

2021

Vervolgonderzoek Berging en Doorvoer Willeskop



R.J.H. Schröder

Ecologisch Adviesbureau Schröder

21-12-2021

Rapportnummer 2110

Vervolgonderzoek Berging en Doorvoer Willeskop

Inventarisatie flora en fauna ten behoeve van natuurwetgeving in relatie tot geplande inrichtingswerkzaamheden

Rapportnummer 2110

R.J.H. Schröder

21 december 2021

Opdrachtgever:

Aveco de Bondt
Postbus 64
7450 AB Holten



Ecologisch Adviesbureau Schröder

Droppersweg 1
7108 BL Winterswijk-Woold
Tel: 0543-564336
E-mail: ecoadvies@planet.nl
l: www.ecologischadviesbureauschroder.nl

Colofon

© 2021 Ecologisch Adviesbureau Schröder, Winterswijk-Woold

<i>Tekst en samenstelling:</i>	R.J.H. Schröder (Ecologisch Adviesbureau Schröder).
<i>Status rapportage</i>	Definitief versie 1.0
<i>In opdracht van:</i>	Aveco de Bondt.
<i>Contactpersoon:</i>	Th. Gerritsen.
<i>Veldwerk:</i>	Y. Damstra, R. Papendorp, R.J.H. Schröder, A. van Triest en B. Voerman.
<i>Foto's omslag en rapport:</i>	R.J.H. Schröder.
<i>Rechten:</i>	De inhoud van dit rapport (in het geheel of in delen) mag, behoudens Aveco de Bondt, zonder schriftelijke toestemming van Ecologisch Adviesbureau Schröder, niet door fotokopie, druk of andere middelen worden gereproduceerd.
<i>Bronvermelding:</i>	Citaten uit dit rapport zijn toegestaan met volledige bronvermelding: Schröder, 2021. Vervolgonderzoek Berging en Doorvoer Willeskop.
<i>Wijze van citeren:</i>	Schröder, R.J.H., 2021. Vervolgonderzoek Berging en Doorvoer Willeskop. Rapport 2110 - Ecologisch Adviesbureau Schröder, Winterswijk-Woold.

Ecologisch Adviesbureau Schröder is aangesloten bij het Samenwerkingsverband Ecologie

Inhoud

2. Onderzoek	5
2.1 Methode	5
2.2 Resultaten	11
2.2.1 Amfibieën en reptielen	11
2.2.2 Broedvogels	12
2.2.3 Dagvlinders	14
2.2.4 Grondgebonden zoogdieren	14
2.2.5 Libellen	16
2.2.6 Overige insecten en ongewervelden	16
2.2.7 Vaatplanten	17
2.2.8 Vissen	19
2.2.9 Vleermuizen	20
3. Wettelijke consequenties	23
3.1 Soort- en gebiedenbescherming	23
3.1.1 Amfibieën en reptielen	23
3.1.2 Broedvogels	27
3.1.3 Dagvlinders	30
3.1.4 Grondgebonden zoogdieren	30
3.1.5 Libellen	30
3.1.6 Overige insecten en ongewervelden	30
3.1.7 Vaatplanten	31
3.1.8 Vissen	31
3.1.9 Vleermuizen	31
4. Literatuur	33
Bijlagen	34

1. Inleiding

Aanleiding

Het stroomgebied van het Hoogheemraadschap De Stichtse Rijnlanden (HDSR) is kwetsbaar bij extreme neerslagsituaties. Deze situaties zullen naar verwachting vaker voorkomen als gevolg van de klimaatverandering. Op een bepaald moment zullen deze extremen de norm worden en zal opnieuw een Wateropgave Wateroverlast ontstaan. Met adaptief waterbeheer wil HDSR nu al inspelen op deze veranderende omstandigheden.

De waterberging en doorvoer Willeskop sluit uitstekend aan op de al eerder ingezette strategie om het Oude Rijn-gebied te ontlasten door meer water naar de Gekanaliseerde Hollandse IJssel (GHIJ) af te voeren. HDSR heeft in het verleden al diverse maatregelen gerealiseerd t.b.v. het Project Berging en Doorvoer Willeskop. Het projectgebied is gelegen ten zuiden van Oudewater en ten westen van IJsselstein.

In figuur 1 is de globale ligging van het plangebied opgenomen. In de uitsnede is de exacte gebiedsbegrenzing te zien.



Figuur 1. Ligging plangebied Berging en Doorvoer Willeskop (ondergrond: © Google Maps).

Sinds 1 januari 2017 is de Wet Natuurbescherming (Wnb) van kracht. Middels deze wet wordt een groot aantal plant- en diersoorten beschermd. Als er plannen zijn om bepaalde (ruimtelijke) handelingen uit te voeren of wijzigingen aan te brengen in het bestemmingsplan, zal er onderzocht moeten worden of deze plannen, of onderdelen hiervan, nadelige effecten kunnen hebben op aanwezige, of mogelijk aanwezige, beschermde flora en fauna.

Daarom heeft Ecologisch Adviesbureau Schröder (EAS) in 2021 in opdracht van Aveco de Bondt een dergelijke quickscan natuuronderzoek uitgevoerd (Schröder, 2021).

De conclusie van deze quickscan was dat er vervolgonderzoek diende te worden uitgevoerd naar de volgende soorten/soortgroepen:

1. Amfibieën en reptielen (heikikker, kamsalamander, poelkikker, ringslang en rugstreeppad)
2. Broedvogels (jaarrond beschermde nesten cat. 1 t/m 4)
3. Grondgebonden zoogdieren (waterspitsmuis en bever)
4. Vissen (grote modderkruiper)
5. Vleermuizen (boombewonende soorten).

In verband met de zorgplicht van de Wet natuurbescherming heeft EAS geadviseerd om aanvullend onderzoek uit te voeren naar soorten van de Rode lijsten van de volgende soortgroepen:

- Broedvogels
- Vaatplanten
- Dagvlinders
- Libellen
- Vissen

Om aan de natuurwetgeving en de daaruit voortkomende zorgplicht te kunnen voldoen, is door het Aveco de Bondt aan Ecologisch Adviesbureau Schröder (EAS) opdracht gegeven voor de uitvoering van het verplichte en geadviseerde vervolgonderzoek naar bovengenoemde soorten en soortgroepen. Op deze wijze is het mogelijk om de eventuele negatieve effecten op flora en fauna (Wnb) en het NNN in kaart te brengen. Dit rapport beschrijft de bevindingen van het uitgevoerde onderzoek en de consequenties daarvan voor het project.

Onderzoeksvragen

Het rapport geeft antwoord op de volgende hoofdvragen:

1. Soortbescherming en -beleid
 - a. Welke beschermde soorten en Rode Lijstsoorten zijn aanwezig in het plangebied?
2. Gebiedsbescherming en gebiedenbeleid
 - a. Wat zijn de effecten op de aanwezige of nabijgelegen natuurwaarden die via het NNN op provinciaal niveau zijn beschermd?
3. Vergunning/ontheffing
 - a. Dienen er vergunningen of ontheffingen te worden aangevraagd in het kader van de Nederlandse natuurwetgeving of het provinciale natuurbeleid?

Leeswijzer

De onderzoeksmethode en de -resultaten worden in hoofdstuk 2 besproken, terwijl in hoofdstuk 3 de wettelijke consequenties aan de orde komen.

2. Onderzoek

2.1 Methode

Plangebied

De basis van het plangebied wordt gevormd door de uitsnede van figuur 1. Voor het vervolgonderzoek is een zone van grofweg 100 meter daarbuiten ook meegenomen met het onderzoek.

Soorten

Het onderzoek heeft zich gericht op land-, water- en oevergebonden soorten die een beschermingsstatus genieten en de soorten die voorkomen op een (doel)soortenlijst van het landelijke en/of provinciale beleid, namelijk:

1. Beschermde planten- en diersoorten uit de Wnb
2. Soorten die op de Nederlandse Rode Lijsten (RL) staan

In de tekst worden uitsluitend de soorten beschreven waarvan leefgebied aanwezig is in het plangebied of haar directe omgeving (binnen de invloedssfeer van de geplande werkzaamheden), en waar HDSR in het kader van de (zorgplicht van de) Wnb rekening mee moet houden.

Bij alle inventarisaties is de exacte plaats van de waarneming vastgelegd met behulp van de app Obsmapp op een Samsung S20 5G met gps-ontvanger. Hierbij zijn puntwaarnemingen als punt opgenomen. Bij lijnvormige verspreidingen zijn per inventarisatie-eenheid van 50 meter waarnemingen opgenomen als punt. Bij planten is de Floron abundantie-schaal gebruikt terwijl bij dieren exacte of geschatte aantallen zijn opgenomen. Voor een nauwkeurige plaatsaanduiding is in het opmerkingveld aanvullende informatie gezet (bijv. linkeroever, schouwpad of rechtertalud).

Om verstoring van soorten te voorkomen zijn alle waarnemingen onder een embargo van 1 jaar opgeslagen. Dat betekent in de praktijk dat zij op de site www.waarneming.nl pas na 1 jaar te zien zijn. Na validatie van de admins worden de data doorgesluisd naar de Nationale Databank Flora en Fauna (NDFF).

Ten behoeve van de broedvogels is gebruik gemaakt van de app Avimap voor de BMP-B soorten van Sovon. BMP-B staat voor (Broedvogel Monitoring Project - bijzondere soorten).

Tabellen met aangetroffen soorten en verspreidingskaarten

Per soortgroep wordt een overzicht gegeven van de via het veldonderzoek vastgestelde soorten van ad 1. t/m 4. zoals hierboven genoemd onder het kopje '**soorten**'. In de verspreidingskaarten worden echter uitsluitend soorten opgenomen waar HDSR in het kader van de (zorgplicht van de) Wnb rekening mee moet houden. Dit zijn veelal beschermde soorten en soorten van de Rode lijsten van bedreigde planten en dieren (bijv. jaarrond beschermde nesten zijn of groeiplaatsen van planten van de Rode lijst). Hiervan worden uitsluitend de soorten die ook daadwerkelijk in of direct buiten het plangebied leefgebied hebben beschreven (binnen de invloedssfeer van de geplande werkzaamheden).

Veldonderzoek

De veldbezoeken zijn uitgevoerd op de volgende data:

1. 01-04-2021 | overdag: amfibieën, broedvogels en flora
2. 13-05-2021 | avond: amfibieën en broedvogels
3. 14-05-2021 | (vroeg) ochtend: amfibieën en broedvogels
4. 02-06-2021 | (vroeg) ochtend: amfibieën, broedvogels, dagvlinders en flora
5. 16-06-2021 | ochtend: amfibieën en flora
6. 17-06-2021 | nacht: amfibieën en veenmol
7. 06-08-2021 | overdag: vissen
8. 03-09-2021 | amfibieën, dagvlinders, flora, libellen en sprinkhanen

Achter de onderzoekdata staan de soortgroepen vermeld die op die data zijn onderzocht.

Hieronder volgt een toelichting per soortgroep.

Amfibieën en reptielen

Uit het literatuuronderzoek is in het plangebied de aanwezigheid van 2 juridisch zwaar beschermde soorten amfibieën aangetoond (Schröder, 2021). Het betreft de heikikker en de rugstreppad (art. 3.5 Wnb).

Uit het literatuuronderzoek is daarnaast nog het voorkomen van kamsalamander en poelkikker bekend geworden (art. 3.5 Wnb). Het is onduidelijk of deze soorten binnen de grenzen van het plangebied aanwezig zijn. Potentieel is Willeskop geschikt voor beide soorten.

Aanvullend onderzoek is uitgevoerd om 2 redenen:

1. Wat is momenteel de verspreiding en hoe groot is de populatie van heikikker en rugstreppad?
2. Komen kamsalamander en poelkikker voor en zo ja, wat is hun verspreiding en hoe groot is de populatie?

Samengevat is in 2021 onderzoek uitgevoerd naar de volgende amfibieën en reptielen:

- Heikikker
- Kamsalamander
- Poelkikker
- Rugstreppad

Ten behoeve van de heikikker is op 1 april gericht gezocht naar koorplaatsen en vers afgezette eiklumpen. Kamsalamanders zijn op het zicht (in de avond met zaklamp en overdag naar eieren) en met behulp van een steeknet geïnventariseerd. Poelkikkers zijn vooral op het geluid gekarteerd; meest in de avonden. Dat geldt ook voor de rugstreppad. Daarnaast zijn waarnemingen aan amfibieën verricht tijdens onderzoek naar andere soortgroepen. Daartoe zijn potentiële schuilplaatsen (stammen, boomstronken, stenen e.d.) afgezocht.

Ten behoeve van de ringslang is aanvullend onderzoek noodzakelijk zodat duidelijk wordt of dit reptiel binnen de begrenzing van het plangebied voorkomt (Schröder, 2021).

