

Genetische connectiviteit van twee voor de Noordse woelmuis aangewezen Natura 2000-gebieden in Noord-Holland

Wormer- en Jisperveld & Kalfspolder en
Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld &
Twiske

A&W-rapport 20-099



in opdracht van

Genetische connectiviteit van twee voor de Noordse woelmuis aangewezen Natura 2000-gebieden in Noord-Holland Wormer- en Jisperveld & Kalfspolder en Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske

A&W-rapport 20-099

N. Beemster
D.L. Bekker
G.A. de Groot
M. La Haye

Foto Voorplaat

Noordse woelmuis-locatie in het noordelijk deel van het Wormer- en Jisperveld, D.L. Bekker

N. Beemster, D.L. Bekker, G.A. de Groot, M. La Haye 2021

Genetische connectiviteit van twee voor de Noordse woelmuis aangewezen Natura 2000-gebieden in Noord-Holland.

Wormer- en Jisperveld & Kalfspolder en Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske. A&W-rapport 20-099.

Altenburg & Wymenga ecologisch onderzoek, Feanwâlden

Opdrachtgever**Provincie Noord-Holland**

Postbus 3007

2001 DA Haarlem

Telefoon 023 5143143

Uitvoerder**Altenburg & Wymenga
ecologisch onderzoek bv**

Suderwei 2

9269 TZ Feanwâlden

Telefoon 0511 47 47 64

info@altwym.nl

www.altwym.nl

Zoogdiervereniging

Natuurplaza, Toernoorveld 1

6525 ED Nijmegen

Telefoon 024 7410500

zoogdier@vzz.nl

www.vzz.nl

**Wageningen Environmental
Research**

Postbus 47

6700 AA Wageningen

Telefoon 0317 485926

g.a.degroot@wur.nl

www.wur.nl/environmental-research

© Altenburg & Wymenga ecologisch onderzoek bv. Overname van gegevens uit dit rapport is toegestaan met bronvermelding.

Projectnummer

20-099

Projectleider

N. Beemster

Status

Eindrapport

Autorisatie

Goedgekeurd

Paraaf

J. Latour

Datum

3 juni 2021

Kwaliteitscontrole

E. Schut

Paraaf

Inhoud

Samenvatting

1	Inleiding	1
2	Materiaal en methode	2
3	Resultaten	5
4	Conclusies en discussie	9
5	Literatuur	11
	<i>Bijlage 1 Basisgegevens van de keutelmonsters</i>	<i>12</i>

Dankwoord

Onze dank gaat uit naar Martin Witteveldt voor de prettige samenwerking.

Samenvatting

Om de Noordse woelmuis duurzaam te kunnen beschermen en behouden, wil de provincie Noord-Holland graag weten in hoeverre Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder* en Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske* genetisch functioneel verbonden zijn. Vindt er tussen en binnen deze Natura 2000-gebieden, die zijn aangewezen voor de Noordse woelmuis, voldoende genetische uitwisseling plaats? Deze kennis is onder andere van belang in verband met de aanleg van ecologische verbindingzones tussen en binnen deze Natura 2000-gebieden.

Om de twee Natura 2000-gebieden en daarbinnen de deelgebieden genetisch met elkaar te kunnen vergelijken zijn DNA-monsters van woelmuizen verzameld. Binnen Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder* zijn het noordelijk en zuidelijk deel van het Wormer- en Jisperveld en de Kalverpolder elk apart bemonsterd. Binnen Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske* zijn het Ilperveld, Varkensland en Oostzanerveld elk apart bemonsterd. Twiske is niet bemonsterd. Per deelgebied zijn 20 DNA-monsters van woelmuizen verzameld. In totaal gaat het dus om 120 monsters.

Als bemonsteringsmethode is gekozen voor het verzamelen van keutels. Zoals alle woelmuizen deponeren ook Noordse woelmuizen hun uitwerpselen als herkenbare keutelhoopjes. Om een individueel genetisch monster te verkrijgen is steeds een enkele keutel verzameld. Per deelgebied is op vier locaties naar keutels gezocht. Op elk van deze locaties gebeurde dat op vijf zoekplekken die minstens 200 meter uit elkaar gelegen waren. Op deze manier wordt voorkomen dat keutels verzameld worden van directe verwanten.

Naast de Noordse woelmuis komt in het studiegebied in principe alleen de Veldmuis als andere woelmuissoort voor. In gebieden waar beide soorten naast elkaar voorkomen, bewonen Veldmuizen vooral de kortgrazige, drogere vegetaties en Noordse woelmuizen vooral hogere en nattere (moeras)vegetaties. Door keutels te verzamelen in typisch Noordse woelmuis-habitat is de kans op het verzamelen van keutels van Veldmuizen geminimaliseerd.

Op elk van de 120 verzamelde monsters is allereerst een soortbepaling uitgevoerd. Uit de soortbepaling bleek dat 114 van de 120 verzamelde keutels afkomstig waren van Noordse woelmuis, per deelgebied varieerde dat tussen 17 en 20. Van de zes overige keutels kon niet worden vastgesteld welke soort het betrof. Mogelijk dat ook deze keutels van Noordse woelmuis afkomstig waren. De Noordse woelmuis blijkt in beide Natura 2000-gebieden dus een ruime verspreiding te hebben en waarschijnlijk is er sprake van een omvangrijke populatie. Wellicht gaat het om de grootste populatie van Nederland. Het ontbreken van de Aardmuis als concurrerende soort speelt hierbij waarschijnlijk een belangrijke rol.

Van de monsters die zeker van Noordse woelmuis afkomstig waren, is een individueel genetisch profiel bepaald. Dit was mogelijk voor 30 van de 120 verzamelde keutels (25%). Het betrof tussen de 2 en 8 profielen per deelgebied, resulterend in een totaal van 19 profielen voor Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske* en 11 profielen voor Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder*. Voor twee van de drie deelgebieden in Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder* was het aantal bruikbare monsters te laag om genetische diversiteitsberekeningen mogelijk te maken. Voor dit Natura 2000-gebied worden daarom alleen diversiteitswaarden op gebiedsniveau gepresenteerd.

