

Oplegnotitie ecologie Schelluinen-West

Opdrachtgever: ROM/S Beheer BV

projectnummer: 855.04.50.00.00.00

Onderwerp: Oplegnotitie ecologie Schelluinen-West

Datum: 15-05-2018

Inleiding

In 2016 is door BügelHajema Adviseurs een ecologisch onderzoek uitgevoerd voor de actualisatie van bestemmingsplan Schelluinen-West. De resultaten van dit onderzoek zijn opgenomen in de toelichting op het bestemmingsplan. Dit onderzoek wordt met de voorliggende oplegnotitie op een aantal punten geactualiseerd en aangevuld.

Allereerst is het plan op twee punten gewijzigd. De meest westelijke graslandpercelen worden niet meer omgevormd naar bedrijventerrein, maar krijgen de agrarische bestemming terug. De nog te ontwikkelen gronden van het bedrijventerrein worden weergegeven in onderstaande figuur. Ook zijn twee woningen van Parallelweg 8 toegevoegd aan het plangebied. Mogelijk worden deze woningen gesloopt bij uitvoering van het plan.



Figuur 1. Te ontwikkelen bedrijfsperven Schelluinen-West.

Bovendien is op 1 januari 2017 de Wet natuurbescherming (Wnb) in werking getreden, waardoor een aantal soorten die ten tijde van de Flora- en faunawet niet beschermd waren, sinds de invoering van de nieuwe wet beschermd zijn. In de voorliggende oplegnotitie wordt ingegaan op deze nieuw beschermde soorten.

Daarnaast is tijdens het onderzoek in 2016 aangegeven dat aanvullend onderzoek nodig is naar een aantal beschermde soorten, te weten grote modderkruiper, heikikker en kamsalamander. De resultaten van het nader onderzoek worden omschreven in deze oplegnotitie.

Plangebied en plannen

De uitbreidingslocatie bestaat uit 4 graslandpercelen direct ten westen van het bestaande bedrijventerrein. De graslandpercelen worden omgeven door sloten die met elkaar in verbinding staan. De woningen op Parallelweg 8, direct ten zuiden van deze graslandpercelen zijn opgetrokken uit bakstenen muren en hebben een zadeldak met dakpannen. De woningen zijn met elkaar verbonden door een ruimte met bakstenen muren een plat dak.



Impressie plangebied met links de bebouwing en rechts de graslandpercelen met watergangen

Soortenbescherming

Onderdeel van de Wnb is soortenbescherming van planten en dieren. Dit betreffen:

- alle van nature in Nederland in het wild voorkomende vogels die vallen onder de Vogelrichtlijn (Wnb art. 3.1-3.4);
- dier- en plantensoorten die beschermd zijn op grond van de Habitatrichtlijn en de verdragen van Bern en Bonn (Wnb art. 3.5-3.9);
- nationaal beschermde dier- en plantensoorten genoemd in de bijlage van de wet (Wnb art. 3.10-3.11).

Van deze laatst genoemde groep beschermde soorten mogen provincies een zogenaamde 'lijst met vrijstellingen' opstellen (Wnb art. 3.11). Voor de soorten op deze lijst geldt bij ruimtelijke ontwikkelingen een vrijstelling van de verboden genoemd in art. 3.10 eerste lid van de Wnb.

WONINGEN PARALLELWEG 8

De woningen aan de Parallelweg 8 zijn in 2016 niet onderzocht. De bebouwing biedt potentiële nest- en verblijfplaatsen voor huismus en vleermuizen door de aanwezigheid van geschikte invliegopeningen voor deze soort(groep)en. Huismus was ten tijde van het veldbezoek aanwezig in een schuur ten zuiden van de woningen. Nestplaatsen van huismus zijn jaarrond beschermd. Om de aan- of afwezigheid van nest- en verblijfplaatsen van huismus en vleermuizen vast te stellen, is nader onderzoek nodig. Op basis daarvan kan worden bepaald of een ontheffing van de Wnb moet worden aangevraagd. Voor gierzwaluw of andere jaarrond beschermde vogelsoorten zijn geen geschikte invliegopeningen aanwezig, zodat verblijfplaatsen kunnen worden uitgesloten.

Verder zijn in de bebouwing en de omringende tuin hooguit algemene broedvogels, zoogdieren en amfibieën te verwachten, zoals merel, winterkoning, spreeuw, huisspitsmuis en gewone pad. Anders dan bij huismus, geldt voor de overige te verwachten broedvogels dat de nesten alleen beschermd zijn als ze in gebruik zijn ten behoeve van het uitbroeden van de eieren en het grootbrengen van de jongen, dus tijdens het broedseizoen. Voor het verstoren en vernietigen van in gebruik zijnde nesten kan in eerste instantie geen ontheffing worden verkregen. Bij de planning en uitvoering van de inrichtingswerkzaamheden dient daarom voldoende rekening wordt gehouden met het broedseizoen van vogels om zo een verbodsovertreding van de Wet natuurbescherming te voorkomen.

Voor de te verwachten algemene amfibieën- en zoogdiersoorten geldt dat vaste verblijfplaatsen van deze soorten kunnen worden verstoord en vernietigd als gevolg van de ontwikkelingen. Ook kunnen enkele exemplaren worden verwond of gedood. In het geval van ruimtelijke ontwikkelingen geldt in de provincie Zuid-Holland voor deze algemene beschermde soorten een vrijstelling voor de verbodsartikelen van de Wnb. Aan deze vrijstelling zijn geen aanvullende eisen gesteld. In het kader van de voorgenomen activiteiten is een ontheffingsaanvraag voor deze soorten niet aan de orde. Wel blijft de zorgplicht van toepassing.