Tijdens het veldonderzoek is gelet op potentiële broedhopen (hopen met organisch materiaal) waarin zich eierschalen kunnen bevinden. Daarnaast is tijdens zonnig weer gelet op eventueel aanwezige zonnende dieren.

Broedvogels

Soorten met jaarrond beschermde nesten (cat. 1 t/m 4)

Van deze beschermingscategorie is het voorkomen van de volgende soorten bekend geworden van het plangebied (Schröder, 2021):

- Boomvalk (cat. 4)
- Buizerd (cat. 4)
- Ransuil (cat. 4)
- Sperwer (cat. 4)
- Steenuil (cat. 1)

In het plangebied is de aanwezigheid van veel soorten duidelijk geworden. Maar omdat er geen recent en integraal broedvogelonderzoek heeft plaatsgevonden, is momenteel een fragmentarisch beeld van de broedvogels uit de nestbeschermingscategorieën 1 t/m 4 voorhanden. Daarom is er aanvullend onderzoek uitgevoerd naar deze categorieën van broedvogels. Daartoe is de opzet gebruikt van de Uitgebreide territorium kartering van Sovon (BSP-B). Dat betekent dat er 5 ochtendronde zijn gelopen om de broedvogels met jaarrond beschermde nesten uit de categorieën 1 t/m 4 in kaart te brengen.

Soorten van de Rode lijst

Van deze beschermingscategorie is van het plangebied het voorkomen van 27 soorten broedvogels bekend geworden (Schröder, 2021). Direct buiten het plangebied zijn nog eens 3 soorten extra bekend geworden.

In het kader van de zorgplicht van de Wnb is vooral voor deze soorten van groot belang dat het duurzaam voortbestaan van deze bedreigde vogels in Willeskop e.o. niet in het geding komt.

Samengevat heeft EAS een integrale broedvogelkartering van alle Rode lijstsoorten uitgevoerd. Daartoe is eveneens de opzet gebruikt van de Uitgebreide territorium kartering van Sovon (BSP-B). Dat betekent dat er 5 ochtendronde zijn gelopen om de broedvogels van de Rode lijst in kaart te brengen. Avond- of nachtronde maken geen deel uit van deze telmethodiek. Voor andere soortgroepen zijn echter wel avondronde gelopen. De tijdens die ronden waargenomen broedvogels van de Rode lijst zijn eveneens vastgelegd.

Dagvlinders

Het plangebied is, gezien de aanwezige biotopen en de landelijke verspreiding, ongeschikt voor conform artikel 3.5 en 3.10 van de Wnb beschermde dagvlinders (Schröder, 2021).

Wel kunnen gezien de aanwezige biotopen een tweetal dagvlinders van de Rode lijst van bedreigde soorten (bruin blauwtje en geelsprietdikkopje) potentieel voorkomen. Het onderzoek is specifiek op deze soorten gericht geweest.

Grondgebonden zoogdieren

Via de NDFF is uitsluitend 1 conform artikel 3.5 van de Wnb beschermde soort bekend geworden van het plangebied en haar directe omgeving (waterspitsmuis). Niet conform artikel 3.10 van de Wnb vrijgestelde soorten zijn niet bekend geworden (Schröder, 2021).

Gezien de aanwezige biotopen binnen de begrenzing van plangebied Willeskop en het voorkomen direct buiten de begrenzing kan redelijkerwijs worden aangenomen dat deze soort ook in het plangebied voorkomt.

Nader onderzoek naar waterspitsmuizen is uitgevoerd met behulp van eDNA. Hiertoe heeft een medewerker van EAS bodemmonsters verzameld op 4 verschillende locaties. Het betrof 3 locaties in de oeverzone van Willeskop en 1 in de oeverzone van een rietsloot van het rietmoeras direct ten westen van Willeskop.

Naast de waterspitsmuis is redelijkerwijs alleen nog de bever als juridisch zwaar beschermde soort potentieel in het plangebied te verwachten. Daarom is ook naar deze soort onderzoek uitgevoerd. Hierbij is hoofdzakelijk gelet op vraatsporen aan bomen en struiken en zwemmende dieren.



Figuur 2. Materiaal om bodemmonsters te verzamelen i.v.m. eDNA onderzoek waterspitsmuis in plangebied 'Willeskop' in 2021.

Libellen

Het plangebied is, gezien de aanwezige biotopen en de landelijke verspreiding, ongeschikt voor conform artikel 3.5 en 3.10 van de Wnb beschermde libellen (Schröder, 2021).

Wel kan gezien de aanwezige biotopen één soort van de Rode lijst van bedreigde libellen (groene glazenmaker) potentieel voorkomen. Het onderzoek is specifiek op deze soort gericht geweest.

Deze soort is in haar leefwijze verbonden aan krabbenscheer. Daarom zijn uitsluitend de gebieden en hun directe omgeving met krabbenscheerveldjes onderzocht (zie figuur 11).

Overige insecten en ongewervelden

Eventueel andere aanwezige soorten die van belang zijn voor de zorgplicht van de Wnb zijn eveneens genoteerd.

Vaatplanten

Gezien de aanwezige biotopen binnen de begrenzing van het plangebied en de landelijke verspreiding, is het redelijkerwijs aan te nemen dat er geen conform artikel 3.5 en 3.10 van de Wnb beschermde planten voorkomen binnen de begrenzing van het plangebied (Schröder, 2021).

Wel komt een aanzienlijk aantal soorten van de Rode lijst van bedreigde soorten voor. Omdat de indruk bestaat dat een compleet beeld van deze flora ontbreekt, is in het kader van de zorgplicht van de Wnb een integrale kartering van planten van de Rode lijst uitgevoerd.

Vissen

Er zijn geen beschermde vissoorten bekend geworden middels de quickscan (Schröder, 2021).

Wel is het plangebied, gezien de aanwezige biotopen en de landelijke verspreiding, geschikt voor conform artikel 3.10 van de Wnb beschermde grote modderkruipers. Daarom dient een aanvullend onderzoek naar grote modderkruiper te worden uitgevoerd.

Daarnaast is 1 soort van de Rode lijst van bedreigde vissen te verwachten: kroeskarper. Deze soort is daarom tevens onderzocht.

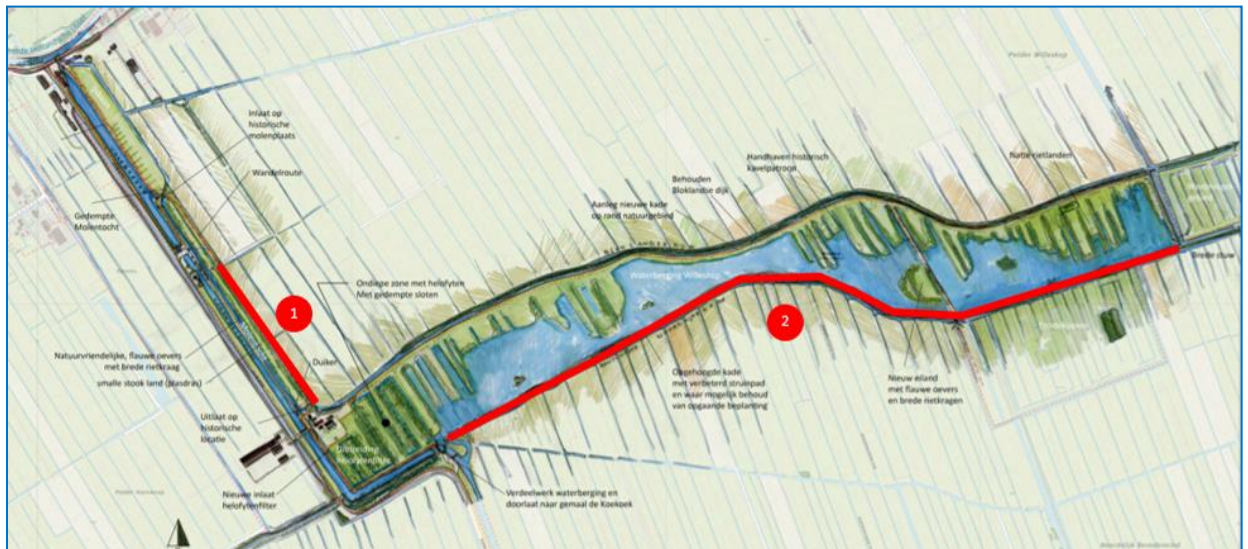
De vissen zijn met behulp van electrovisserij onderzocht. Hiertoe is met een boot de plas van Willeskop bemonsterd. Hierbij heeft de nadruk van het onderzoek op de oeverzone gelegen; vooral die plaatsen waar oude slootjes grenzen aan Willeskop. Daarnaast is ook de ondiepe zone (tot 2 meter diep) van een van de eilandjes bemonsterd. Ook zijn de sloten in het plangebied steekproefsgewijs wadend en vanaf de kant bemonsterd. Hierbij heeft het westelijke rietmoeras en de 'boerenslootjes' in de schapenwei direct ten zuidoosten van boerderij Vaders Wens de meeste aandacht gekregen.

Vleermuizen

Voor vleermuizen zijn er 2 deelgebieden die onderzocht zijn (zie figuur 3):

1. Knotwilgenrij ten noordwesten van boerderij Vaders Wens
2. Kade met opgaande begroeiing ten zuiden van de plas Willeskop

Dat zijn delen van het plangebied waar mogelijk vaste rust- en/of verblijfplaatsen verdwijnen door geplande werkzaamheden (kap bomen).



Figuur 3. Ligging op vleermuizen onderzochte deelgebieden in plangebied 'Willeskop' in 2021 (bron: Hoogheemraadschap de Stichtse Rijnlanden).

In beide deelgebieden is een vleermuisonderzoek uitgevoerd aan de hand van vijf gerichte veldbezoeken. Hierbij is gezocht naar zwermende vleermuizen in de ochtenduren, uitvliegende en terugkerende dieren in de avonduren en baltsactiviteit in de nazomer. Tijdens het ochtendbezoek 3A is deelgebied 2 door twee ecologen gelijktijdig onderzocht om de trefkans te verhogen. Het onderzoek is uitgevoerd conform het vleermuisprotocol 2021. Voor het onderzoek is gebruik gemaakt van batdetectors: Anabat walkabout, Batlogger M en nachtcamera Pulsar. Tijdens de onderzoeksmomenten in deelgebied 2 is eveneens een stationaire Batlogger gebruikt om een grotere trefkans van aanwezige soorten te verkrijgen. De onderzoeksdata van vleermuizen zijn opgenomen in tabel 1.

Bezoekgegevens vleermuisonderzoek:

Ronde 1: avondronde

Datum: 12-06-2021

Tijd: 21:45

Bewolking: 0/8 Temp: 23 °C Wind: 1 Bf - NW Neerslag: 0

Ronde 2: avondronde

Datum: 02-07-2021

Tijd: 21:45

Bewolking: 6/8 Temp: 21 °C Wind: 1 Bf - N Neerslag: 0

Ronde 3A: ochtendronde

Datum: 03-07-2021

Tijd: 02:15

Bewolking: 6/8 Temp: 12 °C Wind: 1 Bf - ZO Neerslag: 0

Ronde 3: ochtendronde

Datum: 07-07-2021

Tijd: 02:45

Bewolking: 6/8 Temp: 12 °C Wind: 1 Bf - ZW Neerslag: 0

Ronde 4: nachtronde

Datum: 20-08-2021

Tijd: 21:00

Bewolking: 6/8 Temp: 21-18 °C Wind: 1 Bf - W Neerslag: 0

Ronde 5: nachtronde

Datum: 18-09-2021

Tijd: 22:30

Bewolking: 8/8 Temp: 20-17 °C Wind: 3 Bf - NO Neerslag: 0

Tabel 1. Onderzoekdata vleermuizen in plangebied 'Willesskop' in 2021

2.2 Resultaten

2.2.1 Amfibieën en reptielen

In 2021 zijn 6 soorten amfibieën waargenomen in plangebied Willeskop:

- Bastaardkikker (Wnb art. 3.10)
- Gewone pad (Wnb art. 3.10)
- Heikikker (Wnb art. 3.5)
- Meerkikker (Wnb art. 3.10)
- Poelkikker (Wnb art. 3.5)
- Rugstreppad (Wnb art. 3.5)

Kamsalamanders en ringslangen zijn niet waargenomen.

In figuur 4 is de verspreiding van heikikker, poelkikker en rugstreppad opgenomen



Figuur 4. Verspreiding amfibieën en reptielen in en nabij plangebied 'Willeskop' in 2021 (ondergrond: © PDOK).

De poelkikker heeft de meest ruime verspreiding in het plangebied. In de meeste gevallen ging het om roepende mannetjes. De meeste koren bevinden zich in plantenrijke (polder-)sloten; zij waren meestal klein (1-5 roepende ♂♂).

De heikikker is vooral in het westelijke deel van het plangebied vastgesteld. De waarnemingen hebben daar allen betrekking op voortplantingsplaatsen (kooivorming en recent afgezette eiklumpen). De overige waarnemingen betreft volwassen heikkickers in vochtige tot natte extensief beheerde graslanden.

