



## **Voorstel voor monitoring van de noordse woelmuis d.m.v. van eDNA in N2000-gebieden en andere leefgebieden**

**Maurice La Haye & Hans Schekkerman**



Rapport 2016.30 van de Zoogdierverseniging  
In opdracht van BIJ12

# Voorstel voor monitoring van de noordse woelmuis d.m.v. eDNA in N2000-gebieden en andere leefgebieden

|                              |  |
|------------------------------|--|
| Rapport nr.:                 | 2016.30  |
| Datum uitgave:               | 9 februari 2017  |
| Status                       | Definitief   |
| Auteur:                      | Maurice La Haye & Hans Schekkerman (Sovon)   |
| Foto voorblad:               | Sil Westra   |
| Kwaliteitscontrole:          | Hans Hollander   |
| Productie:                   | <b>Steunstichting VZZ, in rapport vermeld als de Zoogdiervereniging</b><br>Bezoekadres: Toernooiveld 1<br>6525 ED Nijmegen<br>Postadres: Postbus 6531<br>6503 GA Nijmegen<br>Tel.: 024 7410500<br><a href="mailto:secretariaat@zoogdiervereniging.nl">secretariaat@zoogdiervereniging.nl</a><br><a href="http://www.zoogdiervereniging.nl">www.zoogdiervereniging.nl</a> |
| Gegevens opdrachtgever:      | BIJ12<br>Leidseveer 2<br>3511 SB Utrecht   |
| Contactpersoon opdrachtgever | Linde Gommers & Mira Heesakkers  |
| In opdracht van:             | BIJ12  |

## Dit rapport kan geciteerd worden als:

La Haye, M. & Schekkerman, H., 2017. Voorstel voor monitoring van de noordse woelmuis d.m.v. eDNA in N2000-gebieden en andere leefgebieden. Rapport 2016.30. Zoogdiervereniging, Nijmegen.

**INHOUDSOPGAVE**

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>1</b> | <b>Inleiding.....</b>   | <b>8</b>  |
| 1.1      | Aanleiding.....   | 8         |
| 1.2      | Opdracht.....   | 8         |
| 1.3      | Leeswijzer.....   | 8         |
| <b>2</b> | <b>Theorie achter de eDNA methode.....</b>  | <b>9</b>  |
| 2.1      | Ecologie van de soort .....   | 9         |
| 2.2      | Frequentie van monitoren .....  | 9         |
| 2.3      | Waarneming versus aanwezigheid.....   | 9         |
| 2.4      | Aantal bemonsteringen per seizoen .....   | 11        |
| 2.5      | Bezettingsgraad in recente onderzoeken .....  | 13        |
| <b>3</b> | <b>Toepassing en kosten in de praktijk .....</b>  | <b>15</b> |
| 3.1      | Verspreiding van de soort in Nederland.....   | 15        |
| 3.2      | Instandhoudingsdoelstellingen N2000.....  | 16        |
| 3.3      | Verspreiding binnen en buiten N2000 gebieden.....   | 17        |
| 3.3.1    | Deelgebied Texel .....  | 17        |
| 3.3.2    | Deelgebied Hollands-Utrechts veenweidegebied .....  | 19        |
| 3.3.3    | Deelgebied Deltagebied .....  | 20        |
| 3.3.4    | Deelgebied Fryslân.....   | 21        |
| 3.4      | Aantal meetpunten per leefgebied.....   | 22        |
| 3.5      | Kosten van de monitoring .....  | 25        |
| <b>4</b> | <b>Conclusies en aanbevelingen.....</b>   | <b>28</b> |
| 4.1      | Praktijkproef .....   | 28        |
| 4.2      | Kosten.....   | 28        |
| 4.3      | Veldwerkprotocol(len).....  | 28        |
|          | <b>Bijlage 1 Protocol veldbemonstering keutels noordse woelmuis ten<br/>behoefte van een (e)DNA-analyse .....</b> | <b>31</b> |

# 1 Inleiding

## 1.1 Aanleiding

In het Netwerk Ecologische Monitoring (NEM) wordt de noordse woelmuis (*Microtus oeconomus arenicola*) gemonitord door middel van het pluizen van uilenballen. Dat levert voldoende informatie op voor een landelijke trend van de verspreiding van de soort. De uitkomsten daarvan zijn voldoende voor de EU-rapportages over de *landelijke staat van instandhouding* van deze soort.

Voor de monitoring van de noordse woelmuis met betrekking tot Natura 2000-doelstellingen (verder N2000) is echter ook informatie op gebiedsniveau nodig, evenals bijvoorbeeld voor beheervragen die spelen in leefgebieden waar de noordse woelmuis voorkomt (ook buiten N2000 gebieden). Monitoring d.m.v. de eDNA methodiek (Herder *et al.* 2015) zou een mogelijkheid kunnen zijn om deze monitoring op te zetten. Dit rapport is bedoeld om te verkennen of monitoring van de noordse woelmuis met behulp van de eDNA methodiek haalbaar en betaalbaar is.

## 1.2 Opdracht

De provincies Zeeland, Zuid-Holland, Noord-Holland en Fryslân hebben aangegeven de monitoring van de noordse woelmuis in N2000-gebieden en andere leefgebieden van de soort op elkaar af te willen stemmen. Het doel is te komen tot een gezamenlijke monitoringsaanpak, zodat analyses op gebiedsniveau mogelijk zijn in aanvulling op de landelijke NEM-monitoring van de noordse woelmuis d.m.v. uilenballen en/of inventarisaties met inloopvallen. Gedacht wordt aan de implementatie van de eDNA-monitoringstechniek (Herder *et al.* 2015) en het onderling afstemmen van deze monitoring, zodat in alle provincies dezelfde protocollen worden gevolgd en de data vergelijkbaar zijn.

## 1.3 Leeswijzer

In deze rapportage staat beschreven hoe een fijnmazige monitoring van de *verspreiding* van de noordse woelmuis met behulp van de eDNA methode opgezet zou kunnen worden. Voor soorten als de noordse woelmuis die een grote variatie vertonen in aantallen per jaar en per seizoen, levert *aantalsmonitoring* ecologisch en beleidsmatig gezien *geen meerwaarde* en die insteek is daarom in dit rapport verder niet uitgewerkt. Mogelijk is aantalsmonitoring wel van belang bij specifieke beheervraagstukken, maar daarvoor is monitoring met behulp van de eDNA methode (of met behulp van braakbal-analyses) vooralsnog niet mogelijk. Monitoring van aantallen is wel mogelijk met behulp van gestandaardiseerd onderzoek met inloopvallen.

## 2 Theorie achter de eDNA methode

### 2.1 Ecologie van de soort

De noordse woelmuis leeft in hoge vegetaties met vooral grasachtige planten. In gebieden waar andere woelmuizen voorkomen, leeft de soort met name in de natte terreindelen, zoals rietland, moeras, zeer extensief gebruikte weilanden, drassige hooilanden, vochtige duinvalleien en periodiek overstroomde terreinen. Doordat de noordse woelmuis geen watervrees heeft, kan hij goed eilandjes bereiken, waar de soort dan vaak als enige woelmuissoort voorkomt. In gebieden waar geen andere woelmuizen leven wordt de soort ook wel aangetroffen in drogere gedeelten, zoals in wegbermen of zelfs in droog naaldbos. De noordse woelmuis is gevoelig voor concurrentie met andere woelmuizen: met name aardmuis (*Microtus agrestis*) en veldmuis (*Microtus arvalis*), mogelijk ook de rosse woelmuis (*Myodes glareolus*). De soort wordt daardoor, in de aanwezigheid van aardmuis, veldmuis en rosse woelmuis, verdreven naar de meest natte en dynamische terreindelen.

### 2.2 Frequentie van monitoren

Het doel van het monitoren van de noordse woelmuis ligt in het volgen van de verspreiding van de soort in de tijd, waarbij een eventuele voor- of achteruitgang in verspreiding tijdig wordt gesignaleerd. Aangezien het niet nodig is om de jaarlijkse populatieschommelingen te registreren, maar wel actuele informatie over de verspreiding te verzamelen, is voor deze rapportage uitgegaan van een monitoring die 1x per 3 of 1x per 6 jaar de verspreiding van de soort in kaart zou moeten brengen op een aantal (vaste) meetpunten in een leefgebied (de Habitatrichtlijn kent de verplichting om elke 6 jaar te rapporteren over de staat van instandhouding van een soort).

### 2.3 Waarneming versus aanwezigheid

De meetvariabele bij de monitoring van noordse woelmuizen is hun presentie: op hoeveel (welk aandeel) van de meetpunten in een leefgebied is de soort aanwezig? Het aantal punten waar de soort bij een bemonstering is aangetroffen is hiervoor een voor de hand liggende maat, maar soms (bij verborgen levende dieren zelfs vaak) worden dieren bij een eenmalig bezoek aan een plek waar ze wel aanwezig zijn toch niet gevonden. Dan hangt het aantal locaties waar een soort is aangetroffen dus niet alleen af van het aantal locaties waar hij aanwezig is, maar óók van hoe goed of slecht de soort is waar te nemen:

$$P(\text{aangetroffen}) = P(\text{aanwezig}) \times P(\text{detectie}).$$

Hierin staat P voor 'kans op', dus  $P(\text{aangetroffen})$  is de fractie van de meetpunten waarop de soort is gevonden bij de bemonstering.  $P(\text{aanwezig})$  is de fractie

meetpunten waar de soort aanwezig is (de 'bezettingsgraad' of *occupancy*), en  $P(\text{detectie})$  is de waarneemkans: de kans dat de soort bij een bezoek wordt waargenomen, *gegeven dat hij op die plek aanwezig is*.  $P(\text{aanwezig})$  is de variabele waarin we bij de monitoring werkelijk in zijn geïnteresseerd, maar om die af te leiden uit een inventarisatie of bemonstering moeten we dus ook de grootte van de detectiekans weten:

$$P(\text{aanwezig}) = P(\text{aangetroffen}) / P(\text{detectie})$$

De detectiekans is meestal onbekend, maar kan worden geschat door de bemonstering herhaald uit te voeren, in een kort tijdsbestek waarin de werkelijke bezetting van de meetpunten niet verandert (door lokale uitsterving of kolonisatie). Hieronder een voorbeeld van een dataset uit twee bemonsteringsrondes op zes meetpunten, waarbij een 1 aangeeft dat de onderzochte soort is aangetroffen, en een 0 dat dat niet het geval was:

| meetpunt | ronde 1 | ronde 2 |
|----------|---------|---------|
| A        | 1       | 1       |
| B        | 1       | 0       |
| C        | 1       | 0       |
| D        | 0       | 1       |
| E        | 0       | 0       |
| F        | 0       | 0       |

