

Bronherkenning voor Friese muskusratten op basis van ruimtelijke genetica

Beknopte rapportage van een genetische kaart van muskusratten in noord-Nederland en bronherkenning voor een eerste serie Friese monsters

Arjen de Groot, Margreet Laar en Edgar van der Grift

Wageningen Environmental Research (WENR)

11 Maart 2022



uit: Factsheet LIFE MICA (2019)

Achtergrond

LIFE MICA

EU LIFE-project MICA (<https://lifemica.eu>) richt zich op de optimalisatie van beheersmaatregelen voor twee invasieve soorten, de muskusrat en de beverrat, in Vlaanderen, Duitsland (Niedersachsen) en Nederland (Friesland, Noord-Holland, Drenthe, Groningen, Gelderland). Doel is het terugbrengen van de populatieomvang van deze twee soorten tot een beheersbaar niveau waarbij schade aan waterwegen en ecosystemen wordt voorkomen. Onderdeel van dit project zijn pilots met een aantal innovatieve technieken, waaronder naast detectie van muskusratten via cameravallen en eDNA watermonsters, een registratie-dashboard en slimme vallen met minder risico op bijvangst, ook de inzet van bronherkenning voor muskusratten op basis van ruimtelijke genetische patronen "DNA mapping". Deze rapportage heeft betrekking op dit laatste onderdeel, dat door MICA-consortiumpartner Unie van Waterschappen is uitbesteed aan het Laboratorium voor Ecologische Genetica van WENR.

Oorsprong van muskusratten in Friesland

Als 'case study' voor een genetische bronherkenning van muskusratten werd de bestrijdingsregio Friesland gekozen. In deze regio is de afgelopen jaren de populatie muskusratten sterk teruggedrongen, en is de ambitie de muskusrat geheel uit te roeien. Dit vergt echter een zo gericht mogelijke inzet van de beschikbare vangmiddelen, waarvoor het belangrijk is om te weten waar die dieren die nu nog opduiken vandaan komen. Een belangrijke vraag daarbij is in welke mate sprake is van immigratie vanuit omliggende gebieden, of reproductie vanuit Friese individuen die over het hoofd zijn gezien. Dat bepaalt of primair moet worden ingezet op vangst langs de provinciegrens, of dat de vangcapaciteit meer gelijkmatig moet worden verdeeld over de hele regio. Indien sprake is van immigratie, is het relevant om te weten uit welke brongebieden, en langs welke routes deze dieren de provincie binnenkomen. Indien een groot aandeel van de dieren langs een en dezelfde route binnenkomt, heeft deze locatie prioriteit voor vangsten.

Genetische bronherkenning in twee fasen

DNA-analyse kan helpen om de oorsprong van muskusratten te bepalen. Daartoe wordt een muskusrat genetisch gekarakteriseerd, oftewel er wordt een uniek individueel genetisch 'profiel' bepaald, dat vervolgens wordt vergeleken met een referentiecollectie van profielen van muskusratten uit diverse mogelijke brongebieden. Op die manier kan worden gekeken bij welke populatie het DNA van deze muskusrat het beste aansluit. Deze populatie kan dan als de meest waarschijnlijke bron worden gezien, onder de aanname dat alle mogelijke bronnen in de referentiecollectie waren opgenomen en dat zij genetisch gezien voldoende van elkaar verschillen (kortom, er moeten voldoende ruimtelijke verschillen in genetische samenstelling aanwezig zijn). Toepassing van deze methode vereist dus een referentiecollectie met een goede ruimtelijke dekking in het hele gebied van waaruit muskusratten naar Friesland zouden kunnen zijn gekomen. Zo'n collectie wordt ook wel een genetische kaart genoemd. Het pilot onderzoek voor Friesland is opgedeeld in twee fasen. Fase 1 is gericht op het ontwikkelen van deze genetische kaart, en het uitvoeren van een bronherkenning met deze kaart op een selectie van muskusratten gevangen in Friesland in de periode februari 2020 tot februari 2021. De huidige rapportage heeft betrekking op de resultaten van deze eerste fase, die recent zijn gedeeld met de projectgroep van muskusratbestrijders. Op basis van deze resultaten zal de prioritering van vangstlocaties worden bijgesteld.

In februari 2022 startte vervolgens fase 2 van de pilot, waarbij een jaar lang DNA wordt verzameld van alle nu nog in Friesland gevangen muskusratten. Het genetische profiel van deze individuen wordt vervolgens weer langs de genetische kaart gelegd, om opnieuw te bepalen wat de belangrijkste brongebieden zijn. Zo kan waar nodig de vangstrategie nog weer verder worden bijgesteld.

