

Schatting van het aantal wilde zwijnen en hun populatiedynamiek in Noord-Brabant en Limburg met genetisch onderzoek

Hugh A.H. Jansman, G. Arjen de Groot, Dennis Lammertsma, Jan Bovenschen, Ivo Laros, Nina Villing & Marion Kluivers



WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

Schatting van het aantal wilde zwijnen en hun populatiedynamiek in Noord-Brabant en Limburg met genetisch onderzoek

Hugh A.H. Jansman, G. Arjen de Groot, Dennis Lammertsma, Jan Bovenschen, Ivo Laros, Nina Villing & Marion Kluivers

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen Environmental Research en gesubsidieerd door het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, in het kader van het Beleidsondersteunend onderzoekthema 'Veilige en duurzame primaire productie' (projectnummer BO-00.43-111-007).

Wageningen Environmental Research
Wageningen, augustus 2023

Gereviewd door:
Gilian van Duijvendijk, onderzoeker Wageningen Environmental Research

Akkoord voor publicatie:
Marion Kluivers, teamleider Dierecologie

Rapport 3282
ISSN 1566-7197

Jansman, Hugh A.H., G. Arjen de Groot, Dennis Lammertsma, Jan Bovenschen, Ivo Laros, Nina Villing & Marion Kluivers, 2023. *Schatting van het aantal wilde zwijnen en hun populatiedynamiek in Noord-Brabant en Limburg met genetisch onderzoek*. Wageningen, Wageningen Environmental Research, Rapport 3282. 36 blz.; 7 fig.; 4 tab.; 31 ref.

In dit pilotonderzoek werd onderzocht of genetisch onderzoek gebruikt kan worden voor nauwkeuriger schattingen van aantallen en populatiedynamiek van wilde zwijnen (in Noord-Brabant en Limburg) als modificatie op de traditionele 'capture-mark-recapture'-methode (vangst-merk-terugvangst). Daarvoor werden in twee gebieden keutelmonsters en weefselmonsters (van afschot en verkeersslachtoffers) verzameld. Van de keutelmonsters resulteerde 46% in een succesvol DNA-profiel, van de weefselmonsters bedroeg dit 98%. Dit resulteerde in 64 unieke DNA-profielen (individuen) op basis van keutelmonsters en 332 profielen op basis van weefselmonsters. In slechts zes gevallen werd een individu eerst via een keutel vastgesteld en vervolgens in een weefselmonster. Dit aantal terugvondsten was veel kleiner dan op voorhand verwacht en bleek te weinig om een betrouwbare schatting te kunnen geven van de aantallen en populatiedynamiek in de gebieden.

In this pilot study it was investigated whether genetic research can be used for more accurate estimates of numbers and population dynamics of wild boar (in North Brabant and Limburg) as a modification of the traditional capture-mark-recapture method. For this purpose, droppings samples and tissue samples (from shooting and road casualties) were collected in 2 areas. Of the dropping samples, 46% resulted in a successful DNA profile, of the tissue samples this was 98%. This resulted in 64 unique DNA profiles (individuals) based on faecal samples and 332 profiles based on tissue samples. In only six cases, an individual was identified first through a faecal sample and then in a tissue sample. This number of finds was much smaller than expected and turned out to be too few to provide a reliable estimate of the numbers and population dynamics in the areas.

Trefwoorden: non-invasieve genetische monitoring, *Sus scrofa*, immigratie, emigratie, populatiebeheer

Dit rapport is gratis te downloaden van <https://doi.org/10.18174/636557> of op www.wur.nl/environmental-research (ga naar 'Wageningen Environmental Research' in de grijze balk onderaan). Wageningen Environmental Research verstrekt *geen* gedrukte exemplaren van rapporten.

© 2023 Wageningen Environmental Research (instituut binnen de rechtspersoon Stichting Wageningen Research), Postbus 47, 6700 AA Wageningen, T 0317 48 07 00, www.wur.nl/environmental-research. Wageningen Environmental Research is onderdeel van Wageningen University & Research.

- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking van deze uitgave is toegestaan mits met duidelijke bronvermelding.
- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking is niet toegestaan voor commerciële doeleinden en/of geldelijk gewin.
- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking is niet toegestaan voor die gedeelten van deze uitgave waarvan duidelijk is dat de auteursrechten liggen bij derden en/of zijn voorbehouden.

Wageningen Environmental Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.



Wageningen Environmental Research werkt sinds 2003 met een ISO 9001 gecertificeerd kwaliteitsmanagementsysteem. In 2006 heeft Wageningen Environmental Research een milieuzorgsysteem geïmplementeerd, gecertificeerd volgens de norm ISO 14001.

Wageningen Environmental Research geeft via ISO 26000 invulling aan haar maatschappelijke verantwoordelijkheid.

Inhoud

Verantwoording	5
Woord vooraf	7
Samenvatting	9
1 Inleiding	11
1.1 Achtergrond	11
1.1.1 Verschillende telmethoden	11
1.1.2 Huidige methoden ontoereikend	12
1.1.3 Mogelijkheid van genetische methoden	13
1.2 Onderzoeksvragen	14
2 Onderzoeksmethodiek	15
2.1 Algemene onderzoeksopzet	15
2.2 Geselecteerde studiegebieden	15
2.3 Bemonstering	17
2.3.1 Bemonstering van keutels	17
2.3.2 Bemonstering van afschot en valwild	18
2.4 Bepaling van individuele genetische profielen	19
2.5 Data-analyse	20
3 Resultaten	21
3.1 Monsterverzameling	21
3.2 Definitieve genetische dataset	21
3.3 Mogelijkheid tot onderscheid van individuen	24
3.4 Schatting van populatieomvang en -dynamiek	24
3.4.1 Terugvangsten	24
3.4.2 Populatieomvang	25
3.4.3 Populatie-dynamiek (immigratie, emigratie en sterfte)	26
3.5 Verwantschap en herkomst	26
4 Discussie en aanbevelingen	29
4.1 Knelpunten in de data-verzameling	29
4.2 Knelpunten in het beantwoorden van de onderzoeksvragen	30
4.3 Haalbaarheid van genetische schatting van populatieomvang en -dynamiek	31
4.4 Aanbevelingen	32
Literatuur	33

Verantwoording

Rapport: 3282

Projectnummer: 5200046178

Wageningen Environmental Research (WENR) hecht grote waarde aan de kwaliteit van zijn eindproducten. Een review van de rapporten op wetenschappelijke kwaliteit door een referent maakt standaard onderdeel uit van ons kwaliteitsbeleid.

Akkoord referent die het rapport heeft beoordeeld,

functie: Onderzoeker

naam: Gilian van Duijvendijk

datum: 23 mei 2023

Akkoord teamleider voor de inhoud,

naam: Marion Kluivers

datum: 8 juni 2023

Woord vooraf

Voor u ligt het rapport 'Schatting van het aantal wilde zwijnen en hun populatiedynamiek in Noord-Brabant en Limburg met genetisch onderzoek'. Voor dit onderzoek zijn wij vele personen en organisaties erkentelijk. Als eerste de opdrachtgevers: de provincies Limburg en Noord-Brabant en het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit (LNV) voor de prettige en constructieve overleggen rondom dit project. Daarnaast de faunabeheereenheden (FBE's) Limburg en Noord-Brabant, in het bijzonder de secretarissen en de zwartwildcoördinatoren in die provincies. Ook de wildbeheereenheden (WBE's) van Heidse Peel en Venray (provincie Limburg) en Peelrand en Oploo-Wanroij (provincie Noord-Brabant) waren belangrijk voor de uitvoer van dit project: door omstandigheden moest gedurende de uitvoering van dit onderzoek worden teruggevallen op de WBE's om de weefselmonsters van wilde zwijnen in en rond de studiegebieden te verzamelen. Ten slotte de terreinbeheerders: Natuurmonumenten Stippelberg, Staatsbosbeheer Heidse Peel en gemeente Venray voor de toestemming voor het onderzoek op hun terreinen. Met name Natuurmonumenten heeft daarnaast ook een belangrijke bijdrage geleverd aan de verzameling van monsters op hun terrein. Zonder de bijdrage van al deze betrokkenen was dit onderzoek niet mogelijk geweest.

Samenvatting

Het wild zwijn (*Sus scrofa*) is een inheems hoefdier in Nederland. Er zijn voor de soort drie leefgebieden aangewezen: Veluwe, Meinweg en Meerlebroek. In die leefgebieden wordt de stand middels beheer op een doelstand gehouden. De afgelopen jaren zijn de aantallen en de verspreiding van wilde zwijnen echter in met name Noord-Brabant en Limburg uitgebreid naar buiten de aangewezen leefgebieden, deels als gevolg van natuurlijke kolonisatie, maar deels ook door uitzet. Wilde zwijnen hebben een duidelijk effect in de natuur, zoals het creëren van kiembedjes en zaadverspreiding, maar geven ook potentiële risico's voor de verkeersveiligheid en landbouwschade door vraat- en wroetgedrag. Daarnaast kunnen wilde zwijnen een risico vormen voor de varkenshouderij doordat ze een rol kunnen spelen bij de transmissie van dierziekten als Afrikaanse varkenspest.

Voor het adequaat beheren van wilde zwijnen en het (modelmatig) inschatten van transmissierisico's van dierziekten, is het essentieel om inzicht te hebben in de aantallen dieren per gebied, de fluctuaties daarin binnen en tussen jaren (populatiedynamiek) en de rol van migratie en dispersie bij deze fluctuaties (mate en bronnen van influx). Tevens is het van belang voor het beheer en het inschatten van transmissierisico's om het terreingebruik en het effect van beheermaatregelen (o.a. jachtmethoden) op het terreingebruik in beeld te hebben. In Noord-Brabant en Limburg zijn echter slechts beperkte (tel)gegevens beschikbaar en ontbreekt een nauwkeurig inzicht in deze factoren. Vandaar dat een verkenning van de mogelijkheden van een vangst-merk-terugvangst-methode (ook wel Capture-Mark-Recapture, CMR) gebaseerd op genetische methodieken is voorgesteld om vast te stellen of deze methode aanvullende informatie kan geven.

De onderzoeksvraag was of met behulp van DNA-analyse van keutel- en weefselmonsters beter inzicht verkregen kan worden in:

1. het exacte aantal zwijnen in een deelgebied;
2. de ontwikkeling van de populatiegrootte per deelgebied in de tijd;
3. de omvang van de belangrijkste factoren die de populatiedynamiek bepalen: geboorte, sterfte, immigratie en emigratie;
4. de brongebieden van eventuele immigratie.

Hiervoor zijn twee studiegebieden geselecteerd: een klein geïsoleerd natuurgebied in Limburg, de Heidse Peel, en een studiegebied in Noord-Brabant, dat onderdeel uitmaakt van een groter natuurgebied, de Stippelberg. In beide gebieden zijn in het voorjaar van 2020 en 2021 keutels van zwijnen gezocht en bemonsterd om op basis van hun unieke DNA-profiel vast te stellen welke individuele zwijnen in de natuurgebieden aanwezig zijn (te 'merken'). Daarnaast werden gedurende de rest van het jaar ook weefselmonsters verzameld van alle geschoten, aangereden of dood gevonden zwijnen. Deze bemonstering werd tot in een ruime straal van circa 5-10 km rondom de studiegebieden gedaan, gekoppeld aan het werkgebied van de omliggende wildbeheereenheden (WBE's). Aangezien de voorjaarsstand in de studiegebieden werd geschat op maximaal enkele tientallen individuen, was de verwachting dat van een groot deel van de individuen gedurende meerdere tijdsintervallen een keutel zou worden aangetroffen. Daarnaast was de verwachting dat een groot deel van de middels keutels geïdentificeerde dieren later ook zou worden teruggevonden in een weefselmonster, aangezien naar verwachting jaarlijks ten minste 70% geschoten wordt. Uit de verhouding tussen zulke terugvondsten en enkele vondsten, zou dan (o.a. via populatiemodellen) geschat kunnen worden hoeveel zwijnen er in een gebied aanwezig zijn (tijdstip 0, of T0), of die er een jaar later nog zijn, of dat ze zijn geschoten (Tijdstip 1, of T1). Daarnaast zou op basis van de DNA-profielen in het tweede jaar een indruk verkregen kunnen worden in hoeverre individuen de winter hebben overleefd of dat het nakomelingen of immigranten zijn. Op die manier zou deze methodiek nauwkeurige informatie geven over aantallen en over de dynamiek in de populatie.

Al snel werd duidelijk dat er in studiegebied Heidse Peel geen keutels van zwijnen vindbaar waren en het daarom niet zinvol was om dit studiegebied verder mee te nemen. In Stippelberg werden 85 en 106 keutels gevonden en geanalyseerd in T0 resp. T1. In 88 keutels (46%) kon een DNA-profiel worden vastgesteld. Dit

is betrekkelijk laag, mogelijk onder andere als gevolg van het warme en zonnige weer dat voor een verslechterde kwaliteit van het monster zorgt. De meeste profielen bleken van unieke (verschillende) dieren, namelijk 64 stuks. 12 profielen bleken van herhaald vastgestelde individuen.

In en rond Stippelberg werden 117 en 215 weefselmonsters verzameld in T0 resp. T1. Vrijwel alle waren van uit beheer geschoten zwijnen. Alle monsters resulteerden in een DNA-profiel, waarbij slechts zes dieren werden teruggevonden die eerder in een keutelmanster waren geïdentificeerd. Dit was veel lager dan verwacht, gezien het feit dat 70% of meer van de zwijnenpopulatie jaarlijks geschoten wordt. Uitgaande van dit percentage was de verwachting dat van de 64 individuen die via keutels werden vastgesteld, circa 45 via afschot teruggevonden zouden worden.

Er zijn verschillende verklaringen mogelijk die een bijdrage kunnen hebben gehad in deze zeer beperkte 'terugvangst': 1) onvoldoende monsters gevonden/verzameld, 2) een grotere populatie dan verwacht, 3) een grotere mobiliteit dan verwacht, 4) influx van nieuwe dieren en 5) ongeregistreerde afschot van dieren.

Er zijn in het onderzoek veel minder keutelmansters binnengekomen dan op voorhand beoogd. Een van de oorzaken was de lockdown i.v.m. corona, waardoor er een periode zonder monsterverzameling was. Een andere was de aanwezigheid van warm weer waardoor keutels snel indroogden en daarmee (in het veld) als te oud en ongeschikt werden beoordeeld om te onderzoeken. Al met al werd 38% van de gewenste te verzamelen 500 keutels bemonsterd.

Ondanks grote inzet van de WBE's en FBE bleek het in beide studiejaren niet haalbaar om van alle geschoten dieren een monster aan te leveren (67% in T0, 84% in T1).

Het is dan ook aannemelijk dat de suboptimale dataset (te weinig keutel- en weefselmonsters) heeft meegespeeld in het niet kunnen beantwoorden van de onderzoeksvragen. Geen van de bovengenoemde mogelijke factoren lijkt op zichzelf een sluitende verklaring te bieden voor de tegenvallende resultaten, er zal sprake zijn geweest van een combinatie van factoren. Het niet realiseren van voldoende onderzoeksmonsters maakt dat niet aan de randvoorwaarden van een CMR-studie is voldaan.

