

Ecologisch onderzoek & surveillance Wasbeerhond

A&W-rapport 2389



in opdracht van



**Nederlandse Voedsel- en
Warenautoriteit**
*Ministerie van Landbouw,
Natuur en Voedselkwaliteit*

Ecologisch onderzoek & surveillance Wasbeerhond

A&W-rapport 2389

J. L. Mulder
M. Krijn
J. B. Latour

Foto Voorplaat

Liggend paar, J. L. Mulder

J. L. Mulder, M. Krijn, J. B. Latour 2018

Ecologisch onderzoek & surveillance Wasbeerhond . A&W-rapport 2389

Altenburg & Wymenga ecologisch onderzoek, Feanwâlden

Opdrachtgever**NWVA**

Postbus 43006

3540 AA Utrecht

Telefoon 0900-0388

Uitvoerders**Altenburg & Wymenga
ecologisch onderzoek bv**

Postbus 32

9269 ZR Feanwâlden

Telefoon 0511 47 47 64

Fax 0511 47 27 40

info@altwym.nl

www.altwym.nl

Bureau Mulder-natuurlijk

Berkenlaan 28

3737 RN Groenekan

Telefoon 0346-822704 / 06-10708498

muldernatuurlijk@gmail.com

www.mulder-natuurlijk.nl

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

Projectnummer

2557wbh

Projectleider

J. Latour

Status

Concept

Autorisatie

Goedgekeurd

Paraaf

J. Latour

**Datum**

1 oktober 2018

Kwaliteitscontrole

J. Latour

Inhoud

1	Inleiding	1
1.1	Aanleiding	1
1.2	Doel	1
1.3	Opbouw	2
2	Verspreiding en reproductie	3
2.1	Methode	3
2.2	Aantal waarnemingen	3
2.3	Verspreiding	4
2.4	Voortplanting	6
2.5	Onderzoek aan baarmoeders	9
2.6	Waarnemingen van kleine jongen	9
2.7	Waarnemingen van grotere jongen	12
3	Zoeken naar Wasbeerhonden	14
3.1	Inleiding	14
3.2	Dassenwaarnemers	14
3.3	Gerichte zoekactie	14
3.4	Voerplekken met camera's	15
3.5	Resultaten	16
4	Voedsel	20
4.1	Magen	20
4.2	DNA-analyse keutels	22
5	Discussie	27
5.1	Verspreiding	27
5.2	Voortplanting	29
5.3	Zoeken naar Wasbeerhonden	29
5.4	Voedsel	29
6	Conclusies	30
7	Literatuur	34
	<i>Bijlage 1 Waarnemingen Wasbeerhonden</i>	35
	<i>Bijlage 2 Methode DNA-analyse keutels</i>	37
	<i>Bijlage 3 Resultaten DNA-analyses</i>	40

1 Inleiding

1.1 Aanleiding

Van oorsprong heeft de Wasbeerhond (*Nyctereutes procyonoides*) zijn verspreidingsgebied in het verre oosten van Azië. Tussen 1928 en 1957 werden duizenden Wasbeerhonden uitgezet in de voormalige Sovjet Unie. Van daaruit heeft de soort zich geleidelijk aan over Europa verspreid (Genovesi et. al. 2009). De verspreiding verliep daarbij aanvankelijk traag waarbij het soms wel 20 tot 30 jaar duurde voordat het aantal Wasbeerhonden in nieuwe gebieden echt begon toe te nemen.

Ongeveer vijftien jaar geleden werden in Nederland de eerste Wasbeerhonden waargenomen. De 'wilde' Wasbeerhonden kwamen vanuit Duitsland en vestigden zich in de provincies Groningen, Friesland, Drenthe en Overijssel, plus de Noordoostpolder. Daarnaast ontstond er al snel een populatie op de Veluwe, uit dieren die uit gevangenschap ontsnapten.

In 2012 werden er voor het eerst jonge Wasbeerhonden in Nederland waargenomen. Dat maakt duidelijk dat de Wasbeerhond zich hier echt gevestigd heeft. Tot nu toe is er echter nog geen duidelijke toename in het jaarlijks aantal binnengekomen waarnemingen te bespeuren. Dit heeft mogelijk te maken met de verborgen leefwijze. De verwachting is echter dat ook hier het aantal Wasbeerhonden binnenkort gaat toenemen en dat hij zich verder over het land gaat verspreiden.

In een eerder opgestelde risicoanalyse (Mulder 2011) zijn drie mogelijke risico's onderkend:

- a) mogelijke impact op inheemse amfibieën en grondbroedende vogels, vooral in moerasgebieden
- b) mogelijke impact op de bunzing, die een enigszins met de Wasbeerhond overeenkomende niche bezet
- c) een mogelijk toenemend risico op besmetting van de mens door *Trichinella* en de vossenlintworm.

De mogelijke impact op inheemse flora en fauna en de potentiële gezondheidsrisico's heeft de Europese Raad van Ministers doen besluiten om de Wasbeerhond in augustus 2017 op de exotenlijst van de Europese Unie te plaatsen (NVWA 2017). Dit houdt in dat de soort niet meer mag worden verhandeld en gehouden (afgezien van dieren die al in bezit waren vóór intrede van de wet). Verder verplicht de exotenlijst lidstaten ertoe om in de natuur aanwezige populaties op te sporen, te verwijderen, of als dat niet lukt, zodanig te beheren dat verspreiding en schade zoveel mogelijk wordt voorkomen.

Vooruitlopend op dit besluit verleende de NVWA in februari 2016 opdracht aan Bureau Mulder-natuurlijk, Altenburg & Wymenga en de Zoogdiervereniging voor een onderzoek naar de verspreiding en ecologie van de Wasbeerhond in Nederland.

1.2 Doel

Het doel van het onderzoek is het vastleggen van de huidige verspreiding van de Wasbeerhond in Nederland, een beeld krijgen van de huidige populatiedichtheid, reproductie en dispersie, en een begin maken met de bestudering van het terreingebruik en voedselkeuze en daarmee de mogelijke impact van de Wasbeerhond.

1.3 Opbouw

In de volgende hoofdstukken worden de resultaten van de diverse onderdelen van het onderzoek gepresenteerd. Hoofdstuk 2 bevat een overzicht en analyse van waarnemingen van Wasbeerhonden, inclusief een beeld van de voortplanting, terwijl in hoofdstuk 3 onze eigen zoektocht naar Wasbeerhonden behandeld wordt. Het onderzoek naar de voedselsamenstelling wordt beschreven in hoofdstuk 4. In hoofdstuk 5 worden de resultaten besproken. In hoofdstuk 6 tenslotte, worden de conclusies opgesomd.

2 Verspreiding en reproductie

2.1 Methode

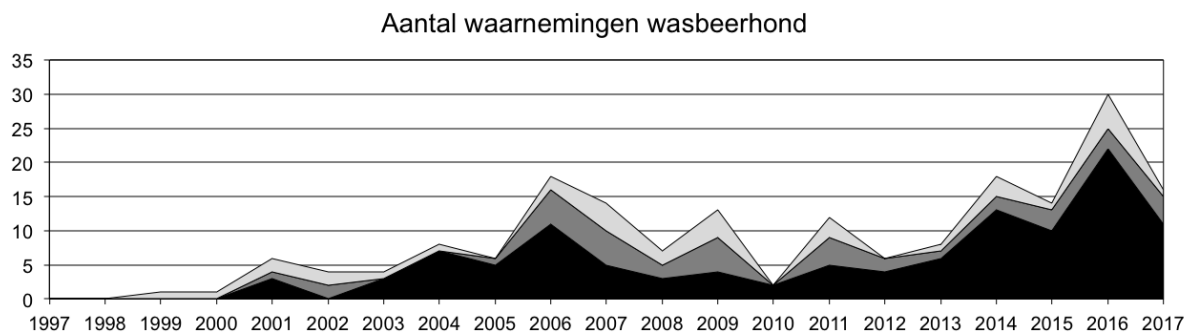
Voor het verzamelen en evalueren van waarnemingen van Wasbeerhonden werden dezelfde methoden gevolgd als voor het rapport van Mulder (2011). Als gevolg van publiciteit over het onderzoek in tijdschriften (o.a. De Jager en Zoogdier) en op internet kwamen rechtstreeks of via-via bij de onderzoekers meldingen van waarnemingen en doodvondsten binnen. Daarnaast werden de waarnemingen die opgenomen werden op de sites www.waarneming.nl en www.telmee.nl nagetrokken en geëvalueerd. Waarnemers werden zoveel mogelijk telefonisch of per email benaderd om meer bijzonderheden te verkrijgen. Op deze wijze werden alle waarnemingen ingedeeld in vier categorieën: 'zeker' (met bewijsmateriaal zoals foto of dood dier, of een overtuigend verhaal), 'waarschijnlijk' (een goed verhaal van de waarnemer, maar niet 100% overtuigend), 'mogelijk' (een niet overtuigend verhaal, of de waarnemer reageerde niet of was niet te bereiken) en tenslotte de categorie 'onwaarschijnlijk of zeker niet' (als duidelijk was dat de waarneming een das, vos of ander dier betrof).

Reproductie werd afgeleid uit secties van dode vrouwtjes, uit waarnemingen van kleine, nog afhankelijke jongen en uit waarnemingen van (dispergerende) jonge dieren in de zomer.

2.2 Aantal waarnemingen

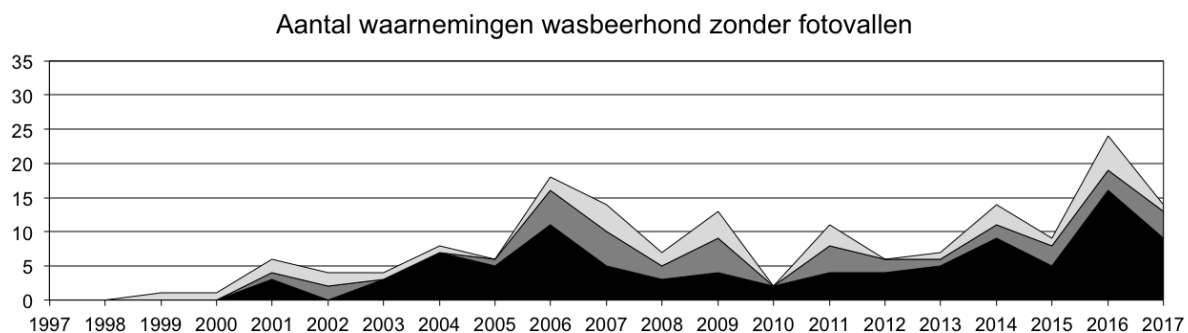
Het jaarlijks aantal waarnemingen in verschillende provincies en/of regio's sinds 1990 staat opgesomd in bijlage 1, voor respectievelijk de categorieën 'zeker' en 'waarschijnlijk'. Het linkerdeel van elke tabel bevat de waarnemingen in het noordoostelijke deel van Nederland, waar de meeste waarnemingen worden gedaan en waarvan wordt aangenomen dat het om 'wilde' Wasbeerhonden gaat. In het rechterdeel staan de waarnemingen in de rest van Nederland, zoals van de Veluwe waar de populatie is ontstaan uit ontsnapte dieren, en van meer zuidelijke en westelijke provincies, waar het om verre zwervers gaat of ontsnapte Wasbeerhonden (Mulder, 2011). In Noordoost-Nederland is het totaal aantal zekere waarnemingen tot nu toe 119, het aantal waarschijnlijke waarnemingen 17. In de rest van Nederland is dat respectievelijk 40 en 13.

Figuur 1A geeft het aantal waarnemingen weer sinds 1997, voor het noordoostelijke deel van Nederland: Friesland, Groningen, Overijssel, de Gelderse Achterhoek en de noordoostelijke helft van Flevoland. Er zijn drie categorieën van betrouwbaarheid weergegeven. Het verzamelen van waarnemingen is afgesloten per 1 januari 2018.



Figuur 1 A. Het aantal waarnemingen tot en met 2017 van Wasbeerhonden in het noordoostelijke deel van Nederland, in drie categorieën: zeker (zwart), waarschijnlijk (donkergrijs) en mogelijk (lichtgrijs).

De grafiek in figuur 1 A wekt de indruk dat het aantal waarnemingen sinds 2015 aan het toenemen is. Dat is hoogstwaarschijnlijk grotendeels schijn, omdat er sprake is van een tweevoudig waarnemerseffect. Allereerst is er het effect van het onderzoek zelf: een grotere alertheid bij mensen in het veld, en een grotere inspanning onzerzijds om waarnemingen binnen te krijgen. Daarnaast heeft het toenemend gebruik van fotovallen door natuurliefhebbers (vooral sinds 2014) geleid tot een toename van het aantal waarnemingen. In tegenstelling tot de eerste factor, is voor het laatste effect wél te corrigeren om de trend beter zichtbaar te maken, door de fotovalwaarnemingen in Noordoost- Nederland ($n = 19$) weg te laten (figuur 1 B).