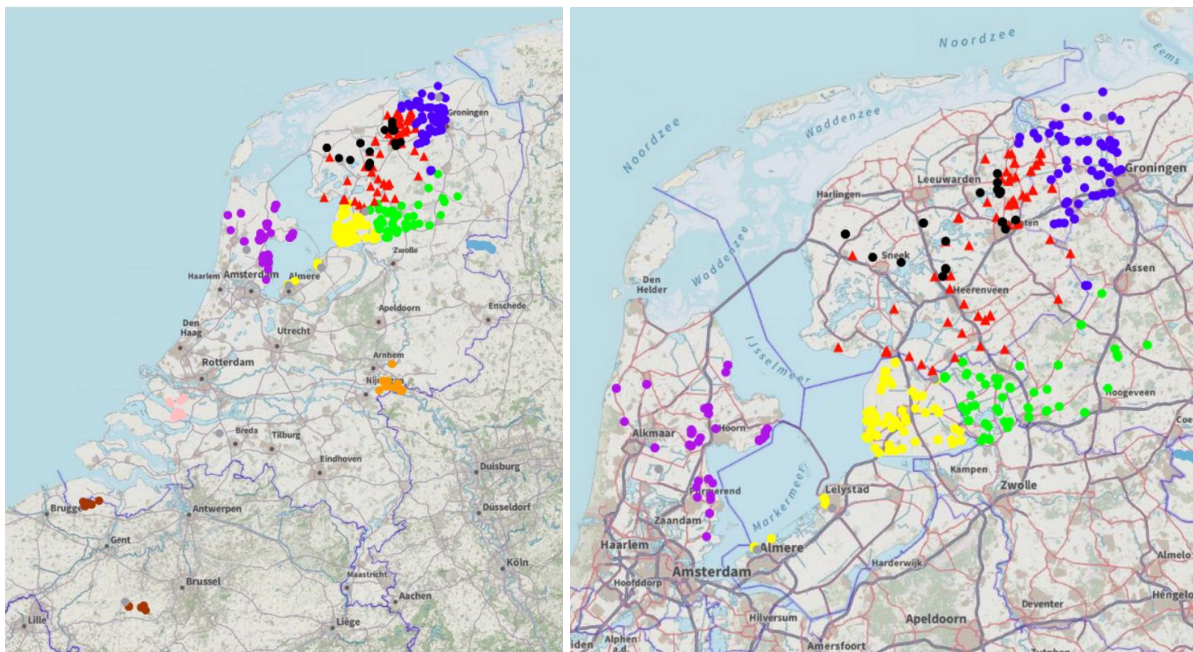
Methode

Monsterverzameling

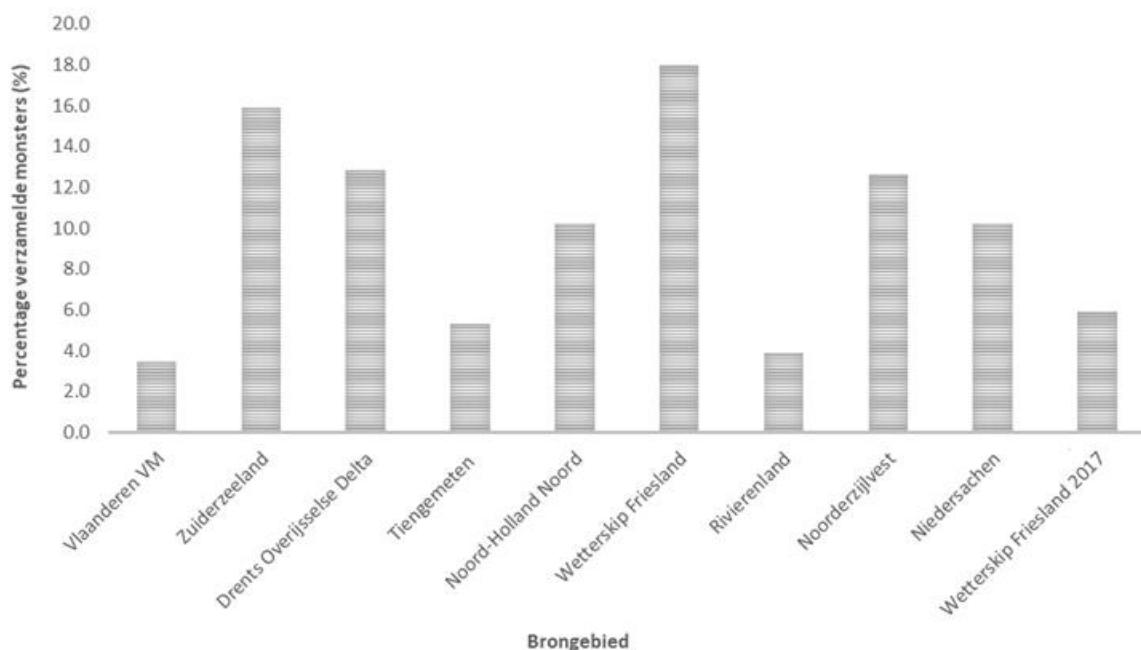
In de periode februari 2020 tot februari 2021 zijn in totaal 490 monsters verzameld en toegestuurd aan WENR. De meerderheid van deze monsters kwam uit de mogelijke brongebieden rond Friesland. Aangeduid middels de naam van de bestrijdingsregio's betreft dit van noordoost naar zuidwest: Noorderzijlvest, Drents-Overijsselse Delta, Zuiderzeeland en Noord-Holland. In deze gebieden is gestreefd naar een zo gelijkmatig mogelijke ruimtelijke spreiding van de monsternamen, door in zoveel mogelijk verschillende uurhokken (5x5km) te bemonsteren, en per uurhok te streven naar bemonstering van 1 volwassen man, 1 volwassen vrouw en 1 juveniel (man of vrouw). Uiteindelijk is hierdoor een behoorlijk goede ruimtelijke spreiding verkregen (zie Figuur 1). Gaten in de ruimtelijke dekking zijn te verklaren doordat in deze gebieden überhaupt weinig muskusratten aanwezig zijn (met name noordwest-Drenthe (Drents-Friese Wold). De referentiecollectie is aangevuld met monsters die enkele jaren eerder (2017) zijn genomen in Friesland. Daarnaast zijn in 2021 ook monsters verzameld in enkele regio's buiten noord-Nederland, met als doel de totale variatie in de basis-collectie van brongebieden op waarde te kunnen schatten. Dit betrof monsters uit Rivierenland, Tiengemetten, Vlaanderen en