Onder de aanname dat de werkelijke bezetting van de meetpunten tussen rondes 1 en 2 niet is veranderd, is duidelijk dat de soort ten minste op meetpunten A t/m D aanwezig was, maar daar niet altijd werd aangetroffen. De waarneemkans is ten hoogste 0.63 (5 uit 8 bemonsteringen op plekken 1 t/m 4), maar kan heel goed ook nog kleiner zijn. De dubbele nul-waarnemingen op locaties E en F kunnen immers ook zijn opgetreden terwijl de soort daar toch aanwezig was (in dat geval is de waarneemkans  $5/12=0.42$ ). De statistische analysemethoden waarmee uit dit soort herhaalde waarnemingen zowel de bezettingsgraad als de detectiekans kunnen worden geschat, worden aangeduid met de term '*site occupancy modelling*' (MacKenzie *et al.* 2002, 2005), en er zijn diverse programma's en procedures voor beschikbaar. In dit soort modellen wordt de detectiekans vaak aangeduid met het symbool  $p$  en de bezettingsgraad (kans op aanwezigheid) met  $\psi$ .

De nauwkeurigheid waarmee de waarden van  $p$  en  $\psi$  kunnen worden geschat uit meetgegevens neemt toe met zowel het aantal meetlocaties als het aantal bemonsteringsrondes per meetperiode, en met de groottes van  $p$  en  $\psi$  zelf. Dat betekent bijvoorbeeld dat (gegeven financiële of praktische grenzen aan de meetinspanning) een afweging gemaakt kan worden tussen het uitvoeren van meer bemonsteringsrondes per locatie of het bemonsteren van meer locaties. Welke strategie de meest nauwkeurige schattingen oplevert is echter mede afhankelijk van de bezettingsgraad en detectiekans die geldig zijn in de onderzochte situatie (soort, gebied, lokale omstandigheden).

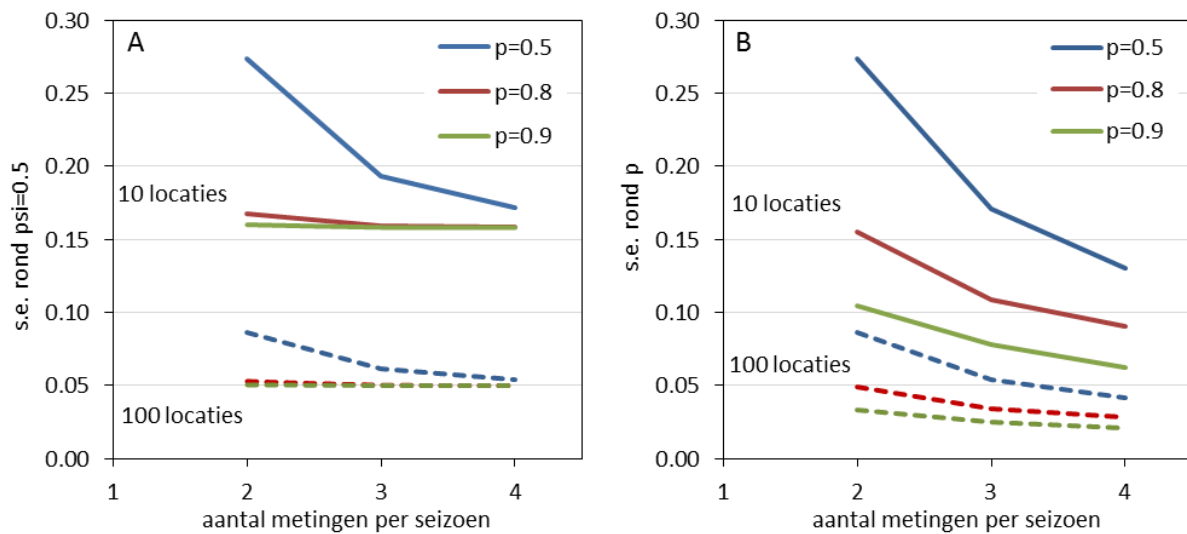
Met het computerprogramma GENPRES (Bailey *et al.* 2007) kan worden uitgerekend hoe de nauwkeurigheid van de parameterschattingen met *site occupancy* modellen uitvalt bij verschillende combinaties van de vier genoemde grootheden. Voor deze studie is dit programma gebruikt om de invloed te verkennen van het aantal bemonsteringsrondes per meetperiode (jaar) en het aantal meetlocaties. Daarbij is een voor noordse woelmuizen karakteristieke 'gemiddelde' waarde voor de bezettingsgraad in geschikt leefgebied verondersteld, afgeleid uit gepubliceerde studies: 0.5 in 'optimaal' habitat en 0.1 in marginaal habitat (paragraaf 2.5). Als maat voor de nauwkeurigheid van de schattingen van  $p$  en  $\psi$  is hun standaardfout (s.e.) gebruikt: hoe kleiner deze standaardfout, hoe nauwkeuriger de schattingen, en hoe beter veranderingen in bezettingsgraad (en waarneemkans) kunnen worden gedetecteerd met het meetnet.

## 2.4 Aantal bemonsteringen per seizoen

Wanneer de detectiekans  $p$  (bijna) gelijk is aan 1 is het aantal meetpunten waar de soort aanwezig is (nagenoeg) gelijk aan dat waar hij is aangetroffen, en is het dus niet nodig om herhaalde bemonstering en *occupancy models* toe te passen. De nauwkeurigheid van de gemeten bezettingsgraad is dan alleen afhankelijk van het aantal bemonsterde locaties.

Om de grootte van de detectiekans  $p$  te kunnen schatten moet meer dan één bemonstering per seizoen plaatsvinden, maar de vraag is hoeveel rondes nodig zijn voor een voldoende nauwkeurige schatting. In figuur 1 is weergegeven hoe de standaardfouten van bezettingsgraad  $\psi$  en waarneemkans  $p$  veranderen wanneer de bemonstering twee, drie of vier maal wordt herhaald. De bezettingsgraad is daarbij constant gehouden, maar de berekening is gedaan voor drie verschillende waarden van  $p$  en voor een klein (10) en een groot (100) aantal meetpunten (bemonsteringslocaties). Hieruit valt het volgende te concluderen:

- De nauwkeurigheid van de schatting van de waarneemkans  $p$  neemt toe (standaardfout neemt af) naarmate het aantal metingen per seizoen toeneemt, en naarmate meer meetpunten worden bemonsterd. Bij een voldoende groot aantal meetpunten (rond 100 of meer) en een hoge detectiekans ( $p \geq 0.8$ ) is de standaardfout echter ook al bij twee bemonsteringen klein en neemt hij bij meer herhalingen niet meer veel verder af (figuur 1B).
- De nauwkeurigheid van de schatting van de bezettingsgraad ( $\psi$ ) neemt bij een lage detectiekans ( $p=0.5$ ) bij drie bemonsteringen nog duidelijk toe ten opzichte van twee bemonsteringen, maar bij een vierde niet meer veel verder. Dit geldt ongeacht het aantal meetpunten. Bij een hoge detectiekans ( $p \geq 0.8$ ) geeft drie bemonsteringen al bijna geen nauwkeurigheidswinst meer boven twee bemonsteringen (figuur 1A).



Figuur 1 Standaardfouten (s.e.) rond de schattingen van bezettingsgraad  $\psi$  (A, links) en detectiekans  $p$  (B, rechts) bij verschillende waarden van  $p$  en 2, 3 of 4 bemonsteringsrondes per meetseizoen en metingen op 10 (doorgetrokken lijnen) of 100 (stippellijnen) locaties.

De resultaten van eerdere studies met inloopvallen en van de pilot studies met eDNA doen vermoeden dat  $p$  voor de noordse woelmuis doorgaans vrij dicht bij 1 ligt (paragraaf 2.5), maar dat staat op dit moment nog niet vast.

Het advies is om in 2017 meerdere leefgebieden (in uiteenlopende regio's) herhaald te bemonsteren om de waarde van  $p$  te bepalen. Als die inderdaad rond of boven 0.9 blijkt te liggen, kan in de jaren daarna door eenmalig te bemonsteren een aanzienlijke kostenbesparing (bijna 50%) worden bereikt zonder dat de gevoeligheid van het meetnet daaronder lijdt. Mocht  $p$  kleiner blijken te zijn dan 0.8, dan is er wel reden om meer dan één maal per seizoen te blijven meten (maar dat is niet de verwachting).

Omdat  $p$  vermoedelijk niet al te sterk zal variëren tussen gebieden waar noordse woelmuizen voorkomen is, zal het waarschijnlijk volstaan om één gemeenschappelijke waarde van  $p$  te schatten voor alle gebieden. Gegeven het aantal leefgebieden en het aantal benodigde meetpunten per gebied (zie volgende paragrafen) zal het totale aantal locaties in een eventueel landelijk meetnet minstens enkele honderden bedragen. Omdat het waarschijnlijk is dat  $p$  groter uitvalt dan 0.8 verwachten we dat twee bemonsteringen (tijdens een nog uit te voeren vervolgproject) volstaan voor een bruikbare verificatie van de grootte van  $p$ .



## 2.5 Bezettingsgraad in recente onderzoeken

### *Inloopvallen*

Door middel van een snelle literatuur-review (resultaten van inventarisaties uitgevoerd met inloopvallen) is achterhaald wat de 'bekende' bezettingsgraad is van *verschillende leefgebieden* die verspreid liggen over Nederland.

De bezettingsgraad van leefgebieden kan per jaar sterk fluctueren in geschikte leefgebieden (Nijhof & van Apeldoorn 2002), wat samenhangt met de populatie-omvang. Het is niet duidelijk of *p*, de *detectiekans* (met inloopvallen), ook zo sterk per jaar fluctueert (de verwachting is van niet).