De rugstreeppad is op 4 locaties vastgesteld. Het betreft koren van 1-10 roepende ♂♂. In 3 gevallen betreft het poldersloten. De meest westelijke vindplaats is een voor weidevogels aangelegde plas-dras situatie.



Figuur 5. Voortplantingshabitat heikikker, mannetje heikikker in paringskleed, eiklomp heikikker en adulte heikikker in zomerleefgebied in plangebied 'Willeskop' in 2021.

2.2.2 Broedvogels

In 2021 zijn 27 soorten schaarse en zeldzame broedvogels vastgesteld in plangebied Willeskop. In tabel 2 is daarvan een overzicht opgenomen.

Van deze 27 soorten hebben er 3 jaarrond beschermde nesten in de categorie 4: buizerd, havik en ransuil. Vogels uit categorie 4 keren jaarlijks terug naar een specifiek nest, maar zijn voldoende flexibel om elders een nieuw nest te bouwen. Zij zijn echter wel dusdanig kwetsbaar dat de functionaliteit van het leefgebied niet in het geding mag komen.

De buizerd broedt met 1 paar in opgaande begroeiing op de Bloklandse Dijk. De havik heeft haar nest in een opgaand bosje van een eendenkooi van Staatsbosbeheer in het oostelijke deel van het plangebied. De ransuil heeft gebroed in een schietwilg langs de Benschopse Noordzijds kade. In bijlage 1 zijn deze 3 soorten weergegeven in het 1^e kaartbeeld (ecologische groep 'Bosvogels').

Met 44 territoria in en nog eens 3 net buiten het plangebied, is de rietzanger veruit de meest algemene van alle vastgestelde schaarse en zeldzame broedvogels. Zij broedt het liefst in vochtige tot natte moerasvegetaties met opgaande structuren als hoge rietvegetaties en/of jonge struikopslag.

Er zijn maar liefst 16 broedvogels van de Rode lijst van bedreigde broedvogels vastgesteld in Willeskop. Daarvan hebben er 8 de status 'kwetsbaar', 7 de status 'gevoelig' en 1 de status 'bedreigd'.

Omdat in het plangebied een groot aantal soorten schaarse en zeldzame broedvogels voorkomt, leidt weergave op 1 kaart van alle territoria tot onoverzichtelijkheid. Daarom zijn de vastgestelde territoria gegroepeerd per ecologische soortgroep en opgenomen in bijlage 2.

soort	Aantal territoria		Jaarrond beschermde nesten (cat.)	Rode lijst
	binnen plangebied	buiten plangebied		
Bergeend	1			
Blauwborst	5	1		
Bruine Kiekendief	2			
Buizerd	1		4	
Gele Kwikstaart	2			GE
Groene Specht	1			
Grutto	17			GE
Havik	1		4	
Kievit	4			
Kleine Plevier	1			
Kluut	1			
Kneu	3	1		GE
Koekoek	3			KW
Lepelaar	1			
Porseleinhoen	1			KW
Ransuil	1		4	KW
Rietzanger	44	3		
Roerdomp	1			KW
Slobeend	5			KW
Snor	1			KW
Spotvogel	14	4		GE
Tureluur	16	1		GE
Veldleeuwerik	3	1		GE
Visdief	8			GE
Wintertaling	1			KW
Wulp	1			KW
Zomertaling	1			BE

Betekenis afkortingen Rode lijst

GE = gevoelig

KW = kwetsbaar

Be = bedreigd

De ecologische groep van de bosvogels heeft een beperkte verspreiding. Zij broeden in boomrijen langs de dijkes aan de noord- en zuidzijde van de plas en in een eendenkooi met broekbos. De ecologische groepen van vogels van pionierbegroeiingen, struweelvogels en watervogels hebben een vrij beperkte tot vrij ruime verspreiding. De ecologische groepen van de riet- en weidevogels hebben een ruime verspreiding.

Tabel 2. Aantal territoria schaarse en zeldzame broedvogels in en nabij plangebied 'Willesskop' in 2021.



Figuur 6. Moerasvegetaties en struwelen nabij de Damweg, leefgebied van onder andere kneu en rietzanger.

2.2.3 Dagvlinders

In 2021 zijn 4 soorten dagvlinders waargenomen in plangebied Willeskop:

- Argusvlinder
- Atalanta
- Bont zandoogje
- Klein geaderd witje

De argusvlinder staat niet op de Rode lijst van bedreigde dagvlinders (Van Swaay, 2019). Desondanks is zij opgenomen in een kaartbeeld omdat zij momenteel sterk achteruitgaat in Nederland (figuur 7). Van de argusvlinder zijn op 2 juni 2021 in totaal 2 exemplaren waargenomen, verspreid over 2 locaties. Zij werden zonnend gezien op een wandelpad met open grond, omgeven door delen met een meer gesloten en opgaande vegetatie.



Figuur 7. Verspreiding argusvlinder in en nabij plangebied 'Willesskop' in 2021 (ondergrond: © PDOK).

Bruin blauwtje en geelsprietdikkopje zijn niet waargenomen.

2.2.4 Grondgebonden zoogdieren

Van de 2 in 2021 onderzochte soorten (bever en waterspitsmuis) is uitsluitend waterspitsmuis vastgesteld (zie figuur 8).

De soort is vastgesteld in het rietmoeras aan de westzijde van Willesskop. Daar zijn op 6 augustus 2021 bodemonsters langs een oever van een rietsloot in het bestaande helofytenfilter verzameld. Na laboratoriumanalyse bleek hier DNA van waterspitsmuis in te zitten. In bijlage 2 is het verslag van het eDNA-onderzoek te lezen.



Figuur 8. Verspreiding waterspitsmuis in en nabij plangebied 'Willeskop' in 2021 (ondergrond: © PDOK).



Figuur 9. Locatie waar m.b.v. eDNA onderzoek de aanwezigheid van waterspitsmuis is vastgesteld in 2021.

Op veel plaatsen is potentieel geschikt leefgebied aanwezig voor de waterspitsmuis. Het gaat vooral om moerasvegetaties op de voormalige graslandpercelen aan de noordzijde van de plas, moerasoevers langs sloten en de plas en de natte hooilanden aan de oostzijde van Willeskop.

Het lijkt daarom legitiem te stellen dat deze soort wijd verbreid is in het plangebied. De 2 waarnemingen uit 2012 langs de Damweg nabij Oudewater bevestigen dat beeld (Schröder, 2021).

Bevers of sporen van bevers zijn niet vastgesteld.

2.2.5 Libellen

In 2021 zijn 6 soorten libellen waargenomen in plangebied Willeskop:

- Bloedrode heidelibel
- Bruine glazenmaker
- Gewone oeverlibel
- Kleine roodoogjuffer
- Lantaarntje
- Paardenbijter

Groene glazenmakers zijn niet aangetroffen in Willeskop.

Er zijn uitsluitend libellen genoteerd tijdens een specifiek op de groene glazenmaker gericht veldbezoek. Deze vond daarom plaats op 3 september 2021. Daardoor zijn vroege soorten gemist en is bovenstaande lijst incompleet.

2.2.6 Overige insecten en ongewervelden

Tijdens de karteringen naar andere soortgroepen, zijn in Willeskop in totaal 3 waarnemingen van veenmol verzameld (figuur 10). Deze krekelachtige werd op 2 juni overdag waargenomen op het klompenpad aan de noordzijde van het plangebied. Op 17 juni werden rond middernacht 2 tsjirpende mannetjes vastgesteld. Zij bevonden zich aan de oost- en zuidzijde van het plangebied

In de plas van Willeskop werden op 6 augustus 2021 15 subadulte gevlekte Amerikaanse rivierkreeften gevangen tijdens de visstandbemonstering. Van de sprinkhanen zijn gewoon spitskopje, kustsprinkhaan, moerassprinkhaan en zuidelijk spitskopje waargenomen. Overige relevante insecten en ongewervelden zijn niet aangetroffen in 2021.



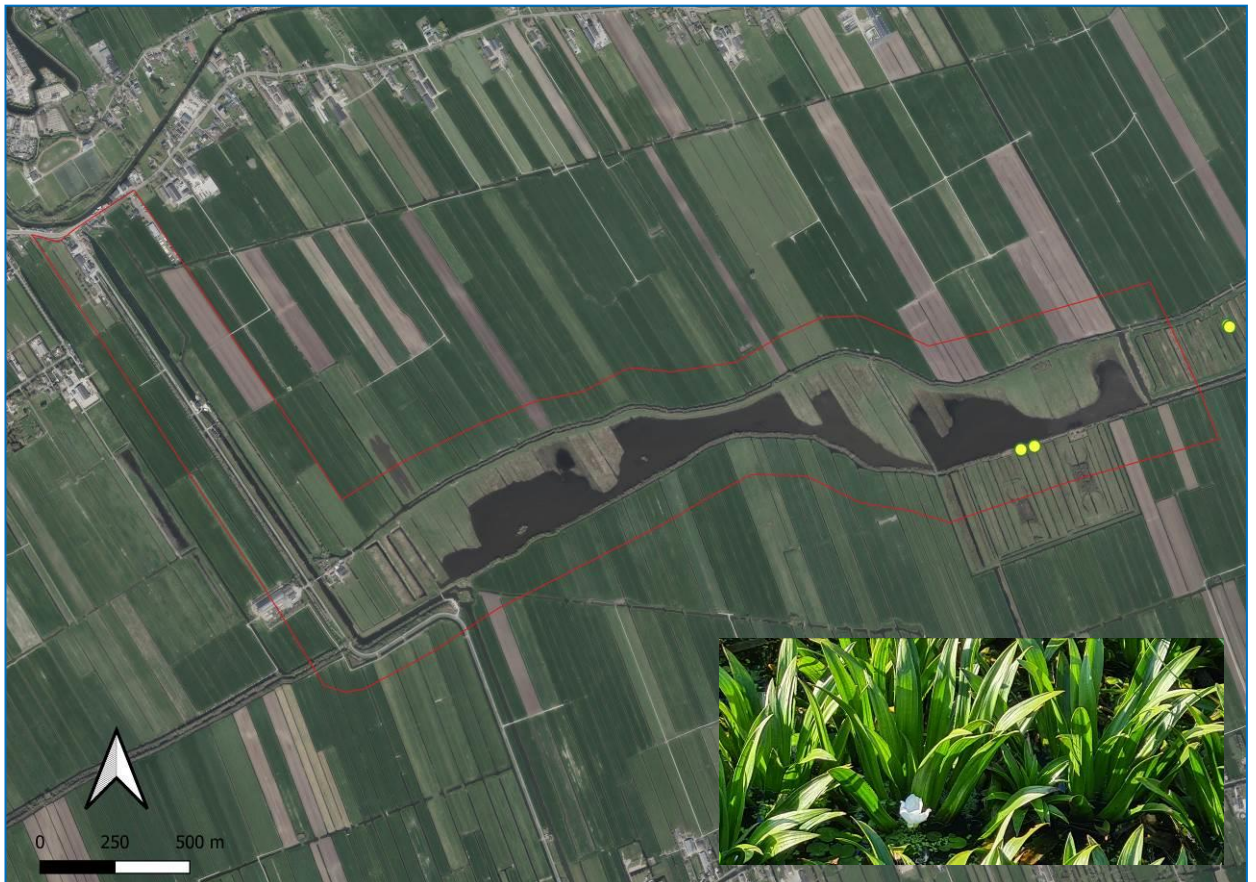
Figuur 10. Verspreiding veenmol in en nabij plangebied 'Willesskop' in 2021 (ondergrond: © PDOK).

2.2.7 Vaatplanten

In 2021 zijn 21 soorten indicatieve vaatplanten waargenomen in plangebied Willesskop:

- Blauwe waterereprijs
- Echte koekoeksbloem
- Egelboterbloem
- Geelgroene zegge
- Gewone dotterbloem
- Goudknopje
- Grote ratelaar
- Heelblaadjes
- Holpijp
- Kale jonker
- Klein vlooienkruid
- Krabbenscheer (RL gevoelig)
- Margriet
- Moerasspirea
- Moerasstruisgras
- Poelruit
- Slijkgroen
- Tweerijige zegge
- Waterpostelein
- Waterviolier
- Zwanenbloem

Alleen krabbenscheer staat op de lijst van bedreigde vaatplanten (status 'gevoelig'). De verspreiding daarvan is opgenomen in figuur 11.



Figuur 11. Verspreiding krabbenscheer in en nabij plangebied 'Willesskop' in 2021 (ondergrond: © PDOK).

Binnen het plangebied is krabbenscheer van een aantal sloten bekend geworden in de omgeving van de eendekooi van Staatsbosbeheer.



Figuur 12. Krabbenscheer in een sloot nabij de eendekooi van Staatsbosbeheer in plangebied 'Willesskop' op 16 juni 2021.

