

Kennisgroep-Doc3: Uitleg grootte en inzet van de eDNA steekproeven

Grootte van de eDNA steekproef

In deze bijlage wordt in het kort uiteengezet wat de berekening is geweest om te komen tot het juiste aantal monsters voor betrouwbare en informatieve eDNA steekproeven zoals die gebruikt zullen gaan worden in de eDNA aanpak.

Omdat de grootte van een steekproef afhankelijk is van het aantal muskusratten dat in een sub-gebied aanwezig is zijn er 2 typen eDNA steekproeven ontworpen:

1. Steekproef voor een Leeg sub-gebied
2. Steekproef voor een Niet-Leeg sub-gebied (= Middelvul + Vol)

ad 1. eDNA steekproef verwacht Leeg sub-gebied (bv in Friesland)

- Uitgangspunt is de Friesland *bovengrens* van een *Leeg* sub-gebied:
 - o 250 vangsten in 30.000 km.
 - o Bij gemiddeld 2,5 muskusratten per locatie, is die grens dus 100 positieve locaties per 30.000 km.
 - o Oftewel 100 positieve locaties per 6.000 (= 30.000/5) 5-km trajecten.
 - o De kans om een positieve locatie aan te treffen is 100 locaties/6.000 5-km trajecten is dan:
P = 1,7%.
- De grootte van steekproef wordt berekend met
 - o Een statistische poweranalyse gebaseerd op een binominale distributie, waarbij je met 80% zekerheid in staat bent om minstens 1 eDNA positief 5-km traject (= een eDNA positieve locatie met minimaal 1 actieve bouw) te vinden, indien er, met 1,7% kans een actieve bouw aanwezig is ergens in een sub-gebied.
Deze 80% grens is een algemeen aanvaard niveau in de statistiek;
- De uitkomst is **een steekproef van 80** 5-km trajecten per sub-gebied.
(<https://homepage.divms.uiowa.edu/~mbognar/applets/bin.html>)
Dit komt neer op ~24% van elk sub-gebied van ~2.000 km (= ~400 5-km trajecten).

ad 2. eDNA steekproef verwacht Niet-Leeg sub-gebied (bv in Noord-Holland)

- Uitgangspunt is de helft van het aantal monsters (5-km trajecten) uit steekproef 1, dus **40 5-km trajecten**;
- Hiermee kan minstens één positieve locatie worden bepaald met een kans van **P = 3,3%**:
80 positieve locaties/2.400 5-km trajecten;
- Bij gemiddeld 2,5 muskusratten per locatie, is dat dus 200 muskusratten per 12.000 km;
- Deze steekproef komt neer op ~16% van elk sub-gebied van ~1.500 km (= ~300 5-km trajecten).

NB: Hoewel wellicht contra-intuïtief, doet het er bij deze eDNA steekproeven niet toe hoe groot het te bevragen sub-gebied is. Het aantal monsters in de steekproef zal per sub-gebied altijd even groot zijn omdat het gebaseerd is op een kans van voorkomen en de kans is onafhankelijk van de grootte van een gebied.

Grootte steekproef	# positieve 5-km trajecten	% positieve trajecten	Bino-minale kans	Lage range mogelijke muskusrat druk*	Hoge range mogelijke muskusrat druk*	Laag # muskus-rat [§]	Hoog # muskus-rat [§]	Typering sub-gebied
Hoog								
40	> 6	>13%	0,1%	8,1 - 25%	x	>1.215	>3.750	vol
	2 - 6	4,2 - 13%	48%	1,4 - 12%	6,6% - 22%	210	3.300	Middelvol
	0 - 1	0 - 2,1%	52%	0 - 5%	0,2% - 8,8%	0	1.320	Leeg?
Laag								
80 (40 + 40)	0	0%	20%	0 - 2,7%	x	0	405	Leeg
	1 - 2	1,0 - 2,1%	58%	0,1 - 4,5%	0,7% - 6,1%	15	915	Leeg
	3 - 12	3,1 - 13%	22%	1,3 - 7,6%	8,0% - 19%	195	2.850	Middelvol
	> 12	>13%	0%	8,8 - 20%	x	>1.320	>3.000	Vol

* Statistische range uitgaande van het aantal positieve 5-km trajecten in de eDNA steekproef

§ Voorbeeld Friesland, 1% = 0.01 x 6.000 5-km traject x 2,5 muskusrat/traject (bouw) = 150 muskusratten

Inzet eDNA steekproeven

Om eDNA steekproeven zo (kosten-)efficiënt mogelijk in te zetten, worden deze uitgevoerd in 2 opeenvolgende deelsteekproeven van elk 40 eDNA monsters. Afhankelijk van de uitkomst van de Hoog deelsteekproef is een aanvullende deelsteekproef noodzakelijk.