De genetische verschillen tussen Noordse woelmuizen in de twee Natura 2000-gebieden en binnen Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske* blijken klein te zijn. De gevonden waarden suggereren dat er nog steeds sprake is van een goede uitwisseling tussen de Noordse woelmuizen in deze (deel)gebieden, ofwel dat een eventuele beperking in deze uitwisseling pas recent (tijdens de laatste paar generaties) is ontstaan, waardoor deze nog weinig effect heeft gehad op de genetische variatie.

De aangetroffen genetische variatie in beide Natura 2000-gebieden blijkt hoog te zijn, al kan niet geheel uitgesloten worden dat de genetische variatie in een gezonde populatie elders nog hoger is. Het is daarom waardevol om een vergelijking te maken met een gezonde referentiepopulatie elders.

Alhoewel de resultaten geen reden geven tot acute zorg over de genetische verarming van de Noordse woelmuis-populatie in het studiegebied, is het toch aan te bevelen om aan te leggen ecologische verbindingzones ook geschikt te maken voor Noordse woelmuis. Daarbij is vooral een verbindingzone tussen de beide Natura 2000-gebieden van belang. Door de aanleg van ecologische verbindingzones kan mogelijke genetische verarming in de toekomst worden tegengegaan.

Belangrijk hierbij is om de Aardmuis niet onbedoeld in het gebied te introduceren, zoals dat o.a. op Texel wel is gebeurd. Het is onzeker hoe de Aardmuis op Texel is beland, wellicht is de soort meegelift met plantmateriaal. Wanneer de Aardmuis het studiegebied zou koloniseren, kunnen ecologische verbindingzones voor deze soort functioneren als een snelweg van het ene naar het andere (deel)gebied. Dit zal dan ongetwijfeld een sterk negatief effect hebben op de verspreiding en talrijkheid van de Noordse woelmuis.

1 Inleiding

Om de Noordse woelmuis duurzaam te kunnen beschermen en behouden, wil de provincie Noord-Holland graag weten in hoeverre Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder* en Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske* genetisch functioneel verbonden zijn. Vindt er tussen en binnen deze Natura 2000-gebieden, die zijn aangewezen voor de Noordse woelmuis, voldoende genetische uitwisseling plaats? Door het uitvoeren van een nulmeting is onderzocht of de Noordse woelmuizen in deze Natura 2000-gebieden genetisch op elkaar lijken of dat er sprake is van genetische isolatie. Deze kennis is onder andere van belang in verband met de aanleg van ecologische verbindingzones tussen en binnen deze Natura 2000-gebieden.

De genoemde Natura 2000-gebieden lijken redelijk geïsoleerd van elkaar te liggen door de tussenliggende polder De Wijde Wormer met daar doorheen de A7 (figuur 2.1). Deze polder bevat geen geschikt habitat voor de Noordse woelmuis en de vraag is of de soort het gebied kan passeren. Met de Kalverpolder als *stepping stone* zouden er misschien af en toe dieren van het ene Natura 2000-gebied naar het andere Natura 2000-gebied kunnen komen.

Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder* bestaat uit twee deelgebieden: het relatief grote Wormer- en Jisperveld en de relatief kleine Kalverpolder. Binnen beide deelgebieden lijkt de connectiviteit gewaarborgd te zijn. Noordse woelmuizen kunnen in beide deelgebieden verwacht worden en de voor de soort geschikte structuren sluiten goed op elkaar aan. Ook het centraal binnen het Wormer- en Jisperveld gelegen Wormerland lijkt een structuur te hebben die Noordse woelmuizen kunnen bezetten, dan wel gebruiken om van het noordelijk naar het zuidelijk deel van het Wormer- en Jisperveld te komen. De verwachting is daarom dat zowel het Wormer- en Jisperveld als de Kalfspolder genetische eenheden zijn.

Het is echter de vraag in hoeverre het Wormer- en Jisperveld en de Kalverpolder genetisch met elkaar verbonden zijn. Beide deelgebieden worden gescheiden door polder De Engewormer, waarbinnen geen habitat voor Noordse woelmuis aanwezig lijkt te zijn. De kortste afstand tussen de twee deelgebieden bedraagt slechts 650 meter; het is onduidelijk of Noordse woelmuizen deze afstand af en toe overbruggen.

Het Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske* bestaat uit vier intern eenvormige deelgebieden, waardoor uitwisseling van Noordse woelmuizen binnen de deelgebieden naar verwachting mogelijk is. De vier gebiedsdelen zijn deels verbonden, maar ook deels van elkaar gescheiden door bebouwing, een weg en/of een kanaal, waardoor mogelijk sprake is van genetische isolatie tussen de deelgebieden.

Het Oostzanerveld is door de bebouwing van het zuidelijk deel van het dorp Oostzaan deels gescheiden van Twiske, dat zelf door de lintbebouwing van Den Ijp weer gescheiden is van het Ilperveld. De noordoostpunt van het Oostzanerveld vormt mogelijk een rechtstreekse verbinding met het Ilperveld. Het Ilperveld en Varkensland worden gescheiden door het Noord-Hollands kanaal en de N235 (de drukke provinciale weg tussen Amsterdam en Purmerend). Met name het kanaal is mogelijk een beletsel voor een vrije uitwisseling.

2 Materiaal en methode

Algemeen

Om de twee Natura 2000-gebieden en daarbinnen de deelgebieden genetisch met elkaar te kunnen vergelijken zijn DNA-samples van woelmuizen verzameld. Binnen Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder* is de eenheid Wormer- en Jisperveld verdeeld in een noordelijk en zuidelijk deel en apart bemonsterd. De Kalverpolder wordt als apart onderdeel gezien, die mogelijk een genetische verbinding vormt met het Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske*, maar mogelijk ook geïsoleerd is.

