



Vlaanderen
is wetenschap



eDNA-onderzoek naar de aanwezigheid van otter, muskusrat, beverrat, waterspitsmuis, Chinese en Japanse wolhandkrab, rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft, en de aanwezige visgemeenschappen in waterlopen van het Waterschap Brabantse Delta

Hanne Danneels, Charlotte Van Driessche, Sabrina Neyrinck, Berdien De Beer,
David Halfmaerten en Rein Brys

Auteurs:

Hanne Danneels , Charlotte Van Driessche , Sabrina Neyrinck , Beldien De Beer , David Halfmaerten , Rein Brys 

Reviewers:

Nick Dillen , Daniel De Charleroy

Het INBO is het onderzoeksinstituut van de Vlaamse overheid dat via onafhankelijk toegepast wetenschappelijk onderzoek, data- en kennisontsluiting het biodiversiteitsbeleid en -beheer onderbouwt en evalueert.

Vestiging:

INBO Brussel, Herman Teirlinckgebouw, Havenlaan 88 bus 73, 1000 Brussel, België
vlaanderen.be/inbo

e-mail:

hanne.danneels@inbo.be

Wijze van citeren:

Danneels, H., Van Driessche, C., Neyrinck, S., De Beer, B., Halfmaerten, D. & Brys, R. (2026). eDNA-onderzoek naar de aanwezigheid van otter, muskusrat, beverrat, waterspitsmuis, Chinese en Japanse wolhandkrab, rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft, en de aanwezige visgemeenschappen in waterlopen van het Waterschap Brabantse Delta. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2026 (20). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel. DOI: [10.21436/inbor.143733573](https://doi.org/10.21436/inbor.143733573)

D/2026/3241/124

Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2026 (20)

ISSN: 1782-9054

Verantwoordelijke uitgever:

Hilde Eggermont

Foto cover:

Muskusrat (Rollin Verlinde / Vildaphoto)

Dit onderzoek werd uitgevoerd in opdracht van:

het Waterschap Brabantse Delta



Dit werk valt onder een [Creative Commons Naamsvermelding 4.0 Internationaal-licentie](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

eDNA-onderzoek naar de aanwezigheid van otter, muskusrat, beverrat, waterspitsmuis, Chinese en Japanse wolhandkrab, rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft, en de aanwezige visgemeenschappen in waterlopen van het Waterschap Brabantse Delta

Hanne Danneels, Charlotte Van Driessche, Sabrina Neyrinck, Berdien De Beer, David Halfmaerten & Rein Brys

doi.org/10.21436/inbor.143733573

Dankwoord/Voorwoord

Dit rapport werd opgesteld in opdracht van en gefinancierd door het Waterschap Brabantse Delta. Dank aan Michiel Cornelis voor de begeleiding van dit project. Alsook dank aan Nick Dillen voor de ondersteuning bij de bio-informatische analyses. De infrastructuur en dienstverlening gebruikt bij deze bio-informatische analyses werd voorzien door het VSC (Vlaams Supercomputer Centrum), gefinancierd door het FWO en de Vlaamse overheid.



Samenvatting

In deze studie onderzochten we de aanwezigheid van Europese otter (*Lutra lutra*), muskusrat (*Ondatra zibethicus*), beverrat (*Myocastor coypus*), waterspitsmuis (*Neomys fodiens*), Chinese en Japanse wolhandkrab (*Eriocheir sinensis* en *Eriocheir japonica*), en rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft (*Procambarus clarkii* en *Faxonius limosus*) in waterlopen van het Waterschap Brabantse Delta. Dit onderzoek werd uitgevoerd met behulp van eDNA-gebaseerde analyses in twintig waterstalen genomen op 3, 4 en 7 juli 2025. Bijkomend werden 50 stalen die in 2024 in het Waterschap Brabantse Delta genomen werden, gescreend op de aanwezigheid van waterspitsmuis. De otter en waterspitsmuis zijn zeldzame en beschermde soorten, terwijl de muskusrat, beverrat, Chinese en Japanse wolhandkrab, en rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft invasieve uitheemse soorten zijn die moeten bestreden worden door hun potentieel negatieve impact op inheemse soorten en hun omgeving. Met deze studie gingen we na of de otter terugkeert naar het studiegebied, en bijkomend werd er informatie bekomen over de verspreiding van muskusrat en de overige uitheemse soorten. Tot slot werd via eDNA-metabarcoding op elke locatie ook de visgemeenschap in kaart gebracht als indicator van de waterkwaliteit en potentiële voedselbron van de otter.

Op één locatie in de Boven Mark troffen we lichte DNA-sporen van otter aan, terwijl in geen enkel staal genomen in 2024 of 2025 de aanwezigheid van waterspitsmuis kon worden aangetoond. Muskusrat daarentegen werd in 2025 op zes locaties waargenomen. Hiervan vertoonde één staal een veel hogere concentratie in vergelijking met de andere positieve locaties, dit wijst op de aanwezigheid van een omvangrijke populatie in transect 18 in de Turfvaart-Bijloop. Beverrat werd niet gedetecteerd, terwijl mitochondriale lijnen van zowel de Chinese als de Japanse wolhandkrab op meerdere locaties werden aangetroffen. Daarnaast werd de rode Amerikaanse rivierkreeft duidelijk gedetecteerd in acht stalen, en de gevlekte in zeven, met bijkomende lichte detecties in twee stalen.

In totaal werden er 25 verschillende vissoorten waargenomen. Er zijn lichte verschillen waarneembaar t.o.v. de eDNA-monitoring die in 2024 werd uitgevoerd (Danneels et al. 2025). Zo werden (gestippelde) alver (*Alburnus sp.*), diklipharder/dunlipharder (*Chelon labrosus/Chelon ramada*), graskarper (*Ctenopharyngodon idella*) en regenboogforel (*Oncorhynchus mykiss*) niet meer teruggevonden in de stalen van 2025, terwijl kolblei (*Blicca bjoerkna*) in 2025 bijkomend werd gedetecteerd. De visgemeenschap in transect 3 in de Boven Mark, waar otter-DNA licht werd aangetroffen, omvatte verschillende prooi-soorten van otter, en soorten die wijzen op een goede waterkwaliteit. Dit ondersteunt de geschiktheid van deze locatie als foerageergebied voor otters.



English abstract

In this study, we investigated the presence of European otter (*Lutra lutra*), muskrat (*Ondatra zibethicus*), coypu (*Myocastor coypus*), Eurasian water shrew (*Neomys fodiens*), Chinese and Japanese mitten crab (*Eriocheir sinensis* and *Eriocheir japonica*), and red swamp crayfish and spinycheek crayfish (*Procambarus clarkii* and *Faxonius limosus*) in waterways of the Waterschap Brabantse Delta, using eDNA-based analyses. Twenty water samples were collected on 3, 4 and 7 July 2025. Additionally, 50 samples taken in the Waterschap Brabantse Delta in 2024 were screened for the presence of the Eurasian water shrew. The otter and water shrew are rare and protected species, while the remaining target species are invasive non-native species with potential negative impacts on native biodiversity and their environment. This study assessed whether the otter is returning to the study area, and additionally, information was gathered to support more targeted muskrat control and to gain insight into the distribution of the other invasive species. Finally, eDNA metabarcoding was applied at each location to characterise the fish community as an indicator of water quality and as a potential food source for the otter.

Low-level eDNA traces of otter were detected at one location in the Boven Mark, while no evidence of water shrew was found in any sample from either 2024 or 2025. Muskrat, on the other hand, was detected at six locations in 2025, with much higher concentrations in one sample compared to the other positive locations, indicating the presence of a substantial population in transect 18 in the Turfvaart-Bijloop. Coypu was not detected in any of the samples, while mitochondrial lines of both Chinese and Japanese mitten crab were detected at multiple locations. Red swamp crayfish was clearly detected in eight samples and spinycheek crayfish in seven, with additional low-level detections in two samples.

A total of 25 fish species were recorded across the sampled transects. Minor shifts in species composition versus the 2024 sampling were observed: bleak (*Alburnus sp.*), thick-lipped grey mullet/thin-lipped grey mullet (*Chelon labrosus/Chelon ramada*), grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) were no longer detected in 2025, while white bream (*Blicca bjoerkna*) was newly recorded. The fish community at transect 3 in the Boven Mark, where otter DNA was detected, included several known otter prey species and water quality indicator species, supporting the suitability of this location as a foraging area for otters.



Inhoudstafel

Dankwoord/Voorwoord	1
Samenvatting	1
English abstract	3
Inhoudstafel	4
1 Beschrijving van de studie	5
2 Beschrijving van de soorten	7
2.1 Otter	7
2.2 Muskusrat	8
2.3 Beverrat	9
2.4 Waterspitsmuis	10
2.5 Wolhandkrabben	11
2.6 Rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft	12
3 Technische details	13
3.1 Staalname in het veld	13
3.2 Labo-analyses en kwaliteitscontrole	18
3.3 Detectie van otter, muskusrat, beverrat, waterspitsmuis, wolhandkrabben, en rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft	21
3.4 In kaart brengen van de visgemeenschappen	23
3.5 Barcoding van potentiële windes	24
4 Resultaten	25
4.1 Algemeen	25
4.2 Otter detecties	28
4.3 Muskusrat en beverrat detecties	29
4.4 Waterspitsmuis detecties	31
4.5 Detecties van wolhandkrabben	31
4.6 Detecties van rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft	33
4.7 Aanwezige visgemeenschappen	35
4.7.1 Algemeen	35
4.7.2 Vergelijking visgemeenschappen zoals waargenomen in 2024 en 2025	39
4.7.3 Identificatie van winde en serpeling	43
4.7.4 Relatie tussen visdiversiteit en otteraanwezigheid	44
5 Conclusie	45
6 Referenties	47
Lijst van figuren	50
Lijst van tabellen	54



1 Beschrijving van de studie

In de zomer van 2025 (op 3, 4 en 7 juli) werden eDNA-stalen genomen in verschillende waterlopen in het zuidwesten van Nederland, binnen het beheergebied van het Waterschap Brabantse Delta. Het doel van dit onderzoek was om de aanwezigheid van Europese otter (*Lutra lutra*), muskusrat (*Ondatra zibethicus*), beverrat (*Myocastor coypus*), waterspitsmuis (*Neomys fodiens*), Chinese en Japanse wolhandkrab (*Eriocheir sinensis* en *Eriocheir japonica*), en rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft (*Procambarus clarkii* en *Faxonius limosus*) na te gaan in twintig rivier- of beektransecten (hierna kortweg transecten genaamd) binnen het betreffende gebied, alsook de aanwezige visgemeenschappen in kaart te brengen.

Zowel otter, muskusrat, beverrat als waterspitsmuis zijn slechts gering terug te vinden in het water en zijn overwegend nachtdieren waardoor ze bekend staan als uiterst ‘discrete’ soorten waarvan de aanwezigheid in het landschap doorgaans weinig opvallend en moeilijk te bepalen is. Zeker bij otter maakt zowel de verborgen leefwijze als de zeer lage populatiedichtheid het moeilijk om zijn aanwezigheid aan te tonen. Hierdoor kunnen otter, maar eveneens muskusrat, beverrat en waterspitsmuis vaak onder de radar aanwezig zijn. Hetzelfde geldt voor opkomende (uitheemse) soorten zoals wolhandkrabben en Amerikaanse rivierkreeften. Screening via eDNA-barcoding op basis van droplet digital PCR (ddPCR) analyses is hierbij een innovatieve en erg trefzekere methode, die zijn meerwaarde reeds heeft bewezen voor dergelijk moeilijk te detecteren semi-aquatische soorten of opkomende (uitheemse) soorten (Everts et al., 2021; Van Driessche et al., 2022).

In het zuiden van het beheergebied van het Waterschap Brabantse Delta, tussen Breda en de Belgisch-Nederlandse grens werden door de opdrachtgever twintig transecten geselecteerd en door INBO onderzocht op basis van eDNA (*‘environmental DNA’* of omgevings-DNA). Dit is genetisch materiaal dat organismen achterlaten in hun omgeving via huidcellen, schubben, uitwerpselen of slijm. Omdat de genetische code soortspecifiek is, laat eDNA toe om de aanwezigheid van afzonderlijke soorten of volledige gemeenschappen aan te tonen zonder directe waarneming van de organismen zelf. Een deel van de in 2024 bemonsterde transecten werden eveneens in 2025 op een gelijkaardige manier voor eDNA-onderzoek bemonsterd, waardoor resultaten van beide jaren met elkaar kunnen worden vergeleken (Danneels et al., 2025). Elk van de transecten werd onderverdeeld in meerdere staalnamelocaties, zodat water op een gebiedsdekkende manier binnen het hele transect werd verzameld, gefilterd en onderzocht op de aanwezigheid van de betreffende soorten. De twintig resulterende eDNA-stalen werden geanalyseerd in het genetisch labo van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek (INBO).



Door gebruik te maken van eDNA-barcoding werden in het betreffende gebied inzichten bekomen over de aanwezigheid en verspreiding van otter, muskusrat, beverrat, waterspitsmuis, Chinese en Japanse wolhandkrab, en rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft. Daarnaast biedt de soortensamenstelling van de visgemeenschappen, bepaald via eDNA-metabarcoding, waarbij meerdere soorten gelijktijdig uit één staal worden geïdentificeerd, inzichten in de ecologische kwaliteit van de waterlopen en het potentiële voedselaanbod voor de otter.

Het gebruik van eDNA-onderzoek vermijdt hoge kosten en grote tijdsinvesteringen die vaak nodig zijn om hetzelfde resultaat te bekomen via conventionele detectiemethoden zoals cameravallen, sporenonderzoek of afvangsten (Brys et al., 2021a; Everts et al., 2021; Van Driessche et al., 2022). Bovendien worden het studiegebied en de opgespoorde soorten slechts minimaal verstoord. Sinds enkele jaren heeft het INBO een erg efficiënt en goed werkend protocol ontwikkeld om de aanwezigheid van een groot aantal soorten via eDNA in het water op te sporen (zie details in Brys et al., 2021a; Van Driessche et al., 2024b).



