vaker inzetten om nut van ecostructuren te evalueren?




Foto: Rijkswaterstaat

Datura  **eDNA**


- ~15 bureaus hebben dit jaar gebruik gemaakt van eDNA diensten van Datura.

Meest gevraagde soorten:


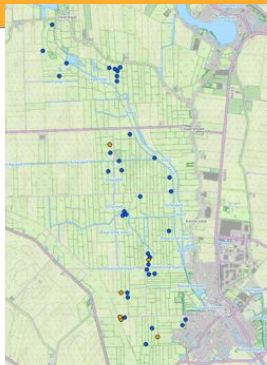
- Kamsalamander
- Heikikker
- Grote modderkruiper
- Bittervoorn
- Kleine modderkruiper
- Waterspitsmuis

Datura  **eDNA**

- Op dit moment vooral gebruikt om afwezigheid aannemelijk te maken van lastig te inventariseren soorten.
- Interesse groeit om eDNA als alternatief te gebruiken om aan/afwezigheid aan te tonen.
- Vooral bij grote gebieden is eDNA een interessant alternatief.

Datura  **eDNA**

- Voorbeeld Grote modderkruiper:

Datura  **eDNA**

- Voorbeeld beschermde soorten Weesp:




Datura molecular solutions in ecology **eDNA**

- Metabarcoding: soortenlijsten
- Tot nog toe vooral in grote wateren die lastig te bemonsteren zijn.
- Toekomst: Kaderrichtlijnwater?

Datura molecular solutions in ecology **eDNA - toekomst**

- Kwantificering?

Datura molecular solutions in ecology **eDNA - toekomst**

- Kwantificering?

Datura molecular solutions in ecology **eDNA - toekomst**

- Kwantificering?

Datura molecular solutions in ecology **eDNA - toekomst**

- Testen in het veld?
- PCR in het veld is mogelijk. DNA concentratie en zuivering is op dit moment de bottleneck.
- Niet op korte termijn haalbaar.

Datura molecular solutions in ecology **eDNA - toekomst**

- Detecteren macrofauna?
- Soort-specifiek: redelijk succes.
- Metabarcoding?
- Volgend jaar: pilot gestreepte waterroofkever/ platte schijfhoren.

Gebruik van eDNA door Groene Bureaus
Huidig gebruik en trends



Bedankt voor de aandacht.



Datura
molecular solutions in ecology

Kees van Bochove
November 2015




Nederlandse Voedsel- en
Warenautoriteit
Ministerie van Economische Zaken

eDNA als kennisbron voor exotenbeleid

Jenneke Leferink
Team Invasieve Exoten
Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit

25-11-2015

Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015



Inhoud presentatie

eDNA als kennisbron voor exotenbeleid

- » *wat is een (invasieve) exoot*
- » *(inter)nationaal beleid*
- » *EU-verordening*
- » *Gebruik eDNA*

2

Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

Team invasieve exoten (TIE)

onderdeel van Bureau Risicobeoordeling en
onderzoeksprogrammering (NVWA)

TIE voert deel invasieve-exotenbeleid uit door:

- a) Aansturing van exotonderzoek
(*risicoanalyses, monitoring, etc.*)
- b) Advisering
- c) Risicocommunicatie
- d) Beleidsondersteuning

3

Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

Wat is een (invasieve) exoot

- **Exoot =**
Een plant, dier, micro-organisme of schimmel dat **niet van nature** voorkomt in Nederland en ons land binnenkomt door **menselijk handelen** (transport, handel, etc.)
- NB. Zelfstandig *oprukkende* soorten vallen **niet** onder deze definitie (klimaatverandering, etc.)

4

Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

Invasieve exoot = Een exoot die door vestiging en verspreiding een bedreiging vormt voor de:

- biodiversiteit**
- (ecosysteem)diensten**
- volksgezondheid
- en/of economie




5

Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

Invasieve exoten: een paar voorbeelden

Italiaanse kamsalamander (*Triturus carnifex*)



Herkomst: Italië

Introductieroute: waarschijnlijk huisdier-/aquariumhandel

Impact: hybridisatie met kamsalamander (rode lijst)

AcTIE: Risicoanalyse + monitoring + advies
(mogelijk elimineren)

6

Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

Invasieve exoten: een paar voorbeelden

Amerikaanse brulkikker (*Rana catesbeiana*) - Baarlo

Herkomst: Noord-Amerika

Introductieroute: Huisdierhandel

Impact: Ziekte en sterfte onder inheemse amfibieën

Hoe: - Overbrengen schimmelziekte 'Bd'
- Predatie

ActIE: Is geëlimineerd in Baarlo

7 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

Internationaal beleid

Biodiversiteitsverdrag (Convention on Biological Diversity):

- Invasieve exoten zijn na habitatverlies en stroperij de grootste bedreiging voor biodiversiteit.
- Artikel 8h: Ontwikkel beleid om de introductie van soorten die inheemse soorten of ecosystemen kunnen bedreigen te voorkomen.

