



WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH



UNIE VAN
WATERSCHAPPEN

Pilot genetische analyse van verspreidingspatronen bij muskusratten

Notitie, 26 februari 2018

Auteurs: Arjen de Groot (Wageningen Environmental Research) en Daan Bos (Altenburg & Wymenga)

Dit onderzoek is uitgevoerd door:

Wageningen Environmental Research (WENR), onderdeel van Wageningen UR

Contact: Arjen de Groot; 0317-485926 / g.a.degroot@wur.nl

In samenwerking met:

Daan Bos, Altenburg & Wymenga (A&W), Veenwouden

Joost de Jong, Resource Ecology, Wageningen Universiteit, onderdeel van Wageningen UR

Adrzej Zalewski, Polish Academy of Sciences, Bialowieza, Polen

Jan Stuyck, Instituut voor Bos- en Natuuronderzoek (INBO), Geraardsbergen, België

Heiko Fritz, Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Duitsland

In opdracht van:

Dolf Moerkens, Unie van Waterschappen (UvW), Den Haag

Samenvatting

Voor het optimaliseren van het beheer van de muskusrat (*Ondatra zibethicus*) in Nederland, en het aansturen van gerichte bestrijding per (deel)regio, is het van grote waarde om de migratiepatronen en migratie-afstanden van deze soort beter te begrijpen. Genetische analyse kan daar in veel gevallen beter zicht op geven, maar voor de muskusratten in Nederland was onduidelijk of voldoende verschillen tussen individuen en regio's aanwezig zijn om deze methode echt bruikbaar te maken.

Deze notitie beschrijft de resultaten van een pilot, waarbij voor 90 dieren van verspreide herkomst een genetisch profiel werd opgesteld op basis van een groot aantal SNP (single nucleotide polymorfism) DNA-merkers. De resultaten laten zien dat het goed mogelijk is om individuele dieren uit elkaar te houden, en dat duidelijke ruimtelijke verschillen aanwezig zijn, al lijkt geen sprake van duidelijk afgebakende subpopulaties maar meer geleidelijke overgangen als gevolg van uitwisseling over afstanden van meestal enkele kilometers. Op basis van de resultaten verwachten we dat het haalbaar is om, via een vervolgstudie met meer monsters die beter overlappen met het huidige verspreidingsgebied in Nederland, meer zicht te krijgen op o.a.: de plekken in het landschap die fungeren als opening of barrière voor migratie, de meest gebruikte dispersieroutes naar en binnen Nederland, de afstand waarover dieren verspreiden, en kunnen helpen bij een betere afbakening van effectieve bestrijdingsregio's.

We verwachten dat een dergelijk onderzoek op verschillende manieren zal helpen om een doel van complete verwijdering eerder te behalen, namelijk via: meer mogelijkheid om gericht te werken, betere onderbouwing van het gesprek met zowel Nederlandse betrokkenen als ook met buurlanden, en via verhoging van de motivatie bij bestrijders.

Achtergrond

Voor het optimaliseren van het beheer van de muskusrat (*Ondatra zibethicus*) in Nederland, en het aansturen van gerichte bestrijding per (deel)regio, is het van grote waarde om meer zicht te krijgen op de migratiepatronen en migratie-afstanden van deze soort. Waardevol is onder meer om beter te begrijpen wat de belangrijkste routes zijn waarlangs muskusratten verschillende deelgebieden in Nederland weten te bereiken, en waar de natuurlijke grenzen liggen tussen gebieden die vanuit verschillende bronnen worden bevolkt. Dit maakt het mogelijk om betere keuzes te maken in de afbakening van bestrijdingsregios, en de inspanning van bestrijders beter te richten op plekken waarlangs dieren binnenkomen. Hiermee samen hangt ook de vraag in welke mate dieren uitwisselen tussen zulke beheersregio's, en in welke richting: welke regio's fungeren vooral als bron en welke vooral als ontvanger? Een specifieke casus daarbij is de situatie in Flevoland. Natuurgebied de Oostvaardersplassen (OVP) vormt een zeer geschikt habitat voor muskusratten, maar in dit gebied vindt geen bestrijding plaats. Ook in en rond Lelystad, aan de noordzijde van de OVP is recent een beleid zonder actieve bestrijding toegepast. De vraag is welke gevolgen dit heeft voor de uitbreiding van muskusratten in de regio. De verwachting is dat vanuit de OVP een constante uitstroom naar de omgeving plaatsvindt, maar onduidelijk is in welke mate en tot op welke afstand. Conventionele methoden om verspreiding te volgen, zoals telemetrie, zijn zeer arbeidsintensief en geven vaak desondanks slechts een anekdotisch beeld. Genetische methoden kunnen uitkomst bieden, en kunnen inzicht geven in zowel het bestaan van natuurlijke deelpopulaties van verschillende oorsprong, als de mate, richting en regelmaat van onderlinge uitwisseling. Of deze vragen met genetische merkers te beantwoorden zijn, hangt echter af van de mate waarin het gebruikte merkersysteem in staat is om individuele dieren genetisch te onderscheiden, en de mate waarin er ruimtelijke verschillen bestaan in de genetische samenstelling van muskusratten in ons land. Is die ruimtelijke variatie gering, dan zou dat bijvoorbeeld kunnen betekenen dat het bepalen van uitwisseling tussen Nederland en omliggende landen wel lukt, maar het bepalen van gedetailleerde patronen binnen Flevoland onhaalbaar blijkt. Om deze reden werd gekozen voor een pilot-analyse waarbij, op basis van een beperkt aantal monsters uit verschillende Nederlandse bestrijdingsregios en uit Vlaanderen, Duitsland en Polen, eerst een globaal beeld wordt verkregen van deze (ruimtelijke) variatie. Deze notitie beschrijft de belangrijkste resultaten van deze pilot, en de kansen die dit biedt voor een uitgebreidere vervolgstudie naar de verspreidingspatronen van muskusratten.