Tabel 1. De bezettingsgraad van leefgebieden in verschillende delen van Nederland, zoals vastgesteld met inloopvallenonderzoek.

| Leefgebied                        | Aanwezige concurrerende woelmuissoorten        | Bezettingsgraad   |
|-----------------------------------|--|---|
| Texel                             | Aardmuis, rosse woelmuis                       | 58% (Witte et al. 2008)   |
| Noord-Holland Midden              | veldmuis                                       | 69% (van der Vliet, 1993),<br>30% (Nijhof & van Apeldoorn, 2002)<br>70% (Herder et al. 2015)                              |
| Hollands-Utrechts veenweidegebied | Veldmuis, aardmuis, rosse woelmuis             | 24% (Boonman, 2003)   |
| Deltagebied                       | veldmuis, delen ook aardmuis en rosse woelmuis | 76% (Hollander, 1991)<br>40% (Haan, 1998),<br>30% (La Haye, 2001)<br>0% (Achterkamp et al. 2001)<br>32% (de Bruijn, 2002) |
| Fryslân                           | Veldmuis, aardmuis en rosse woelmuis           | 7% (Nieuwenhuizen et al. 2000)<br>6% (Koelman & Regelink, 2008)   |

### *eDNA onderzoek*

De afgelopen 3 jaar (2014-2016) zijn diverse projecten uitgevoerd met behulp van de eDNA methodiek. In 2014 is in het Wormer- en Jisperveld een inventarisatie met inloopvallen uitgevoerd (Herder et al. 2015), waarbij de noordse woelmuis op 7 van de 10 locaties werd aangetroffen met behulp van inloopvallen en naderhand met de eDNA methodiek op 10 van de 10 locaties (100% aanwezigheid van noordse woelmuis). De detectiekans *p* van keutels was 100% per raai. Het inventariseren met behulp van de eDNA-techniek in het Oostzanerveld in 2015 (La Haye & Westra, 2015) resulteerde eveneens in een 100% bezettingsgraad en een 100% detectiekans, de noordse woelmuis werd op alle 12 onderzochte locaties met behulp van keutels aangetoond.

Tijdens een 2-tal muizeninventarisaties in Zuid-Holland en Zeeland in 2016 (de Kraker *in voorbereiding* en La Haye & Dijkstra *in voorbereiding*) bleek het echter lastiger om keutels te vinden. In Zuid-Holland werden op 15 van de 24 locaties keutels aangetroffen (63%), op 7 locaties werden geen keutels aangetroffen (29%) en 2 locaties bleken ongeschikt (8%). Het inloopvallenonderzoek in Zuid-Holland (4 gebieden met in totaal 11 vangraaien) leverde géén vangsten op van

de noordse woelmuis, maar de soort werd met behulp van de eDNA methode wel in één gebied aangetoond op één locatie.

In Zeeland (op Schouwen) werden op alle 13 onderzochte locaties keutels aangetroffen (100%). Op 11 van deze locaties (85%) werd de noordse woelmuis aangetoond met behulp van de eDNA methodiek. Het inloopvallenonderzoek op 12 locaties (met eDNA is één extra locatie bemonsterd) toonde de noordse woelmuis aan op 6 locaties (50%). Op 2 locaties (17%) waar de soort *wel werd gevangen*, is de soort op basis van keutels *niet aangetoond*. Dit waren locaties waar slechts 1 keutel-sample verzameld kon worden, ondanks het intensief zoeken naar keutels.

Deze voorlopige resultaten wijzen erop dat de detectiekans op het vinden van keutels, mits er woelmuizen aanwezig zijn, richting de 1 gaat en in elk geval  $\geq 0,8$ . De richtlijn is daarbij dat op minimaal 5 puntlocaties naar keutels wordt gezocht (zie bijlage 1). Deze puntlocaties worden samengevoegd tot één eDNA-sample, waarna met behulp van genetische technieken wordt bekeken of de noordse woelmuis in het bulk-sample aanwezig is. Voor een eventuele proef in 2017 wordt geadviseerd om minimaal 10 puntlocaties te bemonsteren, omdat 5 puntlocaties bij lage dichtheden mogelijk een te laag aantal keutel-samples opleveren (mond. med. Dick Bekker en zie het 'niet detecteren' van de soort op Schouwen).

## 3 Toepassing en kosten in de praktijk

In dit hoofdstuk wordt toegelicht in hoeveel km-hokken de noordse woelmuis in Nederland voorkomt en wat de kosten zouden kunnen zijn van een landelijke monitoring (met een minimum en maximum variant), gebaseerd op een monitoringsfrequentie van 1x 3 jaar of 1x per 6 jaar. Uitgangspunt is dat, in een nog uit te voeren extra vooronderzoek, is vastgesteld dat de detectiekans  $\geq 0,8$  is en dat een 1-malige bemonstering per seizoen voldoet.

### 3.1 Verspreiding van de soort in Nederland

Om een monitoring op te kunnen zetten voor de noordse woelmuis is het noodzakelijk om duidelijk te krijgen waar de soort voorkomt. De verspreiding van de soort in Nederland vanaf 1-1-1990 is daarom bepaald op basis van in de NDFF (Nationale Databank Flora en Fauna) aanwezige meldingen (op 9 november 2016).

De verspreiding op basis van de NDFF-data levert een actueel beeld op van de verspreiding van de noordse woelmuis in Nederland. Leefgebieden waar de soort in de jaren '70 of '80 is verdwenen (bijvoorbeeld de Kop van Overijssel of grote delen van Noord-Beveland), zijn hierbij afgevallen.

Voor alle km-hokken in Nederland is gekeken of de soort éénmalig is aangetroffen of vaker is gemeld sinds 1990. Bij deze analyse zijn eventuele dubbeltellingen vooraf verwijderd (voor zover herkenbaar en traceerbaar). Kilometerhokken waar de soort slechts éénmalig is aangetroffen zijn bestempeld als 'marginaal' en km-hokken waar de soort vaker is aangetroffen als 'goed'. Hiermee is getracht ook de kwaliteit van het leefgebied mee te nemen in de analyse. De aanname is dat in km-hokken met een lage kwaliteit (weinig habitat of minder geschikt habitat voor de soort) de soort waarschijnlijk minder vaak zal zijn aangetroffen, dan in km-hokken met meer geschikt leefgebied voor de soort.

Aan het vaststellen van de verspreiding op deze wijze zitten een aantal nadelen. In de analyse zijn *alle* waarnemingen meegenomen, dus ook waarnemingen van 'versleepte' noordse woelmuizen (bijvoorbeeld prooien van uilen die de noordse woelmuizen elders hebben gevangen). Dit kan het verspreidingsbeeld enigszins vertekenen en resulteren in een grotere landelijke verspreiding dan in werkelijkheid het geval is. Anderzijds zijn er natuurlijk ook locaties waar de noordse woelmuis weldegelijk voorkomt, maar waarvan geen meldingen in de NDFF staan. Op basis van 'expert judgement' (ervaring en kennis van M. La Haye) is vastgesteld dat de verspreiding goed overeenkomt met de verwachte verspreiding, evenals de vastgestelde 'kwaliteit'. Bovendien is dit project opgevat als een *verkenning* om inzicht te krijgen in de monitoringsopgave en niet om een compleet en actueel beeld van het (potentiële) verspreidingsgebied te presenteren.

### 3.2 Instandhoudingsdoelstellingen N2000

Het monitoren van de noordse woelmuis is van belang in 21 N2000 gebieden en voor deze gebieden zijn instandhoudingsdoelstellingen met betrekking tot de noordse woelmuis geformuleerd (tabel 2).

Per N2000 gebied is bekeken in welke km-hokken van het N2000 gebied de soort is gemeld (wederom op basis van de meldingen in de NDFF). In sommige gebieden is het grootste deel van het N2000 gebied potentieel leefgebied, maar in andere gevallen is slechts een beperkt aantal km-hokken actueel leefgebied van de soort. De km-hokken waar de soort ook is aangetroffen, maar die niet behoren tot een N2000-gebied zijn bestempeld als leefgebied buiten N2000.

Tabel 2. N2000 doelstellingen voor de noordse woelmuis per leefgebied, zoals vastgelegd in de beheerplannen. \*Landelijk wordt een uitbreiding van de verspreiding nagestreefd. Deze tabel is aangeleverd door het Ministerie van EZ.

| NR.        | Natura 2000 gebied                             | Omvang leefgebied | Kwaliteit leefgebied | Populatie |
|------------|--|-------------------|----------------------|-----------|
|            | <b>Landelijk *</b>                             | >                 | >                    | >         |
| 2          | Duinen en Lage Land Texel                      | =                 | >                    | =         |
| 9          | Groote Wielen                                  | >                 | >                    | =         |
| 10         | Oudegaasterbrekken , Fluessen en omgeving      | >                 | >                    | >         |
| 13         | Alde Feanen                                    | >                 | >                    | >         |
| 72         | IJsselmeer                                     | >                 | =                    | >         |
| 89         | Eilandspolder                                  | =                 | =                    | =         |
| 90         | Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder           | =                 | =                    | =         |
| 91         | Polder Westzaan                                | =                 | =                    | =         |
| 92         | Ijperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske | =                 | =                    | =         |
| 95         | Oostelijke Vechtplassen                        | >                 | >                    | >         |
| 100        | Voornes Duin                                   | >                 | >                    | >         |
| 101        | Duinen Goeree & Kwade Hoek                     | =                 | >                    | >         |
| 103        | Nieuwkoopse Plassen & De Haeck                 | =                 | =                    | =         |
| 108        | Oude Maas                                      | >                 | >                    | >         |
| 109        | Haringvliet                                    | >                 | >                    | >         |
| 111        | Hollands Diep                                  | >                 | >                    | >         |
| 112        | Biesbosch                                      | >                 | >                    | >         |
| 115        | Grevelingen                                    | >                 | >                    | >         |
| 116        | Kop van Schouwen                               | =                 | >                    | =         |
| 118        | Oosterschelde                                  | >                 | =                    | >         |
| 114 - zoet | Krammer-Volkerak                               | =                 | =                    | =         |
| 114 - zout | Krammer-Volkerak                               | >                 | =                    | >         |

In de meeste N2000 gebieden is de doelstelling uitbreiding of handhaven van de omvang en de kwaliteit van het leefgebied en de omvang van de populatie. Landelijk geldt voor alle doelen een uitbreiding, inclusief een uitbreiding in de verspreiding.

