



Technologie bij natuuronderzoek
In deze rubriek laten auteurs zien hoe technologie behulpzaam kan zijn bij natuuronderzoek. De nadruk ligt daarbij op hoe het werkt, welke (uitbreidings)mogelijkheden er zijn en een indicatie van de kosten. Resultaten zijn bedoeld als illustratie.

Jelger Herder, Jeroen van Delft, Eva Bellemain & Alice Valentini

Environmental DNA, krachtig gereedschap voor het monitoren van fauna

Environmental DNA (afgekort eDNA) is een nieuwe inventarisatiemethode, gebaseerd op de detectie van DNA dat door soorten in hun omgeving wordt achtergelaten. Sinds de eerste publicatie over het gebruik van eDNA bij Amerikaanse brulkickers in 2008, volgen de ontwikkelingen zich in rap tempo op. Wat is er reeds mogelijk met environmental DNA en wat nog niet? Welke rol kan eDNA spelen bij ecologisch onderzoek en de bescherming van soorten?

Zoet water behoort tot één van de meest bedreigde habitats ter wereld. Desondanks is er vaak weinig kennis voorhanden over wat zich onder de waterspiegel afspeelt. Traditioneel onderzoek naar soortgroepen als vissen, amfibieën en andere watergebonden organismen is veelal gebaseerd op het vangen van soorten. Door hun verborgen levenswijze of zeldzaamheid is een deel van de soorten echter lastig te vangen, waardoor bemonstering tijdrovend is en de resultaten niet altijd even betrouwbaar zijn. In dit artikel beschrijven we een nieuwe methode die hier verandering in kan brengen: environmental DNA.

Hoe werkt het?

De eDNA-methode is gebaseerd op het feit dat alle in het water levende organismen DNA achterlaten via faeces, urine en huidcellen. Dit DNA kan in watermonsters worden aangetoond met behulp van soortspecifieke primers, die voor iedere doelsoort apart ontwikkeld moeten worden. Dit zijn korte stukjes DNA die enkel hechten aan het DNA van de doelsoort. Vervolgens wordt via een Polymerase Chain Reaction (PCR) alleen dát DNA vermenigvuldigd, dat aan de primers gebonden is. Na vermeerdering via de PCR wordt het product aangebracht op een gel, waarop enkel indien er DNA van de doelsoort aanwezig is, een streepje zal verschijnen. Zie voor een uitgebreide beschrijving van de methode en de PCR-reactie: www.environmental-dna.nl. Aanvullend onderzoek heeft aangetoond dat vrij in het water opgelost DNA binnen drie weken afbreekt. Het aantonen van DNA van een soort wijst dus op de recente aanwezigheid ervan (Dejean et al., 2011).

De eerste toepassing

De methode is voor het eerst toegepast bij de Amerikaanse brulkikker (*Lithobates catesbeianus*) (Ficetola et al., 2008); een

gevreese exoot die op de IUCN lijst van 100 ergste invasieve soorten ter wereld staat. Met behulp van eDNA werden brulkickers in Frankrijk in drie wateren waar ze in hoge dichtheid voorkwamen en in drie wateren waar ze in lage dichtheid voorkwamen, aangetoond. Daarnaast zijn er ook drie controlewateren bemonsterd waar geen Amerikaanse brulkickers voorkwamen. Dit is van belang om te testen of de primers soortspecifiek genoeg zijn en niet onbedoeld het DNA van een andere soort vermeerderen. Zoals verwacht scoorden deze controlesamples negatief. In een vervolgstudie werden 49 wateren bemonsterd op de aanwezigheid van Amerikaanse brulkickers met zowel eDNA als met traditionele methoden zoals het op zicht, met een schepnet en op gehoor zoeken naar eitjes, larven en adulte dieren. Met de traditionele methoden werd in 7 van de 49 wateren de aanwezigheid vastgesteld. De resultaten van het eDNA-onderzoek lieten echter zien dat brulkickers in 38 wateren aanwezig waren (Dejean et al., 2012; fig. 1).

