



Veldonderzoek noordse woelmuis in het Oostzanerveld met eDNA

Maurice La Haye & Sil Westra



2015.040

Rapport van het Bureau van de Zoogdierverseniging
In opdracht van de provincie Noord-Holland

Veldonderzoek noordse woelmuis in het Oostzanerveld met eDNA

Rapport nr.:	2015.040
Datum uitgave:	14 december 2015
Status	Concept
Auteur:	Maurice La Haye & Sil Westra
Illustraties:	Foto's: Sil Westra. Kaarten: Martijn van Oene
Kwaliteitscontrole:	Hans Hollander
Productie:	Steunstichting VZZ, in rapport vermeld als Bureau van de Zoogdiervereniging Bezoekadres: Toernooiveld 1 6525 ED Postadres: Nijmegen Postbus 6531 6503 GA Nijmegen Tel.: 024 7410500 secretariaat@zoogdiervereniging.nl www.zoogdiervereniging.nl
Gegevens opdrachtgever:	Provincie Noord-Holland Houtplein 33, 2012 DE Haarlem
Contactpersoon opdrachtgever	Mevr. J.N. Koch/Mevr. M. Heesakkers

Dit rapport kan geciteerd worden als:

La Haye, M. & Westra S., 2015. Veldonderzoek noordse woelmuis in het Oostzanerveld met eDNA. Rapport 2015.040. Bureau van de Zoogdiervereniging, Nijmegen.

De Steunstichting VZZ, onderdeel van de Zoogdiervereniging, is niet aansprakelijk voor gevolgschade, alsmede voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van de Zoogdiervereniging; opdrachtgever vrijwaart de Stichting VZZ voor aanspraken van derden in verband met deze toepassing. Niets uit dit rapport mag worden verveelvoudigd en/of openbaar gemaakt worden d.m.v. druk, fotokopie, microfilm of op welke andere wijze dan ook, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de opdrachtgever hierboven aangegeven en de Zoogdiervereniging, noch mag het zonder een dergelijke toestemming worden gebruikt voor enig ander werk dan waarvoor het is vervaardigd.

INHOUDSOPGAVE

1	Inleiding.....	4
2	Methode	5
3	Resultaten	6
4	Discussie en conclusie	8
5	Literatuurlijst	11
	Bijlage 1	12

Voorwoord

In maart 2015 heeft het Bureau van de Zoogdierverseniging in samenwerking met RAVON en SpyGen in het tijdschrift 'De Levende Natuur' gepubliceerd over de eDNA-methode als een efficiënte en effectieve methode om onderzoek te doen naar het voorkomen van noordse woelmuis (*Microtus oeconomus*) in (potentiële) leefgebieden. In vergelijking met inloopvallenonderzoek kan met de eDNA methodiek de aanwezigheid van noordse woelmuis in veel minder tijd worden vastgesteld, zonder sterfte van kleine zoogdieren en de trefkans ligt hoger (hogere kans om de soort aan te tonen als de soort ook daadwerkelijk aanwezig is) (Herder *et al.* 2015).

De provincie Noord-Holland heeft het bureau van de Zoogdierverseniging gevraagd het voorkomen van de noordse woelmuis met behulp van de eDNA methode in beeld te brengen voor het Oostzanerveld in het najaar van 2015. De soort is van oudsher bekend uit het Oostzanerveld, maar de meeste recente (gevalideerde) data over het voorkomen van de soort dateren uit 2011 en hebben slechts betrekking op 2 handvangsten in 2 kilometerhokken.



Figuur 1. Met de eDNA methode worden woelmuis-keutels verzameld, waarna in het laboratorium wordt vastgesteld van welke soort de keutels zijn (foto: Sil Westra, 26-10-2015, Oostzanerveld).

Samenvatting

Het Oostzanerveld is een veenweidegebied met plas-dras graslanden en rietkragen dat van Oostzaan in het zuiden doorloopt tot de droogmakerij 'Wijdewormer' in het noorden. De noordse woelmuis is bekend uit het gebied, maar recente inventarisatie-gegevens ontbreken op een enkele losse waarneming na. De provincie Noord-Holland heeft het Bureau van de Zoogdierverseniging opdracht gegeven om 12 verschillende kilometerhokken met behulp van de eDNA methode te inventariseren (figuur 1 en figuur 3). Op alle meetlocaties in de 12 geselecteerde kilometerhokken is de noordse woelmuis aangetoond op basis van een DNA analyse van verzamelde woelmuiskeutels. Met behulp van de eDNA methode is het mogelijk om efficiënt, effectief en goedkoop, in vergelijking met inloopvallenonderzoek, de verspreiding van de noordse woelmuis in laagveengebieden in kaart te brengen.

