



Ondersteuningsproject bij de uitvoering van de reemonitoring in het Zoniënwoud

Jaarlijks rapport - Referentieperiode: 2008 - 2022

Lynn Pallemarts, Niko Boone, Sander Devisscher, Frank Huysentruyt, Alain
Licoppe, Céline Malengreaux, Jan Vercammen, Jim Casaer

September 2022

INSTITUUT
NATUUR- EN
BOSONDERZOEK

AGENTSCHAP
NATUUR & BOS



bruxelles
environnement
leefmilieu
brussel
.brussels



Wallonie

SPW

Service public de Wallonie

Auteurs:

Lynn Pallemaerts , Niko Boone, Sander Devisscher , Frank Huysentruyt , Alain Licoppe , Céline Malengreaux, Jan Vercammen, Jim Casar 

Reviewers:

Patrick Huvenne, Stéphane Vanwijnsberghe, Damien Bauwens

Het INBO is het onafhankelijk onderzoeksinstituut van de Vlaamse overheid dat via toegepast wetenschappelijk onderzoek, data- en kennisontsluiting het biodiversiteitsbeleid en -beheer onderbouwt en evalueert.

Vestiging:

INBO Brussel

Herman Teirlinckgebouw, Havenlaan 88 bus 73, 1000 Brussel

vlaanderen.be/inbo

e-mail:

lynn.pallemaerts@inbo.be; alain.licoppe@spw.wallonie.be

Wijze van citeren:

Pallemaerts et al. (2022). Ondersteuningsproject bij de uitvoering van de reemonitoring in het Zoniënwoud. Jaarlijks rapport - referentieperiode: 2008-2022. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2022 (20). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel. DOI:

<https://doi.org/10.21436/inbor.83249945>

D/2022/3241/230

Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2022 (20)

ISSN: 1782-9054

Verantwoordelijke uitgever:

Maurice Hoffmann

Foto cover:

Reeën in het Zoniënwoud. Foto door Jan Vercammen.

Dit onderzoek werd uitgevoerd in samenwerking met:

Département de l'Etude du milieu naturel et agricole – DEMNA

Service Publique de Wallonie - SPW

Avenue Maréchal Juin 23

5030 Gembloux



ONDERSTEUNINGSPROJECT BIJ DE UITVOERING VAN
DE REEMONITORING IN HET ZONIËNWOU

Jaarlijks rapport - referentieperiode: 2008-2022

Lynn Pallemarts, Niko Boone, Sander Devisscher, Frank Huysentruyt, Alain Licoppe, Céline Malengreaux, Jan Vercammen, Jim Casaer

<https://doi.org/10.21436/inbor.83249945>

Dankwoord

Het uitvoeren van de tellingen waarover gerapporteerd wordt in dit rapport, was niet mogelijk zonder de inzet van talloze vrijwilligers afkomstig uit allerlei organisaties en verenigingen. We willen dan ook iedereen bedanken voor de medewerking.

Voor de hulp bij de praktische organisatie bedanken we graag iedereen die hieraan meewerkte bij het Agentschap voor Natuur- en Bos (ANB), Leefmilieu Brussel (BIM), de Service Public de Wallonie (SPW) en het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek (INBO).

Inhoudsopgave

Dankwoord	1
Inhoudsopgave	2
1 Inleiding	3
2 De kilometerindex (KI) in het Zoniënwoud	4
2.1 Methodologie	4
3 Resultaten	6
3.1 Aantal kilometer parcours afgelegd	6
3.2 Maximaal en minimaal aantal waargenomen reeën per jaar	6
3.3 Evolutie van de kilometerindex van 2008 tot 2022	6
3.4 Evolutie van de kilometerindex per parcours in 2022	8
3.5 Duur van de tellingen	10
3.6 Oorzaken van de daling in het aantal reeën waargenomen per jaar sinds 2014	10
3.6.1 Lager aantal reeën	10
3.6.2 Verandering van de zichtbaarheid op de trajecten	11
3.7 Stabilisatie van het aantal waargenomen reeën	11
4 Schatting van de reepopulatie met behulp van <i>distance sampling</i>	13
4.1 Inleiding	13
4.2 Methode	13
4.3 Resultaten	13
4.4 Discussie	15
5 Conclusies	17
Referenties	18
A Bijlage	19
B Projectvoorstellen	20
C Stressbepaling bij <i>Capreolus capreolus</i>	22
C.1 Fysiologie et mesure du stress	22
C.2 Rappel sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et la production de glucocorticoïdes	22
C.3 Méthodes de mesure non invasives	22
C.4 Biais de mesure	23
C.5 Protocoles	23

1 INLEIDING

Reeën (*Capreolus capreolus*) zijn een van de grootste zoogdieren in het Zoniënwoud. De soort is in elk deel van het woud aanwezig, maar met wisselende dichtheden.

Om een zicht te krijgen op de evolutie van de reepopulatie in het volledige Zoniënwoud, dus over de drie gewesten heen, voeren het Agentschap voor Natuur- en Bos (ANB), Leefmilieu Brussel (BIM), de Service Public de Wallonie (SPW) en het INBO sinds 2008 jaarlijks systematische tellingen uit in het Zoniënmassief. Tot en met 2020 stond de vzw Wildlife & Man in voor de voorbereidende studies en de jaarlijkse terugkoppelingsmomenten. Sinds 2022 worden de terugkoppelingsmomenten georganiseerd door de Stichting Zoniënwoud.

Het is al lang gekend dat het tellen van het aantal aanwezige reeën in een gebied niet mogelijk of moeilijk haalbaar is. Veranderingen of trends binnen een reepopulatie zijn daarentegen wel op te volgen. Wetenschappelijk onderzoek uit Frankrijk toonde aan dat de kilometerindex methode (KI) toelaat om met zekerheid te bepalen of een reepopulatie in een gegeven bosgebied toeneemt, afneemt of stabiel blijft. Deze methode werd in het Zoniënwoud in 2008 opgestart ([Vercammen et al., 2011](#)).

Dit rapport omvat een korte beschrijving van de KI-methodologie en geeft de resultaten weer voor de periode 2008-2022. Het rapport is een vervolg op gelijkaardige rapporten uit voorgaande jaren.

2 DE KILOMETERINDEX (KI) IN HET ZONIËNWOU

2.1 METHODOLOGIE

Het principe van de kilometerindex bestaat erin jaarlijks een aantal vaste parcours (figuur 2.1) af te stappen en het aantal waargenomen reeën langs het parcours te tellen. Door vervolgens het aantal reeën te delen door de afgelegde afstand, bekom je een relatieve kilometerindex (het aantal geobserveerde reeën per kilometer).

