



Noordse woelmuis. Foto Jelger Herder

Noordse woelmuis en waterspitsmuis beter in beeld

## Met eDNA op het goede spoor

Het in kaart brengen van de verspreiding van kleine zoogdieren vergt doorgaans een grote inspanning. Voor soorten die (deels) in het water leven is er sinds kort een nieuwe efficiënte methode: environmental DNA (eDNA). Deze methode maakt gebruik van het feit dat alle diersoorten DNA achterlaten in het water waarin ze verblijven. Door watermonsters te analyseren op de aanwezigheid van hun DNA is het voorkomen van deze soorten vast te stellen. De Zoogdierverseniging heeft in 2012 samen met RAVON en het Franse SPYGEN een pilot uitgevoerd naar het gebruik van eDNA bij het opsporen van noordse woelmuis en waterspitsmuis.

Jelger Herder, Dick Bekker, Rob Koelman & Eva Bellemain

Kleine zoogdieren zoals muizen en spitsmuizen zijn lastig te inventariseren. Door hun verborgen en vaak nachtelijke levenswijze worden er weinig losse waarnemingen verzameld. Gericht onderzoek naar hun voorkomen gebeurt met behulp van inloopvallen of door middel van braak-

ballen. Vangen met inloopvallen is erg arbeidsintensief en daardoor kostbaar, terwijl er bij het pluizen van braakballen slechts op grove schaal bekend is waar soorten zich ophouden. Waar een soort gevangen is hangt samen met de actieradius van de uil.

eDNA kan hier mogelijk een oplossing bieden. De methode is in 2008 voor het eerst beschreven en toegepast bij Amerikaanse brulkikkers in Frankrijk. In zes wateren waarvan brulkikkers bekend waren, werd de aanwezigheid van brulkikker-DNA vastgesteld en daarmee het voorkomen beves-

tigd. Aanvullend onderzoek toonde dat vrij in het water opgelost DNA binnen drie weken afbreekt. Het vinden van DNA wijst dus op recente aanwezigheid van een soort. In Nederland is eDNA voor het eerst toegepast in 2011 door RAVON en SPYGEN, bij een pilotstudie naar de grote modderkruiper. In deze studie werd de soort op zeven van de acht locaties waar de soort voorkwam ook succesvol bevestigd met eDNA.

**eDNA en zoogdieren** In 2012 is een Deense publicatie verschenen waarin eDNA voor het eerst voor een zoogdier werd ingezet, namelijk de otter. Op slechts vier van de vijftien locaties werd de otter ook vastgesteld met eDNA. De grote homerange van otters en de enorme volumes water in de meren en rivieren en bijkomende verdunning spelen mogelijk een rol. Een onderzoek naar de mogelijkheid om zeezoogdieren aan te tonen met eDNA gaf wisselende resultaten. De bruinvis was in open water niet heel goed aan te tonen met eDNA, wel werd er een voor de regio zeldzame griend aangetoond. Onderzoeken naar andere soortgroepen in uiteenlopende watertypen gaven beduidend betere resultaten.

**Trefkans** De trefkans met behulp van eDNA bleek vaak hoger dan met traditionele methoden. Bij onderzoek in Frankrijk naar de Amerikaanse brulkikker werd de soort met traditionele methoden (zicht en schepnet) in slechts zeven van de negen- en veertig wateren gevonden. Uit gelijktijdig verzamelde eDNA monsters bleek de soort in maar liefst achtendertig wateren voor te komen. In Nederland zijn met be-

hulp van eDNA goede resultaten geboekt met onder meer knoflookpad, kamsalamander en groene glazenmaker. Voorgaande resultaten waren reden voor de Zoogdierverseniging en RAVON om te onderzoeken of de methode ook geschikt is voor het opsporen van kleine zoogdieren die zich in de nabijheid van water ophouden. In het kader van het NEM is een pilot uitgevoerd naar het opsporen van de noordse woelmuis en waterspitsmuis met eDNA. De noordse woelmuis is veelal gebonden aan natte biotopen en hoewel de soort niet aquatisch is, wordt er gebruik gemaakt van plasdraszones en af en toe gezwommen. De waterspitsmuis is semi-aquatisch en foerageert voor een deel in het water. De verwachting was daarom dat beide soorten DNA in het water achter laten, waardoor het mogelijk is ze met eDNA in kaart te brengen.

