



eDNA Steekproef

Trajecten voor eDNA Steekproef bemonstering

Om een eDNA steekproef te kunnen uitvoeren wordt een beheersgebied opgedeeld in sub-gebieden, waarna er een klein aantal testbemonsteringen worden uitgevoerd om de muskusrataanwezigheid in een sub-gebied objectief te kunnen bepalen. Met een GIS-programma wordt in de computer gestart met het definiëren van eDNA bemonsteringstrajecten. Deze voorsteltrajecten voor bemonstering zijn tussen de 3 en 5 km lang. Voor waterwegen die 15 meter of breder zijn wordt aan beide oevers een traject ingetekend.

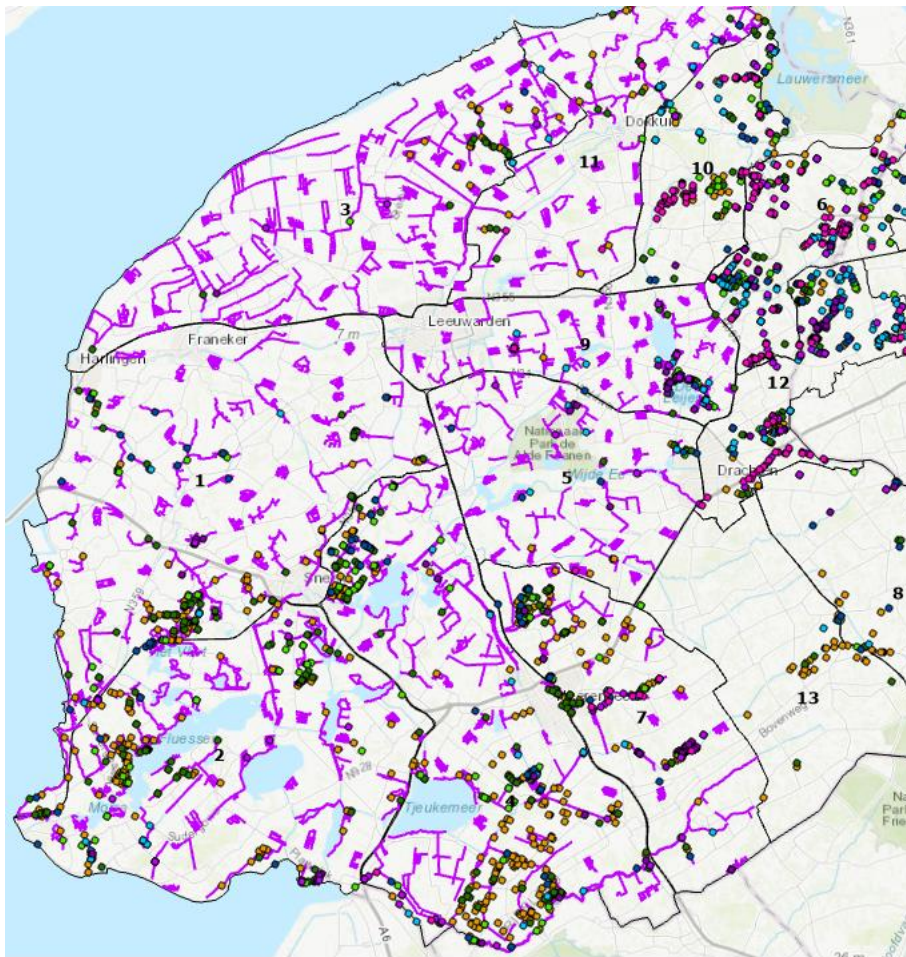
Bij het intekenen van de trajecten worden altijd waterwegen meegenomen waar in het verleden vangsten zijn geweest (Figuur 1). Hoever er teruggegaan wordt in de vangstgegevens hangt af van het aantal vangsten in de voorgaande jaren. Voor sub-gebieden waar al jaren heel lage/geen vangsten zijn geweest kan teruggegaan worden naar jaren waar er nog een redelijk aantal vangsten waren. Voor sub-gebieden waar recenter vangst is geweest is 3 jaar terug veelal voldoende. Naast de waterwegen waar vangsten zijn geweest worden ook waterwegen meegenomen waar geen vangsten waren, zodat er een gelijkmatige verdeling van trajecten over het sub-gebied is.