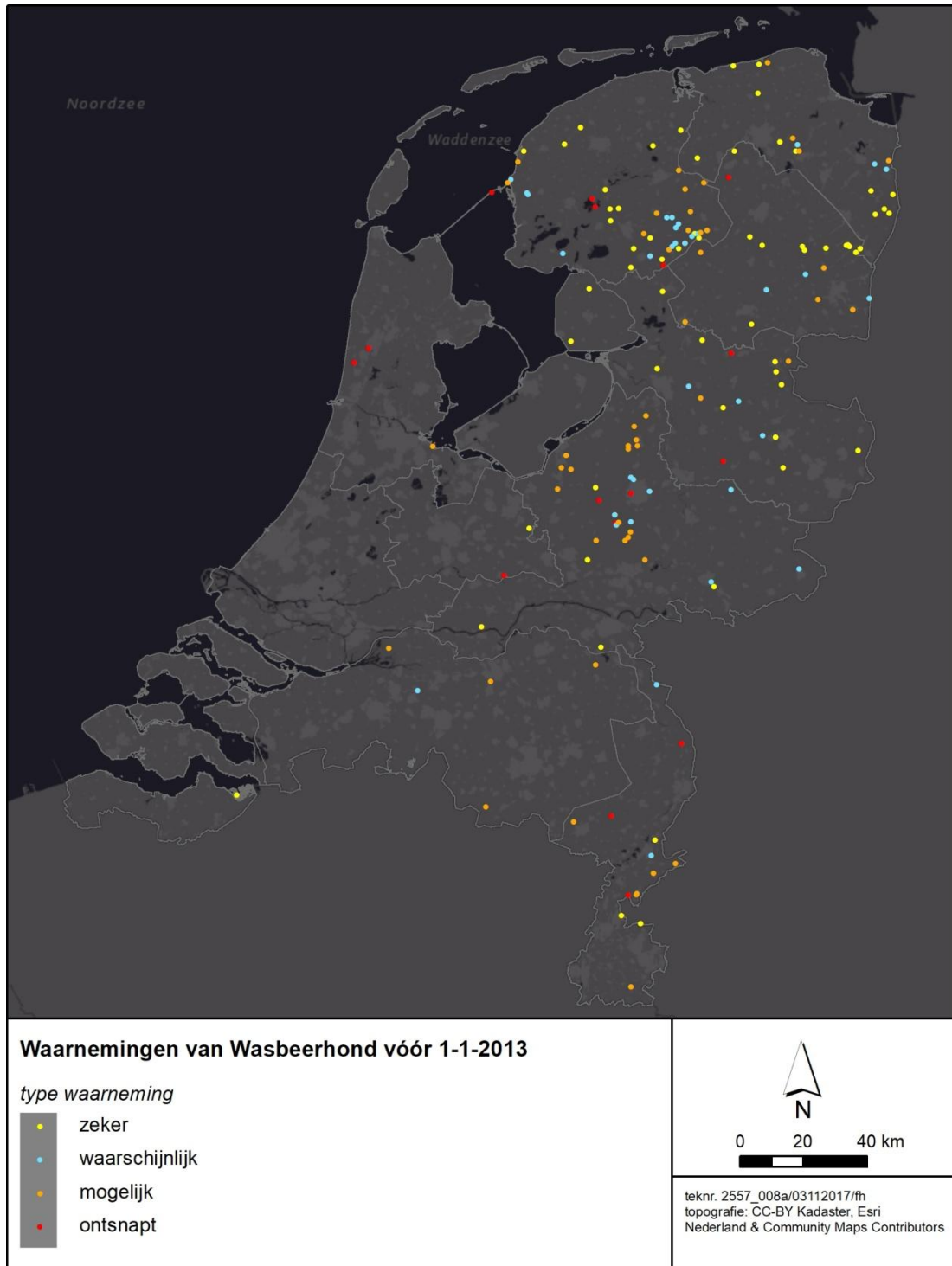
Figuur 1B. Dezelfde gegevens als in figuur 1A, maar dan zonder de waarnemingen die met fotovallen verzameld zijn, zodat de trend beter zichtbaar is.

Uit figuur 1B blijkt dat er tot nu toe nog geen sprake is van een duidelijke toename van het aantal waarnemingen, maar mogelijk staan we op de drempel van zo'n toename, als de piek van 2016 zich doorzet. Wat verder opvalt zijn de grote verschillen tussen de jaren, met pieken elke twee of drie jaar en dalen ertussen.

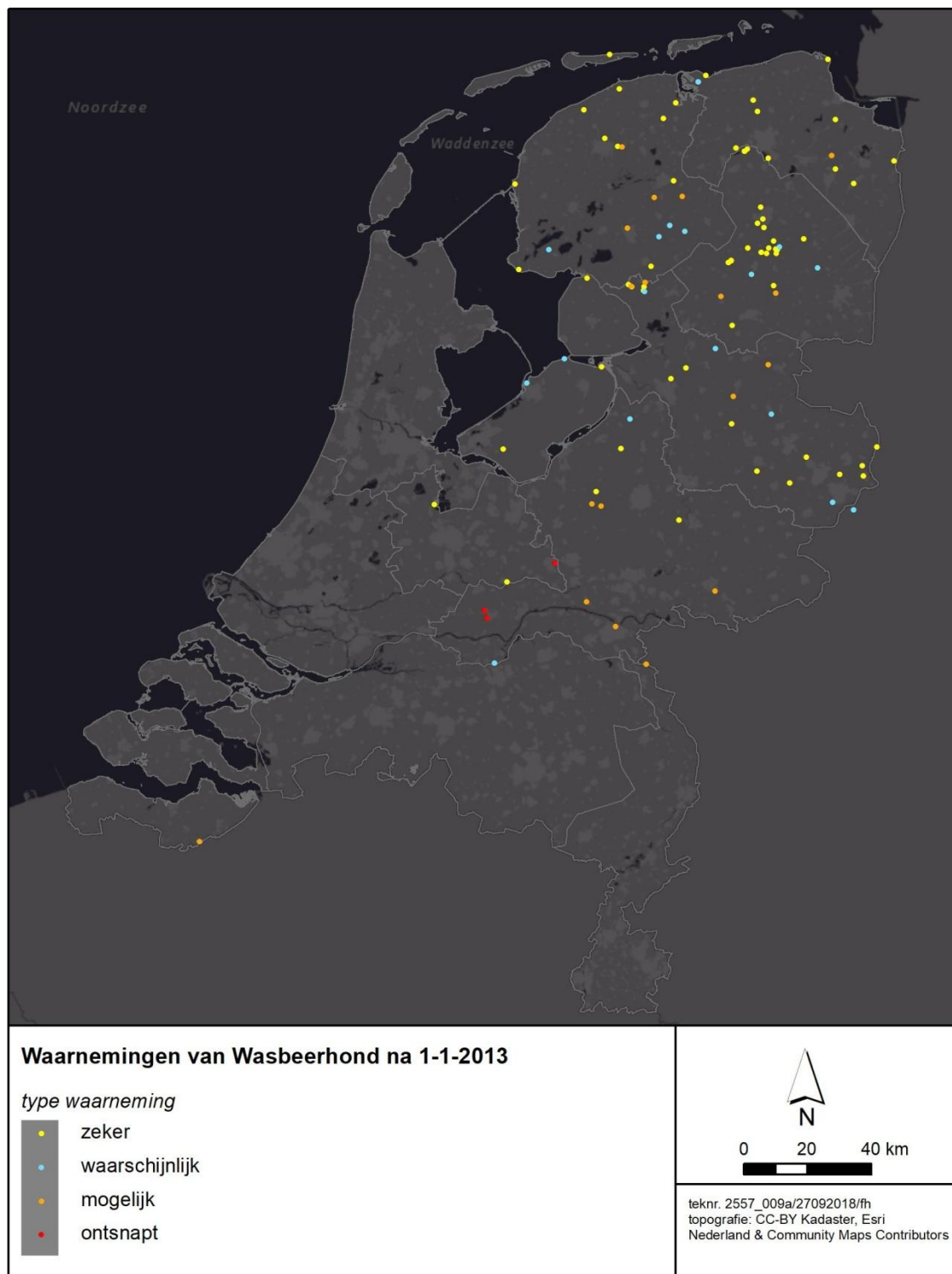
2.3 Verspreiding

De verspreiding van de Wasbeerhond in Nederland tot 1 januari 2013 staat weergegeven in figuur 2A. De meer recente waarnemingen (van 1 januari 2013 tot 1 januari 2018) staan weergegeven in figuur 2B. Bij onderlinge vergelijking zien we een paar opvallende zaken. Allereerst is er nog geen sprake van verder 'oprukken' van de Wasbeerhond ons land in; de grens ligt nog steeds ongeveer van oostelijk Flevoland tot de Achterhoek. Verder is het aantal waarnemingen in de rest van Nederland sterk afgenomen, met name in Noord-Brabant en Limburg. Dit duidt er op dat de eerdere waarnemingen (tot 2013) aldaar mogelijk vooral ontsnapte individuen waren. Ook de Veluwe, waar al vanaf ongeveer 2002 waarnemingen

vandaan komen en de populatie ontstaan moet zijn uit ontsnapte dieren, levert relatief minder waarnemingen op in recente tijd.



Figuur 2A. Waarnemingen van de Wasbeerhond in Nederland vóór 1 januari 2013



Figuur 2B. Waarnemingen van de Wasbeerhond van 1 januari 2013 tot 1 januari 2018.

2.4 Voortplanting

Wasbeerhonden krijgen eenmaal per jaar jongen. In Noord-Duitsland worden de jongen rond 1 mei geboren. Ze worden vooral door het mannetje verzorgd en bewaakt. De jongen blijven slechts zes weken in het hol en gaan dan met beide ouders rondzwerven door het territorium,

elke dag op een andere plek slapend. Als ze nog niet half zo groot zijn als hun ouders gaan de eerste jongen al de wijde wereld in, op zoek naar een eigen woonplek. Dat kan al in juli zijn. De afstanden die ze afleggen kunnen behoorlijk groot zijn. In Noord-Duitsland werd een gemiddelde dispersieafstand vastgesteld van 18 km; slechts 8.5 % van de jongen ging verder dan 50 km, met een maximumafstand van 92 km (Drygala et al. 2010).

Omdat de jongen pas na drie of vier weken buiten het hol komen, en na zes weken al vertrekken, is de kans om een hol met jongen te vinden erg klein. De jongen poepen en plassen in de paar weken dat ze buiten komen, op een vaste plek binnen enkele meters van de holingang (figuur 3). Aan zo'n latrine is nog enige weken na het vertrek van de familie vast te stellen dat daar een worp heeft gezeten. Binnen 50-80 meter van het geboortehol liggen ook één of meer latrines van het ouderpaar. Omdat ook de ouders een paar maanden aan die plek gebonden zijn, kan zo'n latrine flink groot worden (figuur 4).



Figuur 3. Latrine van jonge Wasbeerhonden, met enigszins verspreid liggende kleine keutels en geel geworden gras, dichtbij de ingang van hun hol, een deel van een dassenburcht. Foto Jaap Mulder



Figuur 4. Grote latrine op ongeveer zestig meter afstand van een hol met jonge Wasbeerhonden. Dicht op elkaar liggende, gestapelde dikke keutels, vermoedelijk geproduceerd gedurende de gehele winter en het voorjaar. Foto: Jaap Mulder.

Aanwijzingen voor voortplanting in Nederland kunnen op drie verschillende manieren verkregen worden. Allereerst is er het onderzoek aan dode vrouwelijke Wasbeerhonden. Aan de baarmoeder (uterus) is te zien of er embryo's zijn, of er embryo's geweest zijn (die laten een bandvormig donker litteken achter) of dat de baarmoeder nog geen embryo's heeft bevat; de uterus is dan nog dunwandig en klein. Ten tweede kunnen kleine, nog afhankelijke jongen in het veld worden waargenomen. Tenslotte kunnen zwervende 'halfwas' jongen worden waargenomen, in juli, augustus en begin september. In dit laatste geval is het steeds de vraag of die jongen in de buurt geboren zijn, of van ver weg zijn komen aanlopen. Na half september zijn de jongen te groot om in het veld met zekerheid als jong van het jaar herkend te worden.

2.5 Onderzoek aan baarmoeders

Van de negen volwassen vrouwtjes die sinds 2002 door Alterra, RIVM en tijdens dit onderzoek werden onderzocht, werden er acht gevonden op een tijdstip dat er mogelijk iets over voortplanting te zeggen valt, van half februari t/m juli; het achtste vrouwtje stamde uit januari van haar eerste jaar, de uterus is dan nog niet informatief. Zeven vrouwtjes waren waarschijnlijk één jaar oud (misschien waren er twee van ongeveer twee jaar oud), vermoedelijk was de achtste wat ouder. Van alle acht vrouwtjes kon de uterus onderzocht worden; er werden geen embryo's en ook geen littekens van embryo's gevonden. Twee eerstejaars vrouwtjes (van 14 maart en 29 april) waren mogelijk in oestrus (loops) of heel kort drachtig.

Dat betekent dat hooguit twee van de acht vrouwtjes aan de voortplanting zouden hebben deelgenomen, of zouden hebben kunnen deelnemen. Er kwamen uit het onderzoek aan dode dieren dus geen harde aanwijzingen voor voortplanting in Nederland.

2.6 Waarnemingen van kleine jongen

De eerste waarneming van jonge Wasbeerhonden in ons land werd gedaan door Tonnie Sterken in de buurt van Hooghalen, Drenthe. Hij fotografeerde op 2 mei 2012 een vijftal jonge 'vosjes' van ongeveer vier weken oud, bij de ingang van een dassenburcht. Toen een jaar later op die plek jonge Wasbeerhonden werden gefilmd, werden de oude foto's nog eens bekeken en werden de jongen als Wasbeerbondjes herkend (figuur 5).

De tweede waarneming van jonge Wasbeerhonden werd gedaan op ongeveer dezelfde plek in de buurt van Hooghalen. Een cameraval van Lex Duif die een ingang van een dassenburcht bewaakte, registreerde naast de dassen ook twee Wasbeerhonden die langs kwamen lopen met twee kleine jongen, op 30 mei 2013 (figuur 6). Bij nader onderzoek ter plekke, op 3 juni, vonden Aaldrik Pot en Pauline Arends van Staatsbosbeheer een latrine met verspreide keuteltjes bij een hol, plus de resten van twee dode jongen. Er leken geen levende jongen meer aanwezig; de ervaring van onderzoekers in Duitsland is dat Wasbeerhonden met jongen erg gevoelig zijn voor verstoring door mensen en na een menselijk bezoek aan de buurt van het hol snel vertrekken (mond. med. N. Stier).



Figuur 5. Vijf jonge Wasbeerhonden voor het hol in de buurt van Hooghalen (Dr), ongeveer vier weken oud. Foto: Tonnie Sterken.



Figuur 6. Still uit een video, met twee jonge en een volwassen Wasbeerhond op een dassenburcht bij Hooghalen (Dr). Opname Lex Duif

Het jaar 2014 ging voorbij zonder een vondst van jonge Wasbeerhonden, hoewel in het vroege voorjaar in de boswachterij Hooghalen in Drenthe herhaaldelijk één of twee Wasbeerhonden op camera verschenen. Maar in 2015 zag Han Duyverman bij het dassen tellen op 22 mei op een burcht in de buurt van Geeuwenbrug in Drenthe vijf jonge Wasbeerhonden spelen. Twee uur later kwamen hun beide ouders naar buiten; toen pas wist de waarnemer dat het om Wasbeerhonden ging. Twee dagen later onderzochten we de omgeving en hingen camera's op. We vonden een heel grote latrine (zie figuur 4) en een stuk of wat kleinere in de buurt. Op de camera's bij de ingangen van de dassenburcht stonden alleen beelden van dassen, blijkbaar waren ook nu de Wasbeerhonden met hun jongen vertrokken naar elders. Wel kwam een volwassen Wasbeerhond tweemaal op camera, die de grote latrine bezocht, in de nacht van 30 op 31 mei (figuur 7).