Niedersachsen. Tot slot zijn in 2021 binnen Friesland zoveel mogelijk gevangen muskusratten bemonsterd, met als doel de bron van deze individuen vast te stellen.

Alle monsternames zijn uitgevoerd middels een vast vooraf afgestemd protocol, waarbij ook relevante metadata zoals locatie, datum, geslacht en leeftijd zijn genoteerd. Hieronder is in Figuur 1 de ruimtelijke verspreiding van alle bemonsterde individuen weergegeven. De gebruikte kleuren per deelgebied zullen in de rest van de rapportage worden gehanteerd. Figuur 2 geeft de verdeling van monsteraantallen over de verschillende deelgebieden weer.



Figuur 1: Ruimtelijke spreiding van de verkregen monsters in het totale studiegebied van project LIFE MICA (links) en in de bemonsterde brongebieden in noord-Nederland (rechts). **Zwart** = Friesland historisch (2017), **Rood** = Friesland recent (2020-2021), **Blauw** = Noorderzijlvest, **Groen** = Drents-Overijsselse Delta, **Geel** = Zuiderzeeland, **Paars** = Noord-Holland, **Oranje** = Rivierenland, **Roze** = Tiengemeten, **Bruin** = Vlaanderen (BE), **Lichtblauw** = Niedersachsen (DL).



Figuur 2 Procentuele verdeling van monsters (n=490) over de deelgebieden.

Genetische analyse

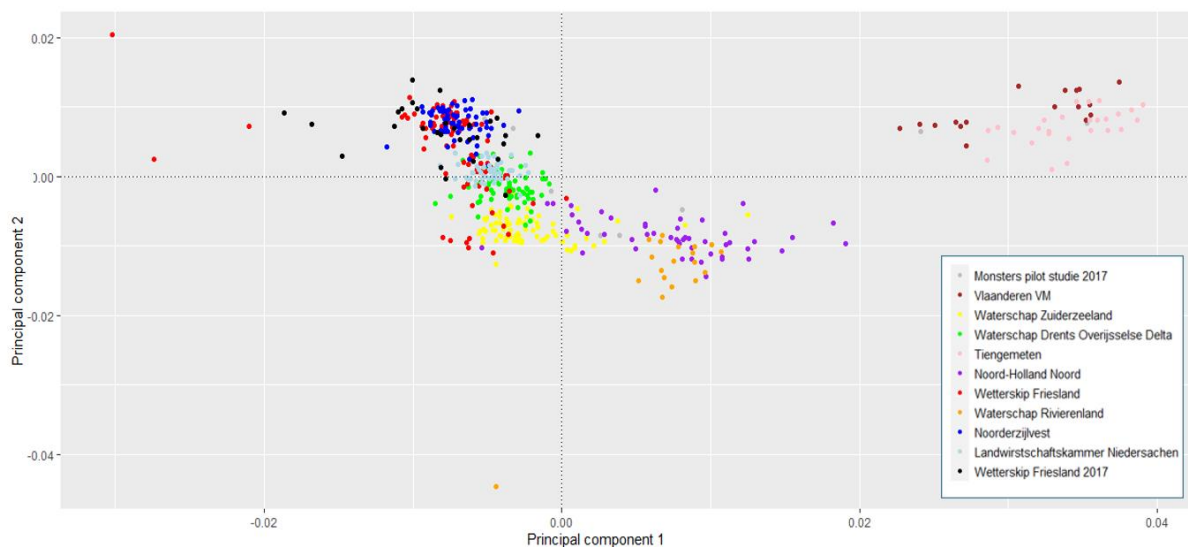
Van alle verkregen monsters is DNA geëxtraheerd middels een standaardprotocol op basis van de commercieel verkrijgbare NucleoSpin 96 Tissue extractiekit (Machery-Nagel BV). Vervolgens is per monster een genetisch profiel vastgesteld op basis van zogenaamde SNP genotyping (zie ook: De Groot & Bos 2018). Hierbij is per individu gekeken naar duizenden plekken verspreid over het muskusrat-genoom waar telkens 1 specifieke letter in de DNA-code kan variëren tussen individuen (een zogenaamd "single nucleotide polymorphism", oftewel SNP). Het vaststellen van de code op elk van deze variabele SNP-locaties vindt plaats via zogenaamde high-throughput sequencing en is uitbesteed aan een gespecialiseerde samenwerkingspartner (AllGenetics, A Coruna, Spanje).