Verschillende types waterwegen worden meegenomen in de eDNA steekproef. Kavelsloten zijn over het algemeen de meest voorkomende waterwegen in een sub-gebied. Deze zullen lopend of met de quad worden bemonsterd. Trajecten die met de boot/kano bemonsterd kunnen worden komen dus het minst voor. Het precieze percentage zal per sub-gebied gaan verschillen vanwege de aard van het sub-gebied, maar ook gebaseerd in wat voor soort waterwegen er in het verleden de meeste vangsten waren. Als er bijvoorbeeld in het verleden voornamelijk op vaarwegen gevangen was, zullen er in verhouding meer van deze trajecten ingetekend worden. Echter in deze situatie wordt er altijd voor gezorgd dat er ook kavelsloten meegenomen worden, zodat er een goede spreiding over het sub-gebied blijft bestaan. De schatting is dat over het algemeen 20% van de trajecten gevaren kan worden, 30% met de quad en 50% lopend bemonsterd moeten worden.

Bij het intekenen van de bemonsteringstrajecten wordt er voor de vaartrajecten altijd rekening gehouden met het waterpeil. Voor trajecten die met de quad of lopend worden bemonsterd, wordt geprobeerd de meest logische route aan te houden, en wordt soms over peilgebieden heengegaan, omdat of ze heel klein zijn, of omdat er op de kaart barrières zijn te zien die het in het veld volgen van de waterpeilen lastig maken.

De op de kaart weergegeven situatie kan verschillend van de werkelijke situatie in het veld. Daarom zijn de trajecten, voorsteltrajecten waarvan mag worden afgeweken. De situatie in het veld is namelijk leidend. Als bijvoorbeeld een (deel) kavelslot traject op een bepaald moment niet te bemonsteren is dan mag dit traject aangepast worden, of er mag als het grootste deel van het traject niet te bemonsteren is, een geheel nieuw traject in hetzelfde sub-gebied bemonsterd worden. De monstercode en autosampler code kunnen in de eDNA app aan het oude traject gelinkt worden, met eventueel in het veld "opmerking" de aantekening dat ervan afgeweken is. De autosampler houdt precies het afgelegde traject bij, zodat als er opgevolgd moet worden, dit aan de hand van de logfile van de autosampler kan gebeuren.

Voor de eDNA steekproef worden er, afhankelijk van de initiële classificering van de sub-gebieden in het sub-gebied (beschreven in Richtlijn inrichten drie klassen sub-gebieden), 40 of 80 eDNA bemonstering trajecten ingetekend. Voor Grens en Binnenland sub-gebieden 40 eDNA trajecten en voor Historisch Leeg sub-gebieden 80 eDNA trajecten.



Figuur 1.

Deels met eDNA trajecten ingetekende kaart van het beheergebied van Wetterskip Fryslân. De stippen zijn de vangsten in de periode 2015-2022.

Globale uitleg eDNA Steekproef muskusrat monitoring

Bij het opzetten van de eDNA steekproeven wordt er uitgegaan van 3 klassen sub-gebieden:

1. Grens.
2. Binnenland
3. Historisch Leeg

De omvang van de sub-gebieden maakt voor grootte van de eDNA Steekproef in principe niet uit. Om met een eDNA steekproef te bepalen of een sub-gebied "Leeg" is, zullen altijd 80 eDNA trajecten bemonsterd moeten worden. Voor "Vol" en "Middelvol" kunnen 40 5-km eDNA trajecten worden bemonsterd. Dit is met een statistische berekening bepaald. Om praktische redenen wordt er echter wel rekening gehouden met een minimale en maximale grootte van een sub-gebied. Een sub-gebied moet namelijk niet zo klein zijn dat er met 80 monsters vlakdekkend bemonsterd wordt. De maximale

grote van een sub-gebied wordt bepaald door de geografische ligging en de inschatting van de populatie gebaseerd op vangsten in voorgaande jaren. Dit houdt in dat Historisch-leeg sub-gebieden meestal groter zijn dan Binnenland en Grens sub-gebieden. Het definiëren van de sub-gebieden gaat altijd in overleg met de muskusratbestrijders/teamleider. De classificatie van de sub-gebieden zal over de tijd waarschijnlijk veranderen, naarmate de muskusrat populatie in Nederland daalt. Alleen voor de sub-gebieden die grenzen aan Duitsland wordt verwacht dat er weinig verandering plaats zal vinden in de classificatie van de sub-gebieden gezien de beperkte bestrijdingsinzet in Duitsland. In Vlaanderen wordt wel professioneel bestreden, en hier kunnen de Grens sub-gebieden mogelijk wel van classificatie gaan veranderen, Momenteel heeft het meest westelijk gedeelte van Vlaanderen aan de Grens met Zeeland ook nog een hoge populatie muskusratten.