Uit dit onderzoek kan geconcludeerd worden dat toepassing van een genetische CRM-methode technisch mogelijk is, maar dat voor een betrouwbaar beeld van aantallen en populatiedynamiek van wilde zwijnen een intensieve bemonstering essentieel is. Daarnaast spelen factoren als o.a. dichtheid en migratie een belangrijke rol. Voor gebruik van keutelmansters spelen de weersomstandigheden daarbij een rol: te warm weer zorgt voor een te snelle uitdroging en degradatie van het materiaal. Om gedetailleerd inzicht te krijgen in het activiteitenpatroon, de actieradius en het terreingebruik van wilde zwijnen ten behoeve van het opstellen en uitvoeren van beheersscenario's in geval van een uitbraak van een relevante dierziekte, is het aan te bevelen op dit moment met een conventionele vangst-merk-terugvangst-methode te werken en eventueel aanvullend een zenderstudie uit te voeren. Tevens bevelen we aan om ook in de niet-leefgebieden een betrouwbare voorjaarsstelling te organiseren om zodoende meer zicht op de trend in aantalsontwikkeling te krijgen.

1 Inleiding

1.1 Achtergrond

Het wild zwijn (*Sus scrofa*) is een inheems hoefdier in Nederland. Er zijn voor de soort drie leefgebieden aangewezen: Veluwe, Meinweg en Meerlebroek (ten noorden van Swalmen), waar het dier voor mag komen. In die leefgebieden wordt de stand middels beheer op een doelstand gehouden. De afgelopen jaren zijn echter de aantallen en de verspreiding van wilde zwijnen in met name Noord-Brabant en Limburg ook buiten de aangewezen leefgebieden toegenomen, deels als gevolg van natuurlijke kolonisatie, deels door uitzet door mensen (Jansman et al., 2013; De Groot et al., 2014; De Groot et al., 2016). Wilde zwijnen hebben een duidelijk effect in de natuur, zoals het creëren van kiembedjes en het zorgen voor zaadverspreiding, maar geven ook potentiële risico's voor de verkeersveiligheid en landbouwschade door vraat- en wroetgedrag. Daarnaast kunnen wilde zwijnen een risico vormen voor de varkenshouderij, doordat ze een rol kunnen spelen bij de transmissie van dierziekten. Een recente dreiging vormt het oprukken van Afrikaanse varkenspest in Europa, met uitbraken in België en Duitsland als meest dichtbijgelegen locatie (EFSA Panel on Animal Health and Welfare, 2018; <https://www.rijksoverheid.nl/actueel/nieuws/2022/07/02/afrikaanse-varkenspest-vastgesteld-op-varkensbedrijf-in-duitsland>; <https://www.nvwa.nl/onderwerpen/dierziekten/klasseke-varkenspest-kvp-en-afrikaanse-varkenspest-avp>). Voor het adequaat beheer van wilde zwijnen en het (modelmatig) inschatten van transmissierisico's van dierziekten is het essentieel om zicht te hebben op de aantallen dieren per gebied, de fluctuaties daarin binnen en tussen jaren (populatiedynamiek) en de rol van migratie en dispersie bij deze fluctuaties (mate en bronnen van influx). Tevens is het van belang voor het beheer en het inschatten van transmissierisico's om het terreingebruik en het effect van beheermaatregelen (o.a. jachtmethoden) op het terreingebruik in beeld te hebben. In Noord-Brabant en Limburg zijn echter slechts beperkte (tel)gegevens beschikbaar en ontbreekt een nauwkeurig inzicht in elk van deze factoren.

1.1.1 Verschillende telmethoden

Op dit moment is het moeilijk om inzicht te krijgen in de populatiegrootte van wilde zwijnen. Een recent EFSA-rapport (EFSA Panel on Animal Health and Welfare 2018), evenals onderzoek specifiek voor Nederland (Groot Bruinderink et al. 2009) en Vlaanderen (Pallemarts et al. 2022), geeft aan hoe weinig bestaande kennis er is in Europa over dichtheden, aantallen, migratie/dispersie, reproductie en sterfte. Dit wordt veroorzaakt door de moeilijkheid om gedegen aantalstellingen te doen in combinatie met onvoldoende initiatief tot onderzoek hiernaar.

Het bepalen van dichtheden of aantallen per tijdstip en de variatie daarin tussen seizoenen of jaren, is in theorie mogelijk met diverse methodes. Een inventarisatie van internationale ervaringen (Groot Bruinderink et al., 2009; zie Tabel 1.1) leert dat bij tellingen grofweg onderscheid kan worden gemaakt in directe en indirecte observaties. Directe observaties zijn gebaseerd op zichtwaarnemingen. Zichtwaarnemingen vanaf de grond (Zicht land) zijn het meest ingeburgerd. Over het algemeen wordt aangenomen dat deze methode een onderschatting oplevert van de werkelijke populatie (Groot Bruinderink et al., 2009). Zichtwaarnemingen vanuit de lucht (Zicht lucht) zijn goed te gebruiken voor het schatten van de populatieomvang en het vaststellen van een index, maar geven een minder nauwkeurig beeld van de geslachts- en leeftijdsopbouw van een populatie, met name in gebieden met veel dekking. Zichtwaarnemingen kunnen met het blote oog worden gedaan, maar ook met een scala aan hulpmiddelen, zoals verrekijker en/of telescoop, schijnwerpers en verschillende typen camera's als warmtebeeldcamera's en restlichtversterkers. Ervaringen met warmtebeelden vanaf het land (IR land in Tabel 1.1) of vanuit de lucht (IR lucht) laten zien dat het gebruik hiervan de nauwkeurigheid van zichtwaarnemingen ten goede komt.

Indirecte observaties kunnen worden gedaan op basis van het zoeken van sporen. Bij zwijnen gaat het hierbij meestal om keuteltellingen. Dit onderzoek op basis van keutels is efficiënter, biedt meer flexibiliteit in de timing van veldwerk en zorgt in potentie voor minder verstoring. Echter, hoewel een groter aantal keutels

zal correleren met een groter aantal zwijnen, levert het simpelweg tellen van keutels (zonder identificatie van de producent) geen harde schatting van het aantal individuen op en is daarmee onnauwkeuriger.

Indien het niet haalbaar is om in het hele studiegebied onderzoek te doen, kan gebruik worden gemaakt van een ruimtelijke bemonsteringsopzet waarbij op een aantal vooraf bepaalde plaatsen wordt geïnventariseerd en op basis daarvan een schatting wordt gemaakt van de totale populatieomvang. Voorbeelden zijn 'stratified sampling' (Distance) en de lijn-transect-methode.

Een speciale variant hiervan is de vangst-merk-terugvangst-methode (CMR; capture-mark-recapture, ook wel resighting), waarbij dieren na vangst worden gemerkt zodat ze individueel herkenbaar zijn. Bij een tweede vangstronde wordt bepaald welk deel van de dieren ongemerkt en dus gemist is in de eerste ronde. Op basis daarvan kan een werkelijke populatieomvang worden geschat. Deze methode vereist echter meerdere inventarisatieronden en (in haar traditionele vorm) het vangen en hanteren van dieren.

Tabel 1.1 Overzicht en waardering van een aantal directe en indirecte methoden om hoefdieren te inventariseren, op basis van Groot Bruinderink et al., 2009 (Alterra-rapport 1944).

Methoden	Betrouwbaarheid	Nauwkeurigheid	Kosten	Toepasbaarheid wild zwijn
Direct				
Zicht land	+	-	+	+
Zicht lucht	+	-	+/- tot +	-
IR land	+	+	+/- tot +	- tot +/-
IR lucht	+	+	+	- tot +/-
Indirect				
Keuteltellingen	+/-	+/-	+/-	+/-

1.1.2 Huidige methoden ontoereikend

De in Nederland gangbaarste telmethode is gebaseerd op 'Zicht land' (Tabel 1.1). Hierbij worden elk jaar eind maart/begin april drie opeenvolgende tellingen uitgevoerd (avond, ochtend, avond) gedurende circa twee uur rond zonsopkomst en zonsondergang. Waarnemingen worden gedaan vanuit vaste of mobiele posten en soms worden delen van een gebied letterlijk uitgekamd. De uitkomst wordt vaak uitgedrukt in het MNA, Minimum Number Alive. Maar ook worden de resultaten van de drie telronden gebruikt als drie onafhankelijke schattingen van de minimumpopulatie waaruit een gemiddelde en een betrouwbaarheidsinterval worden berekend. De methode wordt beschouwd als weinig nauwkeurig, met als hoogst haalbare product een trend (index) in de aantallen over de jaren. Belangrijke aandachtspunten zijn het risico van dubbeltellingen, het aantal dieren dat wordt gemist en de moeilijkheid om verschillende telvariabelen over de jaren heen constant te houden. Bij het wild zwijn vormt na-aanwas een probleem: de biggen die na de telling worden geboren. Dit wordt versterkt doordat onder gunstige omstandigheden zeugen meerdere worpen per jaar kunnen hebben en biggen uit een vroege worp in het najaar alweer bevrucht kunnen worden. De dynamiek is dan ook veel grilliger dan bijvoorbeeld bij edelherten, waarvan de hinds gemiddeld één kalf per jaar hebben en de ontwikkeling relatief goed te voorzien is.

Momenteel vinden in de aangewezen leefgebieden (Veluwe, Meerlebroek en Meinweg) tellingen plaats volgens bovengenoemde methode. Daarnaast wordt afschot en valwild geregistreerd op provinciaal niveau. Een statistische analyse van deze data zou licht kunnen werpen op de populatiedynamiek van wilde zwijnen. Voor de Veluwe bleek de meetfout in de tellingen echter dusdanig groot dat het niet mogelijk was om de aantallen zwijnen te bepalen, laat staan om een populatie-dynamisch model te ontwikkelen waarmee de toekomstige populatieontwikkeling van zwijnen te voorspellen was (Groot Bruinderink et al., 2013). Met de huidige methoden is het momenteel niet mogelijk om inzicht te krijgen in de aantallen dieren per gebied, de fluctuaties daarin binnen en tussen jaren (populatiedynamiek) en de rol van migratie en dispersie bij deze fluctuaties (Groot Bruinderink & Van der Grift, 2015), waar dat voor gedegen faunabeheer wel van belang is (Van der Grift, 2018). De grote dynamiek in populaties wilde zwijnen m.b.t. aanwas, sterfte en terreingebruik wordt o.a. gestuurd door fluctuaties in het voedselaanbod, fluctuaties in het geboortetijdstip

van biggen, sterfte door fluctuerend jachtsucces en fluctuerende sterfte van biggen door bijvoorbeeld koude, regenbuien, of grote droogte. Elders in Europa zijn de bevindingen van gelijke aard. Ook een recente Vlaamse studie van Pallemarts et al. (2022) geeft aan dat zonder kennis van de werkelijke aantallen zwijnen in de populatie het moeilijk is om de vereiste afschotaantallen vast te stellen om het gewenste populatieniveau te behalen en behouden. Het is aannemelijk dat hetzelfde ook zal gelden voor de populaties in Noord-Brabant en Limburg. Vraag is dan ook of er mogelijkheden zijn om de momenteel gebruikte telmethoden zodanig te verbeteren dat een schatting van de populatiedynamiek wel binnen handbereik komt.

1.1.3 Mogelijkheid van genetische methoden

Een nieuwe ontwikkeling die in dit kader mogelijk kansen biedt, is het gebruik van genetische technieken. Op basis van DNA uit zowel weefselmonsters als non-invasieve monsters (keutels) kan in principe een genetisch profiel worden verkregen dat uniek is per individu. Dit maakt het niet alleen mogelijk om daadwerkelijk het aantal individuen af te leiden uit de geraapte keutels, maar ook om te signaleren of bepaalde individuen zowel via keutels als doodvondst (afschot of valwild) zijn waargenomen. Dit maakt het mogelijk om dubbelingen te beperken en eventueel migratie van individuen te signaleren op basis van meerdere observaties. Op basis van een vergelijking met profielen uit andere populaties kan in theorie ook worden bepaald of nieuw waargenomen dieren uit dezelfde of een andere populatie afkomstig zijn, om zo een onderscheid te maken tussen gemiste dieren, lokale nieuwe nakomelingen en immigranten.

Genetische monitoring wordt steeds vaker toegepast in populatie-ecologisch onderzoek en wordt in Nederland al jarenlang gebruikt voor onderzoek naar onder andere de otter (Kuiters et al., 2020), de wolf (Jansman et al., 2021), en het edelhert en wild zwijn (De Groot et al., 2016). Een basisvereiste voor het toepassen van de methode voor individuele herkenning is dat de gebruikte DNA-merkers voldoende variatie vertonen om voor elk individu een uniek profiel te genereren. Voor het vaststellen van de waarschijnlijkste bronpopulatie is voldoende verschil in genetische samenstelling tussen populaties een vereiste. De Groot et al. (2016) lieten op basis van analyse van ruim 1000 monsters (uit alle Nederlandse populaties en enkele populaties vlak over de grens in Duitsland en België) zien dat de voor wilde zwijnen beschikbare DNA-merkers aan deze voorwaarden voldoen.

In het onderzoek van De Groot et al. (2016) werd geen gebruikgemaakt van keutelsonsters. De bruikbaarheid van zulke non-invasieve monsters voor individuele herkenning is afhankelijk van kwantiteit en kwaliteit van het DNA dat eruit kan worden gewonnen. Een te lage DNA-kwaliteit kan resulteren in incomplete genetische profielen, waardoor het onzeker is of ze nog steeds voldoende verschillen tussen individuen. Fickel & Hohmann (2005) lieten zien dat de kwaliteit van DNA uit zwijnenkeutels lager was dan gehoopt. De kwaliteit kan echter verschillen tussen onderzoeken en is onder meer afhankelijk van de tijd die verstrijkt voordat de keutel wordt bemonsterd. Deze tijd bepaalt de kans dat het DNA is afgebroken. Voor een gedegen bemonstering is het noodzakelijk dat het totale aantal voor het onderzoek benodigde keutelsonsters binnen een zo kort mogelijke tijdsspanne wordt verzameld, zodat een aantalsschatting wordt verkregen die niet beïnvloed wordt door aanwas, sterfte of migratie. Al met al is een pilot naar de mogelijkheden voor onderzoek aan Nederlandse zwijnenpopulaties op basis van DNA uit keutels belangrijk alvorens de methode grootschalig toe te passen.