### 3.3 Verspreiding binnen en buiten N2000 gebieden

In tabel 3 staat het aantal kilometerhokken waar de noordse woelmuis sinds 1990 is aangetroffen. Voor heel Nederland betreft dit 1146 kilometerhokken, waarbij de soort in 814 hokken (71%) meerdere malen is aangetroffen, terwijl in 332 kilometerhokken (29%) de soort slechts éénmalig is aangetroffen.

Kilometerhokken waar de soort slechts éénmalig is aangetroffen zijn bestempeld als 'marginaal' en km-hokken waar de soort vaker is aangetroffen als 'goed'.

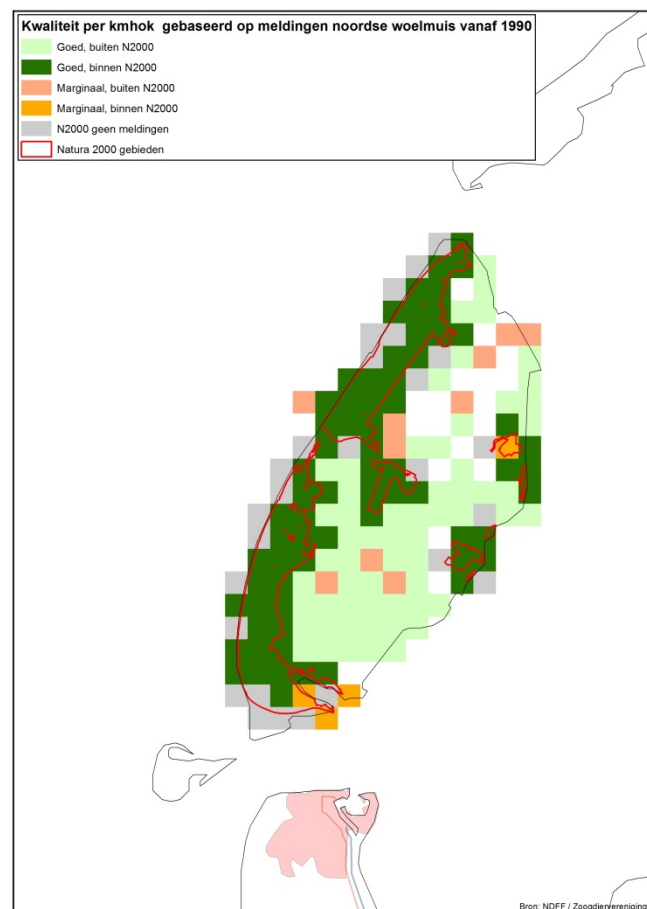
De verdeling binnen en buiten N2000 is vrijwel in evenwicht, met 605 km-hokken in N2000: 52% van alle hokken, waarvan 40% 'goed' en 12% 'marginaal' en 541 hokken buiten N2000 gebieden: 48%, waarvan 31% 'goed' en 17% 'marginaal'.

Binnen de N2000 gebieden zijn meer km-hokken als 'goed' aan te merken dan in de leefgebieden die niet aangewezen zijn als N2000 gebied.

#### 3.3.1 Deelgebied Texel

Tot enige jaren geleden was de noordse woelmuis de enige aanwezige woelmuizensoort op Texel. Sinds de jaren '80 zijn echter ook de aardmuis en de rosse woelmuis aanwezig. De noordse woelmuis kan op het hele eiland worden aangetroffen.

Kilometerhokken waar de soort niet of marginaal aangetroffen is, betreffen met name landbouwgebieden of kilometerhokken op de grens van land en zee (met een gering landoppervlak).



Figuur 2. Verspreiding van de noordse woelmuis op Texel.

Tabel 3. Aantal kilometerhokken binnen en buiten N2000 gebieden waar de soort vanaf 1990 meerdere malen is aangetroffen ('goed'), slechts éénmalig ('marginaal') of niet is aangetroffen (door het ontbreken van geschikt habitat, bijvoorbeeld groot open water).

| <b>N2000 gebieden</b>                           | <b>goed</b> | <b>marginaal</b> | <b>niet/slecht</b> | <b>Totaal # km</b> |
|---|-------------|------------------|--------------------|--------------------|
| Alde Feanen                                     | 12          | 8                | 16                 | 36                 |
| Biesbosch                                       | 47          | 21               | 102                | 170                |
| Duinen en Lage Land Texel                       | 68          | 4                | 27                 | 99                 |
| Duinen Goeree & Kwade Hoek                      | 15          | 7                | 22                 | 44                 |
| Eilandspolder                                   | 17          | 5                | 7                  | 29                 |
| Grevelingen                                     | 52          | 23               | 111                | 186                |
| Groote Wielen                                   | 3           | 3                | 8                  | 14                 |
| Haringvliet                                     | 50          | 8                | 102                | 160                |
| Hollands Diep                                   | 7           | 2                | 61                 | 70                 |
| IJsselmeer                                      | 7           | 2                | 1255               | 1264               |
| Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske  | 21          | 7                | 15                 | 43                 |
| Kop van Schouwen                                | 16          | 4                | 28                 | 48                 |
| Krammer-Volkerak                                | 23          | 6                | 76                 | 105                |
| Nieuwkoopse Plassen & De Haeck                  | 14          | 3                | 22                 | 39                 |
| Oostelijke Vechtplassen                         | 15          | 7                | 86                 | 108                |
| Oosterschelde                                   | 40          | 9                | 457                | 506                |
| Oude Maas                                       | 6           | 3                | 20                 | 29                 |
| Oudegaasterbrekken, Fluessen en omgeving        | 11          | 7                | 53                 | 71                 |
| Polder Westzaan                                 | 17          | 4                | 3                  | 24                 |
| Voornes Duin                                    | 6           | 2                | 31                 | 39                 |
| Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder            | 16          | 7                | 15                 | 38                 |
| <b>Totaal</b>                                   | <b>463</b>  | <b>142</b>       | <b>2517</b>        | <b>3122</b>        |
| <b>Provincies niet N2000</b>                    | <b>goed</b> | <b>marginaal</b> |                    | <b>Totaal</b>      |
| FR  | 39          | 27               |                    | 66                 |
| NB  |             | 1                |                    | 1                  |
| NH  | 170         | 95               |                    | 265                |
| UT  | 3           | 3                |                    | 6                  |
| ZH  | 101         | 50               |                    | 151                |
| ZL  | 38          | 14               |                    | 52                 |
| <b>Totaal</b>                                   | <b>351</b>  | <b>190</b>       |                    | <b>541</b>         |
| <b>Totaal heel Nederland, alle leefgebieden</b> | <b>814</b>  | <b>332</b>       | <b>2517</b>        | <b>3663</b>        |

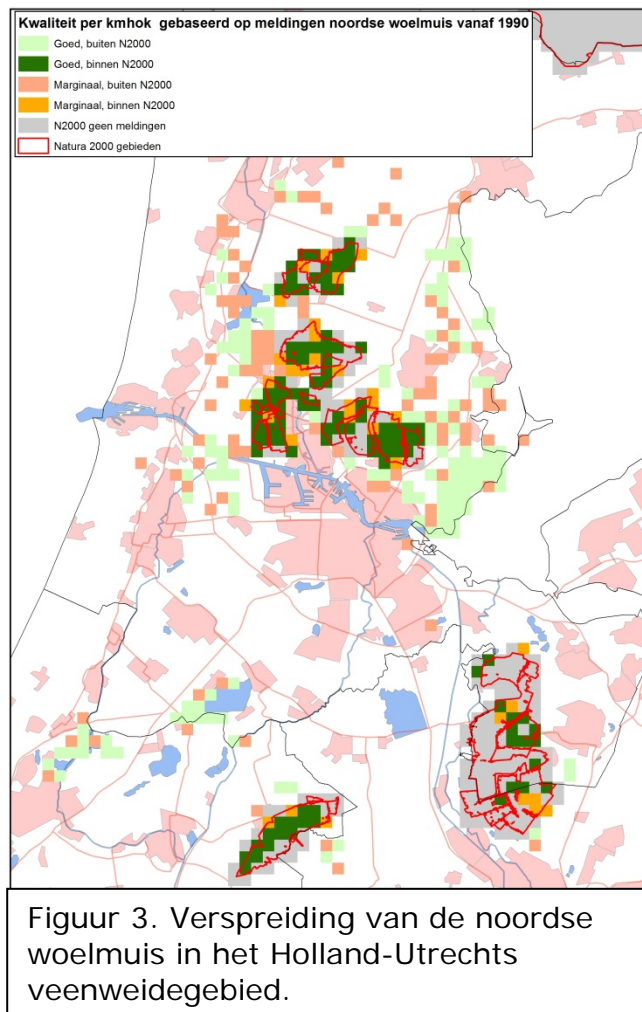
### 3.3.2 Deelgebied Hollands-Utrechts veenweidegebied

De verspreiding van de noordse woelmuis in het Hollands-Utrechts veenweidegebied wordt vaak onderverdeeld in de populaties ten noorden van het Noordzee-Kanaal (Noord-Holland Midden) en de veengebieden van Holland-Utrecht.

De meeste leefgebieden van de noordse woelmuis in Noord-Holland Midden zijn aangewezen als N2000 gebied. Belangrijke leefgebieden buiten N2000 betreffen Waterland, polder Zeevang en de omgeving van het Alkmaardermeer.