2.2.8 Vissen

In 2021 zijn 12 soorten vissen waargenomen in plangebied Willeskop:

- Baars
- Bittervoorn
- Driedoornige stekelbaars
- Kleine modderkruiper
- Kroeskarper (RL kwetsbaar)
- Marmergrondel
- Pos
- Ruisvoorn
- Schubkarper
- Snoek
- Tiendoornige stekelbaars
- Zeelt

In figuur 13 is de verspreiding van kroeskarper opgenomen. Er is op 6 augustus 2021 1 adult dier gevangen met een lengte van 35 centimeter. Deze is gevangen in het westelijke deel van de plas van Willeskop. Waarschijnlijk komt deze limnofiele vissoort (voorkeur voor stilstaand water) verspreid over de plas voor in de meest vegetatierijke delen (oeverzone).



Figuur 13. Verspreiding kroeskarper in en nabij plangebied 'Willesskop' in 2021 (ondergrond: © PDOK).

Grote modderkruipers zijn niet aangetroffen tijdens het onderzoek.



Figuur 14. Een deel van de visvangst tijdens de elektrische visstandbemonstering op 6 augustus 2021 in plangebied 'Willesskop' (te herkennen zijn snoek en zeelt).

2.2.9 Vleermuizen

In 2021 zijn 7 soorten vleermuizen waargenomen in plangebied Willesskop:

- Gewone dwergvleermuis
- Ruige dwergvleermuis
- Laatvlieger
- Watervleermuis
- Meervleermuis
- Franjestaart
- Rosse vleermuis

Alle vleermuizen zijn beschermd volgens artikel 3.5 van de Wnb.

Hieronder worden de afzonderlijke soorten besproken.

Gewone dwergvleermuis

In beide deelgebieden is deze soort tijdens alle bezoeken aangetroffen. In deelgebied 1 is het aantal laag tot maximaal 5 dieren die enige tijd foerageren. Circa 5 minuten na zonsondergang neemt het aantal treffers zeer sterk af en wordt sporadisch nog een gewone dwergvleermuis gehoord. Tijdens het ochtendbezoek zijn tot circa 10 minuten voor zonsopkomst enkele zwermende dieren boven de boerderij waargenomen. Het aantal lijkt hoger te liggen dan 5 individuen. Er is niet specifiek op het erf gepost waardoor de exacte locatie van een verblijf niet is vastgesteld. Gezien het aantal betreft het in elk geval een groter zomerverblijf, mogelijk een kleine kraamlocatie. Dit is echter niet nader bepaald omdat daar geen werkzaamheden zijn gepland die nadelig kunnen zijn voor vleermuizen.

Tijdens het najaarsonderzoek is 1 mannetje op het erf en langs de knotwilgen baltsend aangetroffen. Gezien de baltsvluchten zal een paarlocatie in een van de gebouwen op het erf moeten worden gezocht. In de bomen is geen verblijfplaats aanwezig.

In deelgebied 2 is de soort over de gehele lengte aangetroffen. De aantallen lijken echter vrij laag gezien de geschiktheid van het plangebied. Vermoedelijk betreft het enkele tientallen dieren. Tijdens de ochtendronde zijn de laatste dieren tot circa een half uur voor zonsopkomst aanwezig. Van een enkele individu is waargenomen dat deze op route richting het westen vloog. Mogelijk geldt dat voor meerdere dieren. Tijdens het najaarsonderzoek zijn diverse 'social calls' in het plangebied gehoord. Specifieke langdurige balts met vluchten is niet waargenomen. Tijdens het bezoek op 18 september 2021 was het aantal individuen sterk afgenomen ten opzichte van de overige bezoekmomenten. Hoewel paarlocaties van deze soort in bomen aanwezig kunnen zijn, is dit niet vastgesteld.

De bomen langs de dijk vormen een belangrijke functie als vlieggeleiding en foerageermogelijkheden.

Ruige dwergvleermuis

In deelgebied 2 is deze soort tijdens alle avond- en nachtbezoeken waargenomen. In deelgebied 1 is de soort niet gehoord. Tijdens de voorzomerronden zijn verspreid langs het tracé enkele dieren foeragerend aanwezig. Tijdens de najaarsronden lagen de aantallen hoger met een geschat aantal van 10-15 dieren. Dit is echter een globale schatting. Tijdens de ochtendronde is van deze soort tot circa 1 uur voorzonsopkomst een enkel individu gehoord. Er zijn geen zwermende dieren waargenomen. Tijdens het najaarsonderzoek zijn verschillende baltsgeluiden en 'social calls' waargenomen. In de directe nabijheid van de steiger is een vaste baltslocatie aanwezig waar enige tijd een baltsende ruige dwergvleermuis stationair is gehoord. Ondanks het gebruik van een nachtcamera is de exacte holte niet gevonden. Vermoedelijk bevindt deze zich aan de waterzijde waardoor deze niet zichtbaar was. Voor deze soort is deelgebied 2 belangrijk tot essentieel als vlieggeleiding en foerageergebied met minimaal 1 baltslocatie.

Laatvlieger

Deze soort is tijdens alle onderzoeksmomenten in het plangebied waargenomen. Alle dieren zijn foeragerend vastgesteld. Gezien de ecologie van deze voornamelijk gebouwbewonende soort, is een verblijf in een van de bomen uitgesloten. Tijdens het tweede avondbezoek is van een tweetal dieren in de avondschemering waargenomen dat deze op route vanuit het zuiden kwamen aanvliegen. Of dit voor alle individuen geldt is niet vastgesteld.

Watervleermuis

Deze soort is tijdens alle onderzoeksmomenten boven het wateroppervlak van deelgebied 2 aangetroffen. In deelgebied 1 is de soort niet vastgesteld. Tijdens de avondbezoeken worden de eerste dieren circa 30 minuten na zonsondergang langs de bomenranden waargenomen. Boven het wateroppervlak werd intensief gefoerageerd. Tijdens het ochtendbezoek is juist voor deze soort vroeg gestart zodat eventueel aanwezige zwermende dieren konden worden aangetoond. Er zijn geen groepen zwermende dieren waargenomen. Er is geen verblijfplaats van deze soort aangetroffen. Op twee locaties is enige tijd wel zwermgedrag waargenomen. Op beide locaties zijn de dieren niet ingevlogen. Wel duidt dit op de aanwezigheid van een verblijfplaats.

Meervleermuis

Tijdens de beide avondbezoeken en het eerste nachtbezoek in augustus zijn enkele (2-4 individuen) foeragerend in deelgebied 2 waargenomen. Tijdens het ochtendbezoek is de soort niet vastgesteld. De herkomst is niet bekend geworden.

Franjestaart

Van deze soort zijn langs het pad in deelgebied 2 meerdere opnamen gemaakt van foeragerende dieren. Op een tweetal plekken is de soort intensief, maar met vermoedelijk slechts 1 tot max 2 individuen foeragerend aanwezig. Tijdens het najaarsonderzoek zijn enkele opnamen gemaakt van baltsgeluiden. Gezien de ecologie van de soort is het aannemelijk dat een verblijfplaats in de bomen aanwezig is. Ondanks gericht zoeken is deze niet vastgesteld.

Rosse vleermuis

In beide deelgebieden is deze soort aangetroffen. In deelgebied 1 is betreft het enkele dieren die in naastliggende weilanden foerageren en enkele overtrekkende dieren zonder duidelijke binding met de knotwilgen. Er is dan ook geen verblijfplaats in de knotwilgen aanwezig. In deelgebied 2 wordt intensief gefoerageerd door een vrij groot aantal dieren. Boven het wateroppervlak in de omgeving van de uitkijktoren is de contractie tijdens de avonden het grootst. Met behulp van een nachtkijker is het aantal geschat op meer dan 15 individuen. Langs de noordrand van het plasseengebied is tijdens de ochtendronde een aantal dieren zwermend waargenomen. Het is aannemelijk dat daar een groter verblijf en mogelijk een kraamboom aanwezig is. Tijdens de najaarsronde zijn veel sociale geluiden van vliegende dieren boven het wateroppervlak gehoord. Er zijn geen stationair baltsende dieren waargenomen.

In figuur 15 is de verspreiding van de vleermuizen opgenomen.



Figuur 15. Verspreiding vleermuizen in en nabij plangebied 'Willesskop' in 2021 (ondergrond: © PDOK).

3. Wettelijke consequenties

3.1 Soort- en gebiedenbescherming

3.1.1 Amfibieën en reptielen

Amfibieën

Uit het vervolgonderzoek is in het plangebied en directe omgeving de aanwezigheid van 6 soorten amfibieën aangetoond. Het betreft bastaardkikker, gewone pad, heikikker, meerkikker, poelkikker en rugstreeppad.

Bastaardkikker, gewone pad en meerkikker zijn opgenomen in artikel 3.10 van de Wet natuurbescherming. In relatie tot deze wet vallen zij onder de algemene vrijstelling van de provincie Utrecht. Voor deze soorten is echter wel de algemene zorgplicht van de Wet natuurbescherming van toepassing.

In het plangebied en directe omgeving komen 3 juridisch zwaar beschermde soorten voor (art. 3.5 Wnb): heikikker, poelkikker en rugstreeppad. Deze soorten komen verspreid voor in het plangebied. De voortplantingsplaatsen liggen in (polder-)sloten, de oeverzone van Willeskop en een plas-dras gebied voor weidevogels.

Hieronder worden de mogelijke effecten van de basisvariant op de afzonderlijke soorten beschreven.

Voortplantingsplaatsen

Heikikker

Er zijn een aantal deelgebieden met bijbehorende inrichtingsmaatregelen, die een negatief effect sorteren op de in 2021 vastgestelde voortplantingsplaatsen van de heikikker:

1. Nieuwe Regionale Kering
2. Bestaand helofytenfilter
3. Uitbreidingsgebied helofytenfilter
4. Plas Willeskop

Daarom dient ten behoeve van de heikikker in het kader van de Wnb een ontheffing te worden aangevraagd.

CONCLUSIE

De wettelijke consequenties ten aanzien van de Wet natuurbescherming en Het Nationale Natuurnetwerk (NNN) zijn de volgende:

- Voor de inrichting van Willeskop dient een ontheffing in het kader van de Wnb te worden aangevraagd voor de volgende soorten:
 - Heikikker
 - Poelkikker
 - Rugstreeppad
 - Waterspitsmuis
- Indien het wenselijk is om in de zoekgebieden met verblijfplaatsen van ruige dwergvleermuis, watervleermuis en/of franjestaart bomen en struiken te rooien, dan dient voor deze soorten eveneens een ontheffing aangevraagd te worden.
- Indien het wenselijk is om de nestboom van de ransuil en aangrenzende bomen en struiken te rooien, dan dient voor deze soorten eveneens een ontheffing aangevraagd te worden.
- In een nog op te stellen ecologisch werkprotocol dient aangegeven te worden welke afstand tot de horstboom van de buizerd in het broedseizoen aangehouden dient te worden, indien het wenselijk is om in het broedseizoen te werken aan de op te hogen kade parallel aan de Bloklandse Dijk.

Ad 1. Nieuwe Regionale Kering

De locatie waar deze kering is gepland valt samen met een poldersloot waar 3 eiafzetlocaties van heikikkers liggen. Deze voortplantingsplaatsen zullen daardoor verdwijnen.

Ad 2. Bestaand helofytenfilter

In dit moeras liggen een aantal sloten die dienst doen als voortplantingsplaats voor heikikkers. In de basisvariant worden deze sloten gedempt en zullen de voortplantingsplaatsen verdwijnen.

Ad 3. Uitbreidingsgebied helofytenfilter

Op de overgang van het bestaande naar het uitbreidingsgebied voor een nieuw aan te leggen helofytenfilter, ligt een sloot met meerdere voortplantingsplaatsen van de heikikker. Indien deze sloot wordt vergraven zullen deze voortplantingsplaatsen verdwijnen.

Ad 4. Plas Willeskop

Ten behoeve van een bergingseis van 200.000 m³ wordt het maaiveld van het bergingsgebied in het plangebied plaatselijk verlaagd. Indien daarbij sloten worden vergraven dan zullen deze als voortplantingsplaats voor heikikkers verdwijnen omdat de voor deze soort noodzakelijk (verlandings-)vegetatie daarmee verdwijnt en de eiafzetlocaties mogelijk ook te diep worden (heikikkers zetten uitsluitend eieren af op ondiepe plekken).

Daarnaast zal het bergingsgebied van Willeskop periodiek onder water komen te staan. Hierbij zullen de voortplantingslocaties in de sloten overstroomd en zullen eieren en larven op drift raken. De kans is daarbij groot dat zij in de plas belanden. Daar zullen zij grotendeels worden gepredeerd door de daar aanwezige roofvissen (baars, driedoornige stekelbaars, snoek en tiendoornige stekelbaars). Bovendien is de plas ongeschikt als leefgebied voor de opgroeiende heikikkerlarven.

