



De oogst van anderhalve dag veldwerk: een serie buisjes met keutels, met silica. Foto Maurice La Haye

eDNA als alternatief voor inloopvallen

Op zoek naar de noordse woelmuis

Noordse woelmuizen inventariseren doe je natuurlijk met inloopvallen, maar eDNA blijkt een geweldig alternatief. Het is snel, efficiënt en zeer effectief. Inloopvallen zijn niet meer nodig, wel een scherp oog om keutels te vinden.

Maurice La Haye

Het inventariseren van noordse woelmuizen (*Microtus oeconomus*) en waterspitsmuizen (*Neomys fodiens*) gebeurt standaard door het plaatsen van inloopvallen in geschikte (natuur)terreinen. Onderzoek met inloopvallen is echter arbeidsintensief en is daardoor een dure methode van inventariseren. De laatste paar jaar is een nieuwe methode van inventariseren sterk in opkomst: het inventariseren van soorten met behulp van environmental

DNA (eDNA). Environmental DNA is een techniek waarbij het voorkomen van soorten wordt aangetoond op basis van DNA-sporen die de doelsoorten in het milieu hebben achtergelaten. Deze sporen kunnen van alles zijn: haren, veren, slijm, maar ook keutels.

Eerste pogingen De Zoogdiervereniging heeft vanaf 2012 onderzoek gedaan naar de bruikbaarheid van eDNA voor het inventariseren van de noordse woel-

muis en waterspitsmuis¹. In eerste instantie is geprobeerd om deze soorten aan te tonen in watermonsters, feitelijk op dezelfde manier als voor vissen, amfibieën en andere aquatische soorten gebeurt. De eerste experimenten lieten zien dat de noordse woelmuis inderdaad aan te tonen is in watermonsters, maar de soort bleek slechts op 50% van de locaties waar de soort aanwezig zou moeten zijn ook daadwerkelijk aangetoond te worden¹. De waterspitsmuis werd



Op pad in Oostzanerveld voor onderzoek aan noordse woelmuis. Foto Sil Westra



Natte ruige graslanden zijn een ideaal habitat voor de noordse woelmuis. Foto Sil Westra

zelfs in geen enkel watermonster aangetroffen. Deze lage detectiekans maakte duidelijk dat gezocht moest

Next generation sequencing

Alle kleine zoogdieren zijn in theorie met behulp van de eDNA methodiek te inventariseren, mits je de keutels weet te vinden. Immers, alle soorten laten restje DNA achter in hun keutels. Keutels van woelmuizen zijn makkelijk te vinden, omdat woelmuizen op hoopjes keutelen.

De methode Next Generation Sequencing (NGS) maakt het mogelijk om te kijken van welke soorten kleine zoogdieren DNA in een sample aanwezig zijn (dat kunnen dus verschillende keutels zijn uit één en hetzelfde gebied). Bij de NGS methodiek wordt al het aanwezige DNA in een keutel-sample vermeerderd, waarna wordt gekeken van welke soorten kleine zoogdieren het DNA afkomstig is. Door de DNA-sequences te vergelijken met een 'genetische bibliotheek' wordt een 'soorten-lijst' verkregen van een specifiek sample.

worden naar een andere methode. Voor de waterspitsmuis is nog steeds geen effectieve betrouwbare methode gevonden, maar voor de noordse woelmuis is het zoeken naar keutels een goed alternatief.

Keutelhoopjes Woelmuizen zijn de enige muizen die keutelhoopjes maken, maar op het oog zijn keutels van de verschillen woelmuissoorten niet uit elkaar te houden. Met behulp van een DNA-analyse van de keutels is het wel goed mogelijk om de soort te identificeren¹, zelfs als keutels van meerdere soorten

in één sample terecht zijn gekomen². Door de aanwezigheid van keutelhoopjes is het vinden van keutels niet al te lastig. In de afgelopen drie jaar is de methode van keutels zoeken en DNA-analyse in verschillende projecten toegepast en verder aangescherpt.