Grens sub-gebieden

Grens sub-gebieden zijn sub-gebieden die ofwel grenzen aan de landsgrens, of aan een ander gebied binnen Nederland met een hoge populatie. Een Grens sub-gebied *kan* op het moment van bemonsteren een hoger aantal vangsten te hebben in de afgelopen paar jaar. Voor deze sub-gebieden is voornamelijk de geografische ligging en de muskusrat populatie van de sub-gebieden waar het aan grenst, doorslaggevend bij het bepalen van de sub-gebiedsgrootte (Figuur 2).

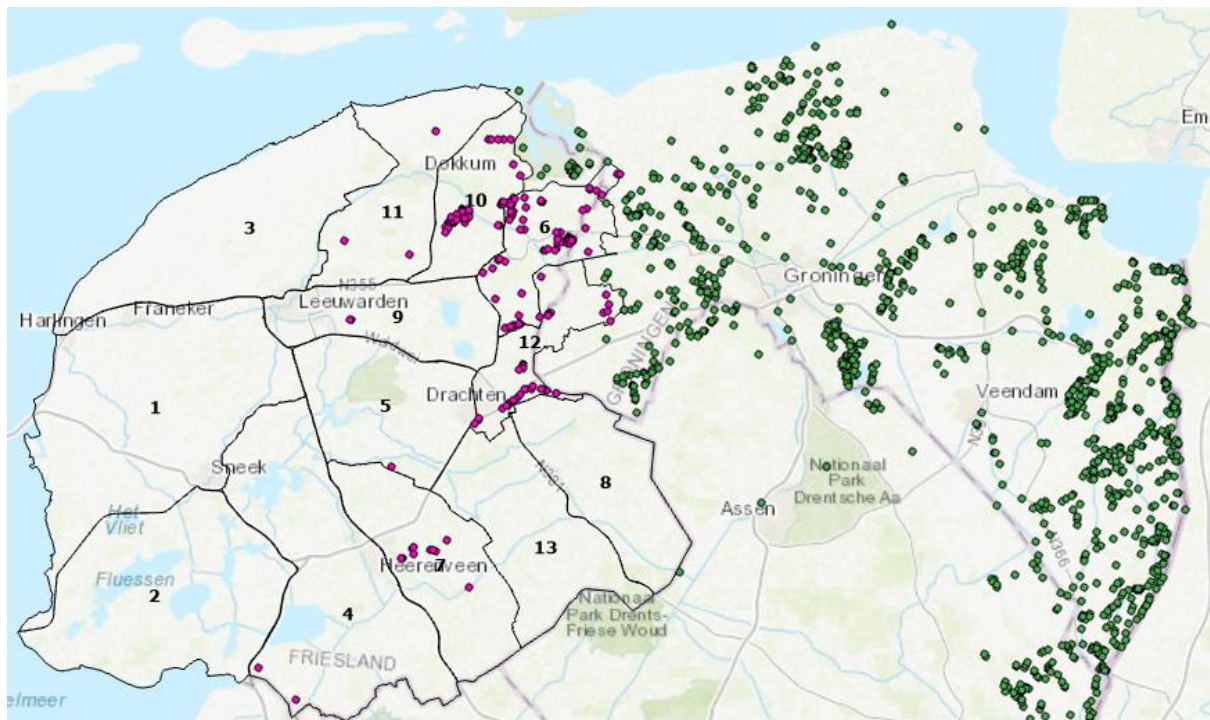
Omdat het risico van herkolonisatie in deze sub-gebieden groter is, worden voor de eDNA Steekproef deze sub-gebieden kleiner gehouden. Dit heeft te maken met de opvolging die volgt uit de eDNA Steekproef. Deze opvolging wordt in het stuk Richtlijn interpretatie steekproef nader uitgelegd. Voor deze sub-gebieden wordt de eDNA Steekproef elk jaar begonnen met 40 5-km trajecten. Bepaalde hoofdmigratie vaarten kunnen in overleg met de bestrijders 2x per jaar bemonsterd worden.