2 Beschrijving van de soorten

2.1 Otter

De Europese otter (*Lutra lutra*) is een erg schuw, semi-aquatisch zoogdier, en zeldzaam in het zuidwesten van Nederland (Fig. 1). De soort is een grote marterachtige met een slanke bouw, korte poten, een lichaamslengte van 60 tot 95 cm, en een kegelvormige staart tot 50 cm. De otter staat op de IUCN Rode Lijst geclassificeerd als ‘bijna bedreigd/kwetsbaar’, waarbij nauwkeurig inzicht in de huidige verspreiding ontbreekt. Het onderzoeken van de verspreiding van de otter in het studiegebied is dus uiterst belangrijk om passende beheer- en instandhouding campagnes te kunnen opmaken en uitvoeren.

Rond 1900 was de otter een algemene soort in Nederland, maar in 1988 werd de soort er als uitgestorven beschouwd ten gevolge van jacht, habitatfragmentatie en vervuiling van de oppervlaktewateren, wat ook de visgemeenschappen en het voedselaanbod voor de otter aantastte (de Vos, 2021). Na een herintroductie in 2002 in Friesland, gevolgd door bijkomende uitzettingen, is de soort sindsdien aan een gestage opmars bezig. In 2024 werd via eDNA-stalen in hetzelfde studiegebied otter-DNA, zij het in erg lage concentraties, gedetecteerd in twee transecten in de Boven Mark (Danneels et al., 2025).



Figuur 1. Europese otter (*Lutra lutra*) met slanke bouw, korte poten en kegelvormige staart. Foto: Peter Trimming.



2.2 Muskusrat

De muskusrat (*Ondatra zibethicus*) is, net als de otter, een semi-aquatisch zoogdier (Fig. 2). Het betreft een niet-inheems invasief knaagdier met een dikke, bruine vacht en kleine ogen, dat makkelijk te onderscheiden is van de beverrat door zijn zijdelings afgeplatte, onbehaarde staart die vrijwel even lang is als zijn lichaam. Deze soort is inheems in Noord-Amerika, maar werd door menselijk handelen geïntroduceerd in Europa en Noord-Azië, waar ze bekend is als een invasieve uitheemse soort (IUS). De muskusrat verspreidt ziekteverwekkers en kan aanzienlijke schade veroorzaken aan landbouwgewassen, dijken en oevers. De hoge fecunditeit, in combinatie met het ontbreken van natuurlijke vijanden, kan leiden tot een explosieve populatiegroei, waardoor het ecologisch evenwicht verstoord kan raken. De soort staat daarom sinds 2017 op de Europese Unielijst voor invasieve soorten (EU-verordening 1143/2014), wat impliceert dat muskusratten niet verhandeld, gehouden, gekweekt, getransporteerd of geïmporteerd mogen worden, en dat lidstaten verplicht zijn de verspreiding actief tegen te gaan.

In de waterlopen van het Waterschap Brabantse Delta komt de muskusrat regelmatig voor en vindt actieve eradicatie plaats. Hierdoor loopt men in uitzonderlijke gevallen het risico op bijvangsten, zoals bijvoorbeeld de zeldzame otter. Het is dan ook uitermate belangrijk dat bestrijdingsmaatregelen voor een uitheemse soort geen bijkomende negatieve invloed hebben op eventuele nieuwe kolonisaties van een zeldzame inheemse soort in hetzelfde gebied. Vandaar de vraag vanuit het Waterschap Brabantse Delta aan het INBO om via eDNA-analyses de aanwezigheid van muskusrat in parallel met otter in het studiegebied in kaart te brengen. Op locaties waar beide soorten gedetecteerd werden, is het belangrijk om de muskusrat zo efficiënt mogelijk te bestrijden zonder de mogelijk aanwezige otter schade te berokkenen. Hiervoor maakt het Waterschap Brabantse Delta reeds gebruik van aangepaste vangtuigen met otterringen. In 2024 werd in zeven transecten binnen hetzelfde gebied muskusrat-DNA gedetecteerd en aansluitend bestreden (Danneels et al., 2025).



Figuur 2. Muskusrat (*Ondatra zibethicus*) met dikke, bruine vacht en kleine ogen. Foto: USO.

2.3 Beverrat

De beverrat (*Myocastor coypus*) is, net als de otter en muskusrat, een semi-aquatisch zoogdier (Fig. 3). In tegenstelling tot de muskusrat is de beverrat een zwaargebouwd knaagdier met een brede hoekige kop, opvallend grote gele tanden, lange snorharen, en een korte, weinig behaarde staart die eindigt in een punt. De soort is inheems in Zuid-Amerika en eveneens gekend als IUS in Europa, Noord-Amerika, Azië en Afrika. Net als de muskusrat verspreidt de beverrat ziekteverwekkers, veroorzaakt schade aan landbouwgewassen, dijken en oevers, en kan door zijn hoge fecunditeit en het ontbreken van natuurlijke vijanden explosief in aantal toenemen. De beverrat staat daarom eveneens sinds 2016 op de Europese Unielijst voor invasieve soorten (EU-verordening 1143/2014), met dezelfde verplichtingen voor lidstaten als voor de muskusrat.

De beverrat was in Nederland wijdverspreid, maar door intensieve afvangsten komt de soort tegenwoordig enkel nog voor in de Maasregio aan de grens met Duitsland.



Figuur 3. Beverrat (*Myocastor coypus*) met grote gele tanden en lange snorharen. Foto: Markus Semmler.

2.4 Waterspitsmuis

De waterspitsmuis (*Neomys fodiens*) is een klein, schuw semi-aquatisch zoogdier met een dieet van terrestrische en aquatische ongewervelden. De soort is gemakkelijk te herkennen aan de donker gekleurde vacht met een opvallend lichtere buik en is de grootste spitsmuis in Nederland en België, met een gewicht tussen de 8 en 25 gram (Fig. 4). De soort leeft solitair in en rond stromende en stilstaande waterlichamen en verkiest steile oevers vanwege het netwerk van ondergrondse gangen. De soort geeft de voorkeur aan een dichte oeverbegroeiing, maar maakt ook gebruik van spleten tussen stenen als schuilplaats (Greenwood et al., 2002; Keckel et al., 2014).

Hoewel de soort zowel in Nederland als in Vlaanderen in de 20^e eeuw wijdverspreid voorkwam, is ze vanaf de jaren 1970 sterk achteruitgegaan, waardoor ze vandaag de dag erg zeldzaam is geworden. Deze sterke terugval is vermoedelijk gelinkt aan een verminderde waterkwaliteit en het verdwijnen van natuurlijke oevers en oeverstructuren (Verbeylen en Marien, 2009). Het onderzoeken van de verspreiding van de waterspitsmuis in het studiegebied kan helpen om passende beheer- en instandhoudingsmaatregelen op te maken en uit te voeren.



Figuur 4. Waterspitsmuis (*Neomys fodiens*) met donker gekleurde vacht en opvallend lichtere buik. Foto: Rudmer Zwerver.

2.5 Wolhandkrabben

De Chinese wolhandkrab (*Eriocheir sinensis*) is een grote, grijsgroene tot bruine krab met een rugschild tot 8,5 cm en daarbovenop grote scharen met dichte haren (vandaar de naam ‘wolhand’), en witte uiteinden (Fig. 5). De soort kan zowel in zoet als brak water overleven, maar heeft voor de voortplanting zout water nodig en migreert daarvoor jaarlijks in de herfst naar zee. De soort is inheems in het noordoosten van China en in het Koreaans schiereiland, maar is in Europa en Noord-Amerika bekend als een IUS.

De Japanse wolhandkrab (*Eriocheir japonica*) is morfologisch erg gelijkend op de Chinese wolhandkrab en eveneens een IUS in Europa, maar inheems in Japan, Korea, Taiwan en de zuidoostkust van Rusland.

Beide soorten kunnen hybridiseren (Homberger et al., 2022), en er wordt vermoed dat de aanwezige metapopulatie in Vlaanderen en Nederland op heel wat plaatsen bestaat uit een mengeling van genetische profielen van beide soorten. Aangezien de gebruikte eDNA-protocollen zich richten op mitochondriale verschillen tussen beide soorten, kan er geen onderscheid worden gemaakt tussen de aanwezigheid van pure en hybride individuen. Daarom spreken we in dit onderzoek verder over de mitochondriale lijnen van enerzijds de Chinese wolhandkrab en anderzijds de Japanse wolhandkrab. Het Europese Interreg project Clancy onderzoekt het aandeel Chinese als Japanse profielen in wolhandkrabpopulaties op Europese schaal.

Beide soorten en hun mogelijke hybriden kunnen heel wat negatieve gevolgen hebben voor aquatische ecosystemen; ze verspreiden ziekteverwekkers zoals de schimmel die kreeftenpest veroorzaakt, veroorzaken schade aan dijken en oevers, en verstopen afwatering- en pompinstallaties. De Chinese wolhandkrab staat daarom sedert 2016 op de Europese Unielijst van invasieve soorten (EU-verordening 1143/2014) en moet actief bestreden worden. In Vlaanderen zijn hiervoor speciale vallen, zogenaamde krabbensleuven, ontworpen die ervoor zorgen dat de wolhandkrabben op een passieve, maar grootschalige manier afgevangen kunnen worden, met een minimale bijvangst (D'hondt et al., 2023).

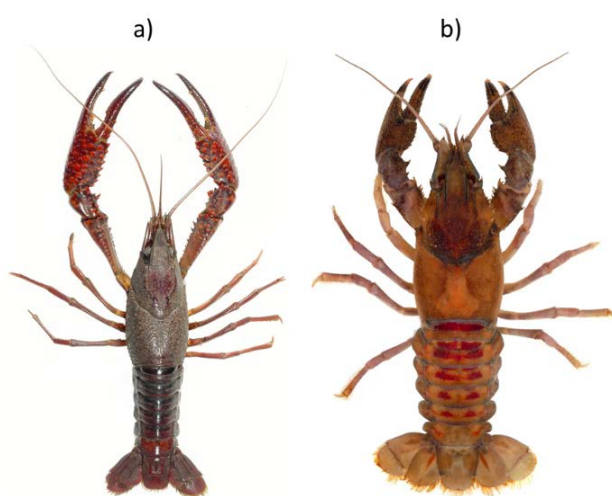


Figuur 5. Chinese wolhandkrab (*Eriocheir sinensis*) met grote, duidelijk behaarde scharen met witte uiteinden.
Foto: F Hecker.

2.6 Rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft

In West-Europese zoetwaterlopen neemt het aantal invasieve rivierkreeftsoorten sinds enkele decennia sterk toe (Van Driessche et al., 2025). De rode Amerikaanse rivierkreeft (*Procambarus clarkii*) en de gevlekte Amerikaanse rivierkreeft (*Faxonius limosus*) behoren momenteel tot de meest wijdverbreide en abundante soorten in Vlaanderen en Nederland. De rode Amerikaanse rivierkreeft is een kreeft met opvallende rode knobbels op de scharen en een maximale grootte van 17 cm (Fig. 6a). De gevlekte Amerikaanse rivierkreeft (*Faxonius limosus*) is een kleinere kreeft met een maximale grootte van 10 cm, opvallende wangstekels en kenmerkende dwarsbanden op het achterlijf (Fig. 6b).

Beide soorten zijn inheems in Noord-Amerika, maar werden door menselijk handelen wereldwijd geïntroduceerd en staan sinds 2016 op de Europese Unielijst voor invasieve soorten (EU-verordening 1143/2014). De rode Amerikaanse rivierkreeft komt inmiddels voor in Europa, Zuid-Amerika, Oost-Azië en Afrika, terwijl de gevlekte Amerikaanse rivierkreeft zich hoofdzakelijk heeft gevestigd in Europa. Beiden soorten kunnen heel wat negatieve gevolgen met zich meebrengen; ze verspreiden ziekteverwekkers zoals de schimmel die kreeftenpest veroorzaakt, veroorzaken schade aan dijken en oevers, en kunnen nadelige effecten hebben op de waterkwaliteit, waterplanten en inheemse visgemeenschappen. De plaatsing op de Unielijst impliceert dat ze niet verhandeld, gekweekt, getransporteerd of geïmporteerd mogen worden en dat lidstaten verplicht zijn hun verspreiding actief tegen te gaan.