De mogelijkheid om een individu op basis van keutels meerdere keren aan te treffen op verschillende tijdstippen, maakt het eveneens haalbaar om de genetische profielen te gebruiken voor een genetische variant van de vangst-merk-terugvangst-methode (CMR), waarbij het daadwerkelijk vangen van dieren niet nodig is. In dit geval kan ook worden geschat welk deel van de populatie niet is waargenomen, en kan op basis daarvan de schatting van de werkelijke populatieomvang worden bijgesteld. De modellen die voor de schatting worden toegepast, zijn het betrouwbaarst indien sprake is van een gesloten populatie, oftewel indien het studiegebied een min of meer geïsoleerde populatie omvat met slechts een geringe immigratie en emigratie binnen de tijd waarin bemonsterd wordt. Modellen voor open populaties zijn beschikbaar, maar minder accuraat. Nog lastiger wordt het als ook sprake is van individuen die tijdelijk het gebied verlaten en weer terugkeren (Kendall & Nichols, 2010). Het gelijktijdig schatten van populatieomvang en -dynamiek is alleen mogelijk indien het zeer waarschijnlijk is dat het overgrote deel van de populatie te bemonsteren is. In dat geval vertegenwoordigt het aantal waargenomen individuen de daadwerkelijke stand. Terugvangsten

tussen twee monitoringsjaren geven dan inzicht in minimale overleving, ontbrekende individuen in het laatste jaar vertegenwoordigen sterfte en/of emigratie en nieuwe individuen in het laatste jaar vertegenwoordigen geboorte en/of immigratie. Indien tevens natuurlijk gestorven en geschoten dieren (vrijwel) allemaal zijn bemonsterd, kan de verhouding tussen sterfte en emigratie worden geschat. De beschikbaarheid van profielen van zo veel mogelijk lokaal aanwezige potentiële ouderdieren maakt tevens een ouderschapsanalyse mogelijk voor nieuwe individuen, zodat ook geboorte kan worden geschat. De vraag is in hoeverre de populaties in Noord-Brabant en Limburg voldoen aan de *randvoorwaarden van de CMR-methoden* om een accurate populatieschatting mogelijk te maken.

1.2 Onderzoeksvragen

In opdracht van de provincie Limburg, provincie Noord-Brabant en het Ministerie van LNV, worden in dit rapport de volgende onderzoeksvragen onderzocht:

1. Kan op basis van non-invasief genetisch onderzoek (DNA) beter inzicht verkregen worden in:
 - a. Het exacte aantal zwijnen in een deelgebied?
 - b. De ontwikkeling van de populatiegrootte per deelgebied in de tijd?
 - c. De omvang van de belangrijkste factoren die de populatiedynamiek bepalen: geboorte, sterfte, immigratie en emigratie?
 - d. De bronnen van eventuele immigratie?
2. Is het mogelijk om via extrapolatie van de (via DNA-analyse) vastgestelde populatieomvang in een beperkt zoekgebied een indicatie te krijgen van de totale populatieomvang in een groter gebied?

2 Onderzoeksmethodiek

2.1 Algemene onderzoekopzet

Om de haalbaarheid van genetisch onderzoek te toetsen als methode voor een exactere inschatting van aantallen, seizoensdynamiek en herkomst van een populatie wilde zwijnen, werd een studie opgezet op basis van twee studiegebieden, waarbij de populatie gedurende twee jaar werd gevolgd.

Per studiegebied werden jaarlijks in het voorjaar keutels verzameld ten behoeve van een schatting van de voorjaarsstand. In aanvulling daarop werd in beide jaren jaarrond weefsel verzameld van alle afgeschoten zwijnen en aangereden zwijnen (valwild), zowel in het gebied waar keutels werden gezocht als in een bredere regio daaromheen. Die bredere regio is vastgesteld als een range van enkele kilometers rondom de studiegebieden, ca. 3-10 km, wat overeenkomst met de afstand die zwijnen goed kunnen overbruggen. Dit is vervolgens vertaald naar de grenzen van de lokale wildbeheereenheden om de praktische uitvoerbaarheid te faciliteren. Identificatie van afschot en valwild in het studiegebied gedurende het voorjaar vormde een aanvulling op de schatting van de voorjaarsstand. Onder de aanname dat gedurende het jaar een groot deel van de populatie wordt afgeschoten (realiseren van de nulstand / nulschade beleid), geeft identificatie van het afschot en valwild uit de rest van het jaar en vergelijking daarvan met de in het voorjaar via keutels waargenomen individuen, inzicht in het verschijnen en verdwijnen van individuen door de tijd heen. Door ook valwild en afschot uit de periferie te identificeren, werd gepoogd na te gaan in hoeverre dieren waren weggetrokken en daarmee een schatting te maken van de emigratie. Afgeschoten of dood gevonden dieren uit het zoekgebied zelf vielen onder de categorie 'sterfte'. Indien voldoende onderscheid aanwezig is in genetische samenstelling tussen populaties, kan via een genetische bronherkenning worden achterhaald in welke mate de nieuwe aanwas werd veroorzaakt door lokale reproductie of door immigratie van buitenaf. Tot slot geeft een vergelijking van individuen aangetroffen via keutels in jaar 1 en jaar 2 inzicht in de mate waarin individuen een jaar lang in het gebied in leven zijn gebleven.

2.2 Geselecteerde studiegebieden

Het onderzoek omvatte twee verschillende natuurterreinen met een vergelijkbare (verwachte) dichtheid van wilde zwijnen (aantal per oppervlakte), maar een verschillende dynamiek:

1. Een gebied met een kleine, min of meer geïsoleerde populatie zwijnen. Een dergelijke zogenaamde 'gesloten populatie' is een belangrijke voorwaarde voor veel van de modellen die worden gebruikt voor populatieomvang-schattingen op basis van genetische mark-recapture.
2. Een geografisch afgebakend gedeelte van een groter leefgebied met bemonstering van een deelpopulatie wilde zwijnen. Dit betrof een test in hoeverre een schatting van de populatieomvang ook mogelijk is in een meer open populatie (kortom, met veel (tijdelijke en/of permanente) immigratie en emigratie). Om het onderzoek logistiek haalbaar te maken, zijn bij de selectie van studiegebieden de volgende aanvullende criteria bepalend geweest:
 - a. Het gebied moest toegankelijk zijn qua betreedbaarheid en toestemming van de eigenaar.
 - b. De geschatte populatieomvang (voorjaarsstand) van het studiegebied moest minimaal 5 en maximaal 50 zwijnen omvatten.

In overleg met de opdrachtgevers en de Faunabeheereenheden van de betreffende provincies zijn de volgende twee studiegebieden gekozen:

1. Als kleine en min of meer geïsoleerde populatie werd gekozen voor de Heidsche- of **Heidse Peel**, in de gemeente Venray, Noord-Limburg (Figuur 2.1). Het is ongeveer 150 ha groot en als peelrelict behoorlijk geïsoleerd van andere natuurgebieden. Volgens de provincie en FBE Limburg worden in en rond dit gebied jaarlijks enkele zwijnen geschoten, maar is de voorjaarsstand niet hoger dan enkele tot een tiental dieren. Het gebied is in beheer van Staatsbosbeheer en is door de waterhuishouding lastig betreedbaar voor mensen, ook buiten de verhoogde paden. De aanwezige zwijnen worden vaak pas waargenomen als ze het gebied verlaten en in de omliggende agrarische gewassen gaan foerageren. Vooral in de herfst als de mais wordt geoogst, worden de zwijnen zichtbaar en ook geschoten vanuit het wildbeheer.
2. Als studiegebied voor een deel van een grotere populatie is op aanwijzen van de provincie en FBE Noord-Brabant gekozen voor een deel van de **Stippelberg** in de gemeente Gemert-Bakel, Noord-Brabant (Figuur 2.1). Het is grotendeels in beheer van Natuurmonumenten, met daarnaast enkele andere, deels particuliere, eigenaren. Het gehele natuurgebied is een ca. 975 ha groot bosgebied in een sterk agrarische omgeving. Inclusief aangrenzende natuurgebieden en Nederheide, bedraagt de totale oppervlakte ca. 1500 ha. Het gebied wordt doorsneden door een drukke weg die Milheeze met de Rips verbindt. Het deel van de stippelberg ten oosten van die weg, en in eigendom van Natuurmonumenten, is als studiegebied aangewezen en beslaat ongeveer 300 ha. Sinds 2012 komen op de Stippelberg weer wilde zwijnen voor (zie ook De Groot et al., 2014). Voor de hele Stippelberg van ca. 1500 ha is de geschatte voorjaarsstand ca. 80 zwijnen. Voor het gekozen deelgebied geeft Natuurmonumenten aan dat de geschatte voorjaarsstand ca. 25-30 individuen is. Jaarlijks neemt de populatie toe, vrijwel zeker door voortplanting en migratie, zodat een fors aantal dieren per jaar vanuit wildbeheer wordt geschoten. Ook is het idee dat zwijnen het gebied verlaten zodra de mais in de omliggende gebieden voldoende hoog is om dekking en voedsel te bieden.



Figuur 2.1 De twee studiegebieden. In rood Stippelberg. In Oranje (stippellijn) Heidse Peel. In Oranje (gesloten lijn) het bijgestelde en uitgebreidere studiegebied Heidse Peel en omgeving. (Kaart: Top25Raster/Kadaster)

Als werkgebied is in overleg met de WBE's een range van ca. 10 km rondom de studiegebieden aangehouden. De dagelijks afgelegde afstand van wilde zwijnen beslaat vaak de totale jaarlijkse homerange, oftewel de homerange is niet groter dan wat dagelijks aan leefgebied wordt bezocht (Morelle et al., 2015). Door de bank genomen leggen ze 3-12 km/dag af. Dit doen ze echter vooral binnen hun homerange. Dispersie is het wegtrekken uit de huidige homerange op zoek naar een nieuw leefgebied. Dispersieafstanden zijn groter voor mannelijke dieren (ca. 15 km) dan voor vrouwelijke dieren (ca. 5 km) (Truve & Lemel, 2003). Een range van 10 km is dus een reële afstand voor migratie van zwijnen vanuit de studiegebieden waar de keutels verzameld worden. Die range is vervolgens vertaald naar het werkgebied van enkele WBE's die rondom de studiegebieden gelegen zijn en zodoende de meeste migranten zullen herbergen. Voor de regio Heidse Peel zijn dat de WBE's Heidse Peel en Venray. Voor de regio Stippelberg betreffen dat de WBE's Peelrand en Oploo-Wanroij. Deze WBE-grenzen omvatten globaal de 10km-range rondom de kern van de twee studiegebieden, met daarin de grotere eenheden natuurgebied. Zie www.jagersvereniging.nl/wbe/ voor de begrenzingen per WBE.

2.3 Bemonstering

2.3.1 Bemonstering van keutels

Perioden

Beoogd werd om de keutels te verzamelen in het vroege voorjaar (januari-maart) in de periode voor de eerste worp van de zeugen om een goed beeld te krijgen van de voorjaarsstand: de populatieomvang in de periode voorafgaand aan de geboorte van de eerste biggen van het jaar. Het is echter mogelijk dat door een milde winter en in gunstige voedseljaren er in januari al biggen geboren zijn. Indien in die periode nog niet voldoende keutels verzameld waren, zou de periode verlengd worden tot de zomer. Op deze manier zouden zo veel mogelijk individuen meegenomen kunnen worden in het onderzoek, maar daarmee zou vrijwel zeker ook bemonsterd worden in een periode waarin ook al biggen aanwezig waren. Door via registratie de keutelverzamelperiode in verschillende deelperiodes op te delen, zou het mogelijk zijn om een schatting te maken van de populatieomvang in verschillende voorjaarsmaanden, waarmee rekening gehouden kan worden met vroege aanwas.

Uitvoering

De bemonstering van keutels werd, afhankelijk van de locatie, verricht door de terreinbeherende organisatie, de wildbeheereenheid (WBE) en/of door medewerkers van Wageningen Environmental Research (WENR). In de Heidse Peel werd de keutelmemonstering voornamelijk verricht door WENR, aangevuld door wildbeheerders van de WBE Heidse Peel. In Stippelberg werd de bemonstering verricht door Natuurmonumenten; door het in eigen beheer te doen, kon het verstoringrisico van fauna beperkt worden en het zoeken van de keutels worden ingepast in andere werkzaamheden. Hierbij zijn ook vrijwilligers van Natuurmonumenten ingezet.

Uitgangspunt bij de bemonstering was om zo veel mogelijk keutels te verzamelen van de in het studiegebied aanwezige zwijnen. In eerste instantie richtte de verzameling zich op uitgezette transecten binnen de twee studiegebieden. In totaal werden zeven transecten in Stippelberg neergelegd. Naar verwachting was daarmee de ruimtelijke dekking in elk studiegebied voldoende om te zorgen dat alle aanwezige zwijnen regelmatig een of meerdere transecten zouden passeren. Elk transect werd om de paar dagen afgezocht. Wanneer langs een transect uitwerpselen werden waargenomen, werd het aanliggende gebied (maximaal enkele tientallen meters) afgezocht op de aanwezigheid van meer uitwerpselen. Deze werkwijze vergrootte de trefkans, met name in het geval van rottes (groepen) zwijnen die passeren. Vervolgens werd weer teruggekeerd naar het transect en werd de route vervolgd. Indien uit veldervaring bleek dat er buiten de transecten of op wissels/rustplaatsen ook relevante uitwerpselen verzameld konden worden, werd dat aanvullend toegepast. In Heidse Peel en omgeving was de toegankelijkheid van het terrein te beperkt en is een transect neergelegd langs de beloopbare route.

Conservering

Door WENR is een protocol opgesteld om keutels voor DNA-onderzoek te conserveren en te archiveren. Aan de veldwerkers zijn monsterpotjes verstrekt, gevuld met geconcentreerde (>96%) ethanol als conserveringsvloeistof. In het veld werd bij vondst van een keutel direct een klein gedeelte afgebroken en in een monsterpotje gedaan. Tevens werden stickervellen met voorgedrukte monstercodes en -invoerformulieren verstrekt, zodat een monster meteen kon worden voorzien van een unieke code die al geregistreerd stond in een monsterdatabase. Op het invoerformulier werden door de veldwerker de locatie en datum van de keutelvondst per gebruikte monstercode vermeld (Figuur 2.2). Indien nodig zijn de verzamelde monsters bij thuiskomst uit het veld in de vriezer (-18°C) opgeslagen tot het moment van vervoer naar WENR. Daar zijn de monsters ingevroren geconserveerd (-20°C) tot het moment van DNA-extractie.



Figuur 2.2 Compilatie van het bemonsteren van keutels. Linksboven: verstrekte invulformulieren, stickervellen met uniek volgnummer (corresponderend met de invulformulieren) en opslagpotjes. Rechtsboven: verse zwijnenkeutels te Stippelberg. Onder: keutels in opslagpotje (Foto's: WENR).

Aantallen

Op basis van eerder onderzoek met non-invasieve monsters, waaronder keutels (Kuiters et al., 2020), is bekend dat de DNA-kwaliteit van dergelijke monsters regelmatig een beperkende factor is, wat resulteert in een aanzienlijke uitval (monsters waarvan geen valide genetisch profiel kan worden opgenomen in de uiteindelijke dataset). Om die reden werd ingezet op het verzamelen van ca. 5 keutels per geschat aanwezig dier per onderzoeksjaar. Uitgaande van maximaal 50 individuen per studiegebied, resulteerde dit in een doelstelling van 250 te verzamelen keutels per studiegebied per jaar.