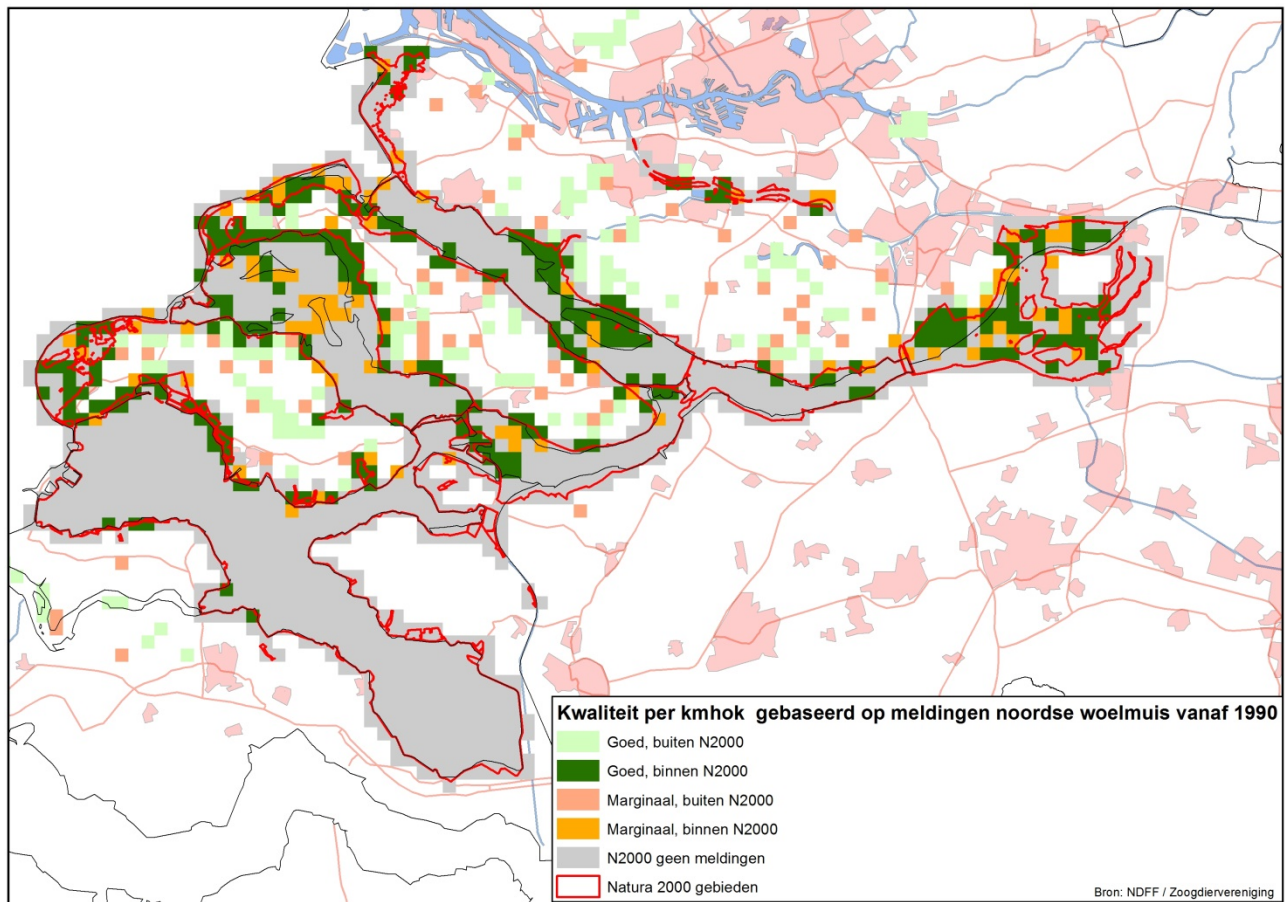
In het Utrecht-Hollands veenweidegebied vormen de Nieuwkoopse Plassen het belangrijkste N2000 gebied. In de Vechtplassen is de soort veel zeldzamer en alleen lokaal aanwezig. Uit het grootste deel van het gebied is de soort niet bekend of slechts op basis van éénmalige waarnemingen. Dit

wordt enerzijds veroorzaakt door het grote areaal open water en het areaal aan voor de soort ongeschikt moerasbos, anderzijds door een gebrek aan grootschalige inventarisaties. Meer naar het westen bevinden zich kleine populaties rond de Kagerplassen en de Westeinderplassen (geen N2000 gebied).



### 3.3.3 Deelgebied Deltagebied

In het Deltagebied zijn veel duingebieden en buitendijks gelegen natuurgebieden aangewezen als N2000 gebied. In de meeste van deze gebieden is de noordse woelmuis alom aanwezig, maar ook binnendijks (op Schouwen-Duiveland, Goeree-Overflakkee, Voorne-Putten, Hoekse Waard, etc.) is de noordse woelmuis in veel gebieden met moeras- en rietruigte-vegetaties aan te treffen. Belangrijke gebieden buiten N2000 zijn de Vlaardingse Vlietlanden, Kinderdijk en (eilanden in) het Veerse Meer. Dit zijn veelal kleine geïsoleerde gebieden, waar de soort relatief sterk wordt bedreigd door afwezigheid van voldoende geschikt habitat.

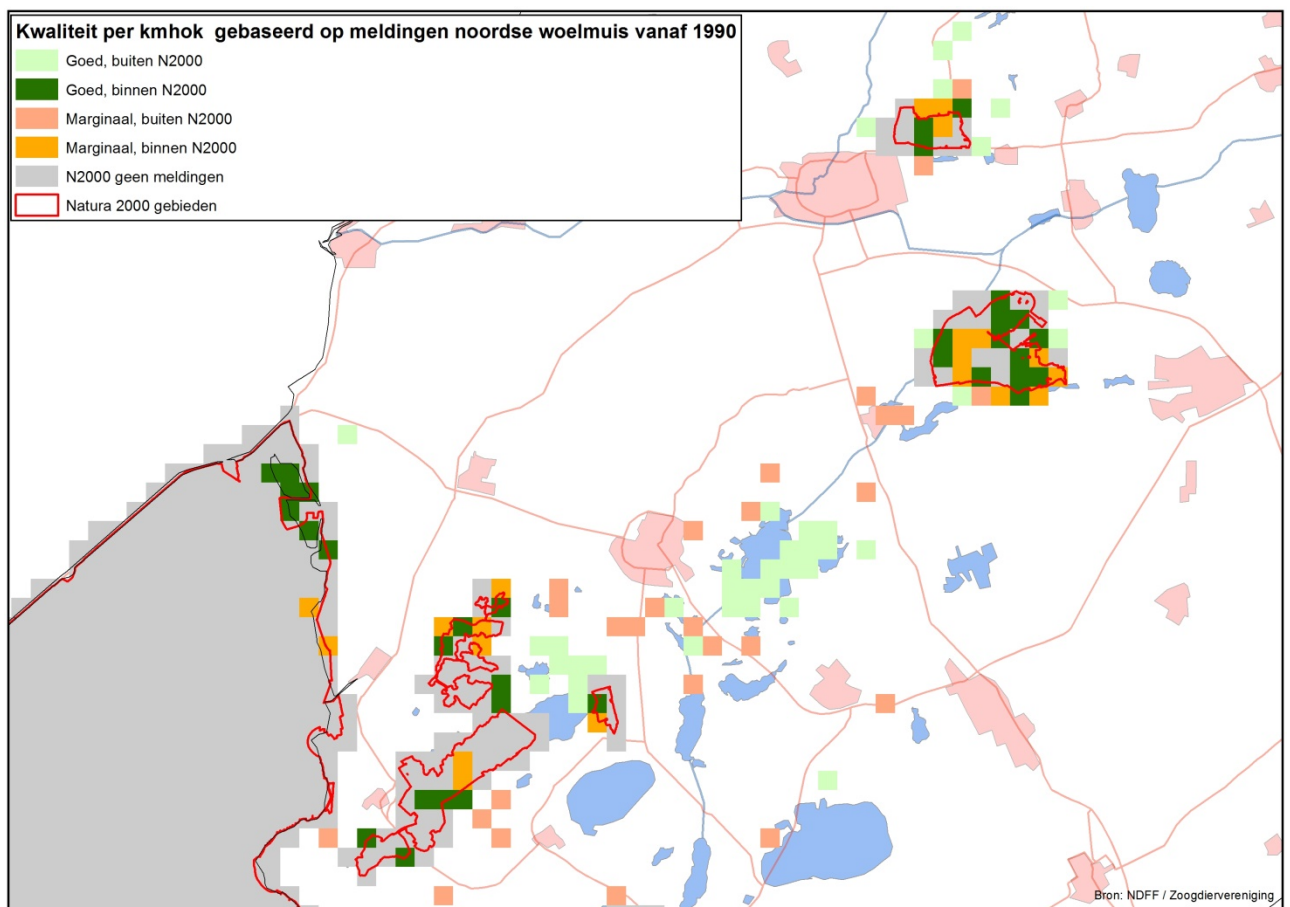


Figuur 4. Verspreiding van de noordse woelmuis in het Deltagebied.



### 3.3.4 Deelgebied Fryslân

In Fryslân is de verspreiding van de noordse woelmuis beperkt tot een vijftal gebieden. Het Grootte Wielen-complex ten noordoosten van Leeuwarden (waar de soort recent niet meer aangetroffen is), de Alde Feanen waar de soort verspreid aanwezig lijkt, maar slechts zelden wordt gevangen. Het Sneekmergebied (geen N2000) lijkt een gezonde populatie te herbergen. Langs de Fluessen en Oudegaasterbrekken is de soort aanwezig op kleine eilandjes en rietkragen, maar de lokale populaties lijken wijdverspreid. De laatste populatie is onderdeel van het N2000 gebied IJsselmeer en bevindt zich in de Makkumer Noord- en Zuidwaard, maar recente meldingen (van na 2010) ontbreken.