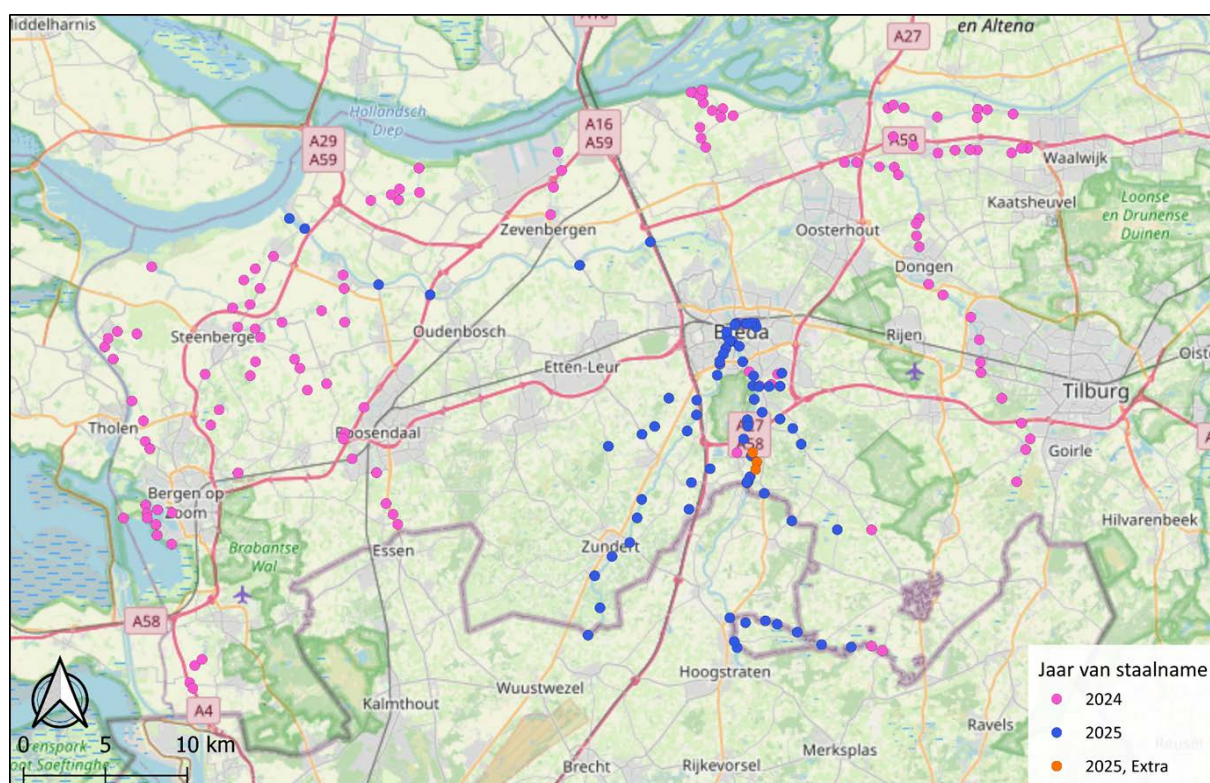


Figuur 6. a) Rode Amerikaanse rivierkreeft (*Procambarus clarkii*) met de opvallende rode knobbels op de scharen. Foto: Bram Kroese. b) Gevlekte Amerikaanse rivierkreeft (*Faxonius limosus*) met de opvallende dwarsbanden op het achterlijf. Foto: Bram Kroese. Opmerking: beide soorten staan niet op schaal weergegeven.

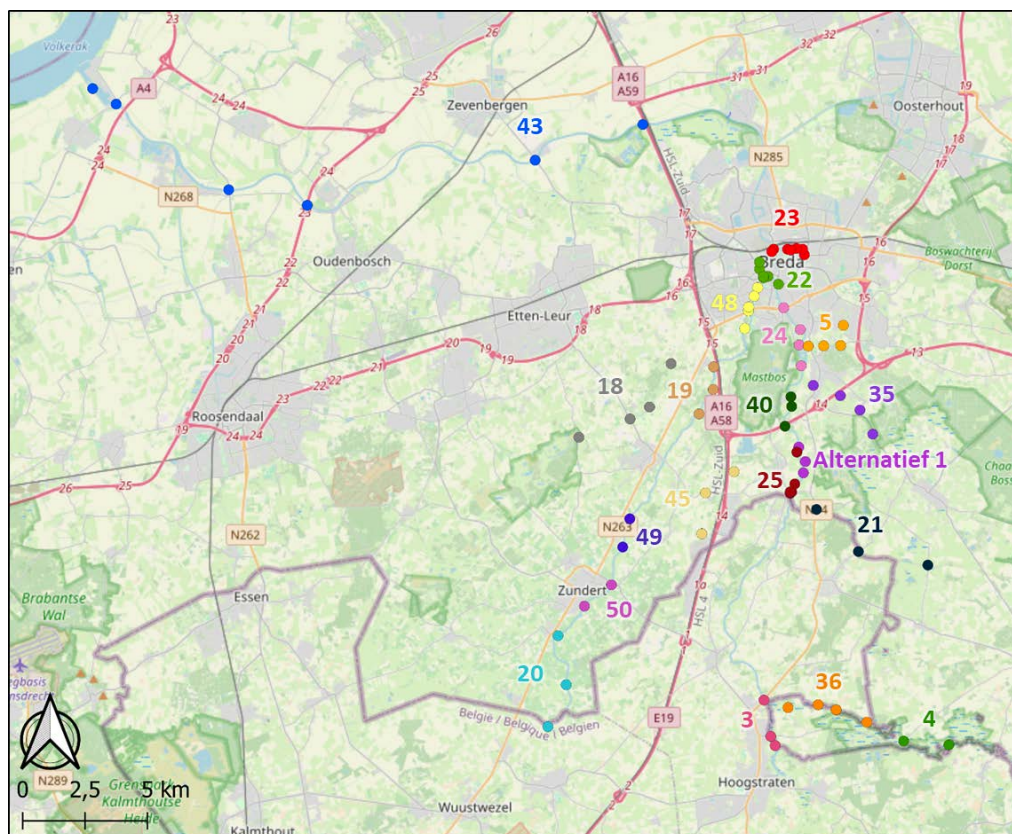
3 Technische details

3.1 Staalname in het veld

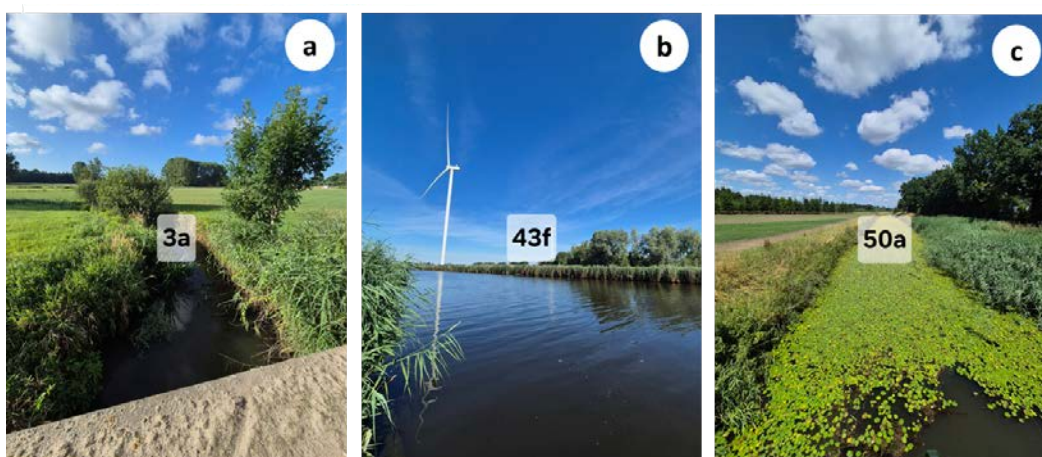
In 2024 werden in het Waterschap Brabantse Delta 50 transecten op 182 staalnamelocaties bemonsterd (Danneels et al., 2025; roze en blauwe punten in Fig. 7). In 2025 werden op 3, 4 en 7 juli 76 staalnamelocaties bezocht, verspreid over twintig transecten waarvan negentien ook in 2024 werden bemonsterd (blauwe punten in Fig. 7). De staalnamelocaties binnen elk transect waren dezelfde als deze in 2024, om een gebiedsdekkende en vergelijkbare staalname te garanderen. Bijkomend werd één transect voor het eerst bemonsterd in 2025, en dit in de nieuwe meander van de Boven Mark, genaamd 'alternatief 1' (oranje punten in Fig. 7).



Figuur 7. Overzicht van de staalnamelocaties in het Waterschap Brabantse Delta die in 2024 en/of 2025 bemonsterd werden. De roze punten stellen de locaties voor waar enkel in 2024 waterstalen genomen werden, terwijl de blauwe punten de locaties weergeven die in 2025 opnieuw (blauwe punten) of bijkomend (oranje punten) bemonsterd werden.

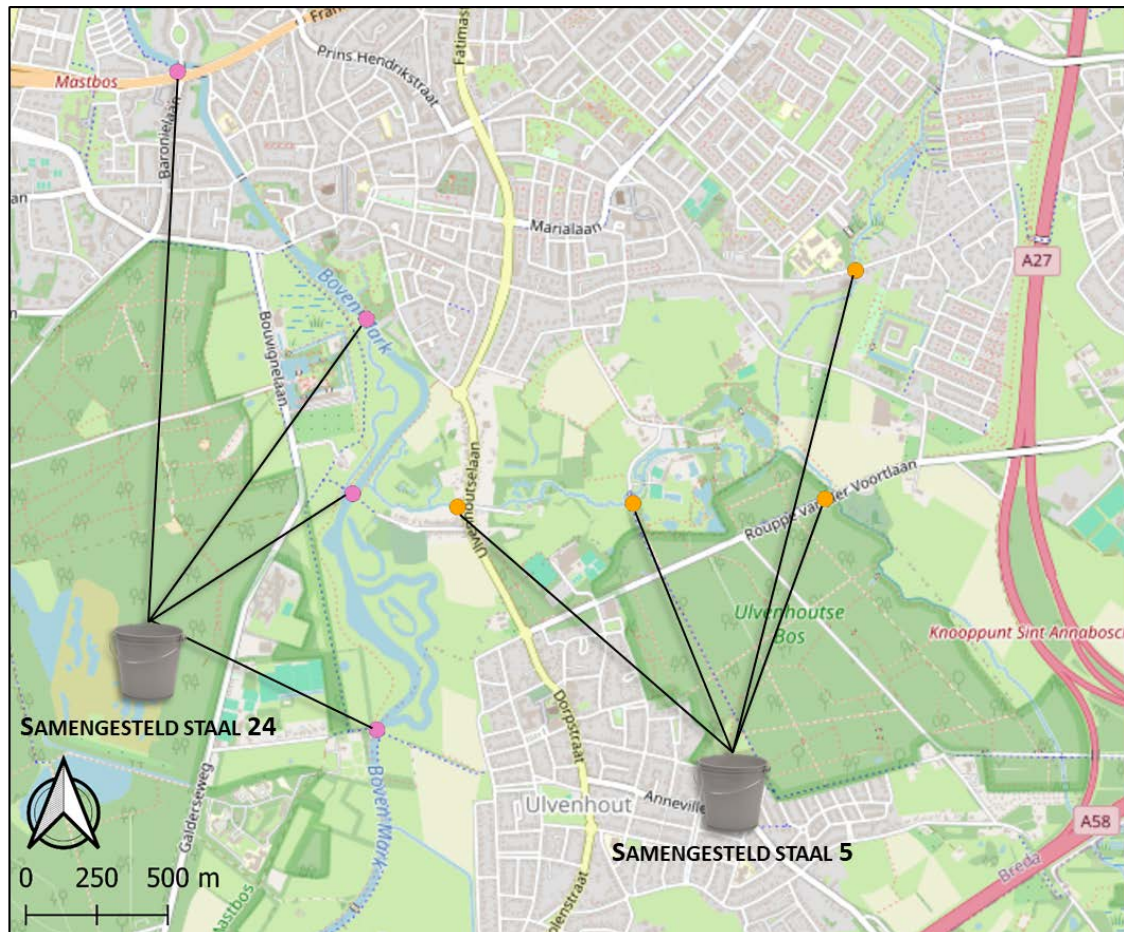


Figuur 8. Overzicht van de twintig transecten in het Waterschap Brabantse Delta, waarbinnen in totaal op 76 staalnamelocaties water werd bemonsterd in de zomer van 2025 om via eDNA-analyses de aanwezigheid van de doelsoorten en de aanwezige visgemeenschappen in kaart te brengen. De staalnamelocaties binnen eenzelfde transect worden weergegeven in eenzelfde kleur, terwijl de getallen het nummer van het transect weergeven.



Figuur 9. Enkele staalnamelocaties in het Waterschap Brabantse Delta die begin juli 2025 voor het eDNA-onderzoek bemonsterd werden, meer bepaald in de a) Boven Mark, b) Dintel en c) Aa of Weerij.

Alle waterstalen genomen binnen eenzelfde transect werden samengevoegd om een mengstaal van een welbepaalde waterloop te bekomen (Fig. 10). Door te werken met mengstalen kan snel en efficiënt een overzicht bekomen worden over de aanwezigheid van de betreffende doelsoorten in een groter deel van het studiegebied. Daarnaast heeft het werken met mengstalen weinig tot geen impact op de detectieresolutie van de doelsoorten (Brys et al., 2021a).



Figuur 10. Voorbeeld van de verschillende staalnamelocaties gesitueerd binnen twee verschillende transecten in het Waterschap Brabantse Delta. Waterstalen genomen op de staalnamelocaties binnen hetzelfde transect werden samengevoegd tot een mengstaal, wat na filtratie resulteerde in één eDNA-staal dat onderworpen werd aan de verschillende DNA-analyses.



Waar vissen en amfibieën hun gehele of grootste deel van hun levensloop doorbrengen in het water, zijn semi-aquatische zoogdieren zoals otter, muskusrat, beverrat en waterspitsmuis slechts gering terug te vinden in het water, waardoor de eDNA-concentratie die ze afgeven doorgaans lager is dan deze van aquatische soorten (Harper et al., 2019). Dit maakt de opsporing van semi-aquatische soorten via eDNA uitdagend. De grote reikwijdte van het eDNA-signaal in waterlopen, in combinatie met de fijngevoeligheid van de gebruikte methodiek (barcoding via ddPCR-analyses alsook metabarcoding, zie verder), en het gebruik van mengstalen, zorgt er alsnog voor dat de aan- of afwezigheid van de semi-aquatische doelsoorten in de onderzochte transecten met grote zekerheid bepaald kan worden, zelfs bij erg lage dichtheden. In een latere fase kan bij positieve detecties binnen een bepaald transect, en indien gewenst, bijkomend onderzoek extra inzichten genereren over het gedetailleerde habitatgebruik van de doelsoorten.