2.3.2 Bemonstering van afschot en valwild

Perioden

De bemonstering van afschot en valwild start met de start van het verzamelen van de eerste keutels en loopt door tot het voorjaar van het jaar na het jaar dat de keutelbemonstering is beëindigd. Globaal zal de weefselverzameling dus een klein jaar langer doorlopen dan de keutelbemonstering.

Uitvoering

Het nemen van weefselmonsters van dode wilde zwijnen, met name afgeschoten dieren, zou initieel door de provinciale zwartwild-(wilde zwijnen) coördinatoren worden verricht. De provincies Limburg en Noord-Brabant hebben beide een dergelijke coördinator aangesteld, die alle dode wilde zwijnen in de provincie keurt voor veterinaire doeleinden. Daarbij kan relatief gemakkelijk ook een weefselmonster worden genomen voor genetische analyses. Kort na de start van het onderzoek werd duidelijk dat de zwartwild-coördinatoren nog maar een steekproef van alle dode wilde zwijnen zouden gaan beoordelen. Voor het huidige onderzoek was een steekproef echter onvoldoende. In overleg met de opdrachtgevers (overheden) en de wildbeheerders van de FBE's Noord-Brabant en Limburg en WBE's Heidse Peel, Venray, Peelrand en Oploo-Wanroij is het protocol daarom bijgesteld. Afsproken werd dat alle wildbeheerders die wilde zwijnen schieten per WBE een stukje weefsel zouden verzamelen en conserveren voor dit onderzoek. Ook van aangereden wilde zwijnen (valwild) en zwijnen die door toeval dood gevonden worden werd een weefselmonster genomen.

Conservering

Door WENR zijn ruim 500 monsterpotjes, voorzien van 98% ethanol en een unieke monstercode, met bijbehorend invulformulier verstrekt aan de coördinatoren van de deelnemende WBE's. Zij hebben deze onder hun wildbeheerders verdeeld. Per weefselmonster werden door de verzamelaars in het veld de locatie en datum genoteerd, en ook het geslacht en de geschatte leeftijd van het dier. De potjes werden in koelkasten bewaard tot vervoer naar WENR. Daar zijn de monsters ingevroren geconserveerd (-20°C) tot het moment van DNA-extractie.

2.4 Bepaling van individuele genetische profielen

Alle genetische analyses werden uitgevoerd in het Laboratorium voor Ecologische Genetica van WENR te Wageningen. Allereerst werd op elk ontvangen monster een DNA-extractie uitgevoerd. DNA-extractie van weefselmonsters vond plaats middels de DNEasy Blood&Tissue Kit (Qiagen) volgens het protocol zoals aangeleverd door de producent. Voor extractie van keutelmonsters werd in eerste instantie ingezet op verwerking in series van 95 stuks via de NucleoSpin 96 DNA Stool (Machery-Nagel). Dit leverde echter een DNA-extract op van onvoldoende kwantiteit en kwaliteit, dat onvoldoende bruikbaar bleek voor vervolganalyse. Om die reden werd overgegaan op verwerking in batches van 23 keutels middels de Qiagen Fast DNA Stool Minikit (Qiagen). Om te controleren op eventuele kruisbesmetting tussen monsters werd in elke extractieserie een negatieve controle meegenomen in de vorm van een extractiekolom gevuld met steriel water.

Vervolgens werd per DNA-extract een genetisch profiel gegenereerd op basis van tien zogenaamde microsatelliet (SSR) merkers. Dit zijn fragmenten in het DNA die variatie kunnen vertonen in de lengte van hun code. Deze lengtevarianten kunnen als allelen worden gescoord (Freeland et al., 2011). Per individu kan voor een bepaald fragment (locus) ofwel één allel (in geval van een homozygoot) of twee allelen (in geval van een heterozygoot) worden waargenomen. Het totaal aantal verschillende allelen per gebruikte merker varieert tussen de 2 en 20. Dit is onvoldoende voor unieke herkenning van alle individuen in een grotere populatie. Door de waargenomen allelen voor alle tien loci samen te voegen, ontstaat echter een uniek profiel waarin een individueel zwijn te herkennen is.

In de huidige analyses werd gebruikgemaakt van de microsatelliet-loci S0005, S0026, S0097, S0155, S0226, Sw122, Sw240, Sw632, Sw857, Sw936, alle ontwikkeld door Hampton et al. (2004). Dit betreft grotendeels dezelfde set als toegepast in eerdere populatie-genetische studies voor wilde zwijnen door Jansman et al. (2014) en De Groot et al. (2016). Vier andere loci die in deze studies wel werden gebruikt werden in de huidige analyses genegeerd, omdat deze voor de keutelmonsters te veel uitval vertoonden.

De laboratoriumanalyse bestaat uit twee stappen: in de eerste stap wordt per locus het betreffende DNA-fragment vermenigvuldigd met behulp van een Polymerase Ketting Reactie (PCR), zodat het in voldoende hoeveelheid aanwezig is om gedetecteerd te worden. Voor nadere details over de gebruikte merkers en de PCR-reactiecondities per merker verwijzen we naar bijlage 5 van De Groot et al. (2016). Detectie van de allellengtes vond vervolgens plaats door het PCR-product door een dunne buis (capillair) te laten lopen en te bepalen hoelang het duurt totdat ze een bepaald meetpunt passeren (platform: ABI 3730 Genetic Analyzer; Applied Biosystems). Grotere fragmenten hebben hierin een hogere weerstand en verplaatsen zich trager

door de buis. Door referentiemonsters met bekende allallengtes mee te laten lopen, wordt voor de onbekende monsters de lengte van de aangetroffen allelen bepaald. Het uitlezen van de gemeten fragmentpieken vond plaats via het softwareprogramma GeneMarker (v.2.6.7.; SoftGenetics). Voor keutelmonsters werden alle analyses in drievoud uitgevoerd. Op basis van de gescoorde allelen per analyse-replica werd vervolgens een consensus-profiel bepaald per monster. Op deze manier wordt gecorrigeerd voor eventuele artefacten (het wegvallen van allelen of het waarnemen van onjuiste allelen) die kunnen optreden bij monsters met een lage DNA-kwaliteit (zie ook: Kuiters et al. 2020). Voor weefselmonsters is deze procedure niet nodig en werden alle analyses in enkelvoud uitgevoerd.

2.5 Data-analyse

Om na te gaan in hoeverre de verkregen profielen bruikbaar waren voor individuele herkenning, werd allereerst gekeken naar de totale allelvariatie in de dataset. Hoe meer verschillende allelen per merker worden opgepikt, hoe groter het totale aantal mogelijke unieke profielen en hoe beter dus het vermogen om individuen te onderscheiden met de gebruikte merkers. Een statistische analyse van dit vermogen werd uitgevoerd door het berekenen van de zogenaamde probability of identity (PI). PI geeft de kans weer dat twee verschillende individuen in de dataset hetzelfde genetische profiel hebben. Voor de huidige analyse werd een conservatieve versie gebruikt, genaamd PIsib. PIsib geeft de kans weer dat twee volle broers of zussen (siblings) hetzelfde genetische profiel hebben. De allelvariatie en de PIsib-waarde werden berekend met behulp van het programma GIMLET (v 1.3.3.).

Vervolgens werd handmatig een clustering van de beschikbare profielen uitgevoerd. Onder de aanname dat elk individu inderdaad een uniek profiel vertoont, konden zo identieke profielen worden toegewezen aan hetzelfde individu. In combinatie met gegevens over datum en plaats van herkomst geeft dat inzicht in de verplaatsing en overleving van de betreffende individuen.

Ten behoeve van de vangst-merk-terugvangst-analyses werden de beschikbare genetische profielen in eerste instantie op basis van de vinddatum van de onderliggende monsters verdeeld over de twee monitoringsjaren (T0 en T1). Een individu waarvan het profiel in beide jaren in een monster werd aangetroffen, werd daarbij gezien als een terugvangst. Om in meer detail naar de dynamiek in een seizoen te kijken, werden de profielen tevens verdeeld over tijdsvakken van twee weken. Deze periode werd aangehouden, omdat keutels mogelijk al enige tijd in het veld kunnen hebben gelegen alvorens te worden verzameld. Elk tijdvak werd gezien als een apart waarnemingsmoment. Dit betekent dat indien een individu binnen een tijdvak meermaals werd aangetoond, dit als een enkele waarneming gold, tenzij de vondsten afkomstig waren van verschillende locaties. Indien hetzelfde individu in het volgende tijdvak opnieuw werd aangetoond, gold dit als een terugvangst.

Ten slotte werd een cluster-analyse uitgevoerd, om inzicht te krijgen in de mate van verwantschap tussen de geobserveerde individuen onderling en ten opzichte van mogelijke bronpopulaties. Dit maakt het mogelijk om de meest waarschijnlijke herkomst van de individuen te herleiden en na te gaan of sprake was van een substructuur binnen het studiegebied: meerdere groepen van individuen die onderling relatief sterk verwant zijn. Deze cluster-analyse werd uitgevoerd met behulp van het softwarepakket STRUCTURE (Pritchard et al., 2000). STRUCTURE maakt – in eerste instantie – geen gebruik van de veronderstelde populatie-indeling van de individuen. In plaats daarvan veronderstelt het programma dat sprake is van een bepaald aantal genetische clusters (K) en gebruikt vervolgens de genetische profielen om individuen toe te wijzen aan een cluster. Per individu wordt met percentages aangegeven in welke mate deze aan elk van de K-clusters wordt toegewezen. Vervolgens worden de individuen weer gesorteerd naar de vooraf bepaalde populatie waarin ze zijn bemonsterd, en kan gemakkelijk worden gekeken of individuen uit dezelfde populatie ook daadwerkelijk aan hetzelfde genetische cluster zijn toegewezen. Met andere woorden: zijn populaties duidelijk herkenbaar als genetisch verschillende eenheden? Op basis van eerder onderzoek op basis van ruim 1000 monsters van wilde zwijnen uit populaties in Nederland, België en Duitsland weten we dat dit inderdaad het geval is (De Groot et al., 2016). Dat maakt het mogelijk om vervolgens onbekende individuen op basis van het cluster waaraan ze zijn toegewezen te herleiden tot een meest waarschijnlijke populatie van herkomst (zie De Groot et al. (2016) voor enkele voorbeelden van dit type herkomstbepaling). Voor de herkomstbepalingen binnen de huidige studie werd de WENR-database met referentieprofielen uit De Groot et al. (2016) opnieuw benut en aangevuld met alle unieke profielen die nieuw werden verkregen in de huidige studie.

3 Resultaten

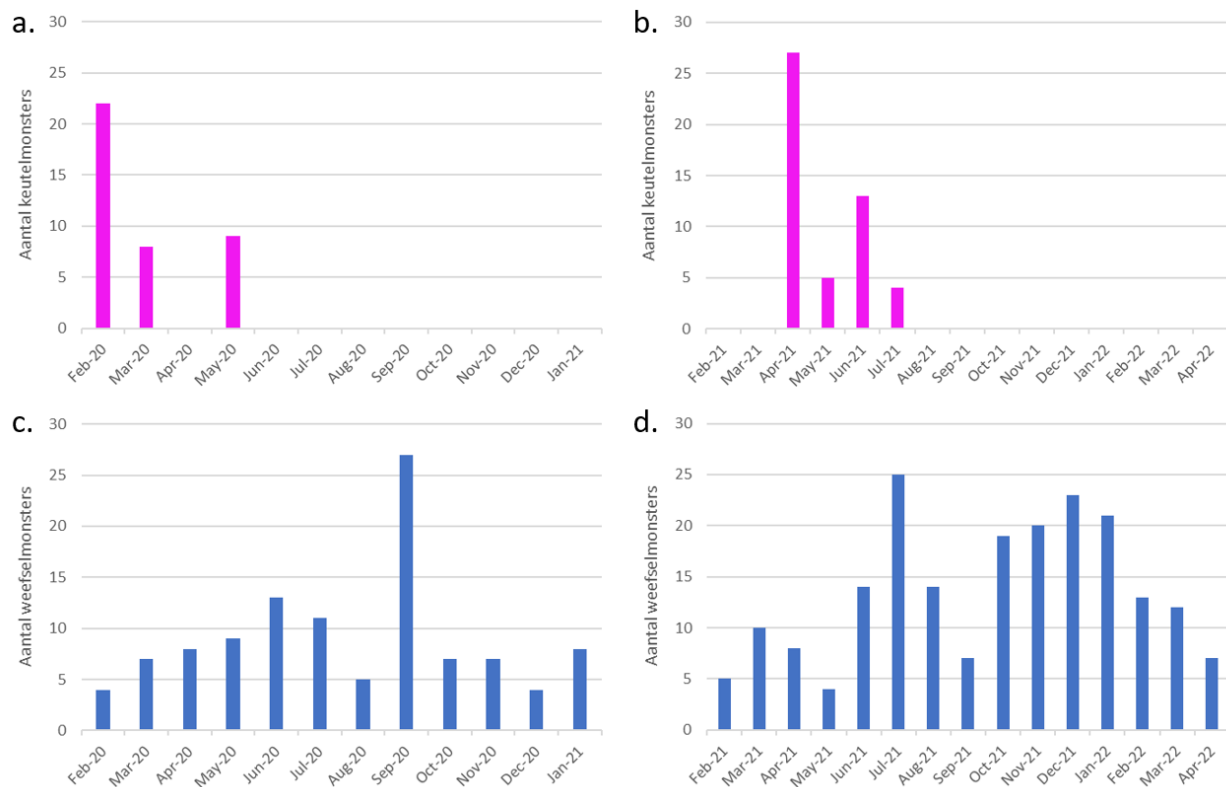
3.1 Monsterverzameling

Voor studiegebied *Heidse Peel* werd al vroeg in het eerste studiejaar duidelijk dat vrijwel geen zwijnen in het gebied aanwezig waren. Daar is direct op geanticipeerd door het studiegebied te verruimen met ook grote delen van WBE Venray (Figuur 1.1) en daarnaast de periode van verzamelen te verruimen tot de zomer. Ondanks dat door zowel WENR-medewerkers als medewerkers van de betrokken WBE's in dit grotere gebied werd gezocht naar sporen zijn er vrijwel geen keutels gevonden. Er bleken vrijwel geen zwijnen in het gebied aanwezig. In overleg is besloten het gestructureerd zoeken naar keutels pas weer op te pakken nadat er activiteit van zwijnen is vastgesteld, meestal door wroetsporen in het agrarisch cultuurland. Dit bleek niet het geval. Al met al heeft dat geleid tot het vinden van slechts twee keutels die ook nog eens geen succesvol DNA-profiel opleverden.