Figuur 7. Volwassen Wasbeerhond op de grote latrine van figuur 4. Foto: Jaap Mulder

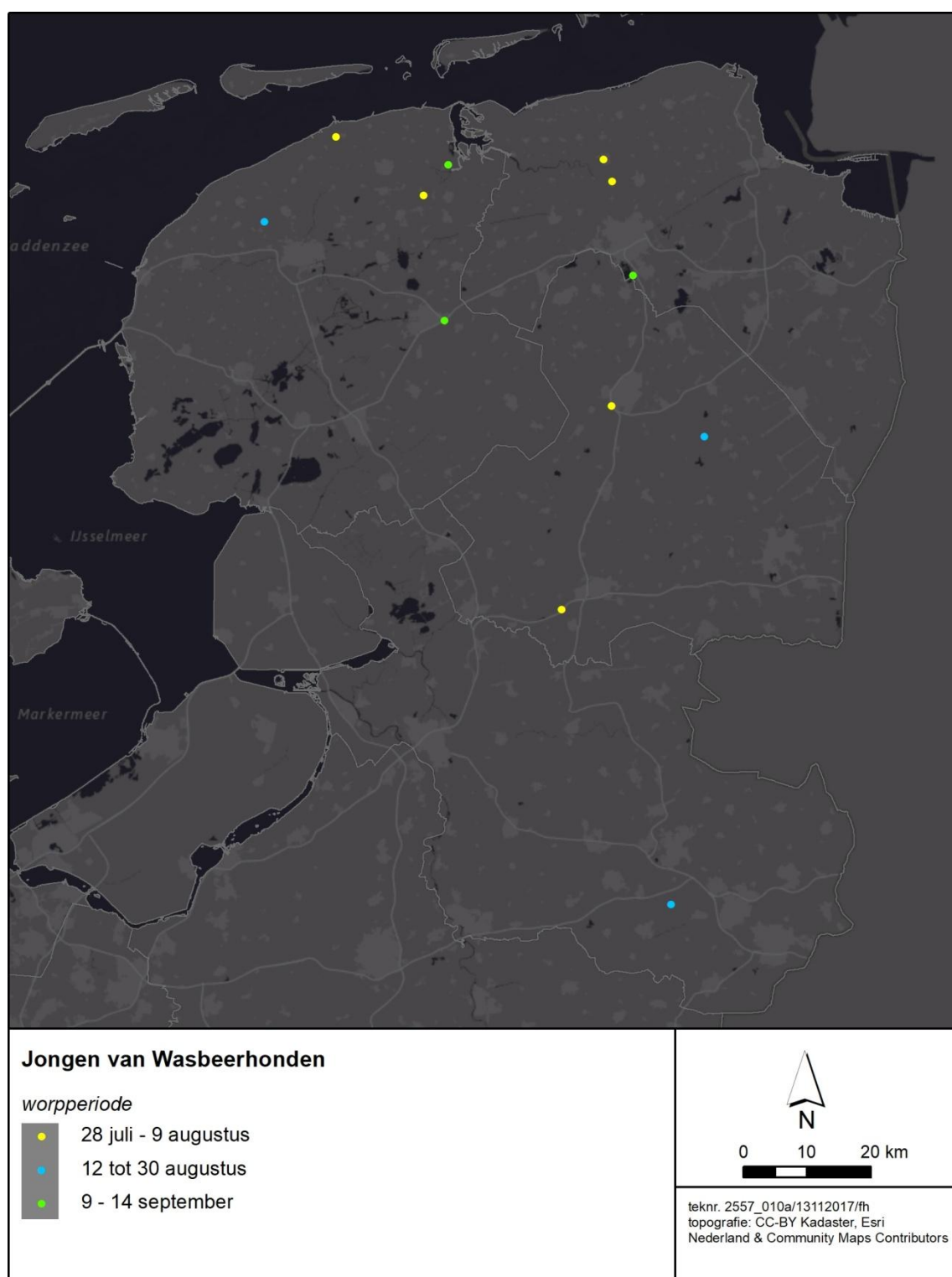
In 2016 en 2017 kwamen geen meldingen van jonge Wasbeerhonden binnen, hoewel in beide jaren tientallen dassentellers in Drenthe en Overijssel uitgebreid door ons waren geïnformeerd over de mogelijkheid om Wasbeerhonden en hun sporen op dassenburchten te zien.

De geschatte geboortedata van de jongen uit 2012, 2013 en 2015 waren respectievelijk ongeveer 4 april, 18 april en 17 april.

2.7 Waarnemingen van grotere jongen

Vanaf 2006 werden er af en toe onvolgroeide jongen in Nederland waargenomen of dood aangetroffen. In totaal zijn het er tot nu toe 12, tussen 28 juli en 15 september. Deze jongen kunnen in de buurt van de vindplaats geboren zijn, maar kunnen ook van ver zijn komen aanlopen. Er lijkt de laatste jaren wel een toename in het aantal waarnemingen: 2006 2x, 2013 1x, 2014 3x en 2016 6x. Opvallend is dat drie van deze vier jaren piekjaren waren in het totaal aantal waarnemingen (zie figuur 1B).

Hoe eerder in het jaar onvolgroeide jongen zijn waargenomen, hoe groter de kans dat ze in de buurt geboren zijn. In figuur 8 staan de waarnemingen op kaart weergegeven. Vier van de vroegste waarnemingen (geel) werden in het 'hoge' noorden gedaan, in de wijde omgeving van het Lauwersmeer, alle vier in 2016, wat zou kunnen duiden op een of meer worpen aldaar in dat jaar; er is veel goed habitat in het Lauwersmeer, in de vorm van rietvelden. Een andere vroege waarneming werd gedaan bij Assen in 2014, de zesde tenslotte bij Zuidwolde in 2016. In hoeverre de overige waarnemingen van onvolgroeide jongen op lokale voortplanting duiden is moeilijk te zeggen. Veel daarvan zouden ook op dispersie vanuit Duitsland hier terecht kunnen zijn gekomen.



Figuur 8. Waarnemingen van jonge, halfwas Wasbeerhonden in Nederland in de jaren 2006-2017.

3 Zoeken naar Wasbeerhonden

3.1 Inleiding

Een van de doelen van deze studie was het vangen en zenderen van enkele Wasbeerhonden, om zo hun terreingebruik en daarmee hun mogelijke impact op prooidieren te kunnen bestuderen. Om Wasbeerhonden te vinden werden drie methoden toegepast. Allereerst werd het netwerk van dassenwaarnemers in Drenthe en Overijssel in 2016 geactiveerd en attent gemaakt op de mogelijkheid om Wasbeerhonden te vinden. Men werd op bijeenkomsten geïnstrueerd in de methoden om de aanwezigheid van Wasbeerhonden vast te stellen. Ten tweede werd in het voorjaar van 2017 een zoektocht georganiseerd in het oosten van Drenthe om latrines te vinden. Tot slot werden in beide jaren in het winterhalfjaar of voorjaar veel voerplekken plus camera ingericht in geschikte gebieden, met dekking en zo veel mogelijk ook met water of moeras.

3.2 Dassenwaarnemers

In de noordelijke provincies zijn veel mensen jaarlijks actief in een lokale of regionale dassenwerkgroep. Hun belangrijkste bezigheid is het af en toe inspecteren van de dassenburchten in hun 'rayon' op bewoning en onregelmatigheden, en in mei 's avonds het observeren op de burchten om de dassen en hun jongen te tellen. Omdat Wasbeerhonden in winter en voorjaar graag hun intrek nemen in ongebruikte delen van dassenburchten of in kleine ongebruikte dassen- of vossenburchten, zou het mogelijk moeten zijn hun aanwezigheid te ontdekken door in de omgeving van die burchten te zoeken naar latrines. Wasbeerhonden deponeren hun faeces namelijk op een beperkt aantal vaste plekken, waardoor er opeenhopingen van keutels ontstaan die karakteristiek zijn voor deze soort en die niet verward kunnen worden met latrines of keutelplekken van andere soorten (zie ook hoofdstuk 2).

Om al deze dassenwaarnemers te stimuleren om ook op de mogelijke aanwezigheid van Wasbeerhonden te letten, werden in voorjaar 2016 bijeenkomsten belegd, eentje in Drenthe met ongeveer 35 deelnemers uit de hele provincie, en eentje in Twente met 12 deelnemers afkomstig uit twee Overijsselse dassenwerkgroepen. Op de bijeenkomst werd een presentatie gegeven over de ecologie van Wasbeerhonden en de sporen die in het veld te vinden zijn, zoals de latrines. Uitvoerig werd stil gestaan bij de manier van zoeken van latrines, omdat die afwijkt van de 'normale' dassenburchtinspectie: er moet op grotere afstand (zo mogelijk tot 100 m) van de burchten gezocht worden langs alle mogelijke wissels. Op de bijeenkomsten was veel enthousiasme onder de deelnemers voor dit nieuwe aspect aan hun veldwerk.

Helaas heeft de opbouw van dit waarnemersnetwerk niet geleid tot concrete waarnemingen van Wasbeerhonden in 2016 en 2017, maar hopelijk in de toekomst wel.

3.3 Gerichte zoekactie

In voorjaar 2017 werd een speciale actie georganiseerd om gericht te zoeken naar latrines in de buurt van dassen- en vossenburchten. In januari 2017 was een (al wat oudere) latrine gevonden in een bos tussen Rolde en Gieten, en dat was de aanleiding om daar in de buurt systematisch te gaan zoeken, in de hoop via een latrine de verblijfplaats van een familie Wasbeerhonden te vinden, en om dan een Wasbeerhond te kunnen zenderen en te volgen. Overleg met Staatsbosbeheer leverde op dat we, ondanks het broedseizoen, alle bekende dassen- en vossenburchten in de boswachterijen Gieten-Borger en Exloo-Odoorn mochten

bezoeken en een cirkel van 100 m daaromheen mochten afzoeken. Voorwaarde was wel dat we alleen ervaren mensen zouden inzetten. Staatsbosbeheer leverde ook een kaart met grote en kleine burchtlocaties. Uit het netwerk van dassenwaarnemers in Drenthe werden 21 mensen bereid gevonden ons te helpen zoeken.

Er werd op vier dagen gezocht: 13, 14, 22 en 28 april, dus rond de tijd dat jonge Wasbeerhonden geboren kunnen worden. Bij aanvang kregen de zoekers instructie over de beste manier van zoeken, en kregen ze foto's te zien van latrines en van jonge vosjes en Wasbeerhondjes. Ook werden ze geïnstrueerd om erg stil en voorzichtig te zijn bij het benaderen van hollen. Elke zoekdag gingen 7 tot 9 mensen op stap, in groepjes van 2 of 3, elk groepje met een vergunning en een veldkaart met te bezoeken locaties. In totaal werden ongeveer 65 locaties afgezocht; daaraan werden naar schatting in totaal 180 manuren besteed.

De gevolgde methode voldeed goed; in korte tijd kon zo veel werk worden verzet. Afgezien van de vondst van een geschoten en begraven das, werden geen vermeldenswaardige zaken gevonden, en ook geen sporen van Wasbeerhonden.

3.4 Voerplekken met camera's

In Noordoost-Nederland, in de provincies Overijssel, Drenthe, Groningen en Friesland, werd een groot aantal voerplekken gemaakt die bewaakt werden met een cameraval. Ze werden aangelegd in gebieden met naald/loofbos in beekdalen, naald/loofbos op hogere zandbodems waar dassenburchten aanwezig waren en in moerasgebieden. Er werd in twee perioden gewerkt: in het voorjaar van 2016 en in de winter van 2016-2017. De onderzoeksperioden waren respectievelijk van 19 februari tot 15 mei 2016, en van 16 november 2016 tot 22 maart 2017.

In het voorjaar van 2016 lagen de voerplekken in de buurt van Smalbroek, Schoonloo, de Lindevallei, de Tjongervallei, de Anserdennen, Veenhuizen en Oranje. In de winterperiode van 2016-2017 lagen ze in Nationaal Park de Wieden-Weerribben, bij Paasloo, in het Drentse Aa-gebied, bij De Haar, in bosgebied Ruinen, Nationaal Park Dwingelderveld, het Fochteloërveen, de Onlanden, Bargerveen en Nationaal Park Lauwersmeer.

Opzet

In het voorjaar van 2016 werden op 17 verschillende locaties voerplekken met cameravallen gemaakt, en in de winter van 2016-17 in totaal 56 plekken met camera's. Op 5 van deze plekken was er geen sprake van een voerplek, maar van zogenaamde 'dwangwissels', in dit geval droge dammen in het natte Fochteloërveen. De zeven camera's in het Fochteloërveen werden door Tonnie Sterken beheerd. De cameravallen werden minstens 1 kilometer uit elkaar geplaatst en draaiden continu in de onderzoeksperiode. Op de voerplekken werd een plastic emmertje van 3 liter in de grond ingegraven en gevuld met wat visafval. De emmertjes werden afgesloten met een deksel voorzien van gaten. De bedoeling was om op deze manier de voerplekken permanent van een voor roofdieren aantrekkelijke geur te voorzien. Elke week werden de voerplekken bezocht, de camera's uitgelezen en werd visafval op de emmers gelegd. Indien voorhanden werden er ook kadavers (enkele reeën, beschikbaar gesteld door Staatsbosbeheer) op de voerplaatsen neergelegd. Ook werd een beetje visafval zo hoog mogelijk aan een boom of struik gesmeerd omdat de geur op hoger gelegen objecten verder reikt en er daarmee meer kans is om predatoren aan te trekken.

Typen cameravallen.

