



ECOLOGIE

RAPPORTAGE

aanvullend ecologisch onderzoek

Almeweg (ong.)

Horst



Rapport aanvullend ecologisch onderzoek

Almeweg (ong.), [REDACTED]

Opdrachtgever

BRO
Postbus 4
[REDACTED] Boxtel

Rapportnummer

20196.012

Versienummer

D1

Status

Definitief

Datum

5 augustus 2024

Opsteller¹

Kwaliteitscontrole

[REDACTED]

¹ Vrijgave

In onze rapportages wordt niet gewerkt met handtekeningen en/of parafen. Conform protocol en eisen uit het kwaliteitssysteem wordt het rapport aantoonbaar vrijgegeven.

KWALITEITZORG

Econsultancy is lid van het Netwerk Groene Bureaus (NGB). Het NGB is een vereniging van ecologische advies- en onderzoeksbureaus die werkt aan de kwaliteit van advisering gericht op natuur, landschap, water, milieu en ruimte en die de belangen behartigt 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.

CERTIFICERING

Econsultancy werkt volgens een dynamisch kwaliteits- en milieusysteem, zoals beschreven in het kwaliteits- en milieuhandboek. Ons kwaliteits- en milieusysteem is gecertificeerd volgens de eisen in de NEN-EN-ISO 9001 en NEN-EN-ISO 14001. Daarnaast staat veilig werken bij Econsultancy voorop en zijn we gecertificeerd voor VCA*.

BETROUWBAARHEID

Dit onderzoek is op zorgvuldige wijze uitgevoerd conform de toepasselijke en van kracht zijnde regelgeving ten aanzien van natuurwetgeving. Het onderzoek betreft een momentopname en geeft een inschatting van de geschiktheid van de onderzoekslocatie voor beschermde soorten en het al dan niet voorkomen van soorten. De gebruikte informatie omtrent verspreiding van soorten is deels afkomstig uit de NDFF en mag niet zonder toestemming worden verstrekt aan derden of op enige andere wijze openbaar gemaakt worden. Econsultancy accepteert op voorhand geen aansprakelijkheid ten aanzien van mogelijke beslissingen die de opdrachtgever naar aanleiding van het door Econsultancy uitgevoerde onderzoek neemt.

Al onze rapportages worden opgesteld conform de 'Handreiking omgaan met AVG in bodemonderzoeken' opgesteld door de VKB (29 juni 2022). Hiermee voldoet de rapportage aan de eisen die de wet en NEN normen ons stellen en wordt tevens voldaan aan de AVG.

In het kader van de AVG dient, voorafgaand aan publicatie of bij uitlevering aan derden, bijlagen met kadastrale uittreksels en namen van opdrachtgevers, door de publicerende instantie, verwijderd dan wel zwart gelakt te worden.

GELDIGHEID ONDERZOEK

In het algemeen kan gesteld worden dat een quickscan geldig is voor een periode van 2 tot 3 jaar, tenzij in deze periode de ecologische omstandigheden wezenlijk zijn veranderd en/of de Omgevingswet, dan wel inzichten hieromtrent zijn gewijzigd. Bij uitstel van de uitvoering van een project met meer dan 3 jaar verdient het de aanbeveling de resultaten van de quickscan opnieuw te toetsen.

Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de rechtgebende.

INHOUDSOPGAVE

1	INLEIDING	1
2	GEBIEDSBESCHRIJVING.....	2
	2.1 Huidig gebruik onderzoekslocatie en omgeving	2
	2.2 Toekomstig gebruik van de onderzoekslocatie	3
3	RESULTATEN VOORGAAND ONDERZOEK	5
4	ONDERZOEKSMETHODIEK.....	7
	4.1 Vliegroute.....	7
	4.2 Boombewonende vleermuissoorten.....	7
	4.3 Ringmus.....	9
	4.4 Grote gele kwikstaart	10
	4.5 Drijvende waterweegbree	10
	4.6 Grote modderkruiper	11
5	ONDERZOEKSRISULTATEN	13
	5.1 Vliegroute.....	13
	5.2 Boombewonende vleermuizen	13
	<i>Zomer-, kraam- en (milde)winterverblijfplaatsen</i>	<i>13</i>
	<i>Paar/baltsverblijf.....</i>	<i>13</i>
	<i>Verblijfsfunctie buiten de onderzoekslocatie</i>	<i>14</i>
	Foeragerende vleermuizen	14
	Overige soorten.....	14
	5.3 Ringmus.....	14
	5.4 Grote gele kwikstaart	15
	5.5 Drijvende waterweegbree	15
	5.6 Grote modderkruiper	15
	5.7 Werken in de vrijstellingsperiode van de steenmarter en eekhoorn	15
6	ALGEMENE BROEDVOGELS EN ZORGPLICHT	18
7	CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN.....	19