WET NATUURBESCHERMING

Als gevolg van de Wet natuurbescherming hebben sommige soorten hun beschermde status verloren en zijn er nieuw beschermde soorten bijgekomen. Bij de soortgroepen planten, libellen en vlin- ders zijn nu vooral rode lijstsoorten beschermd, en zijn veel van de voorheen licht beschermde soorten niet langer beschermd. Ook een aantal vissoorten is niet langer beschermd. Waar van toepassing wordt op verandering in soortbescherming nader ingegaan.

Ten behoeve van de inventarisatie is de Nationale Database Flora en Fauna¹ (NDFF) via Quickscanhulp.nl² (© NDFF - quickscanhulp.nl 15-05-2018 11:52:13) geraadpleegd. Hieruit blijkt dat uit de omgeving (0-5 kilometer) van het plangebied één soort bekend is die ten tijde van de Flora- en faunawet nog niet beschermd was. Het gaat om de libellensoort beekrombout. Deze soort is aangewezen op beken en riviertjes. De agrarische graslandpercelen binnen het plangebied zijn ongeschikt voor deze en andere nieuw beschermde planten en ongewervelden. Het plan leidt niet tot negatieve effecten op soorten die sinds de invoering van de Wet natuurbescherming beschermd zijn.

KAMSALAMANDER, HEIKIKKER EN GROTE MODDERKRUIPER

Bij de actualisatie van het onderzoek in 2016 werd ervan uitgegaan dat de werkzaamheden aan watergangen die leefgebied vormden voor de beschermde soorten heikikker, kamsalamander, bittervoorn en grote modderkruiper reeds waren uitgevoerd. Voor Nu de inrichting van de westzijde van het plangebied afwijkt van het oorspronkelijke plan, waarbij graafwerkzaamheden aan watergangen zijn voorzien, is op de uitbreidingslocatie ten westen van het bedrijventerrein bepaald of geschikt leefgebied voor heikikker, kamsalamander en grote modderkruiper aanwezig is. Bittervoorn is niet langer beschermd sinds invoering van de Wet natuurbescherming. Voor kamsalamander vormen de kavelsloten in het plangebied geen geschikt voortplantingsbiotoop en ook is geen geschikt landbiotoop. Negatieve effecten op deze soort kunnen worden uitgesloten.

Voor heikikker geldt dat sloten in poldergebieden geen hoogwaardig biotoop vormen, maar de soort wordt af en toe wel aangetroffen in poldergebieden. Daarom is nader onderzoek uitgevoerd naar het voorkomen van deze soort. Het onderzoek naar heikikker is uitgevoerd tijdens twee veldbezoeken op 28 maart en 4 april 2018. Voor de volledige omschrijving van het onderzoek wordt verwezen naar bijlage 1. Tijdens het onderzoek is vastgesteld dat de watergangen in het plangebied door de combinatie van voedselrijk water en het ontbreken van een uitbundige oever- en landvegetatie ongeschikt is als leefgebied van poelkikker. Bovendien waren de watergangen recent gebaggerd. Heikikkers zijn dan ook niet aangetroffen tijdens het onderzoek (bijlage 1). Negatieve effecten op heikikker als gevolg van het plan treden dan ook niet op.

Grote modderkruiper is bekend uit de omgeving van het plangebied (Quickscanhulp.nl). De soort is aangewezen op verlandende wateren met een rijke watervegetatie. De kavelsloten zijn door het baggeren van de watergangen weinig geschikt voor deze soort. Op 14 mei 2018 zijn in de te vergraven

¹ Nationale Databank Flora en Fauna (NDFF). De NDFF is de meeste complete natuurdatabank van Nederland. De NDFF geeft informatie over waarnemingen van beschermde en zeldzame planten en dieren en bevat uitsluitend gevalideerde gegevens: de Gegevensautoriteit Natuur heeft vastgesteld dat ze kloppen. Informatie is te vinden op www.natuurloket.nl.

² Quickscanhulp.nl is een online applicatie waarmee een afgeleide van data uit de NDFF wordt weergegeven. Het is daarmee een hulpmiddel voor ervaren ecologen om te bepalen of een beschermde soort wel of niet in het plangebied kan voorkomen. Quickscanhulp.nl geeft aan op welke afstand waarnemingen van beschermde soorten in relatie tot het plangebied zijn aangetroffen. Voor Quickscanhulp.nl worden alleen gevalideerde waarnemingen gebruikt, de Gegevensautoriteit Natuur staat hiervoor in.

watergangen binnen het plangebied watermonsters verzameld, die vervolgens zijn geanalyseerd op de aanwezigheid van eDNA van grote modderkruiper. Hiertoe zijn 3 watermonsters verzameld, ieder samengesteld uit 26 sub samples, die zijn geanalyseerd in het laboratorium. In bijlage 2 bij dit rapport zijn de resultaten van dit onderzoek opgenomen.

Gebiedsbescherming

Voor onderhavig projectgebied is de volgende wet- en regelgeving op het gebied van gebiedsbescherming relevant: de Wnb en de provinciale structuurvisie en verordening.

WET NATUURBESCHERMING

In de Wnb is de bescherming van specifieke natuurgebieden geregeld. Het betreft de Natura 2000-gebieden, die een internationale bescherming genieten. Plannen en projecten met negatieve effecten op deze gebieden zijn vergunningsplichtig. Relevant daarbij is dat de Wnb een externe werking kent. Van externe werking is sprake als activiteiten buiten een Natura 2000-gebied van invloed zijn op de natuurwaarden in een Natura 2000-gebied.