Onderzoeksvragen

In deze pilot werden de volgende onderzoeksvragen gesteld:

- 1) In hoeverre is het mogelijk om op basis van genetische analyse individuele muskusratten uit elkaar te houden?
- 2) In hoeverre zijn er verschillen aantoonbaar in genetische samenstelling tussen muskusratten in verschillende landen (Nederland, Duitsland, Vlaanderen en Polen), tussen verschillende deelgebieden in Nederland, en binnen één zo'n deelgebied (Flevoland).
- 3) In hoeverre bieden zulke verschillen voldoende aanknopingspunten om na te kunnen gaan hoe vaak, hoe ver en in welke richting muskusratten zich verspreiden?

Methode

Verzameling van monsters

In het najaar van 2016 en het voorjaar van 2017 zijn monsters verzameld door bestrijders van vier verschillende bestrijdingsorganisaties (Figuur 1). Monsters werden verkregen van dieren die werden gevangen en gedood binnen de reguliere bestrijding. Hoewel in totaal 90 monsters konden worden meegenomen in deze pilotstudie, werden grotere aantallen verzameld per regio, wat de mogelijkheid bood om een gerichte selectie te maken van monsters die een geschikte steekproef vormen voor het beantwoorden van de onderzoeksvragen, zonder gerichte extra vangsten voor deze studie. In totaal werden in Noorderzijlvest (bestrijdingsorganisatie Noordoost Nederland), Noord-Holland (West- en Midden Nederland) en Brabant (Brabantse waterschappen) elk 30 monsters verzameld, en in Flevoland

(Zuiderzeeland) in totaal 150 monsters. Deze hoge aantallen in Flevoland zijn van belang om in detailniveau te kunnen kijken naar patronen in deze regio, en biedt meteen een degelijke monstervoorraad voor eventuele vervolganalyse.

Aanvullende monsters werden verkregen uit Vlaanderen (Brugse Polders en stroomgebieden van de Dijle, Dender en IJzer), Niedersachsen (grensregio) en Polen.



*Figuur 1: de acht bestrijdingsorganisaties in Nederland (UvW 2015)
Monsters voor deze pilot werden verzameld door vier organisaties:
Zuiderzeeland (geel), Brabantse waterschappen (rood), West- en Midden
Nederland (WMNL; groen) en Noordoost Nederland (blauwgrijs, binnen
waterschap Noorderzijlvest).*

Bij de selectie van 90 monsters voor analyse werd o.a. gelet op een evenwichtige geografische spreiding, een evenwichtige verhouding in geslacht en leeftijd, en het voorkomen van directe familierelaties (broer/zus, ouder/nakomeling) tussen monsters. De uiteindelijke monsterset omvatte 35 monsters uit Flevoland, 10 uit Noord-Holland, 10 uit Brabant, 10 uit Noorderzijlvest, 10 uit Niedersachsen, 10 uit Vlaanderen en 5 uit Polen. Alle monsters betroffen staartpunten verzameld in 2016 of 2017, met uitzondering van de Poolse monsters (fragmenten van gedroogde huiden verzameld in de jaren '70 en '80).

Genetische analyse

Om zoveel mogelijk kans te maken op het aantonen van variatie tussen monsters en tussen regio's, is het van belang om te kiezen voor een genetische methode die het DNA van elk dier met een zo hoog mogelijke resolutie onderzoekt. Op hoe meer verschillende punten het DNA van verschillende dieren wordt vergeleken, hoe groter de kans dat er verschillen worden gevonden. Om die reden is ervoor gekozen om gebruik te maken van een relatief nieuwe techniek, op basis van zogenaamde single-nucleotide-polymorfism, ofwel SNP's. Dit zijn puntmutaties in het DNA, locaties waar een enkele letter (nucleotide) van de genetische code verschilt tussen individuen. Bij SNP-analyses wordt op basis van honderden tot duizenden van deze SNP's per individu een genetisch profiel bepaald, waarna deze genetische profielen tussen monsters kunnen worden vergeleken.

Voor deze analyse werd allereerst van alle 90 geselecteerde monsters DNA geëxtraheerd en een check uitgevoerd van de DNA kwaliteit. Deze voorbereiding vond plaats op het laboratorium voor Ecologische genetica van WENR te Wageningen. De daadwerkelijke SNP-analyse werd extern uitbesteed bij sequencing-firma BGI (Shenzhen, Guangdong, China). Bij deze analyse werd per monster bepaald welke letter exact aanwezig was op elk van vele duizenden SNP-locaties in het muskusrat-genoom. De volledige dataset werd vervolgens teruggestuurd naar Wageningen, waar de data-analyse en interpretatie plaatsvond.

Resultaten en discussie

Data-kwaliteit

Binnen de volledige monsterset kon voor een totaal van 87763 variabele SNP-locaties informatie worden verkregen. Per monster lag het aantal van deze posities waarvoor informatie beschikbaar was ligt echter wat lager. Bij sommige monsters was de DNA-kwaliteit zodanig laag dat voor relatief veel posities informatie ontbrak. Deze ontbrekende waarden kunnen een sterke invloed hebben op de resultaten van de statistische analyses en daardoor resulteren in een vertekend beeld van de ruimtelijke verschillen. Om die reden werd eerst een filter-stap uitgevoerd op de dataset, waarbij eerst alle SNP's werden verwijderd waarvoor een score ontbrak bij meer dan 10% van de monsters, en vervolgens alle monsters uit de dataset werden verwijderd waarvoor nog altijd bij meer dan 10% van de SNP's een score ontbrak.

Helaas had dit tot gevolg dat de uiteindelijke dataset geen Poolse monsters meer bevatte. De DNA-kwaliteit van de gebruikte monsters van gedroogde huiden blijkt dus onvoldoende voor toepassing van genetische analyse via SNP-merkers. Ook 6 van de 10 Vlaamse monsters moesten worden verwijderd wegens onvoldoende datakwaliteit. De uiteindelijke dataset bevatte genetische profielen voor 78 individuen, waarvan 32 uit Flevoland, 10 uit Brabant, 8 uit Noord-Holland, 8 uit Noorderzijlvest, 10 uit Nedersachsen en 4 uit Vlaanderen. De vangstlocaties van deze individuen zijn zichtbaar in Figuur 2. De uiteindelijke dataset omvatte gegevens voor een totaal van 23866 SNP merkers. Ter vergelijking: dit zijn nog altijd ruim 1000x meer merkers dan bij gebruik van microsatelliet-merkers (10 tot 20 stuks), de meest toegepaste methode voor genetische analyse van wilde dierlijke populaties (zie o.a. De Groot et al. 2016a,b; La Haye & De Groot 2017).