BIJLAGE 1: eDNA onderzoek Datura

1 INLEIDING

Econsultancy heeft van BRO opdracht gekregen voor het uitvoeren van een aanvullend ecologisch onderzoek aan de Almeweg (ong.) te Horst.

Het aanvullend ecologisch onderzoek is uitgevoerd in het kader van een bestemmingsplanwijziging en naar aanleiding van de resultaten van de quickscan Wet natuurbescherming die Econsultancy op de onderzoekslocatie heeft uitgevoerd (rapport quickscan Wet natuurbescherming Almeweg (ong.) te Horst, rapportnummer 20196.003, versie D3, d.d. 8 juni 2023).

Uit de quickscan blijkt dat, om de effecten van de ingreep volledig te kunnen toetsen aan de Omgevingswet er omtrent de aanwezigheid van boombewonende vleermuizen, vliegrouete, ringmus, grote gele kwikstaart, drijvende waterweegbree en grote modderkruiper meer informatie is benodigd. Deze beschermde soorten kunnen door de voorgenomen werkzaamheden aan de beken en aan het bosschage mogelijk negatieve effecten ervaren.

In een eerder uitgevoerd aanvullend ecologisch onderzoek, rapportnummer 20196.010, d.d. 16 oktober 2023, zijn beschermde soorten onderzocht die mogelijk negatieve effecten ervaren van het slopen van de tuinderskas met opslagloods en het dempen van het waterbassin. Destijds is geconcludeerd dat er geen vaste verblijfs- en/of voortplantingsplaatsen en nestlocaties van gebouwbewonende vleermuizen, huismus, steenuil, kerkuil en Alpenwatersalamander binnen de onderzoekslocatie zijn vastgesteld. Nestlocaties van huismussen in de nabije bebouwing zullen, gezien de onderlinge afstand en de aard van de werkzaamheden, geen hinder ondervinden van de geplande sloopwerkzaamheden op de onderzoekslocatie. Ook het nabijgelegen territorium van de steenuil (op 200 meter ten westen van de onderzoekslocatie, nabij de Kabroekse beek, gelegen tussen de openbare wegen Meterikseweg en Janssenweg) zal wegens de afstand tot de onderzoekslocatie geen hinder ondervinden van de voorgenomen werkzaamheden.

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 ($\pm 3,1$ ha) ligt aan de Almeweg (ong.) te Horst. In figuur 2.1 is de onderzoekslocatie weergegeven.



Figuur 2.1 Luchtfoto onderzoekslocatie (rood omkaderd) en de directe omgeving.

Onderhavig onderzoek richt zich op aanwezige bosschage (gelegen ten zuiden van de voormalige tuinderskas) en de nabijgelegen watergangen.

De onderzoekslocatie was tot voorkort bebouwd met een tuinderskas. Deze is recent gesloopt en betreft momenteel braakliggend grond. Aan de oostzijde van de voormalige tuinderskas bevindt zich een waterbassin waarvoorheen het hemelwater van de daken van de tuinderskas naartoe werd geleid. Verder bevinden zich op de onderzoekslocatie groenstroken, een moestuin en een bosschage. Ten noorden van de voormalige tuinderskas bevindt zich de Kabroekse beek. Ten oosten bevindt zich een waterloop (sloot) met aanliggend diverse opstallen en ten zuidoosten een strook met pioniersvegetatie. Ten zuiden van de onderzoekslocatie bevindt zich een braakliggend veld en ten westen bevindt zich een woonhuis en de openbare weg Almeweg met aangrenzend een groenstrook en onderhoudspad behorende bij de Kabroekse beek waar gewandeld kan worden.