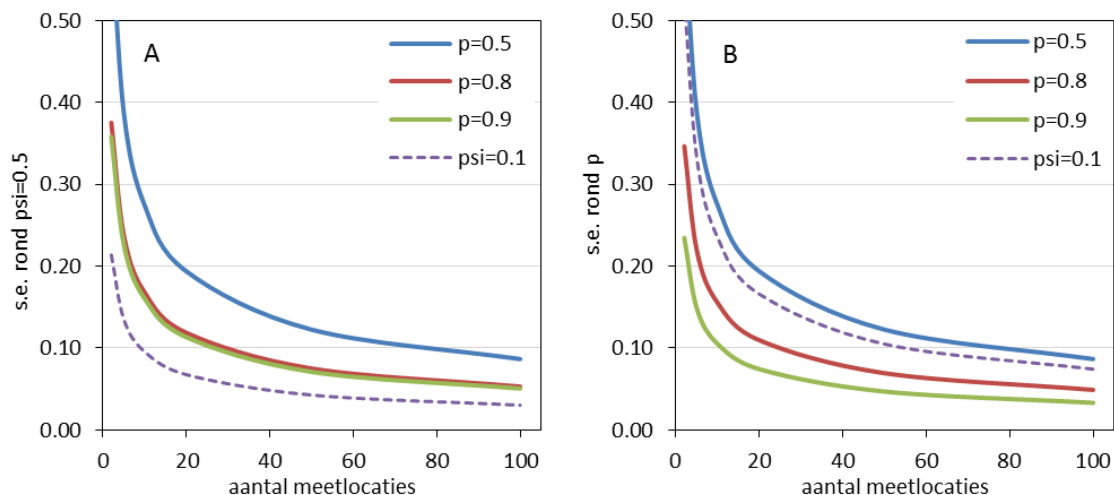


Figuur 5. Verspreiding van de noordse woelmuis in Fryslân.

### 3.4 Aantal meetpunten per leefgebied

Het doel van de monitoring van noordse woelmuizen is om zowel op landelijke schaal als per leefgebied (bv. Natura 2000-gebied of een ander leefgebied) uitspraken te kunnen doen over (veranderingen in) het voorkomen van noordse woelmuizen. Dat betekent dat de bezettingsgraad niet alleen op landelijk niveau maar ook op het niveau van afzonderlijke leefgebieden met voldoende nauwkeurigheid moet kunnen worden gekwantificeerd.

Figuur 6 geeft weer hoe de standaardfouten van  $\psi$  en  $p$  veranderen bij een toenemend aantal meetlocaties, bij verschillende waarden van de detectiekans  $p$  maar bij een vast aantal van twee bemonsteringen per seizoen (de lijn voor  $p=0.9$  is ook indicatief voor de nauwkeurigheid van de schatting voor  $\psi$  bij één bemonstering per seizoen met volledige detectie). In alle gevallen heeft het verband de vorm van een snel afvlakkende dalende curve. Bij hogere waarden van  $p$  ( $\geq 0.8$ ) neemt de nauwkeurigheid snel af wanneer het aantal meetpunten kleiner wordt dan 15-20. Bij meer dan 30-50 meetpunten neemt de nauwkeurigheid echter niet erg veel meer toe.



Figuur 6. Standaardfouten (s.e.) rond de schattingen van bezettingsgraad  $\psi$  (A, links) en detectiekans  $p$  (B, rechts) in afhankelijkheid van het aantal meetlocaties, bij drie verschillende waarden van  $p$  en bij twee bemonsteringen per seizoen. De drie doorgetrokken lijnen beschrijven de standaardfout bij de verwachte bezettingsgraad in goed habitat ( $\psi=0.5$ ), de stippellijn is de verwachte bezettingsgraad in marginaal habitat ( $\psi=0.1$ ) bij  $p=0.9$ .

Deze bevinding kan worden gebruikt om de verdeling van meetlocaties over de verschillende leefgebieden te optimaliseren. In kleinere leefgebieden kunnen meetpunten dichter bij elkaar worden gelegd om op het minimumaantal van 15-20 locaties uit te komen. Door in grote leefgebieden het aantal meetpunten niet verder te laten stijgen dan 35-40 kan het totale aantal meetlocaties in het meetnet worden beperkt zonder dat daarmee de gevoeligheid op gebiedsniveau sterk afneemt.

Met tabel 3 als uitgangspunt is vrij snel in te schatten hoeveel meetlocaties uiteindelijk per N2000 gebied nodig zijn. Voor kleine gebieden (tot 20 kilometerhokken) is het advies om minimaal 15-20 meetpunten te bemonsteren, in middelgrote gebieden tot 35 kilometerhokken één meetpunt per kilometerhok en in grote gebieden ( $\geq 35$  kilometerhokken) 35-40 meetpunten per leefgebied (tabel 4). Het aantal meetlocaties buiten de N2000 gebieden is echter lastiger in te schatten, omdat leefgebieden minder duidelijk begrensd zijn en alleen duidelijk is wat het aantal kilometerhokken met habitat (goed en marginaal) is *per provincie* en niet per specifiek leefgebied. Het aantal meetlocaties voor de leefgebieden buiten N2000 is dan ook *een schatting*. Overigens is voor de schatting van het aantal meetpunten buiten de N2000 gebieden uitgegaan van *dezelfde nauwkeurigheid* als wordt nagestreefd in de N2000 gebieden. Het is natuurlijk ook mogelijk om te kiezen voor een geringere resolutie buiten de N2000 gebieden om de kosten van de (landelijke) monitoring te drukken. Bijvoorbeeld maximaal 70 meetpunten per provincie (met een minimum van 15-20 monsters).

Globaal kan gesteld worden dat het advies is om ca. één meetpunt per kilometerhok met geschikt habitat (goed en marginaal habitat tezamen) te bemonsteren.

Tabel 4. Aantal kilometerhokken met goed en marginaal habitat binnen en buiten N2000 (leef)gebieden en een schatting van het aantal benodigde meetpunten. Per gebied adviseren wij een maximum van 35-40 meetpunten, omdat bij een groter aantal meetpunten de nauwkeurigheid niet veel meer toeneemt.

| <b>N2000 gebieden</b>                           | <b>goed</b> | <b>marginaal</b> | <b>Totaal # km habitat</b> | <b>Aantal meetpunten</b> |
|---|-------------|------------------|----------------------------|--------------------------|
| Alde Feanen                                     | 12          | 8                | 20                         | 15-20                    |
| Biesbosch                                       | 47          | 21               | 68                         | 35-40                    |
| Duinen en Lage Land Texel                       | 68          | 4                | 72                         | 35-40                    |
| Duinen Goeree & Kwade Hoek                      | 15          | 7                | 22                         | 22                       |
| Eilandspolder                                   | 17          | 5                | 22                         | 22                       |
| Grevelingen                                     | 52          | 23               | 75                         | 35-40                    |
| Groote Wielen                                   | 3           | 3                | 6                          | 15-20                    |
| Haringvliet                                     | 50          | 8                | 58                         | 35-40                    |
| Hollands Diep                                   | 7           | 2                | 9                          | 15-20                    |
| IJsselmeer                                      | 7           | 2                | 9                          | 15-20                    |
| Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske  | 21          | 7                | 28                         | 28                       |
| Kop van Schouwen                                | 16          | 4                | 20                         | 15-20                    |
| Krammer-Volkerak                                | 23          | 6                | 29                         | 29                       |
| Nieuwkoopse Plassen & De Haeck                  | 14          | 3                | 17                         | 15-20                    |
| Oostelijke Vechtplassen                         | 15          | 7                | 22                         | 22                       |
| Oosterschelde                                   | 40          | 9                | 49                         | 35-40                    |
| Oude Maas                                       | 6           | 3                | 9                          | 15-20                    |
| Oudegaasterbrekken, Fluessen en omgeving        | 11          | 7                | 18                         | 15-20                    |
| Polder Westzaan                                 | 17          | 4                | 21                         | 21                       |
| Voornes Duin                                    | 6           | 2                | 8                          | 15-20                    |
| Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder            | 16          | 7                | 23                         | 23                       |
| <b>Totaal</b>                                   | <b>463</b>  | <b>142</b>       | <b>605</b>                 | <b>477-547</b>           |
| <b>Provincies niet N2000</b>                    | <b>goed</b> | <b>marginaal</b> | <b>Totaal # km habitat</b> | <b>Aantal meetpunten</b> |
| FR  | 39          | 27               | 66                         | 70                       |
| NB  |             | 1                | 1                          | -                        |
| NH  | 170         | 95               | 265                        | 70-250                   |
| UT  | 3           | 3                | 6                          | 15-20                    |
| ZH  | 101         | 50               | 151                        | 70-150                   |
| ZL  | 38          | 14               | 52                         | 50                       |
| <b>Totaal</b>                                   | <b>351</b>  | <b>190</b>       | <b>541</b>                 | <b>275-540</b>           |
| <b>Totaal heel Nederland, alle leefgebieden</b> | <b>814</b>  | <b>332</b>       | <b>3663</b>                | <b>1017-1087</b>         |

### 3.5 Kosten van de monitoring

De kosten die gemoeid zijn met een monitoring van de noordse woelmuis met behulp van de eDNA methodiek zijn afhankelijk van de frequentie (aantal keer inventariseren) en het aantal meetpunten per leefgebied en provincie (zie 3.4). Afhankelijk van het leefgebied (wel/geen N2000) of regio kan overigens gekozen worden voor een meer of minder intensieve monitoring, zowel in frequentie als in het aantal meetpunten waardoor de kosten hoger of lager kunnen uitvallen.

De inschatting van de kosten, gebaseerd op 2 jaar ervaring met de eDNA methodiek in verschillende provincies in Nederland, is dat het inventariseren van 1 kilometerhok (1 verzamellocatie) door een professional in totaal ca. € 350,- kost. Zie hieronder (tabel 5) voor een overzicht van de kosten (kostenindicatie anno 2016 en exclusief btw). Of de kosten nog verder omlaag kunnen door inzet van vrijwilligers is nog niet duidelijk. Aansturing en coördinatie van vrijwilligers kost behoorlijk veel tijd en het is de vraag of vrijwilligers voldoende zijn te motiveren om keutels te zoeken.