In studiegebied Stippelberg werden in T0 85 keutelmonsters verzameld, in T1 106. Voor de weefselmonsters was dit 124 resp. 220. Hierna worden de analyses op basis van deze monsters beschreven.

3.2 Definitieve genetische dataset

In totaal kon voor 88 keutelmonsters uit studiegebied Stippelberg een succesvol genetisch profiel worden vastgesteld. Dit betrof 39 van de 85 keutelmonsters verzameld in jaar T0 en 49 van de 106 keutelmonsters verzameld in jaar T1. Het slagingspercentage van de keutelanalyse was daarmee in beide jaren exact gelijk, namelijk 46%. De beschikbare profielen uit jaar T0 waren afkomstig van keutelmonsters verzameld in de maanden februari, maart en mei 2020 (Figuur 3.1a). De profielen uit jaar T1 waren afkomstig van keutelmonsters die iets later in het seizoen werden verzameld, in de periode april t/m juli 2021 (Figuur 3.1).



Figuur 3.1 Maandelijkse aantal keutelmonsters (a en b) en weefselmonsters van afschot en valwild (c en d) uit studiegebied Stippelberg waarvoor een genetisch profiel beschikbaar was, voor beide monitoringsjaren (panel a en c = T0 (1 februari 2020-31 januari 2021); panel b en d = T1 (1 februari 2021-1 mei 2022)). 43 Weefselmonsters waarvan geen informatie over de verzameldatum beschikbaar was ontbreken in dit overzicht.

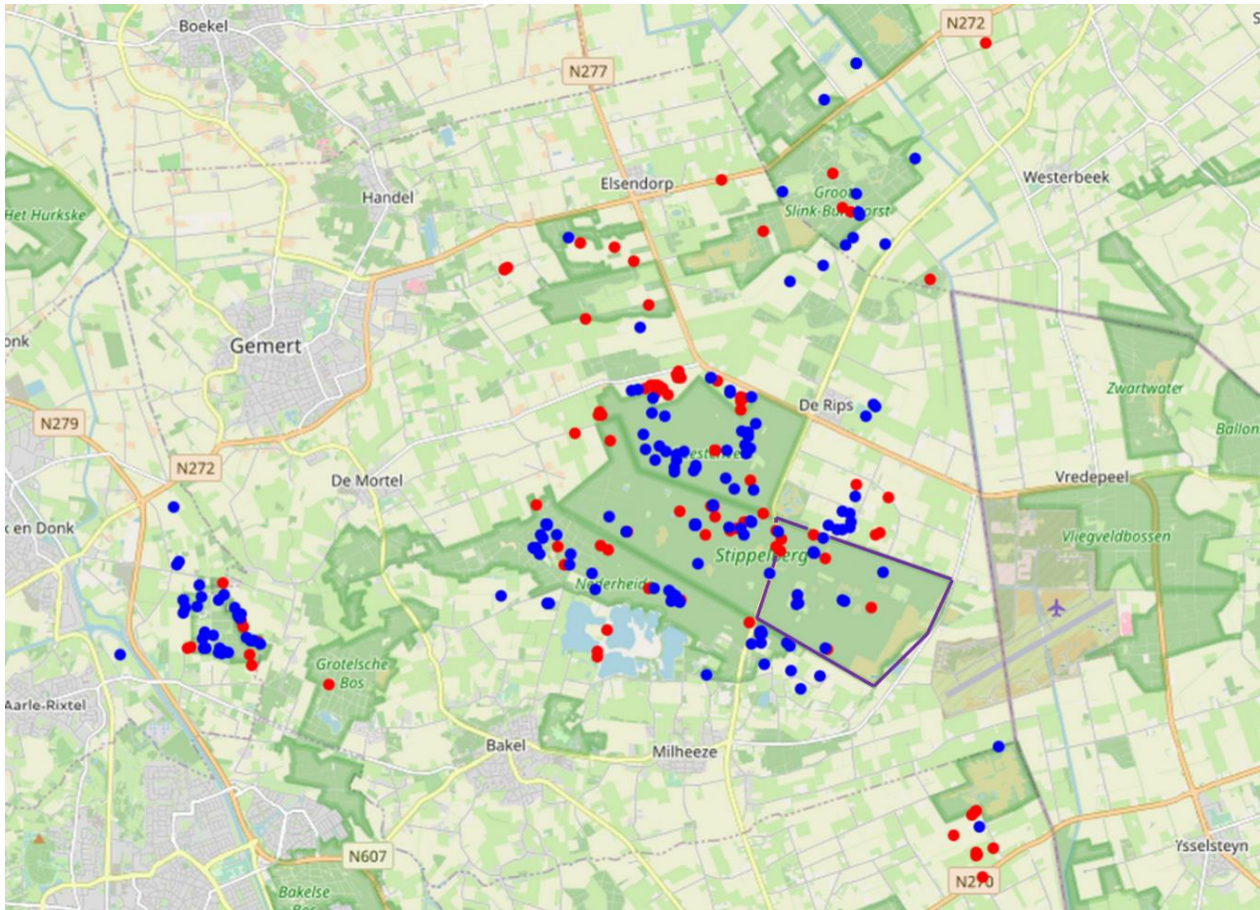
Het slagingspercentage voor een succesvol genetisch profiel van weefselmonsters was zoals verwacht aanzienlijk hoger: 94.5% in jaar T0 (117 van de 124 monsters) en 98% in jaar T1 (215 van de 220 monsters). Dit resulteerde in een totaal van 332 profielen van afschot en/of valwild. Deze monsters werden verspreid over alle maanden van de monitoringsperioden verzameld (Figuur 3.1c en 3.1d).

Op basis van de beschikbare metadata was een groot deel van de weefselmonsters (78%, Tabel 3.1) afkomstig van biggen en overlopers. In periode T1 was dit 74%. Hoewel helaas voor een deel van de monsters de leeftijdscategorie onbekend was (niet vermeld), kan worden geconcludeerd dat vooral juveniele individuen werden geschoten en dat adulte dieren slechts een beperkt deel van het afschot uitmaakten. Deze verdeling komt ongeveer overeen met die op de Veluwe, waar in 2020-2021 biggen 56% van het afschot uitmaakten, overlopers 28%, keilers 9% en zeugen 6% (VWV, 2022).

Tabel 3.1 Verdeling naar geslacht en leeftijd in procenten.

Jaar	Type	Percentage
T0 (N=117)	Big	49%
	Overloper	29%
	Keiler	8%
	Zeug	6%
	Onbekend	8%
T1 (N=215)	Big	46%
	Overloper	29%
	Keiler	8%
	Zeug	7%
	Onbekend	10%

Slechts een beperkt deel van de zwijnen waarvan een weefselmonster is verkregen, werd aangetroffen in het primaire studiegebied waarbinnen de keutels werden verzameld (Figuur 3.2 en Tabel 3.2). Dit betrof in totaal 6% van de via weefsel bemonsterde individuen in periode T0 en 8% in T1. Ongeveer een kwart (21% in T0 en 29% in T1) werd aangetroffen in het overige gedeelte van het bosgebied Stippelberg. De meeste zwijnen werden echter aangetroffen en bemonsterd in de periferie van het bosgebied: ofwel in het agrarisch gebied rond het bos, ofwel in een van de kleinere nabijgelegen bosgebiedjes (Figuur 3.2).



Figuur 3.2 Ruimtelijke spreiding van de locaties waar weefsel van afschot en valwild werd verzameld in studieperiode T0 (rode stippen) en T1 (blauwe stippen). De grenzen van het studiegebied waarbinnen keutels werden verzameld, zijn met paarse lijnen aangegeven.

Tabel 3.2 Verdeling van het afschot en valwild naar deelgebied.

T0	Aantal	%
Stippelberg, binnen zoekgebied	7	6%
Stippelberg, buiten zoekgebied	24	21%
Perifeer (rest WBE, buiten Stippelberg)	77	66%
Onbekend	9	7%
T1	Aantal	%
Stippelberg, binnen zoekgebied	13	6%
Stippelberg, buiten zoekgebied	75	35%
Perifeer (rest WBE, buiten Stippelberg)	92	43%
Onbekend	35	16%

3.3 Mogelijkheid tot onderscheid van individuen

In de totale dataset werd een aanzienlijke genetische variatie aangetroffen. Per merker varieerde de variatie van 3 (merker S0226) tot 13 verschillende allelen (Sw240-O en S0005-O), met een gemiddelde van 8.3. Deze variatie is lager dan aangetroffen door De Groot et al. (2016) in de dataset met zwijnenpopulaties uit heel Nederland en de Belgische en Duitse grensstreek (gemiddelde allelvariatie van 10.3). Dat is logisch, aangezien de genetische samenstelling verschilt per populatie en er in andere delen van Nederland (en in België en Duitsland) dus deels andere allelen voorkomen. De variatie is echter voldoende voor individuele herkenning, wat ook blijkt uit de PIsib-waarde. Deze bedroeg 0.0018, wat inhoudt dat voor twee naaste verwanten (biggen uit hetzelfde nest) de kans dat zij hetzelfde profiel vertonen 0.18% is. Met andere woorden: als de hele populatie uit volle broers en zussen zou bestaan, zou bij ongeveer 1 op de 500 individuen een valse gelijkenis met een ander dier optreden. In een natuurlijke populatie is deze kans kleiner en zal het geen groot effect hebben op de in dit rapport gepresenteerde patronen.

3.4 Schatting van populatieomvang en -dynamiek

3.4.1 Terugvangsten

Clustering van de 88 verkregen genetische profielen uit keutelmonsters liet zien dat het overgrote deel van de keutels afkomstig was van unieke individuen. In totaal werden 64 unieke individuen middels keutels waargenomen en 332 individuen via weefsel (Tabel 3.3).

De dataset bevatte in totaal slechts acht individuen waarvoor daadwerkelijk een terugvangst kon worden geregistreerd (individueel #1 t/m #8), waarvan drie individuen in jaar T0 en vijf in jaar T1. In twee gevallen betrof het een terugvangst op basis van meerdere keutels (van acht andere individuen werden weliswaar meerdere keutels gevonden, maar binnen enkele dagen en op dezelfde locatie, waarmee ze niet als terugvangst zijn aan te merken; zie paragraaf 2.5). In de zes overige gevallen betrof het een terugvangst op basis van een weefselmonster na een of meerdere keutels. Er was dus sprake van een zeer geringe overlap in het aantal unieke individuen in keutels en weefsels, wat het totaal aantal aangetroffen individuen op $332 + 64 - 6 = 390$ brengt (Tabel 3.3).

Tabel 3.3 Overzicht van aantallen individuen en terugvangsten per monitoringsjaar, op basis van de genetische analyses.

	T 0	T 1	Totaal
Aantal individuen op basis van keutelmonsters	30	34	64
Aantal individuen meermaals waargenomen via keutels	2	2	4
Aantal individuen op basis van afschotmonsters en valwild	117	215	332
Aantal individuen bemonsterd via zowel keutel(s) als weefsel	2	4	6
Totaal aantal unieke individuen	145	245	390
Totaal aantal individuen met een terugvangst	3	5	8

Hieronder lichten we de locaties en tijdstippen waarop een individu werd teruggevangen kort toe:

#1 betrof een individu dat middels vijf keutels werd waargenomen. Drie daarvan werden bemonsterd op dezelfde locatie en datum (4 maart 2020), maar de overige twee keutels werden ruim twee maanden later (mei 2020) bemonsterd op andere locaties in het studiegebied.

#2 betrof een individu dat middels vijf keutelmonsters werd waargenomen, waarvan twee keutels op dezelfde locatie op 11 februari 2020, twee keutels een ruime week later (20 februari 2020) op een andere locatie en de vijfde keutel drie maanden later (mei 2020) op een derde locatie in het bosperceel. Vervolgens werd hetzelfde individu weer een maand later (juni 2020) afgeschoten en via weefsel bemonsterd, nog altijd binnen de grenzen van het studiegebied (Figuur 3.3A).

#3 betrof een individu van wie de keutel in mei 2020 werd aangetroffen en twee maanden later (juli 2020) werd geschoten en via weefsel bemonsterd werd in een aangrenzend bosperceel van Stippelberg, direct ten

westen van het studiegebied (Figuur 3.3B).

#4 betrof een individu waarvan in april 2021 twee keutels op dezelfde locatie werden aangetroffen en een maand later (mei 2021) een derde keutel op een andere locatie. Vervolgens werd het individu eind juni 2021 geschoten, direct ten westen van het studiegebied.

#5 betrof een individu waarvan in april 2021 zes keutels werden aangetroffen binnen twee weken, op in totaal drie verschillende locaties. Twee maanden later (juni 2021) werd een zevende keutel aangetroffen van hetzelfde individu, op de locatie waar deze in april als eerste was bemonsterd

#6 betrof een ander individu waarvan op zowel 18 als 21 april 2021 een keutel werd gevonden, beide keren op dezelfde locatie. In oktober 2021 werd hetzelfde individu geschoten en via weefsel bemonsterd, opnieuw direct ten westen van het studiegebied.

#7 betrof een individu dat begin februari 2021 eenmalig middels een keutel werd bemonsterd in het studiegebied. In augustus werd dit individu geschoten en via weefsel bemonsterd op globaal dezelfde locatie direct ten westen van het studiegebied, waar ook #3, #4 en #6 werden geschoten.

#8 betrof een individu waarvan kort na elkaar (eind juni en begin juli 2021) twee keutels werden bemonsterd, en dat vervolgens in november 2021 werd geschoten in het westelijke deel van het bosgebied Stippelberg (wat verder van het studiegebied).



Figuur 3.3 Vindplaatsen van terugvangst #2 (A) en #3 (B) met datums (maand/dag/jaar) waarop de monsters werden verzameld. Keutelvondsten zijn met paarse stippen aangegeven, afschotlocaties (=weefselmonsters) zijn met blauwe stippen aangegeven.

3.4.2 Populatieomvang

De bedoeling was om middels vangst-merk-terugvangst-analyse tussen verschillende waarnemingsperiodes (ofwel tussen de twee jaren ofwel tussen periodes van twee weken binnen jaren) een modelmatige schatting te maken van de daadwerkelijke aantallen. Het feit dat terugvangsten nagenoeg ontbraken (geen enkele terugvangst in T1 ten opzichte van T0, en geen enkele combinatie van tweewekelijkse periodes met meerdere terugvangsten), maakte de algoritmen waarop dergelijke modellen zijn gebaseerd echter onbruikbaar. Modeluitkomsten kunnen hier dan ook niet worden gepresenteerd.

Op basis van het aantal unieke profielen in de dataset per monitoringsjaar kan tot op zekere hoogte wel een minimumaantal individuen worden bepaald dat gedurende dat jaar in het studiegebied aanwezig was. Het betrof een minimumaantal van 145 individuen in T0 en 244 individuen in T1. Zeer onzeker is echter of op enig moment gedurende het jaar ook daadwerkelijk een stand van deze omvang aanwezig was. De monsteraantallen per waarnemingsperiode van twee weken waren veel te gering om hier uitspraken over te kunnen doen. Het is zeer goed mogelijk dat gedurende het jaar sprake was van een flinke turnover (hoge influx en efflux, zie ook paragraaf 3.3.4 en H4). In dat geval lag per tijdmoment de daadwerkelijke stand lager dan de bovengenoemde aantallen. Anderzijds is het zeer waarschijnlijk dat individuen zijn gemist, waardoor de aantallen zijn onderschat (zie ook paragraaf 3.4).