Een eerste test met keutels is uitgevoerd in het Wormer- en Jisperveld (Noord-Holland). In dit veenweidegebied, met een grote populatie noordse woelmuizen, is het zoeken van keutels uitgetoetst waar eerder getracht was om noordse woelmuizen te vangen. Op elk van deze tien locaties was gevangen volgens de standaard IBN-methodiek³: tien vallenparen (10x2 = 20 vallen) met een onderlinge afstand van tien meter. Op exact dezelfde locaties als waar de vallenparen stonden is een maand later gezocht naar keutels in een straal van 2 meter rond de vallenparen. Tijdens deze test bleek het voor een geoefende veldbioloog mogelijk om bij 80% van de vallenparen woelmuis-keutels te vinden, waarmee de soort uiteindelijk in alle 10 valraaien werd aangetoond, terwijl de noordse woelmuis in drie raaien was gemist met de inloopvallen⁴.

In 2016 is opnieuw een vergelijkende test gedaan, ditmaal in het duingebied van Schouwen⁵. Op 12 locaties waar inloopvallen werden geplaatst is ook naar keutels gezocht die naderhand genetisch zijn geanalyseerd. Op Schouwen zijn op zes van de 12 locaties met inloopvallen noordse woelmuizen gevangen (50% van de locaties). Met behulp van keutels werd de noordse woelmuis echter op tien locaties aangetoond (83% van de locaties). Opmerkelijk genoeg

werd op twee van de zes locaties waar de noordse woelmuis wel werd gevangen, de soort op basis van keutels niet aangetoond. Op beide locaties kon echter slechts één keutelmonster worden verzameld. Mogelijk dat de noordse woelmuis wel zou zijn aangetoond als er op deze locaties meer keutelmonsters waren verzameld⁵. De richtlijn is op dit moment om minimaal vijf verschillende keutelhoopjes te verzamelen om de kans om de noordse woelmuis aan te tonen te maximaliseren, nog beter is het om tien verschillende samples te verzamelen.

Keutelplankjes?

Op basis van beide onderzoeken is duidelijk dat het zoeken van keutels een effectievere wijze van inventariseren is dan het werken met inloopvallen. Met behulp van de eDNA-methode werd de noordse woelmuis op 91% van de vanglocaties aangetoond, tegen 59% van de vanglocaties met inloopvallen.

De 'zwakke plek' van de eDNA-methode is het al of niet vinden van keutels. Zonder keutels valt er niks te analyseren en weet je niet of de noordse woel-

Oproep Zelf de eDNA-methode toepassen? Neem contact op met de Zoogdiervereniging voor advies en hulp op maat.



Keutels zijn klein en soms moet je echt door de knieën om ze te vinden. Foto Sil Westra



Noordse woelmuis. Foto Paul van Hoof



Woelmuiskeutels zijn na enige oefening snel te vinden in het veld. Foto Sil Westra

muis in een gebied voorkomt. In grote onderzoeken wordt vaak gebruik gemaakt van 'vrij zoeken'. In de meest kansrijke stukjes habitat wordt gezocht naar keutels. Maar soms moeten specifieke gebiedjes of rietranden worden geïnventariseerd. Hoe vind je dan voldoende keutels of hoe weet je eigenlijk of er überhaupt wel woelmuizen aanwezig zijn? Het gebruik van keutelplankjes zou wel eens de oplossing kunnen zijn, al zijn meer vergelijkende experimenten nodig.

Iedereen die wel eens muizen heeft gevangen, kent het verschijnsel dat op en in de vallen keutels liggen, maar dat de muizen zelf zich niet laten vangen. De aanwezige muizen gebruiken dan de inloopval als opvallende plek om te keutelen en met elkaar te communiceren. Een neergelegd plankje (van circa 10 x 10 cm) heeft hetzelfde effect: een opvallend plekje dat voor woelmuizen zeer aantrekkelijk is om keutels te deponeren. Goed zichtbaar voor alle andere muizen in het territorium en daarmee ook goed vindbaar voor de geïnteresseerde onderzoeker.