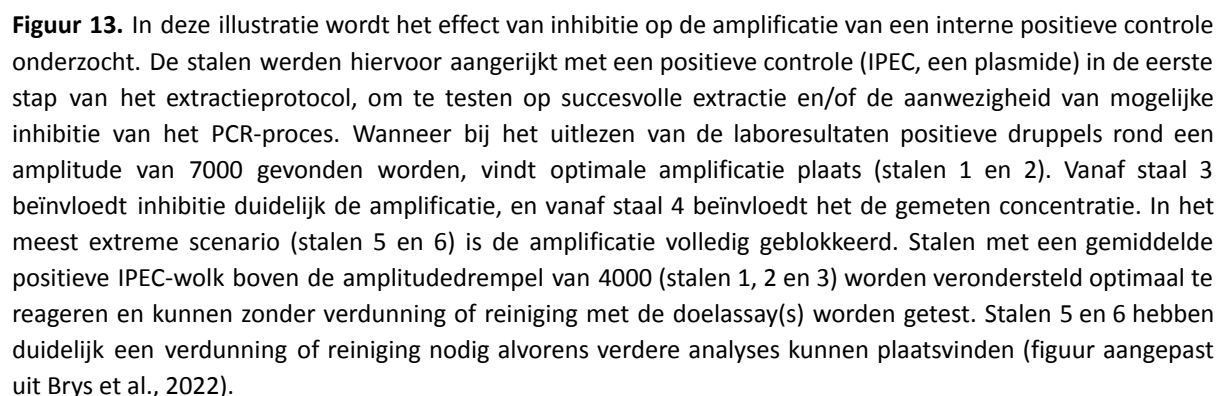
Bij het nemen van de waterstalen in het veld werd steeds een strikt en gestandaardiseerd stappenplan gevolgd om contaminatie met systeemvreemd-DNA te vermijden. Deze procedure dient er eveneens toe te voorkomen dat ziektekiemen, schimmels of invasieve uitheemse soorten via de staalname van het ene waterlichaam naar het andere worden overgebracht. Daarom werd er steeds met steriel voorverpakt materiaal gewerkt (zakjes, handschoenen, etc.) en werd het herbruikbaar staalnamemateriaal (uitschuifbare staalnamestok, maatbeker en emmer) na elke staalname grondig gereinigd en ontsmet met 2 % Virkon S (Antec – Dupont Suffolk, UK).

Het eDNA dat op de filters werd gecapteerd, werd geëxtraheerd met behulp van een extractiekits (Qiagen Blood & Tissue) volgens het protocol van de fabrikant (Fig. 12). Het gebruikte extractieprotocol staat ook beschreven in Everts et al. (2021). Nadien werd het DNA-extract onderworpen aan ddPCR-analyses (eDNA-barcoding) om de aanwezigheid van de doelsoorten op te sporen (voor meer details zie Brys et al. 2021b).



Tijdens de laboprocedure werden steeds controlestappen ingebouwd die toelaten de kwaliteit van de eDNA-stalen en de efficiëntie van de DNA-extractie en de PCR-reacties te beoordelen. Dit laat toe de kwaliteit van de gegenereerde data te beoordelen voordat tot effectieve interpretatie van de resultaten wordt overgegaan. Om vals negatieve detecties (d.w.z. foutief vaststellen dat de doelsoort afwezig is) uit te sluiten, werden positieve controles in de workflow opgenomen en onderzocht. Dit gebeurde zowel op het niveau van de extractie (door toevoeging van systeemvreemd-DNA aan elk staal), als op het niveau van de PCR-amplificatie (door analyses van een referentieweefselstaal van de doelsoort). Bijkomend werden ook laboblanco's ingebouwd. Dit zijn stalen zonder DNA die identiek worden behandeld als de eDNA-stalen. Met deze controle kan nagaan worden of doorheen het laboproces genetische contaminatie en daardoor vals positieve detectie plaatsvindt (d.w.z. foutief vaststellen dat de doelsoort aanwezig is), en dit zowel op het niveau van de DNA-extractie als op het niveau van de soort-specifieke PCR-amplificatie van het DNA-extract. In totaal werden dus drie controlestappen ingebouwd:

- Als de positieve druppels van de IPEC optreden bij de verwachte amplitude, kan men er zeker van zijn dat optimale amplificatie heeft plaatsgevonden in dat staal, zonder risico op inhibitie van het PCR-proces of indicatie dat het extractieprotocol mogelijk mislukt is (Fig. 13). In dat geval kunnen verdere ddPCR-analyses en/of metabarcoding worden uitgevoerd. Indien er toch sprake is van inhibitie, is een verdunning of reiniging (met de DNeasy Powerclean Cleanup kit) van de DNA-extracten noodzakelijk alvorens verdere analyses kunnen plaatsvinden.



Staal voorbereiding

Aanmaken van de druppels

PCR amplificatie

Opmeten van fluorescentie van elke druppel op het einde van de PCR reactie

Amplitude

Positieve wolk

Negatieve wolk

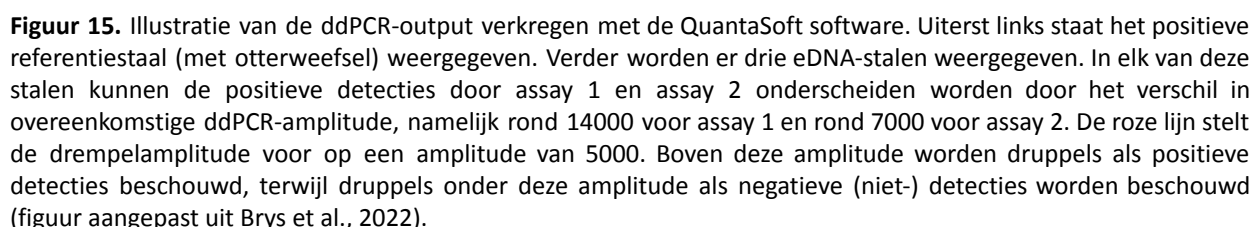
Sample/well

Druppels waarin geen amplificatie optreedt vormen de negatieve 'wolk' onder de wolk van positieve druppels

www.vlaanderen.be/inbo
doi.org/10.21436/inbor.143733573
20

Alle onderstaande protocollen werden binnen het INBO geoptimaliseerd en aangepast voor gebruik op het ddPCR-platform.

Het voordeel van het gebruik van twee verschillende en onafhankelijke otter-specifieke assays die zich op twee verschillende loci bevinden, is dat het resulteert in betrouwbaardere positieve detecties, aangezien het een dubbele bevestiging geeft dat otter aanwezig is wanneer beide assays resulteren in een positieve amplificatie binnen een bepaald staal (Brys et al., 2023). Hetzelfde geldt voor het gebruik van twee specifieke primers die zich op twee verschillende loci bevinden voor de detectie van muskusrat, beverrat en waterspitsmuis (zie verder).



Voor de detectie van **muskrat**-DNA in de eDNA-waterstalen, werd eveneens gebruikgemaakt van een duplex-multimarker protocol. De twee assays werden oorspronkelijk door de Universiteit van Amsterdam ontwikkeld. Het protocol maakt gebruik van een 107 bp lang fragment op het COI-locus en een 99 bp lang fragment op het Cytb-locus. Positieve druppels van beide assays situeren zich grofweg rond een amplitude van 12000, met druppels rond 18000 wanneer beide fragmenten zich in dezelfde druppel bevinden.

Voor de detectie van **waterspitsmuis**-DNA in de eDNA-waterstalen werd gebruikgemaakt van twee primer/probe protocollen die door Quentin Mauvisseau werden ontwikkeld. Deze protocollen maken gebruik van een 105 bp lang fragment gelegen op het COI-locus en een 94 bp lang fragment gelegen op het Cytb-locus. Deze assays genereren bij positieve stalen druppels in twee afzonderlijke 'wolken', één die zich grofweg situeert rond een amplitude van 7000 en de andere rond 5000.

Voor de detectie van het DNA van **rode Amerikaanse rivierkreeft**, werd een beschreven primer/probe protocol gehanteerd dat gebruikmaakt van een 73 bp lang fragment gelegen op het COI-locus (Mauvisseau et al., 2018). Voor de **gevlekte Amerikaanse rivierkreeft** werd een beschreven primer/probe protocol gebruikt dat gebruikmaakt van een 104 bp lang fragment dat eveneens op het COI-locus gelegen is (King et al., 2022). Deze assays genereren bij positieve stalen druppels in een wolk die zich grofweg situeert rond een amplitude van 6000 voor de rode Amerikaanse rivierkreeft en rond 9000 voor de gevlekte Amerikaanse rivierkreeft.

3.4 In kaart brengen van de visgemeenschappen

Naast de uitgevoerde eDNA-barcoding analyses via ddPCR, werden de DNA-extracten bijkomend onderworpen aan een metabarcoding-analyse. Deze analyse werd ingezet om de aanwezige visgemeenschappen in elk van de stalen aanvullend in kaart te brengen.

Met metabarcoding is het mogelijk om in één analyse verschillende soorten simultaan op te sporen, maar met een hogere detectielimiet dan bij de soort-specifieke eDNA-ddPCR-methode. Hierdoor is eDNA-metabarcoding vaak iets minder gevoelig en dus minder geschikt om erg zeldzame of laag abundante soorten in het landschap op te sporen. Experimenteel onderzoek in kweekvijvers van het INBO heeft anderzijds reeds aangetoond dat in relatief kleine waterpartijen via eDNA-metabarcoding de aanwezigheid van één tot enkele kamsalamanders (*Triturus cristatus*) of bittervoorns (*Rhodeus amarus*) kan worden opgespoord (Brys et al., 2021a). Enkel in erg grote waterpartijen, zoals grotere meren of rivieren, is het soms mogelijk dat zulke lage dichtheden door verdunningseffecten worden gemist. De soorten die in deze metabarcoding-analyses duidelijk en in aanzienlijke dichtheden naar voren komen, zijn soorten die in grotere aantallen aanwezig zijn binnen het studiegebied.

Hiervoor hebben we bij het INBO een betrouwbaar en fijngevoelig metabarcoding protocol ontwikkeld en beschreven, waarin verschillende herhalingen worden opgenomen en controlestappen vervat zitten (zie Brys et al. 2021b; Van Driessche et al., 2024b). Hierbij wordt gebruikgemaakt van een generalistische vertebraat primer (Riaz-primer), gelegen op het mitochondriaal 12S-locus waarvoor INBO een eigen gecureerde referentiedatabank heeft uitgebouwd (Halfmaerten et al., 2023). Deze referentiedatabank laat toe om alle inheemse, West-Europese zoogdieren, amfibieën en zoetwatervissen accuraat te detecteren en op naam te brengen. Het ontwikkelde protocol maakt gebruik van een kort DNA-fragment dat 142 bp lang (inclusief primers) is en wordt geamplificeerd door middel van de Riaz-primers (12S_F1, 5'-ACTGGGATTAGATACCCC-3'; 12S_R1, 5'-TAGAACAGGCTCCTCTAG-3') (Riaz et al., 2011). Per staal worden hiervoor standaard drie onafhankelijke herhalingen (zogenaamde technische replicaten) uitgevoerd waarvan na opschonen van de ruwe data, verder wordt gewerkt met het gemiddelde resultaat van deze drie technische replicaten. Na amplificatie en *library preparation* werden de stalen gesequenced op een Illumina-platform. De ruwe sequentiedata werden vervolgens verwerkt volgens een gestandaardiseerde bio-informatica pipeline waarbij *paired-end reads* (overlappende sequentiefragmenten van beide uiteinden) worden samengevoegd, getrimd en gefilterd op kwaliteit. Hoogkwalitatieve reads werden toegewezen aan soorten aan de hand van de gecureerde 12S-referentiedatabank (Halfmaerten et al., 2023), waarbij enkel sequenties met een 100% overeenkomst met een referentiesequentie werden weerhouden voor verdere analyses. Het gebruikte labo- en bio-informatica protocol staat in detail beschreven in Brys et al. (2021b) alsook verder uitgelegd en toegepast in Van Driessche et al. (2023 & 2024b).



Reads die niet taxonomisch geïdentificeerd werden als afkomstig van vissen, werden buiten beschouwing gelaten voor deze studie. De aldus verkregen absolute visreads per soort per technisch replicaat werden omgezet naar relatieve eDNA-abundanties door het aantal reads per soort te delen door het totaal aantal visreads per replicaat. Voor visualisatie in de figuren werd vervolgens het gemiddelde berekend over de drie technische replicaten per filter. Dit maakt dat het eindproduct van metabarcoding-data steeds een proportioneel aandeel van de betreffende soorten weergeeft t.o.v. alle andere soorten binnen elk genomen eDNA-staal, en dus niet als absolute eDNA-meting kan worden aanzien (in tegenstelling tot de resultaten van de ddPCR-analyses). De relatieve abundantie weerspiegelt bijgevolg niet rechtstreeks de werkelijke abundantie of biomassa van een soort, aangezien de hoeveelheid afgegeven eDNA soortspecifiek is en bovendien kan afhangen van de grootte en het gewicht van individuele dieren. Desondanks biedt eDNA-metabarcoding een betrouwbaar beeld van de soortensamenstelling van de visgemeenschap, waarbij soorten die in hogere relatieve abundanties voorkomen doorgaans ook in grotere aantallen of biomassa aanwezig zijn in het studiegebied.