3.4.3 Populatiedynamiek (immigratie, emigratie en sterfte)

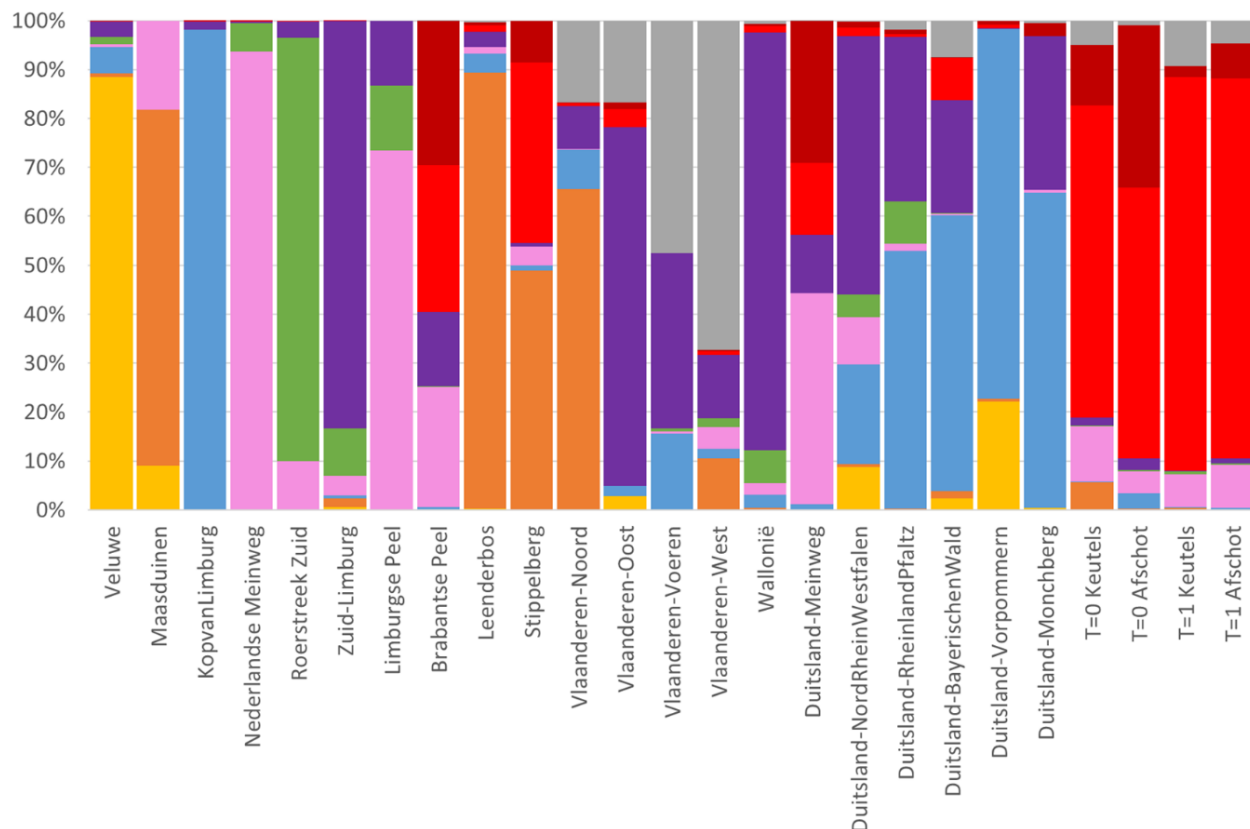
De huidige dataset was helaas ongeschikt om op betrouwbare wijze kwantitatieve schattingen te maken voor parameters met betrekking tot populatiedynamiek, zoals immigratie, emigratie, geboorte en sterfte. Indien met zekerheid van het overgrote deel van de in het studiegebied aanwezige individuen een profiel beschikbaar was geweest, was het mogelijk geweest om op basis van terugvangsten tussen tijdsperioden een lokale 'standpopulatie' te bepalen (honkvaste individuen die gedurende meerdere jaren in het studiegebied verblijven). Vervolgens zouden dan individuen die in de laatste periode voor het eerst werden waargenomen, kunnen worden aangemerkt als 'influx', bestaande uit nieuwe nakomelingen of immigranten. Genetische ouderschapsanalyse in combinatie met leeftijd (voor doodvondsten) zou deze twee parameters vervolgens nader kunnen onderscheiden. Op vergelijkbare wijze zouden individuen die in de laatste periode niet langer worden waargenomen, kunnen worden aangemerkt als 'efflux', bestaande uit gestorven dieren en emigranten.

Op basis van de huidige dataset is het onzeker of überhaupt sprake is van een vaste populatie. Hiervoor is geen bewijs beschikbaar, wat ofwel kan worden verklaard door een te laag aantal monsters (veel dieren gemist), ofwel doordat sprake is van een continue doorstroom waarbij voortdurend nieuwe dieren arriveren en na korte tijd (binnen een jaar) weer vertrekken. De in onze huidige studie beschikbare gegevens laten een onderscheid tussen deze scenario's niet toe, waardoor ook de relatieve bijdragen van geboorte, sterfte, immigratie en emigratie niet te onderscheiden zijn.

Voor sterfte kan een minimum worden bepaald, op basis van de beschikbare weefselmonsters van valwild en afschot uit het studiegebied zelf. Deze vertegenwoordigen samen een minimaal aantal sterfgevallen in het studiegebied per monitoringsjaar. Op basis van de beschikbare monstergegevens waren dit er ten minste 117 in jaar T0 en 215 in jaar T1 (Tabel 3.3). Hierbij moet de kanttekening worden geplaatst dat van 8 aangeleverde weefselmonsters uit T=0 respectievelijk 35 uit T=1 locatiegegevens ontbraken. Onbekend is of natuurlijke sterfgevallen binnen het studiegebied kunnen zijn gemist, wat niet uitgesloten kan worden gezien de moeilijkheid van het vinden van dieren die door andere redenen dan afschot en aanrijdingen zijn gestorven.

3.5 Verwantschap en herkomst

De genetische clusteranalyse via het programma STRUCTURE, waarin zowel de complete referentiedatabase van WENR werd meegenomen (ruim 1000 profielen uit 21 zwijnenpopulaties) als de profielen verkregen uit het huidige studiegebied Stippelberg, leverde een optimaal resultaat op indien de monsters werden verdeeld over negen verschillende clusters. De toewijzing van de populaties aan clusters komt op hoofdlijnen overeen met de verdeling zoals gepresenteerd in De Groot et al. (2016), met één uitzondering. De database zoals geanalyseerd in 2016 bevatte al een referentiecollectie uit Stippelberg (monsters uit de periode 2010-2014), die destijds aan twee clusters werd toegewezen (rood en oranje, zie Figuur 9 van De Groot et al. (2016)). Het rode cluster kwam eveneens terug in Brabantse Peel en het Duitse deel van de Meinweg. In de huidige analyse wordt dit rode cluster echter opgesplitst in twee subgroepen, in Figuur 3.4 weergegeven met lichtrood en donkerrood. Dit verschil is te verklaren door het feit dat een groot deel van de 264 nieuw toegevoegde profielen genetisch sterk overeen blijkt te komen met de oude referentieprofielen uit Stippelberg. De grotere hoeveelheid data voor deze genetische groep geeft het model meer statistisch kracht om hierbinnen een onderscheid te detecteren in twee subgroepen. Zoals met lichtrood en donkerrood zichtbaar in Figuur 3.4 waren beide subgroepen ook in de periode 2010-2014 al aanwezig in de regio, zowel te Stippelberg als in de Brabantse Peel en de Duitse Meinweg.

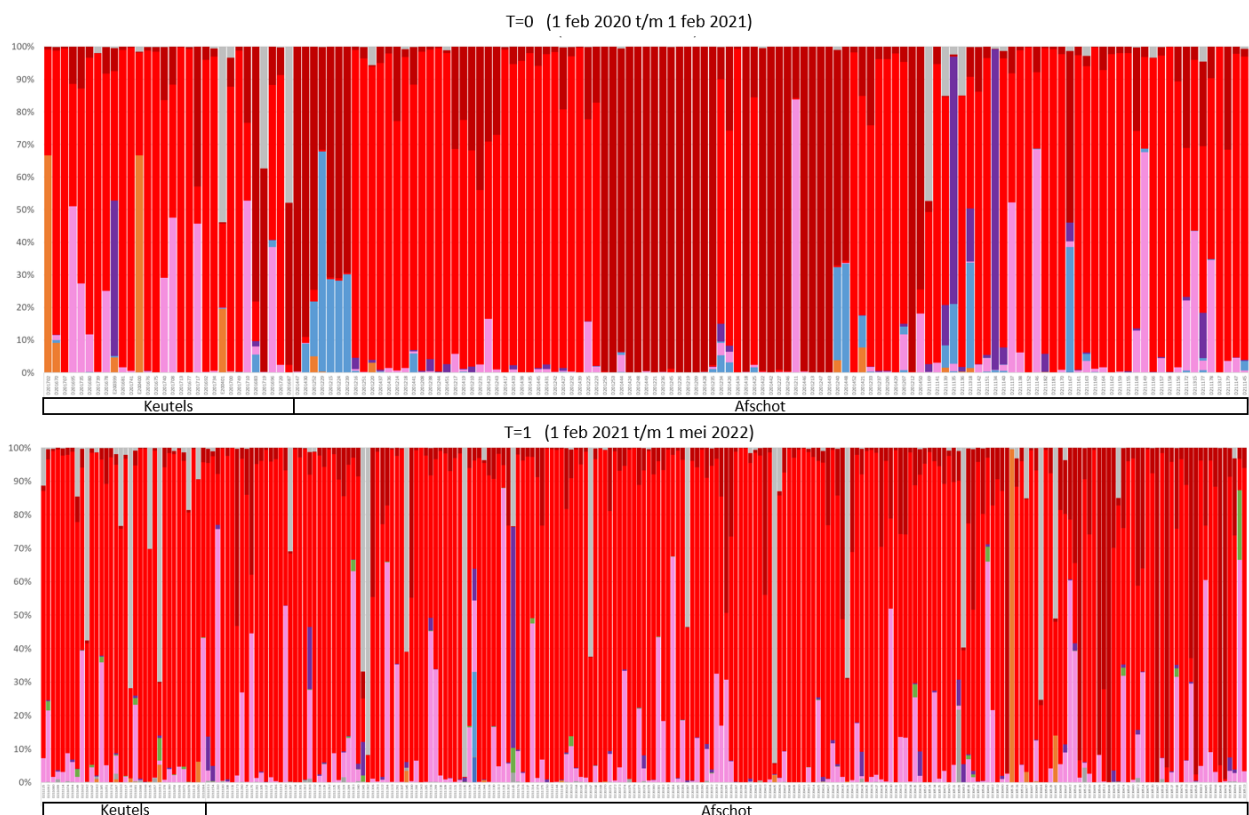


Figuur 3.4 Gemiddelde toewijzing aan negen verschillende genetische clusters, geïdentificeerd middels het programma STRUCTURE (negen verschillende kleuren), voor elk van de Nederlands, Duitse en Belgische populaties in de referentiedataset, en voor de keutel en weefselmonsters uit monitoringsjaar T0 en T1 verzameld te Stippelberg (laatste vier balken). Percentages geven de mate weer waarin een populatie aan een bepaald genetisch cluster werd toegewezen. De kleuren van de clusters komen overeen met de indeling zoals in Figuur 9 van De Groot et al. (2016), met uitzondering van het oorspronkelijke rode cluster, dat nu is opgesplitst in een donkerrode en een lichtrode variant.

De meeste van de nieuw verkregen profielen uit het studiegebied Stippelberg komen genetisch dus overeen met zijnen die zes tot tien jaar eerder in Stippelberg, Brabantse Peel en de Duitse Meinweg werden bemonsterd. Zoals reeds beschreven in De Groot et al. (2016) en eerder in Jansman et al. (2014), lijkt er een sterke genetische overeenkomst te bestaan tussen deze drie populaties, die wijst op onderlinge uitwisseling. Uit welk van deze gebieden de nieuw bemonsterde zijnen afkomstig zijn, is dan ook niet te zeggen. Deze sterke genetische overeenkomst maakt het niet mogelijk om nader te bepalen welk deel van de nieuwe aanwas in het gebied het resultaat was van immigratie van buitenaf en welk deel te verklaren is door lokale reproductie binnen het studiegebied.

Een deel van de nieuw bemonsterde zijnen werd tevens deels toegewezen aan het roze cluster, dat we vooral kennen uit het Nederlandse deel van de Meinweg en De Limburgse Peel (Figuur 3.4). Hetzelfde cluster was eerder ook al in mindere mate aanwezig in te Stippelberg en Duitse Meinweg. Wanneer we de toewijzing voor elk van de nieuw bemonsterde individuen apart weergeven (Figuur 3.5), valt op dat geen van de individuen uitsluitend aan het roze cluster wordt toegewezen. Er is telkens sprake van een gemixte genetische samenstelling waarin zowel het roze cluster als de rode clusters terugkomen. Hetzelfde geldt voor het oranje cluster (voorheen in Stippelberg, Leenderbos en Noord-Vlaanderen) dat, vermengd met het lichtrode cluster, voorkomt bij enkele zijnen die via keutels werden bemonsterd in het eerste monitoringsjaar (T0, Figuur 3.4). De lichtrode en donkerrode clusters komen zowel sterk dominant als gemengd voor. Opvallend is dat in het eerste jaar (T0) relatief vele individuen werden aangetroffen die bijna geheel aan het donkerrode cluster werden toegewezen, maar dat een jaar later (T1) slechts weinig individuen met deze toewijzing werden aangetroffen, op enkele in de laatste maanden van het jaar na (Figuur 3.4).