Verschillen tussen individuele muskusratten

Op basis van de vastgestelde genetische profielen per individu kunnen paarsgewijze genetische afstanden tussen alle individuen worden berekend. Als maat voor deze afstand hebben we hier gebruik gemaakt van de zogenaamde 'Hamming distance' ofwel simpelweg het percentage SNP merkers dat een verschil vertoont tussen twee individuen. In onze dataset bedroeg deze afstand tussen twee individuen gemiddeld 33%, wat betekent dat de profielen van twee willekeurige individuen gemiddeld op 7906 posities van elkaar verschilden. De minimale afstand bedroeg 14% (zo'n 3400 posities) en werd waargenomen tussen individu 13 en 14 binnen Flevoland. Individueel onderscheid tussen muskusratten bleek dus in alle gevallen zeer ruim mogelijk. De maximale afstand bedroeg 42% (10000 posities) en werd waargenomen tussen monster 44 uit West-Brabant en monster 68 uit Nedersachsen. Binnen één specifieke deelregio, Flevoland, bedroeg de gemiddelde genetische afstand 29%, slechts iets lager dan voor de totale dataset.

Relatie tussen genetische en geografische afstand

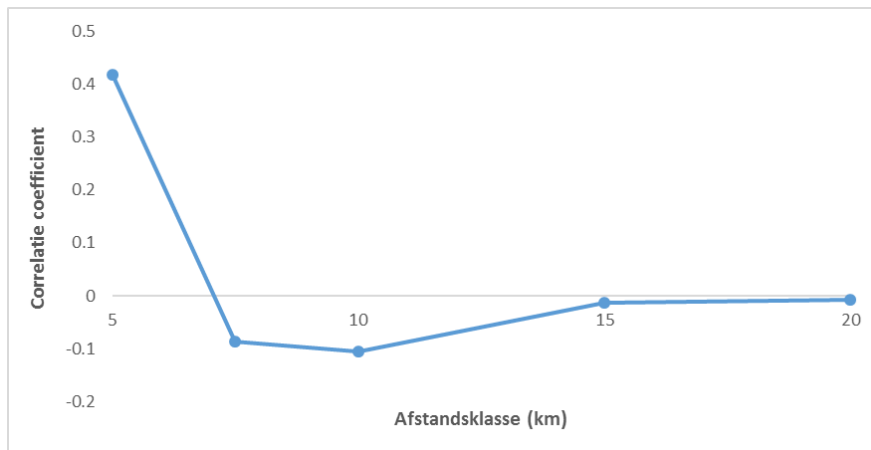
Wanneer de paarsgewijze genetische afstanden tussen individuen worden vergeleken met hun geografische afstand, blijkt daartussen een duidelijke correlatie aanwezig (Mantel test: $P = 0.036$). Kortom, hoe verder de vangstlocaties van twee individuen van elkaar verwijderd waren, hoe groter ook hun onderlinge verschil in genetische samenstelling. Deze 'isolatie door afstand' is een veel voorkomend patroon bij dierlijke populaties met een groot aaneengesloten verspreidingsgebied (zie o.a. De Groot et al. 2016b).



Figuur 2: Vangstlokaties van de 78 monsters in de definitieve dataset. Monsters aangeleverd door verschillende bestrijdingsorganisaties zijn weergegeven met verschillende kleuren. Zwart = Zuiderzeeland, rood = WMNL, groen = Brabantse waterschappen, donkerblauw = Noordoost Nederland, lichtblauw = Niedersachsen, paars = Vlaanderen. Per monster is een uniek monsternummer weergegeven dat overeen komt met de nummering in Figuur 2.

Verspreidingsafstand

Wanneer het verband tussen geografische en genetische afstanden apart wordt berekend voor verschillende geografische afstandsklassen (Figuur 3), dan is te zien dat deze positieve correlatie alleen bestaat binnen de klasse met individuen die minder dan 5 kilometer van elkaar vandaan werden gevangen. In de populatiegenetica geldt dit als indicatie dat de meeste verspreiding zich afspeelt op een schaalniveau tot 5 kilometer. Echter, dit resultaat kan sterk zijn beïnvloed door de specifieke monsterlocaties in deze huidige monsterset, en barrières voor verspreiding die per toeval relatief veel aanwezig waren tussen individuen in een bepaalde afstandsklasse. Om deze analyse op een betrouwbare wijze uit te voeren is een grotere monsterset nodig, met een meer egale geografische dekking.

