



eDNA aanpak in muskusratbeheer

Timo Breit¹, Rob Dekker¹, Han Rauwerda¹, Mirjam Boonstra¹, Dolf Moerkens²

Geschiedenis introductie eDNA in muskusratbeheer

Bestrijding van muskus- en beverratten kost jaarlijks ongeveer 35 miljoen euro, waarvan weer ongeveer 25 miljoen opgaat aan het speuren. Het speuren is vooral duur in gebieden met een lage populatie, omdat hier er in verhouding meer tijd opgaat aan speuren per gevangen muskus- en beverrat dan in gebieden met hogere populaties muskus- en beverratten.

De Unie van Waterschappen (UvW) kwam daarom bij de UvA met de vraag of het mogelijk is om muskus- en beverratten op te sporen door het DNA dat ze achterlaten in het oppervlaktewater. Dit omgevings-DNA wordt environmental DNA (eDNA) genoemd. Er zijn twee belangrijke redenen om de eDNA aanpak toe te voegen aan het “gereedschap” van de muskusratbeheerder: allereerst is het met eDNA mogelijk om de aanwezigheid van muskusratten aan te tonen zonder dat er speurbeelden zijn gevonden. Dit maakt dat je moeilijk te vinden muskusratten toch kan opsporen. Daarnaast is het idee dat als je een gebied met een lage populatie muskus- en/of beverratten bemonsterd hebt, en er geen eDNA van deze dieren gevonden is, je vervolgens in dit gebied voor één of meerdere jaren niet meer hoeft te speuren. Hoelang een gebied mogelijk met rust gelaten kan worden wordt verderop uitgelegd in dit document onder eDNA in muskusratbeheer. eDNA is dus een alternatief voor visueel speuren in gebieden met een lage populatie, zodat er meer tijd besteden kan worden aan speuren en vangen in gebieden met hogere populatie, en aan andere taken.

De eerste kleinschalige experimenten zijn gedaan in Noord-Holland in de Schermerpolder en in Fryslân in de buurt van Bakkum. In Noord-Holland waren watermonsters genomen op plekken met sporen van muskusratten en zonder sporen van muskusratten. Verassend was dat één van de monsters genomen op een plek waar geen muskusratten gedacht waren, toch muskusrat eDNA bevatte. Bij nadere inspectie bleken hier toch muskusratten te zitten. Bij Bakkum was een situatie waar er muskusratten zaten die minimale sporen achterlieten, en deze werden met behulp van eDNA toch gevonden en weggevangen. Vergelijkbare experimenten zijn gedaan voor beverratten.

eDNA kan dus inderdaad muskus- en beverratten aantonen, ook wanneer er geen of onduidelijke zichtbare sporen zijn. Na het succes van de eerste experimenten zijn we verdergegaan als onderdeel van een groot EU-project (Life MICA), waarin de eDNA aanpak op grotere schaal getest is. Omdat de methode het meest op zal leveren in gebieden met een lage populatie muskusratten, zijn het volledig beheergebied van Wetterskip Fryslân en Noord-Holland ten noorden van Alkmaar gekozen als grotere testgebieden, omdat deze gebieden in 2018 lage vangsten ten opzichte van de rest van Nederland hadden.

Het project bleek zeer succesvol, en het Wetterskip Fryslân gaat de methode toepassen in het gehele beheergebied, terwijl andere waterschappen zoals die beheerd door de bestrijdingsorganisatie Noordoost Nederland, Muskusrattenbeheer Rivierenland en Waterschap Scheldestromen de methode in deelgebieden met lage vangsten in gaan zetten. Naast de muskus- en beverrat zijn er ook eDNA testen ontwikkeld voor de bever en invasieve uitheemse rivierkreeften.