Er werden vier verschillende typen camera gebruikt: de Bushnell Low Glow, de Bushnell Trophycam, de Reconyx Hyperfire HC600 en de Reconyx XR3. Alle camera's hadden een bewegingssensor die zowel 's nachts als overdag getriggerd kon worden. De camera's werden zo ingesteld dat ze een hoge gevoeligheid hadden, maar op plekken waar veel muizen- en rattenactiviteit was, werden de instellingen naar medium gevoeligheid gewijzigd om niet zoveel opnames van die soorten te krijgen. De Reconyx Hyperfire camera's namen 10 foto's per keer (per 'trigger') met een snelheid van 1 foto per seconde. De andere typen camera's maakten video's van 15 of 20 seconden. De camera's werden bevestigd aan een boom of ander bruikbaar object op een hoogte van ongeveer 50 cm, horizontaal of een beetje naar de grond gericht, op een afstand van drie tot vier meter van de voerplek. De camera's werden zoveel mogelijk richting noorden geplaatst om zo min mogelijk hinder van het zonlicht te hebben. Op de grond voor de camera's werden alle objecten en hoge planten die het zicht konden blokkeren en/of een trigger veroorzaken weggehaald.

3.5 Resultaten

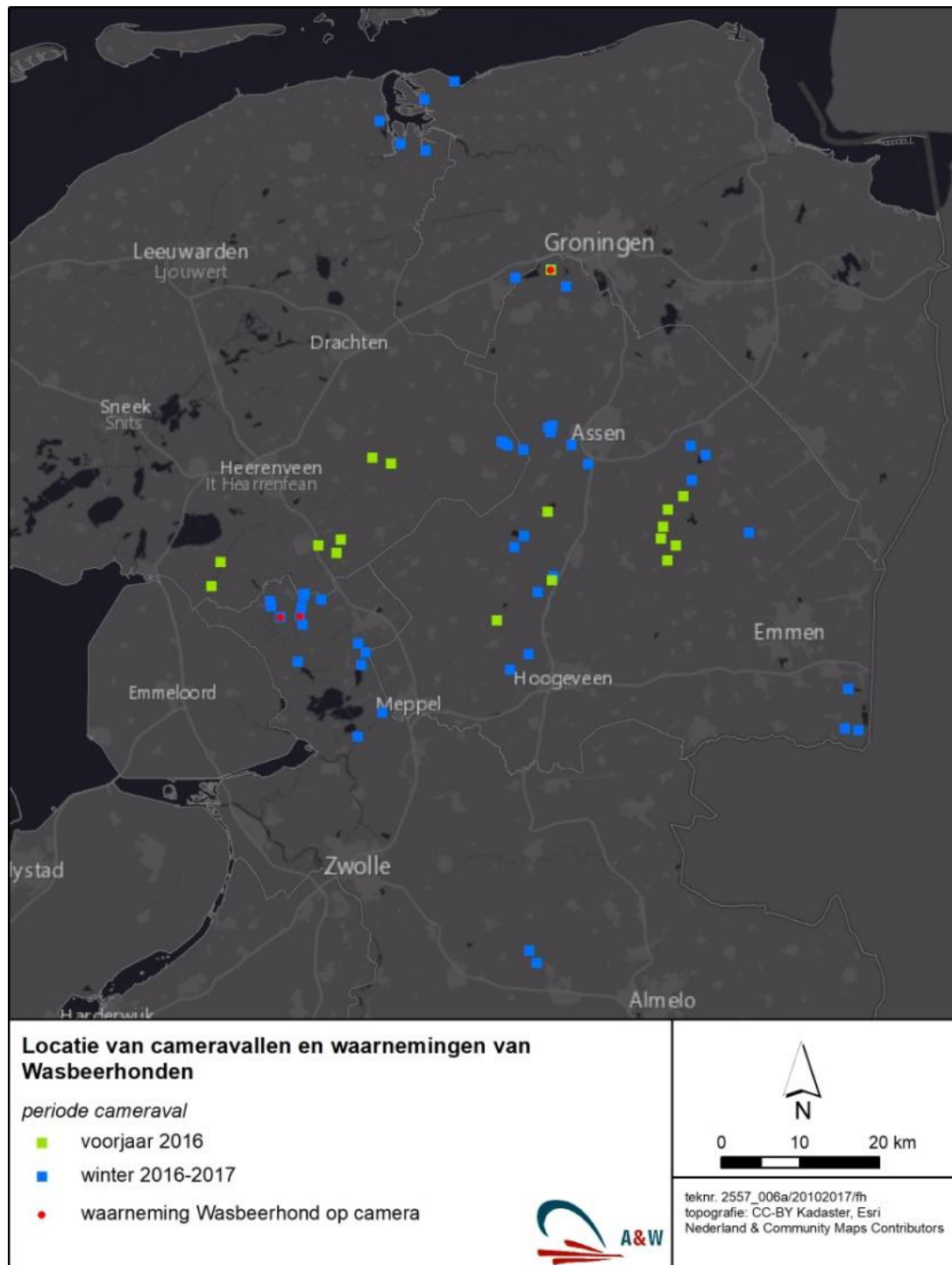
De verspreiding van camera's staat weergegeven in figuur 9. In totaal zijn er 4716 draaidagen van de cameravallen geweest, 814 in voorjaar 2016 en 3902 in de winter 2016-17. Alle soorten wilde roofdieren (afgezien dus van hond, kat en fret) werden op camera vastgelegd, behalve de kleinste en de grootste, de wezel en de wolf. Vos en steenmarter werden het vaakst waargenomen, gevolgd door boommarter, bunzing en das. De wasbeer kwam op twee plekken op camera, de hermelijn en de otter op één plek. De Wasbeerhond tenslotte, werd op drie plekken (waarvan er twee dichtbij elkaar lagen) waargenomen (figuur 9).

Trefkans

Voor de winter van 2016-2017 was het mogelijk om de trefkans te berekenen voor elke roofdiersoort, omdat de waarnemingen per dag werden vastgelegd. De trefkans is gedefinieerd als het percentage van alle cameranachten waarop een soort werd gesignaleerd. Meerdere waarnemingen van een soort in dezelfde nacht op dezelfde locatie werden daarbij beschouwd als één waarneming. Onderscheid tussen individuen van een soort was namelijk meestal niet mogelijk.

Tabel 1. Trefkans van elke roofdiersoort in de winter van 2016-17. Het totaal aantal draaidagen van de camera's bedroeg 3902.

Roofdier	# dagen waargenomen	Trefkans (%)
Vos	373	9,56
Steenmarter	352	9,02
Boommarter	117	3,00
Bunzing	97	2,49
Das	58	1,48
Wasbeerhond	4	0,10
Wasbeer	1	0,03
Hermelijn	1	0,03
Otter	1	0,03



Figuur 9. De locaties van de cameravallen in het voorjaar 2016 (groen) en in de winter van 2016-2017 (blauw). Met rood zijn de locaties aangegeven waar Wasbeerhonden op de camera zijn gesignaleerd.

Voor de Wasbeerhond was ook in voorjaar 2016 het aantal nachten bekend waarop hij voor de camera verscheen, namelijk éénmaal. De trefkans voor de totale onderzoeksperiode bedroeg dus $5/4716 = 0,11\%$, ongeveer hetzelfde als voor in de winter 2016-17 alleen (tabel 1).

Waarnemingen van Wasbeerhonden

In het voorjaar van 2016 is er éénmaal een Wasbeerhond waargenomen tijdens ons werk met voerplekken. Dit was in de Onlanden (west van Groningen) op 26 april 2016. Voordat wij erbij betrokken waren, hadden Wim van Boekel en Aldrik Pot hier tijdenlang een camera staan; zij hadden op 17 februari 2016 voor het eerst een Wasbeerhond op camera, en daarna opnieuw op 17 april. Op 27 februari was er een Wasbeerhond doodgereden op de A7 dichtbij de Onlanden; er moeten in februari dus minstens twee individuen in of bij de Onlanden hebben rondgelopen. Op 2 mei werden vangmiddelen geïnstalleerd en camera's bijgeplaatst, maar vanaf dat moment heeft de Wasbeerhond zich daar niet meer laten zien. Overigens kwam hij later in het jaar, in juli, opnieuw voor de camera van Wim en Aldrik.



Figuur 10. Wasbeerhond op voerplek in de Onlanden

In de winter van 2016-17 zijn er viermaal Wasbeerhonden waargenomen op camera, steeds in de Weerribben. Eén Wasbeerhond werd al in de eerste week van het onderzoek gesignaleerd langs de Hoogeweg bij Ossenzijl. Dit was op 19 november 2016. Het dier leek op de foto's af en toe te roepen (naar een metgezel buiten beeld?), althans er waren diverse beelden waar hij de bek open had (figuur 11). Een paar dagen later plaatsten we een kastval bij de voerplek, maar de Wasbeerhond kwam niet meer terug. Intussen was bekend geworden dat daar dichtbij door een jager een betrouwbare waarneming van een Wasbeerhond was gedaan, in de buurt van Ossenzijl op 24 juni 2016. Ook in Paasloo werd dat jaar een Wasbeerhond gezien (en gefotografeerd) in een tuin, en wel op 2 september.

In maart 2017, tegen het eind van het onderzoek, verscheen er plotseling weer een Wasbeerhond in de Weerribben op camera, op een voerplek in de buurt van de Meenthebrug

tussen Ossenzijl en Paasloo. De afstand tussen beide voerplekken was slechts 2,7 km, het kan dus heel goed om dezelfde Wasbeerhond gegaan zijn als in november. Het dier werd in drie nachten (4, 6 en 8 maart) op de voerplek gefotografeerd. Ook hier werden vangmiddelen geïnstalleerd, en ook hier kwam de Wasbeerhond niet meer terug.



Figuur 11. Wasbeerhond op voerplek in de Weerribben.

Naast ons eigen werk met camera's in het noorden van Nederland, werd ook samengewerkt met Harrie Bosma van werkgroep Calutra. Harrie speurt met een paar camera's een groot deel van Friesland af op zoek naar otters en sinds kort ook bevers. Veel van zijn opnamen zijn op Youtube te vinden. Hij plaatst zijn camera's altijd op oevers, wat de trefkans met Wasbeerhonden groot maakt. Ondanks zijn voortdurende inspanningen en het grote aantal onderzochte locaties, heeft hij slechts eenmaal een Wasbeerhond voor de camera gehad. Dat was op 29 december 2015 langs de Linde bij Wolvega. In het voorjaar daarna werden door ons enkele voerplekken langs de Linde gemaakt, maar dat leverde niets meer op. Het geringe succes, ondanks de hoge trefkans, van het werk van Harrie, illustreert opnieuw hoe zeldzaam de Wasbeerhond in Nederland nog is.

4 Voedsel

De samenstelling van het voedsel is enerzijds onderzocht aan de hand van de inhoud van de magen van alle tot nu toe in Nederland onderzochte dode Wasbeerhonden, en anderzijds via een analyse van de verzamelde keutels met DNA-technieken.

4.1 Magen

Samen met RIVM werden sinds 2009 in totaal 29 dode Wasbeerhonden onderzocht; dat leverde 19 magen met enige inhoud op. Tussen 2002 en 2007 werden er ook op Alterra af en toe dode Wasbeerhonden onderzocht; van 5 van die dieren is de maaginhoud bekend. In totaal wordt hier dus over 24 maaginhouden gerapporteerd.

Omdat 24 magen geen representatieve steekproef kunnen vormen, moeten de resultaten worden beschouwd als een eerste indicatie van de voedselsamenstelling. Daarom worden de resultaten hier ook alleen gepresenteerd in de vorm van frequenties, dus in hoeveel magen elke voedselsoort werd aangetroffen (tabel 2). Een maag die tot barstens toe gevuld is met resten van een Haas, telt dan even zwaar als een maag waarin slechts resten van een paar Kevers gevonden werden.

Tabel 2. Inhoud van onderzochte magen van dode Wasbeerhonden

Frequentie van voorkomen	n magen	%
zoogdieren	15	63
vogels	9	38
eieren	1	4
amfibieën	5	21
vis	3	13
kevers	10	42
larven van insecten	2	8
regenwormen	6*	32
vruchten	4	17
maïs	4	17

*) In 5 magen werd niet gezocht naar resten van Regenwormen; voor deze voedselsoort is het aantal onderzochte magen dus niet 24 maar 19.

Zoogdieren

Tweemaal werden resten van een Haas of Konijn in een maag gevonden. Veel vaker (12x) zaten er Muizen of Ratten in de magen, soms een combinatie van soorten.

Tabel 3. Kleine zoogdieren in de magen van Wasbeerhonden

	in n magen
woelrat	2
veldmuis	3
woelmuis ongespec	3
bruine rat	2
bosmuis	1
bos- of huismuis	1
huisspitsmuis	2
muis ongespec	3
5 nestjonge 'muizen'	1

In tenminste 3 van de gevallen in tabel 3 ging het om juveniele (nestjonge) exemplaren, naast de maag waarin 5 nestjonge Muizen zaten.

Vogels

Negen keer werden resten van vogels in de magen aangetroffen, soms slechts een enkel veertje. Meestal ging het om zangvogels (o.a. Merel en Gaai), eenmaal waarschijnlijk om een witte kip; daarbij zaten ook tien gave tarwekorrels.

Aas

Tweemaal waren er aanwijzingen dat voedsel als aas was gegeten, omdat er ook resten van Doodgravers (*Nicrophorus spec*) in de maag zaten; in de ene maag samen met een Vlaamse gaai, in de andere samen met een zangvogel en een jonge Woelmuis.

Amfibieën en vis

In vijf magen werden Kikkers of Padden aangetroffen; eenmaal ging het om een Gewone pad, in de andere gevallen was determinatie van de soort niet meer mogelijk. Resten van Vissen werden driemaal aangetroffen. Tweemaal ging het om grote vissen (schubben van 8 à 10 mm), eenmaal waarschijnlijk om paling.

Regenwormen

Wasbeerhonden blijken ook Regenwormen te eten. Resten van Regenwormen werden gezocht door in het uitspoelsel van de magen te zoeken naar de kenmerkende kleine goudgele borsteltjes (*chaetae*), onder een binoculaire microscoop bij een vergroting van 20-25x. In 6 van de 19 onderzochte magen werden ze inderdaad aangetroffen, soms in flinke aantallen.

Vruchten

Vruchten werden in 4 magen gevonden: 1x was het peer of appel, 1x een pit van een kers en 2x zaten er braampitjes in. Daarbij ging het om ongeveer 70 en 200 pitjes.