- Om geen afbreuk aan de functie van het Utrechts Natuurnetwerk (onderdeel NNN) te doen, dienen de adviezen zoals genoemd in § 3.1.2 Broedvogels opgevolgd te worden.
- Indien in het broedseizoen gewerkt wordt (1 maart t/m 1 september), dient rekening te worden gehouden met de bezette nesten van alle inheemse broedvogels.

De adviezen ten aanzien van de aanwezige flora en fauna zijn de volgende:

- Om niet conflicterend te zijn met de bepalingen van de Wet natuurbescherming, adviseren wij om buiten het broedeizoen - dat globaal loopt van 1 maart tot 1 september - te werken.
- Om aan de zorgplicht van de Wet natuurbescherming te voldoen, wordt geadviseerd om uitsluitend die delen te vergraven waar geen of slechts weinig groeiplaatsen van indicatieve vaatplanten aanwezig zijn.
- Ten behoeve van vissen als kroeskarper dient een deel van de oude poldersloten in het bergingsgebied periodiek en gefaseerd geschoond te worden. Zij kunnen dan na een inundatieperiode via deze sloten weer terugzwemmen naar de plas van Willeskop

Poelkikker

Er zijn een aantal deelgebieden met bijbehorende inrichtingsmaatregelen, die een negatief effect sorteren op de in 2021 vastgestelde voortplantingsplaatsen van de poelkikker:

1. Bestaand helofytenfilter
2. Uitbreidingsgebied helofytenfilter
3. Plas Willeskop

Daarom dient ten behoeve van de poelkikker in het kader van de Wnb een ontheffing te worden aangevraagd.

Ad 1. Bestaand helofytenfilter

In dit moeras liggen een aantal sloten die dienst doen als voortplantingsplaats voor poelkikkers. In de basisvariant worden deze sloten gedempt en zullen de voortplantingsplaatsen verdwijnen.

Ad 2. Uitbreidingsgebied helofytenfilter

Op de overgang van het bestaande naar het uitbreidingsgebied voor een nieuw aan te leggen helofytenfilter, ligt een sloot met meerdere voortplantingsplaatsen van de poelkikker. Indien deze sloot wordt vergraven zullen deze voortplantingsplaatsen verdwijnen.

Ad 3. Plas Willeskop

Ten behoeve van een bergingseis van 200.000 m³, wordt het maaiveld in het plangebied plaatselijk verlaagd. Indien daarbij sloten worden vergraven dan zullen deze als voortplantingsplaats voor poelkikkers verdwijnen omdat de voor deze soort noodzakelijk vegetatie daarmee verdwijnt. Veel koorplaatsen bevinden zich in de oeverzone van de plas. Deze zullen eveneens verdwijnen indien deze zone vergraven wordt.

Daarnaast zal het bergingsgebied van Willeskop periodiek onder water komen te staan. Hierbij zullen de voortplantingslocaties in de sloten overstromen en kunnen eieren en larven op drift raken. De kans is daarbij groot dat zij daarbij in de plas belanden. Daar zullen zij deels worden gepredeerd door de daar aanwezige roofvissen (baars, driedoornige stekelbaars, snoek en tiendoornige stekelbaars).

Rugstreepad

De 4 in 2021 aanwezige voortplantingsplaatsen van de rugstreepad liggen allen buiten de invloedssfeer van de geplande inrichtingsmaatregelen van de basisvariant. Hierdoor zullen er geen voortplantingsplaatsen van de rugstreepad verdwijnen.

Overwinteringsplaatsen

Heikikker, poelkikker en rugstreepad

Van de heikikker, poelkikker en rugstreepad is bekend dat zij op het land overwinteren. Daarbij zoeken zij vorstvrije plekken uit boven het grondwaterpeil. In het plangebied vormen erven, kaden, dijkes, bovenzijde van taluds, hogere delen van niet afgegraven voormalige landbouwpercelen en overig drogere locaties potentieel geschikt winterhabitat.

Er zijn een aantal deelgebieden met bijbehorende inrichtingsmaatregelen, die een negatief effect sorteren op de potentieel geschikte overwinteringsplaatsen van de heikikker, poelkikker en rugstreeppad:

1. Nieuwe Regionale Kering
2. NVO Molentocht
3. Plas-dras gebied
4. Uitbreidingsgebied helofytenfilter
5. Kade Bloklandse Dijk
6. Benschopse Noordszijds kade
7. Plas Willeskop

Ad 1. Nieuwe Regionale Kering

De locatie waar deze kering is gepland valt samen met een dijke met knotwilgen. Dit potentieel geschikte winterhabitat zal daardoor verdwijnen.

Ad 2. NVO Molentocht

De aanleg van een natuurvriendelijke oever (NVO) langs de Molentocht zorgt voor het verdwijnen van potentieel geschikt winterhabitat.

Ad 3. Plas-dras gebied

Tussen de Molentocht en de nieuwe regionale kering is de aanleg van een plas-dras gebied voorzien. Daardoor zal potentieel geschikt winterhabitat in de vorm van de bovenzijde van taluds verdwijnen.

Ad 4. Uitbreidingsgebied helofytenfilter

In het uitbreidingsgebied voor het nieuw aan te leggen helofytenfilter liggen meerdere sloten met bijbehorende taluds. De droge delen daarvan vormen potentieel geschikt winterhabitat voor heikikker, poelkikker en rugstreeppad en zullen verdwijnen indien zij worden vergraven.

Ad 5. Kade Bloklandse Dijk

Op een afstand van ongeveer 20 meter ten zuiden van de Bloklandse Dijk wordt een bestaande kade aan de rand van het natuurgebied opgehoogd. Deze kade is potentieel geschikt als winterhabitat. Deze functie komt direct na het ophogen te vervallen omdat er dan nog geen schuilplaatsen zijn door graafactiviteiten van mollen en muizen.

Ad 6. Benschopse Noordszijds kade

Aan de zuidzijde van Willeskop ligt de Benschopse Noordszijds kade. Deze bestaat uit een pad met aan weerszijden een vegetatie bestaande uit kruiden (boszoom), ruigte, struweel, knotwilgen, elzen- en essenhakhout en opgaande begroeiingen bestaande uit onder andere zwarte els, schietwilg en zomereik. Deze kade wordt opgehoogd en het struinpad (klompenpad) wordt verbeterd. Deze kade is potentieel geschikt als winterhabitat voor heikikker, poelkikker en rugstreeppad. Deze functie komt direct na het ophogen te vervallen omdat er dan nog geen schuilplaatsen zijn door graafactiviteiten van mollen en muizen. Het eventueel verwijderen van (delen van) de kruid-, struik- en boomlaag is eveneens nadelig voor deze juridisch zwaar beschermde amfibieën omdat daardoor ook overwinteringhabitat verdwijnt.

Ad 7. Plas Willeskop

Ten behoeve van een bergingseis van 200.000 m³ wordt het maaiveld van het bergingsgebied in het plangebied plaatselijk verlaagd. De wat drogere delen van deze extensief begraasde voormalige landbouwpercelen zijn zeer geschikt als winterhabitat voor heikikker, poelkikker en rugstreeppad. Met name als er veel graafactiviteiten (= holten en gangen) door mollen en muizen plaatsvinden. Als deze gebiedsdelen worden afgegraven verdwijnt er potentieel een (zeer) groot oppervlakte aan potentieel geschikt overwinteringshabitat.

Omdat met de huidige basisvariant niet kan worden voorkomen dat er verbodsartikelen van de Wnb worden overtreden, dient een ontheffing in het kader van de Wnb aangevraagd te worden. Hierbij dient een activiteitenplan te worden opgesteld. Hierin wordt aangegeven welke mitigerende en compenserende maatregelen ten aanzien van juridisch zwaar beschermde artikel 3.5 Wnb-amfibieën noodzakelijk zijn.

In het kader van de zorgplicht van de Wnb kunnen in dit activiteitenplan meteen ook maatregelen ten aanzien van de juridisch minder beschermde artikel 3.10 soorten worden beschreven.

Reptielen

Omdat er in het plangebied geen reptielen (i.c. ringslang) zijn vastgesteld, vormen de geplande werkzaamheden van de basisvariant geen belemmering voor deze soortgroep.

3.1.2 Broedvogels

Algemeen

Alle vogelsoorten zijn conform en de Wnb beschermd (Vogelrichtlijn). Bezette nesten van aanwezige broedvogels zijn altijd beschermd. Daarom dienen de werkzaamheden uitgevoerd te worden buiten de het broedseizoen dat globaal loopt van 1 maart tot 1 september. Daarbuiten zijn in gebruik zijnde vogelnesten echter ook beschermd!

Door het veldonderzoek in 2021 is een goed beeld van de broedvogelbevolking ontstaan.

Soorten met jaarrond beschermde nesten (cat. 1 t/m 4)

Van de broedvogels met jaarrond beschermde nesten zijn de volgende soorten in of direct buiten het plangebied waargenomen:

- Buizerd (categorie 4)
- Havik (categorie 4)
- Ransuil (cat. 4)

De buizerd broedt met 1 paar in opgaande begroeiing op de Bloklandse Dijk. Deze begroeiing blijft gespaard in de basisvariant. Indien echter in het broedseizoen wordt gewerkt aan het ophogen van de ernaast gelegen kade, dan dient minimaal een bepaalde afstand tot het nest aangehouden te worden om verstoring te voorkomen. Dit kan nader worden uitgewerkt in een ecologisch werkprotocol.

De havik heeft haar nest in een opgaand bosje van een eendenkooi van Staatsbosbeheer in het oostelijke deel van het plangebied. Dit bosje valt geheel buiten de invloedssfeer van de vanuit de basisvariant geplande werkzaamheden. Er hoeft daarom voor de havik geen ontheffing in het kader van de Wnb te worden aangevraagd.

De ransuil heeft in 2021 gebroed in een schietwilg langs de Benschopse Noordzijds kade. Indien het wenselijk is (ophoging/verbreding kade) deze nestboom en de aangrenzende opgaande vegetatie te rooien, dan dient een ontheffing aangevraagd te worden in het kader van de Wnb.

Broedvogels van de Rode lijst

Veel van de in 2021 vastgestelde schaarse en zeldzame broedvogels broeden (deels) binnen de invloedssfeer van de geplande inrichtingsmaatregelen van de basisvariant. Het gaat om de volgende soorten:

- Bergeend
- Blauwborst
- Bruine kiekendief
- (Buizerd)
- Groene specht
- Grutto
- Kievit
- Kluut
- Kneu
- Koekoek
- Lepelaar
- Porseleinhoen
- Ransuil
- Rietzanger
- Roerdomp
- Slobeend
- Spotvogel
- Tureluur
- Visdief
- Wintertaling
- Wulp
- Zomertaling

In het kader van de zorgplicht van de Wnb is het van belang dat er door de inrichting van Willeskop en het toekomstige periodiek inunderen van het bergingsgebied geen soorten verdwijnen en het aantal territoria niet afneemt. Daarom is per inrichtingsmaatregelen bepaald voor welke soorten dat een negatief effect heeft:

1. Nieuwe Regionale Kering
2. NVO Molentocht
3. Bestaand helofytenfilter
4. Benschopse Noordszijds kade
5. Plas Willeskop

Ad 1. Nieuwe Regionale Kering

Op de locatie waar deze kering is gepland broedt de volgende schaarse en zeldzame vogel: rietzanger.

Ad 2. NVO Molentocht

Op de locatie waar deze natuurvriendelijke oever wordt aangelegd (Molentocht) broedt de volgende schaarse en zeldzame vogel: rietzanger.

Ad 3. Bestaand helofytenfilter

Op de locatie van het bestaande helofytenfilter broeden de volgende schaarse en zeldzame broedvogels: blauwborst, rietzanger en visdief.

Ad 4. Benschopse Noordszijds kade

De Benschopse Noordszijds kade biedt broedhabitat aan de volgende schaarse en zeldzame broedvogels: blauwborst, groene specht, rietzanger, ransuil en spotvogel. De kade wordt opgehoogd en verbreed en het pad wordt verbeterd. Daartoe wordt vegetatie verwijderd in de kruid-, struik- en boomlaag. Ten behoeve van de ruigte- en struweelvogels wordt geadviseerd om de kade naar de zijde van de plas Willeskop te verbreden en daarmee de zijde aan het landbouwgebied te ontzien. Dan kan met inundatie de plaszijde onderlopen, terwijl de (binnendijkse) zijde droog blijft. Door daar vervolgens een cyclisch hakhoutbeheer uit te voeren blijft er voldoende broedhabitat (rietruigte en struweel) over voor een duurzame populatie van genoemde soorten.

Ad 5. Plas Willeskop

Ten behoeve van een bergingseis van 200.000 m³ wordt het maaiveld van het bergingsgebied in het plangebied plaatselijk verlaagd. Daar broeden veel soorten moeras, water- en weidevogels. Wij adviseren om uitsluitend de wat drogere delen (al dan niet verruigde graslandtypen) daartoe af te graven. Die grond kan worden gebruikt om lokaal delen juist op te hogen (zie hieronder). Deze gebiedsdelen kunnen zich dan weer ontwikkelen als nieuw leefgebied voor (riet-)moeras-, water- en weidevogels.