Essentie van de eDNA aanpak

Bemonsteren voor eDNA begint met het nemen van watermonsters van een halve liter over een traject van 3-5 km. Waar bemonsterd moet worden, wordt aangegeven in de eDNA app, hier staan de trajecten van 3- 5km (monitoringstrajecten) in. Het is mogelijk om af te wijken van de voorgestelde trajecten, aangezien de veldsituatie altijd leidend is. Het nemen van de monsters gebeurt met een apparaat genaamd, de eDNA autosampler. Dit apparaat (Figuur 1C) kan gebruikt worden vanaf een boot, een quad, lopend, of met een op afstand bestuurbaar bootje. De autosampler houdt heel precies de gps-coördinaten bij en geeft een QR-code op het scherm, zodat als een traject muskus of beverrat eDNA heeft (= positief is) er achterhaald kan worden hoe precies bemonsterd was, dit is belangrijk voor de opvolging. De QR-code van de monsterfles en de code van de autosampler kunnen gekoppeld worden aan het te bemonsteren traject door ze in te scannen in de zogenaamde eDNA app. Na bemonsteren wordt het water afgegeven aan het waterschapslaboratorium, zij verwerken de monsters en bepalen of er muskusrat eDNA in het monster aanwezig is. De uitslagen van het lab worden vervolgens ook in de app gezet.

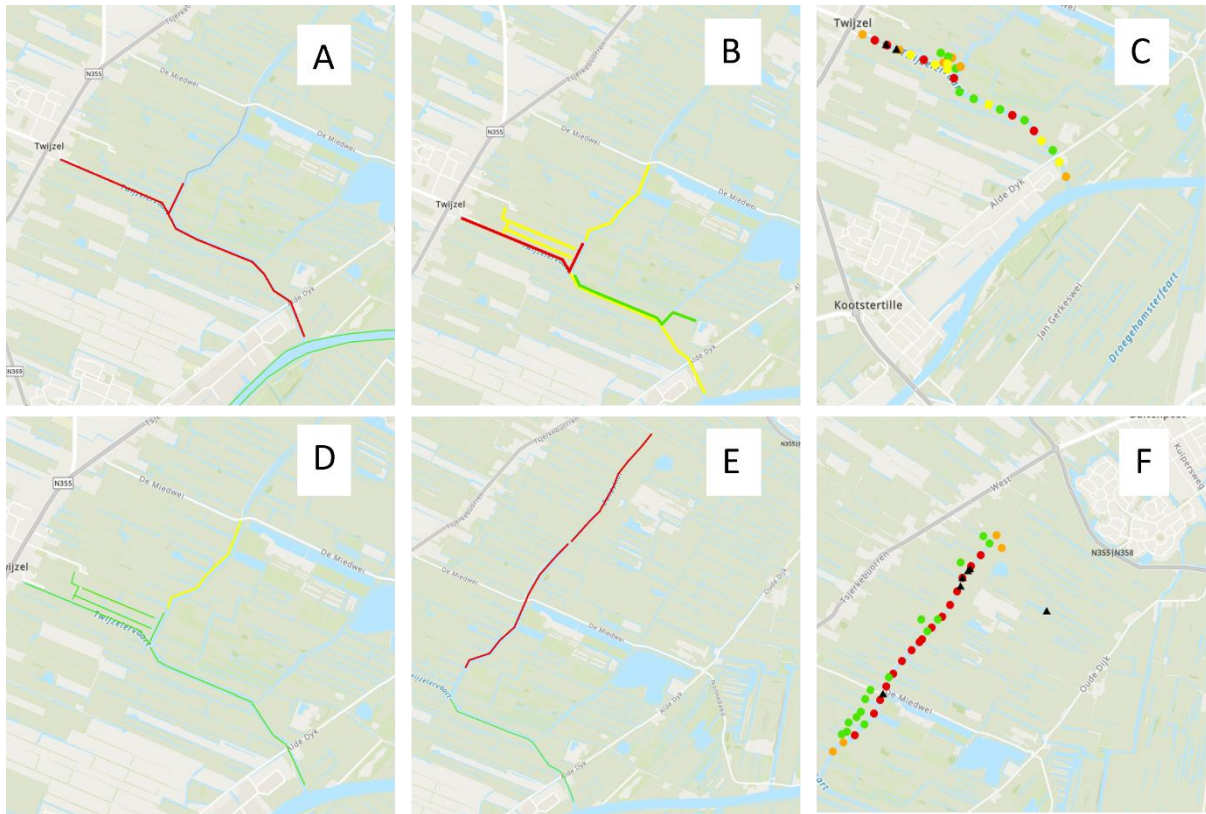


Figuur 1 Bemonstermethodes

- A. *Bemonsteren vanaf een quad met de autosampler in handmatige modus*
- B. *Bemonsteren van een op afstand bedienbaar bootje met de autosampler in automatische modus*
- C. *Bemonsteren vanaf een boot, autosampler in automatische modus*
- D. *Puntmonsters, geen autosampler gebruikt*