Binnen Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske* zijn het Ilperveld, Varkensland en Oostzanerveld elk apart bemonsterd om als geheel genetisch te kunnen vergelijken met het Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder*, maar ook om onderling te kunnen vergelijken in verband met eventuele genetische verschillen binnen dit Natura 2000-gebied. Het Twiske is niet bemonsterd (figuur 2.1).

Per deelgebied zijn 20 DNA-samples van woelmuizen verzameld. In totaal zijn er dus 120 monsters verzameld. Als sampling-methode is gekozen voor het verzamelen van keutels (eDNA). Zoals alle woelmuizen deponeren ook Noordse woelmuizen hun uitwerpselen als herkenbare keutelhoopjes. Om een individueel genetisch monster te verkrijgen is steeds een enkele keutel van zo'n keutelhoopje verzameld.

In Noord-Holland boven het Noordzeekanaal is de Aardmuis afwezig en ook de Rosse woelmuis is in de onderzochte gebieden nog niet aangetroffen. Naast de Noordse woelmuis komt in de Natura-2000-gebieden in principe alleen de Veldmuis als andere woelmuissoort voor. In gebieden waar beide soorten samen voorkomen, bewonen Veldmuizen vooral de kortgrazige, drogere vegetaties en Noordse woelmuizen vooral hogere en nattere (moeras)vegetaties. Door keutels te verzamelen in typisch Noordse woelmuis-habitat is de kans op het verzamelen van keutels van Veldmuizen geminimaliseerd.

Uitvoering van de werkzaamheden in het veld

Per deelgebied is op vier locaties naar keutels gezocht. Op elk van deze locaties gebeurde dat op vijf zoekplekken die minstens 200 meter uit elkaar gelegen waren. Op deze manier wordt voorkomen dat keutels verzameld worden van directe verwanten. De veldwerkzaamheden vonden plaats op 7-9 oktober (Oostzanerveld, Ilperveld, Varkensland) en 4-6 november 2020 (Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder) en is uitgevoerd door Inge Kok en Hedwig de Jong (A&W), Dick Bekker (ZV) en Sil Westra (Silvavir ecologisch advies).

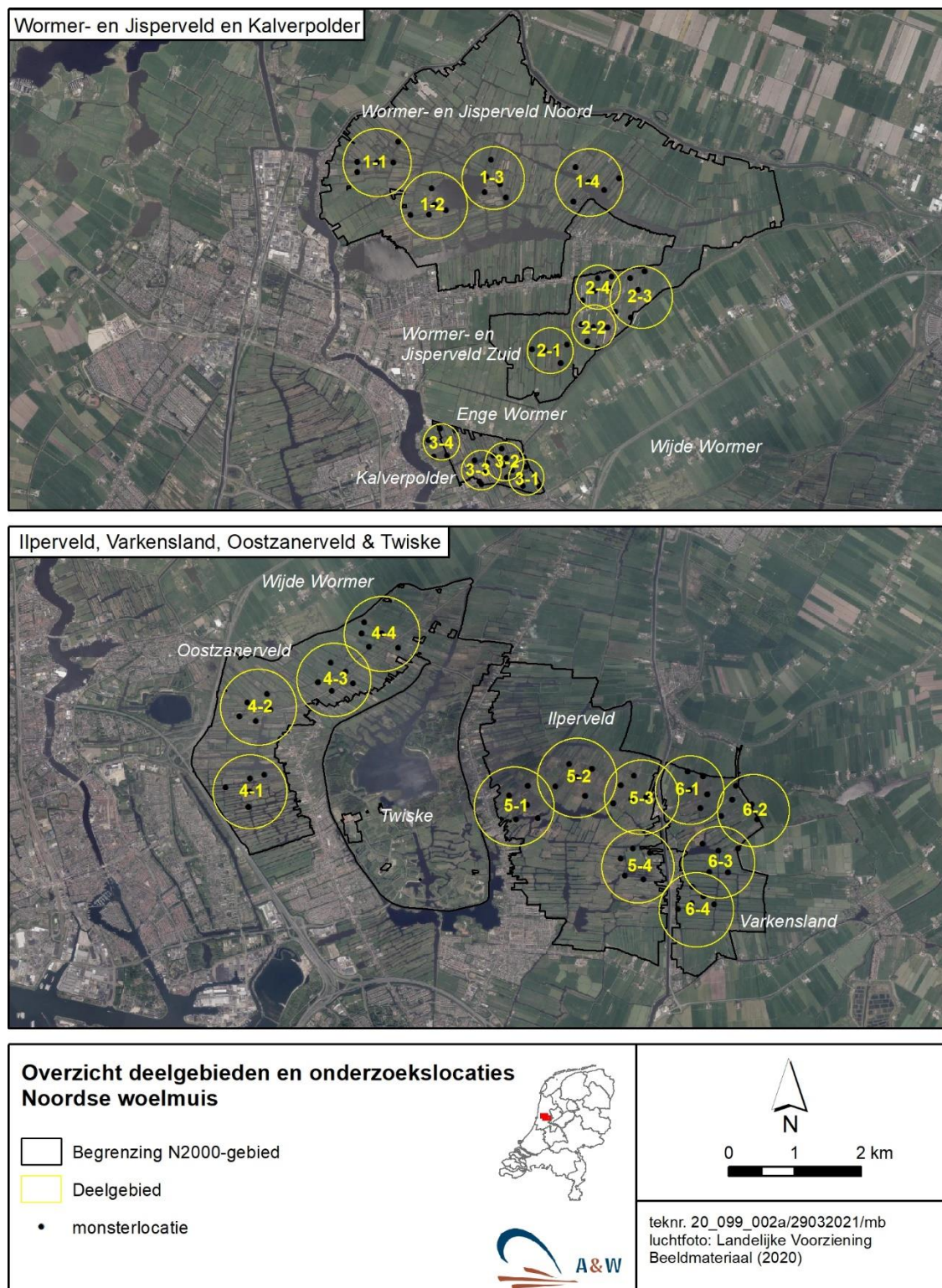
Genetische analyse

De genetische analyses zijn uitgevoerd door het Laboratorium voor Ecologische Genetica van Wageningen Environmental Research (WENR). Van elk van de 120 verzamelde monsters werd allereerst DNA geëxtraheerd middels de QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen), volgens instructies van de fabrikant. Vervolgens werd op elk extract allereerst een soortbepaling uitgevoerd om na te gaan of het daadwerkelijk een keutel van Noordse woelmuis betrof. Hiervoor werd gebruik gemaakt van een generieke genetische merker, die aangrijpt op een fragment van het mitochondriale genoom dat in alle woelmuizen aanwezig is maar waarvan de exacte code per soort verschilt. Per monster is dit fragment vermeerderd, waarna de code is uitgelezen en vergeleken met een database met referentiecodes van alle relevante in het gebied voorkomende muizensoorten.