Toepassingen in verschillende habitats

Inmiddels is eDNA succesvol ingezet in meer habitats, met name in kleine geïsoleerde wateren, zoals poelen, vennen en

Foto 1. Zelfs in een uitgestrekt moeras, zoals hier in de Rijnstrangen bij Zevenaar, waar met een combinatie van traditionele middelen slechts met moeite een enkele Grote modderkruiper kan worden gevangen, werkt de eDNA-methode (foto: Jelger Herder).

plassen (Ficetola et al., 2008; Thomsen et al., 2012a). Ook in uitgestrekte slootssystemen en moerassen is de methode succesvol ingezet voor onder andere de Grote modderkruiper (*Misgurnus fossilis*; foto 1) (Herder et al., 2012). In Noord-Amerika zijn Grootkopkarpers (*Hypophthalmichthys nobilis*) en Zilverkarpers (*Hypophthalmichthys molitrix*) met eDNA aangetoond in grote kanalen (Jerde et al., 2011). In stromende wateren in de Rocky Mountains is het succesvol ingezet om een kikker en een salamander te detecteren (Goldberg et al., 2011). Recent is eDNA voor het eerst ingezet in zee en zijn in Dene-marken zeevissen in kaart gebracht (Thomsen et al., 2012b). Tot slot blijkt het ook mogelijk eDNA uit bodemonsters te extraheren. Een studie in een dierentuin toonde aan dat met eDNA een groot aantal van de binnen de omheiningen voorkomende soorten aan te tonen was in bodemonsters (Andersen et al., 2012). Hierbij dient wel opgemerkt te worden dat het om grote zoogdieren ging op een onnatuurlijk klein opper-

vlak. In tegenstelling tot het water verspreidt DNA zich nauwelijks over de bodem, waardoor het succes veel meer afhankelijk is van de kans dat het monster precies op de plaats wordt genomen waar een soort aanwezig was. Of eDNA op land inzetbaar zal zijn in natuurlijke situaties, zal nog moeten blijken.