Voor de visuele weergave van de soortensamenstelling per transect werden een gestapeld staafdiagram en een bubbelplot opgesteld op basis van de gemiddelde relatieve eDNA-abundanties per filter. Daarnaast werd een NMDS-ordinatie uitgevoerd op de individuele technische replicaten om de reproduceerbaarheid van de analyses te beoordelen en eventuele patronen in de soortensamenstelling te visualiseren. Om de soortensamenstelling tussen 2024 en 2025 te vergelijken, werden de achttien transecten die in beide jaren succesvol bemonsterd en geëxtraheerd werden verder statistisch geanalyseerd. Verschillen tussen de jaren werden getoetst via een PERMANOVA (adonis2, 999 permutaties; Oksanen et al., 2022) en aangevuld met een PERMDISP-test (Van Driessche et al., 2024a). Voor de visualisatie van de jaarvergelijking werd per transect per jaar het gemiddelde van de NMDS-scores over de drie technische replicaten als centroïde weergegeven.

3.5 Barcoding van potentiële windes

Tot slot werden binnen dit project vijf weefselstalen van gevangen, en op basis van op morfologie als winde geïdentificeerde vissen, aangeleverd voor i) bevestiging van de morfologische identificatie, en ii) bijkomende screening van het 12S-amplicon dat voor het gebruikte metabarcoding protocol wordt aangewend om serpeling (*Leuciscus leuciscus*) van winde (*Leuciscus idus*) en alle andere vissoorten te kunnen onderscheiden. Hiervoor werd het volledige mitochondriale 12S-fragment van deze vijf specimens gesequeneerd met een Applied Biosystems (ABI) sequencer.



4.1 Algemeen

eDNA-barcoding van de negentien eDNA-extracten toonde lichte of duidelijke aanwezigheid van otter, muskusrat, mitochondriale lijnen die overeenkomen met de Chinese en Japanse wolhandkrab, en rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft (Tabel 2). Van zowel beverrat als waterspitsmuis kon geen eDNA teruggevonden worden (Tabel 2). Dezelfde negentien eDNA-extracten werden eveneens succesvol onderworpen aan metabarcoding-analyses om de aanwezige visgemeenschappen in kaart te brengen.



Tabel 1. Overzicht van de negentien eDNA-stalen die begin juli 2025 genomen werden in waterlopen verspreid in het Waterschap Brabantse Delta, met het nummer van het onderzochte transect, de naam van de betreffende waterloop, de filtercode, het gefilterd watervolume in mL, en de totale hoeveelheid DNA in ng/ μ L bekomen met de Quantus fluorimeter (al dan niet na reiniging van het DNA-extract).

			Gefilterd	Totale
Transect	Waterloop	Filtercode	watervolume (mL)	DNA-concentratie (ng/μL)
Alternatief 1	Nieuwe meander Boven Mark	E2025STF973	3000	64*
3	Boven Mark	E2025STF914	3000	55
4	Het Marksken	E2025STF926	2000	62*
5	Bavelsche Leij	E2025STF972	1200	54*
18	Turfvaart-Bijloop	E2025STF918	700	30
19	Aa of Weerij	E2025STF917	3000	72*
20	Aa of Weerij	E2025STF921	3000	113
21	Strijbeeksche Beek	E2025STF915	1100	73*
22	Binnensingel Breda	E2025STF929	3000	55*
23	Mark	E2025STF928	3000	68
24	Binnensingel Breda	E2025STF971	3000	57*
25	Boven Mark	E2025STF916	2500	99
35	Chaa	E2025STF923	2000	39*
36	Het Marksken	E2025STF927	2300	44*
40	Mark	E2025STF924	3000	87*
43	Dintel	E2025STF922	3000	19
45	Galdersche Beek	E2025STF925	2400	43*
48	Aa of Weerij	E2025STF930	3000	102
50	Aa of Weerij	E2025STF920	3000	164

* Geeft de totale DNA-concentratie in ng/μl weer na reiniging van het DNA-extract.

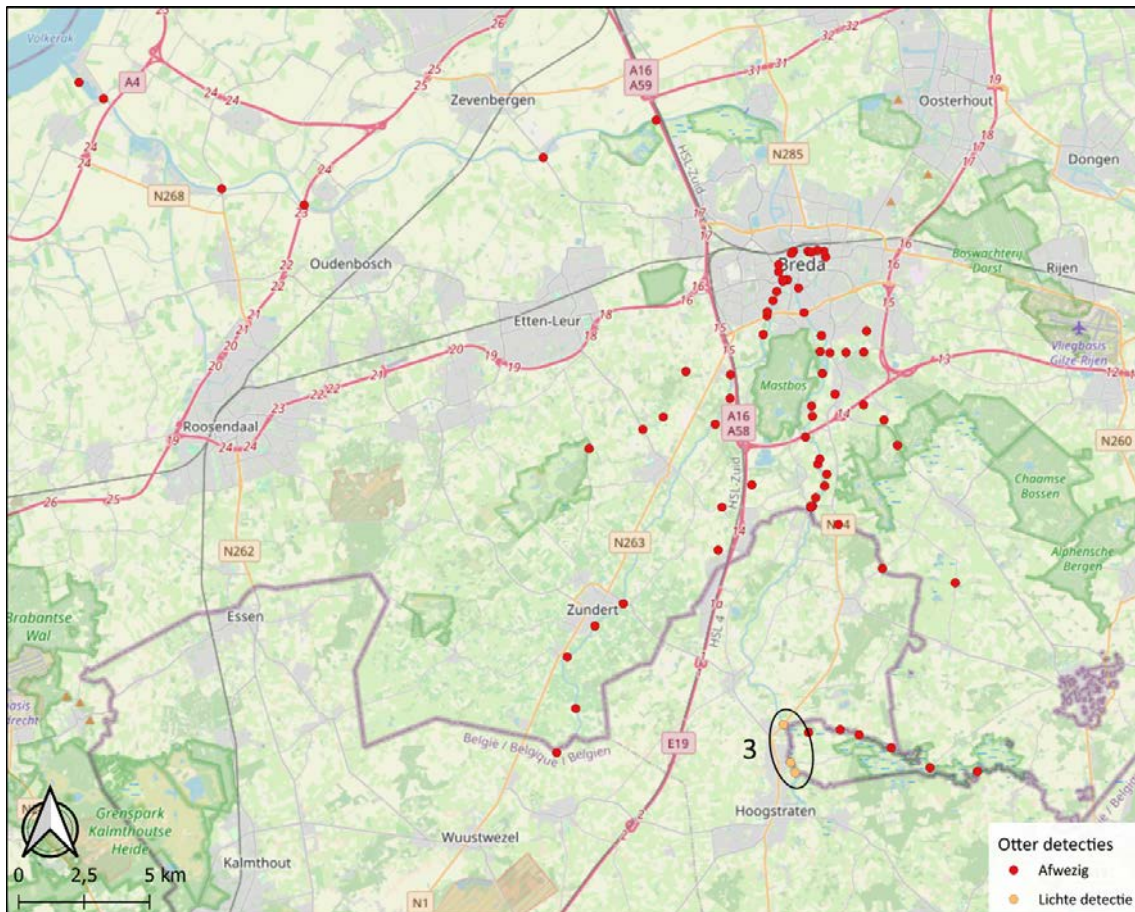
Tabel 2. Overzicht van de negentien eDNA-stalen die begin juli 2025 genomen werden in waterlopen verspreid in het Waterschap Brabantse Delta, met het nummer van het onderzochte transect, de naam van de betreffende waterloop, de filtercode en de detectie van DNA van otter, muskusrat, beverrat, waterspitsmuis (WSM), de mitochondriale lijn overeenkomstig met de Chinese wolhandkrab (CWHK), de mitochondriale lijn overeenkomstig met de Japanse wolhandkrab (JWHK), rode Amerikaanse rivierkreeft (RAR) en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft (GAR). De stalen duidelijk positief voor het DNA van een doelsoort staan in de betreffende kolom in het groen aangeduid en vetgedrukt, terwijl lichte detecties in de betreffende kolom in het oranje aangeduid zijn.

Transect	Waterloop	Filtercode	Otter	Muskusrat	Beverrat	WSM	CWHK	JWHK	RAR	GAR
Alternatief 1	Nieuwe meander Boven Mark	E2025STF973	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee
3	Boven Mark	E2025STF914	Licht	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Licht
4	Het Markskén	E2025STF926	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee
5	Bavelsche Leij	E2025STF972	Nee	Nee	Nee	Nee	Licht	Nee	Duidelijk	Nee
18	Turfvaart-Bijloop	E2025STF918	Nee	Duidelijk	Nee	Nee	Nee	Nee	Duidelijk	Licht
19	Aa of Weerij's	E2025STF917	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Duidelijk	Duidelijk
20	Aa of Weerij's	E2025STF921	Nee	Licht	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee
21	Strijbeek'sche Beek	E2025STF915	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee
22	Binnensingel Breda	E2025STF929	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Licht	Duidelijk	Duidelijk
23	Mark	E2025STF928	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Duidelijk	Duidelijk
24	Boven Mark (Markdal)	E2025STF971	Nee	Duidelijk	Nee	Nee	Nee	Nee	Duidelijk	Duidelijk
25	Boven Mark	E2025STF916	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Duidelijk	Nee
35	Chaamse Beek	E2025STF923	Nee	Licht	Nee	Nee	Licht	Nee	Nee	Duidelijk
36	Het Markskén	E2025STF927	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee
40	Mark	E2025STF924	Nee	Licht	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Duidelijk
43	Dintel	E2025STF922	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee
45	Galdersche Beek	E2025STF925	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee
48	Aa of Weerij's	E2025STF930	Nee	Licht	Nee	Nee	Nee	Duidelijk	Duidelijk	Duidelijk
50	Aa of Weerij's	E2025STF920	Nee	Nee	Nee	Nee	Duidelijk	Nee	Nee	Nee



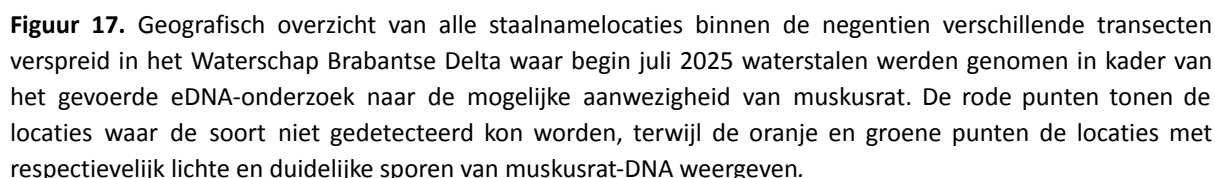
4.2 Otter detecties

Er werd otter-DNA in een zeer lage concentratie waargenomen in één van de negentien geanalyseerde stalen, zijnde transect 3 in de Boven Mark (zie oranje punten in Fig. 16). In de achttien overige transecten werd geen otter-DNA gedetecteerd, wat aangeeft dat de otter in deze waterlopen afwezig was op het moment van de staalname en enkele dagen voordien (rode punten in Fig. 16).

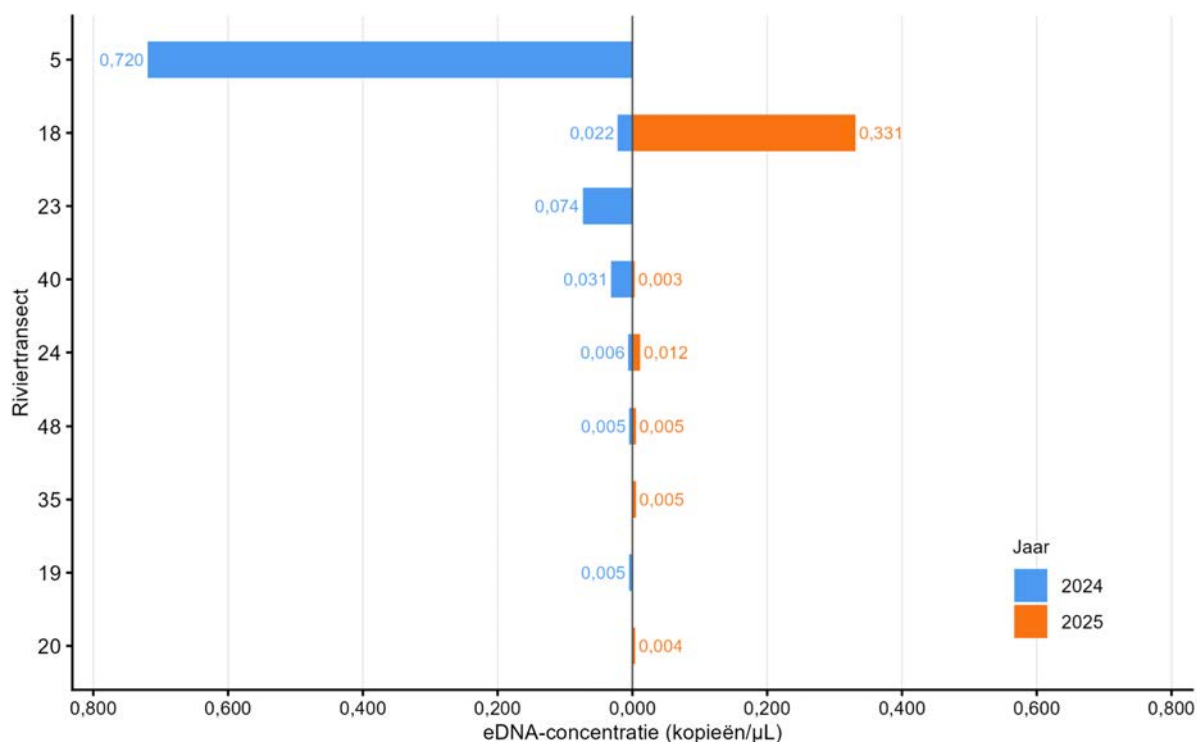


Figuur 16. Geografisch overzicht van alle staalnamelocaties binnen de negentien verschillende transecten verspreid in het Waterschap Brabantse Delta waar begin juli 2025 waterstalen werden genomen in kader van het gevoerde eDNA-onderzoek naar de mogelijke aanwezigheid van otter. De rode punten tonen de locaties zonder detectie van de soort, terwijl de oranje punten transect 3 in de Boven Mark weergeven waarin lichte sporen van otter-DNA werden gedetecteerd.