Voor de monsters die zeker van Noordse woelmuis afkomstig waren werd een vervolganalyse ingezet op basis van 7 microsatelliet-merkers, met als doel een individueel genetisch profiel te verkrijgen. Deze set merkers is eerder ontwikkeld en gepubliceerd door Van der Zande *et al.* (2000); de laboratoriumanalyse is door WENR doorontwikkeld (La Haye & De Groot 2017) voor efficiënte analyse middels twee zogenaamde 'multiplex'-reacties per monster (gelijktijdige analyse van meerdere merkers in één reactievat) en het uitlezen van de aangetroffen gen-varianten (allelen) middels een ABI3730 capillaire sequencer.

Vanwege de mogelijk slechte monsterkwaliteit in dit type keutelmonsters, die kan resulteren in het missen van allelen of het waarnemen van valse allelen, werd de analyse voor elk monster in drievoud uitgevoerd. Monsters waarvoor niet voor tenminste 5 van de 7 merkers een consistente allel-score kon worden bepaald, werden verwijderd uit de analyse. Een nog incompleter profiel zou resulteren in te veel artefacten in de data-analyse. Helaas resulteerde dit in het uitvallen van een aanzienlijk deel van de monsters. Dit is in lijn met eerdere resultaten van La Haye & De Groot (2017).

De genetische verschillen tussen de gebieden en/of deelgebieden zijn op twee manieren geanalyseerd: middels het berekenen van de paarsgewijze genetische differentiatie (F_{st} -waarde) en via een cluster-analyse middels het computerprogramma STRUCTURE (Prichard *et al.* 2000), waarbij gekeken is naar een eventuele opdeling van monsters in verschillende genetische clusters.



Figuur 2.1 Overzicht van de Natura 2000-gebieden Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder en Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske met daarin de zoeklocaties voor woelmuizen-keutels.

3 Resultaten

Aantal locaties met Noordse woelmuis

Uit de soortbepaling bleek dat 114 van de 120 verzamelde keutels afkomstig waren van Noordse woelmuis, per deelgebied varieerde dat tussen 17 en 20 (van maximaal 20; tabel 3.1, figuur 3.1). Van de zes overige keutels kon niet worden vastgesteld welke soort het betrof. Niet uitgesloten kan worden dat ook deze keutels van Noordse woelmuis afkomstig waren.

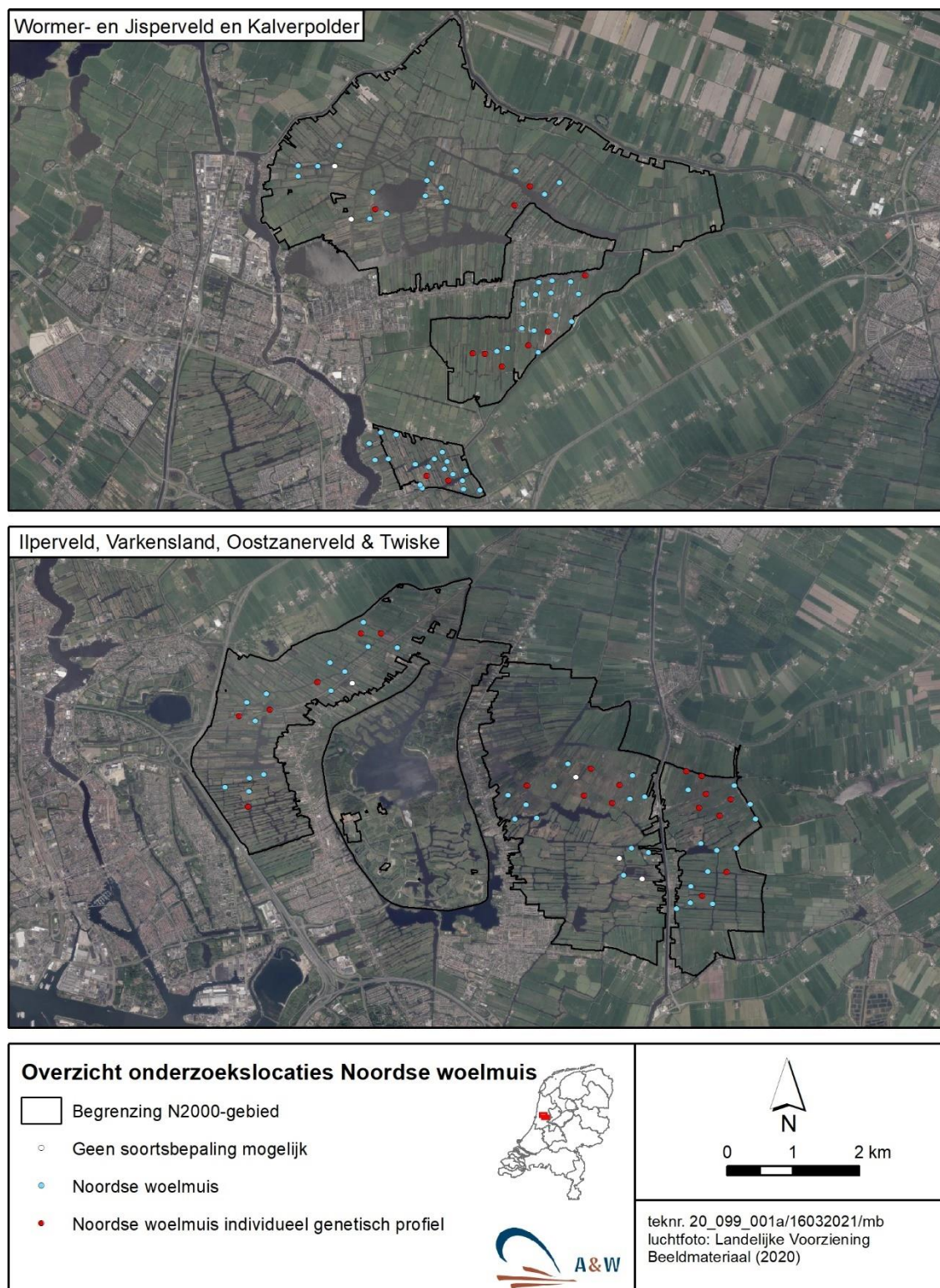
Aantal verkregen individuele genetische profielen