Uiteindelijk is op deze wijze een dataset verkregen die per individuele muskusrat bestaat uit in totaal 10845 SNP-locaties. Al deze variabele plekken samen vormen een profiel dat voor elke individuele muskusrat uniek is. Door WENR zijn vervolgens deze profielen van alle 490 muskusratten met elkaar vergeleken. Daarbij is middels meerdere technieken (PCA en Bayesiaanse cluster-analyse) nagegaan welke individuen meer en minder met elkaar verwant zijn, in hoeverre dieren die relatief dicht bij elkaar zijn bemonsterd ook genetisch sterker op elkaar lijken, en in hoeverre dieren uit verschillende brongebieden genetisch duidelijk van elkaar te onderscheiden zijn.

Resultaten

Genetische structuur op landelijk niveau

In Figuur 3 zijn de genetische verschillen van alle individuen uit de totale dataset vergeleken middels PCA-analyse. Daarbij geldt dat elke stip in de PCA-figuur een individu weergeeft. Hoe dichter twee stippen bij elkaar staan, hoe sterker de genetische profielen van deze individuen op elkaar lijken. Ofwel, hoe verder de stippen uit elkaar staan, hoe sterker ze verschillen van elkaar. In de figuur is duidelijk zichtbaar dat de dataset uiteenvalt in twee groepen, waarbij de muskusratten uit Tiengemeten en Vlaanderen samen clusteren, maar duidelijk afwijken van de overige populaties uit Nederland en Duitsland. Opvallend is daarnaast dat de individuen uit Niedersachsen juist sterk samen clusteren met de overige Nederlandse populaties. Een waarschijnlijke verklaring voor deze patronen is dat muskusratten in Tiengemeten en Vlaanderen dezelfde achtergrond delen, terwijl de muskusratten in midden- en noord-Nederland waarschijnlijk een Duitse achtergrond kennen.



Figuur 3 Genetische overeenkomsten dan wel verschillen tussen alle bemonsterde populaties.

Genetische structuur rond Friesland

Figuur 4 geeft het resultaat van een zelfde type PCA-analyse, maar dan voor slechts de individuen uit noord-Nederland, oftewel uit Friesland en de omliggende potentiële brongebieden. Doordat de meest afwijkende individuen uit het zuiden nu ontbreken, worden de patronen binnen noord-Nederland verder uit elkaar getrokken en daarmee beter zichtbaar. Opvallend is daarbij dat een duidelijk ruimtelijk patroon zichtbaar is: de vier brongebieden rond Friesland vormen elk duidelijk een eigen genetische cluster, die elkaar aan de randen raken. Wanneer we meer in detail zouden kijken naar de monsterlocaties van de individuen per brongebied, valt op dat de dieren die in de PCA nabij dieren uit een ander brongebied gelegen zijn, ook daadwerkelijk in het grensgebied tussen deze twee brongebieden zijn bemonsterd. In sommige gevallen is enige overlap zichtbaar. Zo zijn twee individuen zichtbaar die bemonsterd zijn in Zuiderzeeland (gele stippen), maar die in genetisch opzicht clusteren te midden van de individuen uit Noord-Holland (paars). Dit betreft twee dieren gevangen te Lelystad die hoogstwaarschijnlijk afkomstig zijn uit Noord-Holland en mogelijk de Houtribdijk hebben gevolgd.

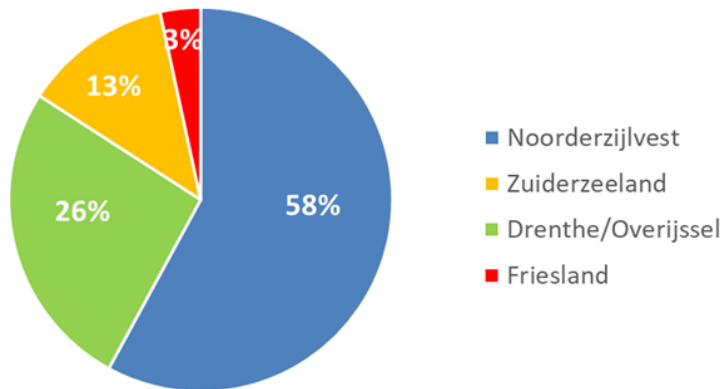


Figuur 4: Genetische verschillen tussen alle bemonsterde individuen in Friesland en de omliggende (potentiële) brongebieden.