NATUURNETWERK NEDERLAND

Het NNN (voorheen ook wel Ecologische Hoofdstructuur genoemd) is een samenhangend netwerk van bestaande en nog te ontwikkelen belangrijke natuurgebieden in Nederland, dat voldoende robuust is voor een duurzame verbetering van de omstandigheden voor de wilde flora en fauna en voor natuurlijke leefgemeenschappen. Het NNN is als beleidsdoel opgenomen in de Structuurvisie Infrastructuur en Ruimte. De begrenzing en ruimtelijke bescherming van de provinciale NNN is voor de provincie Zuid-Holland vastgelegd in de Verordening Ruimte 2014.

EFFECTBEOORDELING

De bescherming van beschermde natuurgebieden om het plangebied is niet gewijzigd ten opzichte van 2016. Zo is de bescherming van Natura 2000-gebieden met invoering van de Wet natuurbescherming op 1 januari 2017 gelijk gebleven. De conclusies in de paragraaf ecologie in de toelichting op het bestemmingsplan uit 2016 zijn nog steeds geldig.

Bijlage 1 – Nader onderzoek heikikker



ECOLOGISCH ONDERZOEK

GRIENDWEG (ONG.)

TE SCHELLUINEN-WEST



Ecologie



Rapportage ecologisch onderzoek

Griendweg (ong.) te Schelluinen-West

Opdrachtgever	ROM/S Commanderijstraat 9a 4209 AP Schelluinen
Rapportnummer	6585.001
Versienummer	D1
Status	Eindrapportage
Datum	12 april 2018
Vestiging	Overijssel Wilhelm Röntgenstraat 7a 8013 NE Zwolle 038 - 7820540 zwolle@econsultancy.nl
Opsteller	F.M. van der Heide, MSc
Paraaf	
Kwaliteitscontrole	A.M. Vergeer, MSc
Paraaf	



Kwaliteitszorg

Econsultancy is lid van het Netwerk Groene Bureaus (NGB). Het NGB is een vereniging van ecologische advies- en -onderzoeksbureaus en werkt aan de kwaliteit van advisering gericht op natuur, landschap, water, milieu en ruimte en behartigt de belangen van groene adviesbureaus. Het Netwerk hanteert een gedragscode die opdrachtgevers en andere belanghebbenden een basis biedt om de leden aan te spreken op de kwaliteit van hun werk.

Betrouwbaarheid

Dit onderzoek is op zorgvuldige wijze uitgevoerd conform de toepasselijke en van kracht zijnde protocollen en richtlijnen voor onderzoek. Het onderzoek betreft echter een momentopname en geeft een inschatting van de aanwezigheid van beschermde soorten op de onderzoekslocatie. Het incidenteel voorkomen van beschermde soorten is nooit met zekerheid uit te sluiten. Econsultancy accepteert op voorhand geen aansprakelijkheid ten aanzien van mogelijke beslissingen die de opdrachtgever naar aanleiding van het door Econsultancy uitgevoerde onderzoek neemt.

INHOUDSOPGAVE

1	INLEIDING	1
2	GEBIEDSBESCHRIJVING	1
	2.1 Huidig gebruik onderzoekslocatie en omgeving	1
	2.2 Toekomstig gebruik van de onderzoekslocatie	2
	2.3 Te verwachten werkzaamheden en ingrepen	2
3	RESULTATEN VOORGAAND ONDERZOEK.....	2
4	ONDERZOEKSMETHODIEK	3
5	ONDERZOEKSRESULTATEN.....	3
6	TOETSING AAN WET- EN REGELGEVING	4
7	CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN	5

1 INLEIDING

Econsultancy heeft van ROM/S opdracht gekregen voor het uitvoeren van een aanvullend ecologisch onderzoek naar de aanwezigheid van de heikikker binnen de onderzoekslocatie aan de Griendweg (ong.) te Schelluinen-West.

Het aanvullend ecologisch onderzoek is uitgevoerd in het kader van een actualisatie van de ecologische paragraaf van een vernieuwing van een bestemmingsplanwijziging.

In 2007 is er door de gemeente Giessenlanden een bestemmingsplan 'Schelluinen-West' (d.d. 11 januari 2007) vastgesteld voor de onderzoekslocatie. In dat kader heeft Grontmij Nederland bv de onderzoekslocatie onderzocht op de natuurwaarden (rapport PN 277655, d.d. 7 juli 2009). Hoewel in het verleden heikikkers zijn waargenomen in de omgeving van de onderzoekslocatie bleek uit het veldonderzoek uitgevoerd door Grontmij (d.d. 26 mei 2009) dat de onderzoekslocatie geen geschikt leefgebied vormt voor de heikikker.

BügelHajema Adviseurs bv heeft in 2016 een vernieuwing van het vastgesteld bestemmingsplan 'Schelluinen-West' (d.d. 11 januari 2007) opgesteld. In het kader van dit vernieuwde bestemmingsplan dient de ecologische paragraaf geactualiseerd te worden. Hiervoor heeft een ecooloog van BügelHajema een inventarisatie ten aanzien van aanwezige flora en fauna uitgevoerd (d.d. 22 augustus 2016). Uit deze inventarisatie bleek dat de onderzoekslocatie geschikt leefgebied voor de heikikker vormt.

De heikikker is een beschermde amfibieënsoort. In dat kader heeft Econsultancy opdracht gekregen voor het uitvoeren van een aanvullend onderzoek naar de aan-/afwezigheid van de heikikker.

Econsultancy is lid van de branchevereniging "Netwerk Groene Bureaus" en werkt volgens de door het Netwerk opgestelde gedragscode en protocollen.