Al met al lijkt het erop dat al tien jaar geleden sprake was van regelmatige uitwisseling op regionaal niveau tussen Stippelberg en de Peel (zie ook Jansman et al., 2014), waarbij in de regio vier verschillende genetische clusters voorkomen en af en toe met elkaar mengen. De genetische samenstelling van de zwijnen bemonsterd te Stippelberg in 2020 en 2021 suggereert dat de meeste individuen voortkomen uit deze zelfde clusters en dus van regionale oorsprong zijn. Het feit dat per jaar de verhoudingen tussen clusters variëren, is een indicatie dat sprake is van een aanzienlijke turnover: groepen zwijnen lijken te verschijnen en binnen een jaar weer te verdwijnen. Deels kan dit het gevolg zijn van een jaarlijks hoge geboorte en sterfte, maar het is waarschijnlijk dat ook sprake is van aanzienlijke migratie van en naar het studiegebied. Dit vermoeden wordt versterkt door het aantreffen van enkele individuen met een vermoedelijke herkomst uit andere populaties in de omtrek: in het eerste jaar (T0) zijn enkele individuen aangetroffen die worden toegewezen aan het lichtblauwe cluster (bekend uit Kop van Limburg (Maasduinen)) of het paarse cluster (Vlaanderen, Wallonië), het jaar erna (T1) zijn er relatief veel individuen met een toewijzing aan het grijze cluster (eveneens Vlaanderen). De individuen met een gedeeltelijke toewijzing aan het oranje cluster of het roze cluster zouden van lokale herkomst kunnen zijn, maar kunnen ook nieuw zijn gearriveerd vanuit bijvoorbeeld Leenderbos of Meinweg.



Figuur 3.5 Gemiddelde toewijzing per individu (uniek genetisch profiel) bemonsterd in monitoringsjaar T0 (bovenste rij) en T1 (onderste rij). Profielen verkregen via keutels en via weefsels zijn apart weergegeven. Kleuren van clusters komen overeen met Figuur 3.4.

4 Discussie en aanbevelingen

4.1 Knelpunten in de data-verzameling

Verzamelen van keutels

In *Stippelberg* werd door Natuurmonumenten de bemonstering van keutels verricht. Het doel was om ongeveer 250 keutels per voorjaarsperiode te verzamelen om een gedegen indruk van de voorjaarsstand te kunnen verkrijgen. Dit is gedaan door in het aangewezen studiegebied zeven transecten, één per deelgebied, uit te zetten die met regelmaat moesten worden afgelopen. Hierbij zijn medewerkers en vooral ook vrijwilligers van Natuurmonumenten ingezet. In 2020 heeft deze voorgenomen werkwijze niet optimaal kunnen verlopen door maatregelen als gevolg van de corona-uitbraak (lockdowns, quarantaine etc.). Ook in 2021 bleef het aantal keutels achter bij het beoogde aantal. In 2020 werden 85 keutels bemonsterd, 34% van de gewenste 250. In 2021 betrof dat 106 keutels, 42% van de gewenste 250. Samengenomen werden 191 keutels verzameld, wat 38% betreft van de gewenste 500 monsters. Naast de coronaquarantaines zijn andere belangrijke oorzaken die Natuurmonumenten hiervoor heeft aangegeven de terughoudendheid om het terrein onnodig te verstoren, enerzijds om zwijnen met jongen niet onnodig op te jagen, anderzijds vanwege de (beleving van) veiligheid van medewerkers en vrijwilligers (zeugen met biggen kunnen agressief reageren). Daarnaast bleek het niet eenvoudig om keutels te vinden, ondanks dat er veel tijd in is gestoken, en zorgden twee warme voorjaren ervoor dat het moeilijk was om de ingedroogde keutels te beoordelen op versheid en daarmee geschiktheid voor DNA-onderzoek. Ondanks een verruiming van de verzamelperiode tot juli, bleef het aantal verzamelde keutels ver achter bij de gewenste ca. 250 per bemonsteringsperiode. Deze verruiming, gecombineerd met tomen biggen die al vroeg in het jaar geboren waren, maakte het uiteindelijk onmogelijk om de voorjaarsstand te bepalen.

Verzamelen van weefsel

Bij de opzet van het onderzoek is ingezet op gebruikmaking van bestaande structuren voor de verzameling van weefselmonsters; beide provincies hebben een zwartwildcoördinator aangesteld die elk dood zwijn controleert op wildziekten en tijdens deze procedure eenvoudig ook een weefselmonster kan nemen. Bij aanvang van het onderzoek werd echter duidelijk dat in dit landelijke systeem voor monitoring op wildziekten bij zwijnen voor deze provincies niet meer elk individu zou worden onderzocht, maar nog maar een steekproef. Dat betekende dat, in overleg met betrokkenen, de verzameling van weefsel via de WBE's en hun leden moest gaan lopen. Door verschillende oorzaken is dit niet optimaal verlopen. Het was niet direct bij iedereen duidelijk dat van valwild (aangereden dieren) een weefselmonster genomen moest worden en de bereidheid tot het uitvoeren van deze extra handeling varieerde. Een vergelijk van het aantal weefselmonsters in de onderzoeksperiode (februari 2020 tot mei 2022) met een uitdraai van het faunaregistratiesysteem (FRS) van FBE Noord-Brabant (WBE's Peelrand en Oploo-Wanroij, januari 2020 t/m 23 maart 2022) laat een verschil zien van 36 monsters in T0 (24% van het totaal aan afgeschoten zwijnen volgens FRS) en 31 monsters (13%) in T1. Dat verschil in aantal kan veroorzaakt worden door de niet exact gelijke periodes (bemonsteringsperiode vs. FRS-periode) en/of doordat van een aantal afgeschoten dieren geen monster voor analyse is aangeboden. In 18 gevallen ontbrak bij de monsters relevante informatie als datum en locatie en soms geslacht en leeftijd. Deze monsters konden wel genetisch onderzocht worden, maar niet meegenomen worden in de data-uitwerking.

Gevolgen voor het beantwoorden van de onderzoeksvragen

Voor studiegebied Heidse Peel maakte het ontbreken van een daadwerkelijke studiepopulatie het onmogelijk om de onderzoeksvragen te beantwoorden. Van dit gebied werd vooraf ingeschat dat er een kleine gesloten populatie aanwezig was, waarvoor de berekeningen van de populatieomvang haalbaar zouden zijn. Hierdoor bleef Stippelberg, het studiegebied met een relatief open populatie, over, waarvan vooraf al werd ingeschat dat de berekeningen het meest complex zouden worden. Voor deze populatie werd al ingeschat dat sprake zou zijn van aanzienlijke immigratie en emigratie (al vormt vliegveld De Peel direct ten oosten van het studiegebied een migratiebarrière vanwege het raster waar geen zwijnen door kunnen). Voor een modelmatige schatting van de populatieomvang is het belangrijk om de verschillende parameters in de populatiedynamiek (sterfte, emigratie, immigratie en geboorte) zo goed mogelijk te kunnen schatten. De

tegenvallende aantallen keutels en weefsels zorgen ervoor dat het in hoge mate onzeker is in hoeverre de zeer lage aantallen terugvangsten tussen tijdsperioden daadwerkelijk zijn veroorzaakt doordat eerder waargenomen individuen op een later moment afwezig waren of dat ze over het hoofd zijn gezien.

Slagingskans van de genetische analyse

De kans dat een verzamelde keutel daadwerkelijk een bruikbaar genetisch profiel opleverde, was in beide monitoringsjaren 46%. De kwaliteit van het DNA uit keutels is altijd relatief laag vergeleken met weefselmateriaal en vergelijkbare slagingskansen zijn bekend van genetische analyses voor de Nederlandse otterpopulatie (Kuiters et al., 2020). Voor terrestrische herbivoren zoals edelherten en damherten is de slagingskans meestal aanzienlijk hoger (De Groot, 2021). Deze vrij lage slagingskans betekent dat in populatie-genetische studies op basis van zwijnenkeutels aanzienlijk meer keutels moeten worden verzameld om alle individuen succesvol te bemonsteren: idealiter tweemaal zoveel. Hiermee werd in de onderzoeksopzet rekening gehouden door in te zetten op het verzamelen van 5 keutelmonsters per individu, op basis van de vooraf ingeschatte aantallen per studiegebied, resulterend in 250 keutels per studiegebied per jaar. Dit aantal kon in de praktijk echter niet worden gerealiseerd.

4.2 Knelpunten in het beantwoorden van de onderzoeksvragen

Hoewel zwijnen mobiel kunnen zijn, kennen de meeste zwijnen normaliter een homerange, oftewel een eigen gebied waar ze zich hoofdzakelijk ophouden gedurende een langere periode (Briedermann, 2009). Redenen om zich te verplaatsen of te gaan zwerven, kunnen zijn voedsel (bijvoorbeeld de mais wordt eetbaar of de mast gaat vallen), gedrag (bijvoorbeeld onderlinge competitie, elders een partner of leefgebied zoeken), maar ook beheer (lokaal intensief afschot waardoor dieren hun heil elders zoeken).

De bevinding in ons onderzoek dat dieren die in het eerste jaar zijn vastgesteld een jaar later vrijwel zonder uitzondering niet meer worden aangetroffen, zowel niet in leven (via uitwerpselen) als dood (via weefsel), is slechts verklaarbaar door ofwel een zeer hoge regionale mobiliteit (waarbij vrijwel alle individuen kort nadat ze zijn waargenomen het studiegebied alweer verlaten), ofwel een zeer incomplete bemonstering. Immers, indien sprake zou zijn van een lokaal gevestigde populatie zouden deze dieren herhaaldelijk opnieuw via keutels moeten zijn aangetroffen. Als sprake zou zijn van een dusdanig hoge jachtdruk dat jaarlijks vrijwel de gehele populatie wordt geschoten (en het gebied vervolgens middels immigratie wordt herbevolkt), zouden vrijwel alle via keutels waargenomen dieren ook in de weefselmonsters van afschot teruggevonden moeten zijn. Dit is hier echter niet het geval. Bij beheerde zwijnenpopulaties zoals op de Veluwe, heerst de indruk dat jaarlijks een substantieel deel van de populatie wordt geschoten, soms >80% (Faunabeheereenheid Gelderland (FBE), 2018). Ook uit een Vlaamse studie bleken populatiebeheer en verkeer met 85% respectievelijk 13% de belangrijkste doodsoorzaken voor zwijnen (Pallemmaerts et al., 2022). Middels beheer kan de populatie stabiel worden gehouden op de gewenste voorjaarsstand. Ook in de regio Stippelberg is de indruk van de terreinbeheerder dat de stand stabiel wordt gehouden door het regionale intensieve beheer. Voor Stippelberg geldt dat, indien circa 70% van de populatie jaarlijks wordt geschoten, de verwachting is dat van de 64 unieke DNA-profielen uit keutels er toch minimaal 45 als afschot zouden worden teruggevonden. Dit waren er slechts 6 (9%).

De **belangrijkste oorzaak** voor het niet kunnen beantwoorden van de onderzoeksvragen ligt dan ook in het te **geringe aantal monsters**, zowel keutel- als weefselmonsters, die noodzakelijk zijn voor een betrouwbare CMR-studie.

Daarnaast kunnen nog andere factoren een rol spelen.

- Ten eerste zou de **populatie groter** kunnen zijn dan initieel ingeschat. Dit maakt dat de kans dat een dier een jaar later alsnog wordt herbemonsterd kleiner is. Dichtheden van wilde zwijnen worden op basis van de inschattingen van de terreinbeheerder voor de hele Stippelberg geschat op ca. 5 individuen/100 ha (ca. 80 zwijnen op 1500 ha). ENETWILD-consortium (2022) geeft in hun review dichtheden weer van 4,8 +/- 5.1 zwijnen/100 ha jaarrond, in de winter zijn dichtheden gemiddeld ca. 2,7 +/- 2,7 zwijnen/ 100ha. Op de Veluwe en de Meinweg bedragen de dichtheden ca. 3-4/100 ha (Groot Bruinderink et al., 2007).

Homerange-groottes variëren en zijn afhankelijk van de hoeveelheid dekking en voedsel in een gebied (Groot Bruinderink et al., 2007). In een agrarisch mozaïek landschap rondom het meer van Geneve hadden zwijnen (subadulte mannen, subadulte en adulte vrouwen) kleine gemiddelde homeranges van $3,7 \pm 0,8 \text{ km}^2$ (95%MCP; range 0,05-126,33) (Fattebert et al., 2017). Het kerngebied in de homerange was gemiddeld $1,0 \pm 0,4 \text{ km}^2$ (50%MCP; range 0,01-72,68). ENETWILD-consortium (2022) geeft in hun review een homerange-grootte (Kernel 50/95%) voor keilers van $4,6 \pm 5,6$ tot $8,7 \pm \text{n.a. km}^2$ en voor zeugen van $0,2 \pm 0,1$ tot $3,3 \pm 4,0 \text{ km}^2$. De homerange op basis van de MCP is voor keilers $4,5 \pm$ en voor zeugen $2,9 \pm 3,3 \text{ km}^2$. Voor Stippelberg zouden in de ca. 1500 ha dan ca. 3 homeranges van zeugen passen met ca. 45 individuen in de nawinter (ENETWILD-consortium2022). Dit komt overeen met ca. 3 zwijnen/100 ha, een dichtheid die overeenkomt met die in de Meinweg of de Veluwe. Het lijkt dus niet aannemelijk, op basis van dichtheden en homerange-groottes in andere gebieden, dat er bij Stippelberg sprake is van veel hogere dichtheden dan de 5/100ha zoals deze nu worden ingeschat door de terreinbeheerder.

- Ten tweede zou sprake kunnen zijn van een zeer **grote regionale mobiliteit**, waarbij steeds verschillende individuen in het studiegebied verschijnen en korte tijd later weer verdwijnen, en waarbij afstanden tot ver buiten het studiegebied worden overbrugd. Het terreingebruik van een rotte wordt meestal bepaald door de leidzeug, soms splitsen de rottes 's nachts op om overdag weer samen te komen (Hebeisen, 2007; Keuling et al., 2008). Het sociale systeem van zwijnen is matrilineaal, waarbij sommige homeranges generaties lang worden overgedragen van moeder op dochter. Ca 20% van de jaarlingen in een populatie blijft niet bij de moeder en disperseert (Kaminski et al., 2005; ENETWILD-consortium2022). Dispersieafstanden zijn veelal laag, met 5-15 km, waarbij voor minder dan 2% van de populatie uitschieters naar 250 km kunnen voorkomen (Truve en Jemel, 2003; Truve, 2004; Groot Bruinderink et al., 2007; ENETWILD-consortium2022). Ook de dagelijks afgelegde afstand binnen homeranges is niet zeer groot, afgelegde afstanden liggen in de orde van grootte van 3-12 km/dag (Morelle et al., 2015). Voor de in ons studiegebied middels keutels waargenomen individuen betekent dit dat de rest van hun homerange alsnog binnen de bredere regio zou moeten hebben gelegen waarbinnen wel het afschot werd bemonsterd, en de individuen dus alsnog in later stadium op die wijze zouden moeten zijn waargenomen. Aangezien er in de Stippelbergregio, binnen en rondom het onderzoeksgebied, adulte dieren zijn geschoten naast biggen en overlopers, lijkt het niet waarschijnlijk dat hier alleen dieren voorkomen zonder permanente homerange. De meeste dieren waarvan weefselmonsters werden genomen, zijn binnen ca. 2 km van het studiegebied geschoten. Wilde zwijnen kunnen zeer snel grote arealen met geschikt leefgebied innemen, waarbij binnen één jaar de grens van het areaal met 100 km kan opschuiven (Groot Bruinderink et al., 2007). Deze verschuiving is waarschijnlijk terug te voeren op dispersie van individuen en niet van massale populatiemigraties. Massamigratie door voedseltekort van wilde zwijnen werd waargenomen in Rusland en Polen, waarbij rotten met aantallen tot 100 zeugen over afstanden van meer dan 100 km migreerden (Rusland) of de hele populatie het bosgebied verliet om op aangrenzende landbouwgrond te foerageren (Polen; Briedermann, 2009). Voedseltekorten in de Stippelbergregio lijken echter niet waarschijnlijk.
- Ten derde zouden door afschot rottes uit elkaar kunnen vallen en **nieuwe dieren** het gebied bevolken. Wanneer de leidzeug wordt geschoten, kan het sociale verband worden verbroken en breekt de rotte soms op (Hebeisen, 2007). Onbekend is in hoeverre met het huidige beheer leidzeugen worden geschoten waardoor rottes uit elkaar vallen in het onderzoeksgebied en er sprake is van een continu komen en gaan van zwijnen, maar het lijkt niet aannemelijk dat dit steeds en op grote schaal het geval is.
- Ten vierde zouden dieren die bij de keutelbemonstering worden aangetoond niet opduiken bij de reguliere bemonstering van valwild en afschot indien er sprake zou zijn van **ongeregistreerd afschot**. Uit het Faunaregistratiesysteem bleek dat er incidenteel ongeregistreerd afschot (in FRS aangeduid met 'stroperij' of 'anders') in de regio is vastgesteld, maar onduidelijk is of en op welke schaal dit een rol speelt.