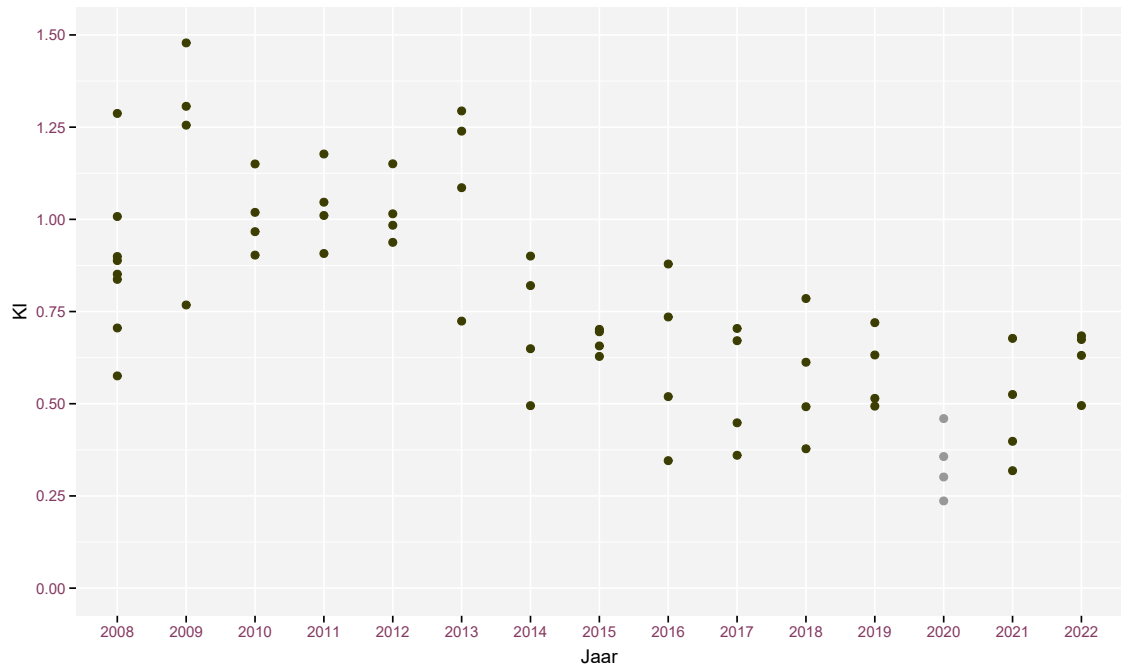
Om uit de index op een statistisch verantwoorde manier conclusies te trekken, zijn jaarlijks minstens 3 à 4 telseessies noodzakelijk. Die worden liefst binnen een zo kort mogelijke periode uitgevoerd. Gedurende elke telseessie worden alle parcours afgestapt. Dat gebeurt bij voorkeur simultaan op dezelfde ochtenden of avonden.

Na elke telseessie wordt eerst de kilometerindex per parcours berekend en vervolgens de gemiddelde kilometerindex over alle parcours. Door deze procedure een aantal keer per jaar te herhalen, wordt een jaarlijks gemiddelde bekomen. Op dit gemiddelde kan een betrouwbaarheidsinterval worden berekend. Deze manier van werken laat toe om op een statistisch verantwoorde manier de gemiddelden over een tijdsperiode te vergelijken.

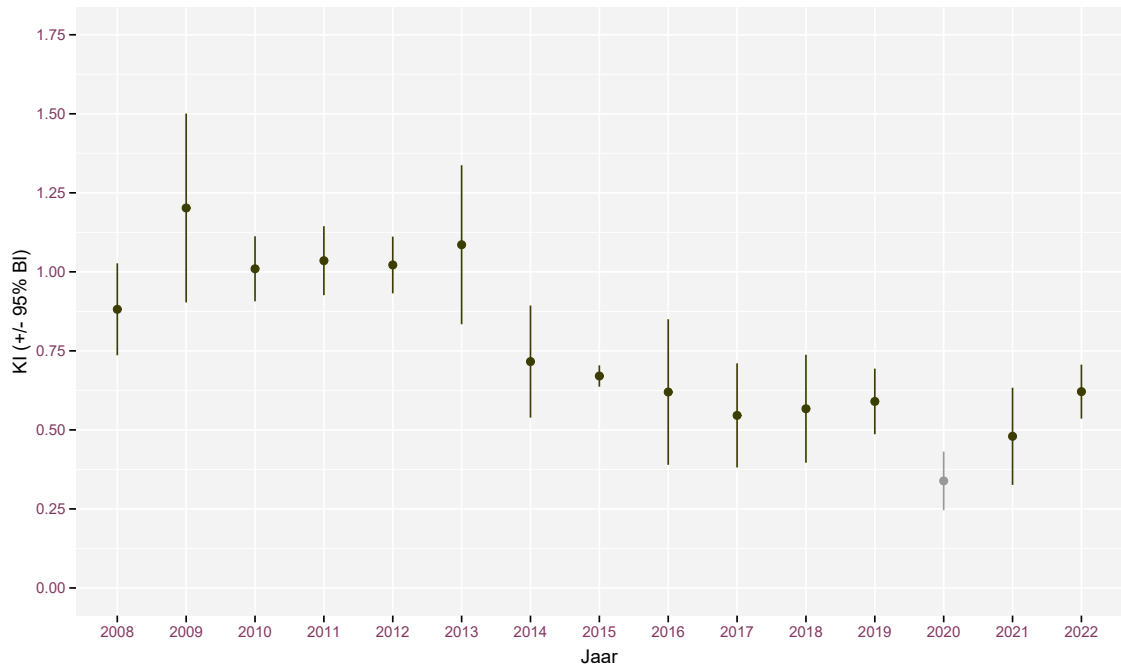
Voor meer informatie over deze methode verwijzen we naar Malengreaux & Casaer (2008). Vroegere resultaten vind je terug in het rapport 'Reewildtellingen' (Vercammen *et al.*, 2011), de daaropvolgende verslagen op de website van het INBO (<http://www.inbo.be>) en onder de hoofding "Documenten" op de website <http://www.wildlifeandman.be>. Het meest recente rapport kan je ook telkens in digitale vorm terugvinden op de publicatiepagina van de onderzoeksgroep Faunabeheer en Invasieve soorten van het INBO (<https://inbo.github.io/fis-reports/>).



Figuur 2.1: Overzicht van de verschillende telparcours in het Zoniënwoud. Parcours nummer 1 werd enkel in 2008 geteld.



Figuur 3.1: Kilometerindex per telsessie voor de periode 2008-2022 (in 2008 vonden 8 telsessies plaats, vanaf 2009 werden per jaar 4 telsessies georganiseerd).



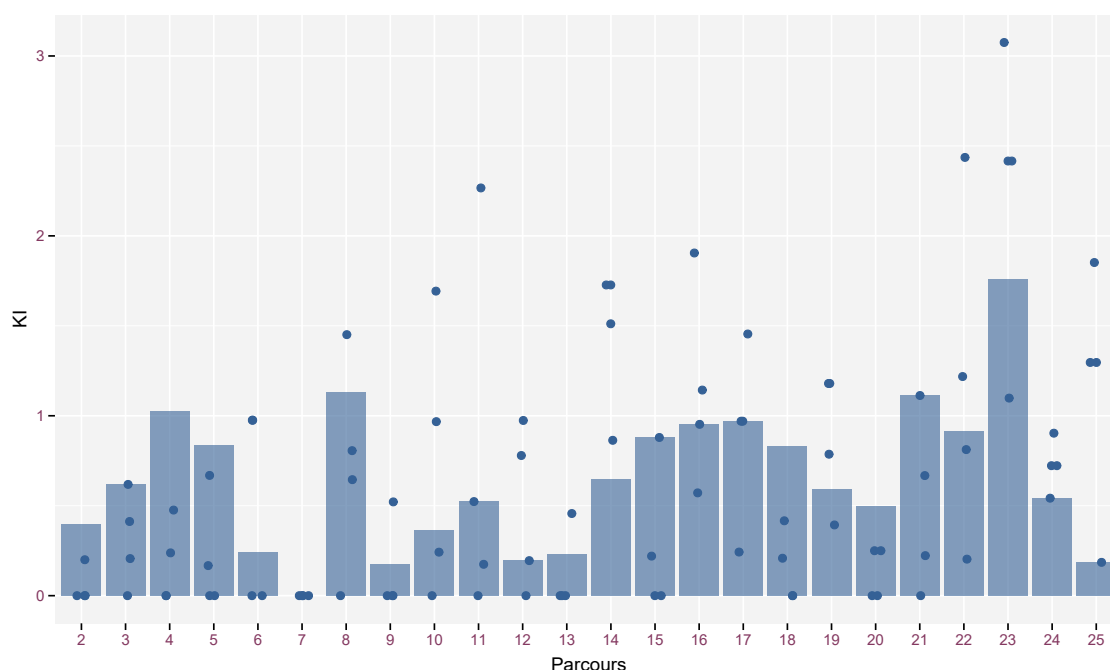
Figuur 3.2: Overzicht van de gemiddelde kilometerindex per jaar voor de periode 2008-2022.