Gemiddeld kon voor 25% van de verzamelde keutelmonsters succesvol een genetisch profiel verkregen worden. Dit betrof tussen de 2 en 8 profielen per deelgebied, resulterend in een totaal van respectievelijk 19 en 11 profielen voor de Natura 2000-gebieden *Ilperveld*, *Varkensland*, *Oostzanerveld & Twiske* en *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder*. Deze 30 unieke genetische profielen zijn afkomstig van 30 verschillende individuen (tabel 3.1; figuur 3.1, bijlage 1).

Het aantal van 30 unieke genetische profielen is voldoende voor het maken van een inschatting van de genetische diversiteit binnen en tussen de twee Natura 2000-gebieden. Voor Natura 2000 gebied *Ilperveld*, *Varkensland*, *Oostzanerveld & Twiske* zijn de genetische diversiteitswaarden ook per deelgebied berekend. Op dit schaalniveau moeten de gevonden waarden echter vanwege het lage aantal bruikbare monsters per deelgebied als indicatief worden beschouwd. Voor twee van de drie deelgebieden in Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder* was het aantal bruikbare monsters te laag om genetische diversiteitsberekeningen mogelijk te maken. Voor dit Natura 2000-gebied worden daarom alleen diversiteitswaarden op gebiedsniveau gepresenteerd.

Tabel 3.1 Overzicht van het aantal bemonsterde locaties, het aantal monsters met Noordse woelmuis, het aantal succesvolle genetische profielen van Noordse woelmuis per deelgebied en per Natura 2000-gebied.

N2000-gebied	Deelgebied	Locaties bemonsterd	Monsters met Noordse woelmuis	Succesvolle genetische profielen per deelgebied	Succesvolle genetische profielen per N2000-gebied
Ilperveld, Oostzanerveld en Varkensland	Ilperveld	20	17	5	19
	Oostzanerveld	20	19	6	
	Varkensland	20	20	8	
Wormer- & Jisperveld en Kalverpolder	Wormer- & Jisperveld Zuid	20	20	6	11
	Wormer- & Jisperveld Noord	20	18	3	
	Kalverpolder	20	20	2	
Totaal		120	114	30 (25%)	30



Figuur 3.1 Overzicht van de onderzoekslocaties in de Natura 2000-gebieden Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder en Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske met het resultaat van de soortbepaling en de bepaling van het individueel genetisch profiel.

Genetische connectiviteit

Op gebiedsniveau werd tussen Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske* en Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder* een *Fst*-waarde bepaald van 0.0237. Dit kan worden beschouwd als een lage waarde, die op basis van een statistische test niet significant afweek van nul. Dit wijst erop dat de mate van genetische differentiatie erg beperkt is. In tabel 3.2 staan de paarsgewijze *Fst*-waarden voor de drie deelgebieden van Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske*, zowel onderling als ten opzichte van Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder*. Deze uitkomsten laten zien dat ook tussen deelgebieden binnen Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske* de genetische differentiatie gering is, net als tussen elk van deze deelgebieden en Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder*. De grootste, maar nog altijd geringe, differentiatiewaarde werd gevonden tussen het Oostzanerveld en Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder*. De genetische verschillen tussen Noordse woelmuizen in de twee Natura 2000-gebieden en binnen Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske* zijn dus klein.

Tabel 3.2 Paarsgewijze genetische *Fst*-waarden uit de differentiatie-analyse voor drie deelgebieden van Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske*, zowel onderling als ten opzichte van Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder*.

Natura 2000-gebied / deelgebied	Oostzanerveld	Varkensland	Wormer- en Jisperveld en Kalverpolder
Ilperveld	0,022	0,000	0,013
Oostzanerveld		0,020	0,038
Varkensland			0,004

De tweede analyse, een clusteranalyse met het software-pakket STRUCTURE, resulteerde in de toewijzing van alle 30 profielen aan hetzelfde genetische cluster. Deze resultaten komen overeen met de resultaten van de genetische differentiatie. Een grafiek met de clusterindeling is achterwege gelaten aangezien deze voor alle monsters hetzelfde patroon laat zien.

Genetische variatie

In tabel 3.3 zijn de belangrijkste populatie-genetische karakteristieken voor de genetische variatie weergegeven, per Natura 2000-gebied en voor de deelgebieden binnen Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske*. De waarden per deelgebied moeten voorzichtig worden geïnterpreteerd, maar geven een vergelijkbaar beeld als de waarden voor het Natura 2000-gebied als geheel.

Tabel 3.3 De belangrijkste populatie-genetische karakteristieken voor genetische variatie per Natura 2000-gebied en voor de deelgebieden binnen Natura 2000-gebied Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske. N = steekproefgrootte, A = gemiddeld aantal allelen per merker, Ar = gemiddeld aantal allelen per merker gecorrigeerd voor steekproefgrootte, He = verwachte heterozygositeit, Ho = waargenomen heterozygositeit, Fis = inteeltcoëfficiënt.