2.2 Toekomstig gebruik van de onderzoekslocatie

De initiatiefnemer is voornemens twee appartementencomplexen en een schoolgebouw met bijbehorende (parkeer)voorzieningen op de locatie te ontwikkelen. Hiervoor is reeds de tuinderskas gesloopt. Ter plaatse van de bosschage zullen aan zuidzijde geen werkzaamheden meer plaats vinden. Ten behoeve van de aanleg van het fietspad, zal een smalle strook aan de oostzijde van de bosschage gerooid worden. Hierbij wordt circa 5m² tot 7,5 m² gekapt, zie figuur 2.3. Daarnaast zal de bosrand aan de noordzijde opgeschoond worden en onveilige bomen gerooid worden, ten behoeve van de ontwikkeling van de speelplaats/buitenverblijf van de school. Verder worden de oevers van de Kabroekse beek op een aantal plaatsen aangepast. Tot slot wordt de beek ten oosten van de tuinderskas gehermeanderd. In figuur 2.2 is een schets van de toekomstige situatie weergegeven.



Figuur 2.2 Schets toekomstige situatie (bron: opdrachtgever)



gaan
werkzaamheden plaatsvinden zoals het opschonen van de bosrand
en bomenkap.

3 RESULTATEN VOORGAAND ONDERZOEK

Uit de quickscan blijkt dat, om de effecten van de ingreep volledig te kunnen toetsen aan de Omgevingswet (voorheen was dit de Wet natuurbescherming) er op sommige punten meer informatie is benodigd. In onderstaande tabel 3.1 zijn de benodigde onderzoeken van alle deelgebieden samengevat.

Tabel 3.1 Overzicht geschiktheid onderzoekslocatie voor soortgroepen en te nemen vervolgstappen.

Soortgroep		Geschikt habitat	Ingreep verstorend	Nader onderzoek	Ontheffingsaanvraag	Bijzonderheden/ opmerkingen*
Broedvogels	algemeen	ja	ja	nee	nee	werkzaamheden buiten het broedseizoen uitvoeren of nesten verwijderen buiten broedseizoen
	jaarrond beschermd	ja	mogelijk	ja	afhankelijk van nader onderzoek	aanvullend onderzoek naar nestplaatsen huismus, kerkuil en steenuil wordt noodzakelijk geacht (ondergebracht in project 20196.010) aanvullend onderzoek naar (essentieel) foerageergebied voor ringmus wordt noodzakelijk geacht (ondergebracht in project 20196.012) aanvullend onderzoek naar aanwezigheid en nestplaatsen van de grote gele kwikstaart wordt noodzakelijk geacht (ondergebracht in project 20196.012)
Vleermuizen	verblijfplaatsen	ja	mogelijk	ja	afhankelijk van nader onderzoek	aanvullend onderzoek naar gebouwwonende vleermuizen (ondergebracht in project 20196.010) en boombewonende vleermuizen wordt noodzakelijk geacht (ondergebracht in project 20196.012)
	foerageergebied	ja	nee	nee	nee	voldoende alternatief in de omgeving beschikbaar
	vliegroutes	mogelijk	mogelijk	ja	afhankelijk van nader onderzoek	aanvullend onderzoek naar vliegroute wordt noodzakelijk geacht (ondergebracht in project 20196.012)
Grondgebonden zoogdieren	steenmarter	ja	mogelijk	¹ nee	¹ nee	¹ mits verstorende werkzaamheden plaatsvinden in vrijstellingsperiode steenmarter, anders aanvullend onderzoek (ondergebracht in project 20196.012)
	eekhoorn	ja	mogelijk	² nee	² nee	² mits kap van bomen in vrijstellingsperiode van eekhoorn plaatsvindt, anders aanvullend onderzoek (ondergebracht in project 20196.012)