1 Inleiding

Het Oostzanerveld is een veenweidegebied met plas-dras graslanden en rietkragen dat van Oostzaan in het zuiden doorloopt tot de droogmakerij 'Wijdewormer' in het noorden. Het gebied is een zogenaamd vaarlandgebied en het best toegankelijk met behulp van een boot. Het gebied wordt in het noordelijk deel doorsneden door een spoorlijn. In totaal beslaat het gebied zo'n 12 vierkante kilometer. Uiteindelijk zijn 12 meetlocaties in 12 verschillende kilometerhokken met behulp van de eDNA-methode bemonsterd (figuur 3).

Het project beoogde antwoord te geven op de volgende onderzoeksvragen:

- Wat is de verspreiding van de noordse woelmuis in het Oostzanerveld?
- Is de eDNA methode in dit gebied een goede aanvulling op het braakbalonderzoek in de omliggende gebieden?
- Op welke manier zou de provincie in de toekomst gebruik kunnen maken van de eDNA methode voor de inventarisatie van de noordse woelmuis in aanvulling op de braakbalmethode?
- Welke aanbevelingen kan het Bureau van de Zoogdierverseniging doen op basis van dit eerste onderzoek in het Oostzanerveld ten behoeve van de aanpak van de noordse woelmuis monitoring?



Figuur 2: het veldwerk wordt uitgevoerd bij mooi weer, waardoor het zoeken van keutels ook nog eens 'leuk' is: op pad in een mooi natuurgebied (foto: Sil Westra, 26-10-2015, Oostzanerveld).

2 Methode

Veldwerk

Sil Westra heeft namens het Bureau van de Zoogdierverseniging en met hulp Ab van Dorp en Bernard Ebbelaar (Staatsbosbeheer) en Carola van den Tempel (Landschap Noord-Holland) op 26 oktober 2015 in 9 kilometerhokken keutels verzameld en aanvullend op 28 oktober 2015 nog 3 extra kilometerhokken bezocht (zie figuur 3 voor een overzicht van de bezochte kilometerhokken). Tijdens het keutels zoeken is per kilometerhok op de beste locatie (naar inschatting Sil Westra) naar keutelhoopjes gezocht, waarna ter plekke naar (maximaal) 5 verschillende keutelhoopjes van woelmuizen is gezocht op minimaal 10 meter afstand van elkaar. Indien er keuze was uit verschillende naast elkaar gelegen keutelhoopjes is gekozen voor het meest verse mondstert. Per keutelhoopje is een monster van tenminste 5 keutels genomen en verzameld in buisjes gevuld met vocht absorberende siliconenkorrels. De richtlijn was dat maximaal 10 minuten gezocht mocht worden naar één keutelhoopje (= maximaal 50 minuten om 5 keutelhoopjes te verzamelen). Keutelhoopjes gelegen binnen een straal van ca. 100 meter worden gerekend tot één zoeklocatie. Deze 5 keutelhoopjes zijn per zoeklocatie samengevoegd tot één bulk-sample.

Genetische analyse

Van deze 12 bulksamples is vervolgens in het laboratorium van SpyGen vastgesteld of keutels afkomstig zijn van de noordse woelmuis. Bij de genetische analyse door SpyGen is *alleen gekeken naar de aanwezigheid van de noordse woelmuis in een bulk-sample*. Een genetische analyse waarbij wordt getest op alle mogelijke woelmuissorten is ook mogelijk, maar dat maakt de analyse-kosten 2x zo hoog. Omdat de aardmuis (*Microtus agrestis*) nauwelijks of niet bekend is van boven het Noordzeekanaal en de veldmuis (*Microtus arvalis*) niet algemeen is in natte vaarlandgebieden, is ervoor gekozen alleen te testen op de aan/afwezigheid van noordse woelmuis in een bulk-sample.