Er werden in twee van de negentien mengstalen duidelijk muskusrat-DNA gedetecteerd (groene punten in Fig. 17), 0,33 kopieën/ μ L in transect 18 in de Turfvaart-Bijloop en 0,01 kopieën/ μ L in transect 24 in de Boven Mark (Markdal). Daarnaast werd er eveneens muskusrat-DNA in lichte mate gedetecteerd in vier andere transecten, namelijk transecten 20, 35, 40 en 48 (aangeduid met oranje punten in Fig. 17). In de dertien overige stalen werd geen muskusrat-DNA gedetecteerd, wat aangeeft dat muskusrat in deze waterlopen afwezig was op het moment van de staalname en enkele dagen voordien (rode punten in Fig. 17).



In 2024 werd in hetzelfde gebied muskusrat-DNA aangetroffen in zeven riviertransecten (Danneels et al., 2025). Lage concentraties tot 0,04 kopieën/μL werden toen gedetecteerd in transecten 18, 19, 24, 40 en 48, een iets hogere concentratie (0,074 kopieën/μL) in transect 23, en een erg hoge concentraties (0,720 kopieën/μL) in transect 5. Een vergelijking per transect tussen beide jaren is weergegeven in Fig. 18.



Figuur 18. Vergelijking van de gemiddelde eDNA-concentraties (kopieën/ μ L per liter gefilterd water) van muskusrat per transect in 2024 (blauw, links) en 2025 (oranje, rechts). Enkel transecten met minstens één positieve detectie in 2024 of 2025 worden weergegeven. Transecten zijn gerangschikt van boven naar onder op basis van de hoogste gemeten concentratie over beide jaren.

Over het algemeen lijken de muskusratpopulaties in het gebied aanzienlijk uitgedund te zijn, en zich op sommige plaatsen verplaatst te hebben. Het aantal transecten met duidelijke concentraties ($> 0,01$ kopieën/ μL) daalde van vier (transecten 5, 18, 23, 40) naar twee (transecten 18 en 24), en in transect 5 in de Bavelse Leij werd er in 2025 zelfs geen muskusrat-DNA meer gedetecteerd, terwijl dit in 2024 het transect was met veruit de hoogste concentratie. De populatie(s) lijken zich in 2025 hoofdzakelijk te concentreren in de Turfvaart-Bijloop (transect 18), waar de concentratie gestegen is ten opzichte van 2024 (van 0,022 naar 0,331 kopieën/ μL).

Tot slot, werd in geen enkel staal beverrat-DNA aangetroffen, wat consistent is met de verwachte afwezigheid van de soort in het studiegebied.

4.4 Waterspitsmuis detecties

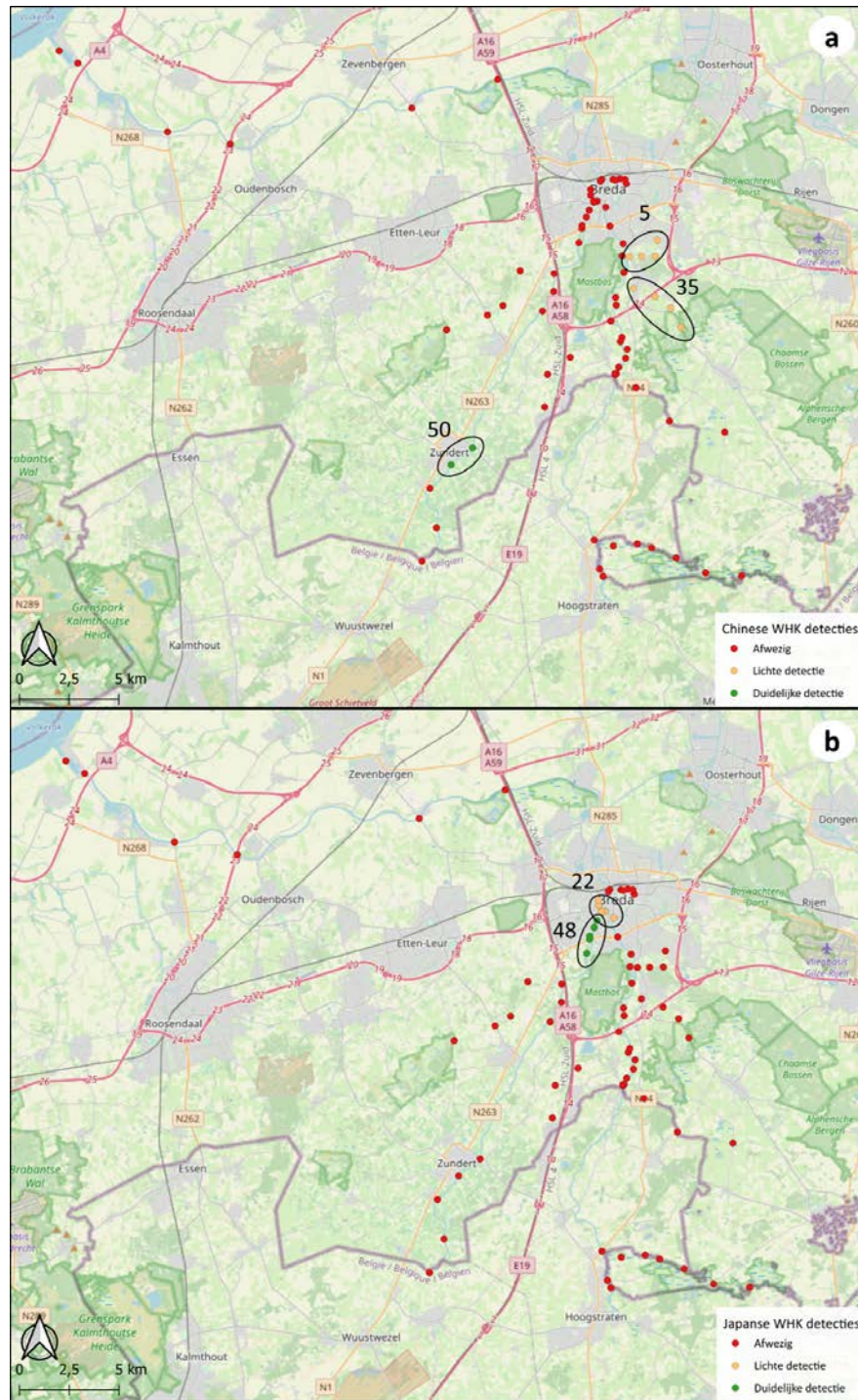
In geen enkel staal dat in 2024 werd genomen, konden sporen van waterspitsmuis worden aangetroffen. Het DNA van de soort was wederom afwezig in de stalen genomen in 2025, tenminste op het moment van de staalname en enkele dagen voordien.

4.5 Detecties van wolhandkrabben

Er werden duidelijke DNA-sporen van de mitochondriale lijn overeenkomstig met de Chinese wolhandkrab waargenomen in transect 50 genomen in de Aa of Weerij (groene punten in Fig. 19a). Deze concentraties waren wel opmerkelijk lager dan deze in gekende geïnfecteerde waterlopen in Vlaanderen, zoals de Schelde, de IJzer en de Kleine Nete (INBO, ongepubliceerde resultaten). Verder werden in twee transecten van respectievelijk de Bavelsche Leij (transect 5) en de Chaamse Beek (transect 35) eveneens lichte DNA-sporen van de Chinese mitochondriale lijn gedetecteerd (oranje punten in Fig. 19a). In de zestien overige stalen werd geen DNA van de Chinese mitochondriale lijn aangetroffen (rode punten in Fig. 19a).

In het geval van de mitochondriale lijn overeenstemmend met de Japanse wolhandkrab, werd er een erg duidelijk DNA-sigitaal aangetroffen in transect 48 van de Aa of Weerij (groene punten in Fig. 19b). Bijkomend werd een lagere DNA-concentratie van de Japanse mitochondriale lijn gevonden in het staal afkomstig van transect 22 in de Binnensingel Breda (oranje punten in Fig. 19b), waarbij in de overige zeventien stalen geen sporen van de Japanse mitochondriale lijn konden worden gedetecteerd (rode punten in Fig. 19b).





Figuur 19. Geografisch overzicht van alle staalnamelocaties binnen de negentien verschillende transecten verspreid in het Waterschap Brabantse Delta waar begin juli 2025 waterstalen werden genomen in kader van het gevoerde eDNA-onderzoek naar de mogelijke aanwezigheid van de mitochondriale lijn overeenkomstig met a) de Chinese wolhandkrab en b) de Japanse wolhandkrab. De rode punten tonen de locaties zonder detectie van de soort, terwijl de oranje en groene punten de locaties weergeven waar het DNA van de soort enerzijds slechts in beperkte mate en anderzijds duidelijk gedetecteerd werd.

4.6 Detecties van rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft

Er werd duidelijk DNA van de **rode Amerikaanse rivierkreeft** gedetecteerd in acht (42%) van de negentien stalen, met erg variërende concentraties gaande van 0,02 tot maar liefst 19,53 kopieën/ μ L per liter gefilterd water (Tabel 3 en groene punten in Fig. 20a). In de elf overige stalen werd geen DNA van de soort gedetecteerd, wat aangeeft dat de soort afwezig was in deze waterlopen op het moment van de staalname en enkele dagen voordien (rode punten in Fig. 20a).

Het DNA van de **gevlekte Amerikaanse rivierkreeft** werd duidelijk gedetecteerd in zeven (37%) stalen, met concentraties gaande van 0,06 tot 0,58 kopieën/μL per liter gefilterd water (Tabel 3 en groene punten in Fig. 20b). Daarnaast werden lichte DNA-sporen van de soort gevonden in transect 3 (Boven Mark) en 18 (Turfvaart-Bijloop) (oranje punten in Fig. 20b). In de tien overige stalen werd geen DNA van de soort gedetecteerd, wat aangeeft dat de soort in deze waterlopen afwezig was op het moment van de staalname en enkele dagen voordien (rode punten in Fig. 20b).

Tabel 3. Overzicht van de duidelijke (in het groen gemarkeerd) en lichte (in het oranje gemarkeerd) detecties, met weergave van de eDNA-concentraties (in kopieën/μL, gecorrigeerd voor het gefilterde watervolume), van de rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft (RAR en GAR), in elf transecten in het Waterschap Brabantse Delta.

Transect	Waterloop	eDNA-concentratie	eDNA-concentratie
		RAR	GAR
3	Boven Mark	0,00	0,01
5	Bavelsche Leij	19,53	0,00
18	Turfvaart-Bijloop	1,48	0,01
19	Aa of Weerij	2,12	0,31
22	Binnensingel Breda	0,22	0,18
23	Mark	0,04	0,21
24	Binnensingel Breda	0,10	0,22
25	Boven Mark	0,02	0,00
35	Chaaamse Beek	0,00	0,23
40	Mark	0,00	0,06
48	Aa of Weerij	0,51	0,58

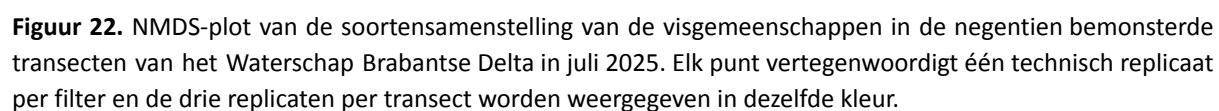
4.7 Aanwezige visgemeenschappen

4.7.1 Algemeen

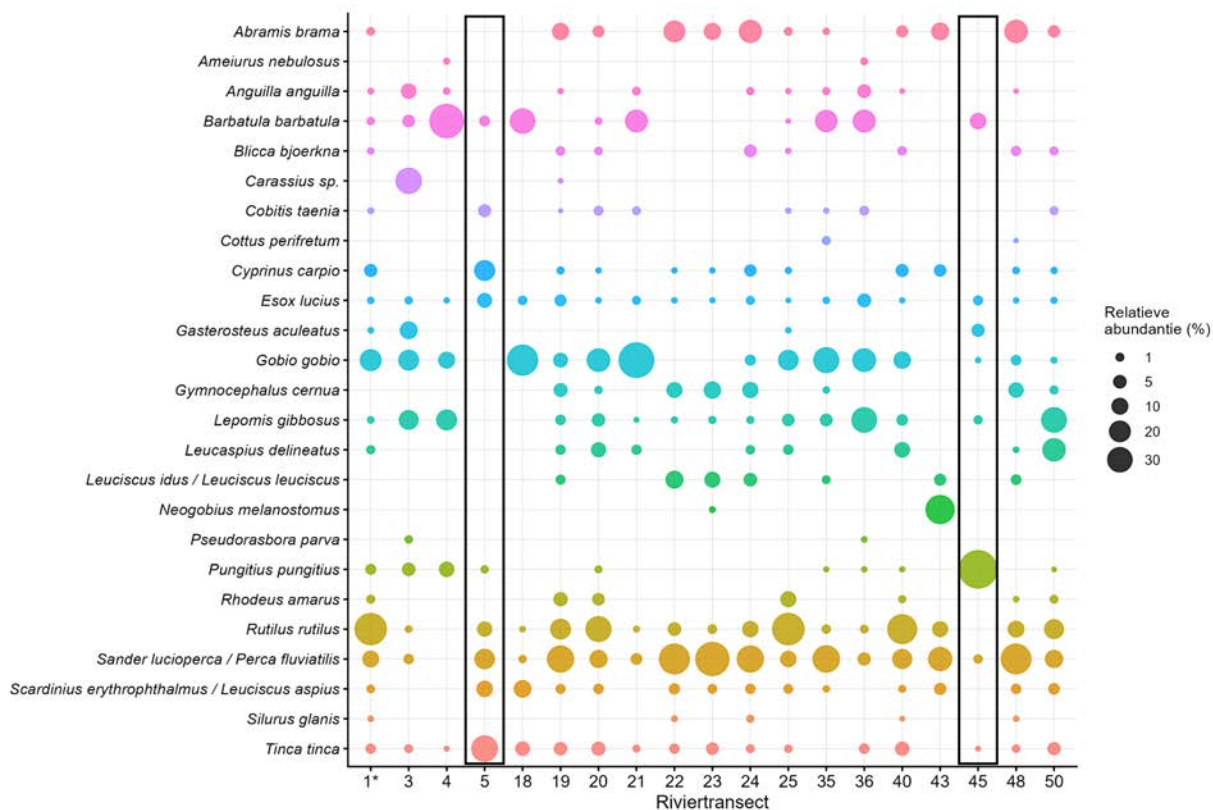
In totaal werden in 2025 in de negentien onderzochte transecten 25 verschillende vissoorten gedetecteerd (Fig. 21 en 23). Over alle transecten heen waren de meest abundante inheemse soorten, uitgedrukt als gemiddelde relatieve abundantie over alle transecten, snoekbaars/baars (*Sander lucioperca*/*Perca fluviatilis*; 20,07%), riviergrondel (*Gobio gobio*; 15,18%), blankvoorn (*Rutilus rutilus*; 13,89%), bierpje (*Barbatula barbatula*; 9,38%) en brasem (*Abramis brama*; 6,01%). Vier van de 25 gedetecteerde vissoorten zijn gekend als uitheems in het studiegebied, namelijk de bruine Amerikaanse dwergmeerval (*Ameiurus nebulosus*), blauwband (*Pseudorasbora parva*), zwartbekgrondel (*Neogobius melanostomus*) en zonnebaars (*Lepomis gibbosus*) (Fig. 21 en 23). Daarnaast werd ook de rivierdonderpad (*Cottus perifretum*) gedetecteerd, een indicatorsoort voor een goede waterkwaliteit, alsook de ernstig bedreigde Europese paling (*Anguilla anguilla*).