Een periodieke grootschalige inundatie van Willeskop (inwerking stellen van de waterberging) heeft vooral gedurende het broedseizoen (1 maart tot 1 september) een negatief effect op grondbroeders* en soorten die op geringe hoogte in de (moeras-)ruigte of het struweel broeden:

- Bergeend*
- Blauwborst
- Bruine kiekendief*
- Grutto*
- Kievit*
- Kluut*
- Kneu
- Lepelaar
- Porseleinhoen*
- Rietzanger
- Roerdomp
- Slobeend*
- Spotvogel
- Tureluur*
- Visdief*
- Wintertaling*
- Wulp*
- Zomertaling*

Door de periodieke inundaties ontstaat echter na het zakken van het water ook weer geschikt broed- en foerageergebied voor veel van bovengenoemde soorten. De inundatie heeft dus zowel voor- als ook nadelen. De nadelen zullen uitsluitend optreden in het broedseizoen. Wij adviseren daarom om inundatie zo lang als vanuit veiligheidsoogpunt verantwoord is uit te stellen gedurende het broedseizoen. En als het dan toch noodzakelijk is kan wellicht ook minder water toegelaten worden dan de maximale 200.000 m³. Ook zou Willeskop in 2 compartimenten verdeeld kunnen worden; 1 ten westen en 1 ten oosten van het dijkje met wandelpad dwars op de plas ter hoogte van de uitkijktoren. Bij inundatie zou eerst het linker verreweg grootste compartiment volgelopen kunnen worden zodat nesten van broedvogels van het 2^e kleinere compartiment (zo lang mogelijk) gespaard kunnen worden.

Geadviseerd wordt om verspreid over het bergingsgebied delen dusdanig op te hogen dat daar moerasruigte kan ontstaan in de nieuwe situatie (vegetaties die gedomineerd worden door riet, zeggen, pitrus en bloemrijke ruigte). Sommige delen dienen nog iets hoger aangelegd te worden om te kunnen dienen als hoogwatervluchtplaatsen voor kuikens van nestvlinders als kievit, tureluur en wulp.

Het nieuw aan te leggen eiland dient feitelijk een eiland te worden en geen schiereiland (minimale afstand tot vaste land: 5 meter). Op deze wijze kunnen vossen het eiland niet bereiken en pullen prederen. De hoogte van dat eiland dient minimaal 0,5 meter boven de hoogste waterstand tijdens een inundatie te liggen. Door de vegetatie jaarlijks na het broedseizoen te frezen blijft kale grond of een lage vegetatie aanwezig. Dat is gunstig voor de populatie visdiepjes van Willeskop.

3.1.3 Dagvlinders

Beschermde dagvlinders en dagvlinders van de Rode lijst van bedreigde dagvlinders zijn niet in het plangebied en haar directe omgeving aangetroffen.

Wel werd de in Nederland steeds schaarser wordende argusvlinder waargenomen. Voor deze soort van extensieve graslanden blijft er voldoende leefgebied over na de inrichting van Willeskop. Deze soortgroep vormt daarmee in het kader van de Wnb geen belemmering voor de geplande werkzaamheden.

3.1.4 Grondgebonden zoogdieren

In 2021 is met behulp van eDNA onderzoek de aanwezigheid van waterspitsmuis aangetoond. Volgens de basisvariant worden in het actuele leefgebied sloten gedempt. Deze sloten zijn onderdeel van het leefgebied van de waterspitsmuis. Daarom is een ontheffing in het kader van de Wnb noodzakelijk. In het hiervoor op te stellen activiteitenplan dienen mitigerende en compenserende maatregelen ten behoeve van de waterspitsmuis opgesteld te worden.

Op veel plaatsen in het plangebied is potentieel geschikt leefgebied aanwezig voor de waterspitsmuis. Het gaat vooral om moerasvegetaties op de voormalige graslandpercelen aan de noordzijde van de plas, moerasoever langs sloten en de plas en de natte hooilanden aan de oostzijde van Willeskop. Als hier delen van worden afgegraven verdwijnt ook daar leefgebied en dient ook daarvoor een ontheffing te worden aangevraagd.

Bevers vormen geen belemmering voor de geplande werkzaamheden omdat zij niet in Willeskop zijn vastgesteld.

3.1.5 Libellen

Beschermde libellen en libellen van de Rode lijst van bedreigde libellen zijn niet in het plangebied en haar directe omgeving aangetroffen.

Deze soortgroep vormt daarmee in het kader van de Wnb geen belemmering voor de geplande werkzaamheden.

3.1.6 Overige insecten en ongewervelden

Omdat er in het plangebied geen beschermde insecten of ongewervelden of insecten en ongewervelden van de Rode Lijst aanwezig zijn of zijn te verwachten, zijn er ten aanzien van deze groepen geen wettelijke consequenties voor de gewenste ontwikkelingen.

Wel werden 2 relevante indicatieve soorten vastgesteld: moerassprinkhaan en veenmol. Na de inrichting volgende basisvariant blijft er voldoende leefgebied voor beide soorten over. Daarmee vormen zij in het kader van de Wnb geen belemmering voor de geplande werkzaamheden.

3.1.7 Vaatplanten

Beschermde vaatplanten zijn niet in het plangebied aangetroffen. Wel is 1 soort van de Rode lijst van bedreigde planten aangetroffen:

- Krabbenscheer (RL kwetsbaar)

Deze soort groeit in sloten die buiten de invloedssfeer van de geplande werkzaamheden vallen. Daarmee vormt zij in het kader van de Wnb geen belemmering voor de geplande werkzaamheden.

Daarnaast werden 20 soorten indicatieve planten waargenomen. Een deel daarvan heeft eveneens groeiplaatsen die buiten de invloedssfeer van de geplande werkzaamheden vallen (o.a. gewone dotterbloem en grote ratelaar). Een ander deel komt vooral voor aan de noordzijde van de plas (oeverzone, moeras en grasland). Een deel zal verloren gaan door het afgraven van kleine delen. Daarentegen kunnen deze delen op termijn juist weer leefgebied gaan vormen door het toelaten van spontane vegetatieontwikkeling. De duurzame instandhouding is daarmee voor deze soort gewaarborgd. Voor het behoud van zo veel mogelijk groeiplaatsen van indicatieve vaatplanten, wordt geadviseerd om uitsluitend die delen te vergraven waar geen of slechts weinig groeiplaatsen van indicatieve vaatplanten aanwezig zijn. Dit zou nader kunnen worden uitgewerkt in een ecologisch werkprotocol.

3.1.8 Vissen

In 2021 zijn 12 soorten vissen waargenomen in plangebied Willeskop. Daarvan is de kroeskarper de enige soort van de Rode lijst van bedreigde vissen (status 'kwetsbaar'). Zij is gevangen in de plas van Willeskop. Periodieke inundatie biedt voor deze soort van ondiepe en plantenrijke wateren juist kansen. Zij kan paaien en eieren afzetten op de ondergelopen delen. Om bij dalende waterstanden te zorgen dat kroeskarpers niet sterven door droogval, is het van belang dat een deel van de oude poldersloten periodiek (gefaseerd) geschoond wordt. Daarmee blijven zij watervoerend en bieden zij vissen als kroeskarper de gelegenheid om bij dalende waterstanden (na inundatie) terug in de plas te kunnen zwemmen.

Grote modderkruipers zijn niet aangetroffen tijdens de elektrische visstandbemonstering en vormen daarmee geen belemmering in het kader van de Wnb.

3.1.9 Vleermuizen

In 2021 zijn 7 soorten vleermuizen waargenomen in plangebied Willeskop, verdeeld over beide onderzochte deelgebieden (zie figuur 15).

Deelgebied 1

Hier heeft de gewone dwergvleermuis op het erf van boerderij Vaders Wens een groter zomerverblijf (mogelijk een kleine kraamkolonie). Omdat dit erf niet wordt heringericht heeft deze verblijfplaats in het kader van de Wnb geen consequenties.

Op de locatie van de aan te leggen Regionale Kering (i.c. knotbomenrij) is geen verblijfplaats van vleermuizen aanwezig. Deze vormt daarmee in relatie tot vleermuizen geen belemmering voor de Wnb.

Deelgebied 2

De ruige dwergvleermuis heeft in de opgaande begroeiing van de Benschopse Noordzijds kade één vaste baltslocatie in de omgeving van de steiger. De exacte locatie kon niet worden vastgesteld. Voor de ruige dwergvleermuis is deelgebied 2 belangrijk tot essentieel als vlieggeleiding en foerageergebied met minimaal 1 baltslocatie.

De watervleermuis heeft in de opgaande begroeiing van de Benschopse Noordzijds kade een tweetal verblijfplaatsen aan de oostzijde van het plangebied.

De franjestaart heeft een tweetal verblijfplaatsen in bomen van de Benschopse Noordzijds kade, in het traject tussen de parkeerplaats langs de Damweg en de steiger van Willeskop.

Indien het wenselijk is om bomen en struiken te rooien in één of meer van de zoekgebieden met vaste verblijfplaatsen (in bomen) van de ruige dwergvleermuis, watervleermuis en/of franjestaart, dan dient een ontheffing te worden aangevraagd in het kader van de Wnb. In een op te stellen activiteitenplan dienen vervolgens de mitigerende en compenserende maatregelen te worden uitgewerkt. Hierin dient ook het essentiële belang van de hier aanwezige opgaande begroeiing voor gewone dwergvleermuizen betrokken te worden.

Voor de rosse vleermuis is het aannemelijk dat er in de opgaande begroeiing van de Bloklandse Dijk een groter verblijf (mogelijk een kraamboom) aanwezig is. Deze valt buiten de invloedssfeer van de geplande werkzaamheden van de basisvariant.

4. Literatuur

Schröder, R.J.H., 2021. Quicksan natuuronderzoek Berging en Doorvoer Willeskop. Rapport 2102- Ecologisch Adviesbureau Schröder, Winterswijk-Woold.

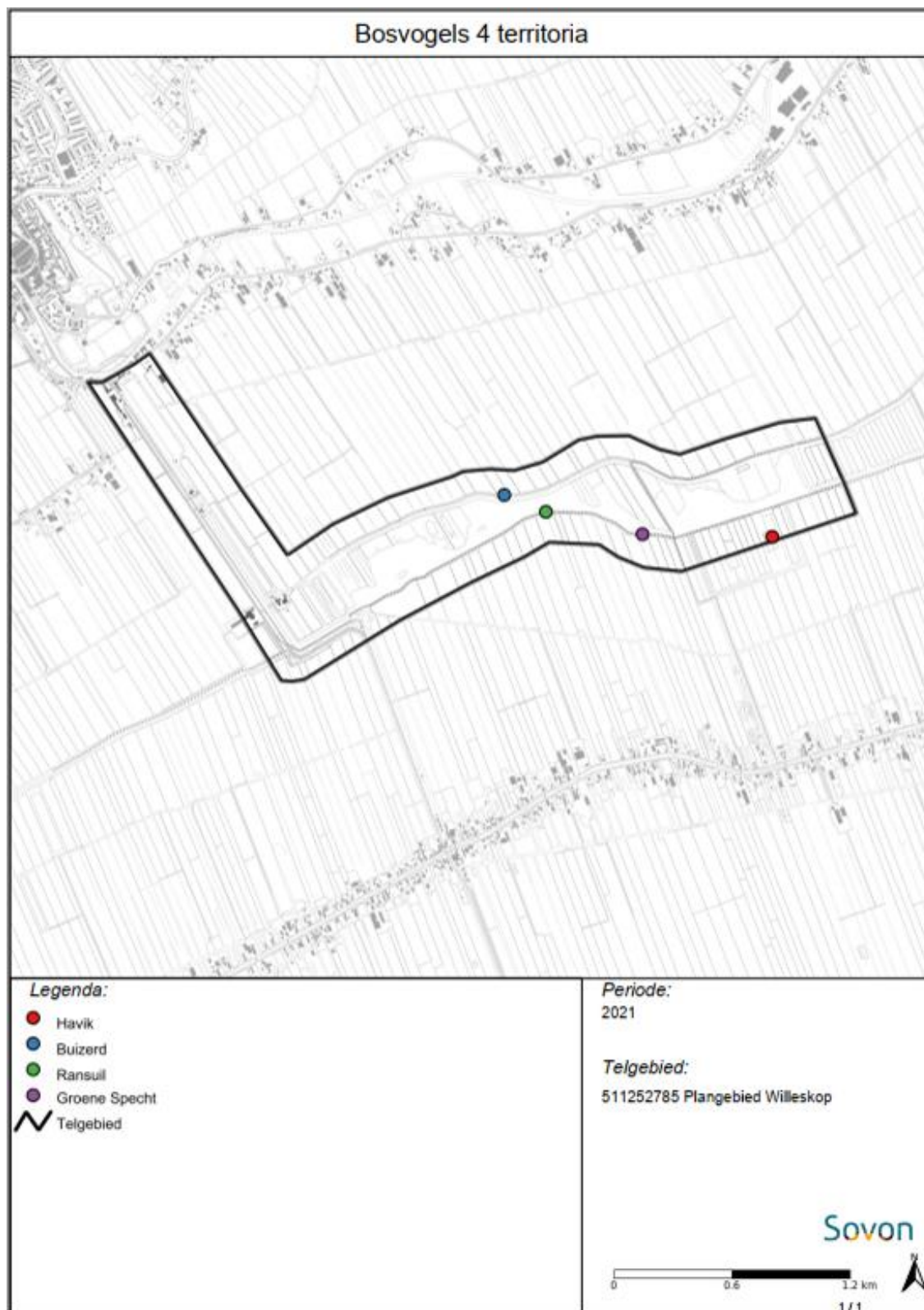
Van Swaay, C.A.M., 2019. Basisrapport Rode Lijst Dagvlinders 2019 volgens Nederlandse en IUCN criteria. Rapport VS2019.001, De Vlinderstichting. Wageningen.