3 Resultaten

Het verzamelen van de keutels bleek in de praktijk relatief gemakkelijk: alle bulk-samples zijn verzameld in ca. 1,5 dag (zonder reistijd naar/van locaties) en op alle meetlocaties was het mogelijk om binnen 50 minuten 5 keutelhoopjes te vinden. In totaal zijn 12 meetlocaties x 5 hoopjes = 60 keutelhoopjes verzameld. Van iedere meetlocatie (met 5 hoopjes) is één bulk-sample gemaakt, waardoor uiteindelijk 12 bulk-samples zijn geanalyseerd door SpyGen.

Dag 1, Oostzanerveld met boot SBB

Op 26 oktober is het Oostzanerveld per boot bemonsterd en zijn keutels verzameld op de locaties 1 t/m 9. Iedere locatie is gelegen in een ander kilometerhok. Deze 9 kilometerhokken zijn in 6 uur tijd bemonsterd, waarbij wel aangetekend dient te worden dat met 3 personen is gezocht. Bovendien is de reistijd naar en van het vertrekpunt van de boot niet meegerekend. Duidelijk is wel dat in typisch noordse woelmuis leefgebied het zoeken van keutels met enige oefening goed te doen is en per keutelhoopje vaak minder tijd kost dan 10 minuten. Het verdelen van de taken (zoeken of verzamelen) maakt het verzamelen van keutels nog efficiënter. De voorbereiding (buisjes klaar maken, locaties prikken, route uitstippelen, kaarten printen) en administratie achteraf (vastleggen zoeklocaties, maken bulksamples) is hierbij niet inbegrepen.

Dag 2, Oostzanerveld met de auto en te voet

Op 28 oktober zijn nog eens 3 extra kilometerhokken per auto/te voet bemonsterd (locatie 10 t/m 12), waaronder ook een locatie gelegen in recreatiegebied Het Twiske (in één van de 12 geselecteerde kilometerhokken). Deze 3 kilometerhokken zijn in 2.15 uur tijd bemonsterd, waarbij de reistijd van en naar de locaties niet is meegerekend. Ook op de 2^e dag was het goed mogelijk om in minder dan een uur voldoende keutelhoopjes in een kilometerhok te verzamelen.

DNA-analyse

Uit de eDNA-analyse van SpyGen blijkt dat op alle 12 locaties de noordse woelmuis aanwezig was. Alle bulk-samples bleken positief te testen op de aanwezigheid van noordse woelmuis. In alle stappen van de analyse zijn 'blanco-samples' meegenomen om 'vals-positieve' uitslagen te detecteren en elke bulk-sample is 2x geanalyseerd. Deze extra controles zijn nodig om er zeker van te zijn dat er geen besmetting van samples optreedt. De uitslagen waren conform de verwachting: geen besmetting van samples en géén vals positieve uitslagen. Met deze uitslag staat vast dat de noordse woelmuis op alle zoeklocaties en in het gehele gebied aanwezig was op 26 en 28 oktober 2015. Zie figuur 3 voor een overzicht van de bemonsterde locaties.

Over de aan- of afwezigheid van andere woelmuissoorten kunnen géén uitspraken gedaan worden, omdat er niet is getest op de aanwezigheid van andere woelmuissoorten.



Figuur 3. Overzichtskaart van het Oostzanerveld. De zwarte stipjes zijn de zoeklocaties voor eDNA-bulk-samples. *Op alle locaties is de noordse woelmuis vastgesteld.* De groen gearceerde kilometerhokken zijn kilometerhokken waar uilenballen zijn verzameld en geplozen en waar de noordse woelmuis in aangetroffen is. Het eDNA onderzoek is een mooie aanvulling op het verspreidingsgebied van de noordse woelmuis in de Zaanstreek.

4 Discussie en conclusie

Op het oog is het Oostzanerveld zeer geschikt leefgebied met veel drassige ruige graslanden, rietkragen en rietvelden waar de soort zeer geschikt habitat vindt. Met behulp van de eDNA analyse blijkt inderdaad dat de noordse woelmuis wijdverspreid in het gehele Oostzanerveld aanwezig is. De soort is van origine bekend uit het gebied en vooraf werd dan ook verwacht dat er een grote populatie aanwezig zou zijn.

Voor het verzamelen van de keutels is bewust gekozen voor het najaar (net als bij inloopvallen-onderzoek). In het najaar zijn woelmuiscapopulaties op hun maximum en is de kans op het aantreffen van keutels het hoogst.