2020 was door de coronamaatregelen een uitzonderlijk jaar en het lage aantal tellingen bemoeilijkt de vergelijking met andere jaren (zie 3.1). Uit de significant lagere waarde (0.33) konden we dus geen conclusies trekken. De gemiddelde waarde in 2022 (0.62) ligt opnieuw op een vergelijkbaar niveau als die van 2019 (0.59). Dit bevestigt de hypothese dat, in de periode 2014-2022, de populatie reeën op een constant lager niveau blijft.

3.4 EVOLUTIE VAN DE KILOMETERINDEX PER PARCOURS IN 2022

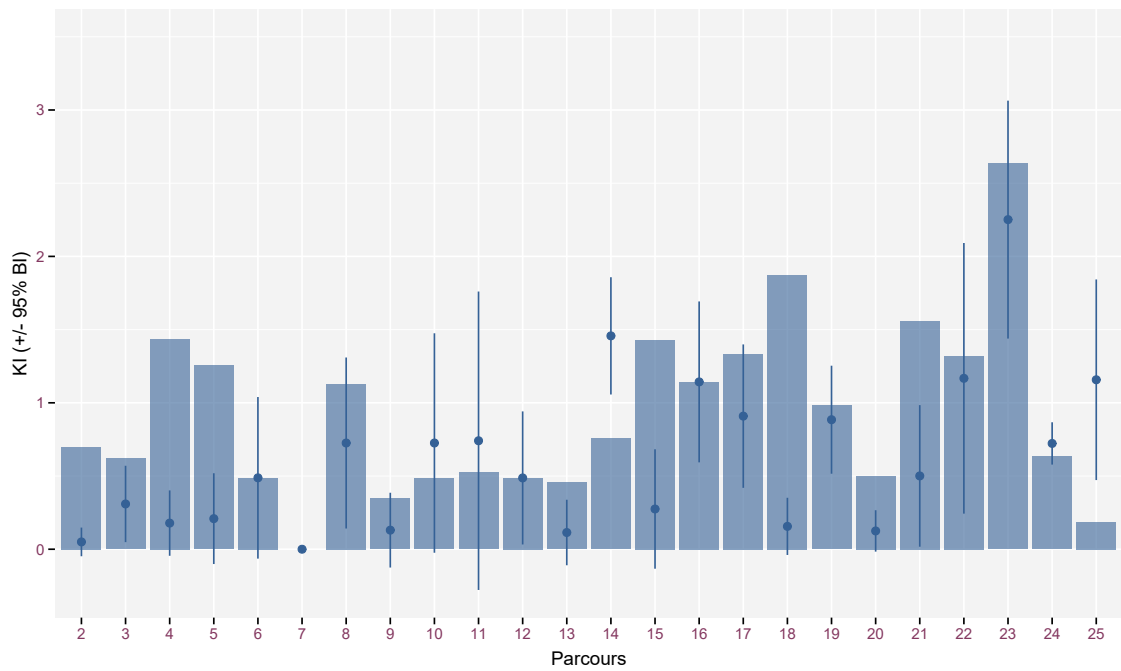
Wanneer we per parcours de tellingen van 2022 vergelijken met de mediaan van de jaren ervoor (2008 - 2021), dan zien we vier fenomenen (figuur 3.3):

1. Bij 5 trajecten is de KI bij alle tellingen van dit jaar lager dan de mediaan van de vorige jaren (parcours 2, 4, 5, 18, 20).
2. Bij 16 trajecten zijn op een of meer teldagen geen reeën waargenomen.
3. Bij 15 trajecten waren er dagen waarop het aantal waargenomen reeën boven de mediaan van de vorige jaren lag (figuur 3.3).
4. Op de Waalse trajecten (24 en 25, zie figuur 2.1) zijn er in 2022 veel meer reeën gezien dan dan de voorbije jaren (zie figuren 3.3 en 3.4).

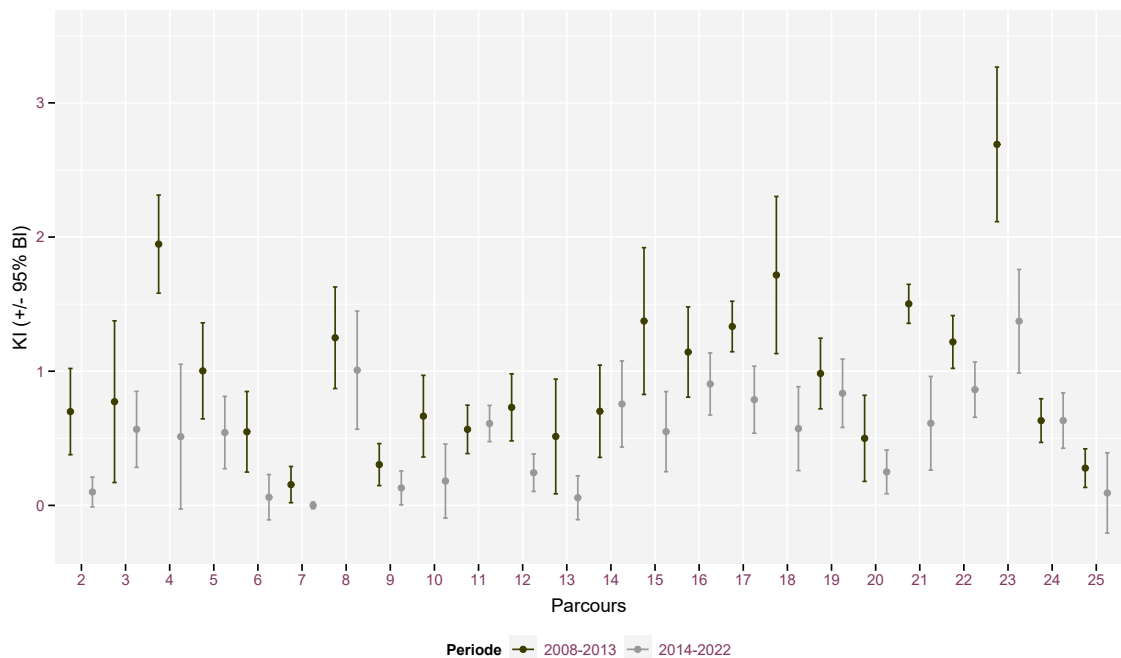


Figuur 3.3: KI per parcours voor de vier verschillende tellingen in 2022 (blauwe bollen) ten opzichte van de mediaan van alle voorgaande jaren (blauwe balk).