Natura 2000-gebied	deelgebied	N	A	Ar	He	Ho	Fis
Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske	totaal	19	9,2	5,5	0,74	0,62	0,11
	Ilperveld	5	4,6		0,79	0,58	0,16
	Oostzanerveld	6	4,8		0,69	0,45	0,29
	Varkensland	8	7,4		0,76	0,73	0,02
Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder	totaal	11	7,6	5,2	0,82	0,55	0,34
Totaal		30	11,4	5,6			

De aangetroffen genetische variatie blijkt in beide Natura 2000-gebieden hoog te zijn, op basis van de totale allelenrijkdom (A , gemiddeld aantal allelen per merker), met name gezien het beperkte aantal profielen. Het aantal allelen voor Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske* was iets hoger dan voor Natura 2000-gebied *Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder*. Dit kan verklaard worden door het hogere aantal profielen voor Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske*, zoals ook blijkt uit het feit dat dit verschil nagenoeg verdwijnt na correctie voor de steekproefgrootte (Ar). Ook de verwachte heterozygositeit (He), een alternatieve maat voor de genetische variatie, kan over het algemeen als hoog worden beschouwd.

Opvallend is dat de waargenomen heterozygositeit (Ho ; variatie binnen individuen, en een signaalwaarde voor de mate van inteelt) relatief laag is ten opzichte van de verwachte heterozygositeit (He) op basis van de genetische variatie in de populatie. Dit resulteert in een sterk positieve inteeltcoëfficiënt (Fis). Voorgaande suggereert dat er sprake is van een niet-willekeurige paringskeuze, bijvoorbeeld doordat sprake is van een substructuur op zeer lokaal niveau, waarbij kleine kolonies van muizen vooral onderling paren. Dit is geen onbekend fenomeen bij dieren met een sterke sociale structuur zoals bekend van veel muizensoorten. Als de uitwisseling die af en toe tussen deze kolonies optreedt wel willekeurig is (dat wil zeggen als een muis eenmaal zijn/haar kolonie verlaat kan deze zowel een nabijgelegen als een wat verder weg gelegen kolonie bereiken, en daar voor nakomelingen zorgen) vormt dit een goede verklaring voor het feit dat er geen sprake is van duidelijk genetische verschillen tussen (deelgebieden van) de Natura-2000 gebieden.

4 Conclusies en discussie

Keutels van woelmuizen waren in de bezochte Natura 2000-gebieden in het najaar van 2020 relatief eenvoudig te vinden, dit in tegenstelling tot Fryslân in hetzelfde jaar (ervaringen A&W en ZV). Van de 120 verzamelde keutels bleken er 114 afkomstig te zijn van Noordse woelmuis. Dit laat zien dat keutels van Noordse woelmuizen zeer gericht verzameld konden worden. De Noordse woelmuis blijkt in beide Natura 2000-gebieden een ruime verspreiding te hebben en waarschijnlijk is er sprake van een omvangrijke populatie. Gezien het ruime verspreidingsgebied gaat het wellicht om de grootste populatie van Nederland. Het ontbreken van de Aardmuis als concurrerende soort speelt hierbij waarschijnlijk een belangrijke rol.

Van 30 van de 120 keutels (25%) kon succesvol een genetisch profiel verkregen worden. Dit roept de vraag op hoe dit percentage bij vergelijkbaar onderzoek verhoogd kan worden. De degeneratie van het DNA in keutels verloopt naar verwachting sneller bij een hogere temperatuur, al bleek dit niet uit onze resultaten: van de 60 op 7-9 oktober verzamelde keutels kon van 19 (32%) een genetisch profiel verkregen worden, tegen 11 van 60 (18%) van de op 4-6 november verzamelde keutels. Wellicht kan het succespercentage verhoogd worden door de keutels nog later in het najaar te verzamelen. Nadeel hiervan is dat de dichtheid van woelmuizen later in het najaar lager is en keutels minder gemakkelijk te vinden zullen zijn. Een andere mogelijkheid is om keutelplankjes uit te leggen, waardoor alleen zeer verse keutels verzameld kunnen worden. Dit vraagt echter meer tijd, wat het onderzoek duurder maakt, omdat een gebied minimaal twee maal bezocht moet worden. Een ander alternatief is om woelmuizen met *lifetraps* te vangen om vervolgens (verse) keutels op te kunnen vangen of bloed af te nemen.

Genetische connectiviteit

De genetische verschillen tussen Noordse woelmuizen in de twee Natura 2000-gebieden en binnen Natura 2000-gebied *Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske* blijken klein te zijn. De gevonden waarden suggereren dat er nog steeds sprake is van een goede uitwisseling tussen de Noordse woelmuizen in deze (deel)gebieden, ofwel dat een eventuele beperking in deze uitwisseling pas recent (tijdens de laatste paar generaties) is ontstaan, waardoor deze nog weinig effect heeft gehad op de genetische variatie. Vergelijkbare *Fst*-waarden werden eerder ook door Van der Zande *et al.* (2000) aangetroffen tussen (sub)populaties binnen de regio's Vlietlanden en Ouddorp, waarbij deze auteurs dezelfde conclusie trokken met betrekking tot de connectiviteit op lokaal niveau.

Genetische variatie

De aangetroffen genetische variatie in beide Natura 2000-gebieden blijkt hoog te zijn, zowel op basis van de totale allelenrijkdom, als op basis van de verwachte heterozygositeit (*He*). De waargenomen heterozygositeit (*Ho*) is relatief laag ten opzichte van de verwachte heterozygositeit (*He*), resulterend in een sterk positieve inteeltcoëfficiënt (*Fis*).

Echter, harde uitspraken over de verwachte heterozygositeit (*He*) zijn lastig te doen, omdat in de huidige analyse geen referentiewaarden verzameld konden worden van een andere populatie die in een bewezen gunstige staat verkeert. Kortom, we kunnen niet geheel uitsluiten dat de genetische variatie in een gezonde populatie elders nog hoger is. De resultaten geven echter geen reden tot acute zorg over genetische verarming van de Noordse woelmuispopulatie in de onderzochte Natura-2000 gebieden. Het zou wel waardevol zijn om een vergelijking te maken met een gezonde referentiepopulatie elders, hoewel deze patronen bij Noordse woelmuizen wellicht sterk habitat-afhankelijk zijn.