Seizoensinvloed

Uiteraard zijn er verschillen in voedselaanbod en –dus voedselkeuze van de Wasbeerhond tussen de verschillende seizoenen. In tabel 4 staan de belangrijkste verschillen tussen zomer- en winter opgesomd in deze beperkte steekproef van magen (n=24). Voedselsoorten waarbij geen duidelijk verschil optrad tussen beide perioden zijn hierbij weggelaten.

Tabel 4. Seizoensverschillen in frequentie van voedselsoorten in magen

Voedsel-soort	Zomer: april – sept (15 magen)	Winter: oktober – maart (9 magen)
Haas/konijn	0x	2x
Amfibieën	4x	1x (okt)
Kevers	9x	1x
Maïs	1x (eind sept)	3x
Vruchten	3x (braam, kers)	1x (appel/peer)

4.2 DNA-analyse keutels

4.2.1 Methode

De verzamelde keutels werden op hun DNA-samenstelling geanalyseerd door Datura Molecular Solutions BV te Huissen. De gevolgde analyse-methoden staan uitgebreid beschreven in bijlage 2. In grote lijnen is de methode als volgt: Uit de keutels werd DNA geëxtraheerd en vermenigvuldigd. Dit DNA werd vergeleken met een database van allerlei soorten of soortgroepen. De analyse werd apart gedaan voor drie soortgroepen: gewervelden, ongewervelden en planten. Binnen elke groep geeft het aantal 'reads' (DNA-aflezingen) een indicatie (maar niet meer dan dat) van de relatieve hoeveelheid van elke soort of soortgroep in het keutelmonster. Omdat er allerlei verschillen zouden kunnen zijn in de mate van DNA-extractie en -vermenigvuldiging tussen de soorten, kan de hoeveelheid afgelezen DNA niet beschouwd worden als een weerspiegeling van de exacte hoeveelheid door de Wasbeerhond geconsumeerd materiaal, maar alleen als een grove benadering ervan. Bovendien is het op basis van de resultaten niet mogelijk iets af te leiden over de onderlinge verhouding *tussen* de drie onderzochte soortgroepen (gewervelden, ongewervelden, planten); dat kan alleen *binnen* de groepen. We kunnen dus niet concluderen dat de Wasbeerhonden bijvoorbeeld 80% gewervelden en 20% ongewervelden hebben gegeten, maar wel dat ze van de gewervelden bijvoorbeeld 20% muizen en 80% kikkers hebben gegeten, en van de ongewervelden 80% kevers en 20% slakken.

Bij de reptielen is de analyse niet helemaal goed gegaan. Van hen is alleen aan- of afwezigheid gescoord, er zijn dus geen gegevens over die soorten in de resultaten van de onderlinge verhoudingen binnen de gewervelden.

Bij de analyse komt ook altijd naar voren welk dier de onderzochte keutels heeft geproduceerd. Daarbij bleek dat twee kleine latrines in Friesland niet van Wasbeerhond maar van kat waren, en dat enkele elders verzamelde losse keutels van vos waren. Uiteraard zijn de resultaten van de analyses van die keutels hier buiten beschouwing gelaten.

4.2.2 Keutelmonsters

Op drie plekken (alle drie in Drenthe) werden keutels van Wasbeerhonden verzameld, namelijk op twee plekken in het Leggelderveld (Natuurmonumenten) en op een plek op Landgoed Heidehof, een particulier terrein bij Gieten. De keutels werden verzameld door Johann Presscher, Diliene Welink, Ruud van den Akker en Jaap Mulder. De keutels die op 27 mei 2015 werden verzameld van de grote latrine die in figuur 4 is afgebeeld, werden verdeeld in drie monsters: oud (januari-februari), middel (maart-april) en vers (mei). In de resultaten worden de in totaal vijf monsters gepresenteerd in volgorde van seizoen; steeds is aangegeven hoeveel gram keutels per monster is geanalyseerd. Tabel 5 bevat de gegevens van de vijf

monsters. Duidelijk is dat vier van de vijf monsters uit hetzelfde terrein komen, en eentje uit een ver daar vandaan liggend gebied.

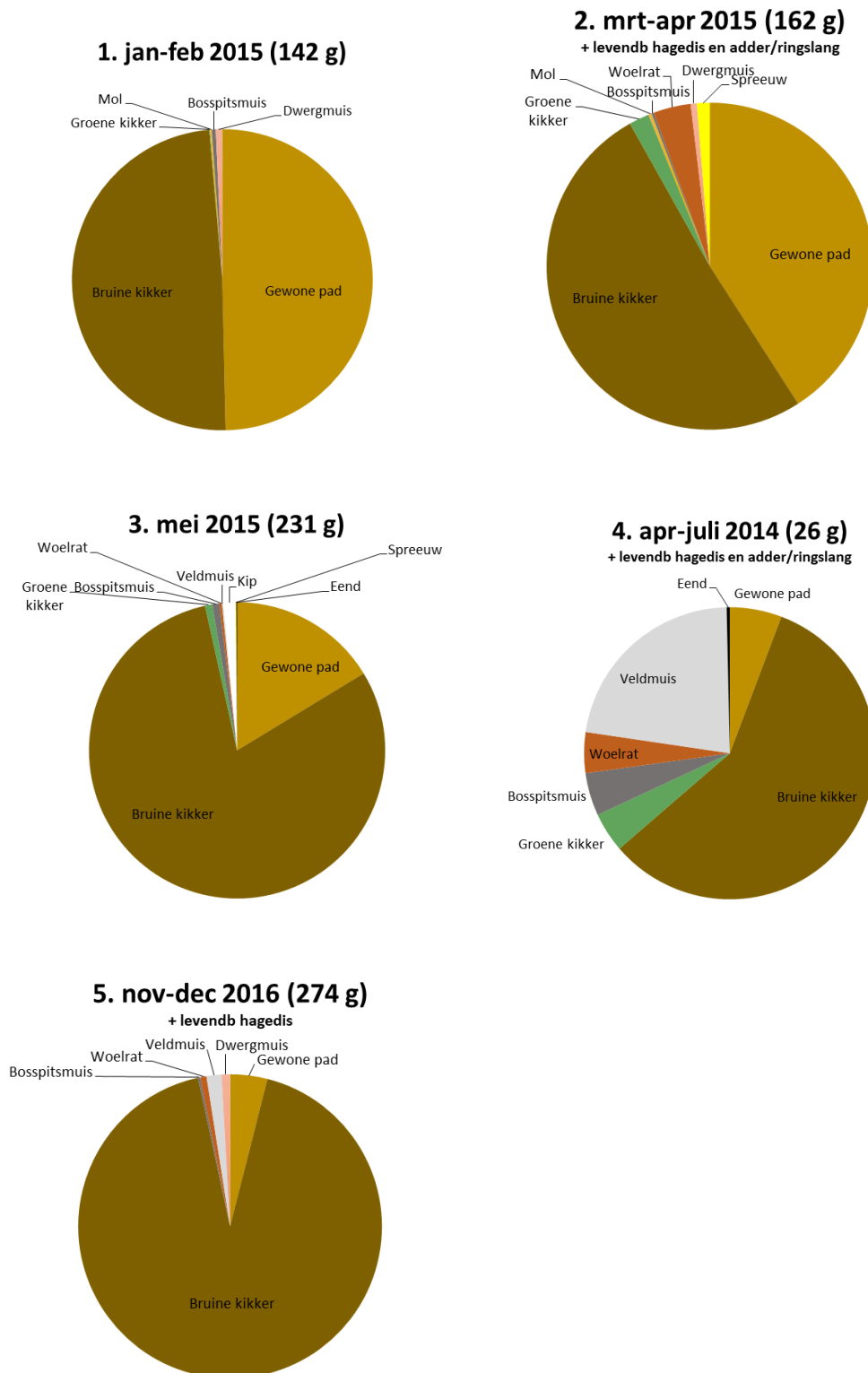
Tabel 5. Vindplaats en andere gegevens van de vijf monsters van keutels van Wasbeerhond.

seizoens- volgorde	1	2	3	4	5
locatie	Leggelder- veld	Leggelder- veld	Leggelder- veld	Leggelder- veld	Gieten
verzameldatum	27 mei 2015	27 mei 2015	27 mei 2015	apr-juli 2014	6 jan 2017
productie-periode	jan-febr 2015	mrt-apr 2015	mei 2015	apr-juli 2014	nov-dec 2017
gram keutels	142	162	231	26	274
n DNA-reads	1531152	1020183	75741	440424	104189

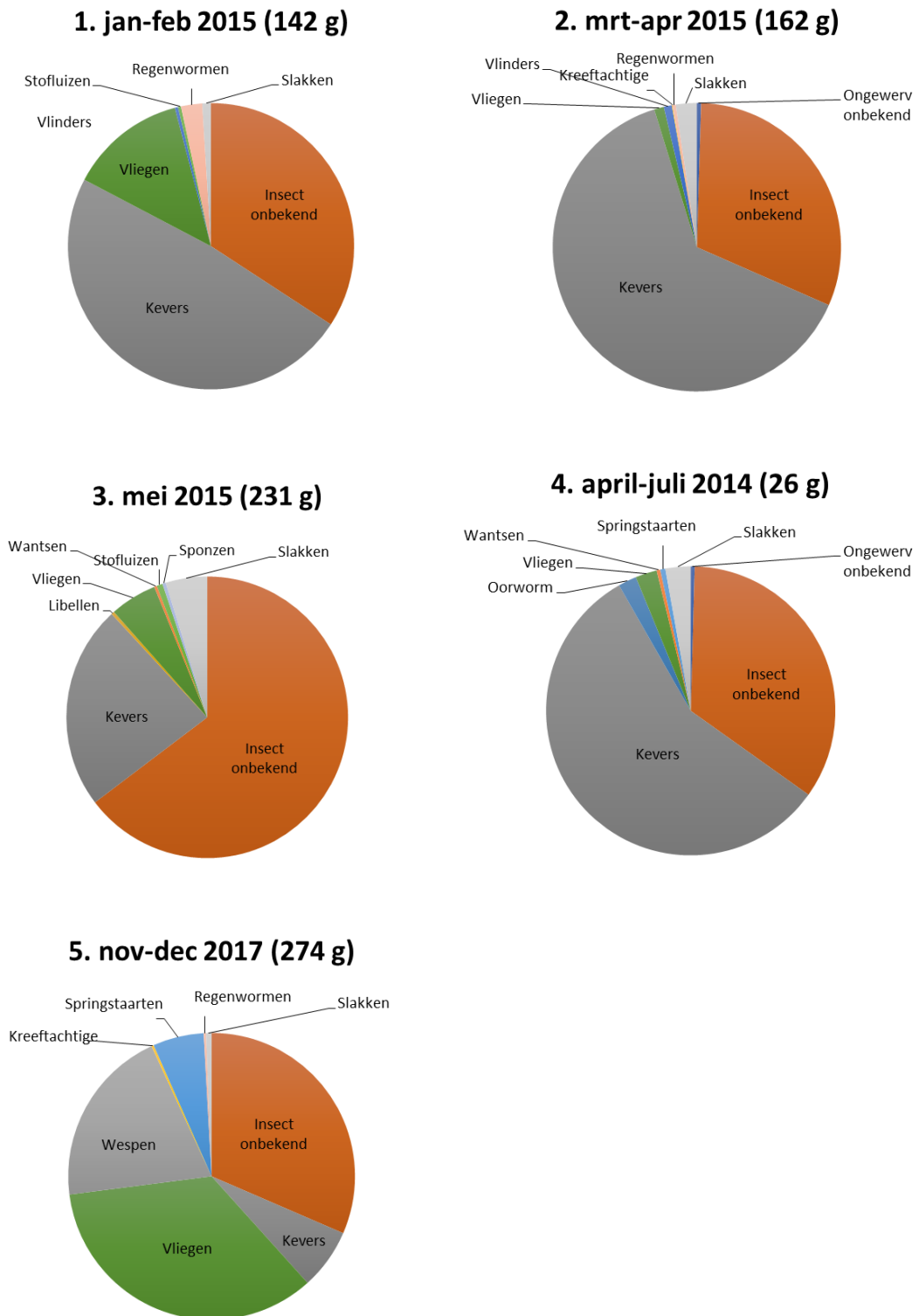
4.2.3 Resultaten gewervelden

In bijlage 3 staan de tabellen met de nauwkeurige gegevens per soortgroep. In figuur 12 zijn de resultaten van de gewervelden grafisch weergegeven. Als er ook reptielen werden aangetroffen, staat dat onder de titel van elke grafiek. Het vierde keutelmonster wijkt af van de overige, omdat het om slechts twee keutels (26 gram) gaat, terwijl het in de andere gevallen om tien of meer keutels gaat (142 tot 274 gram). Het vierde monster geeft dus een minder 'gemiddeld' beeld van het voedsel dan de overige monsters. Zoals eerder vermeld (par 4.2.1), dienen de resultaten als een indicatie van de onderlinge verhoudingen opgevat te worden en niet als een nauwkeurige weergave van de werkelijkheid.

We zien in de resultaten dat het DNA van Gewone pad en Bruine kikker verreweg het meest werd gevonden. Daarna komt de groep kleine zoogdieren. Vogels (Kip, Spreeuw, Eend) kwamen maar weinig in de keutels voor. Er is geen essentieel verschil tussen monster 5 (uit Gieten) en de overige vier monsters (uit het Leggelderveld). Als we deze resultaten uit keutels vergelijken met de voedselresten gevonden in de magen van dode dieren (zie tabel 2), dan zien we betrekkelijk grote verschillen: (kleine) zoogdieren werden het meest in de magen aangetroffen (in 63% van de magen), gevolgd door vogels (38%) en amfibieën (21%). Vissen werd in de keutels niet gevonden, maar zaten wel in 13% van de magen. Een verklaring voor de verschillen is er vooralsnog niet. Ook het beeld van het voedsel zoals dat uit de magen naar voren komt is geen goede afspiegeling van het gemiddelde voedsel, daarvoor is het aantal onderzochte magen (24) te gering.



Figuur 12. Percentage DNA-reads bij de gewervelden in de vijf keutelmonsters; resultaten op seizoensvolgorde. Zie ook tabel 6.



Figuur 13. Percentage DNA-reads bij de ongewervelden in de vijf keutelmonsters; resultaten op seizoensvolgorde. Zie ook tabel 6.