8 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

(inter)nationaal beleid

Biodiversiteitsverdrag (Convention on Biological Diversity)

landbouw, natuur en voedselkwaliteit

Beleidsnota Invasieve Exoten LNV, 2007

EU Strategy on Invasive Alien Species, 2008

Team Invasieve Exoten (TIE) sinds 2009 (NVWA)

Nieuwe EU exotenregelgeving 1-1-2015

9 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

(inter)nationaal beleid

Aanpak van invasieve exoten

1. Preventie
2. Vroegtijdige opsporing & eliminatie
3. Beheer gevestigde populaties

10 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

Beleidsnota invasieve exoten (Nederland)

Actie tegen een exoot als:

- de exoot reële dreiging vormt voor biodiversiteit
- maatregelen haalbaar zijn
(technisch, kosten, draagvlak)
- negatieve bij-effecten van ingrijpen acceptabel zijn
(bijvoorbeeld milieuvervuiling door pesticiden)

11 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

EU-verordening

1 januari 2015 Datum van inwerkingtreding van de exotenverordening

Vanaf 1 januari 2015 gaan 'termijnen lopen', o.a.:

- Binnen 1 jaar eerste soortenlijst (**Unielijst**) voor goedkeuring in Comité;
- Vroegtijdige opsporing en snelle uitroeiing:**
- Binnen 1 jaar functionerende structuur voor **importinspecties**;
- Binnen 18 maanden na vaststellen Unielijst **surveillancesysteem**
- Binnen 18 maanden na vaststellen Unielijst **pathway-analyse** uitgevoerd door LS.

12 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015



EU-verordening

Soorten op de Unielijst mogen niet opzettelijk:

- op het grondgebied van de Unie worden **binnengebracht**;
- worden **gehouden**;
- worden **gekweekt**, ook niet in een gesloten omgeving;
- naar, uit of binnen de Unie worden **vervoerd**;
- in de **handel** worden gebracht;
- worden **gebruikt** of **uitgewisseld**;
- worden toegestaan zich **voort te planten**, te worden **gekweekt** of **geteeld**, ook niet in een gesloten omgeving;
- worden **vrijgelaten** in het milieu.

13 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015



EU-verordening

Vroegtijdige opsporing en snelle uitroeiing

Officiële grenscontroles

Voorkómen van opzettelijke introducties van Unielijstsoorten

Surveillance / toezichtstelsysteem

Doel: nieuwe populaties van Unielijstsoorten snel ontdekken

Dekt gehele nationale grondgebied af, inclusief mariene gebied

14 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015



EU-verordening


Vroegtijdige opsporing en snelle uitroeiing

LS moeten na detectie van een populatie van Unielijstsoort:

- Binnen 3 maanden na notificatie uitroeiingsmaatregelen nemen
- De populatie volledig en permanent te verwijderen, rekening houdend met ongewenste effecten (mens, milieu, niet doelsoorten)
- Effectmonitoring uitvoeren




15 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015




eDNA in beleid exoten

In 2014 heeft RAVON (e.a) in opdracht van TIE de voordelen en beperkingen in beeld gebracht voor gebruik eDNA bij opsporen invasieve exoten:

- met name geschikt voor aquatische habitats
- hogere trefkans bij lage dichtheden -> vroeg stadium invasie
- nulwaarnemingen (soort is niet aanwezig) betrouwbaarder -> signalering en monitoring effect bestrijding
- goedkoper bij moeilijk waarneembare soorten
- soortspecifiek (geen determinatiefouten)
- toepasbaar in meer watertypen
- geringe verstoring
- lagere kans op onbedoeld verspreiden invasieve exoten en ziekten

16 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015




eDNA in beleid exoten

Beperkingen van de eDNA-methode:

- nog geen goede inschatting van dichtheden
- geen informatie over aanwezigheid verschillende levensstadia. -> geen informatie of soort zich voortplant
- geen onderscheid tussen hybriden en de moedersoort
- alleen informatie over aan- of afwezigheid van soort, geen aanvullende informatie over bv gezondheid
- monsternamen liefst door personen met voldoende ecologische kennis van doelsoort