**Pilotstudie noordse woelmuis en waterspitsmuis** Voor het ontwikkelen van primers (zie kader) is DNA verzameld van drie verschillende populaties van noordse woelmuizen en waterspitsmuizen. Hierbinnen is gezocht naar een stukje DNA-code dat binnen alle populaties gelijk is, zodat de primers werken bij alle Nederlandse populaties. Vervolgens is getest of het stukje DNA werkelijk uniek is voor de noordse woelmuis respectievelijk waterspitsmuis. De werking van de gevonden primers is vervolgens getest op weefsel van de noordse woelmuis, respectievelijk waterspitsmuis en andere verzamelde zoogdieren. Vervolgens zijn verspreid over Nederland op basis van bekende verspreidingsgegevens en expert judgement locaties gekozen waar één of

beide soorten in lage, gemiddelde of hoge dichtheid voorkomen. Daarnaast zijn er drie controlewateren meegenomen waar beide soorten afwezig zijn, om te testen of er niet onbedoeld DNA van een verkeerde soort vermeerderd wordt door de primers.

### Resultaten noordse woelmuis

De noordse woelmuis werd met eDNA op vijf van de tien locaties waarvan de soort bekend was aangetoond. Er is echter niet gelijktijdig gevangen en het is daarom niet duidelijk of de soort gemist is met eDNA of dat er op het moment van monsternamen geen noordse woelmuizen aanwezig waren op deze locaties. De werkelijke trefkans van eDNA voor de noordse woelmuis ligt daarom waarschijnlijk hoger. Dit zal moeten blijken uit vervolgonderzoek, waarbij gelijktijdig met de eDNA-bemonstering gevangen zal worden met inloopvallen. Op die manier zijn de eDNA-uitkomsten te vergelijken met de werkelijke presentie van de soort.

### Resultaten waterspitsmuis

De waterspitsmuis is met eDNA op geen van de tien bemonsterde locaties aangetoond; geheel tegen de verwachting in. Een mogelijke verklaring ligt in de dichtheid in voorkomen en het gedrag. Waterspitsmuizen zijn kleine vleeseters die veelal in lage dichtheden voorkomen (grote territoria), vaak een factor tien lager dan bijvoorbeeld woelmuizen. Ondanks het feit dat waterspitsmuizen zich regelmatig in het water ophouden, lijken ze er minder DNA achter te laten dan verwacht. Omdat waterspitsmuizen hun uitwerpselen voornamelijk in latrines op land deponeren kan verwacht worden dat hun DNA de waterkolom maar

Het monsternemen van eDNA. Foto Jelger Herder



### Hoe werkt het?

De eDNA-methode is gebaseerd op het feit dat alle in het water levende organismen DNA achterlaten. Dit DNA kan in watermonsters worden aangetoond met behulp van zogenaamde soortspecifieke primers. Dit zijn korte stukjes DNA die enkel hechten aan het DNA van de doelsoort. Middels een Polymerase Chain Reaction (PCR) wordt alleen dat DNA vermenigvuldigd dat aan de primers gebonden is. Na vermeerdering via de PCR wordt het product aangebracht op een gel, waarop enkel een streepje verschijnt wanneer DNA van de soort aanwezig is. Zie voor een uitgebreide beschrijving van de methode de website [www.environmental-dna.nl](http://www.environmental-dna.nl).



beperkt bereikt. Bovendien is er op het moment van monsternamen ook bij de waterspitsmuis niet gelijktijdig gevangen, waardoor het niet zeker is of er ook daadwerkelijk waterspitsmuizen aanwezig waren op de bemonsterde locaties.

**Stof voor nader onderzoek** Het aantonen van noordse woelmuis met behulp van eDNA op vijf locaties biedt goede perspectieven voor verder onderzoek naar de inzetbaarheid van de methode. Het is daarvoor van belang op enkele locaties gelijktijdig dieren te vangen en met eDNA te bemonsteren. Zo kunnen de resultaten vergeleken worden en kan de werkelijke treffkans worden bepaald. Daarnaast wordt er nog gewerkt aan een verbetering van het monsterprotocol, wat een hogere treffkans kan opleveren. Ondanks dat de waterspitsmuis in deze pilot niet is aangetoond met behulp van eDNA, zal de soort in vervolgonderzoek worden meegenomen. Het is namelijk allerm minst zeker of de waterspitsmuis ten tijde van het monsternamen aanwezig was op deze plekken. Het door middel van DNA-analyse bepalen of keutels wel of niet van de noordse woelmuis afkomstig zijn, lijkt al inzetbaar (zie kader). Er ligt nog de vraag voor in hoeverre veroudering van keutels van invloed is op het resultaat van de eDNA-analyse, maar bij verse keutels is de methode nu al toepasbaar. Dit biedt mogelijkheden binnen het verspreidingsonderzoek waarbij vrijwilligers keutels kunnen verzamelen en aanleveren. Op deze manier kan een deel van de verspreiding van de noordse woelmuis tegen relatief geringe kosten in kaart worden gebracht. De monsternamenmethode en -analyse worden doorlopend verbeterd. Ook wordt gekeken