In figuur 13 staat de verdeling van de DNA-reads weergegeven van de ongewervelden. Sommige categorieën zijn duidelijk niet als voedsel genuttigd maar kwamen met grond of andere items mee: springstaarten, stofluizen(?). Een andere categorie, sponzen, is waarschijnlijk een fout. De kreeftachtigen zouden Amerikaanse rivierkreeften kunnen zijn, maar die zijn (nog) zeldzaam in Drenthe; alleen de gevlekte Amerikaanse rivierkreeft (*Orconectus limosus*) komt hier en daar voor (volgens waarneming.nl). De meeste DNA-aflezingen betreffen kevers en ongedetermineerde ongewervelden. Opvallend aanwezig in het vijfde monster is de categorie wespen, uit de herfst: mogelijk een of meer uitgegraven wespennesten. Regenwormen komen in een paar monsters voor, en uit het onderzoek van de magen was al duidelijk dat die regelmatig gegeten en dus blijkbaar gericht opgezocht worden. Ook kevers en larven van insecten (vliegen?) werden regelmatig in magen aangetroffen (tabel 2).

De analyseresultaten van de plantaardige elementen in de keutels zijn samengevat in tabel 6. In totaal werden 80 verschillende soorten of soortgroepen gevonden, die voor de tabel werden samengevat in 8 categorieën.

Tabel 6. Percentage DNA-reads van de plantaardige elementen in de vijf keutelmonsters (zie tabel 5). De 'boomvruchten' waren appel, peer, eikel, vlier, kornoelje en klimop. De 'veldvruchten' omvatten aardbei, braam en kraaiheide. In de categorie 'niet-eetbare planten' zijn alle kruiden, struiken, loof- en naaldbomen samengevoegd die geen duidelijk eetbare onderdelen (zoals vruchten) bevatten.

monster	1	2	3	4	5
boomvruchten	30,8	13,8	23,1	1,1	74,5
veldvruchten	0,2	0,2	0,6	0,3	0,5
haver	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0
grassen en biezen	22,1	5,3	21,3	9,5	13,2
niet-eetbare planten	41,2	79,8	54,2	82,4	11,4
mos	1,9	1,0	0,7	0,7	0,4
biet	3,8	0,0	0,0	0,0	0,0
banaan, paprika	0,0	0,0	0,1	5,7	0,0

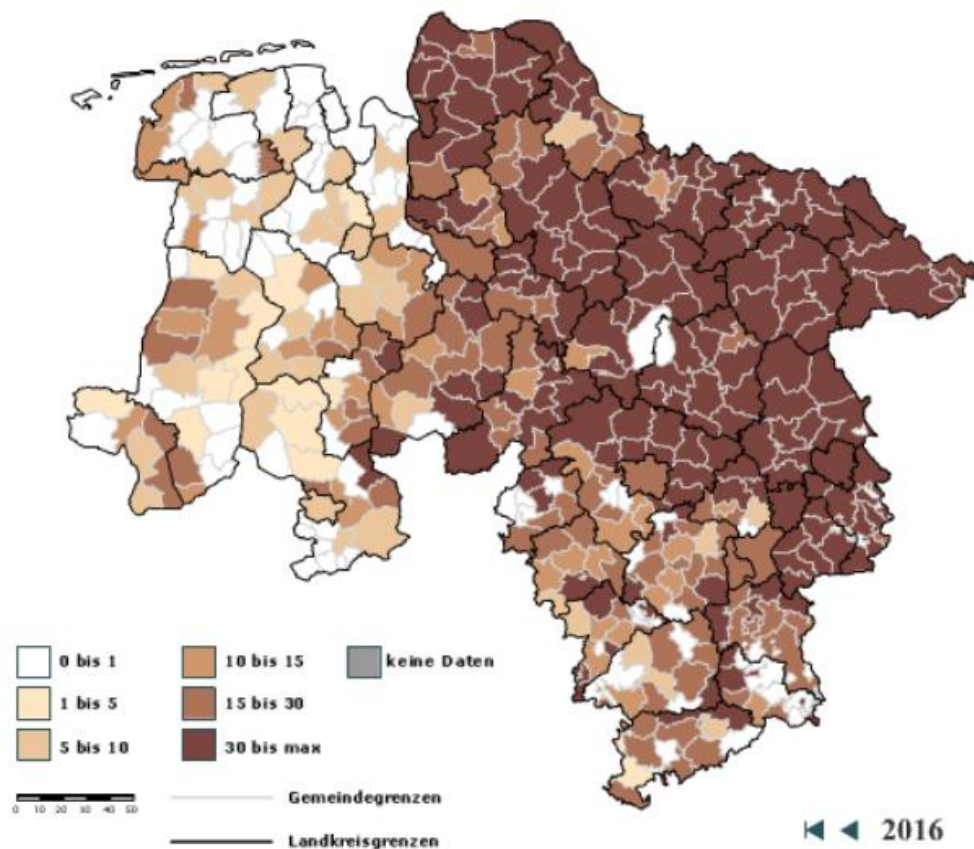
Veel plantaardige zaken moeten 'per ongeluk' in de keutels terecht gekomen zijn, bij het eten van 'echt' voedsel of zelfs pas na de productie van de keutels; denk aan gevallen blad, zaden en stuifmeel. Eigenlijk alleen de eerste drie categorieën in tabel 6 zouden met opzet, namelijk als voedsel, genuttigd kunnen zijn. Appels, peren en eikels staan daarbij voorop. Mogelijk valt biet daar ook onder. De banaan en paprika moeten verontreinigingen zijn, bijvoorbeeld door hergebruik van plastic (lunch)zakjes bij het verzamelen van de keutels (monster 4).

5 Discussie

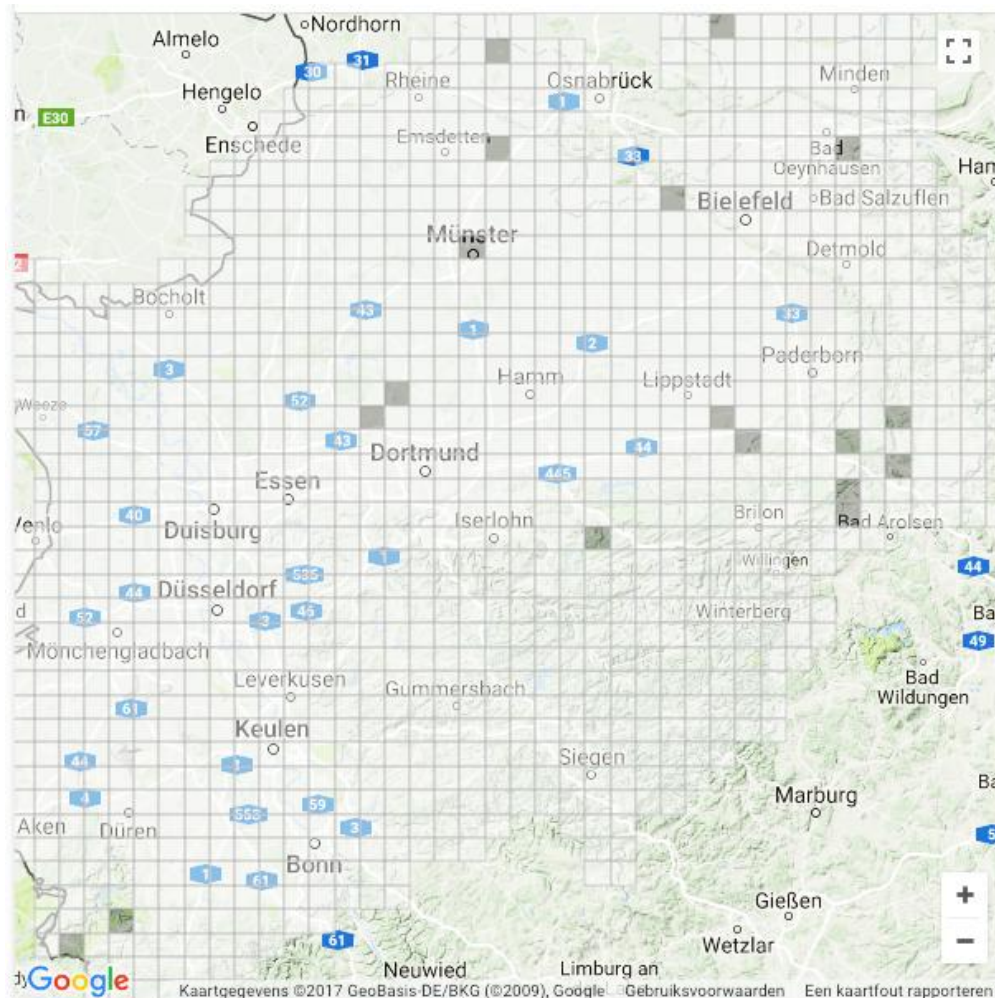
5.1 Verspreiding

Het beeld van de verspreiding van de Wasbeerhond anno 2017 in Nederland blijkt sinds december 2010 niet wezenlijk veranderd te zijn (par 2.3 vergeleken met Mulder 2011). De Wasbeerhond is nog grotendeels beperkt tot het noordoosten van ons land, plus enige verspreide waarnemingen op de Veluwe en Utrecht. Opvallend is dat de soort niet (meer) wordt waargenomen in het zuiden, in de provincies Limburg, Noord-Brabant en Zeeland. Waarschijnlijk waren de oudere waarnemingen van Wasbeerhonden in deze provincies alle afkomstig van uit gevangenschap ontsnapte of losgelaten dieren.

De verspreiding in Nederland sluit goed aan bij die in Niedersachsen (figuur 14) en Nordrhein-Westfalen (figuur 15). Met name in dat laatste Bundesland, dat ter hoogte van Twente tot en met Limburg ligt, werden sinds 2010 nog maar enkele verspreide waarnemingen gemeld, in totaal in 18 uurhokken. De twee meest zuidwestelijke waarnemingen, ter hoogte van Sittard, werden gedaan in de buurt van een dierenpark (Wildpark Gangelt bij Sittard) van waaruit af en toe Wasbeerhonden ontsnappen (zie ook de waarnemingen aldaar in figuur 2A).



Figuur 14. Verspreiding van de Wasbeerhond in Niedersachsen in 2016. Per gemeente is aangegeven in welk percentage van de 'jachtrevieren' de Wasbeerhond is waargenomen. Bron: <https://www.wildtiermanagement.com/wildtiere/haarwild/marderhund/verbreitung/>



Figuur 15. Uurhokken (5x5 km) met waarnemingen van Wasbeerhonden in Nordrhein-Westfalen sinds 2010. Bron: Vierhaus 2017.

Dat het verspreidingsgebied zich in een periode van zeven jaar niet heeft uitgebreid, is opvallend. Van massaal 'oprukken' van deze soort lijkt tot nu toe dus nog geen sprake. Ook de trend in aantal waarnemingen in het noordoosten van het land (fig 1A en 1B) wijst er niet op, dat de Wasbeerhond daar sterk in aantal aan het toenemen is. Weliswaar is er de laatste twee jaar een wat groter aantal waarnemingen dan daarvoor, maar daarbij spelen waarnemerseffecten, zoals het toenemende gebruik van cameravallen, een duidelijke rol. De voorspelling was dat rond 2025 een snelle toename in aantal Wasbeerhonden te verwachten was, gezien de eerdere ontwikkelingen in andere Europese landen (Mulder, 2011). Dat zou nog steeds kunnen gebeuren, maar mogelijk voorlopig alleen in het noordoosten van het land.

5.2 Voortplanting

Na de eerste vondst van jonge Wasbeerhonden waren de verwachtingen hooggespannen. Het bleef echter rustig aan dit front, met tot nu toe slechts drie zekere worpen, alle drie in Drenthe. Deze jongen werden geboren in de jaren 2012, 2013 en 2015. Mogelijk zijn er in 2016 nog één of twee worpen geweest in Noord-Friesland en/of Noord-Groningen, omdat daar al relatief vroeg in het jaar halfwas jonge Wasbeerhonden werden waargenomen die mogelijk niet van ver (uit Duitsland) waren komen aanlopen. Aangezien er nog steeds Wasbeerhonden op de Veluwe worden waargenomen, is het zeer waarschijnlijk dat daar, tenminste af en toe, voortplanting plaatsvindt.

Hoewel de Wasbeerhond bekend staat om zijn grote worpen, met gemiddeld 8 tot 9 jongen, was het aantal waargenomen jongen in de Nederlandse worpen niet zo hoog; al kunnen er jongen gemist zijn. Er werden in de drie bovengenoemde jaren respectievelijk 5, 4 (2 levende en 2 dode) en 5 jongen gezien.

5.3 Zoeken naar Wasbeerhonden

Al onze (en andermans) inspanningen om Wasbeerhonden te vinden in noordoost Nederland hebben weinig opgeleverd. Het activeren en instrueren van vele dassenliefhebbers leidde niet tot waarnemingen van Wasbeerhonden of hun sporen. Het zoeken met cameravallen werd groot aangepakt, met in totaal 4716 cameraval-dagen bij 68 voerplekken en 5 dwangwissels. Alleen in de Onlanden (ten westen van de stad Groningen, 2016) en in de Weerribben (Noordwest- Overijssel, 2017) werd een levend exemplaar gevonden. Vangpogingen mislukten echter. Driemaal werden vangmiddelen opgesteld bij een voerplek waar een Wasbeerhond was verschenen, en driemaal kwam de Wasbeerhond daarna niet meer op camera. Op één plek werden nog wel verse sporen dichtbij gevonden. Het is goed mogelijk dat de veranderingen bij de voerplek de Wasbeerhonden hebben afgeschrikt. Zolang Wasbeerhonden nog zeldzaam zijn, zou wellicht een andere tactiek gevolgd moeten worden om ze te vangen: alle voerplekken van begin af aan voorzien van vangmiddelen. Dat beperkt echter het aantal voerplekken dat tegelijk onderhouden kan worden.

Met name in de winter zijn Wasbeerhonden vrij gemakkelijk met aas te lokken, het gebrek aan resultaat moet dan ook wel duiden op de zeldzaamheid van de Wasbeerhond in de onderzoeksjaren.