Onderzoek en toepassing in Nederland

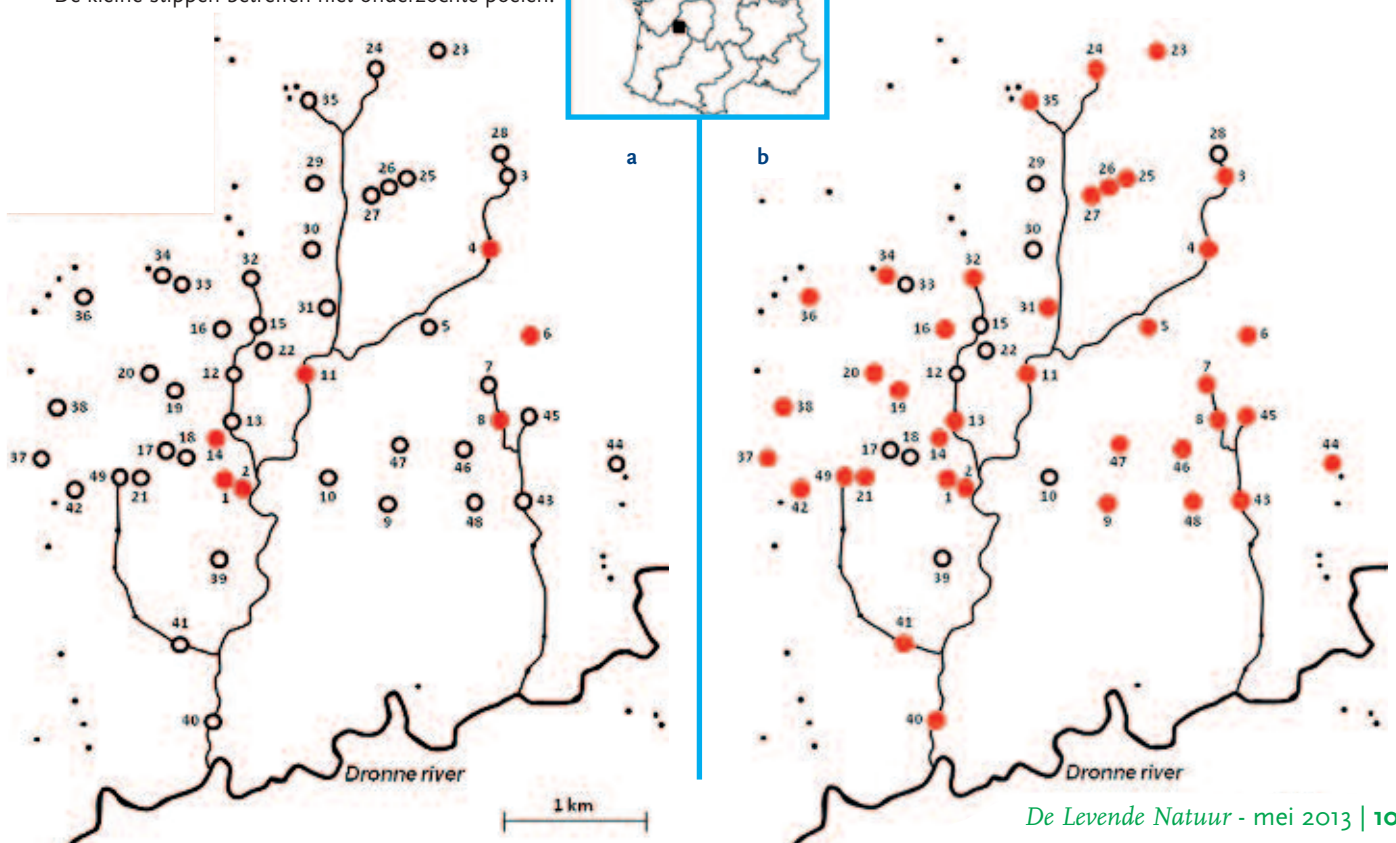
In 2011 is RAVON een samenwerking aangegaan met het Franse SPYGEN, dat is opgericht vanuit de onderzoeksgroep die de methode heeft ontwikkeld. Als onderdeel van het Meetnet Beek- en Poldervissen van het Netwerk Ecologische Monitoring (NEM) is een succesvolle pilot uitgevoerd waarbij de eDNA-methode is getest voor de Grote modderkruiper in Nederland. Dit is een soort die door haar verborgen levenswijze zeer moeilijk in kaart is te brengen. In deze pilotstudie is de Grote modderkruiper op zeven van de acht locaties waar de soort voorkomt, met behulp van eDNA aangetoond. Dit komt neer op een trefkans van 87,5% bij een inspanning van slechts twintig minuten (Herder et al., 2012; foto 2). Op sommige van deze plekken was meer dan

een mandag viswerk nodig om de soort met traditionele methoden (fuij, schepnet en electrovisserij) aan te tonen.

In 2012 zijn er voor meer soorten primers ontwikkeld en pilotstudies uitgevoerd. Zo zijn in samenwerking met De Vlinderstichting pilotstudies uitgevoerd naar de Groene glazenmaker (*Aeshna viridis*) en Gevlekte witsnuitlibel (*Leucorrhinia pectoralis*). Beide soorten blijken goed met eDNA te kunnen worden geïnventariseerd. De Groene glazenmaker werd op zeven van de negen locaties waar de soort voorkwam succesvol aangetoond (trekans = 78%), de Gevlekte witsnuitlibel op 6 van de 8 locaties (trekans = 75%). Opvallend was dat de locaties waar het niet lukte de soort aan te tonen met eDNA, later in het jaar waren bemonsterd. Mogelijk zorgt een verminderde activiteit van de larven in het water voor minder eDNA en daardoor een lagere detectiekans (Herder et al., 2013a). Deze eerste resultaten geven aan dat het mogelijk is libellen buiten hun vliegtijd op basis van eDNA in kaart te brengen. Dit jaar zal onderzocht worden wat de beste tijd is voor het bemonsteren van libellen met eDNA.