Mocht uit de eDNA Steekproef met 40 5-km trajecten blijken dat het sub-gebied mogelijk “Leeg” is, dan worden er nog eens 40 5-km trajecten bemonsterd om Leeg te bevestigen. In Tabel 1 is het gemiddelde percentage van het totaal aantal mogelijke trajecten per soort sub-gebied aangegeven. Grens sub-gebieden worden jaarlijks bemonsterd, en de belangrijkste migratie routes kunnen zo nodig 2x per jaar bemonsterd worden.

Historisch-leeg sub-gebieden

Een sub-gebied wordt als Historisch-Leeg gedefinieerd als er de afgelopen 3 jaar zeer weinig of geen vangsten waren en waarbij de bestrijders ook aangeven dat ze verwachten dat er geen of zeer weinig muskusratten meer aanwezig zijn. Deze sub-gebieden grenzen aan andere sub-gebieden waar er in de afgelopen jaren ook geen of weinig vangsten waren. In een sub-gebied dat als Historisch Leeg geclassificeerd kan worden, worden er direct 80 5-km eDNA trajecten bemonsterd, om (Historisch-) Leeg met een eDNA Steekproef te bevestigen.

In Figuur 2 is te zien dat de 4 sub-gebieden die als Historisch-Leeg aangeduid zijn niet alleen geen of heel lage vangsten hebben, maar ook grenzen aan sub-gebieden waar geen hoge aantallen vangsten worden gedaan. Sub-gebieden die als Historisch-Leeg aangeduid kunnen worden, worden daarom groter gemaakt dan sub-gebieden die nog vangsten hadden de afgelopen jaren (Binnenland sub-gebieden), of die grenzen aan sub-gebieden met nog hoge vangsten (Grens sub-gebieden). Sub-gebieden die als Historisch-Leeg aangeduid zijn zouden na bevestiging van Leeg met eDNA 1x per 3-5 jaar bemonsterd kunnen worden middels een eDNA Steekproef, omdat er hier geen restpopulatie is, en omdat vanwege de ligging herkolonisatie niet op korte termijn te verwachten is.



Figuur 2. Voorbeeld informatie bij eDNA Steekproef.

Met nummers zijn de sub-gebieden van beheersgebied Wetterskip Fryslân (WF) aangegeven:

- 1, 2, 3 en 4 zijn Historisch Leeg sub-gebieden. Deze hebben geen of zeer lage vangsten en grenzen niet aan sub-gebieden met hoge vangst.
- 5, 7, 8, 9, 11 en 13 zijn Binnenland sub-gebieden. Deze vormen een soort buffer tussen de Historisch Leeg sub-gebieden en de Grens sub-gebieden
- 6, 10 en 12 zijn Grens sub-gebieden

Met punten zijn de 2022 vangsten aangegeven in WF (roze) en Noord-Oost-Nederland (NON)

Binnenland sub-gebieden

Binnenland sub-gebieden zijn sub-gebieden die niet direct grenzen aan sub-gebieden met een hoge populatie, en waarde laatste jaren nog een beperkt aantal vangsten zijn geweest. Binnenland sub-gebieden vormen veelal een bufferzone tussen de Historisch-leeg en de Grens sub-gebieden. Er wordt begonnen met bemonsteren van 40 5-km trajecten, of als er volgens de bestrijder(s) sterke indicaties zijn van zeer kleine of geen populatie, direct naar 80 5-km trajecten. Binnenland sub-gebieden worden jaarlijks bemonsterd.