Wanneer een traject muskus- of beverrat eDNA bevat, dan kan het traject opgevolgd worden met lokalisatie eDNA bemonstering. Dit wordt gedaan door het oorspronkelijke traject op te delen in stukken van 1 km lengte. Op deze manier kan het gebied waar de muskusrat(ten) zich bevinden nauwkeuriger bepaald worden. Als er bij de lokalisatie trajecten met muskusrat eDNA nog steeds geen

vangsten zijn gedaan, dan kan er gekozen om nog verder in te zoomen met punt bemonstering, waarbij er langs de oevers van het traject met eDNA om de 100 meter een puntmonster wordt genomen, om de bouw(en) te lokaliseren. Als er geen muskusratten meer gevangen worden, worden er 1 km controle trajecten rondom de vangstlocatie bemonsterd, om met eDNA aan te tonen dat alle muskusratten ook echt weg zijn, en er geen verdrijving plaats heeft gevonden. Figuur 2 geeft de hele eDNA veldaanpak weer.



Figuur 2. eDNA veldaanpak: Voorbeeld Twijzel

eDNA	Datum eDNA	Soort bemonstering	Vangsten	Aantal
			03-2022	2 (F, meest rechtse driehoek)
A: Monitoring:	26-04-2022	5-km trajecten		
B: Lokalisatie:	05-05-2022	1-km trajecten	05-2022	3
C: Puntmonsters 1	19-05-2022	100 m puntmonsters	06-2022	2 (C)
D: Controle-1	29-06-2022	1-km trajecten	10-2022	3
E: Controle-2	01-11-2022	1-km trajecten		
F: Puntmonsters-2	21-11-2022	100 m puntmonsters	11-2022	1

Wegens het broedseizoen zat er meer tijd tussen de laatste vangst en de controle dan gebruikelijk.

De laatste controle, van 10-07-2023 (niet weergegeven in plaatje) was eDNA negatief.

In rood aangeven vangsten zijn van voor de eDNA bemonstering

De driehoekjes geven de vangstlocaties weer, niet het aantal vangsten.

eDNA in muskusratbeheer

Steekproef bemonstering

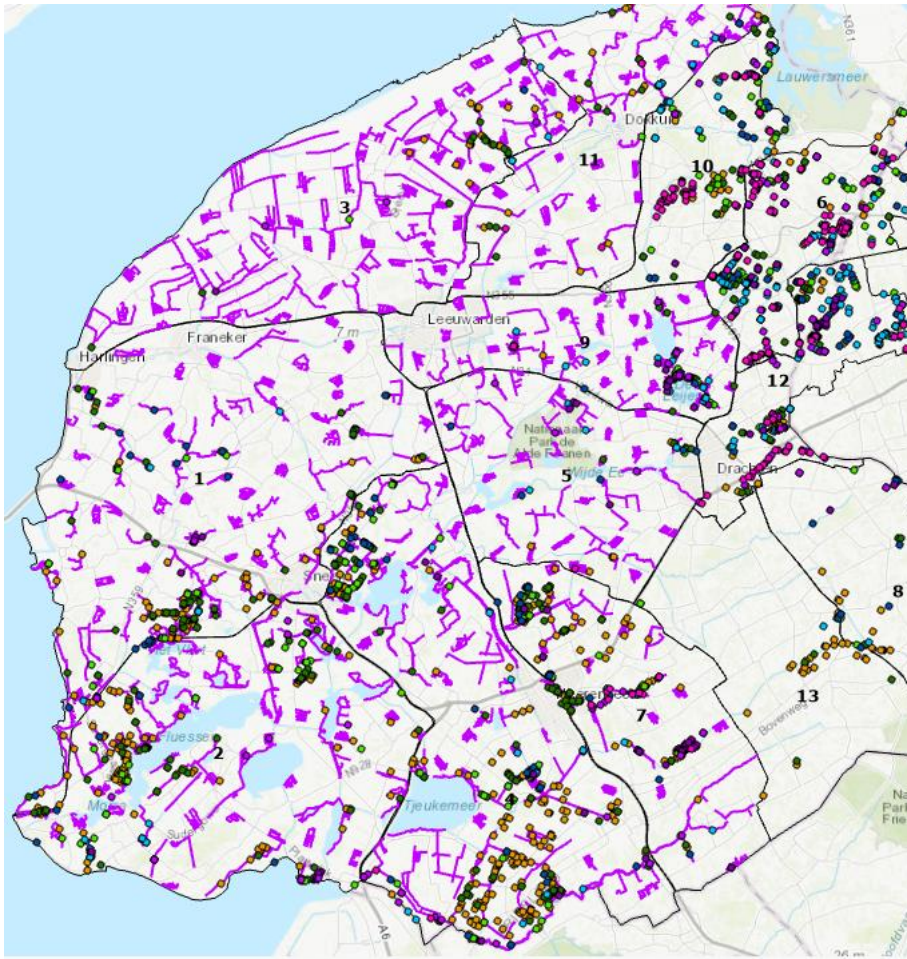
Monitoringsbemonstering voor de muskusrat wordt gedaan met behulp van een eDNA steekproef van meestal 40 samples in gebieden waar met traditionele bestrijdingsmethodes de populatie laag genoeg is. Hiervoor wordt het beheergebied opgedeeld in sub-gebieden (Figuur 3). In de werkgroep modellen wordt een schema opgezet waarin staat vanaf welk aantal vangsten/km er eDNA ingezet kan worden.