Voorts zijn in 2012 in samenwerking met De Zoogdiervereniging primers ontwikkeld en getest voor de Noordse woelmuis (*Microtus oeconomus arenicola*; foto 3) en Waterspitsmuis (*Neomys fodiens*) (Herder et al., 2013b). Hoewel de Noordse woelmuis een landdier is, leeft ze in zeer natte gebieden en zwemt ze zo nu en dan. In deze pilot werd de

Fig. 1. De Amerikaanse brulkikker in Midden-Frankrijk. Bij monitoring met behulp van traditionele methoden, zoals het zoeken van (roepende) volwassen dieren, larven en eitjes, werden in 7 van de 49 onderzochte wateren brulkikkers aangetoond (kaartje links). Met behulp van eDNA werd vastgesteld dat maar liefst 38 van de 49 wateren gekoloniseerd waren door brulkikkers (Dejean et al., 2012). De kleine stippen betreffen niet-onderzochte poelen.



Noordse woelmuis met eDNA op vijf van de tien locaties, waar ze mogelijk voorkwam, aangetoond. Er is echter niet gelijktijdig gevangen, waardoor niet bekend is of er op het moment van monstren Noordse woelmuizen aanwezig waren op de precieze locaties. Hierdoor kan niet worden vastgesteld of, op locaties waar geen DNA van de soort werd aangetroffen, dit kwam omdat de methode niet krachtig genoeg is, of omdat er op dat moment geen Noordse woelmuizen aanwezig waren.

Tegen de verwachting in is het niet gelukt de Waterspitsmuis aan te tonen met eDNA. Deze soort heeft een meer aquatische levenswijze dan de Noordse woelmuis, maar brengt desalniettemin het grootste deel van haar tijd op land door. Uitwerpselen worden waarschijnlijk in latrines op droge plaatsen op de oever gelegd, waardoor er minder DNA in het water terecht komt. Bovendien liggen de dichtheden van Waterspitsmuizen erg laag, vaak een factor tien of meer lager dan van de Noordse woelmuis. Net als bij de Noordse woelmuis is er van de bemonsterde locaties niet bekend of de Waterspitsmuis daadwerkelijk aanwezig was op het moment van monstren. Door komend seizoen gelijktijdig te vangen en met eDNA te bemonsteren zal daar meer inzicht in worden verkregen. De resultaten van het eDNA-werk kunnen dan vergeleken worden met betrouwbare getallen voor aan- of afwezigheid en populatieschattingen, verkregen via traditionele methoden.

Tot slot de Knoflookpad (*Pelobates fuscus*; foto 4), die als bedreigd op de Rode Lijst staat (van Delft et al., 2007). Knoflookpadden zijn door hun verborgen levenswijze – ze zijn 's nachts actief en roepen onder water – moeilijk te inventariseren. In 2012 heeft RAVON in het kader van het NEM Verspreidingsonderzoek Amfibieën in 23 historische leefgebieden van de Knoflookpad met eDNA gekeken of de soort er nog voor kwam. Het ging hierbij om gebieden waarvan aangenomen werd dat de Knoflookpad was uitgestorven, of waaruit slechts een enkele waarneming bekend was, die nooit bevestigd kon worden.



Foto 2. Voor de Grote modderkruiper met zijn verborgen levenswijze is de eerste succesvolle pilotstudie met eDNA in Nederland uitgevoerd (foto: Jelger Herder).



Foto 3. Ondanks dat de Noordse woelmuis voornamelijk op het land leeft, is het gelukt deze met eDNA aan te tonen in het water van de oeverzone (foto: Jelger Herder).



Foto 4. De Knoflookpad werd in 2012 op de kaart gezet met eDNA (foto: Jelger Herder).