Sub-gebied	Waterweg	aantal trajecten			Vangsten			
	Geschat km	Geschat totaal # trajecten	% bij 40 monsters	% bij 80 monsters	2020	2021	2022	Gem.
1	5.121	1.219	nvt	7	8	5	0	4,3
2	4.142	986	nvt	8	14	14	0	9,3
3	3.499	833	nvt	10	3	3	0	2,0
4	4.384	1.044	nvt	8	16	22	2	13
5	2.371	564	7	14	10	3	1	4,6
7	2.151	512	8	16	41	33	22	32
8	1.833	436	9	18	5	2	0	0,7
9	1.738	414	10	19	23	14	3	13
11	2.114	503	8	16	1	7	3	3,6
13	2.144	510	8	16	0	0	0	0,0
6	1.315	313	13	26	70	34	184	96
10	1.287	306	13	26	23	14	108	48
12	1.078	257	16	31	71	38	80	63

Tabel 1. Eigenschappen sub-gebieden

- Historisch leeg (groen)
- Binnenland (blauw)
- Grens (rood)

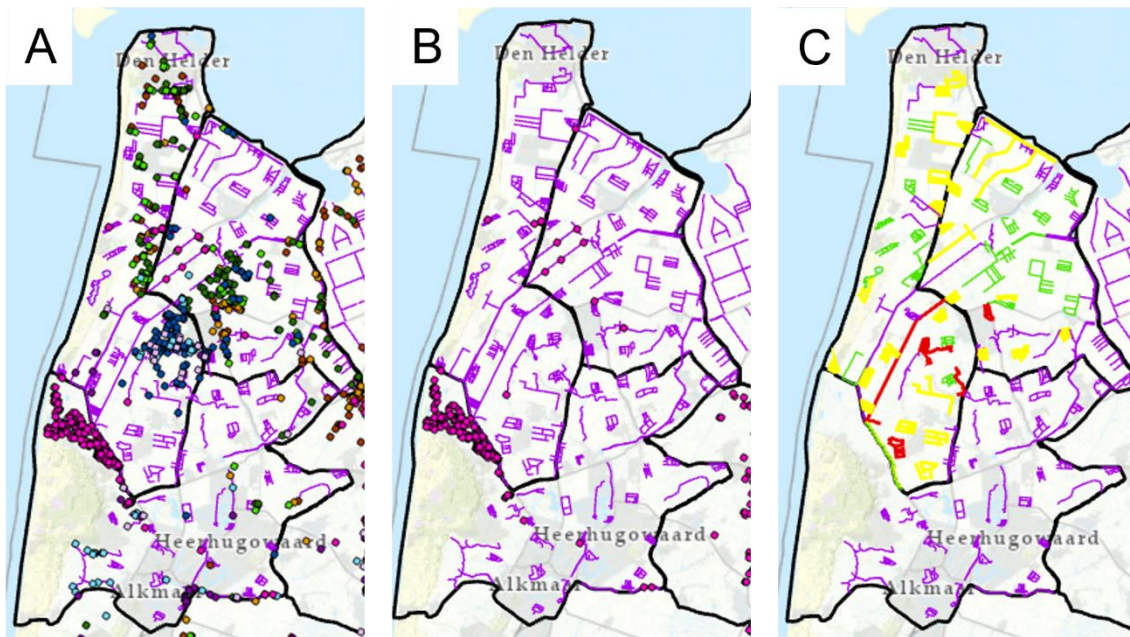
De classificering van de sub-gebieden (Figuur 1) wordt deels gebaseerd op het aantal vangsten dat er in de afgelopen 3 jaar gedaan zijn.

Sub-gebied 13 had de afgelopen 3 jaar geen vangsten, maar grenst aan sub-gebied 12, waar wel nog een redelijk aantal vangsten waren, en is daarom een Binnenland sub-gebied i.p.v. een Historisch Leeg sub-gebied

Interpretatie eDNA Steekproef voor muskusrat monitoring

Typering Vol

Wanneer van de 40 monsters in een sub-gebied er meer dan 6 trajecten eDNA+ of eDNA+/- zijn, dan wordt het sub-gebied geclassificeerd als Vol. Een typering Vol betekent dat dit sub-gebied niet verder met eDNA bemonsterd wordt (geen aanvulling tot 80 monsters), en geen opvolging met eDNA lokalisatie trajecten. In Figuur 3 zijn twee voorbeelden gegeven van Vol sub-gebieden. Zelfs zonder dat alle eDNA Steekproef trajecten waren uitgevoerd, was het duidelijk dat er in beide sub-gebieden veel meer dan 6 trajecten eDNA+ of eDNA+/- waren (13 en 25) en dus als Vol getypeerd kunnen worden. In het geval van zulke hoge percentages eDNA positieve trajecten, 52% (13/25) en 76% (25/34), volstaat een nog kleinere eDNA steekproef van bijvoorbeeld 20 eDNA trajecten om de grens van 6 positieve trajecten te bereiken. Het is duidelijk dat, behalve vaststellen dat er enorm veel muskusratten aanwezig zijn in een sub-gebied, de eDNA methode geen toegevoegde waarde heeft ten opzichte van de traditionele manier van muskusratbestrijding.