2 GEBIEDSBESCHRIJVING

2.1 Huidig gebruik onderzoekslocatie en omgeving

De onderzoekslocatie ($\pm 4,1$ ha) ligt aan de Griendweg (ong.), circa 4,5 kilometer ten westen van de kern van Gorinchem (zie figuur 1). Volgens de topografische kaart van Nederland, kaartblad 38 G (schaal 1:25.000), zijn de coördinaten van het midden van de onderzoekslocatie $X = 122.140$, $Y = 428.255$.

De onderzoekslocatie betreft een perceel met agrarische bestemming, in gebruik als grasland. Af en toe wordt het perceel begraaasd door paarden. De onderzoekslocatie is gelegen op het bedrijventerrein Schelluinen-West. Het gebied ten oosten grenzend aan de onderzoekslocatie is reeds ontwikkeld als bedrijventerrein. Verder ten oosten van de onderzoekslocatie bevinden zich bedrijventerreinen en daarachter de plaatsen Schelluinen en Gorinchem. Ten noorden en westen van de onderzoekslocatie bevindt zich een open agrarisch landschap. Het gebied ten westen grenzend aan de onderzoekslocatie krijgt in de nieuwe situatie wederom een agrarische bestemming. Op 300 meter ten zuiden van de onderzoekslocatie bevindt zich de rijksweg A15. Daarachter ligt de Boven-Merwede met bijbehorende uiterwaarden.



Figuur 1. Topografisch overzicht van de onderzoekslocatie en omgeving.

2.2 Toekomstig gebruik van de onderzoekslocatie

De toekomstige bestemming van de onderzoekslocatie betreft bedrijventerrein. Het bedrijventerrein krijgt een omzoming van groen en water.

2.3 Te verwachten werkzaamheden en ingrepen

In het kader van het toekomstig gebruik is de initiatiefnemer voornemens de watergang ten noorden en westen van de onderzoekslocatie te verbreden. Ten zuiden van de onderzoekslocatie wordt een nieuwe watergang gegraven. In de nieuwe situatie zal de onderzoekslocatie vanaf de bestaande wegen te bereiken zijn. Daarom worden er geen nieuwe wegen aangelegd. De beoogde bedrijfsperven worden opgehoogd.

Volgens de aanvrager heeft er op de onderzoekslocatie niet eerder een ecologisch onderzoekslocatie plaatsgevonden.

3 RESULTATEN VOORGAAND ONDERZOEK

Uit de onderzoeken van Grontmij bv (rapport PN 277655, d.d. 7 juli 2009) en BügelHajema bv blijkt dat, om de effecten van de ingreep volledig te kunnen toetsen aan de Wet natuurbescherming er ten aanzien van de heikikker meer informatie is benodigd. Vervolgens worden de resultaten getoetst aan de voorgenomen ingreep en de Wet natuurbescherming.

4 ONDERZOEKSMETHODIEK

Voor het onderzoek naar de heikikker zijn twee veldrondes uitgevoerd tussen eind maart en begin april 2018. Hierbij is gelet op de aanwezigheid van volwassen dieren en geluid/kooractiviteit. Op deze wijze is vastgesteld of de beschermde heikikker gebruik maakt van het water op de onderzoekslocatie.

Vanwege eerder gemaakte afspraken ten aanzien van de onderzoeksperiode (tussen eind maart en begin april) is er ten aanzien van tijdstip en weersomstandigheden afgeweken van de in de offerte aangegeven protocollen (Soortinventarisatieprotocollen in het kader van de Wet natuurbescherming, versie juli 2017; Handleiding voor het monitoren van amfibieën in Nederland, herziene uitgave 2015).

Tijdens de veldbezoeken waren de weersomstandigheden voor het waarnemen van de heikikker suboptimaal. Tijdens beide veldbezoeken lag de temperatuur rond de 10 °C en lag de windsnelheid beneden de 5 Bft. Tijdens het eerste veldbezoek (d.d. 28 maart 2018) was er sprake van neerslag. Tijdens het tweede veldbezoek (d.d. 4 april 2018) was er geen sprake van neerslag.

Op basis van “expert judgement” wordt geconcludeerd dat afwijking van het protocol geen uitwerking heeft op de resultaten.

Tabel I bevat een overzicht van de uitgevoerde veldbezoeken.

Tabel I. Overzicht van de uitgevoerde veldbezoeken.

		maart	april
Heikikker	tijdstip	28 maart en 4 april 2018	
	functie	voortplantingshabitat	
	methode	volwassen dieren en geluid/kooractiviteit	

5 ONDERZOEKSRESULTATEN

Heikikkers prefereren vochtige heidegebieden als leefgebied. Het voortplantingshabitat bestaat uit ondiep, stilstaand water met een rijke oevervegetatie. Het voortplantingswater is doorgaans licht zuur en voedselarm. Uit de veldbezoeken kwam naar voren dat de onderzoekslocatie geen geschikt habitat vormt voor heikikkers. Het water op de onderzoekslocatie, bestaand uit een stelsel van sloten, is voedselrijk en licht stromend. Daarnaast is er weinig oevervegetatie aanwezig. De sloten zijn recentelijk uitgebaggerd waarbij de weinige aanwezige vegetatie is verwijderd. Ook het landhabitat is weinig geschikt aangezien dit bestaat uit agrarisch landschap, begroeid met laag gras zonder enig (laag) struweel of kruidige gewassen. Figuren 2 en 3 geven een impressie van de onderzoekslocatie middels foto's die genomen zijn tijdens het veldbezoek (d.d. 28 maart 2018).



Figuur 2. Detailfoto van de kale, uitgebaggerde sloot



Figuur 3. Overzichtfoto van de onderzoekslocatie met kaal agrarisch landschap en vegetatiearme sloot.