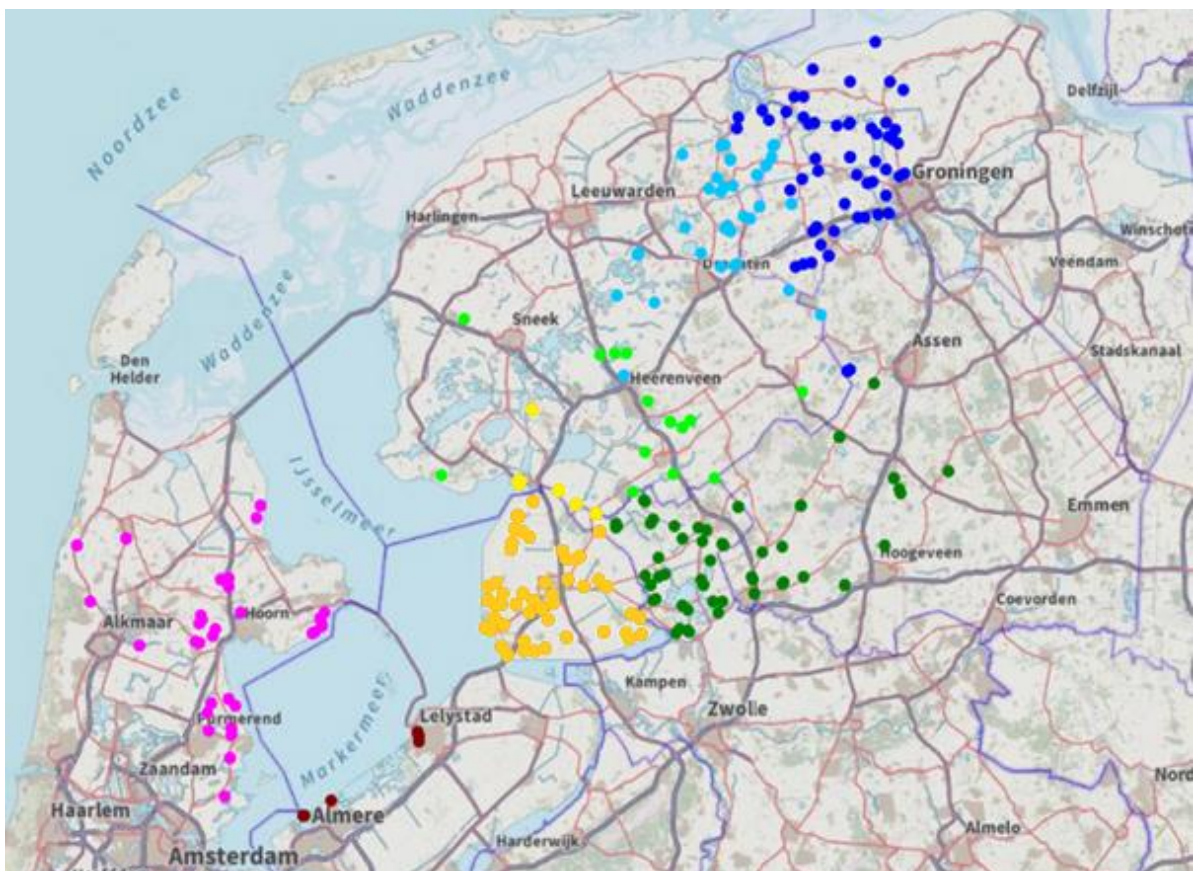
Brongebieden van Friese muskusratten

Op een vergelijkbare manier kunnen we de genetische verschillen zoals zichtbaar in de PCA-figuur ook gebruiken om de origine van de Friese muskusratten te duiden. In Figuur 4 valt op dat deze individuen (in rood) niet duidelijk 1 aparte groep vormen, maar grotendeels clusteren met Zuiderzeeland, Drenthe-Overijssel en Noorderzijlvest. Voor de meeste individuen geldt dan ook dat een origine uit een van deze populaties het meest waarschijnlijk is. Geen van de dieren laat een duidelijke verwantschap met muskusratten uit Noord-Holland zien. Wel zien we drie individuen die afwijken van de overige muskusratten (rechts in de figuur). Deze zelfde individuen zijn ook zichtbaar in figuur 3 (daar aan de linkerkant) en komen genetisch het meest overeen met de individuen bemonsterd in Friesland in 2017. Dit leidt tot het vermoeden dat hier waarschijnlijk sprake is van nakomelingen van de oorspronkelijke Friese muskusrattenpopulatie.

Op basis van deze analyse kunnen we de in 2020-2021 in Friesland bemonsterde muskusratten indelen naar meest waarschijnlijke genetische oorsprong (Figuur 5). Duidelijk is dat ruim de helft van de dieren een genetische achtergrond heeft die overeenkomt met Noorderzijlvest. Dit lijkt dus veruit de belangrijkste aanvoerroute van muskusratten naar Friesland te zijn. Daarnaast komen echter ook dieren binnen vanuit Zuiderzeeland en Drenthe/Overijssel. Wanneer we de waarschijnlijke origine per muskusrat op kaart weergeven op basis van de plaats waar ze zijn gevangen, zien we dat de meeste dieren afkomstig zijn van de meest nabij gelegen populatie: muskusratten in noord- en oost-Friesland kennen een achtergrond in Noorderzijlvest, etcetera. Muskusratten in het midden van de provincie hebben een achtergrond uit Noorderzijlvest, of in enkele gevallen Drenthe/Overijssel. Opvallend zijn twee individuen, bemonsterd in het westen van de provincie, die afkomstig lijken uit Drenthe/Overijssel.