Figuur 3.

A: Ingetekende trajecten eDNA Steekproef met de vangsten van 2014-2022.

B: Ingetekende trajecten eDNA Steekproef met de vangsten van 2022.

C: Trajecten eDNA Steekproef met uitslagen van de bemonstering van Februari-Maart 2023:

Groene trajecten: geen muskusrat, eDNA-

Gele trajecten: muskusrat eDNA lage concentratie, eDNA+/-

Rode trajecten: muskusrat eDNA hoge concentratie eDNA+

Paarse trajecten: nog niet bemonsterd

De 2 bemonsterde sub-gebieden hebben beide (ruim) meer dan 6 trajecten met eDNA (geel + rood) in de eDNA Steekproef van 40 trajecten en hebben daarom de typering Vol.

Typering Middelvol

Wanneer een sub-gebied Middelvol is bevatten 2-6 van de trajecten muskusrat eDNA. In dit geval wordt het hele sub-gebied opgevolgd met eDNA. Bemonsteren van alle waterwegen, en eDNA (zwak) positieve trajecten opvolgen met eDNA lokalisatie trajecten indien nodig. De opvolging met eDNA is de reden dat voor sub-gebieden waarvan verwacht wordt dat ze in deze categorie zullen vallen (Grens sub-gebieden en sommige Binnenland sub-gebieden) deze niet zo groot gemaakt zijn als Historisch Leeg sub-gebieden.

Het is, kijkend naar de vangsten in het verleden, waarschijnlijk dat in een Middelvol sub-gebied de trajecten in veel sub-gebieden zullen clusteren. Wanneer dit het geval is, dan kan het sub-gebied opgedeeld worden in kleinere sub-sub-gebieden. Voor elk sub-sub-gebied wordt de eDNA Steekproef dan weer aangevuld tot 40 eDNA trajecten en dus opnieuw getypeerd. Als bijvoorbeeld in sub-sub-gebied A 15 van de 40 bemonsterde trajecten uit de eerste eDNA Steekproef liggen en in sub-sub-gebied B de overige 25, dan worden er in sub-sub-gebied A 25 extra monsters genomen en in sub-sub-gebied B 15 extra monsters, zodat voor beide sub-sub-gebieden de eDNA Steekproef weer op 40 trajecten komen en er weer een conclusie getrokken kan worden voor de typering van beide sub-sub-gebieden.

Doordat de sub-sub gebieden zo worden gedefinieerd dat geclusterde eDNA positieve trajecten een nieuw sub-sub-gebied vormen, vallen de meeste eDNA negatieve trajecten vanzelf in het andere sub-

sub-gebied. Zo is het mogelijk dat een sub-gebied dat in eerste instantie als Middelvul wordt getypeerd, na opsplitsing en eDNA Steekproef aanvulling uitkomt op een sub-sub-gebied Vol en een sub-sub-gebied Leeg. Dus in plaats van dat dit hele sub-gebied als Middelvul in zijn geheel zou moten worden opgevolgd met eDNA analyses, zijn er twee sub-sub-gebieden die beiden niet met eDNA kunnen of hoeven te worden opgevolgd. Andere variaties en combinaties van typeringen van sub-sub-gebieden zullen ook voorkomen, maar in ieder geval zal deze aanpak van opnieuw opdelen de focus van het inzetten van de eDNA methode sterk verbeteren, wat tot een aanzienlijke verhoging van de efficiëntie in bestrijdingsketen zal leiden.

Voor de typering Leeg moeten er altijd in totaal 80 trajecten bemonsterd worden. Dus als een sub-sub-gebied na 40 monsters mogelijk leeg is, moeten er nog 40 trajecten bemonsterd moeten worden om Leeg te bevestigen. De voorwaarde is hier dat het sub-sub-gebied niet zo klein is dat er met 80 trajecten vlak-dekkend bemonsterd wordt. Als het sub-sub-gebied te klein is kan er met de eDNA coördinator overlegd worden of er vlak-dekkend bemonsterd wordt, en hoeveel extra trajecten er eventueel nog genomen moeten worden.