Hoewel ook marmmergrondel (*Proterorhinus semilunaris*) gekend is als uitheemse soort in het studiegebied, kon deze soort via eDNA niet worden opgespoord door een mismatch met de gebruikte Riaz-primer primers, wat betekent dat het betreffende DNA-fragment niet wordt geamplificeerd en de soort bijgevolg met het gebruikte protocol niet gedetecteerd kon worden. Deze primer werkt echter wel uitstekend voor het opsporen van de vissoorten die we kunnen verwachten in zoetwatersystemen in het noordwesten van Europa. Voor een reeks zoutgevoelige soorten die eerder voorkomen in brak- tot zoutwatermilieu kan bijkomend gebruikgemaakt worden van de Teleo-primer (Valentini et al., 2016), zoals ook beschreven in Van Driessche et al. (2024b). Aangezien dit onderzoek enkel gebruikmaakte van de Riaz-primer, kunnen in dit geval brak- tot zoutwatersoorten zoals snoekbaars (*Sander lucioperca*) en baars (*Perca fluviatilis*) genetisch niet als aparte soorten van elkaar onderscheiden worden, ze hebben m.a.w. een identiek genetisch profiel voor de Riaz-barcode die we gebruiken. Deze werden daarom in de resultaten weergegeven als snoekbaars/baars, daar we al deze soorten wel zouden kunnen verwachten in het studiegebied (Van Driessche et al., 2024). Hetzelfde geldt voor andere soorten weergegeven als soort a/soort b in de resultaten.





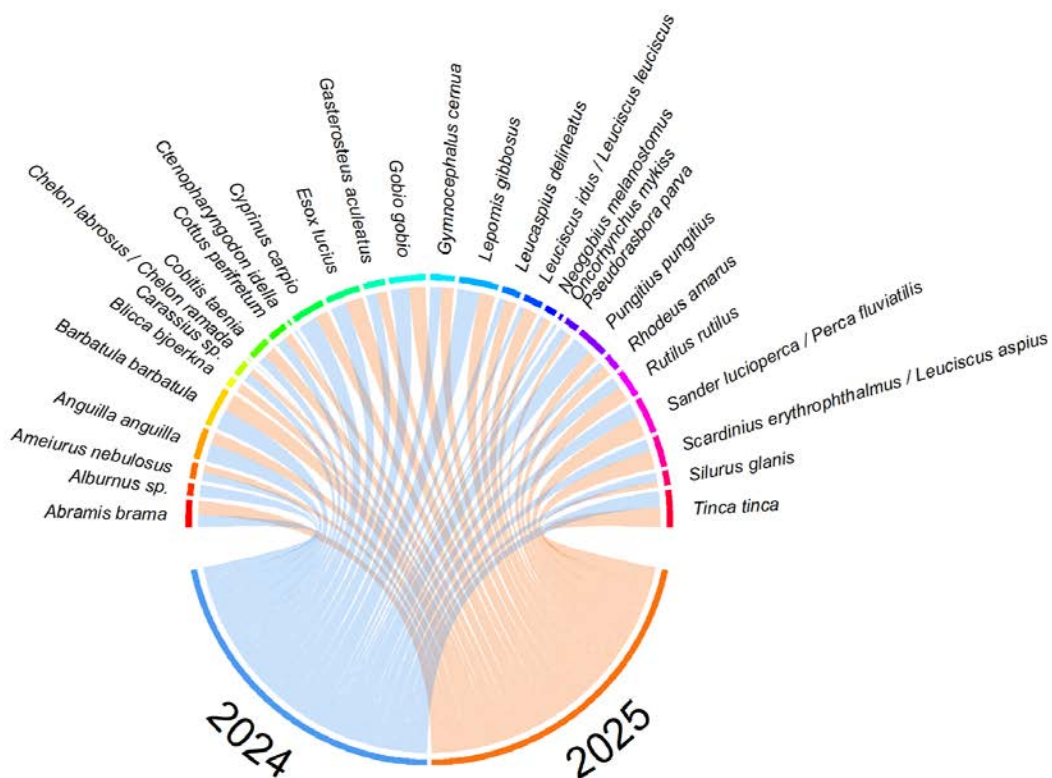
37



Figuur 23. Relatieve eDNA-abundantie per vissoort (zie verschillende kleuren) in de negentien bemonsterde transecten van het Waterschap Brabantse Delta in juli 2025. De x-as geeft de bemonsterde transecten weer, waarbij 1* het alternatieve transect 1 voorstelt in de nieuwe meander van de Boven Mark. De grootte van de bollen weerspiegelt het relatieve eDNA-aandeel van de vissoort binnen de visgemeenschap van dat staal. De zwarte kaders duiden de transecten aan met een iets afwijkende soortensamenstelling ten opzichte van de overige transecten (gebaseerd op de NMDS-plot in Fig. 22).

4.7.2 Vergelijking visgemeenschappen zoals waargenomen in 2024 en 2025

In de achttien transecten die in beide jaren werden bemonsterd, werden in 2024 in totaal 28 vissoorten gedetecteerd (Danneels et al. 2025), tegenover 25 vissoorten in 2025. Het chord diagram in Fig. 24 toont dat 24 soorten in beide jaren werden aangetroffen. Daarnaast werden vier soorten uitsluitend in 2024 gedetecteerd, zijnde (gestippelde) alver (*Alburnus sp.*), diklippharder/dunlippharder (*Chelon labrosus/Chelon ramada*), graskarper (*Ctenopharyngodon idella*) en regenboogforel (*Oncorhynchus mykiss*), terwijl één soort, kolblei (*Blicca bjoerkna*), uitsluitend in 2025 werd gevonden (Fig. 24).



Figuur 24. Chord diagram van de gedetecteerde vissoorten in de achttien transecten in het Waterschap Brabantse Delta die zowel in 2024 als in 2025 werden bemonsterd. Soorten die uitsluitend met het blauwe (2024) of oranje (2025) segment verbonden zijn, werden enkel in dat jaar aangetroffen; soorten met verbindingen naar beide segmenten werden in beide jaren gedetecteerd. De breedte van de verbindingen weerspiegelt de genormaliseerde relatieve abundantie van het eDNA, gesommeerd over de achttien locaties. Voor de interpretatie van de detecties van serpeling (*Leuciscus leuciscus*) en winde (*Leuciscus idus*), zie verder.

[illegible]

Opmerkelijk werd eDNA van winde/serpeling (*Leuciscus idus/Leuciscus leuciscus*) in zowel 2024 (zes transecten) als in 2025 (zeven transecten) gedetecteerd, hoewel de hoeveelheden in 2024 de detectiedrempel nauwelijks overschreden en als marginaal beschouwd dienen te worden. In 2025 lag de relatieve abundantie opvallend hoger (gemiddeld 4,82% en maximaal 11,93%), wat onverwacht is voor een soort als serpeling die bij traditionele bemonsteringen niet eerder in het gebied werd waargenomen. Op het gebruikte Riaz-fragment kunnen beide soorten onderscheiden worden op basis van één nucleotidepositie; een **G** op deze positie is diagnostisch voor serpeling (*L. leuciscus*), terwijl een **A** voorkomt bij zowel winde (*L. idus*) als serpeling (Fig. 27). De marginale detecties in 2024 bevatten uitsluitend de diagnostische serpeling-sequentie (met **G**), wat de aanwezigheid van serpeling in het studiegebied in 2024 bevestigt. De abundante detecties in 2025 bevatten daarentegen de gedeelde sequentie variant (met **A**), die zowel van serpeling als van winde afkomstig kan zijn. Bijkomend onderzoek op weefselstalen van morfologisch geïdentificeerde windes uit Nederland leverde tot dusver geen sequentie met **G** op, waardoor de detecties uit 2024 nog steeds als serpeling (*L. leuciscus*) beschouwd kunnen worden. Voor de detecties in 2025 kan op basis van de huidige kennis niet worden uitgemaakt of het gaat om serpeling, winde, of een combinatie van beide. Eén van de vijf weefselstalen bleek echter niet afkomstig te zijn van winde, maar gaf een 100% match met roofblei (*Leuciscus aspius*) op basis van het mitochondriaal fragment, waarbij niet kan worden uitgesloten dat het een hybride met winde betreft. Roofblei-DNA werd verder ook in de eDNA-stalen aangetroffen, hoewel deze laatste niet onderscheiden kon worden van de ook waargenomen rietvoorn (*Scardinius erythrophthalmus*).



Figuur 27. Schematische weergave van het Riaz-fragment voor winde (*Leuciscus idus*) en serpeling (*Leuciscus leuciscus*). A) De sequentievariant met A (rood) op de diagnostische positie is aanwezig bij zowel winde als serpeling. B) De sequentievariant met G (rood) is uitsluitend diagnostisch voor serpeling.

4.7.4 Relatie tussen visdiversiteit en otteraanwezigheid

In transect 3 van de Boven Mark waar otter-DNA via ddPCR kon worden gedetecteerd, werden twaalf vissoorten opgepikt via metabarcoding. Het gaat over Europese paling (*Anguilla anguilla*; 7,85%), bermpje (*Barbatula barbatula*; 3,98%), gibel/goudvis/kroeskarper (*Carassius sp.*; 33,11%), snoek (*Esox lucius*; 0,68%), drie- en tiendoornige stekelbaars (*Gasterosteus aculeatus* en *Pungitius pungitius*, respectievelijk 11,60% en 4,96%), riviergrondel (*Gobio gobio*; 17,95%), zonnebaars (*Lepomis gibbosus*; 15,63%), blauwband (*Pseudorasbora parva*; 0,76%), blankvoorn (*Rutilus rutilus*; 0,50%), snoekbaars/baars (*Sander lucioperca*/*Perca fluviatilis*; 1,99%) en zeelt (*Tinca tinca*; 0,98%). Deze mix aan bodemsoorten, predatoren, filtervoeders, etc. wijst op een ecologisch gebalanceerd systeem, en potentieel geschikt foerageergebied voor otter. Zo zijn riviergrondel en bermpje soorten die helder en zuurstofrijk water vereisen. Soorten als blauwband en zonnebaars wijzen dan weer op verstoring of uitheemse druk. Onderzoek van de Wolf (2018) in de Gelderse Poort, een natuurgebied in Nederland gelegen tussen Nijmegen, Kleve, Arnhem en Emmerik, en omstreken toonde aan dat het dieet van otter in dit gebied vooral bestond uit baars, blankvoorn en brasem. Recent dieet onderzoek van otter spraints afkomstig uit Vlaanderen binnen het Interreg project “otter over de grens”, toonde eveneens aan dat baars/snoekbaars, blankvoorn en snoek de belangrijkste vissoorten waren die in het dieet van otter aanwezig bleken te zijn (INBO, ongepubliceerde resultaten). Het feit dat blankvoorn, snoekbaars/baars en snoek in dit transect aanwezig zijn, ondersteunt de geschiktheid van deze waterloop als foerageergebied voor de otter.



5 Conclusie

In zowel 2024 als 2025 werd in de Boven Mark **otter**-DNA gedetecteerd via eDNA-barcoding, zij het telkens in zeer lage concentraties. In 2025 werd een erg lage concentratie van otter-DNA vastgesteld in transect 3, vergelijkbaar met de zwakke signalen die in 2024 werden waargenomen in transecten 25 en 40 (Danneels et al., 2025). Dergelijke lage en geïsoleerde detecties zijn consistent met eerdere eDNA-detecties van otter in andere regio's waar otter voorkomt in lage dichtheden of als passant. De beperkte detecteerbaarheid van otter via eDNA-methodieken in aquatische systemen kan verklaard worden door enkele soortspecifieke kenmerken: otters maken slechts gedeeltelijk gebruik van het watermilieu, beschikken over een dichte en isolerende pels, deponeren hun uitwerpselen doorgaans op land en consumeren bovendien hun prooi meestal op het droge. Hierdoor is de kans dat eDNA in het water terechtkomt relatief klein en zijn de concentraties die in het water worden achtergelaten ook meestal erg laag. Desondanks kunnen de huidige resultaten als robuust worden beschouwd, gezien het gebruik van twee onafhankelijke, soortspecifieke assays en strenge drempelwaarden die tijdens de analyses werden ingesteld. Rekening houdend met de snelle degradatie van eDNA in stromende systemen (Van Driessche et al., 2022 & 2024), leveren de eDNA-resultaten robuuste aanwijzingen voor de recente aanwezigheid van otter in of stroomopwaarts van het bemonsterde transect.