De sub-gebieden worden gemaakt in overleg met de bestrijders. Bij het intekenen van de trajecten worden de oude vangsten altijd meegenomen. Dit is om rekening te houden met mogelijke voorkeursgebieden van de dieren. Hoever er teruggegaan wordt in de vangstgegevens hangt af van het aantal vangsten in de voorgaande jaren (Figuur 3). Hoe minder vangsten in de afgelopen jaren, hoe verder terug wordt gegaan in de tijd. De rest van de steekproef trajecten worden verspreid over het sub-gebied ingetekend.

De voorstel trajecten voor monitoringsbemonstering zijn tussen de 3 en 5 km lang. Voor waterwegen die 15 m of breder zijn wordt aan beide oevers een traject ingetekend. Verschillende types waterwegen worden meegenomen in bemonstering. Kavelsloten zijn over het algemeen de meest voorkomende waterwegen in een 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 gebied verschillen vanwege de aard van het gebied, maar is ook gebaseerd in de soort waterwegen waar het verleden de meeste vangsten werden gedaan. Als er bijvoorbeeld in het verleden voornamelijk op vaarwegen gevangen werd, zullen er in verhouding meer van deze trajecten ingetekend worden.

Bij het intekenen van de trajecten 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 ze of heel klein zijn, of omdat er op de kaart barrières te zien zijn die het in het veld volgen van de waterpeilen lastig maken.

De op de kaart weergegeven situatie verschilt regelmatig van de werkelijke situatie in het veld. Daarom zijn de trajecten *voorstel* trajecten, er mag dus van afgeweken worden. De situatie in het veld blijft namelijk altijd 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 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 hiervan afgeweken is. De autosampler houdt precies het gevolgde traject bij, zodat indien er wat opgevolgd moet worden, dit aan de hand van de logfile van de autosampler kan worden bepaald.