17 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015



eDNA in beleid exoten

eDNA te gebruiken bij onderzoek naar recente aanwezigheid van soorten:

- eerder ontdekken van nieuwe populaties van invasieve exoten
- Plannen van beheersacties
- monitoring eliminatieacties van invasieve exoten

18 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

eDNA in beleid exoten

Voor eliminatie is vroegtijdige opsporing gewenst:

- meer kans op succes totale uitroeiing
- lagere kosten
- minder effect op ecosysteem
- minder maatschappelijke onrust

19 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

eDNA in beleid exoten

Op concept-unielijst staan relatief veel invasieve exoten die in water voorkomen. Sommige nog niet wijdverspreid, o.a.:

Amerikaanse brulkikker	Waterwaaier
Geknobbelde Amerikaanse rivierkreeft	Waterhyacint
Californische rivierkreeft	Verspreidbladige waterpest
Rode Amerikaanse rivierkreeft	Kleine waterteunisbloem
Marmerkreeft	
Rosse stekelstaart	
Amoergrondel	

eDNA mogelijk in te zetten bij lokale soorten die visueel moeilijk op te sporen zijn

20 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

eDNA in beleid exoten

eDNA al gebruikt bij: **Amerikaanse brulkikker**

Doel: Monitoring of bestrijdingsactie in Baarlo effectief was:

de vijvers waar de kikker voorkwam zijn na de eliminatieacties een aantal keren bemonsterd.

Is de soort echt weg of niet meer waargenomen?

21 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

eDNA in beleid exoten

eDNA al gebruikt bij: **Italiaanse kamsalamander**

Doel: verspreiding bepalen

In 2013: watermonsters in omgeving bekend verspreidingsgebied

22 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

eDNA in beleid exoten

eDNA al gebruikt bij: **Aziatische modderkruiper**

Doel: verspreiding bepalen en effect bestrijding (NVWA medefinancier)

Eerste waarneming in NL in 2012 (Tungelroyse beek)

eDNA gebruikt om precieze verspreiding vast te stellen + (op termijn) effectiviteit van de acties

23 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

eDNA in beleid exoten

Mogelijke kansrijke ontwikkeling:

eDNA- metabarcoding

Lijkt zeer geschikt voor gelijktijdige detectie meerdere soorten. Bijvoorbeeld onderzoek soorten in ballastwater.

24 Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

Bedankt voor uw aandacht!
Vragen?



A cartoon illustration of a man with spiky orange hair, wearing a red jacket, looking extremely confused. He has his hands on his head, and several blue question marks are floating around him.

25 l.h.vos@minlaw.nl Themadag eDNA als technologische innovatie
25 november 2015

Royal HaskoningDHV
Enhancing Society Together

eDNA als basis voor uitvoering van KRW-monitoring?

Netwerk Groene Bureaus

Roel Knoben, Royal HaskoningDHV
25 november 2015

KRW-monitoring en beoordeling

4 kwaliteitselementen bepalen biologische toestand van water

macrofauna vis algen waterplanten

Knelpunten monitoring macrofauna

- Specialisten voor routinewerk
- Sommige larvale stadia problematisch
- Niet uniform, niet controleerbaar
- Arbeidsintensief en kostbaar (1000 eu/monster)

Kunnen DNA technieken deze nadelen ondervangen?

2 Macrofauna projecten 2014-2016

- 1) Barcoding aquatische organismen
- 2) Ontwikkeling van eDNA methodiek voor inventarisatie van aquatische biodiversiteit

Page 4 2015

Principe: DNA Barcodes

Mitoch DNA Marker Barcode

650bp
3.2 miljard

AATCGAGTTGATTGCGAG...

**Bewezen techniek
Veel toepassingen**

Ontwikkeling methodiek

2 onderzoekssporen:


- watermonster: lage concentratie DNA sporen
 - grootste besparing mogelijk op uitzoeken in veld
- organismen-monster (blender): hoge concentratie DNA
 - besparing op determinatie in het laboratorium
- Pilot: macrofauna: kevers, wantsen

Royal HaskoningDHV
Enhancing Society Together

KRW monitoring: wat is nodig?