Wanneer we per parcours de gemiddelde KI voor 2022 vergelijken met de mediaan uit de periode van 2008 tot en met 2013, dus voor de opmerkelijke terugval, dan zien we dat de daling van de KI zich in bijna alle trajecten heeft voorgedaan (figuur 3.4). Enkel in 6 van de 24 trajecten oversteeg het gemiddelde in 2022 de mediaan voor de periode 2008-2013. Bij 9 trajecten ligt het volledige betrouwbaarheidsinterval van de KI van 2022 onder de mediaan voor de periode 2008-2013. Dat wijst voor deze trajecten op een significante daling sinds 2013.



Figuur 3.4: Gemiddelde KI per parcours voor de tellingen in 2022 ten opzichte van de mediaan (blauwe balk) voor de periode 2008-2013, de periode voor de opmerkelijke terugval.



Figuur 3.5: Gemiddelde KI per parcours voor de periode voor de opmerkelijke terugval (2008-2013) en na de terugval (2014 tot nu).

3.5 DUUR VAN DE TELLINGEN

De ideale duur voor het uitvoeren van een telling is 1.30 uur tot 1.45 uur. Met uitzondering van 2011 voldeed de gemiddelde duur hier aan (tabel 3.2). In 2022 was de kortste tijd waarbinnen een telling werd uitgevoerd 1 u en 15 minuten, de langste 2 u en 15 minuten. Dit jaar werden, op een totaal van 94 trajecten waarvoor de duur van uitvoering gekend was, 23 te snel afgelegd en 23 eerder te traag. Zeker voor wat de tellingen die te snel werden uitgevoerd betreft, blijft dit een aandachtspunt. Daar bestaat het risico dat aanwezige reeën niet worden waargenomen. Het is dus van belang dat de minimumduur van 1 u en 30 minuten wordt gerespecteerd.

Tabel 3.2: Gemiddelde duur van een telling per teljaar.

Jaar	Gemiddelde duur (u)
2008	01:39
2009	01:30
2010	01:30
2011	01:27
2012	01:30
2013	01:30
2014	01:32
2015	01:33
2016	01:35
2017	01:32
2018	01:35
2019	01:33
2020	01:35
2021	01:35
2022	01:37

3.6 OORZAKEN VAN DE DALING IN HET AANTAL REEËN WAARGENOMEN PER JAAR SINDS 2014

De lagere aantallen **waargenomen** reeën sinds 2014 kunnen zowel het gevolg zijn van een effectief lager aantal reeën, als van een verminderde waarnemingskans. Onder waarnemingskans verstaan we de waarschijnlijkheid dat een aanwezige ree ook effectief waargenomen wordt. Een verminderde waarnemingskans kan zowel aan een verandering in het gedrag van de reeën te wijten zijn, als aan een verminderde zichtbaarheid door de aanwezigheid van meer dekking (struiken en jonge bomen).

3.6.1 Lager aantal reeën

Bij een ongewijzigde waarnemingskans betekent een lager aantal waargenomen reeën per kilometer dat het aantal reeën in het Zoniënwoud effectief afneemt. Mogelijke oorzaken daarvan zijn lagere voortplanting, hogere sterfte en/of emigratie. Omdat in het Zoniënwoud geen jacht plaatsvindt, zou een hogere mortaliteit veroorzaakt kunnen worden door een toename van ziektes, predatie, verkeersslachtoffers of loslopende honden (niet aangeliend en niet gecontroleerd). De data omtrent het aantal dode of gewonde dieren gevonden in het Zoniënwoud wordt verzameld door de drie Regio's, maar deze zijn niet volledig. We beschikken echter niet over populatiegegevens van mogelijke predatoren in en rond het Zoniënwoud. Er wordt ook niet systematisch onderzoek naar gedaan.

We beschikken ook niet over de nodige gegevens om de hypothesen van lagere geboortecijfers (aantal embryo's per drachtige geit en het aandeel drachtige geiten) of plotse sterke emigratie te kunnen onderzoeken.

////////////////////////////////////

Tabel 3.3: Overzicht van het aantal reeën dat jaarlijks dood teruggevonden werd in het Zoniënwoud (per regio), waarvan honden als de doodsoorzaak geïdentificeerd konden worden. Deze data is niet volledig, maar over het algemeen melden de boswachters een enorme toename sinds de lockdown van 2020.

Gewest	Aantal reeën gedood in 2019	Aantal reeën gedood in 2020	Aantal reeën gedood in 2021
Brussel	2	7	15
Vlaanderen	NA	NA	10
Wallonië	NA	NA	9

Ook de vraag of een mogelijke wijziging in recreatiedruk een effect heeft, blijft momenteel onbeantwoord. Een verhoogde recreatiedruk kan resulteren in een emigratie naar rustigere stukken in of buiten het bos, of in een verandering in het gedrag van de reeën. Een eerste stap om dit te onderzoeken is de evolutie nagaan van het aantal recreanten dat jaarlijks het Zoniënwoud bezoekt en/of van de dichtheid van het netwerk aan paden in het boscomplex. Binnen het kader van dit project is deze opvolging niet voorzien.

Er moet echter wel vermeld worden dat er sinds 2013 veel inspanningen zijn gedaan om het aantal verkeersslachtoffers in en rond het Zoniënwoud te doen dalen. Dit gebeurde via het Life+ OZON project, dat tussen 2013 en 2018 de aanleg van een ecoduct te Groenendaal, ecotunnels en ecorasters gerealiseerd zag. De monitoring van dit project concludeerde dat het aantal verkeersslachtoffers (verschillende soorten, inclusief reeën) is afgenomen ten opzichte van meldingen voor de aanleg van de eco-infrastructuur (Feys *et al.*, 2020). Het lijkt daarom onwaarschijnlijk dat de reeënpopulatie in het Zoniënwoud sinds 2014 is afgenomen door een hogere mortaliteit in het verkeer. Het verminderen van het aantal verkeersslachtoffers kan potentieel een rol hebben gespeeld in de stabilisatie van de populatie. Verder onderzoek naar deze hypothese is echter buiten de scope van dit rapport.

3.6.2 Verandering van de zichtbaarheid op de trajecten

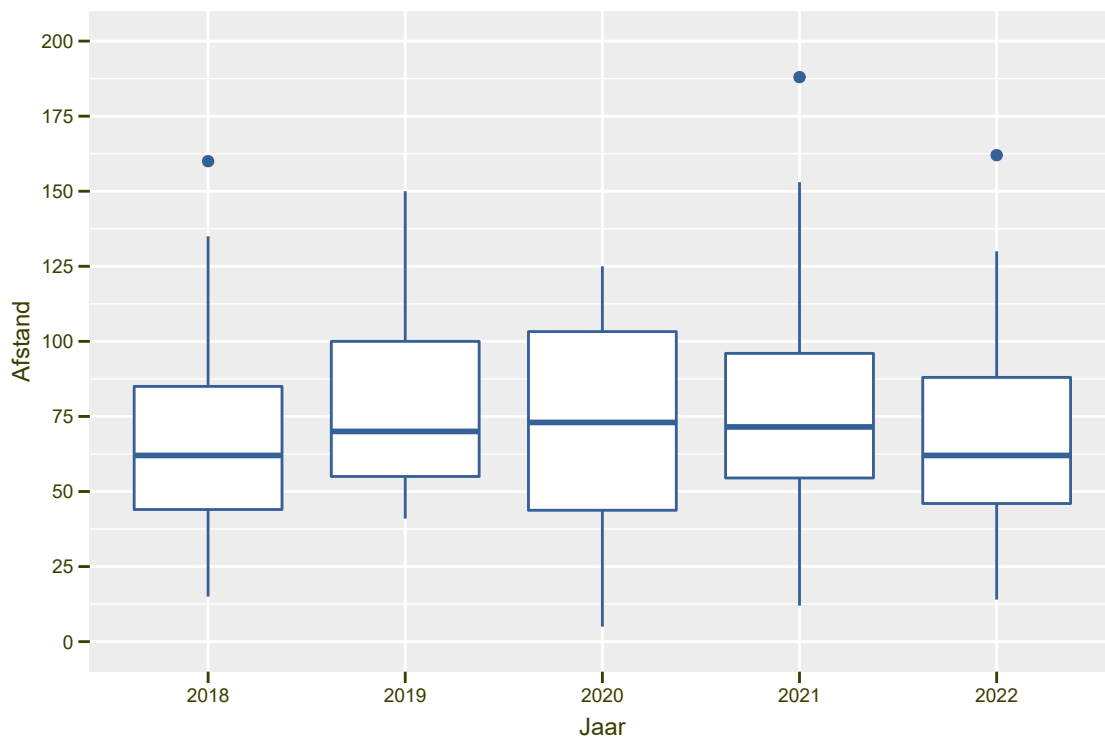
In een bos dat niet onderhevig is aan sterke veranderingen in beheer of andere externe factoren, wordt in theorie de vermindering in zichtbaarheid op sommige trajecten gecompenseerd door een toename op andere trajecten. Dit is zeker het geval in een groot gebied zoals het Zoniënwoud waar de parcours homogeen over het volledige gebied verdeeld werden.