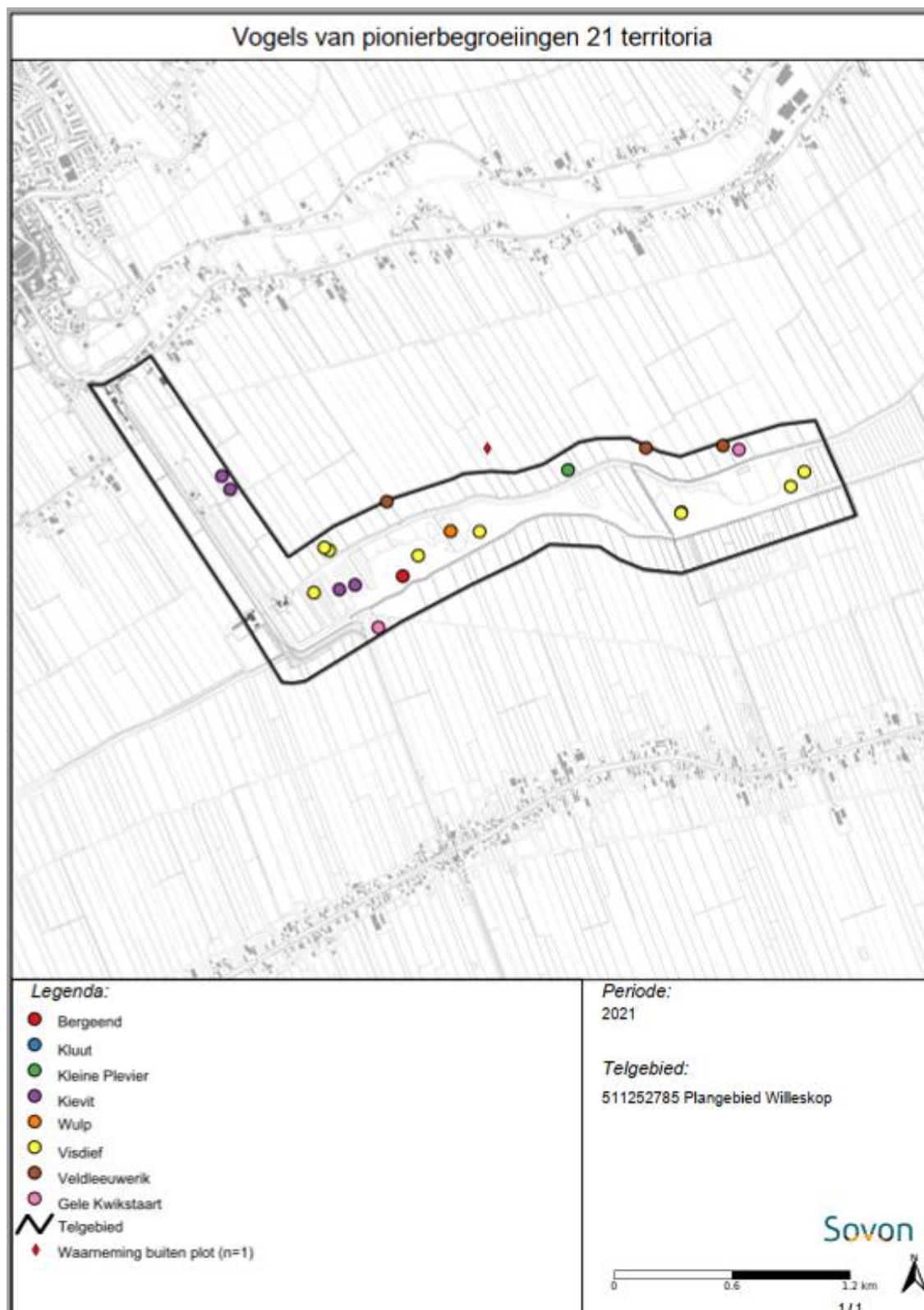
Internet

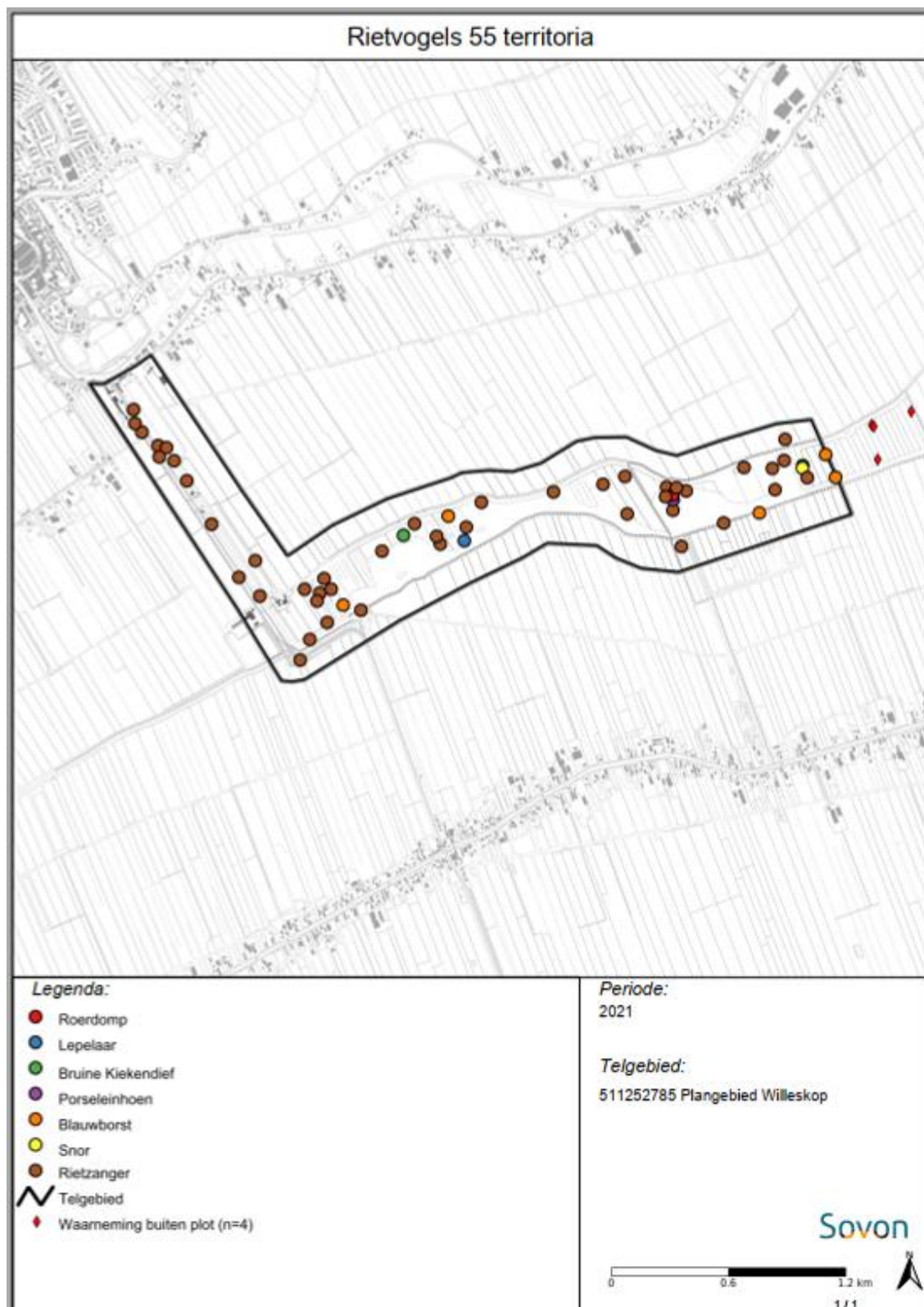
- www.dier-en-natuur.infonu.nl
- www.natuurloket.nl
- www.nederlandsesoorten.nl
- www.ravon.nl
- www.ruimtelijkeplannen.provincie-utrecht.nl
- www.sovon.nl
- www.synbiosys.alterra.nl
- www.telmee.nl
- www.verspreidingsatlas.nl
- www.vogelbescherming.nl
- www.waarneming.nl
- www.zoogdieratlas.nl