Figuur 3 Steekproef trajecten

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

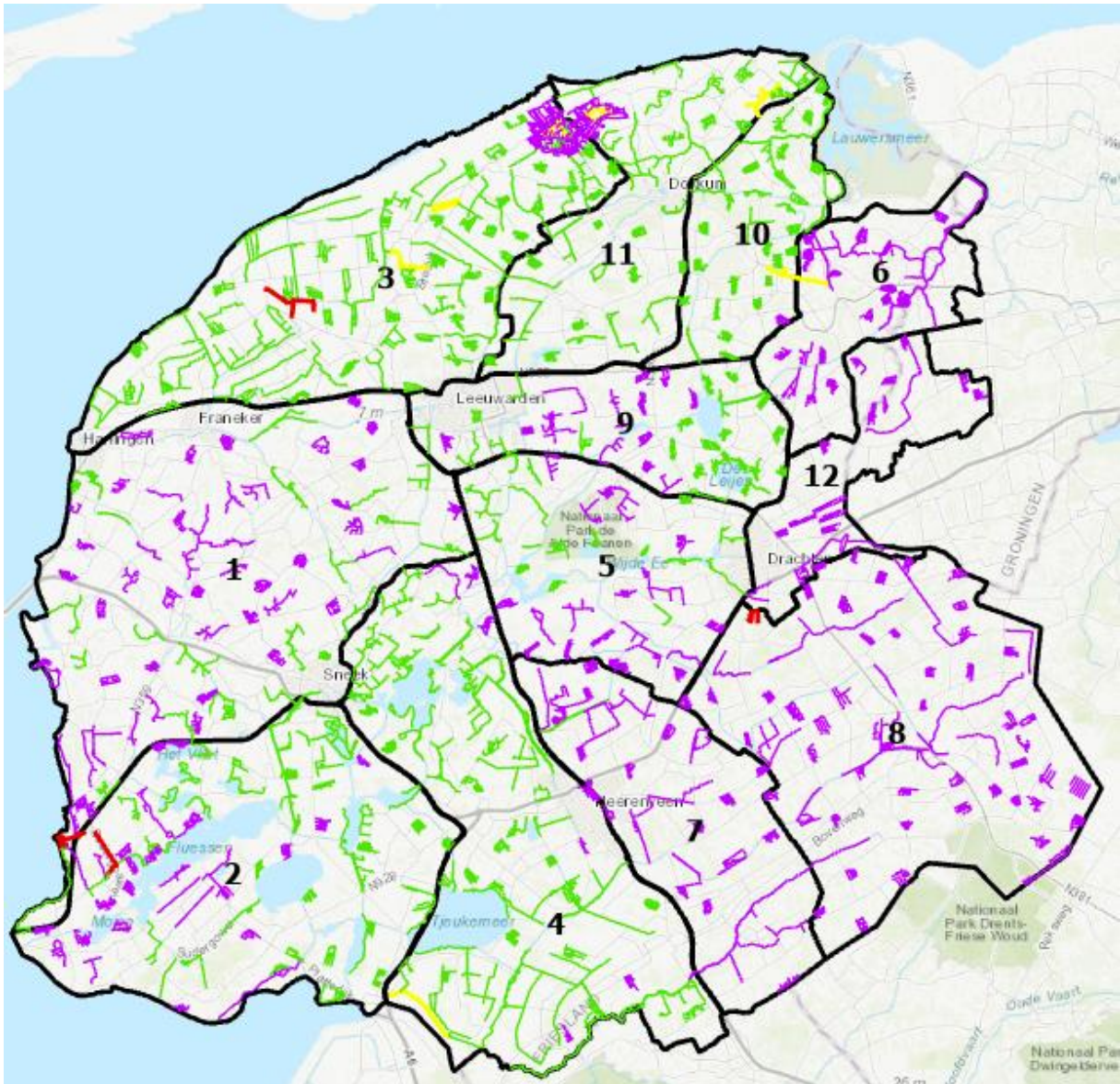
Steekproef gebieden

Er zijn 3 types sub-gebieden:

Historisch-leeg: gebieden waar al enkele jaren geen of zeer weinig muskusratten gevangen zijn. Deze sub-gebieden grenzen niet aan gebieden met een hoge muskusrat populatie. Deze zullen groot gemaakt worden omdat hier het *hele* gebied klaar is wanneer de eDNA steekproef negatief is en er met de eDNA aanpak dus veel winst te behalen valt. Hier wordt altijd begonnen met een steekproef van 80 trajecten. Schatting aantal km waterweg Historisch-leeg gebied: 4200 km

Grensgebieden: grensgebieden zijn sub-gebieden die grenzen aan een gebied met een hoge muskusrat populatie. Deze gebieden worden klein gehouden, omdat er bij een positieve steekproef het *hele* gebied opgevolgd moet worden met eDNA bemonstering. Hier wordt altijd begonnen met een steekproef van 40 trajecten. Schatting aantal km Grensgebied: 1200 km

Binnenland gebieden: Deze gebieden liggen qua grote tussen Grens- en Historisch-leeg gebieden in. Ze grenzen niet direct aan een gebied met een hoge populatie, en vormen vaak een bufferzone tussen de grens en historisch lege gebieden. Er wordt hier begonnen worden met een steekproef van 40 of 80 trajecten te bemonsteren, afhankelijk van het aantal vangsten in de voorgaande jaren, en de inzichten van de bestrijder. Schatting aantal km Binnenland gebied: 2000 km



Figuur 4 Steekproef Wetterskip Fryslân

Subgebieden 1-4 en 8, Historisch Leeg: Gebieden met historisch lage vangsten, deze zijn het grootst gemaakt en worden bemonsterd met 80 trajecten (gebied 8 is een samenvoeging van 13 en 8 in Figuur 3 wegens het beperkte aantal waterwegen en lage vangsten in dit gebied).