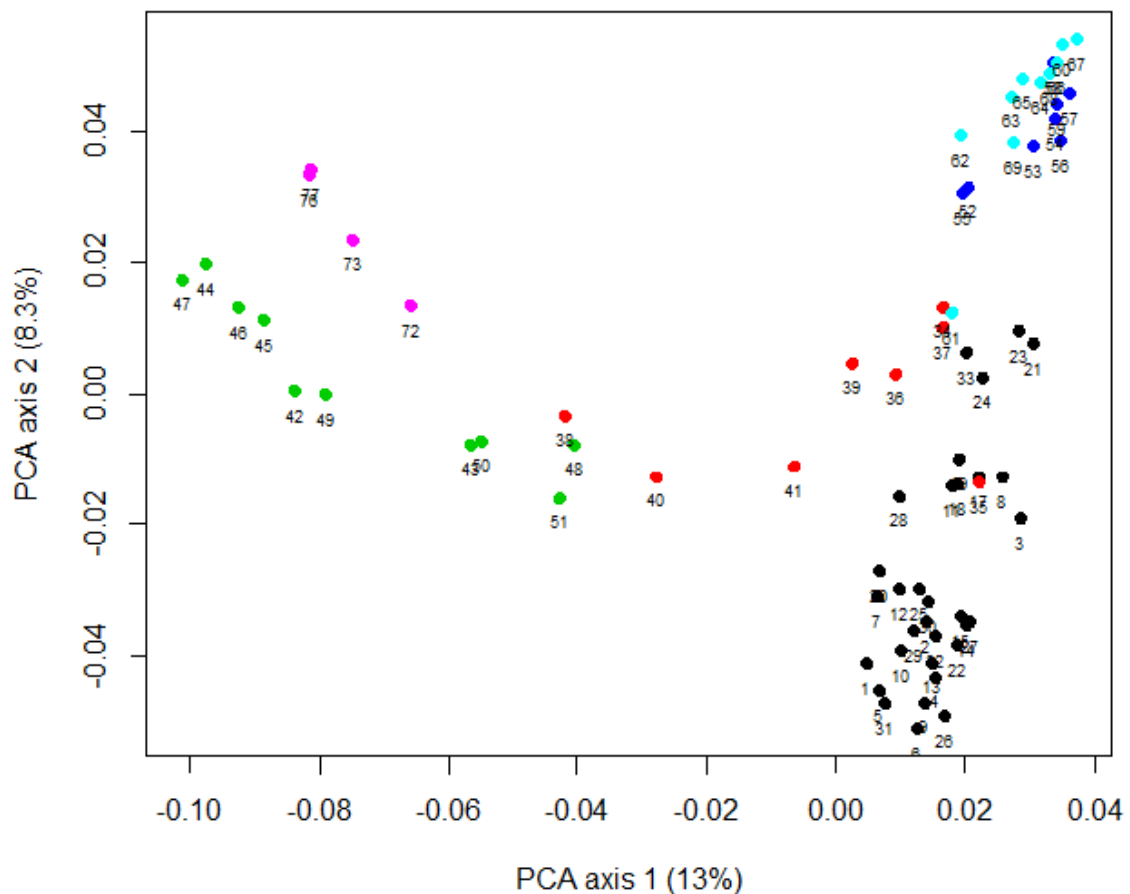


Figuur 3: Correlatogram, dat de mate van correlatie tussen paarsgewijze geografische en genetische afstanden weergeeft voor verschillende klassen van geografische afstand. De figuur geeft vijf afstandsklassen weer: 5 = 0-5 km, 7.5 = 5-7.5km, 10 = 7.5-10km, 15 = 10-15km en 20 = 15-20km). Een positieve correlatie was alleen aanwezig in de klasse 0-5km.

Ruimtelijke genetische patronen

Om zicht te krijgen op de ruimtelijke verschillen in genetische samenstelling werd allereerst gebruik gemaakt van een cluster-analyse via het computerprogramma STRUCTURE (Prichard et al. 2000). Dit programma gaat in de dataset op zoek naar clusters van individuen die op basis van hun genetische samenstelling waarschijnlijk behoren tot dezelfde voortplantingsgroep, ofwel een groep van dieren die zich vooral onderling voortplant en relatief minder contact heeft met dieren buiten deze groep. Indien duidelijk van deze clusters worden gevonden, is dit een teken dat sprake is van duidelijke subpopulaties. Binnen de huidige dataset werden echter geen duidelijke subpopulaties aangetroffen. Alle individuen werden aan hetzelfde cluster toegewezen.

Hoewel dus geen sprake is van een opsplitsing in genetische duidelijk herkenbare subpopulaties, betekent dit niet dat in het geheel geen ruimtelijke patronen aanwezig zijn. Om de ruimtelijke verschillen in meer detail te onderzoeken is gebruik gemaakt van een PCA-analyse. Bij deze analyse wordt het grote aantal gegevens per individu (alle SNP merkers) samengevat in een klein aantal nieuwe variabelen, op zodanige manier dat deze variabelen zoveel mogelijk van de variatie in de totale dataset verklaren. Voor deze variabelen wordt per individu een score berekend, die kan worden uitgezet in een grafiek (Figuur 4). Elke punt in deze grafiek geeft één individu weer. Hoe dichter twee individuen bij elkaar liggen in deze grafiek, hoe sterker in hun genetische overeenkomst. De nummering van de individuen in Figuur 4 komt overeen met de monsternummers in Figuur 2, zodat makkelijk een vergelijking te maken is tussen hun genetische overeenkomst en hun geografische locatie.



Figuur 4: Grafische weergave van de eerste twee variabelen (assen) van een PCA analyse op de volledige dataset. Elk punt geeft een individu weer, waarbij nummers en kleuren overeen komen met Figuur 2. Zwart = Zuiderzeeland, rood = WMNL, groen = Brabantse waterschappen, donkerblauw = Noordoost Nederland, lichtblauw = Niedersachsen, paars = Vlaanderen

Het eerste wat opvalt in Figuur 4 is dat individuen uit dezelfde deelregio (zelfde kleur) meestal relatief dicht bij elkaar staan, en dus relatief sterk verwant zijn. Er is echter geen enkele deelregio waarvan de individu echt een geheel afzonderlijk cluster vormen, de verschillen binnen een deelregio zijn veelal even groot als de verschillen met het meest verwante individu van een andere deelregio.

De ruimtelijke verschillen zijn echter wel degelijk heel goed te duiden. Langs de eerste PCA-as is een duidelijk onderscheid te zien tussen de Vlaamse monsters aan de linkerkant, en de Groningse en Duitse monsters aan de rechterkant. De Brabantse monsters vertonen relatief veel onderling verschil, waarbij zoals verwacht de West-Brabantse monsters relatief sterk verwant zijn aan de Vlaamse monsters, en de monsters uit het noorden en oosten van Brabant meer lijken op de Duitse monsters. De monsters uit Flevoland zijn op de eerste PCA-as relatief sterk gelijk aan de Duitse monsters.