Zoals te zien in de Tabel, is het met een steekproef van 40 onmogelijk om een sub-gebied "Leeg" te verklaren wanneer er 0 of 1 eDNA positieve monsters worden aangetroffen in de steekproef.

Voor het definitief "Leeg" typeren van een sub-gebied is een steekproef van minimaal 80 monsters nodig.

Door een tweede, aanvullende steekproef uit te voeren van 40 monsters in een deelgebied dat in eerste instantie een uitkomst had van 0 of 1 positieve 5-km traject, is het mogelijk om tot een steekproef van 80 monsters te komen en op die manier mogelijk wel een gebied als "Leeg" te kunnen typeren.

Geografische informatie

Bij de statistische benadering van de steekproeven is ervan uitgegaan dat de positieve muskusratlocaties *random* verdeeld over sub-gebieden aanwezig zijn. Dat is uiteraard niet de werkelijke toestand. Het is voorspelbaar dat binnen sub-gebieden er weer sub-sub-gebieden zullen zijn die veel of juist weinig muskusratten bevatten ten opzichte van het gemiddelde van een sub-gebied. Dit zou ertoe kunnen leiden dat in sommige sub-sub-gebieden er te veel zal gaan worden gespeurd, terwijl in andere sub-sub-gebieden te weinig. In beide gevallen is dat onwenselijk. Dit kan worden opgelost door sub-gebieden in het geval van **niet-uniforme** verdeling van positieve 5-km steekproef monsters onder te verdelen in sub-sub-gebieden en voor ieder sub-sub-gebied weer een goede steekproef te ontwerpen. Op deze manier "zoom" je steeds verder in op specifiekere gebieden met hoge muskusrat aanwezigheid en voorkom je onnodig speuren in gebieden met lage muskusrat aanwezigheid. Hieronder volgen een aantal voorbeelden van het gebruik van sub-sub gebieden als gevolg van geografische non-random verdeling van positieve 5-km steekproef monsters:

Situatie A

Observatie: Alle of een groot deel van de positieve 5-km trajecten (>3) ligt in één helft van een sub-gebied.

Oplossing: Deel het sub-gebied in 2 gelijke delen en voeg voor het hoge deel 20 nieuwe steekproef monsters toe en voor het lage deel 60 nieuwe watermonsters. Met de nieuwe steekproeven van 40 en respectievelijk 80 kan voor ieder sub-sub-gebied een definitieve typering worden vastgesteld.

Wanneer in eerste instantie 4 positieve 5-km trajecten zijn gevonden, en na opdeling 8 respectievelijk 0, dan is de “besparing” via het niet-te-hoeven-bemonsteren lage sub-sub-gebied: $400/2 = 200$, minus steekproef 80 = 120 5-km trajecten, $120/400 = 30\%$ besparing voor het hele sub-gebied.

Situatie B

Observatie: Alle of een groot deel van de positieve 5-km trajecten (>3) ligt in klein deel (20%) van een sub-gebied.

Oplossing: Deel het sub-gebied in 2 delen op basis van de positieve 5-km trajecten en voeg voor het hoge deel $40 - (40 \times 20\%) = 32$ nieuwe steekproef monsters toe en voor het lage deel $80 - 32 = 48$ nieuwe watermonsters. Met de nieuwe steekproeven van 40 en respectievelijk 80 kan voor ieder sub-sub-gebied een definitieve typering worden vastgesteld.

Wanneer in eerste instantie 5 positieve 5-km trajecten zijn gevonden, en na opdeling 6 respectievelijk 0, dan is de “besparing” via het lage sub-sub-gebied $400 \times 20\% = 320$, minus steekproef 80 = 240 5-km trajecten, $240/400 = 60\%$ besparing voor het hele sub-gebied.

Situatie etc...

Op deze manier zijn er veel situaties mogelijk, ook door b.v. verbinding met aangrenzende gebieden, etc. Het is wel belangrijk dat **in alle gevallen** er een **statistisch verantwoorde steekproef** wordt gebruikt!

Ook is het evident dat de bestrijders met hun kennis over de gebieden een belangrijke rol spelen in deze aanpak, omdat zij “logische” sub-sub-gebied in sub-gebieden zullen herkennen