Het gebruik van keutelplankjes heeft bovendien als voordeel dat de inventarisatie-inspanning te standaardiseren is, dat ook veldbiologen met weinig muizenkennis plankjes kunnen neerleggen en dat altijd verse keutels worden verzameld wat de kans op een succesvolle DNA-analyse vergroot. Nadeel is dat een locatie met plankjes na het neerleggen nog een keer moet worden bezocht om de keutels en plankjes weer op te halen, terwijl bij het 'vrij zoeken' van keutels slechts eenmalig een veldbezoek hoeft te worden gebracht.

Genetische variatie in en tussen populaties

Ten slotte, het aantonen van de noordse woelmuis met behulp van keutels is al een mooie stap voorwaarts in het snel en effectief inventariseren van deze zeldzame soort, nog mooier is het als ook de genetische profielen van individuen van de noordse woelmuis vastgesteld kunnen worden met behulp van keutels. Daarmee kan bijvoorbeeld gericht de populatieomvang en genetische vitaliteit van lokale populaties in beeld komen, zonder de noodzaak dieren te vangen en verstoren. Een grote genetische variatie in populaties is belangrijk ter voorkoming van schadelijke gevolgen van inteelt, en om aanpassing aan veranderende omgevingscondities mogelijk te maken². Op basis van een onderzoek met keutels van noordse woelmuizen uit de Vlaardingse Vlietlanden bleek het inderdaad mogelijk om genetische profielen vast te stellen, maar ook dat meerdere individuen hetzelfde keutelhoopje gebruiken. Om individuele genetische profielen te bepalen is het daarom noodzakelijk om losse keutels te verzamelen. Verse keutels vergroten de kans op een succesvolle genetische analyse in belangrijke mate.

Conclusie

Samenvattend; het verzamelen van keutels en naderhand genetisch analyseren is een uitstekend alternatief voor het standaard inloopvalleonderzoek. Het toepassen van keutelplankjes biedt perspectief op het standaardiseren van de methodiek. Als een gestandaardiseerde methodiek minder belangrijk is, dan kan ook het 'vrij zoeken' van keutels worden

toegepast. In alle gevallen geldt dat wordt geadviseerd minimaal vijf, beter nog tien, keutelhoopjes te verzamelen

Niet goedkoop, maar wel betrouwbaar

Het genetisch analyseren van keutels is gespecialiseerd werk voor erkende laboratoria, waarbij het aan te bevelen is om te kiezen voor een laboratorium met ervaring. Wellicht niet het goedkoopst, maar wel een gegarandeerd goed resultaat en dat is wat uiteindelijk telt. De prijzen van een DNA-analyse (ca. € 70 tot € 100 per sample) dalen overigens snel en daarbij geldt dat bij analyse van meer samples de kosten lager zullen uitvallen. Reken er op dat een genetische analyse al snel enkele weken of maanden duurt. Voor opdrachten of inventarisaties waar snel duidelijkheid moet zijn over de aanwezigheid van de noordse woelmuis is de eDNA-methodiek dan ook minder geschikt. Maar feitelijk zijn inloopvallen wel onbetrouwbarder, al is de IBN-methode de nu geldende standaard voor inloopvalleonderzoek.

om de aan- of afwezigheid van de noordse woelmuis op een locatie met zekerheid aan te tonen.

Maurice La Haye werkt voor het Bureau van de Zoogdiervereniging.

Meer weten?

Naast de literatuurverwijzingen en contactgegevens van de auteur(s) zetten we ook gerelateerde filmpjes, artikelen, rapporten en weblinks online. Kijk op www.zoogdierwinkel.nl/Zoogdierdigitaal_28-2