Tijdens beide onderzoeken zijn geen heikikkers, eiklonpen of larven waargenomen. Ook is er geen kooractiviteit gehoord. Op basis van het ontbreken van geschikt land- en voortplantingshabitat en het feit dat er geen heikikkers zijn waargenomen kan er met aan zekerheid grenzende waarschijnlijkheid worden geconcludeerd dat de onderzoekslocatie geen geschikt habitat voor de heikikker vormt.

6 TOETSING AAN WET- EN REGELGEVING

Wegens het ontbreken van geschikt land- en voortplantingshabitat en daarnaast de afwezigheid van de heikikker zijn overtredingen van de Wet natuurbescherming ten aanzien van de heikikker als gevolg van de voorgenomen ingreep uit te sluiten. Een ontheffing soortenbescherming en bijbehorend projectplan en compenserende en/of mitigerende maatregelen zijn overbodig.

7 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

Econsultancy heeft in opdracht van ROM/S een aanvullend ecologisch onderzoek uitgevoerd naar de aanwezigheid van de heikikker binnen de onderzoekslocatie aan de Griendweg (ong.) te Schelluinen-West.

Het aanvullend ecologisch onderzoek is uitgevoerd in het kader van een actualisatie van de ecologische paragraaf van een vernieuwing van een bestemmingsplanwijziging

Voorgenomen ingreep

De toekomstige bestemming van de onderzoekslocatie betreft bedrijventerrein. Het bedrijventerrein krijgt een omzoming van groen en water.

In het kader van het toekomstig gebruik is de initiatiefnemer voornemens de watergang ten noorden en westen van de onderzoekslocatie te verbreden. Ten zuiden van de onderzoekslocatie wordt een nieuwe watergang gegraven. Aangezien de onderzoekslocatie in de nieuwe situatie vanaf de bestaande wegen te bereiken zal zijn, worden er geen nieuwe wegen aangelegd. De beoogde bedrijfspercelen worden opgehoogd

Conclusie

Aangezien de heikikker de onderzoekslocatie niet als land- en/of voortplantingshabitat gebruikt zijn bij de voorgenomen werkzaamheden overtredingen van de Wet natuurbescherming redelijkerwijs uit te sluiten.

Verklarende woordenlijst

Activiteitenplan

Een activiteitenplan dient als begeleidend document voor een ontheffingsaanvraag. In het activiteitenplan zijn maatregelen verwoord waarmee de functionaliteit van een rust- of verblijfplaats van een beschermde soort behouden blijft en schade aan individuen wordt voorkomen.

Externe werking

Niet alleen activiteiten in een Natura 2000-gebied/EHS hebben invloed op de staat van instandhouding van het gebied, ook activiteiten buiten het gebied kunnen de natuurwaarden in een gebied beïnvloeden. Dit wordt "externe werking" genoemd. Er bestaat geen ruimtelijke grens voor externe werking: bepalend zijn de effecten op de instandhoudingsdoelstellingen van de soorten en habitattypen in het Natura 2000-gebied/ EHS, ongeacht de afstand tot het beschermde gebied.

Expert Judgement

Inschatting van een deskundige op grond van zijn kennis en ervaring.

Foerageerhabitat

Het gebied waarbinnen een soort voedsel zoekt.

Foerageren

Zoeken en vinden van voedsel door dieren (jachtgebied).

Functioneel leefgebied

Hiermee wordt het gebied dat is benodigd om de functionaliteit van een voortplantingsplaats of van een vaste- rust of verblijfplaats te behouden. Een nestlocatie of voortplantingsplaats kan bijvoorbeeld alleen succesvol functioneren, wanneer er voldoende habitat (schuilgelegenheid, voedsel etc.) van voldoende kwaliteit aanwezig is om te kunnen paren, eieren te leggen en jongen groot te brengen.

Gunstige staat van instandhouding

Er is sprake van een gunstige staat van instandhouding van een soort of habitatype als de omstandigheden waarin de soort of het habitatype voorkomt perspectief bieden op een duurzaam voortbestaan van die soort of dat habitatype.

Habitat

Omvat de plaatsen waar een bepaald organisme voorkomt doordat de abiotische en biotische factoren (niet levende en levende natuur) van die plaatsen voldoen aan de eisen en toleranties die het organisme stelt om te kunnen overleven, groeien en zich voortplanten.

Kraamverblijfplaats

Voortplantingsplaats van vleermuizen. Het gaat hierbij vaak om de vrouwelijke exemplaren van een kolonie (ook wel kraamgroep genoemd) die gezamenlijk hun jongen grootbrengen. De aantallen vleermuizen in een kraamgroep kun oplopen tot meerdere honderden exemplaren.

Landschappelijk inpassingsplan

Het inpassen van ruimtelijke ontwikkelingen in het buitengebied middels een ontwerp van de groenvoorziening, dat voldoet aan het beleid ten aanzien van ruimtelijke kwaliteit. Hierdoor wordt zorg gedragen dat een ruimtelijke ontwikkeling past in het landschap.

Landhabitat

Amfibieën zijn voor de voortplanting afhankelijk van water. Buiten de voortplantingsperiode maakt de soortgroep gebruik van landhabitat als onderdeel van het leefgebied. Landhabitat voor amfibieën omvat onder andere structuurrijke of opgaande vegetatie zoals (loof)bos, houtwallen, struikgewas, heide, ruigtekruiden, vegetaties en moeras.

Mitigerende maatregelen

Maatregelen die negatieve effecten bij een ingreep voorkomen of reduceren.

Omgevingscheck

Een omgevingscheck wordt uitgevoerd bij verlies van leefgebied van een jaar rond beschermde functie van een soort die door een ingreep (tijdelijk) verloren gaat. De omgeving van de ingreep wordt door een ter zake deskundige beoordeeld op aanwezigheid van voldoende alternatief leefgebied en/of potentiële verblijfplaatsen.