In maar liefst zes van deze gebieden werd de Knoflookpad toch nog vastgesteld. In één leefgebied werd de soort in hetzelfde jaar nog gehoord door een vrijwilliger, wat de uitkomst bevestigde. Voor een soort waarvan nog slechts 35 leefgebieden bekend waren in Nederland, zijn de resultaten spectaculair. Deze verspreidingsgegevens vormen de basis voor een betere bescherming van de soort (Herder, 2013).

Dichtheden bepalen

Een wens vanuit de biologische monitoring van soorten en gemeenschappen is het bepalen van dichtheden. Uit eerste studies blijkt dat er een significante relatie is tussen de hoeveelheid DNA in het water en de dichtheid van een soort. Bij experimenten met larven van de Knoflookpad en Kamsalamander (*Triturus cristatus*; foto 5) in aquaria, bleek er een lineair verband te zijn tussen de dichtheid aan larven en de hoeveelheid DNA. In het veld bleek dat in poelen met veel Knoflookpadden het eDNA-signaal sterker was dan in poelen waar met traditionele methoden weinig of geen Knoflookpadden waren gevonden (Thomsen et al., 2012a). Bij een door RAVON uitgevoerde inventarisatie van de Kamsalamander in de omgeving van Tilburg werden verge-

lijkbare resultaten verkregen. Met schepnet en fuiken werden negen poelen bemonsterd, waarbij in twee poelen Kamsalamanderlarven werden aangetroffen. Gelijktijdige bemonstering van dezelfde poelen met eDNA, toonde aan dat in maar liefst vijf poelen Kamsalamander aanwezig was. De twee poelen waar ook met traditionele methoden Kamsalamanders waren aangetoond, gaven een heel sterk eDNA-signaal. De drie poelen waar de Kamsalamander enkel met eDNA werd gevonden, gaven een zwak eDNA-signaal. Resultaten bij de Grote modderkruiper lieten echter een grilliger verloop zien in de sterkte van het eDNA-signaal. Monsters genomen op dezelfde locatie in verschillende perioden verschilden in de sterkte van het eDNA-signaal.

Een factor die van invloed kan zijn op de hoeveelheid DNA is het aantal individuen op de locatie van monsternamen. Dit kan sterk beïnvloed worden door paaimigratie, zomer- en winterclustering. Daarnaast heeft de activiteit van een dier invloed op de hoeveelheid DNA in het water. Tot slot spelen factoren als microbiële activiteit, temperatuur, pH,

conductiviteit en de hoeveelheid organisch materiaal (bindt DNA) een rol bij de afbraak van DNA in het water. Voor het bepalen van betrouwbare dichtheden zal daarom per soort en per watertype meer onderzoek moeten plaatsvinden om relaties te vinden tussen de hoeveelheid DNA en de dichtheid van de soort. Hierbij dient opgemerkt te worden dat ook traditionele methoden

soorten gemist worden. Met één primer een soortenlijst van alle in het water levende organismen produceren is dus niet mogelijk. De enorme output van NGS is een serieuze uitdaging. Eén sequencing-run produceert ongeveer zes miljard codes. Uitgeprint levert dat een stapel A4-papier van 48 kilometer hoog op. Voor het vergelijken van deze data is een enorme rekenkracht nodig en gespeci-



Foto 5. Een belangrijke Habitatrichtlijnsoort, zoals de Kamsalamander, is met behulp van eDNA beter en efficiënter in kaart te brengen (foto: Jelger Herder).

afhankelijk zijn van hun vangstefficiëntie voor de betreffende soort (eveneens in relatie tot watertype en tijd van het jaar).