Er is echter de laatste paar jaren sprake van bosverjonging doorheen het Zoniënwoud, die de zichtbaarheid potentieel ten parte kan spelen. Er is echter geen monitoring ondernomen van deze veranderingen te kwantificeren over de tijd. In de reeëntelperiode 2008-2015 zijn er geen metingen uitgevoerd zijn om eventuele veranderingen in de zichtbaarheid aan te tonen en dus is het niet mogelijk het potentiële effect ervan in te schatten vóór de afname van 2014. Om toch te proberen hier een idee van te krijgen, voerden we in 2015 (dus al na de sterke afname) een bevraging uit bij alle tellers. Het resultaat daarvan is besproken in het opvolgingsrapport 2015 (Huysentruyt *et al.*, 2015). Om het effect van veranderingen in zichtbaarheid te kunnen modelleren en op te volgen naar de toekomst toe, werd besloten de zichtbaarheid op de verschillende trajecten effectief te meten (zie hiervoor Boone *et al.* (2020)). Een bijkomende mogelijkheid om de verandering in zichtbaarheid na te gaan is de resultaten van zichtbaarheidsmetingen (lees: gemiddelde waarnemingsafstand) doorheen de jaren te vergelijken (zie 4 en 4.1).

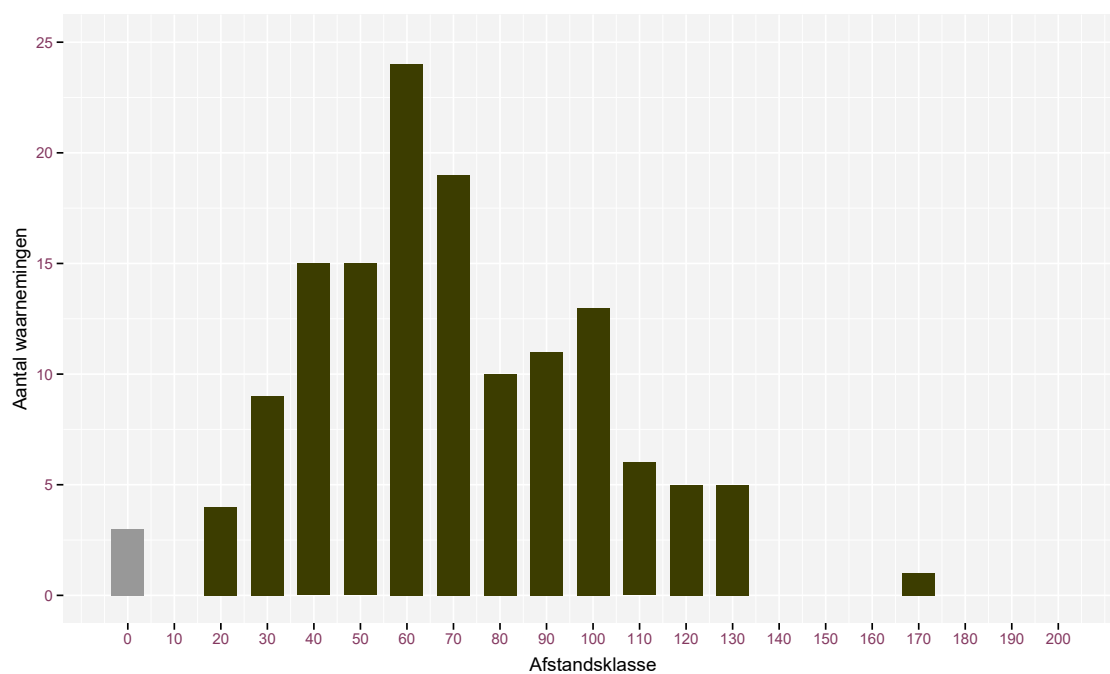
3.7 STABILISATIE VAN HET HET AANTAL WAARGENOMEN REEËN

Aangezien er ten tijde van de daling van de waarnemingen geen aanpassingen in het beheer van het Zoniënwoud waren en dus de daling moeilijk kan toegeschreven worden aan een afname in zichtbaarheid (zie ook tabel 4.1), is het waarschijnlijk dat de populatie reeën in het Zoniënwoud effectief is afgenomen sinds 2014.

Als we de resultaten van 2020 achterwege laten, kunnen we stellen dat de KI zich sinds 2014 heeft gestabiliseerd, weliswaar op een lager niveau dan in de periode tussen 2008 en 2013. Dit zou kunnen wijzen op een stabiliserende populatie reeën binnen het Zoniënwoud, over de drie gewesten heen (figuur 3.2), maar dit zal enkel bevestigd kunnen worden door de resultaten van de komende monitoringsjaren.



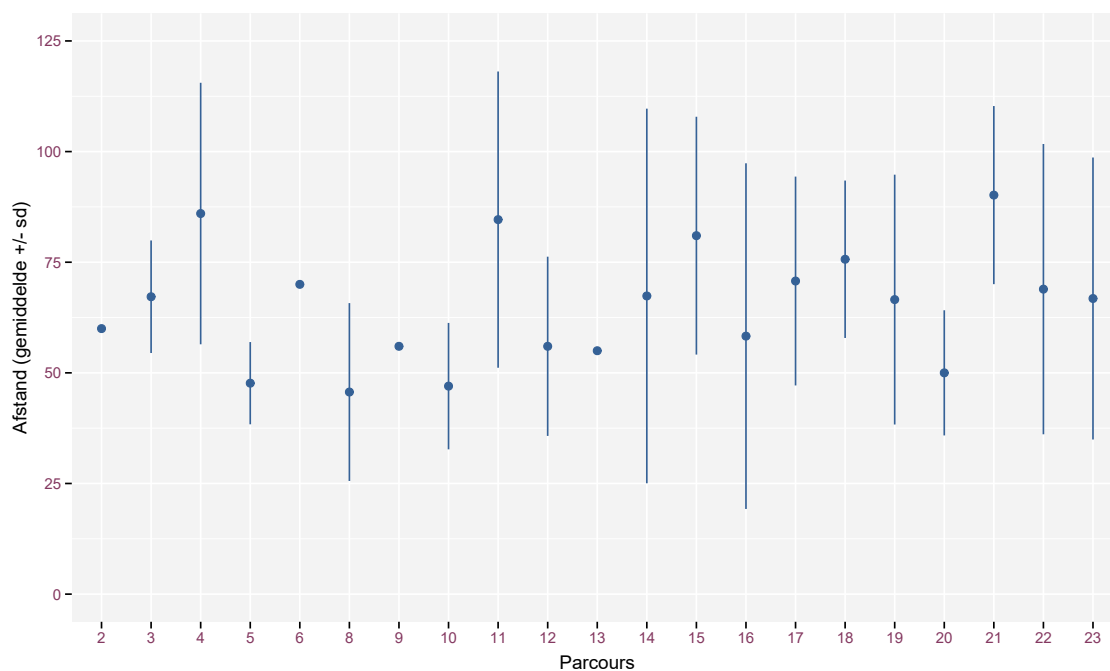
Figuur 4.2: Verdeling van de afstandsmetingen doorheen de jaren.