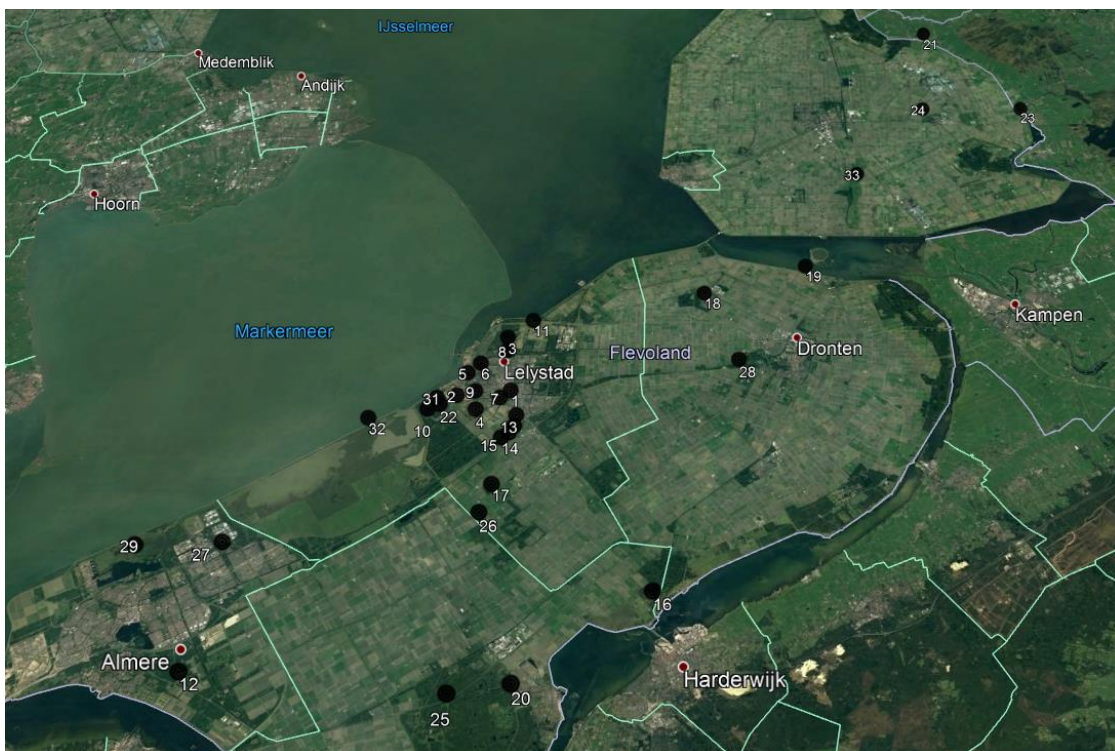
Al met al zijn dus wel duidelijke ruimtelijke verschillen, maar die verschillen verlopen stapsgewijs (gelijkmatig) in plaats van via een hard onderscheid. Dit patroon is in overeenstemming met de gevonden relatie tussen geografische en genetische afstand, en met het gebrek aan subpopulaties in de STRUCTURE analyse.

Verschillende dispersieroutes richting Noord-Holland?

Wanneer we inzoomen op de individuen uit Noord-Holland, valt op dat deze relatief sterk verschillen in genetische verwantschap met andere individuen. Opvallend is individu 35, gevangen nabij Enkhuizen (Figuur 2), die in de PCA clustert midden tussen de dieren uit Lelystad. Dit suggereert een sterke verwantschap. Meest waarschijnlijk betreft dit een voorbeeld van een migrant vanuit Flevoland, die mogelijk via de Houtribdijk is overgestoken van Lelystad naar Enkhuizen. Individu 34, 36 en 37 uit de kop van Noord-Holland lijken relatief sterk op de individuen uit de NOP en Groningen. Op basis van de huidige dataset is het lastig om met zekerheid te zeggen of het migranten betreft, of nakomelingen van een lokale populatie met een origine uit Noord-Nederland of de NOP. Vervolg analyse met meer monsters uit o.a. Friesland en Noord-Holland zou kunnen uitwijzen of de dispersie van dieren richting de kop van Noord-Holland voornamelijk via de houtribdijk, de afsluitdijk of anderszins verloopt.

Verschillen binnen Flevoland

Wanneer we inzoomen op de monsters uit Flevoland (zwart) blijkt ook hier een duidelijke relatie zichtbaar met de geografische locatie van de monsters. Figuur 4 laat drie subgroepen zien van monsters die genetisch relatief sterk verwant zijn. Het bovenste groepje (monster 21,23,24 en 33) betreft de monsters uit de Noordoostpolder (NOP). Zoals verwacht zijn deze relatief sterk verwant aan de Groningse monsters. De onderste, en grootste groep betreft individuen gevangen langs randen van de OVP en ten zuidwesten daarvan (Almere/Zeevolde; zie Figuur 5 voor een detailkaart van de vangstlokaties in Flevoland). Langs de tweede as van de PCA onderscheidt deze groep zich vrij duidelijk van de overige monsters. De mogelijkheid bestaat dat het hier directe migranten uit de OVP betreft, maar monsters uit de OVP zelf zouden nodig zijn om dit te bevestigen. Het middelste groepje betreft voornamelijk individuen gevangen aan de noordoostzijde van Lelystad. In genetisch opzicht staan deze midden tussen de dieren uit de OVP en de dieren uit de NOP in. Dit suggereert dat het hier geen directe migranten uit de OVP betreft, maar lokale nakomelingen van gemengde origine. Ook hier lijkt weer sprake van een geleidelijke overgang in genetische samenstelling tussen de dieren in Noord-Nederland en in de OVP. Een grotere dichtheid van monsters verspreid over Flevoland is nodig om deze geleidelijke overgang verder te onderbouwen.



Figuur 5 Detailkaart van vangstlokaties van de 32 muskusratten uit Flevoland

Conclusies

- 1) Individuele herkenning van muskusratten is op basis van de hier gebruikte methode (SNP-analyse) ruimschoots mogelijk
- 2) De huidige resultaten suggereren dat duidelijke verschillen in genetische samenstelling aanwezig zijn dus muskusratten uit verschillende regio's, waarbij echter geen sprake lijkt van meerdere op zichzelf staande populaties, maar van geleidelijke overgangen in genetische samenstelling als gevolg van uitwisseling via migratie over afstanden van veelal enkele kilometers.
- 3) De bovenbeschreven patronen en voorbeelden geven aan dat het vrij goed mogelijk lijkt om op basis van genetische analyse via SNP-merkers uitspraken te doen over de belangrijkste dispersie-routes, verschillen in herkomst, het vóórkomen van verspreiding op korte en langere afstand. Op basis van de huidige dataset zijn hierover al de nodige hypothesen te formuleren, maar analyse van een groter aantal monsters met betere ruimtelijke dekking is noodzakelijk om deze te bevestigen.