Ontheffing

De Flora- en faunawet is gemaakt om planten- en diersoorten die vrij in het wild leven te beschermen. Om deze kwetsbare soorten te beschermen bevat de Flora- en faunawet een aantal verbodsbepalingen. Onder bepaalde voorwaarden mogen de activiteiten wel doorgaan, daarvoor kan een ontheffing benodigd zijn. Een ontheffing is een besluit waarbij in een individueel concreet geval een uitzondering op een wettelijk verbod wordt gemaakt.

Paarverblijfplaats

Dit is een verblijfplaats die hoofdzakelijk in het najaar (september/oktober) door vleermuizen worden gebruikt om te paren. Eén mannetje kan een dergelijke verblijfplaats met meerdere vrouwtjes delen. In de omgeving van de paarverblijfplaats wordt veelal door het territoriale mannetje middels baltsvluchten getracht vrouwtjes aan te lokken.

Populatie

Een biologische populatie is een groep individuen van dezelfde soort die zich onderling voortplant en als zodanig geïsoleerd is van andere zulke groepen.

Rode Lijst

Rode Lijsten laten zien welke soorten zijn verdwenen en welke soorten in een gebied sterk zijn achteruitgegaan of zeldzaam zijn. Er bestaan verschillende Rode Lijsten. Voor vogels, voor zoogdieren, planten, paddenstoelen, insecten en voor allerlei andere soortgroepen. Rode Lijsten hebben geen officiële juridische status. Plaatsing op de lijst maakt een dier dus nog geen 'beschermde diersoort' in de zin van de Flora- en faunawet. De Rode Lijsten hebben in de praktijk wel een belangrijke signaleringfunctie. Door de Rode Lijst te raadplegen, kunnen alle instellingen die met natuurbehoud te maken hebben rekening houden met bedreigde soorten.

Significant negatief effect

Een effect is in het kader van de Natuurbeschermingswet 1998 significant als de instandhoudingsdoelen van het Natura 2000-gebied dreigen te worden aangetast.

Het begrip 'significant' staat centraal in de toepassing van het beschermingsregime voor Natura 2000-gebieden bij zowel vaststelling van beheerplannen als de vergunningverlening. Het bepaalt of een uitvoerige toetsing, een zogenaamde passende beoordeling, moet worden uitgevoerd. Indien als gevolg van een ingreep de toekomstige oppervlakte habitat of leefgebied, aantal van een soort of kwaliteit van een habitat lager zal worden dan zoals bedoeld in de instandhoudingsdoelstelling, dan kan sprake zijn van significante gevolgen. Voor het goede begrip, de soorten hoeven er niet te zitten, het gebied moet geschikt zijn voor de soorten.

Vaste rust- of verblijfplaats

Een plek binnen het leefgebied van een soort die essentieel is voor de levenscyclus van een individu. De Flora- en faunawet omschrijft niet exact wat een vaste rust- of verblijfplaats is. Dit is soortafhankelijk.

Vliegroute

Een vaste route die door vleermuizen wordt gebruikt tussen de verblijfplaatsen naar foerageergebieden.

Winterverblijfplaats

Verblijfplaats die gebruikt wordt om de periode van winterrust te overbruggen. Voor vleermuizen zijn dit vorstvrije, maar koele en vochtige plekken. Er kan sprake zijn van massaverblijfplaatsen, verblijfplaatsen van kleine groepen of één of enkele individuen.

Zomerverblijfplaats

Is een vleermuisverblijfplaats anders dan een kraamverblijf. Buiten de kraamperiode worden deze door vrouwtjes gebruikt, binnen de kraamperiode door individuele mannetjes.



Bijlage 2 – Nader onderzoek grote modderkruiper

eDNA onderzoek naar grote modderkruiper



Colofon

Titel	eDNA onderzoek naar grote modderkruiper.
Tekst, foto's en samenstelling	K. van Bochove
In opdracht van	BügelHajema adviseurs
Naam opdrachtgever	B. Omon
Rapportnummer	RA2018046
Datum oplevering rapport	11 juni 2018
Aantal pagina's	7
Wijze van citeren	van Bochove K. 2018. eDNA onderzoek naar grote modderkruiper. Rapport RA2018046, Datura, Huissen.
Laboratorium analist	J. Rook



Datura Molecular Solutions BV

Gevestigd te:
Brouwketel 1
6851 ZX Huissen
Nederland

Postadres laboratorium:
t.a.v. Datura (NCB)
Sylviusweg 72
2333 BE, Leiden
Nederland

0031(0)629455328
www.datura.nl
keesvanbochove@datura.nl

Inhoudsopgave

1.	Doelstelling.....	4
2.	Methode.....	4
	2.1 Sampling	4
	2.2 Laboratorium analyse	4
	2.3 Kwaliteitswaarborging	5
	2.3.1 Hoe vals positieve waarnemingen voorkomen worden	5
	2.3.2 Hoe vals negatieve waarnemingen voorkomen worden	6
3.	Resultaten	7

1. Doelstelling

Vaststellen van de aan- of afwezigheid van eDNA van grote modderkruiper (*Misgurnus fosillius*) in opdracht van BugelHajema Adviseurs.

2. Methode

2.1 Sampling

De bemonstering is uitgevoerd door BügelHajema Adviseurs op 14 mei 2018.