Figuur 4.3: Verdeling van het aantal waarnemingen per waarnemingsafstand, ingedeeld in klassen van 10 m, voor het monitoringsjaar 2022. De afstanden die als nul genoteerd worden (grijze balk), komen overeen met reën die op het traject zelf werden gezien.

Tabel 4.1: Overzicht per jaar van de gemiddelde gemeten afstand (<200m) tussen waarnemer en het waargenomen dier.

Jaar	Aantal trajecten	Aantal waarnemingen	Gemiddelde afstand	Standaarddeviatie afstand
2018	17	71	65.3	32.3
2019	8	38	79.5	33.8
2020	9	24	72.7	34.8
2021	11	64	69.5	40.6
2022	21	140	65.6	30.2



Figuur 4.4: Afstand tussen de waarnemer/teller en een ree/groep reeën, per telparcours in 2022. Op de Waalse trajecten (24 en 25) waren er geen afstandsmeters voorhanden.

4.4 DISCUSSIE

We beschikken over net onvoldoende afstandsmeters om op alle telparcours tegelijk metingen uit te voeren. De metingen gebeurden niet op de twee Waalse trajecten.

Ook zijn de gemeten afstanden de directe afstanden tussen de waarnemer/teller en de ree. *Distance sampling* vereist echter het gebruik van de loodrechte afstand tussen het telparcours en het dier. Er moet verder onderzocht worden of en hoe het gebruik van de directe in plaats van de loodrechte afstand de densiteitsschatting beïnvloedt.

Figuur 4.3 toont dat de meeste waarnemingen plaatsvonden op een afstand tussen 40 en 90 m. Op basis van het theoretische model zou je echter verwachten dat het maximum aantal waarnemingen vlak bij of op het teltraject gebeuren (figuur 4.1). De verstoring door de waarnemer alsook de reactietijd van de waarnemer tussen het ogenblik dat de ree beweegt en het moment dat deze de ree ziet, kunnen verklaren dat er meer reeën gezien werden op grotere afstand dan verwacht. Het softwarepakket *Distance* corrigeert hiervoor bij de lagere afstandsklassen wanneer het de detectiefunctie inschat.

Door de vele methodologische vragen en problemen werd beslist de berekeningen van de reedensiteit op basis van *distance sampling* niet uit te voeren. De gemeten afstanden kunnen echter wel gebruikt

worden om de trend in zichtbaarheid in het boscomplex op te volgen. Indien men de effectieve densiteit en populatiegrootte binnen het Zoniëncomplex wilt berekenen, dan moet men sterker inzetten op het gebruik van de afstandsmeters doorheen het hele studiegebied.

5 CONCLUSIES

Na de daling van de gemiddelde kilometerindex die we in 2014, 2015 en 2016 vaststelden, lijkt de populatie zich te stabiliseren op een lager niveau. Terwijl de gemiddelde KI in de periode 2008-2013 rond 1 ree/km schommelde, oversteeg de index sinds 2014 nooit 0,75.

In 2016 haalden we al aan dat de dalende cijfers konden wijzen op een daling van de reepopulatie in het Zoniënwoud. Men kan de oorzaak hiervoor proberen te identificeren door de nodige gegevens te verzamelen, zoals bv. informatie over stroperij, de impact van loslopende honden, bio-indicatoren van de reepopulatie (bv. aantal embryo's per drachtige geit, het aandeel drachtige geiten), metingen van de recreatiedruk en gegevens over de aanwezigheid van andere wilde hoefdieren. Wel is het onwaarschijnlijk dat de daling een gevolg was van een toenemend aantal verkeersslachtoffers, aangezien er tussen 2013 en 2018 met de bouw van eco-infrastructuur inspanningen zijn gedaan om deze te verminderen. Deze zelfde inspanningen kunnen echter wel een effect hebben gehad op de latere stabilisatie van de populatie. Binnen het kader van de huidige monitoring is het in kaart brengen en opvolgen van deze mogelijke factoren echter niet voorzien.

Om na te gaan of de waargenomen tendens een gevolg kan zijn van een verminderde waarnemingskans, voerden we in 2015 een bevraging uit bij de tellers. Bij hen bestond de perceptie dat de zichtbaarheid in het algemeen verminderd was, wat geheel of gedeeltelijk de daling van de KI zou kunnen verklaren. Een vergelijking van de zichtbaarheidsmetingen uit 2015 en 2018 toont weinig verschillen. Dit was ook te verwachten gezien de korte periode tussen beide metingen en het uitblijven van gebeurtenissen die de zichtbaarheid plots kunnen wijzigen (bv. stormschade, natuurbrand of grootschalige kappingen). Veranderingen in zichtbaarheid in het bos door veranderingen in de vegetatie doen zich, zolang er geen calamiteiten optreden, normaal gezien slechts op langere termijn voor. Ook de meer recente cijfers waarbij afstanden tot waargenomen reeën werden gemeten, wijzen niet op sterke verschillen in zichtbaarheid sinds 2018.

We beschikken echter over geen gegevens van vóór 2015 en kunnen dus geen link leggen tussen de zichtbaarheid en de periode van hoge reeënstand van 2008-2013.

Omdat er niet echt sprake is van een vermindering van de zichtbaarheid en bijgevolg de detectiekans, lijkt de meest aannemelijke uitleg voor de verminderde KI-waarde sinds 2014 dat de populatie reeën in het Zoniëncolplex effectief gedaald is ten opzichte van de periode vóór 2014. In de laatste monitoringsjaren lijkt er echter sprake te zijn van een stabilisatie van de KI, wat zou wijzen op een stabilisatie van de populatie, welsiwaar op een lager niveau dan voordien.