Kansen voor vervolg

Op basis van de resultaten van de huidige pilot is te concluderen dat een uitgebreidere genetische studie op basis van SNP-merkers inderdaad waardevol kan zijn om het verspreidingsgedrag van muskusratten in ons land beter te begrijpen. Naast bevestiging van de globale patronen die uit de huidige analyse al naar voren kwamen, biedt zo'n vervolgstudie ook de mogelijkheid om meer detailvragen te beantwoorden, die bruikbaar zijn in de praktijk van de bestrijding.

Meer zicht op de rol van landschapselementen zoals (water)wegen als opening of barrière voor migratie
Nieuwe statistische technieken op basis van zogenaamde landschaps-genetische modellen, maken het mogelijk om op basis van genetische afstanden tussen individuele dieren een schatting te maken van de rol van verschillende elementen in het landschap als trekroute of juist barrière voor verspreiding. Op basis van modelsimulaties zijn voor het studiegebied (mits voldoende dekkende bemonstering) plekken aan te wijzen waar meer en minder uitwisselingsmogelijkheden lijken te zijn, en kan gekeken worden of dit samenhangt met een bepaald type element (breedte van de watergang, wegen, bewoonde gebieden, etc), zodat daar ook buiten het studiegebied rekening mee gehouden kan worden. Meer duidelijkheid hierover bij de muskusrat maakt het makkelijker om keuzes te maken bij het verdelen van de mankracht voor bestrijding, bijvoorbeeld door meer nadruk te leggen op een bepaald type watergang. Dit type technieken is o.a. met succes toegepast om een meer gericht en effectief beheer te ontwikkelen voor vossen in Californië (Sacks et al. 2016), Amerikaanse nerts in Schotland (Zalewski et al. 2009), en zelfs voor zeer mobiele vliegende plaaginsecten (Ben Abdelkrim et al. 2017).

Betere afbakening van effectieve bestrijdingsregios

Landschapsgenetische modellen, die naast genetische ook geografische data gebruiken, zijn ook bruikbaar om subtiele substructuren binnen een populatie zichtbaar te maken, zelfs als er geen harde grenzen tussen subpopulaties bestaan, zoals het geval lijkt bij de Nederlandse muskusratten. Dit is heel waardevol voor het bepalen van de meest effectieve afbakening van bestrijdingsregios. Hoe beter hierin keuzes gemaakt worden, hoe groter de kans dat het lukt om een bepaalde regio geheel leeg te vangen. Een mooi voorbeeld waar dit in de praktijk is toegepast is een studie van Richardson et al. (2016) voor bruine ratten in de sloppenwijken van de Braziliaanse stad Salvador, waarbij ze konden laten zien dat uitwisseling vooral binnen wijken in verschillende valleien plaatsvond en minder tussen wijken, en op basis daarvan een effectieve indeling in bestrijdingsregios konden maken, en de verspreiding van leptospirose binnen de stad zo goed mogelijk tegen te gaan.

Meer zicht op de meest gebruikte dispersieroutes

Wanneer bestrijdingsregios bekend zijn, kan per regio gekeken worden wat de belangrijkste brongebieden zijn. De huidige resultaten voor Noord-Holland laten hier al een eerste voorbeeld van zien.

Vergelijkbare technieken worden door WENR o.a. toegepast voor herten en zwijnen (De Groot et al. 2016a; Jansman et al. 2013). In combinatie met de eerder genoemde barrière-analyse, is het dan mogelijk om te bepalen op welke plekken aan de rand van de regio extra nadruk bij de bestrijding nodig is, om immigratie van muskusratten zo goed mogelijk tegen te gaan.

Nieuwe immigratie versus lokale aanwas

Mocht het lukken om binnen een regio de aantallen sterk terug te dringen, dan is op basis van de genetische verwantschap tussen dieren ook een beeld te krijgen van de mate waarin een eventuele nieuwe stijging in aantallen te danken is aan voortplanting van dieren die toch nog aanwezig waren, of vooral aan immigratie van buitenaf. Een voorzichtig voorbeeld daarvan zijn de resultaten van deze studie voor de dieren in Lelystad.

Meer zicht op verspreidingsafstanden

Een uitgebreidere studie maakt het mogelijk om een realistischere inschatting te maken voor de meest voorkomende verspreidingsafstanden van muskusratten (zie o.a. Zalewski et al. 2009 voor een uitgebreide analyse van verspreidingsafstanden voor Amerikaanse nerts). Dit is waardevol om te kunnen inschatten met welke snelheid de dieren zich kunnen verspreiden in het landschap in het landschap en op welke schaal een bufferzone langs eventuele grenzen moet worden ingericht. Mits voldoende data beschikbaar zijn, kan ook geprobeerd worden om o.a. familierelaties binnen de monsterset te gebruiken om gevallen van lange-afstandsverspreiding in beeld te brengen. Voor boommarters in Nederland bracht zo'n methode aan het licht dat dieren zich over tientallen kilometers door dichtbevolkt gebied weten te verspreiden en daarbij meerdere snelwegen oversteken (De Groot et al. 2016b).

Vervolgvragen

Uit het bovenstaande volgen de volgende 6 vervolgvragen. Dit zijn feitelijk nadere uitwerkingen van de in vraag 3 in deze pilot (hoe vaak, hoe ver en in welke richting verspreiden muskusratten zich?), maar nu verder toegespitst op toekomstig beheer. Het betreft hier vragen waarvoor beantwoording praktisch gezien onmogelijk is met conventionele methoden (o.a. telemetrie), maar die op basis van deze pilot binnen bereik lijken te komen met gebruik van genetische SNP-analyse:

- 1) Zijn er landschapselementen te identificeren die een rol spelen als opening of barrière voor migratie?
- 2) Wat zijn de meest gebruikte dispersieroutes binnen Nederland?
- 3) Is het mogelijk de bestaande afbakening van bestrijdingsregio's in Nederland te verbeteren?
- 4) Hoe belangrijk is nieuwe immigratie versus lokale aanwas in gebieden waar de Muskusrat vrijwel volledig verwijderd lijkt te zijn?
- 5) Wat is de gemiddelde en maximale verspreidingsafstand, en wat betekent dit voor de inrichting van bufferzones langs grenzen met onbestreden gebied?
- 6) In hoeverre zijn verspreidingsafstanden groter waar dichtheden lager zijn?