Tabel 5. Kosten per kilometerhok voor het verzamelen en analyseren van een eDNA sample.

| <i>Werkzaamheden</i>   | <i>Eenheden</i> | <i>tarief</i>                      | <i>€</i>       |
|--|-----------------|------------------------------------|----------------|
| Veldwerk (uur)   | 2               | € 75,-                             | € 150,-        |
| eDNA analyse aan/afwezigheid noordse woelmuis (meng-sample)  | 1               | € 75,-                             | € 75,-         |
| Materiaal (buisjes)  | 1               | € 3,-                              | € 3,-          |
| Reiskosten   | 30              | € 0,45                             | € 14,-         |
| Vorbereiding, administratie, datacoördinatie, projectleiding | 1               | € 111,-                            | € 111,-        |
|  |                 | <b>Totale kosten<br/>(ex. BTW)</b> | <b>€ 352,-</b> |

Op basis van deze kosten per km-hok is een inschatting te maken van het benodigde budget per provincie, leefgebied of N2000 gebied (tabel 6). Op jaarbasis gaat het om bedragen van ca. € 59.000,- (1x per 6 jaar minimum aantal km-hokken) tot respectievelijk € 127.000,- voor een intensieve monitoring (1x per 3 jaar maximum aantal km-hokken) van alle leefgebieden (zowel binnen als buiten N2000).

Tabel 6. Kosten voor eDNA monitoring per N2000 gebied en overige leefgebieden per provincie, uitgaande van een frequentie van 1x 6 jaar of 1x 3 jaar en een minimum of maximum aantal meetpunten.

|       |   | minimaal   | maximaal   | Frequentie 1x 6jr,<br>minimum #hokken | Kosten 1x 6jr,<br>maximum #hokken | Frequentie 1x 3jr,<br>minimum # hokken | Kosten 1x 3jr,<br>maximum #hokken |
|-------|---|------------|------------|---------------------------------------|-----------------------------------|--|-----------------------------------|
| N2000 | Alde Feanen   | 15         | 20         | € 5.250                               | € 7.000                           | € 10.500                               | € 14.000                          |
| N2000 | Biesbosch   | 35         | 40         | € 12.250                              | € 14.000                          | € 24.500                               | € 28.000                          |
| N2000 | Duinen en Lage Land Texel                             | 35         | 40         | € 12.250                              | € 14.000                          | € 24.500                               | € 28.000                          |
| N2000 | Duinen Goeree & Kwade Hoek                            | 22         | 22         | € 7.700                               | € 7.700                           | € 15.400                               | € 15.400                          |
| N2000 | Eilandspolder   | 22         | 22         | € 7.700                               | € 7.700                           | € 15.400                               | € 15.400                          |
| N2000 | Grevelingen   | 35         | 40         | € 12.250                              | € 14.000                          | € 24.500                               | € 28.000                          |
| N2000 | Groote Wielen   | 15         | 20         | € 5.250                               | € 7.000                           | € 10.500                               | € 14.000                          |
| N2000 | Haringvliet   | 35         | 40         | € 12.250                              | € 14.000                          | € 24.500                               | € 28.000                          |
| N2000 | Hollands Diep   | 15         | 20         | € 5.250                               | € 7.000                           | € 10.500                               | € 14.000                          |
| N2000 | IJsselmeer  | 15         | 20         | € 5.250                               | € 7.000                           | € 10.500                               | € 14.000                          |
| N2000 | Ilperveld, Varkensland, Oostzanerveld & Twiske        | 28         | 28         | € 9.800                               | € 9.800                           | € 19.600                               | € 19.600                          |
| N2000 | Kop van Schouwen                                      | 15         | 20         | € 5.250                               | € 7.000                           | € 10.500                               | € 14.000                          |
| N2000 | Krammer-Volkerak                                      | 29         | 29         | € 10.150                              | € 10.150                          | € 20.300                               | € 20.300                          |
| N2000 | Nieuwkoopse Plassen & De Haeck                        | 15         | 20         | € 5.250                               | € 7.000                           | € 10.500                               | € 14.000                          |
| N2000 | Oostelijke Vechtplassen                               | 22         | 22         | € 7.700                               | € 7.700                           | € 15.400                               | € 15.400                          |
| N2000 | Oosterschelde   | 35         | 40         | € 12.250                              | € 14.000                          | € 24.500                               | € 28.000                          |
| N2000 | Oude Maas   | 15         | 20         | € 5.250                               | € 7.000                           | € 10.500                               | € 14.000                          |
| N2000 | Oudegaasterbrekken, Fluessen en omgeving              | 15         | 20         | € 5.250                               | € 7.000                           | € 10.500                               | € 14.000                          |
| N2000 | Polder Westzaan                                       | 21         | 21         | € 7.350                               | € 7.350                           | € 14.700                               | € 14.700                          |
| N2000 | Voornes Duin  | 15         | 20         | € 5.250                               | € 7.000                           | € 10.500                               | € 14.000                          |
| N2000 | Wormer- en Jisperveld & Kalverpolder                  | 23         | 23         | € 8.050                               | € 8.050                           | € 16.100                               | € 16.100                          |
| N2000 | <i>Totale kosten voor volledige cyclus van 6 jaar</i> | <i>447</i> | <i>547</i> | <i>€ 166.950</i>                      | <i>€ 191.450</i>                  | <i>€ 333.900</i>                       | <i>€ 382.900</i>                  |
| N2000 | <b>Kosten per jaar</b>                                |            |            | <b>€ 27.825</b>                       | <b>€ 31.908</b>                   | <b>€ 55.650</b>                        | <b>€ 63.817</b>                   |

|  |  | Minimaal<br>#hokken | Maximaal<br>#hokken | Frequentie 1x 6jr,<br>minimum #hokken | Frequentie 1x 6jr,<br>maximum #hokken | Frequentie 1x 3jr,<br>minimum # hokken | Frequentie 1x 3jr,<br>maximum #hokken |
|--|--|---------------------|---------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|---------------------------------------|
| Provincie  | FR   | 70                  | 70                  | € 24.500                              | € 24.500                              | € 49.000                               | € 49.000                              |
| Provincie  | NB   |                     |                     |                                       | € 0                                   | € 0                                    | € 0                                   |
| Provincie  | NH   | 70                  | 250                 | € 24.500                              | € 87.500                              | € 49.000                               | € 175.000                             |
| Provincie  | UT   | 15                  | 20                  | € 5.250                               | € 7.000                               | € 10.500                               | € 14.000                              |
| Provincie  | ZH   | 70                  | 150                 | € 24.500                              | € 52.500                              | € 49.000                               | € 105.000                             |
| Provincie  | ZL   | 50                  | 50                  | € 17.500                              | € 17.500                              | € 35.000                               | € 35.000                              |
| Provincie  | <i>Totale kosten voor volledige cyclus</i> | 275                 | 540                 | € 96.250                              | € 189.000                             | € 192.500                              | € 378.000                             |
| Provincie  | <b>Kosten per jaar</b>                     |                     |                     | <b>€ 16.042</b>                       | <b>€ 31.500</b>                       | <b>€ 32.083</b>                        | <b>€ 63.000</b>                       |
| Totaal heel Nederland, alle leefgebieden,<br>volledige cyclus van 6 jaar |  | 1017                | 1087                | € 355.950                             | € 380.450                             | € 711.900                              | € 760.900                             |
| <b>Totaal heel Nederland, kosten per jaar</b>                            |  |                     |                     | <b>€ 59.325</b>                       | <b>€ 63.408</b>                       | <b>€ 118.650</b>                       | <b>€ 126.817</b>                      |

## 4 Conclusies en aanbevelingen

### 4.1 Praktijkproef

Op basis van bovenstaande verkenning is duidelijk dat een fijnmazige monitoring met behulp van de eDNA methode praktisch gezien haalbaar is. In de afgelopen jaren is gebleken dat met behulp van het genetisch analyseren van keutels de noordse woelmuis in leefgebieden is aan te tonen. Voor een grootschalige monitoring is het wellicht nog wat te vroeg, omdat de detectiekans nog onvoldoende duidelijk is. De verwachting is dat de detectiekans  $\geq 0,8$  is, maar een grotere praktijkproef is gewenst.

Voor de uitvoering van een eventuele praktijkproef stellen we de volgende bemonsteringsstrategie voor: tijdens een praktijkproef worden in verschillende leefgebieden (verspreid over Nederland i.v.m. de heterogeniteit tussen leefgebieden) in totaal 150 tot 200 meetpunten bemonsterd. Per meetpunt worden twee bemonsteringen uitgevoerd (met een tussentijd van enkele weken), om te kunnen verifiëren dat de detectiekans tussen de 0,8 en 1,0 ligt. Als dit inderdaad het geval blijkt, dan kan in de navolgende jaren worden volstaan met één meting per locatie per meetjaar. Mocht de detectiekans lager zijn dan 0,8, dan is het noodzakelijk dat een meetpunt meerdere malen moeten worden bemonsterd wat een grotere inspanning betekent en hogere kosten.

Het aantal meetpunten per leefgebied dient minimaal 15 te zijn, tegelijkertijd adviseren wij een maximum van 35-40 meetpunten per leefgebied. Bij een groter aantal meetpunten neemt de nauwkeurigheid niet erg veel meer toe en zijn meer meetpunten dan ook overbodig.

### 4.2 Kosten

De kosten voor een fijnmazige monitoring zijn *indicatief* en weergegeven in tabel 6. Afhankelijk van de wensen of eisen van de opdrachtgever kunnen de kosten hoger of lager uitvallen.

### 4.3 Veldwerkprotocol(len)

Om het veldwerk te standaardiseren is een veldwerkprotocol opgezet. Vooralsnog wordt geadviseerd om per meetpunt op 10 puntlocaties keutels te verzamelen en deze 10 keutelhoopjes samen te voegen tot één mengmonster (per meetlocatie). Als na de geadviseerde praktijkproef blijkt dat vijf keutelhoopjes dezelfde detectiekans opleveren, kan het aantal puntlocaties teruggebracht worden tot vijf.

Het verzamelen van keutels of keutelhoopjes kan door middel van 'vrij zoeken' op een oppervlak van 4m<sup>2</sup> of door het uitleggen van keutelplankjes (van 10x10 cm). Welke methodiek het beste resultaat (de meeste keutels) oplevert zal moeten worden uitgetest in de praktijk.



## Literatuur

Achterkamp, G., A-J. Haarsma & R. Jansen, 2001. De noordse woelmuis in het duingebied van Voorne in 2001. Rapport van de Vereniging voor Zoogdierkunde en Zoogdierbescherming (VZZ), in opdracht van Vereniging Natuurmonumenten. VZZ Rapportnummer 2001.32.