5.4 Voedsel

Het nog beperkte aantal onderzochte magen (n=24) leverde geen verrassingen op. Er zat het te verwachten gevarieerde voedsel in: muizen, vogels, amfibieën, insecten, regenwormen, vis, maïs en vruchten. De DNA-analyse van de verzamelde keutels gaf ook een beperkt plaatje van het voedsel, omdat het merendeel van de keutels van één locatie afkomstig was. Verrassend was dat kikkers en padden in de keutels veel meer werden aangetroffen (ten opzichte van kleine zoogdieren) dan in de magen, al mogen we de resultaten (in de vorm van percentages DNA-reads) niet echt kwantitatief interpreteren. Voor zover we nu iets weten over het voedsel van de Wasbeerhond in Nederland, stemt dat goed overeen met de resultaten van voedselanalyses elders; zie daarvoor Mulder (2011). De Wasbeerhond is een scharrelaar en opportunistische foerageerder, en geen 'jager'.

6 Conclusies

De bevindingen uit dit onderzoek wijzen erop dat de Wasbeerhond in Nederland nog een zeldzame verschijning is, die niet sterk is toegenomen in de afgelopen jaren. Zo is het verspreidingsgebied van de Wasbeerhond in de afgelopen zeven jaar niet verder uitgebreid. Het aantal waarnemingen lijkt ook niet significant toegenomen, en de toename die er is in de waarnemingen kan voor het grootste deel verklaard worden door waarnemerseffecten zoals toegenomen gebruik van cameravallen.

Verder is er sinds de eerste waarneming van de Wasbeerhond in Nederland slechts een klein aantal worpen bekend (in ieder geval 3 zekere worpen, en wellicht 1 à 2 onzekere worpen).

Tot slot zijn er ondanks de grote zoekinspanning (zowel in manuren als in camera-uren) weinig Wasbeerhonden waargenomen in de onderzoeksperiode en is het niet gelukt om ze te vangen. Omdat uit ervaringen in andere landen bekend is dat Wasbeerhonden normaal gesproken vrij gemakkelijk te lokken zijn met aas, duidt ook dit er op dat de Wasbeerhond in Nederland momenteel een nog lage populatiedichtheid heeft en nog een zeldzame verschijning is.

Impact

Zolang de Wasbeerhond zeldzaam is, is zijn impact als exoot op de natuur uiteraard verwaarloosbaar. Mulder (2011) stelt dat het onvermijdelijk lijkt dat de Wasbeerhond Nederland gaat koloniseren, maar dat zijn impact op biodiversiteit ook bij hoge dichtheden als beperkt kan worden ingeschat. Alleen voor kleine geïsoleerde populaties van grondbroedende vogels en amfibieën in moerasgebieden kan de Wasbeerhond mogelijk een bedreiging vormen. Wellicht kan de Wasbeerhond ook gaan concurreren met de bunzing, waarmee hij habitatvoorkeur en voedselkeuze deelt. Daarnaast kan de Wasbeerhond als vector dienen voor de overdracht van *Trichinella* en vossenlintworm, en daarmee een mogelijk gevaar voor de volksgezondheid vormen; dit wordt momenteel onderzocht door het RIVM, waarmee in dit onderzoek werd samengewerkt, onder andere door overdracht van te onderzoeken materiaal zoals keutels.

Zowel Mulder (2011) als Meijer en Klop (2014) hebben de impact van de Wasbeerhond beoordeeld met een ISEIA (Invasive Species Environmental Impact Assessment) score. De score van de Wasbeerhond kwam uit op 9, en valt daarmee net in de categorie 'middelmatisch risico'. De hoogte van de score wordt grotendeels bepaald door het dispersievermogen en het risico op kolonisatie van waardevolle habitats. De impact op inheemse soorten werd echter als gering ingeschat. De inschatting van deze parameter (dispersievermogen) bepaalt in feite of het risico van de Wasbeerhond als laag of middelmatisch moet worden geclassificeerd.

Hoewel de huidige ecologische impact van de Wasbeerhond in het algemeen beperkt lijkt, is er nog veel onbekend over de mogelijke impact op inheemse soorten. De dispersiecapaciteit van de Wasbeerhond is groot en onder gunstige omstandigheden heeft de Wasbeerhond ook een groot reproductievermogen (Kauhala 1996b). Ook voor de overdracht van ziekten en parasieten kan de Wasbeerhond als vector dienen. Om die redenen is besloten om de Wasbeerhond per augustus 2017 toe te voegen aan de exotenlijst van de Europese Unie. De verordening houdt in dat nieuwe exoten die nog niet eerder in Nederland aanwezig zijn, opgespoord en verwijderd moeten worden, of als dat niet lukt, zodanig te beheren dat verspreiding en schade zoveel mogelijk wordt voorkomen. Als een soort eenmaal binnen is, volstaat mogelijk ook een strategie op de beheersing van risico's. Voor de Wasbeerhond is er gezien de beperkte ecologische risico's (deze studie en Meijer en Klop 2014) zijn er op

vooralsnog geen zwaarwegende redenen om over te gaan op actieve opsporing en verwijdering van de populatie.

In veel landen in Midden- en Noord-Europa is ervaring met het beheer van de Wasbeerhond. De jacht op de Wasbeerhond is daar jaarrond of alleen in bepaalde perioden toegestaan. Hoewel er jaarlijks hoge aantallen Wasbeerhonden geschoten worden, is het nergens gelukt om de aantallen Wasbeerhonden naar beneden te krijgen door afschot alleen (Stier 2006, Kauhala 2004). Hiervoor is een integrale aanpak nodig, waarbij veel inspanning moet worden gepleegd.

In een LIFE-project dat door jagersorganisaties werd uitgevoerd in Denemarken, Finland, Noorwegen en Zweden van 2010-2013, is getracht zo'n integrale aanpak op te zetten, om zo de populatie Wasbeerhonden te laten afnemen. Hierbij is geëxperimenteerd met verschillende technieken zoals jacht met geweer en hond, vallen, de inzet van zgn. judasdieren die gesteriliseerd worden en een GPS- of VHF-halsband om krijgen en zo jagers naar hun soortgenoten leiden, een publiek meldsysteem en een communicatietraject over de resultaten en bewustwording (Dahle et al. 2013; zie voor een uitgebreide behandeling van het LIFE-project ook Meijer en Klop 2014).

Uit modelberekeningen kwam naar voren dat met een dergelijke inspanning de populatie ongeveer vijf jaar constant blijft en daarna een sterke populatieafname zou moeten volgen. Zodra de inspanning stopt, begint de populatie weer exponentieel toe te nemen, volgens het model. Het project werd uitgevoerd in het grensgebied van Zweden en Finland, aan de noordelijke grens van de verspreiding van de Wasbeerhond, waar lage dichtheden te verwachten zijn. In Denemarken was het de bedoeling om met het project te verhinderen dat de Wasbeerhond vanuit Jutland de eilanden bereikte, en dat er in Jutland geen voortplanting meer zou zijn rond 2015 ((Miljøministeriet Skov- og Naturstyrelsen 2010).

Hoewel het pakket van maatregelen tijdrovend en kostbaar is, is na afronding van het LIFE-project ervoor gekozen om de aanpak in alle deelnemende landen te continueren omdat het op langere termijn mogelijk wel tot lage dichtheden leidt.

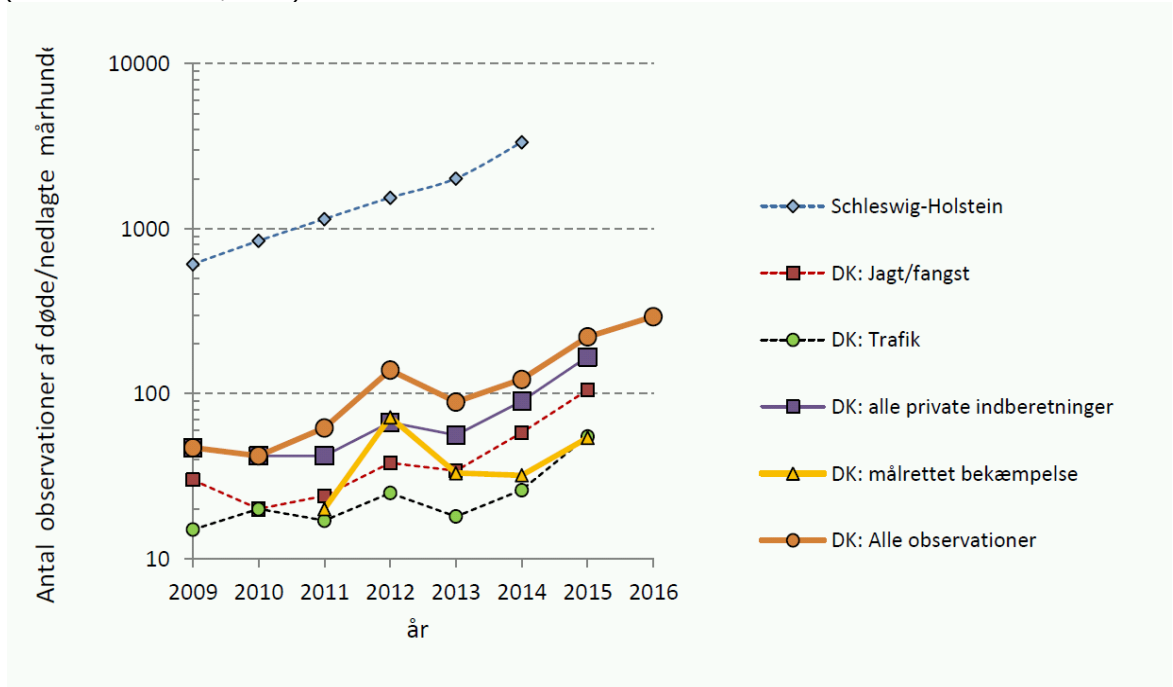
In het noorden van Finland is ook na het stopzetten van het LIFE-project jaarlijks gerapporteerd over de aantallen geschoten Wasbeerhonden (tabel 7). Er werd daar gebruik gemaakt van een gecombineerde aanpak met de inzet van heel veel vrijwilligers (jagers), vallen, een publiek meldsysteem, het gebruik van Judasdieren, informatieverstrekking en een traject om de wet- en regelgeving beter te laten aansluiten op het managementplan. Van 2011 tot 2014 was er sprake van een duidelijke afname in geschoten Wasbeerhonden. De aantallen zijn in 2016 echter wel weer iets toegenomen ten opzichte van 2015 en 2014, maar zijn nog altijd beduidend lager dan in de beginperiode (Alhainen 2017). Het lijkt er dus op dat de geïntegreerde methode succesvol is om de populatie Wasbeerhonden naar lagere dichtheden te krijgen. Of dat ook zo blijft zal in de komende jaren moeten blijken.

Tabel 7. Aantal geschoten Wasbeerhonden in een deel van Noord-Finland aan de grens met Zweden. Mäkimartti is de naam van de enige beroepsjager in het project.

Raccoon Dog Harvest, MIRDINEC After Life	2011	2012	2013	2014	2015	2016
<i>January</i>	0	0	0	3	2	4
<i>February</i>	6	4	0	10	4	8
<i>March</i>	27	40	10	9	2	10
<i>April</i>	2	22	23	4	9	12
<i>May</i>	1	9	14	3	4	12
<i>June</i>	8	15	0	3	7	8
<i>July</i>	4	7	15	1	17	11
<i>August</i>	17	8	9	5	10	12
<i>September</i>	22	27	17	14	16	13
<i>October</i>	24	33	28	27	19	8
<i>November</i>	5	26	30	15	7	4
<i>December</i>	6	2	3	3	3	2
Total pro- ject/Mäkimartti	122	193	149	97	100	104
Other harvest known by Mäkimartti (actual harvests higher, this is and indicative figure)	128	40	39	32	32	37
Traffic kills (known by Mäkimartti)	19	12	9	4	2	6
<u>Total killed Raccoon Dogs</u>	<u>269</u>	<u>245</u>	<u>197</u>	<u>133</u>	<u>134</u>	<u>147</u>

In Denemarken is in het kader van het LIFE project een actieplan geschreven voor de aanpak van de Wasbeerhond (Miljøministeriet Skov- og Naturstyrelsen 2010). Hierin staat dat de Deense overheid streeft naar een niet-reproducerende populatie in 2015. Ondanks alle inzet en de hoge kosten van het LIFE-project (€400.000 over vijf jaar, exclusief de manuren van natuurorganisaties en vrijwillige jagers) heeft dit niet geleid tot een populatie die zich niet verder uitbreidt. De Wasbeerhond-populatie in Denemarken heeft zich vanuit Jutland verspreid en neemt nog steeds toe (Sunde & Elmeros 2016, figuur 16). Dit komt deels door de uitbreiding van de bestaande populatie ontstaan uit ontsnapte voorouders en deels door de aanloop van

Wasbeerhonden uit Duitsland (Nørdgaard et al 2017). Inmiddels komt de Wasbeerhond ook voor in het noordelijke deel van Jutland ten noorden van de Limfjord en op het eiland Fyn (Sunde & Elmeros, 2016).



Figuur 16. Aantal waarnemingen van dode en leverde Wasbeerhonden in Denemarken (en Sleeswijk-Holstein, D) tussen 2009-2016. De oranje lijn geeft het totaal aantal waarnemingen weer (aanrijdingen in het verkeer, jacht, meldingen uit privé rapportages, en gerichte bestrijding samen). Let op de logaritmische schaal: de populatie ontwikkelt zich exponentieel (Sunde en Elmeros, 2016).

Het is de vraag of een dergelijke geïntegreerde aanpak voor Nederland 'technisch' mogelijk is, en voldoende draagvlak heeft. Afgezien van de als gering ingeschatte ecologische impact van de Wasbeerhond en dus de afweging of bestrijding noodzakelijk wordt bevonden, is zo'n aanpak zeer kostbaar. Het bovengenoemde Life-project kostte € 5.318.278 voor drie jaar (MIRDINEC-report]. Het Deense deel daarvan bedroeg ongeveer € 400.000. De bestrijding moet continu worden voortgezet om effect te blijven hebben. Al in een vroeg stadium werd gewaarschuwd dat daarvoor in Nederland een kostbare organisatie als de muskusrattenbestrijding nodig zou zijn (Broekhuizen 2007). Alternatief is om intensieve bestrijding van Wasbeerhonden (indien dat nodig wordt geacht) te beperken tot relatief kleine oppervlakten kwetsbaar habitat (zie ook Mulder 2011).