De vermoedelijke substructuur binnen de deelgebieden (gesuggereerd door de in sommige gevallen sterk positieve inteeltcoëfficiënt (F_{is}) kan mogelijk verklaard worden doordat geschikt habitat voor de Noordse woelmuis niet overal voorkomt. In sommige delen van beide Natura 2000-gebieden komt geschikt habitat bijna vlakdekkend voor, in andere meer intensief beweide of gemaaide delen is dat meer plaatselijk. In het laatste geval zou de inteeltcoëfficiënt (F_{is}) wel eens hoger kunnen zijn. Eventueel kan dit onderzocht worden door de habitatgeschiktheid rond de monsterlocaties, waar een genetisch profiel verkregen kon worden, in beeld te brengen.

Aanleg ecologische verbindingzones

Alhoewel de resultaten geen reden geven tot acute zorg over de genetische verarming van de Noordse woelmuis-populatie in het studiegebied, is het toch aan te bevelen om aan te leggen ecologische verbindingzones ook geschikt te maken voor Noordse woelmuis. Daarbij is vooral een verbindingzone tussen de beide Natura 2000-gebieden van belang. Door de aanleg van ecologische verbindingzones kan mogelijke genetische verarming in de toekomst worden tegengegaan.

Belangrijk hierbij is om de Aardmuis niet onbedoeld in het gebied te introduceren, zoals dat o.a. op Texel wel is gebeurd. Het is onzeker hoe de Aardmuis op Texel is beland, wellicht is de soort meegelift met plantmateriaal. Wanneer de Aardmuis het studiegebied zou koloniseren, kunnen ecologische verbindingzones voor deze soort functioneren als een snelweg van het ene naar het andere (deel)gebied. Dit zal dan ongetwijfeld een sterk negatief effect hebben op de verspreiding en talrijkheid van de Noordse woelmuis.

5 Literatuur

La Haye M., De Groot G.A. (2017). Soort- en individuele herkenning van noordse woelmuis met eDNA: een pilot langs het kanaal Omval-Kolhorn. Zoogdiervereniging rapport 2017.05.

Pritchard J. K., Stephens M., Donnelly P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959.

Van der Zande L., Van Apeldoorn R.C., Blijdenstein A.F., De Jong D., Van Delden W., Bijlsma R. (2000). Microsatellite analysis of population structure and genetic differentiation within and between populations of the root vole, *Microtus oeconomus* in the Netherlands. *Molecular Ecology* 9: 1651-1656.

Bijlage 1 Basisgegevens van de keutelmonsters

Gebied / code	M. oeconomus	Indiv. genetisch	x_coord	y_coord	datum
1 WormJispN-1-1	JA		115365	503500	4-11-2020
1 WormJispN-1-2	JA		115071	503510	4-11-2020
1 WormJispN-1-3	JA		115070	503351	4-11-2020
1 WormJispN-1-4	NEE		115619	503503	4-11-2020
1 WormJispN-1-5	JA		115693	503813	4-11-2020
1 WormJispN-2-1	NEE		115872	502700	4-11-2020
1 WormJispN-2-2	JA		116152	502709	4-11-2020
1 WormJispN-2-3	JA	JA	116233	502855	4-11-2020
1 WormJispN-2-4	JA		116200	503107	4-11-2020
1 WormJispN-2-5	JA		116410	502779	4-11-2020
1 WormJispN-3-1	JA		116998	503049	4-11-2020
1 WormJispN-3-2	JA		117022	503285	4-11-2020
1 WormJispN-3-3	JA		117095	503539	4-11-2020
1 WormJispN-3-4	JA		117235	503173	4-11-2020
1 WormJispN-3-5	JA		117319	502965	4-11-2020
1 WormJispN-4-1	JA	JA	118345	502907	4-11-2020
1 WormJispN-4-2	JA	JA	118579	503200	4-11-2020
1 WormJispN-4-3	JA		118373	503427	4-11-2020
1 WormJispN-4-4	JA		118810	503077	4-11-2020
1 WormJispN-4-5	JA		119034	503254	4-11-2020
2 WormJispZ-1-1	JA	JA	117714	500666	5-11-2020
2 WormJispZ-1-2	JA	JA	117902	500659	5-11-2020
2 WormJispZ-1-3	JA		118085	500692	5-11-2020
2 WormJispZ-1-4	JA		118248	500742	5-11-2020
2 WormJispZ-1-5	JA	JA	118152	500459	5-11-2020
2 WormJispZ-2-1	JA		118463	501043	5-11-2020
2 WormJispZ-2-2	JA	JA	118556	500786	5-11-2020
2 WormJispZ-2-3	JA		118712	500683	5-11-2020
2 WormJispZ-2-4	JA		118650	501010	5-11-2020
2 WormJispZ-2-5	JA	JA	118856	500994	5-11-2020
2 WormJispZ-3-1	JA		118975	501241	5-11-2020
2 WormJispZ-3-2	JA		119215	501149	5-11-2020
2 WormJispZ-3-3	JA		119321	501566	5-11-2020
2 WormJispZ-3-4	JA	JA	119421	501847	5-11-2020
2 WormJispZ-3-5	JA		119205	501747	5-11-2020
2 WormJispZ-4-1	JA		118923	501769	5-11-2020
2 WormJispZ-4-2	JA		118900	501583	5-11-2020