- Monstername protocollen: KWR, Koeman en Bijkerk
- Ontwikkeling extractie: KWR
- Betrouwbare DNA methodiek: BaseClear, Naturalis, KWR
- Bio-informatica: BaseClear
- Bibliotheek barcodes en vouchers: Naturalis, EIS
- Toepassing KRW maatlat Royal HaskoningDHV

Page 7
2015

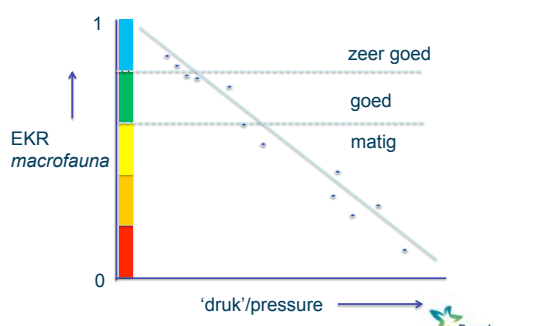



Is KRW beoordeling met eDNA mogelijk?

Macrofauna maatlat:

- soortensamenstelling
- abundantie

Principe KRW maatlat



↑ EKR macrofauna

1

0


'druk'/pressure →

zeer goed

goed

matig

Page 9
22 June 2012




KRW maatlat macrofauna

- Kenmerkende soorten
- Dominant positieve soorten
- Dominant negatieve soorten (werkt met abundantie)

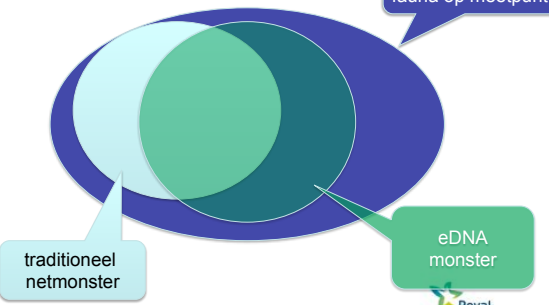
$$EKR = \frac{200 * \left(\frac{KM\%}{KMmax}\right) + 2 * (100 - DN\%) + (KM\% + DP\%)}{500}$$

beken

Page 10
2015



Soorten: traditioneel vs eDNA?




'totale' gemeenschap fauna op meetpunt

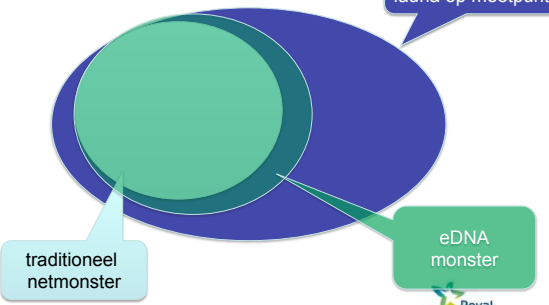
traditioneel netmonster

eDNA monster

Page 11
22 June 2012



indicatie: alle soorten teruggevonden




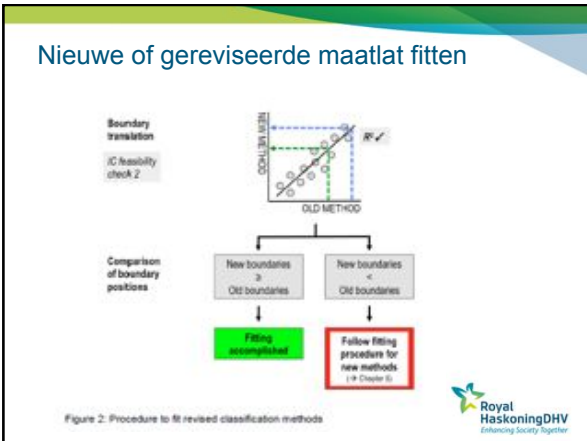
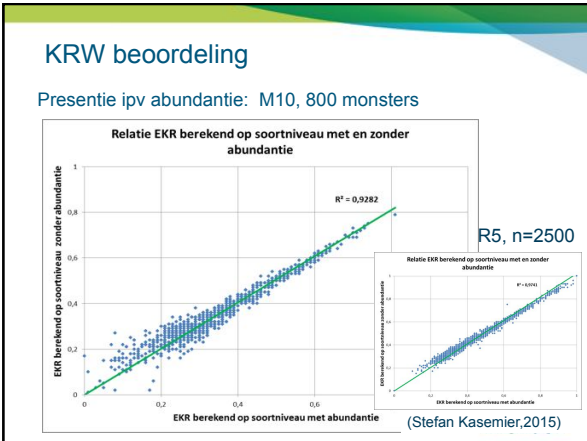
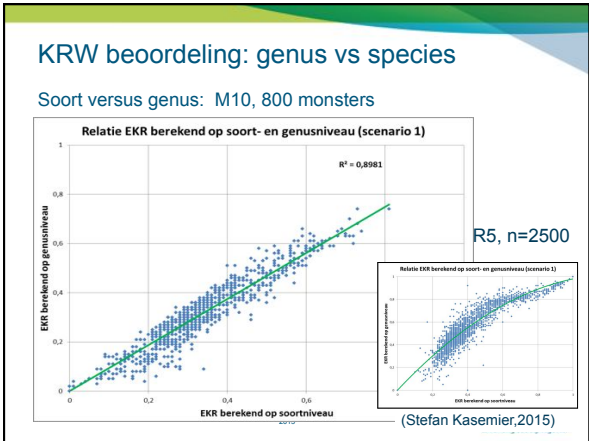
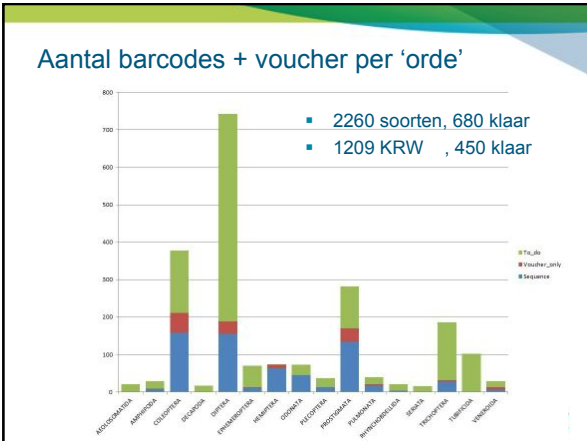
'totale' gemeenschap fauna op meetpunt