7 Literatuur

- Alhainen, M. (2017). Report of Raccoon dog management in Finland for 2016 - Project report MIRDINEC AFTER LIFE + Finland. 14p.
- Broekhuizen, S. 2007. Wordt de Wasbeerhond een nieuwe muskusrat? Zoogdier 18(2): 15-17
- Dahl, F., P.A. Åhlén, J. Swarström, M. Lindström & M.L. Simmelsgaard Platz (2013). Management of the invasive Raccoon Dog (*Nyctereutes procyonoides*) in the north-European countries. LIFE 09 NAT/SE/000344.
- Drygala, F., Stier, N., Zoller, H., Boegelsack, K., Mix, H.M. en Roth, M. (2008). Habitat use of the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) in north-east Germany. Mammalian Biology 371-378.
- Genovesi P, Bacher S, Kobelt M, Pascal M, Scalera R. (2009) Alien Mammals of Europe In: Drake JA, editors. Handbook of Alien Species in Europe. Springer; Netherlands; pp. 119–128
- Kauhala, K. (1996a). Habitat use of Raccoon dogs, *Nyctereutes procyonoides*, in southern Finland. Zeitschrift für Säugetierkunde 6, 269-275. [wordt niet (meer) naar gerefereerd]
- Kauhala, K. (1996b). Reproduction strategies of the raccoon dog and the red fox in Finland. Acta Theriologica 41: 51-58.
- Kauhala, K. en Saeki, M. (2004). Raccoon dog *Nyctereutes procyonoides* (Gray, 1834). in: Sillero-zubiri, c. Hoffmann, M. en Macdonald, D.W. (eds), Canids; foxes, wolves, jackals and dogs. status survey and conservation action plan: p136-142. IUCN/SCC Canid specialist Group, Gland Switzerland and Cambridge, UK.
- Miljøministeriet Skov- og Naturstyrelsen (2010) Indsatsplan mod mårhund, Skov- og Naturstyrelsen, 2010
- Meijer, K. en Klop, E. (2014). Risicoanalyse van de Wasbeerhond in Nederland, Altenburg en Wymenga, A&W rapport 1984
- Mulder, J.L. (2011). The raccoon dog in the Netherlands – a risk assessment. Bureau Mulder-natuurlijk
- Nørdgaard, L.S., Mikkelsen, D.M.G., Elmeros, M., Criél, M., Madsen, A.B., Nielsen, J.I., Pertoldi, C., Randi E., Fickel, J. Brygida, S. en Ruiz-González, A. (2017) Population genomics of the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) in Denmark: insights into invasion history and population development. Biol. Invasions
- Nowak, E., (1993). *Nyctereutes procyonoides* Gray, 1834, In: handbuch der Säugetiere Europas, band 5: Raubsäuger. Stubbe M. en F. Krapp, eds. Aula Verlag, Wiesbaden: 215-248.
- NVWA (2017). Gevonden op 3-10-2017 op: <https://www.nvwa.nl/onderwerpen/invasieve-exoten/unielijst-invasieve-exoten>
- Stier, N. (2006). Rivalen von Fuchs und Dachs? Marderhund: Ökologische Auswirkungen der Besiedlung. Neubürger auf dem Vormarsch. Sonderheft von Unsere Jagd, Pirsch & Niedersächsischer Jäger. 24-29. Berlin, Deutscher Landwirtschaftsverlag GmbH.
- Vierhaus, H (2017): Marderhund (*Nyctereutes procyonoides*). In: AG Säugetierkunde NRW — Online-Atlas der Säugetiere Nordrhein-Westfalens. Gedownload van saeugeratlas-nrw.lwl.org op 03 november 2017.

Bijlage 1 Waarnemingen Wasbeerhonden

Zekere waarnemingen van Wasbeerhonden in diverse provincies en regio's tot en met 2017

	Groningen	Friesland	Drenthe	Overijssel	Gld - Achterhoek	Flevoland-oost	NO-NL samen daarvan met fotoval	Flevoland overig	Gld - Veluwe	Gld - Betuwe/Nijmegen	Utrecht	N-Brabant	Limburg	Zeeland	Nederland totaal
1990							0								0
1991	1						1								1
1992			2				2								2
1993							0								0
1994							0								0
1995							0								0
1996							0								0
1997							0								0
1998							0								0
1999							0								0
2000							0								0
2001			1	2			3						1		4
2002							0								0
2003		3					3								3
2004	1	1	1	2	1	1	7								7
2005		1	2	2			5						1		6
2006	3	5	1	2			11		1	1					13
2007	2	2				1	5								5
2008	2	1					3								3
2009		3	1				4								4
2010		1	1				2			1					3
2011		1	2	2			5	1	1					2	8
2012	1		3				4		1		1				6
2013	1		4	1			6	1	1						7
2014	2	2	6	3			13	4	1						15
2015	2	3	5				10	5	1						11
2016	3	4	9	5		1	24	6	1		1				26
2017	3	2	1	4		1	11	2			1				12

Waarschijnlijke waarnemingen van Wasbeerhonden in diverse provincies en regio's tot en met 2017.

	Groningen	Friesland	Drenthe	Overijssel	Gld - Achterhoek	Flevoland-oost	NO-NL samen	Flevoland overig	Gld - Veluwe	Gld - Betuwe/Nijmegen	Utrecht	N-Brabant	Limburg	Zeeland	Nederland totaal
1990							0								0
1991							0								0
1992							0								0
1993							0								0
1994							0								0
1995							0								0
1996							0								0
1997							0								0
1998							0								0
1999							0								0
2000							0								0
2001		1					1								1
2002		2					2								2
2003							0		1						1
2004							0		2				1		3
2005			1				1		1						2
2006	2	2			1		5								5
2007		5					5								5
2008			1	1			2								2
2009		2		2	1		5								5
2010							0						1		1
2011	1	2			1		4		1			1			6
2012			2				2		1				1		4
2013		1					1								1
2014	1	1					2								2
2015	1	1		1			3			1					4
2016				2		1	3								3
2017		1	1	2			4	1	1						6

Bijlage 2 Methode DNA-analyse keutels

Tekst overgenomen (en hier en daar aangepast) uit: Bochove K. van, 2018. DNA voedselkeuze onderzoek bij Wasbeerhonden. Rapport RA2018011, Datura, Huissen.

1. Laboratorium analyse

De keutels van mogelijke Wasbeerhonden zijn geanalyseerd op de aanwezigheid van DNA van planten, gewervelden en ongewervelden in drie van elkaar onafhankelijke procedures. Het analyseren van dergelijk DNA monster vindt plaats in een aantal stappen. Eerst wordt het DNA uit een monster geconcentreerd en gezuiverd. Vervolgens wordt DNA geamplificeerd (vermeerderd) met behulp van PCR. De PCR fragmenten zijn gezuiverd en een DNA library is voorbereid. De library is gesequenced met behulp van Next Generation Sequencing (HiSeq 4000).

1. Het DNA is geëxtraheerd door middel van een QIAamp DNA Stool Mini Kit extractie. Storende stoffen als humuszuren kunnen detectie van het eDNA inhiberen wat kan leiden tot vals negatief resultaat. Gedurende de extractie zijn deze inhiberende stoffen zo veel mogelijk verwijderd.
2. Het DNA van planten, vertebraten en ongewervelden is geamplificeerd middels PCR. Hiervoor zijn drie sets primers gebruikt die een kort fragment (~50-110 bp) van het DNA vermeerderen:
 - Planten: TRNL-gen;
 - Gewervelden: 12S-gen;
 - Ongewervelden: 16S-gen.

De primers bevatte een unieke tag (7 nucleotiden). Gedurende de bioinformatica analyse kunnen de reads aan de hand van deze tags toegewezen worden aan het juiste sample. De PCR is uitgevoerd met behulp van de TaqMan® Environmental Mastermix 2.0 (Life Technologies®). De PCR is uitgevoerd met vier replica's. De PCR producten zijn samengevoegd.

3. Door middel van gel-elektroforese is vastgesteld of de PCR geresulteerd heeft in PCR producten van de juiste lengte. Door middel van een tweede PCR zijn Illumina Nextera XT adaptors aan de PCR producten gezet. Vervolgens zijn de PCR producten samengevoegd. De pool van PCR producten van verschillende samples is gezuiverd. Deze pool van PCR producten vormen de zogenaamde DNA library.
4. Door middel van qPCR en een bioanalyser run is de DNA concentratie van DNA library vastgesteld. De DNA library is verdund, om optimale clustering op de flow cell van de sequencer te bewerkstelligen.
5. De PCR producten zijn gesequenced met behulp van Next Generation Sequencing (HiSeq 4000 platform, 150 bp paired-end). Hierbij worden miljoenen stukjes

(zogenaamde reads) van het DNA uitgelezen. In deze stap wordt het fysieke DNA in het buisje dus vertaald in digitale reads.

2. Data-analyse

Eerst wordt een standaard verwerking van Illumina paired-end data uitgevoerd. Deze omvat de volgende stappen:

1. FASTQ sequence files zijn gegenereerd met behulp van de Illumina Casava pipeline.
2. Een eerste kwaliteitscheck is uitgevoerd door middel van Illumina Chastity filtering.
3. Vervolgens zijn reads welke PhiX controle bevatte verwijderd.
4. (Restanten van) de sequencing adapters zijn uit de reads geknipt.
5. De kwaliteit van de overgebleven reads is getest met de FastQC tool.

Vervolgens worden de sequenties geanalyseerd met behulp van het software package ObiTools. Deze pipeline resulteert uiteindelijk in een tabel waarin voor elk sample aangegeven is hoeveel reads er van elke soort gedetecteerd zijn. Omdat er behoorlijke rekenkracht nodig is voor het verwerken van de sequencing data wordt een workstation gebruikt welke beschikt over 2 six core processoren met hyper-threading en 48 Gb Ram-geheugen. De volgende stappen zijn doorlopen:

1. **Illuminapairedend:** Genereren van een consensus sequentie op basis van de forward en reverse read.
2. **Obigrep:** sequenties die slecht aligned werden zijn verwijderd.
3. **NGSfilter:** Op basis van de gebruikte primers, en de tags die toegevoegd zijn in de eerste en tweede PCR zijn alle sequenties toegewezen aan het corresponderende sample.
4. **Obiuniq:** Om de dataset die nu nog bestaat uit miljoenen reads hanteerbaarder te maken zijn alle sequenties samengevoegd.
5. **Obiclean en Obigrep:** Sequenties die hoogst waarschijnlijk afkomstig zijn van PCR- en sequencingfouten.
6. **Obigrep:** Sequenties die korter zijn dan een marker afhankelijke minimumwaarde, of in de gehele dataset minder vaak dan 10 keer voorkomen zijn verwijderd.
7. **Obitag:** De obitag tool wordt gebruikt om de sequenties te matchen met de

referentie database. Deze database bevat alle sequenties van de betreffende marker die aanwezig zijn in de NCBI Genbank. Deze referentie database is opgebouwd met behulp van de ecoPCR-tool.

8. **Obigrep:** sequenties die voor minder dan 97% (16S), 98% (TRNL en 12S) overeenkomen met een sequentie van een soort in de referentie database worden verwijderd. Dit betreffen hoogst waarschijnlijk sequencing fouten.
9. **Obitab:** Tenslotte worden de resultaten geëxporteerd naar een .tab file. Deze file kan geopend worden in Excel.

Tenslotte zijn alle detecties, die een aandeel innamen van 0,15% of minder ten opzichte de totale hoeveelheid DNA in het monster, verwijderd uit de dataset. Dit betreffen waarschijnlijk detecties van achtergrond DNA.

Bijlage 3 Resultaten DNA-analyses

A. Gewervelden; weergegeven is het percentage 'DNA-reads' binnen de gewervelden, of aanwezigheid (++) of afwezigheid (--) in het geval van de reptielen.

seizoens-volgorde	1	2	3	4	5
locatie	Leggelderveld	Leggelderveld	Leggelderveld	Leggelderveld	Gieten
periode	jan-febr 2015	mrt-apr 2015	mei 2015	apr-juli 2014	nov-dec 2017
gram keutels	142	162	231	26	274
Gewone pad	49,7	40,9	16,3	5,8	4,0
Bruine kikker	49,0	51,0	80,2	57,9	92,6
Groene kikker	0,1	2,0	0,8	4,4	
Mol	0,2	0,3			
Bosspitsmuis	0,4	0,2	0,8	4,7	0,2
Woelrat		3,7	0,3	4,5	0,7
Veldmuis			0,1	22,3	1,6
Dwergmuis	0,7	0,6			0,9
Kip			1,3		
Spreeuw		1,3	0,1		
Eend			0,1	0,3	
Levendb hagedis	--	++	--	++	++
Adder of ringslang	--	++	--	++	--

B. Ongewervelden

seizoens-volgorde	1	2	3	4	5
locatie	Leggelderveld	Leggelderveld	Leggelderveld	Leggelderveld	Gieten
periode	jan-febr 2015	mrt-apr 2015	mei 2015	apr-juli 2014	nov-dec 2017
gram keutels	142	162	231	26	274
Ongewerv onbekend		0,48	0,00	0,44	0,00
Insect onbekend	34,21	31,11	64,67	34,42	31,50
Kevers	48,49	63,64	23,45	56,89	6,84
Libellen			0,35	0,00	0,00
Oorworm			0,00	2,06	0,00
Vliegen	13,23	1,10	5,39	2,40	34,63
Vlinders	0,37	0,90	0,00	0,00	0,00
Wantsen			0,31	0,40	0,00
Wespen			0,00	0,00	20,15
Kreeftachtige		0,09	0,00	0,00	0,26
Springstaarten			0,00	0,57	5,74
Stofluizen	0,34		0,68	0,00	0,00
Sponzen			0,38	0,00	0,00
Regenwormen	2,39	0,35	0,00	0,00	0,26
Slakken	0,98	2,35	4,77	2,82	0,62

A fluffy, grey and white dog, possibly a Pomeranian, is lying in green grass. The dog's head is turned to the right, and its pink tongue is sticking out. The background is slightly blurred, showing more grass and some green leaves.

Adres

Suderwei 2
9269 TZ Feanwâlden

Telefoon 0511 47 47 64
info@altwym.nl

www.altwym.nl