Gebied / code	M. oeconomus	Indiv. genetisch	x_coord	y_coord	datum
2 WormJispZ-4-3	JA		118715	501744	5-11-2020
2 WormJispZ-4-4	JA		118668	501555	5-11-2020
2 WormJispZ-4-5	JA		118477	501408	5-11-2020
3Kalverp-1-1	JA		117619	498889	5-11-2020
3Kalverp-1-2	JA		117826	498592	5-11-2020
3Kalverp-1-3	JA		117417	498833	5-11-2020
3Kalverp-1-4	JA		117560	498732	5-11-2020
3Kalverp-1-5	JA		117577	498604	5-11-2020
3Kalverp-2-1	JA		117257	499165	5-11-2020
3Kalverp-2-2	JA		117328	499020	5-11-2020
3Kalverp-2-3	JA	JA	117341	498731	6-11-2020
3Kalverp-2-4	JA		117284	498913	6-11-2020
3Kalverp-2-5	JA		117133	499060	6-11-2020
3Kalverp-3-1	JA		117043	498944	6-11-2020
3Kalverp-3-2	JA	JA	117013	498809	6-11-2020
3Kalverp-3-2	JA		116952	498622	6-11-2020
3Kalverp-3-4	JA		116916	498667	6-11-2020
3Kalverp-3-5	JA		116844	498985	6-11-2020
3Kalverp-4-1	JA		116431	499061	6-11-2020
3Kalverp-4-2	JA		116232	499046	6-11-2020
3Kalverp-4-3	JA		116323	499469	6-11-2020
3Kalverp-4-4	JA		116149	499294	6-11-2020
3Kalverp-4-5	JA		116555	499437	6-11-2020
4 Oostzanerv-1-1	JA		119203	496256	7-10-2020
4 Oostzanerv-1-2	JA		118985	496201	7-10-2020
4 Oostzanerv-1-3	JA		118977	496002	7-10-2020
4 Oostzanerv-1-4	JA		118610	496060	7-10-2020
4 Oostzanerv-1-5	JA	JA	118961	495768	7-10-2020
4 Oostzanerv-2-1	JA		119073	497069	7-10-2020
4 Oostzanerv-2-2	JA	JA	119292	497235	7-10-2020
4 Oostzanerv-2-3	JA		118946	497348	7-10-2020
4 Oostzanerv-2-4	JA	JA	118822	497138	7-10-2020
4 Oostzanerv-2-5	JA		119239	497480	7-10-2020
4 Oostzanerv-3-1	JA	JA	120015	497652	7-10-2020
4 Oostzanerv-3-2	JA		120218	497528	7-10-2020
4 Oostzanerv-3-3	NEE		120545	497637	7-10-2020
4 Oostzanerv-3-4	JA		120431	497816	7-10-2020
4 Oostzanerv-3-5	JA		120207	497951	7-10-2020
4 Oostzanerv-4-1	JA		120787	498192	7-10-2020
4 Oostzanerv-4-2	JA	JA	120673	498393	7-10-2020
4 Oostzanerv-4-3	JA	JA	120978	498391	7-10-2020
4 Oostzanerv-4-4	JA		120715	498560	7-10-2020

Gebied / code	M. oeconomus	Indiv. genetisch	x_coord	y_coord	datum
4 Oostzanerv-4-5	JA		121228	498178	7-10-2020
5 Ilperveld-1-1	JA		123339	495593	8-10-2020
5 Ilperveld-1-2	JA		123012	495584	8-10-2020
5 Ilperveld-1-3	JA		123184	495795	8-10-2020
5 Ilperveld-1-4	JA	JA	123192	496084	8-10-2020
5 Ilperveld-1-5	JA		122906	495941	8-10-2020
5 Ilperveld-2-1	JA		123607	496081	8-10-2020
5 Ilperveld-2-2	JA		123820	496414	8-10-2020
5 Ilperveld-2-3	NEE		123934	496213	8-10-2020
5 Ilperveld-2-4	JA	JA	124159	496345	8-10-2020
5 Ilperveld-2-5	JA	JA	124055	495934	8-10-2020
5 Ilperveld-3-1	JA	JA	124482	495820	8-10-2020
5 Ilperveld-3-2	JA	JA	124593	496097	8-10-2020
5 Ilperveld-3-3	JA		124798	496241	8-10-2020
5 Ilperveld-3-4	JA		124761	495885	8-10-2020
5 Ilperveld-3-5	JA		124979	495917	8-10-2020
5 Ilperveld-4-1	JA		124784	495139	8-10-2020
5 Ilperveld-4-2	NEE		124599	494985	8-10-2020
5 Ilperveld-4-3	JA		124659	494728	8-10-2020
5 Ilperveld-4-4	NEE		124944	494671	8-10-2020
5 Ilperveld-4-5	JA		125042	495071	8-10-2020
6Varkensl-1-1	JA	JA	125807	495745	9-10-2020
6Varkensl-1-2	JA	JA	125904	495956	9-10-2020
6Varkensl-1-3	JA		125639	496024	9-10-2020
6Varkensl-1-4	JA	JA	125607	496303	9-10-2020
6Varkensl-1-5	JA	JA	125844	496235	9-10-2020
6Varkensl-2-1	JA		126340	496087	9-10-2020
6Varkensl-2-2	JA	JA	126284	495876	9-10-2020
6Varkensl-2-3	JA		126583	495807	9-10-2020
6Varkensl-2-4	JA	JA	126113	495632	9-10-2020
6Varkensl-2-5	JA		126663	495584	9-10-2020
6Varkensl-3-1	JA		125838	495211	9-10-2020
6Varkensl-3-3	JA		126375	495141	9-10-2020
6Varkensl-3-3	JA		126076	495109	9-10-2020
6Varkensl-3-4	JA		125938	494787	9-10-2020
6Varkensl-3-5	JA	JA	126223	494775	9-10-2020
6Varkensl-4-1	JA		126016	494297	9-10-2020
6Varkensl-4-2	JA		125677	494311	9-10-2020
6Varkensl-4-3	JA	JA	125854	494410	9-10-2020
6Varkensl-4-4	JA		125685	494555	9-10-2020
6Varkensl-4-5	JA		125465	494223	9-10-2020

Adres

Suderwei 2
9269 TZ Feanwâlden
Telefoon 0511 47 47 64
info@altwym.nl

www.altwym.nl

Adres Amsterdam

Gebouw Matrix II, unit 2.10
Science Park 400/K2.10
1098 XH Amsterdam