Referenties

- Bonnot N., Bergvall U., Jarnemo A. & Kjellander P. (2018). Who's afraid of the big bad wolf? Variation in the stress response among personalities and populations in a large wild herbivore. *Oecologia* 188 (1): 85–95.
- Boone N., Casaer J., Vercammen J., Malengreaux C. & Licoppe A. (2020). Ondersteuningsproject bij de uitvoering van de reemonitoring in het Zoniënwoud: Jaarlijks rapport, Periode: 2008-2019. Rapporten van het Instituut voor Natuuren Bosonderzoek, Brussel, België.
- Buckland S., Anderson D., KP B., Laake J., Borchers D. & Thomas L. (2001). *Introduction to Distance Sampling, Estimating abundance of biological populations*. University Press, Oxford, UK.
- Casaer J. & Malengreaux C. (2008). Studie ter voorbereiding van het monitoren van de reewildpopulatie-grootte in Zoniën Overzicht van bestaande methoden en hun toepasbaarheid in Zoniën. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, INBO.R.2008.26, Brussel, België.
- Dixon G., Marriott A., Stelfox G., Dunkerley C. & Batke S. (2021). How do red deer react to increased visitor numbers? A case study on human-deer encounter probability and its effect on cortisol stress responses. *Nature Conservation* 43: 55–78.
- Feys S., Boers K., Jacobs M., Lambrechts J., Lefevre A., Steeman R., Vanormelingen P., Van De Poel S. & Willems W. (2020). Monitoring van drie ontsnipperende maatregelen in het Zoniënwoud. Natuurpunt Studie i.o.v. Vlaamse Overheid, Departement Omgeving. Rapport Natuurpunt 2020/15, Mechelen, België.
- Hadinger U., Haymerle A., Knauer F., Schwarzenberger F. & Walzer C. (2015). Faecal cortisol metabolites to assess stress in wildlife: evaluation of a field method in free-ranging chamois. *Methods in Ecology and Evolution* 6 (11): 1349–1357.
- Heimbürge S., Kanitz E. & Otten W. (2019). The use of hair cortisol for the assessment of stress in animals. *General and Comparative Endocrinology* 270: 10–17.
- Huysentruyt F., Malengreaux C., Vercammen J., Casaer J. & Licoppe A. (2015). Ondersteuningsproject bij de uitvoering van de reemonitoring in het Zoniënwoud /Mission d'appui pour le recensement du chevreuil dans le massif sonien: Jaarlijks rapport / Rapport annuel, Periode / Période de référence: 2008-2015. Rapporten van het Instituut voor Natuuren Bosonderzoek, Brussel, België.
- Malengreaux C. & Casaer J. (2008). Mission d'appui pour la mise en place d'un recensement chevreuil dans le massif sonien. Mission d'appui financée par l'IBGE et confiée à l'asbl Wildlife and Man : 2008. Wildlife and Man, Brussel, België.
- Möstl E. & Palme R. (2002). Hormones as indicators of stress. *Domestic animal endocrinology* 23 (1–2): 67–74.
- Moya D., Schwartzkopf-Genswein K. & Veira D. (2013). Standardization of a non-invasive methodology to measure cortisol in hair of beef cattle. *Livestock Science* 158 (1–3): 138–144.
- Vercammen J., Huysentruyt F. & Casaer J. (2011). Reewildtellingen: Overzicht van de resultaten uit de verschillende gebieden. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel, België.
- Vilela S., Alves da Silva A., Palme R., Ruckstuhl K., Sousa J. & Alves J. (2020). Physiological stress reactions in red deer induced by hunting activities. *Animals* 10 (6): 1003.

A BIJLAGE

Tabel A.1: Overzicht van het jaarlijks maximaal en minimaal aantal waargenomen reeën tijdens een telsectie sinds het begin van de tellingen. *In 2008 werden er zowel ochtend- als avondtellingen uitgevoerd. **De resultaten van 2020 zijn niet representatief.

Jaar	Hoogst aantal waargenomen reeën	Datum maximum	Laagst aantal waargenomen reeën	Datum minimum
2008*	154	08/04	69	06/05
2009	174	18/03	89	25/03
2010	137	03/03	103	31/03
2011	138	23/03	107	30/03
2012	135	14/03	112	07/03
2013	153	13/03	85	20/03
2014	108	19/03	49	12/03
2015	83	04/03	74	18/03
2016	93	09/03	36	02/03
2017	82	15/03	43	08/03
2018	93	13/03	45	27/03
2019	88	26/03	56	19/03
2020**	42	03/03	17	24/03
2021	81	24/03	34	03/03
2022	83	16/03	59	02/03

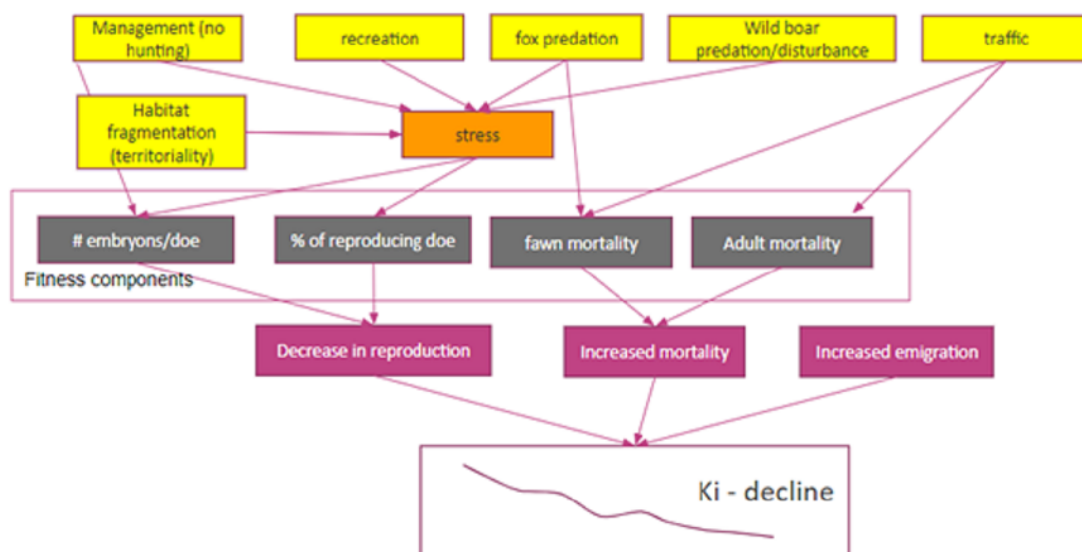
B PROJECTVOORSTELLEN

De resultaten van de tellingen sinds 2008 vertonen een sterke terugval in het aantal waargenomen reeën in de periode 2014 - 2022 ten opzicht van de periode 2008 - 2013. Na 2014 lijkt er nog een trage daling te zijn.

De monitoring zal ook de volgende jaren aan de hand van hetzelfde protocol verder gezet worden. Hierbij zullen op alle trajecten de afstanden tussen de waarnemer en de reeën genoteerd worden om eventuele veranderingen in zichtbaarheid in het boxcomplex te kunnen detecteren.

Het is echter duidelijk dat de waargenomen daling niet louter aan een verandering in zichtbaarheid toegekend kan worden. Vanuit de beheerders uit de verschillende gewesten werd gevraagd aan het DEMNA en INBO om volgende vragen te beantwoorden:

- Wat kunnen de mogelijke oorzaken en mechanismen zijn die de waargenomen daling kunnen verklaren (hypothesevorming)?
- Aan de hand van welke technieken en methoden zouden de verschillende hypothesen onderzocht kunnen worden?



Figuur B.1: Oorzaken en gevolgen van stress op een populatie reeën.

De basismechanismen die een daling in de populatie zouden kunnen verklaren zijn een afname in reproductie, een toegenomen emigratie, een afname in immigratie en een toename in de sterfte. Onderstaand schema vat de mogelijke oorzaken en hoe ze inwerken samen. Hierbij valt op dat bepaalde oorzaken eenzelfde populatiedynamische parameter kunnen beïnvloeden. Zo kan een toegenomen sterfte zowel het effect zijn van verkeersongelukken, predatie, ziektes of stress. Een toename in recreatie zou dan weer kunnen leiden tot meer stress wat zich kan vertalen in een gereduceerde fitness van de dieren, en zo minder jongen (reproductie) of meer sterfte.