Figuur 5: Toewijzing van in Friesland bemonsterde muskusratten aan verschillende brongebieden.

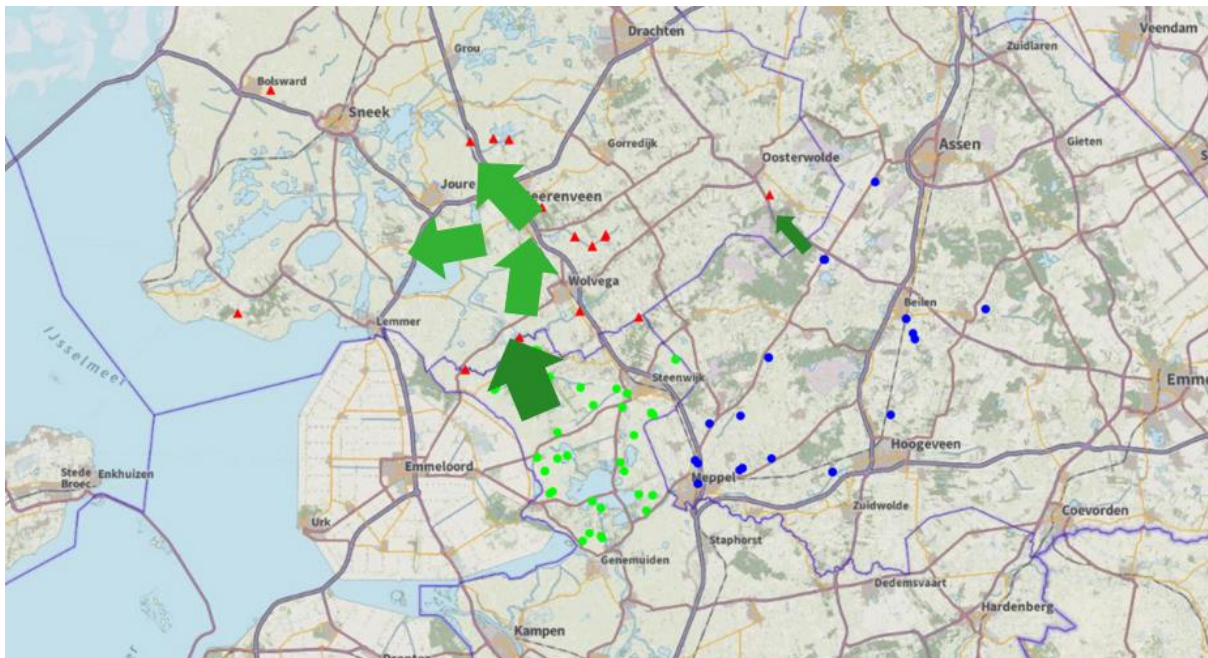


Figuur 6: Toewijzing naar meest waarschijnlijke origine weergegeven op kaart, op basis van plaats waar de muskusratten zijn gevangen en bemonsterd. De referentiemonsters uit de gebieden rond Friesland zijn met donkere kleuren weergegeven. De Friese individuen zijn ingekleurd met een lichtere kleurvariant van de meest waarschijnlijke bronpopulatie.

Detail-patronen per brongebied

Zoomen we in op de patronen binnen de twee voornaamste brongebieden, dan kunnen we nog iets exacter zijn over de voornaamste migratieroutes.

Binnen de bestrijdingsregio Drents-Overijsselse Delta is een duidelijk ruimtelijk patroon te zien, waarbij dieren uit Drenthe relatief sterk aan elkaar verwant zijn en dieren uit Overijssel ook onderling relatief sterk verwant zijn. Er zijn dus duidelijk twee genetische groepen te herkennen. Vrijwel alle Friese individuen die qua origine aan dit brongebied zijn toegewezen, zijn meest verwant aan de muskusratten uit Overijssel. De voornaamste aanvoeroute lijkt dan ook te lopen via de noordpunt van Overijssel (Weerribben), waar een sterke verbinding met Friesland ligt via de waterwegen Ossenzijlsesloot en Linde. Slechts 1 Fries individu is verwant met muskusratten uit Drenthe, wat te verklaren is doordat hier veel minder waterwegen de grens over lopen. De voornaamste waterweg (Drentse Hoofdvaart) loopt parallel aan de grens van Assen naar Meppel. Een van de weinige dwarsverbindingen richting Friesland loopt langs Appelscha via de Oosterlandse Compagnonsvaart, en dit is dan ook de locatie waar de enige muskusrat van Drentse origine is aangetroffen. In Figuur 7 zijn de veronderstelde immigratieroutes schematisch aangegeven met donkergroene pijlen.