2.2 Laboratorium analyse

Het eDNA sample is geanalyseerd op de aanwezigheid van eDNA van grote modderkruiper. Het analyseren van een eDNA sample vindt plaats in drie stappen. Eerst wordt het eDNA op het filter geconcentreerd en gezuiverd. Vervolgens wordt een controle analyse uitgevoerd om te testen of eDNA detectie in een sample eventueel geïnhibereerd wordt door storende stoffen. Tenslotte wordt het eDNA gedetecteerd met behulp van een real-time quantitative PCR.

1. Het eDNA is geëxtraheerd door middel van een phenol chloroform DNA extractie. Gedurende de extractie lost het filter op waardoor al het DNA vrij komt. Storende stoffen als humuszuren kunnen detectie van het eDNA inhiberen wat kan leiden tot vals negatief resultaat. Gedurende de extractie zijn deze inhiberende stoffen zo veel mogelijk verwijderd.
2. Er is een controle uitgevoerd om na te gaan of eDNA detectie in een sample geïnhibereerd wordt. Dit is gedaan door een bekende hoeveelheid van een fragment artificieel DNA toe te voegen. Vervolgens is de concentratie van dit fragment artificieel DNA gemeten. Dit is zowel gedaan in een reactie waar een hoeveelheid sample aan toegevoegd is, als in een reactie waar geen sample aan toegevoegd is. Als DNA detectie in een sample geïnhibereerd wordt, dan is de gemeten concentratie artificieel DNA in de reactie waarin sample toegevoegd wordt lager ten opzichte van de reactie waaraan geen sample toegevoegd is. Voornamelijk in zuur water, waarin veel organische deeltjes aanwezig zijn kan inhibitie optreden. In een dergelijk geval wordt een extra zuiveringsstap uitgevoerd of wordt het sample verdund. Vervolgens wordt opnieuw gekeken of de inhiberende stoffen voldoende verwijderd zijn.
3. Detectie van eDNA vindt plaats door middel van een real-time kwantitatieve PCR (qPCR). Het principe achter deze techniek is dat een specifiek deel van het DNA zeer vaak vermenigvuldigd (geamplificeerd) wordt. Datura maakt gebruik van soort-specifieke primers die uitsluitend DNA van de doelsoort vermenigvuldigen. Bovendien wordt een soort-specifieke probe gebruikt (een soort primer) die uitsluitend bindt aan eDNA van de doelsoort. Binding van de probe aan het vermenigvuldigde eDNA van de doelsoort veroorzaakt een fluorescent signaal. Dit signaal wordt gedetecteerd met behulp van een qPCR platform (CFX96 Touch™ van Bio-Rad). De qPCR detectie wordt uitgevoerd met 12 replica's. Het aantal positieve replica's is een indicatie voor de concentratie eDNA. Het is echter (vooralsnog) niet mogelijk om op basis van de concentratie van eDNA de populatiedichtheid te bepalen. De qPCR detectie wordt uitgevoerd met de TaqMan® Environmental Mastermix 2.0 (Life Technologies®). Naast het eDNA sample worden qPCR reacties uitgevoerd waaraan geen sample is toegevoegd. Deze moeten negatief zijn. Zodoende kan bevestigd worden dat de analyse schoon is uitgevoerd en er geen contaminatie optreedt. Tenslotte worden ook enkele reacties geanalyseerd waaraan een bekende concentratie DNA is toegevoegd. Deze reacties moeten positief zijn. Dit bevestigt dat de analyse juist is uitgevoerd.

2.3 Kwaliteitswaarborging

2.3.1 Hoe vals positieve waarnemingen voorkomen worden

Het optreden van zowel vals positieve als vals negatieve waarnemingen wordt tot het minimum beperkt. Vals positieve waarnemingen kunnen op drie manieren ontstaan:

- De gebruikte primers en de probe zijn niet specifiek;
- Er vindt contaminatie plaats in het laboratorium;
- Er vindt contaminatie plaats in het veld.

Hieronder wordt aangegeven hoe vals positieve waarnemingen voorkomen worden. Omdat de kans op vals positieve waarnemingen zeer klein is, kunnen we niet exact kwantificeren hoe groot de kans daadwerkelijk is. Datura kan daarom niet 100 % zeker garanderen dat vals positieve waarnemingen nooit optreden. In de praktijk (middels validatie studies) nemen we echter geen vals positieve waarnemingen waar. Het is daarom aannemelijk dat vals positieve waarnemingen niet optreden.

Hoe het optreden vals positieve waarnemingen voorkomen wordt door degelijk ontwerp en validatie van specifieke primers en probes:

1. Er wordt gebruik gemaakt van een **2-staps** qPCR protocol, hetgeen de kans op aspecifieke detectie verkleint;
2. Gebruik van zeer **specifieke primers** waarmee uitsluitend eDNA van de doelsoort gedetecteerd kan worden. De primers zijn ontwikkeld met behulp van specialistische software;
3. Een qPCR detectie wordt uitgevoerd met behulp van een zeer specifieke **probe**. Deze probe hecht uitsluitend aan DNA van de doelsoort, hetgeen resulteert in een fluorescent signaal;
4. De primers en de probe zijn in het laboratorium getest. Eerst is getest of de qPCR detectie inderdaad negatief resultaat geeft na het toevoegen van DNA van (verwante) vissoorten;

Vervolgens is de methode **gevalideerd** door het testen van veldsamples. Er zijn eDNA samples verzameld op locaties waar de doelsoort niet voorkomt. Er werd geen eDNA gedetecteerd in deze samples. Zodoende kon aangetoond worden dat de methode niet resulteert in positieve detectie als de doelsoort niet aanwezig is.