Het niet realiseren van voldoende onderzoeksmonsters maakt dat aan de randvoorwaarden van een CMR-studie niet is voldaan.

4.3 Haalbaarheid van genetische schatting van populatieomvang en -dynamiek

Het gelijktijdig schatten van populatieomvang en -dynamiek is eigenlijk alleen mogelijk indien zeer waarschijnlijk het overgrote deel van de populatie te bemonsteren is. In dat geval vertegenwoordigt het aantal waargenomen individuen de daadwerkelijke stand. Terugvangsten tussen twee monitoringsjaren

geven dan inzicht in minimale overleving, ontbrekende individuen in het laatste jaar vertegenwoordigen sterfte en/of emigratie en nieuwe individuen in het laatste jaar vertegenwoordigen geboorte en/of immigratie. Indien tevens natuurlijk gestorven en geschoten dieren met zekerheid zijn bemonsterd, kan de verhouding tussen sterfte en emigratie worden geschat. De beschikbaarheid van profielen van zo veel mogelijk lokaal aanwezige potentiële ouderdieren maakt tevens een ouderschapsanalyse mogelijk voor nieuwe individuen, zodat ook geboorte kan worden geschat.

Indien slechts een beperkt gedeelte van de populatie is bemonsterd, is het gelijktijdig vaststellen van al deze populatiedynamiek-parameters op basis van genetische data uit een enkel studiegebied echter zeer lastig tot onmogelijk. Waarden voor deze parameters zijn echter wel een basisvereiste voor vangst-merk-terugvangst-modellen om op betrouwbare wijze een populatieomvang te schatten. Indien aannemelijk te maken is dat sprake is van een geheel gesloten populatie (bijvoorbeeld omdat het studiegebied middels een omheining is afgesloten van de buitenwereld) kunnen de parameters immigratie en emigratie op nul worden gesteld, en kan op basis van waargenomen aantallen nakomelingen en doodvondsten een schatting worden gemaakt van geboorte en sterfte.

Indien (mogelijk) sprake is van een open populatie, zal aanvullend onderzoek nodig zijn om emigratie en immigratie te schatten. Dit kan in principe alsnog via populatie-genetisch onderzoek, door genetische profielen te verzamelen voor zo veel mogelijk populaties in de regio en vervolgens op basis van paarsgewijze genetische verschillen de migratie tussen populaties te schatten (Broquet & Petit, 2009). Een niet-genetisch alternatief is een studie met gezenderde zwijnen, waarbij echter wel voldoende individuen moeten worden gevolgd.

In de huidige studie maakte de combinatie van onzekerheid over de volledigheid van de bemonstering en het vrijwel ontbreken van terugvangsten het onhaalbaar om tot een goede schatting van populatieomvang en/of dynamiek te komen.

4.4 Aanbevelingen

- Met de opgedane kennis van dit onderzoek en de haalbaarheid van monsterverzameling in het veld is een populatieomvang-schatting via non-invasieve genetica op de in dit onderzoek uitgevoerde manier niet aan te bevelen. Daarvoor zijn er te veel factoren die de uitkomsten (negatief) kunnen beïnvloeden. Het is dan ook aan te bevelen om een conventionele CMR- methode toe te passen, waarbij dieren daadwerkelijk worden gevangen en gemerkt om meer zicht te krijgen op de populatieomvang (bijvoorbeeld met oormerken, eventueel in combinatie met enkele gezenderde dieren).
- Met het oog op preventie van wildziekten is het op korte termijn belangrijk om de dynamiek (onder andere migratie, turnover, actieradius, homerange) in deze regio beter te kunnen duiden. Dit kan door enkele zwijnen met een zender uit te rusten (telemetry) en ze te volgen. Ook kan een vangst-merk-terugvangst-studie daarin deels voorzien. Dergelijk onderzoek is ook met name relevant voor het uitwerken van een populatiebeheerplan, vooral in situaties dat zich een uitbraak van een relevante dierziekte onder wilde zwijnen voordoet. Via conventionele CMR-methoden en/of zenders is hier wellicht meer zicht op te krijgen. Dit is noodzakelijk, omdat de ruimtelijke genetische variatie onvoldoende is om per individu migratie van A naar B vast te stellen binnen de regio.
- Als op basis hiervan de verschillende onderdelen van de dynamiek beter te schatten zijn, kan een nieuwe poging worden gedaan tot populatieschatting. Aanzienlijke intensivering van de bemonstering is dan van belang. Centrale regio en wellicht gestandaardiseerde bemonstering door direct projectbetrokkenen kan daarbij aangewezen zijn.
- Indien de voorjaarsstand bepaald moet worden, is het relevant om bij de afbakening van de onderzoeksperiode – indien mogelijk – rekening te houden met vroege voorjaarsreproductie door mast en klimaat.
- Om een betere indicatie te krijgen van de trend in de populatieomvang en -ontwikkeling, is naast het gebruik van de afschotcijfers het uitvoeren van een nauwkeurige voorjaarstelling aan te bevelen.

Literatuur

- Briedermann, L., 2009. Schwarzwild. Kosmos Verlag, Stuttgart.
- Brogi R., M. Apollonio, F. Brivio, E. Merli & S. Grignolio, 2022. Behavioural syndromes going wild: individual risk-taking behaviours of free-ranging wild boar. *Animal Behaviour* 194 (2022): 79-88.
- Broquet T, Petit EJ. Molecular estimation of dispersal for ecology and population genetics. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 2009;40:193-216.
- De Groot, G. A., Jansman, H. A. H., & Hofmeester, T. R., 2014. Verwantschap en herkomst van de Limburgse populaties van het Wild zwijn. *Natuurhistorisch Maandblad*, 103(7),177-182.
<https://edepot.wur.nl/399321>.
- De Groot, G.A., G-J. Spek, J. Bovenschen, I. Laros, T. van Meel, J.F. de Jong & H.A.H. Jansman, 2016. Herkomst en migratie van Nederlandse edelherten en wilde zwijnen; Een basiskaart van de genetische patronen in Nederland en omgeving. Alterra-rapport 2724. Alterra, Wageningen UR, Wageningen.
- De Groot, G.A. (2021) Genetische variatie binnen en tussen damhertpopulaties in de Waterleidingduinen en NP Zuid Kennemerland. Notitie, Wageningen, Wageningen UR.
- EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW), 2018. African swine fever in wild boar. doi: 10.2903/j.efsa.2018.534ENETWILD- consortium, 2022. Wild boar density data generated by camera trapping in nineteen European areas. EFSA publication. [zie ook Pascual-Rico hieronder].
- Fattebert J., E. Baubet, R. Slotow & C. Fisher, 2017. Landscape effects on wild boar home range size under contrasting harvest regimes in a human-dominated agro-ecosystem. *Eur J Wildl Res* 63: 32.
- Faunabeheereenheid Gelderland (FBE) 2018: Faunabeheerplan Grote Hoefdieren FBE Gelderland 2019-2025. Faunabeheereenheid Gelderland, Deventer.
- Fickel, J., Hohmann, U. A methodological approach for non-invasive sampling for population size estimates in wild boars (*Sus scrofa*). 2005 *Eur J Wildl Res* 52, 28-33 (2005).
- Freeland J.R., H. Kirk & S. Petersen (2011) *Molecular Ecology*. New Jersey, USA, John Wiley & Sons Ltd.
- Groot Bruinderink, G., E. Van der Grift 2015: Populatiebeheer van wilde hoefdieren: nog niet goed op orde. Vakblad Natuur Bos Landschap, december 2015.
- Groot Bruinderink, G.W.T.A., C.J. de Vos, D.R. Lammertsma, G.J. Spek, R. Pouwels, A.J. Griffioen & T.J.A. Gies 2007. Robuuste verbindingen en wilde hoefdieren. Verwachte aantallen hoefdieren en mogelijke overlast voor de landbouw, het verkeer en de diergezondheid. Alterra-rapport 1506, Wageningen.
- Groot Bruinderink, G.W.T.A., D.R. Lammertsma, G.A.J.M. Jagers op Akkerhuis, W. Ozinga, A.H.P. Stumpel, J.M. Baveco, & R.W. de Waal 2009. Ex ante evaluatie van maatwerk beheer van wilde zwijnen. Alterra rapport 1944, Wageningen UR.
- Groot Bruinderink, G.W.T.A., P.W. Goedhart, D.R. Lammertsma & J.J.A. Dekker 2013. Schadeveroorzakende zoogdiersoorten in Nederland. Inzicht in de betrouwbaarheid van aantalsbepalingen. Alterra-rapport 2426, Wageningen.
- Hampton J.O., P.B.S. Spencer, D.L. Alpers, L.E. Twigg, A.P. Woolnough, J. Doust, T. Higgs & J. Pluske (2004) Molecular techniques, wildlife management and the importance of genetic population structure and dispersal: a case study with feral pigs. *Applied Ecology* 41: 735-743.
- Hebeisen, C. 2007. Population size, density and dynamics, and social organization of wild boar (*Sus scrofa*) in the Basin of Geneva. Thesis Universite de Neuchatel, Faculte des sciences.
- Jansman, H. A. H., Mergeay, J., van der Grift, E. A., de Groot, G. A., Lammertsma, D. R., Van Den Berge, K., Ottburg, F. G. W. A., Gouwy, J., Schuiling, R., Van der Veken, T. & Nowak, C., 2021, Wageningen: Wageningen Environmental Research. De wolf terug in Nederland – een factfinding studie. WENR-rapport 3107, Wageningen, Wageningen UR.
- Jansman, H. A. H., Hofmeester, T. R., de Groot, G. A., Laros, I., Bovenschen, J., Speelman, M., van der Hout, J. J., Casaer, J., Breyne, P. & Koelewijn, H. P., 2013, Genetica van wilde zwijnen in Limburg en Noord-Brabant: verspreiding, herkomst en verwantschap. Alterra-rapport 2404, Wageningen, Wageningen UR. rr.
- Kaminski, G., S. Brandt, E. Baubet & C. Baudoin 2005. Life-history patterns in female wild boars (*Sus scrofa*): mother-daughter postweaning associations. *Can. J. Zool.* 83: 474-480.


-
- Kendall, W.L., & J. D. Nichols 2010. On the use of secondary capture-recapture samples to estimate temporary emigration and breeding proportions J. Applied Statistics, volume 22,p751-762.
- Keuling, O., N. Stier & M. Roth 2008. How does hunting influence activity and spatial usage in wild boar *Sus scrofa* L.? Eur. J. Wildl. Res. 54: 729-737.
- Kuiters, A. T., de Groot, G. A., Lammertsma, D. R., Jansman, H. A. H. & Bovenschen, J., 2020, Genetische monitoring van de Nederlandse otterpopulatie: Ontwikkeling van populatieomvang en genetische status 2019/2020. Wageningen: Wettelijke Onderzoekstaken Natuur & Milieu. 70 p. (WOt-technical report; no. 188).
- Morelle et al 2015. Towards understanding wild boar *Sus scrofa* movement: a synthetic movement ecology approach. Mammal Review 45 (2015) 15–29.
- Morelle et al. 2015. Towards understanding wild boar *Sus scrofa* movement: a synthetic movement ecology approach. Mammal Review 45(1): 15-29. <https://doi.org/10.1111/mam.12028>.
- Pallemmaerts, L., Van Daele, T., Rutten, A., & Casaer, J. (2022). Een geactualiseerd populatiemodel voor het everzwijn in Vlaanderen en afgeleide afschotrichtlijnen. (Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek; Nr. 8). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek.
- Pascual-Rico R, Acevedo P, Apollonio M, Blanco-Aguilar JA, Body G, del Rio L, Ferroglio E, Gomez A, Keuling O, Plis K, Podgórski T, Preite L, Ruiz-Rodríguez C, Scandura M, Sebastian M, Soriguer R, Smith GC, Vada R, Zanet S, Vicente J, Carpio A, (ENETWILD-consortium) 2022. Wild boar ecology: a collection of wild boar ecological and population dynamics parameters by bioregion all over Europe. 2022:EN-7211. 27 pp. doi:10.2903/sp.efsa.2022.EN-7211.
- Pritchard J.K., M. Stevens & P. Donnelly (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155: 945-959.
- Truvé, J. & Lemel, J. 2003: Timing and distance of natal dispersal for wild boar *Sus scrofa* in Sweden. - Wildl. Biol. 9 (Suppl. 1): 51-57.
- Truve, J. 2004. Pigs in space: Movement, dispersal and geographic expansion of wild boar in Sweden. Dissertatie Goteborg University.
- Van der Grift, E. 2018: Faunabeheer: waar is de wetenschap"? Vakblad Natuur Bos Landschap, november #149 p4-7 in: https://vakbladnbl.nl/wp-content/uploads/VNBL_nov2018_def.pdf.
- VWV 2022. Jaarrapportage grofwild 2020-2021. Nieuwsbrief nr 47.

Wageningen Environmental Research
Postbus 47
6700 AA Wageningen
T 0317 48 07 00
wur.nl/environmental-research

Wageningen Environmental Research
Rapport 3282
ISSN 1566-7197



De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 7.600 medewerkers (6.700 fte) en 13.100 studenten en ruim 150.000 Leven Lang Leren-deelnemers behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.



To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life

Wageningen Environmental Research
Postbus 47
6700 AB Wageningen
T 0317 48 07 00
wur.nl/environmental-research

Rapport 3282
ISSN 1566-7197

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 7.600 medewerkers (6.700 fte) en 13.100 studenten en ruim 150.000 Leven Lang Leren-deelnemers behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