Dit project had als doel een 4-tal vragen te beantwoorden:

- Wat is de verspreiding van de noordse woelmuis in het Oostzanerveld?
- Is de eDNA methode in dit gebied een goede aanvulling op het braakbalonderzoek in de omliggende gebieden?
- Op welke manier zou de provincie in de toekomst gebruik kunnen maken van de eDNA methode voor de inventarisatie van de noordse woelmuis in aanvulling op de braakbalmethode?
- Welke aanbevelingen kan het Bureau van de Zoogdierverseniging doen op basis van dit eerste onderzoek in het Oostzanerveld ten behoeve van de aanpak van de noordse woelmuis monitoring?

Wat is de verspreiding van de noordse woelmuis in het Oostzanerveld?

De eerste onderzoeksvraag *'Wat is de verspreiding van de noordse woelmuis in het Oostzanerveld?'* is beantwoord: de soort is in het gehele gebied aanwezig (in oktober 2015). Op alle meetlocaties in de 12 geselecteerde kilometerhokken is de noordse woelmuis aangetoond.

Is eDNA aanvullend op braakbalonderzoek?

De tweede onderzoeksvraag *'Is de eDNA methode in dit gebied een goede aanvulling op het braakbalonderzoek in de omliggende gebieden?'* is met een volmondig 'ja' te beantwoorden. In de kilometerhokken waar de noordse woelmuis met eDNA is aangetoond zijn géén locaties waar uilenballen van de kerkuil zijn verzameld en uitgeplozen (mogelijk door de afwezigheid van broedende kerkuilen). De eDNA-kilometerhokken met noordse woelmuis zijn daarmee aanvullend op het uilenballen-onderzoek.

Het is bij uilenballen overigens lastig om de exacte vanglocatie van prooien te achterhalen, omdat (kerk)uilen hun jachtgebied in een straal van 1-2 kilometer rond de broedlocatie hebben. Met behulp van eDNA is wel de exacte vindplaats bekend. Op grond van de vondsten van de noordse woelmuis in uilenballen

rondom het Oostzanerveld mocht worden verondersteld dat de soort in het gebied aanwezig zou zijn, wat nu met deze eDNA-studie is bevestigd.

Toekomstig gebruik eDNA methode?

De 3^e onderzoeksvraag was *'Op welke manier zou de provincie in de toekomst gebruik kunnen maken van de eDNA methode voor de inventarisatie van de noordse woelmuis in aanvulling op de braakbalmethode?'*. Uit dit proefproject blijkt dat in de veenweidegebieden (vaarlandgebieden) van Noord-Holland de noordse woelmuis heel effectief en efficiënt geïnventariseerd kan worden op de aanwezigheid van de noordse woelmuis: in 1,5 dag (exclusief reistijd) is voor 12 kilometerhokken vastgesteld dat de soort aanwezig is.

Naar inschatting van het Bureau van de Zoogdierverseniging is het zoeken van keutels met enige training en aansturing ook door niet-professionals (vrijwilligers) goed te doen. Waarschijnlijk is een ervaren veldmedewerker die bekend is met de soort wel effectiever in het vinden van de goede locaties om keutels te verzamelen, omdat een ervaren veldmedewerker beter in staat is om het voorkeurs habitat te herkennen dan een vrijwilliger. In de praktijk zal getest moeten worden of vrijwilligers gemotiveerd kunnen worden voor 'keutels zoeken' en hoe handig het inzetten van vrijwilligers is.

Het cruciale punt op dit moment voor het toepassen van de eDNA-methodiek is het effectief en efficiënt verzamelen van woelmuiskeutels. Op dit moment is 'maximaal 10 minuten'-zoeken naar één keutelhoopje de standaard, maar dat is gebaseerd op de opgedane ervaringen in laagveengebieden. Tot op heden is nog weinig ervaring opgedaan met het verzamelen van keutels in zeekeleengebieden of 'bijzondere' habitattypen als de duinen van Texel.

Een meer gestandaardiseerde wijze van keutels verzamelen, bijvoorbeeld met behulp van 'keutelplaatjes' of 'keutelbuizen' zou wellicht uitkomst kunnen bieden, maar het op deze wijze verzamelen van keutels zit nog in een experimentele fase en is nog niet geschikt voor toepassing in het veld.