Subgebieden 6, 10 en 12, Grens: De 3 gebieden in het noordoosten en oosten aan de grens met Groningen, zijn klein omdat de vangsten in de aangrenzende gebieden in Groningen nog hoog zijn.

Subgebieden 5, 7, 9, en 11, Binnenland zijn de overgebleven gebieden die geen Grens- of Historisch Leeg sub-gebied zijn. *De roze vlek bovenin is een stuk waar rondom 2 eDNA+/- trajecten (geel) een vlakdekkende bemonstering van een sub-sub-gebied gepland is.*

Roze: Nog niet bemonsterd,

Groen: Negatief (muskusrat eDNA-),

Rood: Positief (muskusrat eDNA+),

Geel: Zwak positief (eDNA+/-).

Opvolgen van een steekproef

Op basis van de steekproef uitslag kunnen gebieden 3 mogelijke classificaties krijgen, Vol, Middelvul of Leeg. Om een gebied als Leeg te classificeren zijn er altijd 80 trajecten nodig. In Tabel 1 staat uitgelegd wanneer een gebied een bepaalde classificatie krijgt, en wat de mogelijke opvolgingen zijn. De tabel geeft richtlijnen, de precieze aanpak gebeurt altijd in overleg met een bestrijder/eDNA coördinator. De opvolging van sub-gebieden met de classificering Leeg of Vol zijn het makkelijkst. Bij Leeg wordt er in overleg met de bestrijders niet meer gespeurd, noch met eDNA, noch op enig andere wijze, voor een bepaalde periode. In een gebied dat Vol is wordt alleen verdergegaan met de traditionele speurmethodes. Een sub-gebied dat Middelvul is, wordt in zijn geheel met eDNA bemonsterd. Het is echter waarschijnlijk dat de eDNA+ trajecten in Middelvul sub-gebieden vaak bij elkaar in de buurt zullen zitten. In dat geval kan je het sub-gebied opnieuw opdelen, waarna bijvoorbeeld een sub-sub-gebied zoveel trajecten met eDNA heeft, waardoor je dit al als Vol kunt classificeren en het resterende sub-sub-gebied als Leeg. Hierdoor hoeft een kleiner sub-sub-gebied vlakdekkend bemonsterd te worden.

In Figuur 2 worden de steekproeven genomen in de eerste helft van 2023 in Noord-Holland en Wetterskip Fryslân weergegeven. De meeste sub-gebieden in Noord-Holland vallen in de categorie Vol, en de meeste sub-gebieden in Wetterskip Fryslân zijn Leeg (80 trajecten), of Mogelijk Leeg (40 trajecten).

Groote 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	Middelvul
	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	Middelvul
	> 12†	Nee	Traditioneel speuren/vangen	Vol

Tabel 1 eDNA aanpak aan de hand van een steekproef.

Als de typering na 40 monsters Vol is, wordt met traditioneel speuren opgevolgd. Is de typering Middelvul, dan wordt het hele sub-gebied bemonsterd. Is na de eerste ronde het gebied Mogelijk Leeg (= Leeg?), dan worden er nog 40 monsters genomen om Leeg te bevestigen. Voor de typering Vol en Middelvul zijn dus 40 monsters nodig, en voor Leeg 80.

In gevallen waar de positieve trajecten clusteren, kan een Middelvul sub-gebied nog een keer verder opgedeeld worden om zo het aantal monsters dat genomen moet worden te beperken. Het sub-sub-gebied wat na de steekproef als Leeg getypeerd kan worden hoeft verder niet met eDNA opgevolgd te worden. Als een sub-sub-gebied Vol is wordt er traditioneel gespeurd. Is een sub-sub-gebied middelvul, dan wordt het hele sub-sub-gebied met eDNA bemonsterd