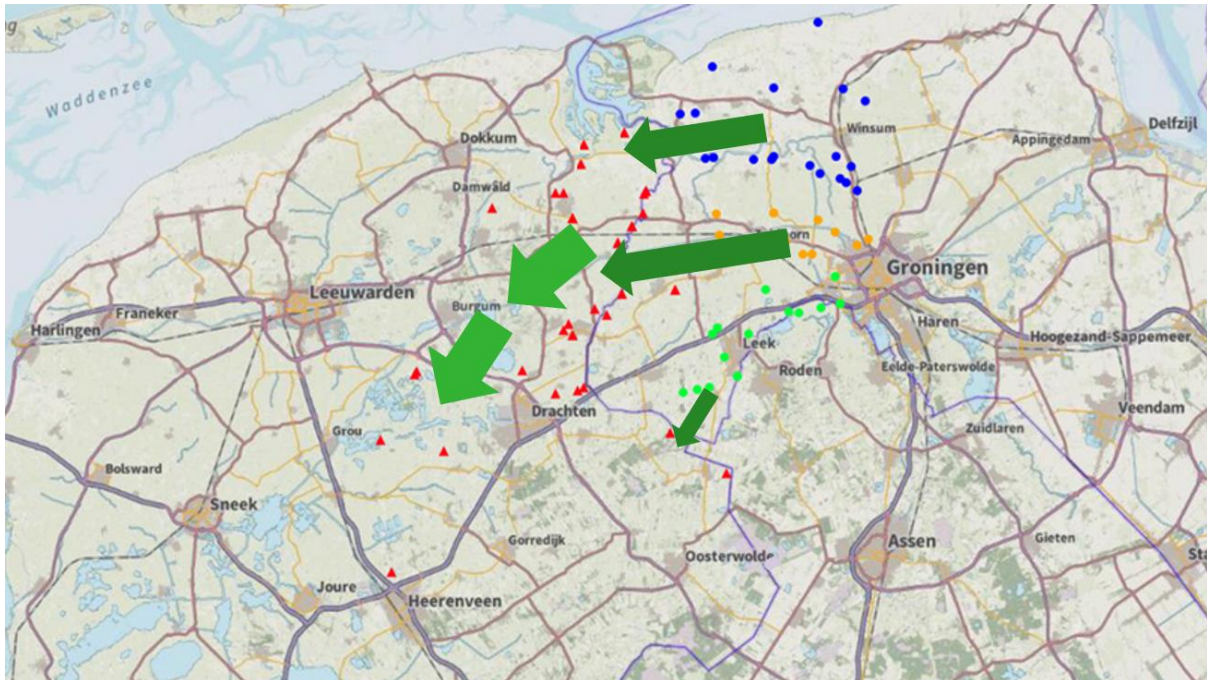
Figuur 7: Voornaamste immigratieroute vanuit Drenthe en Overijssel. Let op: afwijkende kleuren, waarbij muskusratten uit Drenthe en uit Overijssel een aparte kleur hebben gekregen en genetisch duidelijk van elkaar te onderscheiden zijn.

Binnen de muskusratten gevangen in Noorderzijlvest bleek minder ruimtelijke structuur aanwezig. Wanneer we deze individuen in drie groepen verdeelden (noord, midden, zuid; zie Figuur 8), bleek dat deze groepen genetisch geheel met elkaar vermengd zijn. Binnen deze regio lijkt dus relatief sterk sprake van regelmatige genetische uitwisseling. Dit is te verklaren middels het sterk ontwikkelde netwerk van waterwegen rond en ten westen van de stad Groningen. Dit maakt het lastig om Friese individuen meer exact aan een bepaald deel van dit brongebied toe te wijzen. Er zijn twee belangrijke aanvoerroutes denkbaar, via respectievelijk het Reitdiep in het noorden en Prinses Margrietkanaal iets verder naar het zuiden. Een drietal individuen ten zuidwesten van Leek wijkt genetisch iets af, en clustert samen met een enkele muskusrat gevangen in Friesland, op een nabij gelegen locatie (Bakkeveen). Hier lijkt dus incidentele immigratie plaats te vinden. In Figuur 8 zijn de veronderstelde routes vanuit Noorderzijlvest schematisch weergegeven met donkergroene pijlen.

Zoomen we verder in op de Friese individuen, dan valt op dat de dieren die het dichtst bij de grens zijn bemonsterd de sterkste verwantschap kennen met het brongebied, en dat deze verwantschap geleidelijk minder wordt voor individuen verder richting het midden van Friesland. Dit wijst erop dat niet alle in Friesland waargenomen individuen rechtstreekse immigranten uit Groningen, Drenthe of Overijssel zijn,

maar dat sprake is van stapsgewijze migratie naar midden-Friesland over enkele generaties. Dit houdt in dat in het oosten en zuiden van Friesland dus nog wel enige reproductie optreedt waarbij de resulterende nakomelingen nog dieper de provincie binnentrekken. In Figuur 7 en 8 is dit met lichtgroene pijlen schematisch geïllustreerd.

Friese individuen die genetisch verwant zijn aan muskusratten uit bestrijdingsregio Zuiderzeeland, zijn meest verwant aan individuen uit de Noordoostpolder. Ook hier is een exactere bronbepaling niet mogelijk omdat binnen de Noordoostpolder sprake lijkt van veel genetische uitwisseling.