De eDNA methodiek kan zonder probleem grootschalig worden ingezet in laagveengebieden om de noordse woelmuis te inventariseren. Voor andere habitattypen lijkt de methodiek ook zeer veelbelovend, maar daarvoor is wel meer 'praktijk-ervaring' nodig.

Aanbevelingen

Tenslotte *'Welke aanbevelingen kan het Bureau van de Zoogdierverseniging doen op basis van dit eerste onderzoek in het Oostzanerveld ten behoeve van de aanpak van de noordse woelmuis monitoring?'*. Het project in het Oostzanerveld heeft nogmaals bevestigd dat de eDNA methodiek een effectieve en goedkope methodiek is om de noordse woelmuis in grote gebieden aan te tonen. De tijdsinvestering om de soort betrouwbaar vast te stellen is zeer beperkt en de kosten zijn ten opzichte van inloopvallen-onderzoek velen malen lager. Het is

goed mogelijk om de monitoring met behulp van eDNA op te schalen naar alle laagveengebieden in Noord-Holland. Door een grootschalige aanpak kan veel informatie over de verspreiding van de soort worden achterhaald en kunnen ook 'herhalingen' worden ingezet: gebieden kunnen binnen een tijdsperiode van 6 jaar (de periode waarover gerapporteerd moet worden in het kader van de Habitatrichtlijn) meerdere malen worden gesampled, waardoor het waarschijnlijk is dat ook de trend in verspreiding bepaald kan worden.

Door het inzetten van vrijwilligers is het wellicht mogelijk ook het verzamelen van de keutels tegen lage kosten voor elkaar te krijgen, al is het wel een open vraag of vrijwilligers geïnteresseerd zijn in het verzamelen van keutels?

Tenslotte, het is zeer de moeite waard om te bekijken of de eDNA methodiek ook toepasbaar is op Texel (in uiteenlopende habitattypen) en in gebieden waar de noordse woelmuis veel schaarser voorkomt, zoals het plassengebied van Vinkeveen-Loosdrecht en bijvoorbeeld het recreatiegebied Spaarnwoude.

Voor het bepalen van de genetische variatie van en tussen populaties van de noordse woelmuis zouden in theorie ook keutels verzameld kunnen worden, maar vooralsnog is er nog geen laboratorium (in Nederland of daar buiten) wat zo'n onderzoek kan uitvoeren. Eerst is een proefproject nodig om de juiste laboratorium procedures te ontwikkelen. De optimale laboratorium-procedures voor genetische analyses van keutels verschillen per soort, waardoor de procedure eerst moet worden verfijnd.

Eindconclusie

Geconcludeerd kan worden dat met behulp van de eDNA methode de noordse woelmuis snel en effectief aangetoond kan worden en dat de soort nog wijdverspreid aanwezig is in het Oostzanerveld.

5 Literatuurlijst

Herder J., E. Bellemain, R. Witte, D. Bekker, M. La Haye (2015) Noordse woelmuis inventariseren met eDNA. De Levende Natuur 116 (2): 67-69.



Figuur 4. Het veldwerk was mogelijk dankzij de medewerking van Staatsbosbeheer. Aan het stuur: Ab van Dorp (foto: Sil Westra, 26-10-2015, Oostzanerveld)

Bijlage 1

Tabel 1:

Verzamelaar	dag	maand	jaar	datum_totaal	locatie	Xcoor	Ycoor	NW (ja/nee)
Sil Westra	26	10	2015	26-10-2015	1	118.941	495.909	ja
Sil Westra	26	10	2015	26-10-2015	2	119.167	495.887	ja
Sil Westra	26	10	2015	26-10-2015	3	118.935	496.121	ja
Sil Westra	26	10	2015	26-10-2015	4	119.169	496.234	ja
Sil Westra	26	10	2015	26-10-2015	5	118.961	497.346	ja
Sil Westra	26	10	2015	26-10-2015	6	119.717	497.499	ja
Sil Westra	26	10	2015	26-10-2015	7	120.501	497.878	ja
Sil Westra	26	10	2015	26-10-2015	8	120.776	498.205	ja
Sil Westra	26	10	2015	26-10-2015	9	121.228	498.347	ja
Sil Westra	28	10	2015	28-10-2015	10	121.685	497.581	ja
Sil Westra	28	10	2015	28-10-2015	11	122.489	498.141	ja
Sil Westra	28	10	2015	28-10-2015	12	122.344	497.729	ja