Bepalen van de volledige soortensamenstelling in een water

Momenteel wordt een tweede toepassing onderzocht waarbij een complete soortenlijst van bepaalde diergroepen uit één watermonster wordt gegenereerd. Hierbij wordt gebruik gemaakt van universele primers die zich niet op één soort richten, maar al het DNA in een watermonster vermenigvuldigen. Vervolgens worden de DNA-codes van alle losse stukjes DNA door middel van Next Generation Sequencing (NGS) uitgelezen en vergeleken met een referentiedatabase van bekende DNA-codes. Hier rolt vervolgens een lijst uit met soorten die in het water voorkomen. Zo is het gelukt complete soortenlijsten te genereren voor vissen en amfibieën. Er is echter een wisselwerking tussen het aantal soorten waarop de primers zich richten en de detectie van zeldzame soorten. Als een primer zich op te veel soorten tegelijk richt, krijgen de algemene soorten de overhand in de reactie waardoor zeldzame

aliseerde software (Coissac et al., 2012). Door de extra stap van het sequencen en vergelijken op de computer liggen de kosten een factor drie hoger dan wanneer er met een primer naar één soort gezocht wordt. Voor dit hogere bedrag wordt wel middels één enkel monster een hele soortenlijst opgeleverd. Dit jaar zal de methode verder getest worden, waarna we verwachten het in 2014 te kunnen aanbieden.

Toekomst

Environmental DNA is van grote betekenis binnen het veldonderzoek naar het voorkomen van aan water gebonden soorten. Door de hoge trefkans en geringe inspanning kan de methode, afhankelijk van de doelsoort, tot een kostenbesparing leiden die kan oplopen tot een factor drie ten opzichte van traditionele onderzoeksmethoden. Voor de Amerikaanse brulkikker is uitgerekend dat eDNA-onderzoek tweeënehalf maal goedkoper is dan traditionele methoden (Michelin et al., 2011). De kostenbesparing hangt met name af van de besparing qua tijd ten opzichte van klassieke veldwerkmethoden. Zo zal de besparing bij Knoflookpad (zeer

intensief veldwerk nodig) groter zijn dan bij de Kamsalamander, waar minder intensief veldwerk volstaat. De uitdaging ligt in het ontwikkelen van goede primers, referentiedatabases waarmee gevonden stukjes DNA aan soorten kunnen worden gekoppeld en de opslag en verwerking van de enorme hoeveelheid gegevens die door middel van NGS worden verkregen (kader 1).

Naar verwachting wordt het mogelijk dichtheden te bepalen en hele aan water gebonden soortgroepen zorgvuldig in kaart te brengen. Dit betekent dat soorten en levensgemeenschappen nog beter gevolgd kunnen worden. Hierbij kan bijvoorbeeld gedacht worden aan het monitoren van habitatrichtlijnsoorten in Natura2000-gebieden of het evalueren van natuurontwikkelingsprojecten en beheeringrepen. De methode is vooral veelbelovend voor diersoorten die aan water gebonden zijn; op het land is de kans DNA-sporen te vinden voorsnóg te klein.

Literatuur

Andersen, K., K.L. Bird, M. Rasmussen, J. Haile, H. Breuning-Madsen, K.H. Kjaer, L. Orlando, M.T.P. Gilbert & E. Willerslev, 2012. Meta-barco-



Foto 6. eDNA-bemonstering voor Groene glazenmaker en Gevlekte witsnuitlibel (foto: Jelger Herder).

doi:10.1371/journal.pone.0023398

Dejean, T., A. Valentini, C. Miquel, P. Taberlet, E. Bellemain & C. Miaud, 2012. Improved detection of an alien invasive species through environmental DNA barcoding: the example of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus*. *Journal of Applied Ecology* 49(4): 953-959.

Delft, J.J.C.W. van, R.C.M. Creemers & A.M. Spitzen-van der Sluijs, 2007. Basisrapport Rode Lijst Amfibieën en Reptielen volgens Nederlandse en IUCN-criteria. Stichting RAVON, Nijmegen.

Ficetola, G., C. Miaud, F. Pompanon & P. Taberlet, 2008. Species detection using environmental DNA from water samples. *Biological Letters* 4: 423-425.

Goldberg, C.S., D.S. Pilliod, R.S. Arkle & L.P. Waits, 2011. Molecular detection of vertebrates in stream water: a demonstration using rocky mountain tailed frogs and Idaho giant salamanders. *PloS ONE* 6 (7) e22746.