traditioneel netmonster

eDNA monster

Page 12
22 June 2012





Tussenstand KRW beoordeling

Exacte vergelijking vindt komende weken plaats

traditioneel water organismen

- Opbouw collectie vouchers en barcodes gaat hard
- Soortniveau lijkt haalbaar, genus zou ook goed werkbaar zijn
- Ontbreken abundantie parameter lijkt overkomelijk

Page 18 2015

Royal HaskoningDHV
Enhancing Society Together

Conclusies

Technisch:

- eDNA / metabarcoding biedt goede perspectieven voor KRW beoordeling van macrofauna, tegen ca 30% van kosten
- Europese Commissie staat open voor nieuwe technieken; is al aangekaart in Europese circuit

Juridisch:

- Een nieuwe of gereviseerde maatlat vergt nog intercalibratie
- Een nieuwe maatlat betekent geen ander zicht op kwaliteit van oppervlaktewater

Page 19
2016

Royal
HaskoningDHV
Enhancing Society Together



Environmental DNA

Roel Strijkstra, Altenburg&Wymenga

Sterke punten

- Trefkans hoog bij lokaal onderzoek in stabiele situatie
- Positieven ook echt positief
- Soortenpalet niet invasief vaststellen

Beperkingen

- Inschatting populatiegrootte
- Inschatting populatieopbouw
- Niet alle soorten beschikbaar
- Veel onduidelijkheid over negatieven
- Onzekerheid over houdbaarheid DNA
- Onzekerheid over verdunning
- Onzekerheid over hoeveelheid uitgescheiden DNA
- Ecologische kennis toch nodig

Twijfels

- De ploy van de gemalen Modderkruiper
- Ecologisch relevantie
- Relatie tot locatie
- Afstand tot bron
- Waterverplaatsing

Bedrijfsvoering en acceptatie

- Kostenaspect
- Juridisch
- Houding RVO/Provincies
- Houding opdrachtgevers
- Verdringing ecologische expertise

Onderzoek nodig

- Versnelling/vereenvoudiging methodiek
- Goedkoper maken
- Zelf uitvoeren
- Protocollen verzamelen, handelen en labwerk
- Accreditatie

Vraag

- Zijn we eraan toe?
- Weten we genoeg?

Stellingen

- Er wordt te veel verwacht van de methode
- Het is een te optimistisch verhaal, beloftes niet gestaafd
- Er wordt te weinig onderzoek gedaan naar praktische implicaties
- Het is voorlopig niet mogelijk om de toepasbaarheid te verbeteren

Stellingen

- Acceptatie door bevoegd gezag moet geregeld worden
- Kosten/baten moeten worden berekend
- Omslagpunt tussen klassiek en eDNA bepalen

Perspectieven?

- Individuele herkenning soorten
- Individuele herkenning individuen
- Veldtest