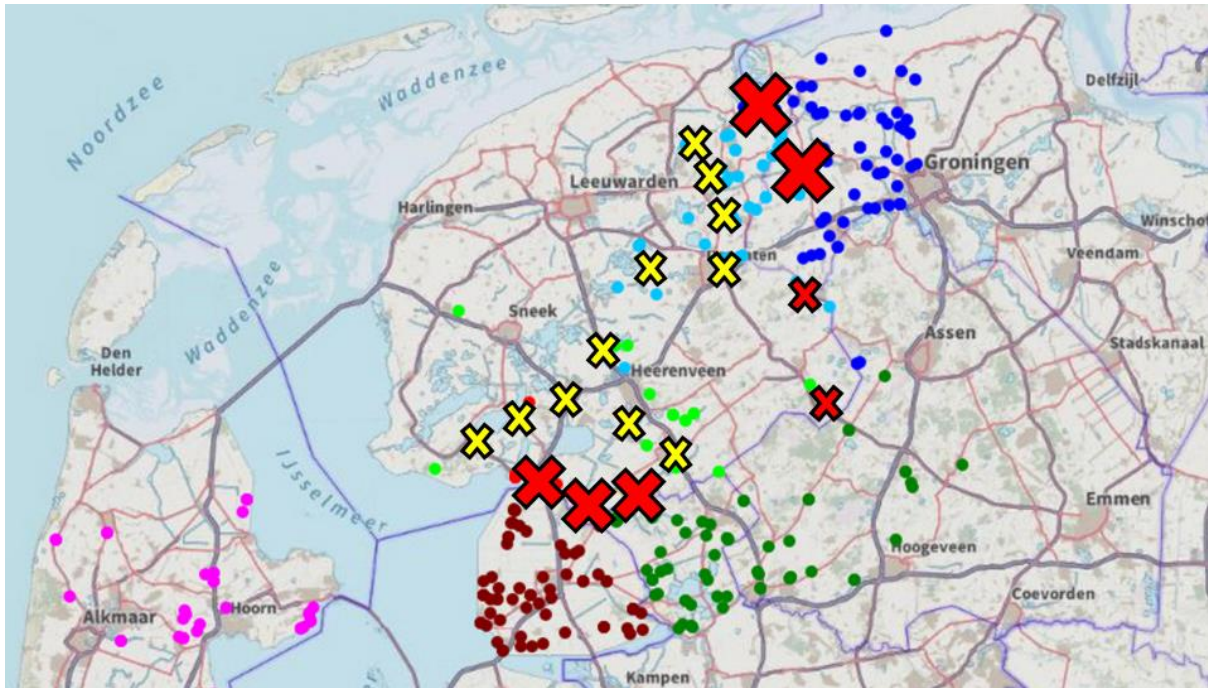


Figuur 8: Voornaamste immigratieroutes vanuit Groningen (regio Noorderzijlvest). Let op: afwijkende kleuren, waarbij de muskusratten in Noorderzijlvest zijn opgesplitst in drie deelgebieden (noord, midden, zuid), die echter genetisch niet van elkaar te onderscheiden zijn.

Aanbevelingen voor prioritering van beschikbare vangmiddelen in Friesland

Op basis van de hierboven beschreven bevindingen lijkt het zinvol om de beschikbare vangcapaciteit als volgt te verdelen:

- 1) Primaire focus op de grensgebieden, met name het noordelijke deel van de grens met Groningen (ten noorden van Drachten) en in het zuiden aan de grens met Overijssel en de Noordoostpolder. De waterwegen Reitdiep, Prinses Margrietkanaal en Ossenzijlersloot zijn logische migratieroutes. (grote rode kruizen in figuur 9).
- 2) Gerichte vangst op enkele specifieke plekken in zuidoost-Friesland, waar slechts enkele kleinere waterwegen de grens over lopen die incidenteel gebruikt lijken te worden. (kleine rode kruizen in figuur 9).
- 3) Daarnaast een gebiedsdekkende vangst in de rest van Friesland, met nadruk op het oosten en zuiden van de provincie, om incidentele lokale reproductie in te perken. (gele kruizen in figuur 9).



Figuur 9: aanbevelingen voor prioritering van vangmiddelen.

Vervolg in 2022-2023

In de periode februari 2022 tot februari 2023 zal een tweede groep muskusratten in Friesland worden bemonsterd, waarvan de genetische samenstelling opnieuw zal worden vergeleken met de nu beschikbare referentiecollectie uit de omliggende gebieden.

Gezien het naar verwachting relatief kleine aantal vangsten, en de wens om een representatief beeld te krijgen van de invloed van verschillende brongebieden, bevelen we aan om in deze periode alle gevangen muskusratten te bemonsteren, ongeacht exacte locatie, geslacht en leeftijd.

Referentie

De Groot, G.A. en D. Bos. 2018. Pilot genetische analyse van verspreidingspatronen bij muskusratten. Notitie Wageningen Environmental Research.