Herder, J.E., 2013. Environmental DNA zet de knoflookpad terug op de kaart. *Schubben en Slijm* 15, Stichting RAVON.

ding of 'dirt' DNA from soil reflects vertebrate biodiversity. *Molecular Ecology* 21: 1966-1979.

Coissac, E., T. Riaz & N. Puillandre, 2012. Bioinformatic challenges for DNA metabarcoding of plants and animals. *Molecular ecology* 21: 1834-1847.

Darling, J.A. & A.R. Mahon, 2011. From molecules to management: adopting DNA-based methods for monitoring biological invasions in aquatic environments. *Environmental Research*. 111(7): 978-988. DOI:10.1016/j.envres.2011.02.001

Dejean, T., A. Valentini, A. Duparc, S. Pellier-Cuit, F. Pompanon, P. Taberlet & C. Miaud, 2011.

Persistence of environmental DNA in freshwater ecosystems. *PLoS ONE* 6(8): e23398.

Kader 1. Valkuilen en tips

Geen enkele methode is feilloos, zo ook eDNA niet. Allereerst is er het risico op het verkrijgen van valse positieven. Dit kan door onnauwkeurig werken in het veld of in het lab, waarbij monsters besmet worden met DNA uit andere monsters of veldmaterialen.

Een tweede mogelijkheid is dat de ontworpen primers niet soortspecifiek zijn en er onbedoeld DNA van een andere soort vermeerderd wordt. Dat zou tot de onterechte conclusie kunnen leiden dat de doelsoort aanwezig is. Tot slot zou DNA in het water terecht kunnen komen door verplaatsing via andere organismen zoals de poten van eenden of uitwerpselen van reigers. De hoeveelheid en kwaliteit van DNA dat op deze manier verplaatst wordt is echter laag, waardoor de kans op

een dergelijke valse detectie zeer klein wordt geacht.

Ook kan het zijn dat de doelsoort wel in het water aanwezig is, maar niet wordt aangetoond. Hieraan kunnen verschillende oorzaken ten grondslag liggen. Watermonsters kunnen niet dicht genoeg bij een doelsoort in de buurt verzameld zijn, waardoor het DNA simpelweg gemist is. Ook kan er in de verkeerde periode gemonsterd worden, wanneer soorten inactief zijn en weinig DNA achterlaten. Tot slot bestaat de mogelijkheid dat er wel DNA in de monsters zit, maar het niet lukt dit te extraheren en/of te vermeerderen in de PCR-reactie. Onervarenheid met het werken met gefragmenteerd DNA en/of slechte primers kunnen hier de oorzaak van zijn (Darling & Mahon, 2011).

Om genoemde risico's te onderwerpen is uiterst zorgvuldig wer-

ken tijdens de bemonstering en analyse cruciaal. RAVON en SPYGEN werken dan ook volgens strikte veld- en laboratoriumprotocollen. De veldwerkers betrokken bij dit onderzoek, zijn experts op het gebied van de doelsoorten. Hun kennis is van belang om bij de monsternamen een zo goed mogelijk resultaat te behalen. De microhabitat kan namelijk van invloed zijn op de hoeveelheid DNA die aanwezig is (foto 6). Een ander cruciaal aspect is het onderwerpen van nieuwe primers aan een grondige pilotstudie. Allereerst worden de primers ontwikkeld en 'in silico' (op de computer) getest op andere bekende sequenties uit de eigen referentiedatabase en online databanken zoals Genbank. Vervolgens worden de primers 'in vitro' (in het lab) getest op DNA uit weefsel van de doelsoort en verwante

soorten. Tot slot worden de primers in het veld getest, waarbij gekozen wordt voor locaties waar de doelsoort in hoge en lage dichtheid voorkomt, om zo de trefkans te bepalen. Ter controle worden locaties waar de doelsoort niet voorkomt in het onderzoek betrokken, om zo de soortspecificiteit van de primers te controleren. Verschillende studies gebruiken verschillende monstereethoden, labprotocollen en primers, waarvan sommige deels gepubliceerd zijn maar andere niet. Het is daarom niet mogelijk zonder meer te refereren naar resultaten of trefkansen uit reeds gepubliceerde studies, wanneer er op een andere manier gewerkt wordt. Ga voor meer informatie over environmental DNA en voor welke soorten er reeds primers beschikbaar zijn naar www.environmental-dna.nl

Herder, J.E., A. Valentini & J. Kranenborg, 2012. Detectie van grote modderkruipers met behulp van environmental DNA. *H2O* 3: 25-27.