De voorgestelde aanpak baseert zich op twee mogelijke onderzoeksmethoden die met elkaar gecombineerd kunnen worden.

1. **Cameraval onderzoek.** Aan de hand van een gerandomiseerde cameravalopstelling zouden volgende parameters over de toestand in Zoniën verzameld kunnen worden en vergeleken worden met de data van cameravallen uit andere gebieden in België en/of het buitenland. Door het systematische gebruik van Agouti als platform voor het verzamelen van cameravalbeelden, zijn als vergelijkingsmateriaal nu reeds cameravalbeelden beschikbaar uit Meerdaal/Dijlevallei, het Nationaal Park Hoge Kempen, het ASF-gebied in Wallonië en de Kroonjachten. Optimaal zouden als vergelijkingsmateriaal cameravalbeelden uit deze gebieden en dezelfde periode gebruikt worden als de te verzamelen of reeds verzamelde data uit Zoniën.

- aantal geobserveerde kitsen / aantal geobserveerde adulte reeën (reproductie)
- veranderingen in bovenstaande ratio doorheen het jaar (reproductie + sterfte)
- de aanwezigheid van everzwijnen (verstoring / stress / sterfte)
- de aanwezigheid van vos (sterfte)
- activiteitenpatronen van reeën (verandering o.i.v. recreatie - vgl andere gebieden)

2. **Metten van de hormoonspiegels** (glucocorticoïdes) als niet-invasieve methode voor het meten van de stress niveaus (zie bijlage C).

- Bepalen van de hormoonspiegels in de uitwerpselen (Cortisol in uitwerpselen)
 - Bepalen van de perioden doorheen het jaar met verhoogde stress / piekbepalingen
- Bepalen van de hormoonspiegels in de haren (Cortisol in haren)
 - Bepaling van chronische stress over de vorige weken/maanden. Dit vereist de vergelijking met andere gebieden en dus ook het nemen van stalen in andere gebieden.

C STRESSBEPALING BIJ *CAPREOLUS CAPREOLUS*

Aangeleverd door de collega's van SPW.

C.1 PHYSIOLOGIE ET MESURE DU STRESS

Les signaux de stress peuvent être repérés de différentes façons:

- Examen général : fréquence cardiaque, fréquence respiratoire et pression sanguine augmentées.
- Prise de sang : divers paramètres étudiés, mais nécessite une capture et donc un biais de mesure car implique un stress chez l'animal.
- Hormones: glucocorticoïdes (cortisol).

C.2 RAPPEL SUR L'AXE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSAIRE ET LA PRODUCTION DE GLUCOCORTICOÏDES

En cas de stimulus stressant, l'axe hypothalamo-hypophysaire est activé et l'hypothalamus produit la CRH (corticotropin releasing hormone). La CRH agit ensuite sur le lobe antérieur de l'hypophyse qui va produire l'ACTH. L'ACTH quant à elle a une action sur la zone fasciculaire des glandes surrénales et ces dernières produiront des glucocorticoïdes, dont le cortisol. Ils sont alors détectables dès 3 à 5 minutes dans le plasma des mammifères. La production de glucocorticoïdes est régulée par feed-back négatif. Lors de stress aigu, la sécrétion de cortisol revient rapidement à la normale, mais lors de stress chronique, le feedback négatif perd en efficacité et la sécrétion de glucocorticoïdes reste élevée.

Le cortisol est impliqué dans de nombreuses réponses métaboliques nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme, mais peut être délétère s'il est présent en concentration élevée de façon prolongée (immunosuppression, altération de la reproduction; Möstl & Palme (2002)). C'est un marqueur de stress chronique ou aigu. Il peut être prélevé dans le sang, les urines, le lait, la salive, les fèces ou les poils. Cependant, il vaut mieux privilégier un prélèvement non invasif pour ne pas induire un biais de mesure suite au stress de la capture. En cas de surproduction chronique de glucocorticoïdes, une augmentation de la taille des surrénales peut éventuellement être observée (sur carcasse).

C.3 MÉTHODES DE MESURE NON INVASIVES

Les deux méthodes les plus pertinentes dans notre cas sont la détection du taux de cortisol dans les poils et dans les matières fécales. En effet, elles sont toutes deux non invasives, n'interfèrent pas avec les résultats et ont fait leurs preuves Möstl & Palme (2002).

La méthode de **hair cortisol concentration** met en évidence le niveau de stress éprouvé par l'animal au cours des derniers mois, ce qui est un indication du stress chronique de l'animal.

La méthode de **feces cortisol concentration** peut détecter un stress récent (12 à 48 heures post-stress). Ceci dépend de l'espèce, car l'excrétion de cortisol dépend de la durée du passage intestinal (Möstl & Palme, 2002). Cette méthode peut être utile si on corrèle le taux de cortisol des fèces avec une observation de la présence humaine quotidienne.

C.4 BIAIS DE MESURE

- Statut physiologique: pas de différence significative entre jeunes et adultes (pas de période hypo-répondante chez le chevreuil; Bonnot *et al.* (2018)), ni entre mâles et femelles (Vilela *et al.*, 2020).
- Cycle saisonnier: la saison du prélèvement peut avoir un impact sur le résultat (Heimbürge *et al.*, 2019).
- Couleur du poil: le taux de cortisol peut différer selon la couleur et la partie du corps dont le poil est prélevé, mais rien de concluant n'a été montré (Heimbürge *et al.*, 2019).

C.5 PROTOCOLES

	Hair cortisol	Feaces cortisol
Laps de temps étudié	Stress chronique: dernières semaines, voire derniers mois	Stress récent: 12 à 48h post stress
Récolte	Couchettes, mue, piquet ou barbelés, animaux morts	Recherche aux endroits de passage des animaux
Analyse	Procédure (Moya <i>et al.</i> , 2013): Une fois récoltés, les poils sont 1) rincés 2 x 3' dans 5mL d'isopropanol, séchés et couverts 5 jours dans une pièce à t° ambiante; 2) Mixés dans un mixeur à 22Hz 5'; 3) Placer 20mg de l'échantillon dans un tube de 5mL avec 1mL de méthanol; 4) L'ensemble doit être soniqué (soumis à des ultrasons) 30', puis incubé dans un shaker pendant 18h à 50°C et 100 rpm; 5) 0,8mL du surnageant est pipeté et évaporé sur une plaque à 45°C sous un flux de nitrogène; 6) Ajout de 100µL de solution saline (PBS); 7) Quantification du cortisol dans un kit enzyme immunoassay EIA.	Procédure (Hadinger <i>et al.</i> , 2015): Une fois récoltées, les fèces sont 1) 5g de fèces sont mixées avec 5mL de méthanol à 80%; 2) Le tout est homogénéisé par centrifugation pendant 30'; 3) Dilution du surnageant dans une solution saline 1:10; 4) Quantification du cortisol dans un kit enzyme immunoassay EIA : DetectX steroid immunoassay kit de Arbor Assay (Dixon <i>et al.</i> , 2021) sur MF sèches : 1 x 96 plates = 375€

L'utilisation des deux méthodes simultanément peut être intéressante car elles sont complémentaires. En effet, elles donnent des informations sur le taux de cortisol à différents moments (Vilela *et al.*, 2020). Le taux de cortisol des poils peut montrer la chronicité ou non du stress que subissent les chevreuils et le taux de cortisol des matières fécales peut mettre en évidence des moments où le stress est plus important.

En outre, ce sont les méthodes les plus faciles à mettre en œuvre et les plus pertinentes dans notre cas car elles n'impliquent pas une capture de l'animal.