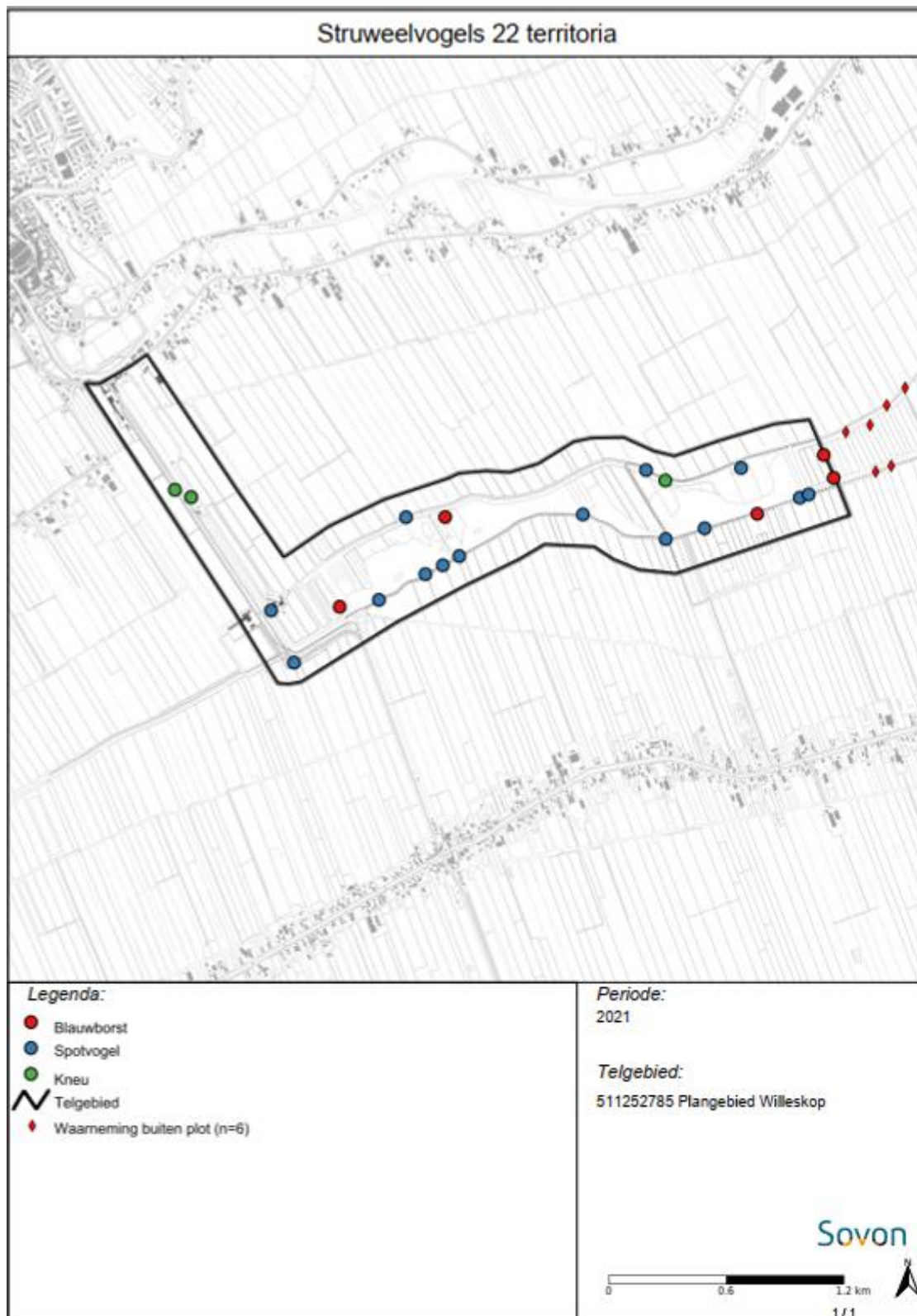
Bijlagen

1. Verspreiding broedvogels
2. eDNA onderzoek waterspitsmuis

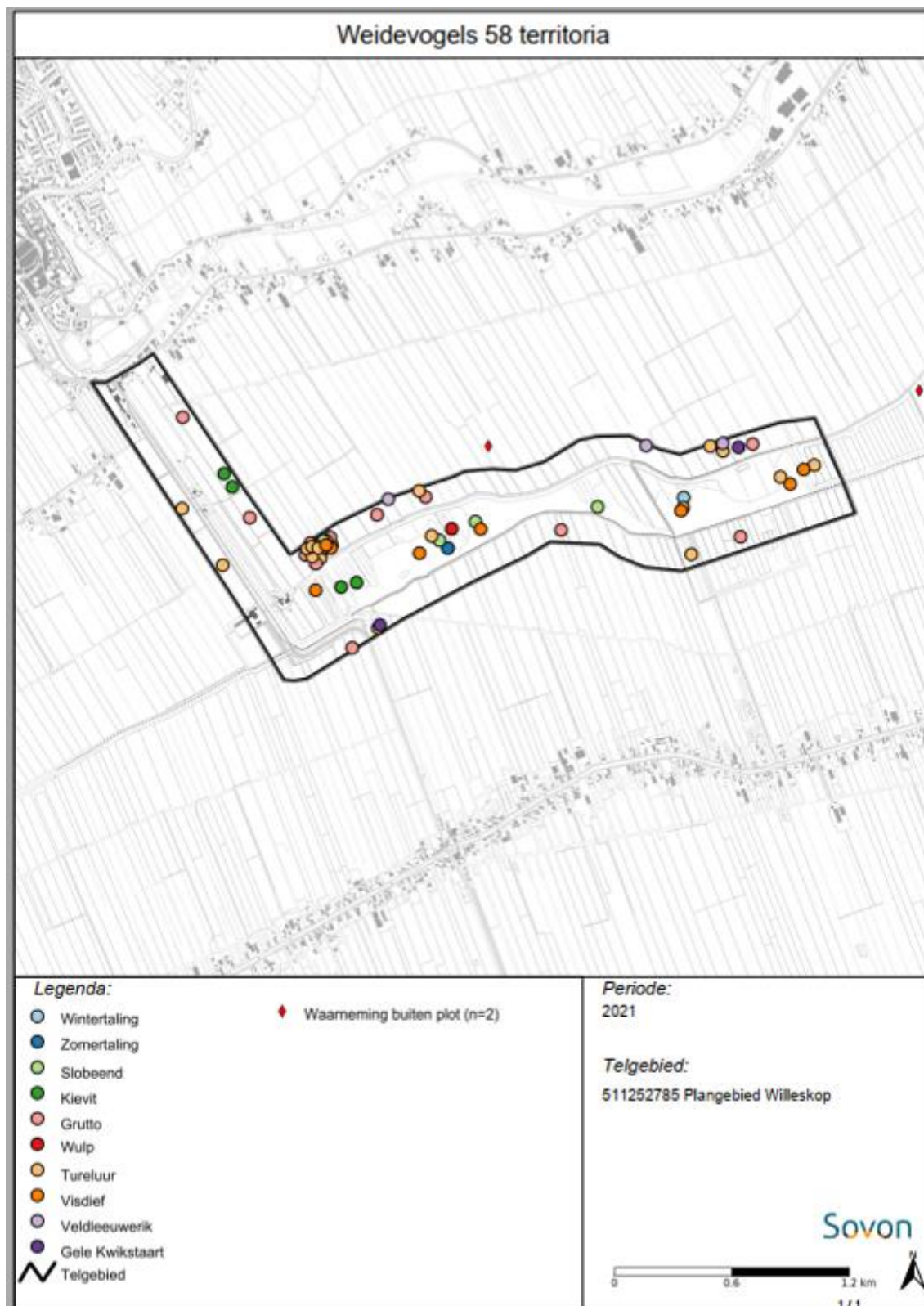














eDNA onderzoek waterspitsmuis



In opdracht van Ecologisch Adviesbureau Schröder

Colofon

Titel	eDNA onderzoek waterspitsmuis
Tekst, foto's en samenstelling	K. van Bochove, J. Rook
In opdracht van	Ecologisch adviesbureau Schröder
Naam opdrachtgever	Rody Schröder
BRapportnummer	RA21158
Datum oplevering rapport	13 september 2021
Aantal pagina's	7
Wijze van citeren	van Bochove K., J. Rook 2021. eDNA onderzoek waterspitsmuis. Rapport RA21158, Datura, Wageningen.



Datura Molecular Solutions BV

Gevestigd te:
Agro Business Park 10
6708 PW Wageningen
Nederland

0031(0)618441781
www.datura.nl
robbert.vanhimbeeck@datura.nl

Inhoudsopgave

1. Doelstelling.....	4
2. Methode.....	4
2.1 Bemonstering	4
2.2 Laboratoriumanalyse	4
2.3 Kwaliteitswaarborging	5
2.3.1 Hoe vals positieve waarnemingen worden voorkomen	5
2.3.2 Hoe vals negatieve waarnemingen worden voorkomen (qPCR)	6
3. Resultaten.....	7

1. Doelstelling

De doelstelling van onderhavig onderzoek is het aantonen van de aan- of afwezigheid van waterspitsmuis (*Neomys fodiens*) aan de hand van (e)DNA onderzoek. Hiervoor is gebruik gemaakt van bodemmonsters. Dit onderzoek is uitgevoerd in opdracht van Ecologisch Adviesbureau Schröder.

2. Methode

2.1 Bemonstering

De bemonstering is uitgevoerd door Ecologisch Adviesbureau Schröder. In totaal zijn er 4 bodemmonsters (codes: 60474, 60472, 60465 en 60471) geleverd aan het laboratorium van Datura Molecular Solutions B.V..

2.2 Laboratoriumanalyse

De monsters zijn getest op de aanwezigheid van eDNA van waterspitsmuis. Het analyseren van een eDNA monster vindt plaats in drie stappen. Eerst wordt het eDNA in het monster geconcentreerd en gezuiverd. Vervolgens wordt een controle analyse uitgevoerd om te testen of eDNA detectie in een monster eventueel geïnhibeerd wordt door storende stoffen. Tenslotte wordt het eDNA gedetecteerd met behulp van een real-time quantitative PCR.

1. Het eDNA in het bodemmonster is geëxtraheerd met behulp van de Qiagen Dneasy Blood & Tissue kit. Storende stoffen als humuszuren kunnen detectie van het eDNA inhiberen wat kan leiden tot vals negatief resultaat. Gedurende de extracties zijn deze inhiberende stoffen zo veel mogelijk verwijderd.
2. Er wordt altijd een controle uitgevoerd om na te gaan of eDNA detectie in een monster geïnhibeerd wordt. Dit wordt gedaan door een bekende hoeveelheid van een fragment artificieel DNA toe te voegen. Vervolgens wordt de concentratie gemeten van dit fragment artificieel DNA. Dit wordt zowel gedaan in een reactie waar een hoeveelheid monster aan toegevoegd wordt, als in een reactie waar geen monster aan toegevoegd wordt. Als DNA detectie in een monster geïnhibeerd wordt, dan is de gemeten concentratie artificieel DNA in de reactie waarin monster toegevoegd wordt lager ten opzichte van de reactie waaraan geen monster aan toegevoegd is. Met name in zuur water, waarin veel organische deeltjes aanwezig zijn kan inhibitie optreden. In een dergelijk geval wordt een extra zuivering stap uitgevoerd of wordt het monster verdund. Vervolgens wordt opnieuw gekeken of de inhiberende stoffen voldoende verwijderd zijn.
3. Detectie van eDNA vindt plaats door middel van een real-time quantitative PCR. 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. Datura werkt bovendien een soort-specifieke probes (een soort primer) die uitsluitend binden aan eDNA van de doelsoort. Binding van de probe aan het vermenigvuldigde eDNA van de doelsoort resulteert in 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. Daardoor kan zeer gevoelig gedetecteerd worden. De qPCR detectie wordt uitgevoerd

met de TaqMan® Environmental Mastermix 2.0 (Life Technologies®). Naast het eDNA monster worden PCR reacties uitgevoerd waaraan geen monster 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 worden voorkomen

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 vrijwel niet optreden.

Het voorkomen van vals positieve waarnemingen door het ontwerp en validatie van specifieke primers en probes (bij qPCR):

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 probe zijn in het laboratorium getest. Eerst is getest of de qPCR detectie inderdaad negatief resultaat geeft na het toevoegen van DNA van (verwante) soorten;
5. Vervolgens is de methode **gevalideerd** door het testen van veldmonsters. Er zijn eDNA monsters verzameld op locaties waar de doelsoort niet voorkomt. Er werd geen eDNA gedetecteerd in deze monsters. 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 monster kits en het voorbereiden van de qPCR reagentia vindt plaats in een **DNA clean room**. Dit is een ruimte waarin geen DNA monsters aanwezig zijn. Zodoende

kunnen we garanderen dat er geen DNA aanwezig is in de eDNA monster kits en de reagentia (zoals de primers en probes) die later gebruikt worden in de eDNA analyses. Het extraheren van de eDNA monsters gebeurt in een **eDNA laboratorium**. Dit is een ruimte waarin uitsluitend lage concentraties DNA aanwezig zijn. Vervolgens worden hier de eDNA monsters 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.

2. Er wordt een **unidirectionele workflow** gehanteerd om contaminatie van de DNA clean room en het eDNA 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 eDNA laboratorium. Ook medewerkers van Datura mogen niet dezelfde dag van een post-PCR laboratorium terug naar een ruimte waarin weinig DNA aanwezig is.
3. In iedere analyse worden **controle analyses** uitgevoerd. Zo worden er monsters geëxtraheerd waaraan geen slotwater is 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:

Het **bemonsteringsprotocol** 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.

2.3.2 Hoe vals negatieve waarnemingen worden voorkomen (qPCR)

Naast vals positieve waarnemingen kunnen ook vals negatieve waarnemingen optreden. Er is dus altijd een kleine kans dat eDNA niet gedetecteerd wordt, ook al is de doelsoort wel aanwezig. Door meerdere monsters te nemen kan de kans op vals negatieve waarnemingen aanzienlijk verkleind worden. Maatregelen die genomen worden om vals negatieve waarnemingen te voorkomen:

1. Per monster worden meerdere **submonsters** verzameld. Hiermee wordt de kans vergroot dat eDNA in het monster terecht komt.
2. Een zeer gevoelige **qPCR detectie** in eDNA water- en bodemonsters 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 gevoeligere detectie;
3. Gebruik van een **zeer korte merker** van maximaal 100 basepaar;
4. In ieder monster 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 de inhiberende stoffen er inderdaad geen inhibitie meer optreedt (zie methode voor een uitgebreidere beschrijving);
5. Er wordt altijd een **positieve controle** van de doelsoort DNA meegenomen in de qPCR detectie. Deze controle moet altijd resulteren in positieve detectie. Ook als alle monsters negatief zijn, kan zodoende vastgesteld worden dat de detectie juist is uitgevoerd.

3. Resultaten

In monster 60474 is eDNA van waterspitsmuis gedetecteerd. In de overige monsters is er geen DNA van waterspitsmuis gedetecteerd. Een overzicht van het resultaat van dit onderzoek wordt weergegeven in tabel 1. Iedere analyse is uitgevoerd met behulp van 12 qPCR replica's (zie 2.2 Laboratoriumanalyse). De resultaten worden weergegeven als het aantal replica's (van de 12 replica's) dat positief scoorde voor eDNA van waterspitsmuis in het betreffende monster. Indien er een score van "0/12" is bekomen, betekent dit dat er geen eDNA van de doelsoort in het betreffende monster is aangetroffen. Indien er minstens 1 positieve replica is in een monster (i.e. '1/12' of hoger) betekent dit dat er eDNA van de doelsoort is gedetecteerd. Het aantal positieve replica's is een grove maat voor de concentratie eDNA van de doelsoort: bij een laag aantal positieve replica's (e.g. '1/12') is de verwachting dat de eDNA concentratie van de doelsoort zeer laag is.

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

Tabel 1: Resultaten eDNA analyse van waterspitsmuis en noordse woelmuis

Monster code	Inhibitie?	Resultaat waterspitsmuis
60474	Nee	2/12
60472	Nee	0/12
60465	Nee	0/12
60471	Nrr	0/12

Ecologisch Adviesbureau
Schröder

Droppersweg 1

7108 BL Winterswijk-Woold

Tel: 06-10858730 of 0543-564336

E-mail : ecoadvies@planet.nl

Internet:

www.ecologischadviesbureauschroder.nl