Toepassing in het beheer

Migratie en dispersie worden als populatie-dynamische processen steeds belangrijker, naarmate de populatie dichtheid afneemt. De huidige bestrijding heeft al enige jaren dermate veel invloed op de populatie dat er een trend is van dalende vangsten. Bos *et al.* (2016) en Van Loon *et al.* (2017a+b) interpreteren dit als dalende Muskusrat populaties. Momenteel overweegt de UvW zelfs in hoeverre het wenselijk en mogelijk is om de huidige doelstelling bij te stellen en complete verwijdering van de soort na te streven. Onder die omstandigheden zullen antwoorden op de hierboven gestelde toegepaste vragen waarschijnlijk helpen dit doel eerder of efficiënter te bereiken.

Met de op basis van deze technieken te verzamelen informatie zullen de bestrijdingsorganisaties beter kunnen onderscheiden welk deel van de vangst lokale aanwas is en wat instroom. Daarmee kan de

arbeid om verdere groei in de toekomst te voorkomen gericht worden ingezet. Omdat Muskusratten bestrijding een buitengewoon arbeidsintensieve activiteit is, is het aannemelijk dat zich dat in een kostenbesparing vertaalt.

Daarnaast helpt het verzamelen van deze informatie in de besluitvorming intern en de communicatie extern. Intern kan helderder worden afgewogen of uitzonderingen op een overigens vlakdekkende strategie kunnen worden geaccepteerd. Naar buiten toe helpt het om het gesprek met terreinbeherende organisaties of buitenlandse partners inhoudelijker te voeren. Ook draagt deze informatie bij aan de motivatie van bestrijders die aangeven over deze informatie te willen kunnen beschikken. Dit omdat ze nu vaak in het duister tasten bij plotseling opduikende vangsten..

We verwachten dus dat uitvoering van dit onderzoek op verschillende manieren zal helpen om een doel van complete verwijdering eerder te behalen, namelijk via: mogelijkheid om gericht te werken, betere onderbouwing van het gesprek met partners, publiek en terreinbeherende organisaties in Nederland maar juist ook met buurlanden, en via verhoging van de motivatie bij bestrijders.

We sluiten niet dat dit tot een kostenbesparing zal leiden.

Aanbevelingen voor de opzet van een vervolgstudie

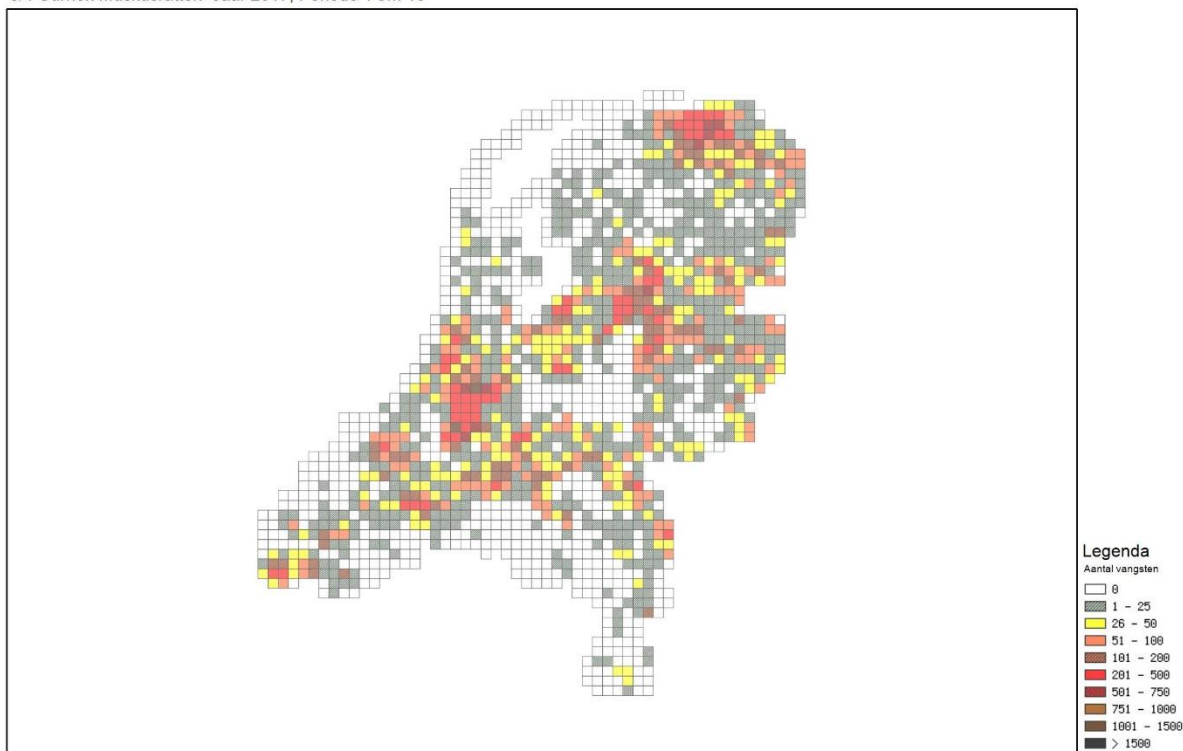
Essentieel voor het beantwoorden van de bovenstaande vragen is een dataset met een betere ruimtelijke dekking, die meer overlap heeft met de huidige verspreiding van de populatie (zie o.a. Van Strien 2017). De huidige dataset bevatte bijvoorbeeld geen monsters uit hotspots van muskusratten in West-Overijssel en Zuid-Holland, en evenmin van gebieden die mogelijk van belang zijn als uitwisselingsroute, zoals Friesland en Oost-Nederland. Een homogene ruimtelijke dekking lijkt ideaal om systematisch het effect van afstand (vervolgvragen 5+6) los te kunnen beoordelen van effecten van landschappelijke barrières en ecologische verbindingen (vervolgvragen 1+2).