Herder, J.E., T. Termaat & A. Valentini, 2013a. Environmental DNA als inventarisatiemethode voor libellen. *Vlinders* nr 28(2). In press.

Herder, J.E., D. Bekker, R. Koelman & E. Bellemain, 2013b. Op zoek naar de noordse woelmuis en waterspitsmuis met environmental DNA. *Zoogdier* nr (23)2. In press.

Jerde, C.L., A.R. Mahon, W.L. Chadderton & D.M. Lodge, 2011. "Sight-unseen" detection of rare aquatic species using environmental DNA. *Conservation Letters* 4: 150-157.

Michelin, G., X. Heckly, X. & B. Rigaux, 2011. Rapport d'étude – ADN Environnemental, Détection de l'Espèce Exotique Envahissante Grenouille Taureau. DREAL, CDPNE, CRCentre, Spygen.

Thomsen, P.F., J. Kielgast, L.L. Iversen, C. Wiuf, M. Rasmussen, M.T.P. Gilbert, L. Orlando & E. Willerslev, 2012a. Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Molecular Ecology* 21: 2565-2573.

Thomsen, P.F., J. Kielgast, L.L. Iversen, P.R. Møller, M. Rasmussen & E. Willerslev, 2012b. Detec-

tion of a diverse marine fish fauna using Environmental DNA from seawater samples. *PLoS ONE* 7(8): e41732. doi:10.1371/journal.pone.0041732

Summary

The use of environmental DNA (eDNA) to monitor biodiversity.

Analyses of Environmental DNA is a new approach for monitoring biodiversity. The method is based on the limited persistence of the DNA left behind by species in their environment. This environmental DNA (eDNA) can be detected in water samples, thereby indicating or confirming a species' presence. In this article we present an overview of the various habitats where eDNA has been successfully used for species detection. We show the results of pilot studies carried out in the Netherlands on the freshwater fish *Misgurnus fossilis*, dragonflies *Aeshna viridis* and *Leucorrhinia pectoralis* and the mammals *Neomys fodiens* and *Microtus oeconomus*. We focus on case studies in which eDNA has been used to monitor endangered species. Furthermore, we describe DNA metabarcoding by which a list of species is generated from an environmental sample.

Finally, we take a look into the future by suggesting areas where more research is needed. We think that this new tool can give an enormous boost to data collection both in monitoring and biodiversity studies, thereby contributing to the conservation of species.

J.E. Herder MSc
Stichting RAVON
Postbus 1413, 6501 BK Nijmegen
j.herder@ravon.nl

Drs. J.J.C.W. van Delft
Stichting RAVON
Postbus 1413, 6501 BK Nijmegen
j.v.delft@ravon.nl

Dr. E. Bellemain
SPYGEN
Savoie Technolac - BP 274
Le Bourget-du-Lac, Frankrijk
eva.bellemain@spygen.com

Dr. A. Valentini
SPYGEN
Savoie Technolac - BP 274
Le Bourget-du-Lac, Frankrijk
alice.valentini@spygen.com

Maatwerk met visie

- inventarisatie en onderzoek
- visie- en planvorming
- inrichtings- en beheerplannen
- monitoring en evaluatie
- toetsing aan natuurwetgeving



Bureau Waardenburg bv
Adviseurs voor ecologie & milieu

Postbus 365 4100 AJ Culemborg
Telefoon 0345 51 27 10, Fax 0345 51 98 49
E-mail info@buwa.nl www.buwa.nl

gecertificeerd ISO 9001, lid NL ingenieurs, lid Netwerk Groene Bureaus