eDNA in beverratbeheer

De watermonsters die genomen worden voor de muskusrat monitoring kunnen ook getest worden op beverrat eDNA. In het veld hoeven hiervoor geen extra handelingen voorgedaan worden. Omdat de levenswijze van beverratten anders is dan voor muskusratten zijn niet alle eDNA stappen beschreven voor muskusrattenbeheer even relevant voor beverrattenbeheer. Muskusratten maken meerdere bouwen in de oevers van hun leefgebied, en daarom kan in sommige gevallen het nemen van puntmonsters helpen bij het bepalen van de locatie van de bouwen. Omdat beverratten in verhouding minder bouwen maken in hun leefgebied, meer tijd op land doorbrengen, en gevangen worden in kooien in plaats van klemmen, zijn puntmonsters minder vaak toepasbaar. Putmonsters worden gebruikt om bouwen te lokaliseren in de oever met het doel klemmen te plaatsen in/voor de pijpen. Omdat voor beverratten vangkooien worden gebruikt is dus het lokaliseren van bouwen in de oever minder relevant.

Naast het testen van de monsters genomen in de muskusrat monitoring, worden ook voorkeurslocaties van beverratten gecontroleerd met eDNA. Vooral in situaties waar ook bevers aanwezig zijn, kan het lastig zijn de sporen van bevers te onderscheiden van die van beverratten.

Hier kan eDNA dus gebruikt worden om te bevestigen dat alle beverratten weg zijn gevangen, of dat er nieuwe beverratten een gebied in zijn getrokken.

Verder zijn er plannen om de mogelijkheid van het inzetten van de eDNA methode om migratie routes van beverratten te bepalen, en deze te monitoren om het moment van instroom beter te kunnen bepalen om vervolgens het aantal vangkooien uit te breiden.

Analyse laboratorium

Voor de analyse in het laboratorium zijn voor alle stappen protocollen beschikbaar (zie Bijlagen-W). Momenteel zijn er qPCR analyses beschikbaar voor muskusrat, beverrat en bever. Ook is er een qPCR analyse ontwikkeld voor een generieke kreeften test (detecteert alle kreeften soorten) welke tegelijkertijd met de qPCR analyse van de muskusrat gebruikt kan worden. Daarna kan met specifieke qPCR primers getest worden van welke kreeften soort(en) er eDNA in het monster zat. Er zijn nog geen protocollen beschikbaar voor multiplex qPCR analyses van bijvoorbeeld muskusrat en beverrat, of de verschillende kreeften soorten.

De watermonsters kunnen in de toekomst ook gebruikt kunnen worden om te testen op andere (semi-)aquatische invasieve soorten. Voor gebruik van deze qPCR/eDNA methode voor beschermde soorten zou meer onderzoek nodig zijn of de gevoeligheid overeenkomt met de huidige normen.

De aantallen watermonsters die per jaar in Nederland verwerkt zullen gaan worden wanneer de muskusrat eDNA methode landelijk ingevoerd wordt, zullen uitkomen op ongeveer ~38.000 eDNA isolaties en ~76.000 eDNA qPCR analyses. Het is interessant om te evalueren of het rendabel is om de verwerking van de eDNA monsters te centraliseren en/of te robotiseren. In het document Beschrijving eDNA in muskusratbeheer algemeen, wordt een uitgebreide analyse hiervan gegeven.

Bijlage-W-I Protocol filtration water samples

Bijlage-W-II-A Protocol eDNA extraction pooled samples

Bijlage-W-II-B Protocol eDNA extraction point samples

Bijlage-W-III-A Protocol qPCR muskrat
Bijlage-W-III-B Protocol qPCR coypu
Bijlage-W-III-C Protocol qPCR beaver

UvW Kennisgroep eDNA

Omdat de landelijke invoering van de eDNA aanpak voor exotenbeheer voor de deur staat heeft de UvW een Kennisgroep eDNA opgericht om enerzijds de opgebouwde kennis over de eDNA aanpak te bewaren, maar anderzijds ook als aanspreekpunt voor vragen van muskratbestrijders en teamleiders over de eDNA aanpak.

Mirjam Boonstra is voorlopig contactpersoon van de UvW eDNA Kennisgroep.

Alle vragen kunnen gericht worden aan haar via e-mail mboonstra@wetterskip.nl of telefoon 06 393 140 32.

Mirjam is ook beschikbaar om de eDNA aanpak groepsgewijs uit te leggen op locatie.