naar de relatie tussen de hoeveelheid DNA en de dichtheid van een soort. In het veld zijn de resultaten voor sommige soorten goed (amfibieën), maar bij andere soorten nog niet eenduidig. Zo zijn er veel factoren van invloed op de concentratie eDNA in het water: de hoeveelheid DNA die een soort produceert (per periode), het watervolume, micro-organismen, de trofiegraad, etc. Er zal daarom per soort en watertype onderzoek nodig zijn om op basis van eDNA accurate dichtheidsschattingen te kunnen maken. Voor zoogdieren lijkt dit nog lastiger, omdat ze veelal niet direct in het water leven maar er incidenteel mee in aanraking komen. De hoeveelheid DNA in het water is dan afhankelijk van nog meer factoren, zoals uitspoeling (neerslag), aantal watergangen in een gebied en de noodzaak om zich zwemmend te verplaatsen.

**Een blik in de toekomst** In de toekomst kan eDNA een belangrijke rol gaan spelen bij de monitoring van watergebonden diersoorten. Zeker als het haalbaar en betaalbaar wordt om met watermonsters complete soortenlijsten te genereren en daar aanvullend ook dichtheden uit te bepalen. Hierdoor kunnen relatief eenvoudig veel verspreidingsgegevens verzameld worden. Voor een aantal zoogdieren zal eDNA ook een belangrijke methode kunnen vormen bij het veldwerk. In het kader van het verspreidingsonderzoek zouden monsters kunnen worden verzameld door vrijwilligers. Omdat de meeste zoogdieren op land leven zal eDNA voor veel soorten waarschijnlijk minder toepasbaar zijn. Een Deense studie heeft echter laten zien dat het mogelijk is een aantal grote zoogdieren aan te tonen door bodemonsters (in dierentuinen) te analyseren op eDNA. Het

ging echter om hele grote dieren die op een onnatuurlijk klein oppervlak en daarmee in onnatuurlijk hoge dichtheid gehouden werden. DNA verspreidt zich slecht op land, waardoor voor een succesvolle toepassing op de exacte plaats waar een dier aanwezig is geweest bemonsterd moet worden. Of eDNA in natuurlijke situaties op land op een efficiënte manier kan worden ingezet, is daarom nog maar zeer de vraag.

Jelger Herder (j.herder@ravon.nl) werkt bij de Stichting RAVON. Dick Bekker en Rob Koelman zijn werkzaam op het Bureau van de Zoogdierverseniging en Eva Bellemain is werkzaam bij SPYGEN.



### Keutels verraden de soort

Keutels van noordse woelmuizen zijn met het oog niet te onderscheiden van die van aardsmuis of veldmuis. Daarom is er een extra experiment uitgevoerd. Op zes locaties zijn er keutels in het veld verzameld, aangevuld met keutels uit een inloopval waarin een noordse woelmuis zat. Deze keutels zijn getest op DNA van de soort. De keutels uit de inloopval scoorden zoals verwacht 100% positief voor noordse woelmuis. Van de in het veld verzamelde keutels scoorden vier van de zes locaties 100% positief. Van de twee locaties die negatief scoorden op DNA van noordse woelmuis is niet bekend of dit ook werkelijk noordse woelmuiskeutels waren, omdat aardsmuis of veldmuis op deze locaties niet is uit te sluiten. Ook veroudering van keutels en de daaraan verbonden afbraak van DNA kan een rol spelen.

### Verder lezen?

Zie voor literatuur naar aanleiding van dit artikel [www.zoogdierwinkel.nl/zoogdier](http://www.zoogdierwinkel.nl/zoogdier). Referenties in dit artikel verwijzen naar op deze website vermelde publicaties.

Waterspitsmuis. Foto Wesley Overman