Om vals positieve waarnemingen te voorkomen werkt Datura in een specifiek voor (e)DNA ingericht laboratorium omgeving en worden strikte procedures gevolgd:

1. Verschillende onderdelen van de analyse workflow worden uitgevoerd in fysiek gescheiden laboratorium ruimtes. Het samenstellen van de eDNA sample kits en het voorbereiden van de qPCR reagentia vindt plaats in een **DNA clean room**. Dit is een ruimte waarin geen DNA samples aanwezig zijn. Zodoende kunnen we garanderen dat er geen DNA aanwezig is in de eDNA sample kits en de reagentia (zoals de primers en probes) die later gebruikt worden in de eDNA analyses. Het extraheren van de eDNA samples gebeurt in een **pre-PCR laboratorium**. Dit is een ruimte waarin uitsluitend lage concentraties DNA aanwezig zijn. Vervolgens worden hier de eDNA samples samen met de qPCR reagentia in een 96-well plaat gepipetteerd. Deze plaat wordt luchtdicht afgesloten. Tenslotte wordt de qPCR uitgevoerd in een **post-PCR laboratorium**. In dit laboratorium wordt het eDNA vermeerderd en hier zijn dus hoge concentraties DNA aanwezig.

Om vals positieve waarnemingen te voorkomen werkt Datura in een specifiek voor eDNA ingericht laboratorium omgeving en worden strikte procedures gevolgd:

2. Er wordt een **unidirectionele workflow** gehanteerd om contaminatie van de DNA clean room en het pre-PCR laboratorium te voorkomen. Dit houdt in dat materialen die eenmaal in het post-PCR laboratorium geweest zijn niet meer terug mogen naar de DNA clean room en het pre-PCR laboratorium. Ook mogen medewerkers van Datura niet dezelfde dag van een post-PCR laboratorium terug naar de DNA clean room en het pre-PCR laboratorium.
3. In iedere analyse worden **controle analyses** uitgevoerd. Zo worden er samples geëxtraheerd waaraan geen slootwater wordt toegevoegd (zogenaamde extractie controles). In de qPCR worden naast de extractie controles ook negatieve PCR controles meegenomen. Zodoende kan heel nauwkeurig gemonitord worden of er inderdaad geen contaminatie optreedt.

Om contaminatie in het veld te voorkomen worden de volgende maatregelen genomen:

1. Het **sampling protocol** van Datura wordt gevolgd. Dit protocol schrijft een specifieke werkwijze voor. In de praktijk is gebleken dat er geen contaminatie plaats vindt als dit protocol gevolgd wordt;
2. Er dient rekening gehouden te worden met **waterverplaatsingen**. De sampling wordt daarom uitgevoerd op een moment dat er weinig stroming is. Zo worden eDNA samples niet verzameld direct na (hevige) regenval. Ook wordt er rekening gehouden met kunstmatig opgewekte stroming, bijvoorbeeld bij wisseling van zomer- naar winterpeil.

2.3.2. Hoe vals negatieve waarnemingen voorkomen worden

Naast vals positieve waarnemingen kunnen ook vals negatieve waarnemingen optreden. Daarnaast is uit diverse validatie studies gebleken dat het eDNA in sommige gevallen niet gedetecteerd wordt, ook al is de doelsoort wel aanwezig. Maatregelen die genomen worden om vals negatieve waarnemingen te voorkomen:

1. Per sample worden **26 subsamples** verzameld. Hiermee wordt de kans vergroot dat eDNA in het sample terecht komt.
2. Een zeer gevoelige **qPCR detectie** wordt uitgevoerd met behulp van **12 replica's**. Wanneer minder replica's uitgevoerd worden kan er minder gevoelig gedetecteerd worden. Meer dan 12 qPCR replica's leidt echter niet tot gevoeliger detectie;
3. Gebruik van een **zeer korte merker** van maximaal 100 basepaar;
4. Van ieder sample wordt **vastgesteld of de qPCR detectie geïnhibeerd** wordt door storende stoffen. Indien dit het geval is wordt er een **extra zuiveringstap** uitgevoerd. Vervolgens wordt nogmaals getest of er inderdaad geen inhibitie meer optreedt (zie methode voor een uitgebreidere beschrijving);
5. Er wordt altijd een **positieve controle** reactie van doelsoort DNA meegenomen in de qPCR detectie. Deze controle reactie moet altijd resulteren in positieve detectie. Ook als alle samples negatief zijn, kan zodoende vastgesteld worden dat de detectie juist is uitgevoerd.

3. Resultaten

In 2 samples is eDNA van grote modderkruiper aangetoond (tabel 1). Het gevonden eDNA was in lage concentratie aanwezig. Dit kan betekenen dat de grote modderkruiper niet op de gesampelde plaats aanwezig is maar wel in de nabije omgeving.

Er is geen amplificatie waargenomen in de negatieve controle reacties waar geen sample aan toegevoegd is. De positieve controle reacties waar DNA uit weefsel van de doelsoort aan toegevoegd is werd naar verwachting wel geamplificeerd. Dit geeft aan dat de analyse juist is uitgevoerd.

Humuszuren kunnen een qPCR reactie inhiberen wat kan leiden tot vals negatief resultaat. Daarom wordt altijd een interne controle mee geanalyseerd om vast te stellen of er sprake is van inhibitie. Er werd geen significante afwijking gevonden in de Cq-waarde van de interne controles waar een sample aan toegevoegd is ten opzichte van de reacties waar geen sample aan toegevoegd is. Er was dan ook geen sprake van inhibitie.

Samenvattend, de eDNA analyses zijn met succes uitgevoerd. Er is een lage concentratie eDNA van grote modderkruiper aangetoond.

Tabel 1. Resultaten van eDNA analyse.

Sample nummer	Aantal positieve reacties grote modderkruiper
20190	1/12
20191	0/12
20192	1/12