Soortgroep		Geschikt habitat	Ingrep verstorend	Nader onderzoek	Ontheffingsaanvraag	Bijzonderheden/ opmerkingen*
	algemeen	ja	mogelijk	nee	nee	aandacht voor algemene zorgplicht ten aanzien van soorten als egel, konijn en verschillende muizensoorten
Amfibieën	Alpenwatersalamander	ja	mogelijk	*ja	afhankelijk van nader onderzoek	aanvullend onderzoek naar Alpenwatersalamander (voorplantingswater en landhabitat) wordt noodzakelijk geacht (ondergebracht in project 20196.010)
	algemeen	ja	mogelijk	nee	nee	aandacht voor algemene zorgplicht ten aanzien van soorten als gewone pad en bruine kikker
Reptielen		nee	nee	nee	nee	-
Vissen		mogelijk	mogelijk	mogelijk	mogelijk	aanvullend onderzoek naar grote modderkruiper wordt noodzakelijk geacht (ondergebracht in project 20196.012)
Libellen en vlinders		nee	nee	nee	nee	-
Overige ongewervelden		nee	nee	nee	nee	-
Vaatplanten		mogelijk	mogelijk	mogelijk	mogelijk	aanvullend onderzoek naar groeiplaatsen van drijvende waterweegbree wordt noodzakelijk geacht (ondergebracht in project 20196.012)
Gebiedsbescherming		Gebied aanwezig	Ingrep verstorend	Nader onderzoek	Vergunningplicht	
Natura 2000		7,8 km	mogelijk	ja	afhankelijk van nader onderzoek	oriënterend stikstofonderzoek middels AERIUS-calculator uitvoeren
Natuurnetwerk Nederland		325m	nee	nee	nee	-
Houtopstanden		n.v.t	n.v.t	n.v.t	n.v.t	mogelijk gelden de gemeentelijke verworpingen

4 ONDERZOEKSMETHODIEK

4.1 Vliegroute

Voor het onderzoek naar vliegroute voor vleermuizen zijn in de periode half mei tot half juli 2024 in totaal twee veldbezoeken uitgevoerd door drie waarnemers per veldronde. Een van deze rondes heeft plaatsgevonden in de periode 1 juni tot 15 juli (kraamperiode). Tussen de twee veldbezoeken is een minimale periode van 8 weken aangehouden. De veldbezoeken zijn in de avonden uitgevoerd. De inventarisatiemethode is conform het protocol voor vleermuisonderzoek (versie januari 2021), dat is opgesteld door het vleermuisvakberaad van het Netwerk Groene Bureaus. De onderzoeksinspanning is gebaseerd op de mogelijk voorkomende vleermuizen, namelijk bosvleermuis, gewone dwergvleermuis, ruige dwergvleermuis, laatvlieger, rosse vleermuis, watervleermuis en gewone grootoorvleermuis.

Voor het onderzoek zijn verspreid over de watergangen drie observatieposten ingenomen om een mogelijke vliegroute vast te stellen, zie figuur 4.1. Voor het onderzoek is gebruik gemaakt van professionele batdetectors met opnamemogelijkheid (Elekon M batlogger) en warmtebeeldcamera's. Een batdetector zet het voor het menselijk gehoor niet hoorbare ultrasone geluid van vleermuizen om naar frequenties die wel hoorbaar zijn. Op basis van de geluidsfrequenties en ritmes kunnen verschillende soorten vleermuizen worden onderscheiden. De opnamemogelijkheid is belangrijk omdat de geluidsoptnames kunnen worden gebruikt voor het determineren van soorten die op basis van hun geluid moeilijk zijn te onderscheiden (met name Myotis-soorten) en waarbij het sonogram uitsluitsel kan geven. Hierbij wordt gebruik gemaakt van analyseprogramma Batsound.

Tabel 4.1. Omstandigheden aanvullend onderzoek vliegroute vleermuizen.

Datum	Tijd	Temperatuur	Weersomstandigheden
16 mei 2024	21:26 – 23:53	16 °C	Droog, licht bewolkt, 1 Bft.
17 juli 2024	21:43 – 00:14	20 °C	Droog, bewolkt, 2 Bft.

4.2 Boombewonende vleermuissoorten

Voor het onderzoek naar boombewonende vleermuizen is in de periode half augustus 2023 tot en met juli 2024 in totaal zes veldbezoeken uitgevoerd. De veldbezoeken zullen in de avonden en/of ochtenduren worden uitgevoerd. De inventarisatiemethode is conform het protocol voor vleermuisonderzoek (versie januari 2021), dat is opgesteld door het vleermuisvakberaad van het Netwerk Groene Bureaus. De onderzoeksinspanning is gebaseerd op de functies zomerverblijfplaats, kraamverblijf en paarverblijf/baltsplaats voor de bosvleermuis, gewone dwergvleermuis, ruige dwergvleermuis, rosse vleermuis, watervleermuis en gewone grootoorvleermuis.