Voor **muskusrat** daarentegen, werd in 2025 een ander patroon vastgesteld dan in 2024. Waar in 2024 muskusrat op een groot aantal locaties duidelijk werd gedetecteerd (Danneels et al., 2025), bleek in 2025 de aanwezigheid van deze soort zich hoofdzakelijk te situeren in transect 18 in de Turfvaart-Bijloop. De gemeten concentratie wijst hier op de aanwezigheid van een aanzienlijke populatie, die veel hoger en dus omvangrijker is dan de andere muskusrat detecties, wat gerichte eradicatiemaatregelen in het betreffende systeem vereist. Daarnaast werden in vijf andere locaties (Binnensingel Breda, Aa of Weerij, Chaamse Beek en Mark) merkelijk lagere DNA-concentraties van de soort aangetroffen, wat waarschijnlijk duidt op de aanwezigheid van slechts een beperkt aantal individuen. Opvallend is dat de detecties in 2025 zowel lager in concentratie als ruimtelijk verschoven zijn ten opzichte van 2024, wat vermoedelijk wijst op een positief effect van de afvangstmaatregelen die werden getroffen in respons op de resultaten van 2024. Het is echter belangrijk om waakzaam te blijven over de verspreiding van deze exoot.



Anderzijds werd de aanwezigheid van wolhandkrabben, zowel de mitochondriale lijn overeenkomstig met de **Chinese** als de **Japanse wolhandkrab**, op verschillende locaties in het studiegebied vastgesteld, zij het meestal in lage tot matige concentraties. De mitochondriale lijn overeenkomstig met de Chinese wolhandkrab werd duidelijk, maar in lage concentraties, gedetecteerd in de Aa of Weerijds en licht in de Bavelse Leij en Chaamse Beek. Deze laatste twee monden uit in de Mark, waarin geen DNA van de Chinese mitochondriale lijn teruggevonden kon worden. Een mogelijke verklaring is het verdunningseffect in de bredere en meer waterrijke Mark, waardoor eventueel aanwezige eDNA-concentraties daar onder de detectiedrempel kunnen vallen. De mitochondriale lijn overeenkomstig met de Japanse wolhandkrab werd eveneens duidelijk opgepikt in de Aa of Weerijds, maar bleek ook in lage concentraties voor te komen in de Binnensingel Breda. Hierbij dient te worden opgemerkt dat de detectiekans sterk seizoensgebonden is, aangezien wolhandkrabben migreren tussen zoet en zout water in functie van hun voortplanting, en ze het meest actief en dus traceerbaar zijn in de lente en de herfst. De huidige resultaten werden bekomen via een staalname in de zomer en kunnen daarom een onderschatting vormen van hun werkelijke aanwezigheid.

Tot slot werden in 2025 in totaal 25 **vissoorten** gedetecteerd in de negentien onderzochte transecten binnen het Waterschap Brabantse Delta. Deze soortenrijkdom is vergelijkbaar met de 28 soorten die in 2024 werden vastgesteld in dezelfde transecten. Er werden slechts kleine verschillen in soortensamenstelling waargenomen, zo werden onder meer regenboogforel, graskarper, diklippharder/dunlippharder en (gestippelde) alver niet meer gedetecteerd in de stalen van 2025, terwijl kolblei voor het eerst in 2025 in acht stalen voorkwam. De overige soorten in de visgemeenschap bleven gelijkaardig. De visgemeenschap in transect 3 van de Boven Mark, waar otter-DNA werd aangetroffen, bevat verschillende soorten die eerder in dieetstudies van otter werden aangehaald als belangrijke voedselbron voor otter, wat wijst op een geschikt foerageergebied voor de soort. Dit wordt ondersteund door de relatief hoge soortenrijkdom (voedselaanbod), de aanwezigheid van indicatorsoorten voor een goede waterkwaliteit zoals riviergrondel en biermpje, en de aanwezigheid van gekende prooi-soorten zoals baars en blankvoorn (de Wolf, 2018).



Akamatsu, Y., Goto, M., Inui, R., Yamanaka, H., Komuro, T. en Kono, Y. (2018). Monitoring of *Myocastor coypus* using environmental DNA and estimation of the potential habitat in Yamaguchi prefecture. *Ecology and Civil Engineering* 21 (1): 1-8. <https://doi.org/10.3825/ece.21.1>

Brys, R., Haegeman, A., Halfmaerten, D., Neyrinck, S., Staelens, A., Auwerx, J., en Ruttink, T. (2021a). Monitoring of spatiotemporal occupancy patterns of fish and amphibian species in a lentic aquatic system using environmental DNA. *Molecular ecology* 30(13): 3097-3110. <https://doi.org/10.1111/mec.15742>

Brys, R., Halfmaerten, D., Everts, T., Van Driessche, C., en Neyrinck, S. (2023). Combining multiple markers significantly increases the sensitivity and precision of eDNA-based single-species analyses. *Environmental DNA* 5(5): 1065-1077. <https://doi.org/10.1002/edn3.420>

Brys, R., Halfmaerten, D., Neyrinck, S., Mauvisseau, Q., Auwerx, J., Sweet, M., en Mergeay, J. (2021b). Reliable eDNA detection and quantification of the European weather loach (*Misgurnus fossilis*). *Journal of Fish Biology* 98: 399-414. <https://doi.org/10.1111/jfb.14315>

Brys, R., Neyrinck, S., Everts, T. en Halfmaerten, D. (2022). *Using eDNA to investigate the presence of European otter (Lutra lutra) in the Semois valley*. INBO rapport.

Danneels, H., Van Driessche, C., Everts, T., Neyrinck, S., De Beer, B. en Brys, R. (2025). *eDNA-onderzoek naar de aanwezigheid van otter (Lutra lutra), muskusrat (Ondatra zibethicus) en de aanwezige visbestanden in stroomsystemen van het Waterschap Brabantse Delta*. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, 13.

de Vos, M. (2021). *De terugkeer van de otter (Lutra lutra) in Nederland: een review*. ARK Natuurontwikkeling & HAS Hogeschool.

de Wolf, T. (2018). *Dieet van de Otter (Lutra lutra). Een onderzoeksrapport naar het dieet van de otter in de Gelderse Poort en omstreken*. ARK Natuurontwikkeling & Hogeschool Van Hall Larenstein.

D'hondt, B., Terrie, T., Buysse, D., Boets, P., Van Roeyen, K., Van Loon, P., en Sloodmaekers, D. (2023). *Terug naar af: Beheer van de Chinese wolhandkrab met behulp van retoursystemen*. *Natuurfocus*, 22(2): 61–66.

Everts, T., Halfmaerten, D., Neyrinck, S., De Regge, N., Jacquemyn, H., en Brys, R. (2021). Accurate detection and quantification of seasonal abundance of American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) using ddPCR eDNA assays. *Scientific Reports* 11(1): 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90771-w>

Greenwood, A., Churchfield, S. en Hickey, C. (2002) Geographical distribution and habitat occurrence of the Water Shrew (*Neomys fodiens*) in the Weald of South-East England. *Mammal Review* 32(1): 40–50. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2907.2002.00099.x>

////////////////////////////////////

Figuur 1. Europese otter (<i>Lutra lutra</i>) met slanke bouw, korte poten en kegelvormige staart. Foto: Peter Trimming.....	7
Figuur 2. Muskusrat (<i>Ondatra zibethicus</i>) met dikke, bruine vacht en kleine ogen. Foto: USO.....	8
Figuur 3. Beverrat (<i>Myocastor coypus</i>) met grote gele tanden en lange snorharen. Foto: Markus Semmler.....	9
Figuur 4. Waterspitsmuis (<i>Neomys fodiens</i>) met donker gekleurde vacht en opvallend lichtere buik. Foto: Rudmer Zwerver.....	10
Figuur 5. Chinese wolhandkrab (<i>Eriocheir sinensis</i>) met grote, duidelijk behaarde scharen met witte uiteinden. Foto: F Hecker.....	11
Figuur 6. a) Rode Amerikaanse rivierkreeft (<i>Procambarus clarkii</i>) met de opvallende rode knobbels op de scharen. Foto: Bram Kroese. b) Gevlekte Amerikaanse rivierkreeft (<i>Faxonius limosus</i>) met de opvallende dwarsbanden op het achterlijf. Foto: Bram Kroese. Opmerking: beide soorten staan niet op schaal weergegeven.....	12
Figuur 7. Overzicht van de staalnamelocaties in het Waterschap Brabantse Delta die in 2024 en/of 2025 bemonsterd werden. De roze punten stellen de locaties voor waar enkel in 2024 waterstalen genomen werden, terwijl de blauwe punten de locaties weergeven die in 2025 opnieuw (blauwe punten) of bijkomend (oranje punten) bemonsterd werden.....	13
Figuur 8. Overzicht van de twintig transecten in het Waterschap Brabantse Delta, waarbinnen in totaal op 76 staalnamelocaties water werd bemonsterd in de zomer van 2025 om via eDNA-analyses de aanwezigheid van de doelsoorten en de aanwezige visgemeenschappen in kaart te brengen. De staalnamelocaties binnen eenzelfde transect worden weergegeven in eenzelfde kleur, terwijl de getallen het nummer van het transect weergeven.....	14
Figuur 9. Enkele staalnamelocaties in het Waterschap Brabantse Delta die begin juli 2025 voor het eDNA-onderzoek bemonsterd werden, meer bepaald in de a) Boven Mark, b) Dintel en c) Aa of Weerijds.....	14
Figuur 10. Voorbeeld van de verschillende staalnamelocaties gesitueerd binnen twee verschillende transecten in het Waterschap Brabantse Delta. Waterstalen genomen op de staalnamelocaties binnen hetzelfde transect werden samengevoegd tot een mengstaal, wat na filtratie resulteerde in één eDNA-staal dat onderworpen werd aan de verschillende DNA-analyses.....	15
Figuur 11. Staalname in een waterlichaam waarbij water verzameld werd voor eDNA-analyses. Op elke staalnamelocatie binnen eenzelfde transect werd telkens vanop de oever een aantal zakjes van een halve liter met oppervlaktewater gevuld met behulp van een uitschuifbare staalnamestok (a-b). Het water van de staalnamelocaties werd gehomogeniseerd en vervolgens gefilterd met behulp van een peristaltische pomp (c-d).....	17
Figuur 12. Laboprotocol dat werd gevolgd met a) eDNA-extractie van de filters, uitgevoerd in een DNA-vrije laboratoriuminfrastructuur bij het INBO, en b) voorbereiding van een 96-well plaat voor de uiteindelijke meting van de eDNA-concentratie van de doelsoort in de ddPCR-machine.....	18

50

- Figuur 26.** NMDS-plot van de soortensamenstelling van de visgemeenschappen in de achttien transecten in het Waterschap Brabantse Delta die zowel in 2024 als in 2025 succesvol werden bemonsterd en geanalyseerd. Elk punt vertegenwoordigt het centroïde van de drie technische replicaten per filter. De blauwe punten stellen de visgemeenschappen in 2024 voor, terwijl de oranje punten deze in 2025 voorstellen. De stippellijnen verbinden hetzelfde transect tussen de jaren..... 42
- Figuur 27.** Schematische weergave van het Riaz-fragment voor winde (*Leuciscus idus*) en serpeling (*Leuciscus leuciscus*). A) De sequentievariant met A (rood) op de diagnostische positie is aanwezig bij zowel winde als serpeling. B) De sequentievariant met G (rood) is uitsluitend diagnostisch voor serpeling..... 43



Lijst van tabellen

Tabel 1. Overzicht van de negentien eDNA-stalen die begin juli 2025 genomen werden in waterlopen verspreid in het Waterschap Brabantse Delta, met het nummer van het onderzochte transect, de naam van de betreffende waterloop, de filtercode, het gefilterd watervolume in mL, en de totale hoeveelheid DNA in ng/ μ L bekomen met de Quantus fluorimeter (al dan niet na reiniging van het DNA-extract)..... 26

Tabel 2. Overzicht van de negentien eDNA-stalen die begin juli 2025 genomen werden in waterlopen verspreid in het Waterschap Brabantse Delta, met het nummer van het onderzochte transect, de naam van de betreffende waterloop, de filtercode en de detectie van DNA van otter, muskusrat, beverrat, waterspitsmuis (WSM), de mitochondriale lijn overeenkomstig met de Chinese wolhandkrab (CWHK), de mitochondriale lijn overeenkomstig met de Japanse wolhandkrab (JWHK), rode Amerikaanse rivierkreeft (RAR) en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft (GAR). De stalen duidelijk positief voor het DNA van een doelsoort staan in de betreffende kolom in het groen aangeduid en vetgedrukt, terwijl lichte detecties in de betreffende kolom in het oranje aangeduid zijn..... 27

Tabel 3. Overzicht van de duidelijke (in het groen gemarkeerd) en lichte (in het oranje gemarkeerd) detecties, met weergave van de eDNA-concentraties (in kopieën/ μ L, gecorrigeerd voor het gefilterde watervolume), van de rode en gevlekte Amerikaanse rivierkreeft (RAR en GAR), in elf transecten in het Waterschap Brabantse Delta..... 33