Typering Leeg

Voor bevestigen van de typering Leeg worden dus altijd 80 trajecten bemonsterd. Als er in een Leeg sub-gebied 1-2 trajecten eDNA positief zijn worden alleen deze trajecten opgevolgd. Verder wordt er in het sub-gebied niet gespeurd (niet met eDNA en ook niet traditioneel). Een sub-gebied dat de classificatie Historisch leeg heeft, en met eDNA als Leeg bevestigd is, kan voor 3-5 jaar met rust gelaten worden. Als een Binnenland of Grens sub-gebied leeg is, wordt de ligging van het sub-gebied meegenomen in het bepalen van het bemonsteringsinterval. Voor deze sub-gebieden zal een korter bemonsteringsinterval aangehouden worden bijvoorbeeld 1-3 jaar in overleg met de eDNA coördinator. Het kan voorkomen dat in een sub-gebied dat met 80 trajecten, er meer dan 2 trajecten eDNA bevatten, maar de classificatie niet Middelvul is. Dit gebeurt wanneer de eDNA signalen afkomstig zijn van enkele, waarschijnlijk migrerende, muskusratten. Deze trajecten zijn in de opvolging met 1-km trajecten dan niet meer eDNA positief. In deze situatie wordt het sub-gebied niet als Middelvul geclassificeerd, maar moet het sub-gebied wel het volgende jaar weer gemonitord worden

Migratie routes

Het kan zijn dat er aan de rand van of door sub-gebieden boezemwateren lopen die als een belangrijke migratieroute voor herkolonisatie dienen, met name als deze een directe verbinding vormen met sub-gebieden met hogere populatie. Deze vaarten kunnen eventueel op inzicht van de eDNA coördinator vaker bemonsterd worden b.v. 1x per jaar voor Historisch lege sub-gebieden of 1 à 2x per jaar voor Binnenland sub-gebieden of 2x per jaar voor Grens sub-gebieden, terwijl bijvoorbeeld kavelsloten in de polder voor Historisch lege sub-gebieden maar eens in de 3-5 jaar bemonsterd worden, voor Binnenland sub-gebieden eens in de 2 jaar of 1x per jaar en voor Grensgebieden sub-gebieden 1x per jaar.

Grootte steekproef	# positieve 5-km trajecten	eDNA inzet	eDNA veldrichtlijn	Typering subgebied
Fase-I				
40	> 6	Nee	Traditioneel speuren/vangen	vol
	2 - 6	Ja	Heel subgebied eDNA bemonsteren	Middelvol
	0 - 1	n.v.t.	40 extra monsters analyseren	Leeg?
Fase-II				
80 (40 + 40)	0	Nee	Niet meer speuren	Leeg
	1 - 2	Ja	Alleen positieve trajecten speuren	Leeg
	3 - 12	Ja	Heel subgebied eDNA bemonsteren	Middelvol
	> 12†	Nee	Traditioneel speuren/vangen	Vol

Tabel 2. Opvolging van de eDNA Steekproef.

Afhankelijk van het aantal eDNA positieve trajecten wordt er op een bepaalde manier opgevolgd, dit is de eDNA veldrichtlijn. De veldrichtlijn is van toepassing op sub-gebieden én sub-sub-gebieden.

Fase-II is alleen van toepassing op sub-gebieden (of sub-sub-gebieden) waarbij in Fase-I slechts 0 of 1 eDNA positieve trajecten zijn gevonden, en dus mogelijke Leeg (= Leeg?) zijn.

† Hoewel niet onmogelijk, is het zeer onwaarschijnlijk dat een sub-gebied in Fase-I 0 of 1 van de 40 eDNA Steekproef trajecten eDNA positief zijn en bij uitbreiding naar 80 eDNA trajecten (Fase-II) meer dan 12 trajecten eDNA positief zijn.

In sub-gebieden waar al langer geen vangsten zijn geweest wordt Fase-I als het ware overgeslagen en worden er gelijk 80 trajecten bemonsterd.

De indeling van de sub-gebieden, en of er met 40 of 80 monsters bemonsterd wordt gebeurt in overleg met de eDNA coördinator.