Het kan daarom zinvol zijn om een monsterplanning te baseren op het huidige vangst registratie systeem en de huidige kennis over de verspreiding van muskusratten in Nederland. Streven zou dan moeten zijn om uit zoveel mogelijk uurhokken waarin muskusratten voorkomen tenminste 1 monster op te nemen, en (eventueel) een wat grotere steekproef te nemen (2-5 dieren) in uurhokken waar de hoogste dichtheden muskusratten voorkomen.

Een grove berekening op basis van een overzicht van vangsten per uurhok in 2017 (Figuur 6) laat zien dat een representatieve monsterset idealiter zou bestaan uit tenminste 900 monsters¹. Om ook breder zicht te krijgen op ruimtelijke verschillen in Noordwest Europa, zou dit moeten worden aangevuld met monsters uit tenminste Vlaanderen, Wallonië, Nedersachsen en Nordrhein-Westfalen. Dit zou resulteren in een totaal van tenminste 1000 monsters. Het lijkt zinvol om te verkennen of het haalbaar is om in samenwerking met collega's uit deze vier regio's ook aldaar een vlakdekkende bemonstering te realiseren. Dit zou resulteren in een analyse die ook op een internationaal schaalniveau barrières en trekroutes kan identificeren.

Om na te gaan in hoeverre de huidige hoge resolutie van meer dan 20000 SNP's per monster echt noodzakelijk is om ruimtelijke patronen goed te kunnen onderscheiden, hebben we dezelfde PCA analyse als in Figuur 3 nog enkele malen herhaald met subsets van onze data, bestaande uit verschillende aantallen SNP's. Deze vergelijking liet zien dat bij gebruik van 10000 SNP's per sample de patronen nog vrijwel identiek zijn. Bij aantallen van enkele duizenden SNP's zijn de verschillen tussen regio's nog goed te onderscheiden, maar loopt de resolutie binnen Flevoland terug. Echter, een halvering van de analysekracht per monster lijkt dus haalbaar, en zou flink schelen in kosten van de uitbesteedde sequentie-analyse in een vervolgproject.

¹ Ter vergelijking: de studie van Richardson et al. (2016) voor ratten in de stad Salvador omvatte ~700 monsters. Eerdere studies met ~200 dieren bleken onvoldoende resolutie op te leveren.



Figuur 6: Aantal vangsten per uurhok in Nederland in 2017. Bron: vangstregistratie UvW.

Referenties

- Ben Abdelkrim A, Hattab T, Fakhfakh H, Belkadhi MS, Gorsane F (2017) A landscape genetic analysis of important agricultural pest species in Tunisia: The whitefly *Bemisia tabaci*. *PLoS ONE* 12(10): e0185724.
- Bos, D. et al. (2016) Beheer van Muskusratten in Nederland. Effectiviteit van bestrijding op grond van historie en een grootschalige veldproef. Deel 2. Achtergrond studies. A&W rapport 2191. Veenwouden: Altenburg & Wymenga ecologisch onderzoek.
- De Groot, G.A.; Spek, G.J.; Bovenschen, J.; Laros, I.; Meel, Tom van; Jansman, H.A.H. (2016a) Herkomst en migratie van Nederlandse edelherten en wilde zwijnen: een basiskaart van de genetische patronen in Nederland en omgeving. Wageningen: Alterra, Wageningen-UR, (Alterra-rapport 2724).
- De Groot, G.A.; Hofmeester, T.R.; Haye, M.J.J. la; Jansman, H.A.H.; Perez-Haro, M.I.; Koelewijn, H.P. (2016b) Hidden dispersal in an urban world: genetic analysis reveals occasional long-distance dispersal and limited spatial substructure among Dutch pine martens. *Conservation Genetics* 17 (1). - p. 111 - 123.
- Haye, M.J.J. la; De Groot, G.A. (2017) Soort- en individuele herkenning van noordse woelmuis met eDNA: een pilot langs het kanaal Omval-Kolhorn. Nijmegen: Zoogdiervereniging VZZ, rapport 2017.05.
- Jansman, H.A.H., T. Hofmeester, G.A. de Groot, et al. (2013) Genetica van wilde zwijnen in Limburg en Noord-Brabant; Verspreiding, herkomst en verwantschap. Wageningen, Alterra, Alterra-rapport 2404.
- Pritchard, J.K. M. Stephens and P. J. Donnelly (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data.. *Genetics* 155: 945-959.
- Richardson J.L., Burak M.K., Hernandez C., et al. (2016) Using fine-scale genetics of Norway rats to improve control efforts and reduce leptospirosis risk in urban slim environments. *Evolutionary Applications* 10: 323-337.
- Sacks B.N., Brazeal J.L. en JC. Lewis (2016) Landscape genetics of the nonnative red fox of California. *Ecology & Evolution* 6: 4775-4791.
- van Loon, E. E. et al. (2017) Statistical estimation of Musk rat abundance. STOWA 2017-41. Veenwouden/Amsterdam: Altenburg & Wymenga /Universiteit van Amsterdam.
- van Loon, E. et al. (2017) 'A historical perspective on the effects of trapping and controlling the muskrat (*Ondatra zibethicus*) in the Netherlands', *Pest Management Science*, 73(2), pp. 305-312. doi: 10.1002/ps.4270.
- Van Strien M.J. (2017) Consequences of population topology for studying gene flow using link-based landscape genetic models. *Ecology & Evolution* 7: 5070-5081.
- Zalewski A., Piartney S.B., Zalewska H., Lambin X. (2009) Landscape barriers reduce gene flow in an invasive carnivore: geographical and local genetic structure of American mink in Scotland. *Molecular Ecology* 18: 1601-1615.

© 2018 Wageningen Environmental Research (instituut binnen de rechtspersoon Stichting Wageningen Research), Postbus 47, 6700 AA Wageningen, T 0317 48 07 00, www.wur.nl/environmental-research
Wageningen Environmental Research is onderdeel van Wageningen University & Research.

- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking van deze uitgave is toegestaan mits met duidelijke bronvermelding.
- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking is niet toegestaan voor commerciële doeleinden en/of geldelijk gewin.
- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking is niet toegestaan voor die gedeelten van deze uitgave waarvan duidelijk is dat de auteursrechten liggen bij derden en/of zijn voorbehouden.

Wageningen Environmental Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.