Bailey L.L., Hines J.E., Nichols J.D., MacKenzie D.I., 2007. Sampling Design Trade-offs in Occupancy Studies with Imperfect Detection: Examples and Software. *Ecological Applications* 17(1): 281-290.

Boonman, M., 2003. De noordse woelmuis in Noordwest Utrecht het Noorderpark. Vereniging voor Zoogdierkunde en Zoogdierbescherming / Bureau Natuurbalans - Limes Divergens BV in opdracht van de provincie Utrecht.

Brijn, J. de, 2002. De Noordse woelmuis en de Waterspitsmuis in het zuidelijke deel van de provincie Zuid-Holland in 2001. Rapport Natuurwetenschappelijk Centrum Dordrecht. 20p.

Haan, A., 1998. De noordse woelmuis (*Microtus oeconomus*) en andere (kleine) zoogdieren op het eiland Tiengemeten. Rapport Stichting Natuur- en Vogelwacht-NWC.

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

Hollander, H., 1991. De noordse woelmuis, *Microtus oeconomus*, in het Deltagebied. RIN, Leersum.

Koelman, R.M. & J.R. Regelink, 2008. Inventarisatie noordse woelmuis in de Jan Durkspolder, Wolwarren, Lytse Mear en Wester Sanning in 2007. VZZ rapport 2007.54. Zoogdierverseniging VZZ, Arnhem.

La Haye, M., 2001. De noordse woelmuis op de Zuid-Hollandse Eilanden in 2000. VZZ-Rapport 2001.15, Arnhem. In opdracht van de provincie Zuid-Holland.

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

MacKenzie, D. I., J. D. Nichols, G. B. Lachman, S. Droege, J. A. Royle and C. A. Langtimm, 2002. Estimating site occupancy rates when detection probabilities are less than one. *Ecology* 83: 2248-2255.

- MacKenzie, D. I., J. D. Nichols, J. A. Royle, K. H. Pollock, L.L. Bailey, and J. E. Hines, 2005. *Occupancy Estimation and Modeling - Inferring Patterns and Dynamics of Species Occurrence*. Academic Press, New York.
- Nieuwenhuizen, W., M.J.J. La Haye en F. Mertens, 2000. *De noordse woelmuis in Fryslân. Naar een duurzame instandhouding*. Alterra-rapport 149, Wageningen.
- Nijhof, B. & R.C. van Apeldoorn, 2002. *De noordse woelmuis in Noord-Holland Midden*. Alterra-rapport nr 576, ISSN 1566-7197.
- Vliet, F. van der, 1993. *De noordse woelmuis in Waterland en Zaanstreek. Een inventarisatie ten behoeve van beleid en beheer*. Mededeling 10 van de Vereniging voor Zoogdierkunde en Zoogdierbescherming (VZZ), Utrecht.
- Witte, R.H., D.L. Bekker & R.M. Koelman, 2008. *Effect van terreinbeheer op habitatgebruik van muizen in het zuidelijke deel van Natura-2000 gebied 'Duinen van Texel'*. Rapport 2008.044. Zoogdierverseniging, Arnhem.

## Bijlage 1 Protocol veldbemonstering keutels noordse woelmuis ten behoeve van een (e)DNA-analyse

Het voorliggend protocol beschrijft de wijze waarop woelmuiskeutels in het veld verzameld moeten worden om een non-invasief genetisch onderzoek naar de aan of afwezigheid van de noordse woelmuis uit te voeren. Vooralnog is de methode van verzamelen specifiek gericht op de noordse woelmuis en de habitattypen waarin deze soort voorkomt.

Benodigde materialen per voor het verzamelen van keutels:

- voldoende 5 ml eppendorf tubes (buisjes), gevuld met minimaal 3 ml ethanol (concentratie >96%)
- zip-lock plastic zakje
- monsterformulier/veldboekjes (om gegevens over vegetatie en locatie op te schrijven)
- stokken om je zoekgebied af te bakenen of voldoende keutelplankjes
- GPS

1) selecteer van tevoren de onderzoeklocatie(s)

Net als bij vallenonderzoek is het nuttig en handig om van tevoren de te bemonsteren onderzoeklocaties te kiezen. Ga daarbij uit van het meeste geschikte habitat voor de noordse woelmuis: kruidenrijke rietlanden en natte graslanden.

2) aantal keutelhoopjes per meetlocatie

Per meetlocatie is het advies om te proberen 10 woelmuis-keutelhoopjes te verzamelen (minimaal 3 à 4 keutel-samples). Een meetlocatie is daardoor vergelijkbaar met een 'klassieke vallen-raai'. Ga bij het vaststellen van de meetlocaties uit van 'logische eenheden': een rietkraag, een eilandje, een specifiek grasveld of zegge-vegetatie. Per meetlocatie wordt op minimaal 10 puntlocaties naar woelmuiskeutels gezocht of worden 10 keutelplankjes (10 x 10 cm) uitgelegd.

Woelmuis-keutelhoopjes die los in het veld liggen zijn herkenbaar als een 'klein keutelhoopje', meestal gelegen op een 'wissel' of 'looppaadje' in de vegetatie, soms met vers afgebeten plantenstengels. Houd minimaal 10 meter afstand tussen de puntlocaties. Let op, bemonster waar mogelijk altijd zo vers mogelijke keutels. Hoe ouder de keutels zijn, hoe lager de kwaliteit van het DNA en hoe lager de kans op resultaat. Als gebruik wordt gemaakt van keutelplankjes, dan bevinden de keutels zich *op* het plankje.

### 3) vrij zoeken per puntlocatie (raai)

Op elke puntlocatie wordt een oppervlak van 2x2 meter afgezocht op de aanwezigheid van keutels. Het is handig om met stokken globaal het zoekgebied af te bakenen. Als de gehele afgebakende puntlocatie is afgezocht en er zijn geen keutels aangetroffen, dan geldt de zoekactie als een 0-waarneming (woelmuizen afwezig). In de praktijk blijkt snel genoeg of een locatie afdoende is onderzocht. Let op, woelmuiskeutels zijn klein en om ze te zien moet je soms echt met je neus op de grond liggen.

Als er een keutelhoopje (van woelmuiskeutels) is gevonden, dan kan het zoeken worden gestaakt en kunnen de keutels worden verzameld. Als meerdere keutelhoopjes aanwezig zijn, kies dan voor het op het oog meeste verse keutelhoopje.

Noteer de GPS-coördinaten van de puntlocatie en het nummer van de locatie op het veldformulier of in je veldboek. Schrijf ook de *verzamel-datum* op het formulier/boek en maak eventueel een inschatting van de ouderdom van de keutels.

### 4) gebruik van keutelplankjes per puntlocatie

In plaats van 'vrij te zoeken' worden 10 keutelplankjes neergelegd met minimaal 10 meter tussenruimte. Zorg dat de keutelplankjes plat op de bodem komen te liggen en zo horizontaal mogelijk. Na enkele dagen (minimaal 2, maximaal 5) kunnen de uitgelegde plankjes weer worden opgezocht en de aanwezige keutels *op het plankje* worden verzameld. Liggen er geen keutels op het plankje, dan geldt de zoekinspanning als een 0-waarneming.

Noteer de GPS-coördinaten van de puntlocatie en het nummer van het plankje op het veldformulier of in je veldboek. Schrijf ook de *verzamel-datum* op het formulier/boek en maak eventueel een inschatting van de ouderdom van de keutels (vers/oud).

### 5) verzamelen van de keutels

De gevonden keutels worden verzameld in monsterbuisje (eppendorf tube van minimaal 5 ml), gevuld met 3 ml 96% ethanol. Zorg altijd voor een overmaat aan ethanol in het buisje zodat alle vocht aan de keutels wordt onttrokken: 80% ethanol + 20% keutels. Pak met stengeltje, takje of blaadje een keutel uit het hoopje en stop deze in de buis. Herhaal dit tot je in totaal 5 keutels hebt bemonsterd. Bemonster alleen complete, niet verbrokkelde keutels.

Gebruik bij elk keutelhoopje of plankje schoon materiaal dat slechts éénmalig wordt gebruikt (om kruisbesmetting te voorkomen).

Doe de deksel terug op het buisje en controleer of deze goed dicht zit. Keer het buisje met keutels en ethanol vervolgens voorzichtig een paar keer om, zodat alle keutels goed doordrenkt zijn van ethanol. Voorkom te hard schudden, zodat de keutels intact blijven.

Gebruik voor elke puntlocatie een apart monsterbuisje, waarbij het handig kan zijn om de buisjes al van tevoren te merken en te vullen met ethanol (96%). Let op, watervaste stift kan uitgeveegd worden op plastic buisjes en lost op in

ethanol. Stop daarom van tevoren een stukje papier met de codering van de puntlocaties alvast in het monsterbuisje. Schrijf de codering met **potlood** (printen kan ook, maar controleer of het opschrift leesbaar blijft als papiertjes doordrenkt zijn met ethanol). Alle buisjes van de 10 puntlocaties van een raai (meetlocaties) worden samengevoegd en bewaard in een ZIP-lock zakje. Stop in de zip-lock wederom een papiertje met de meetlocatie (potlood!) en de nummers van de bijbehorende buisjes.

#### 6) Bewaren en opslaan samples

Probeer de buisjes met keutels binnen 48 uur te versturen naar de Zoogdierverseniging (of een andere organisatie). Is dat niet mogelijk, bewaar de zak met buisjes dan in de koeling (4°C). Worden monsters voor langere tijd opgespaard alvorens ze worden verstuurd, bewaar ze dan in de vriezer (-18°C).

#### 7) Versturen van de keutels

Stuur de buisjes in een doosje of in een envelop met bubbeltjesplastic naar:

*Zoogdierverseniging  
t.a.v. eDNA onderzoek / Maurice La Haye  
Antwoordnummer 98198  
6500 VA Nijmegen*

Op welke wijze de verzamelde samples worden geanalyseerd (als mengmonster of als individueel monster) en alleen op noordse woelmuis en/of ook andere (woelmuis)soorten is afhankelijk van de onderzoeksvraag. De wijze van verzamelen en opslag van de keutels is echter in alle gevallen gelijk aan het bovenstaande protocol.