Voor het onderzoek is gebruik gemaakt van batloggers (Elekon M batlogger) en warmtebeeldcamera's. Batloggers zetten het voor het menselijk gehoor niet hoorbare ultrasone geluid van vleermuizen om naar frequenties die wel hoorbaar zijn. Op basis van de geluidsfrequenties en ritmes kunnen verschillende soorten vleermuizen

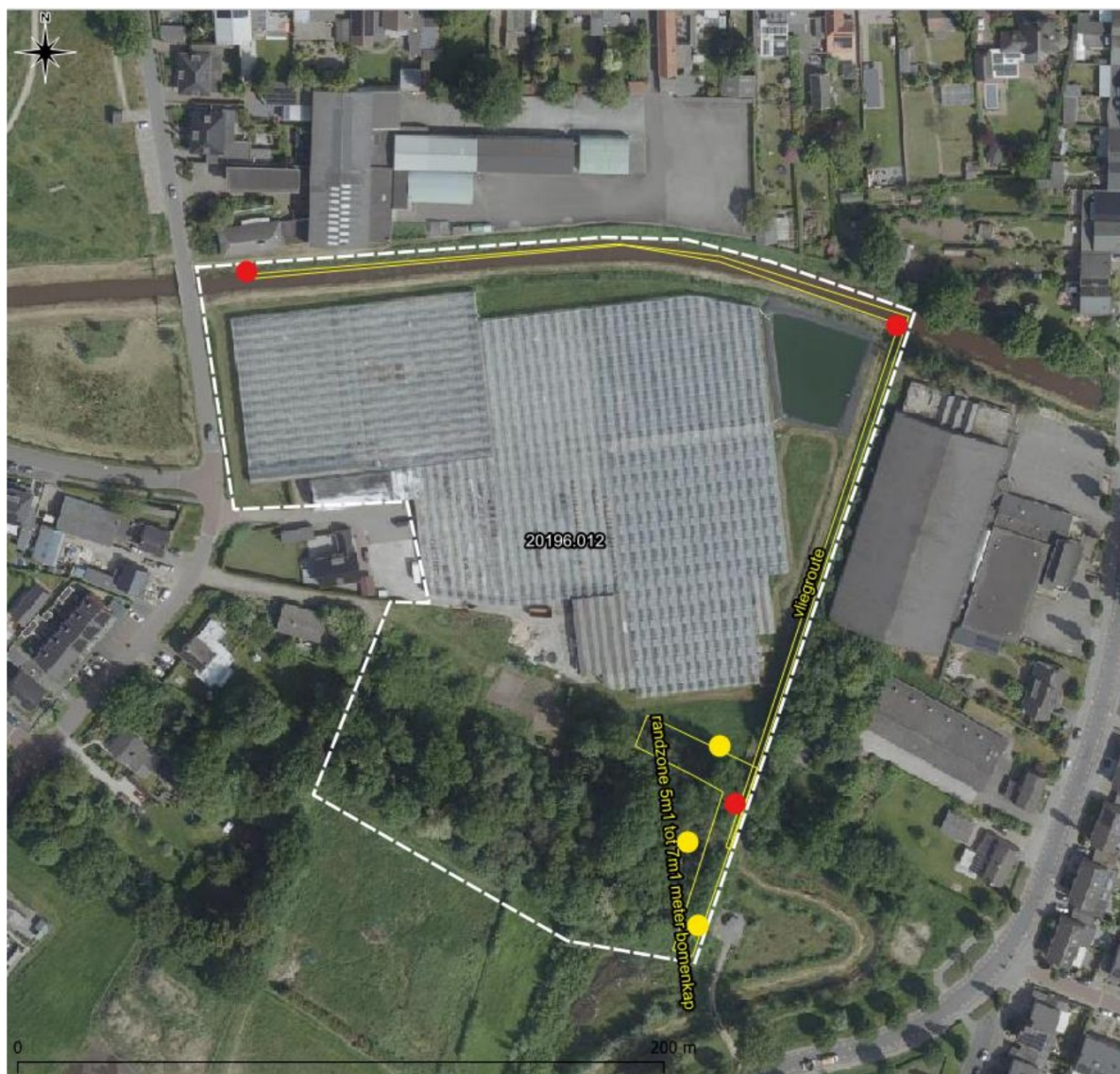
worden onderscheiden. De opnamemogelijkheid is belangrijk omdat de geluidsopnames kunnen worden gebruikt voor het determineren van soorten die op basis van hun geluid moeilijk zijn te onderscheiden (met name Myotis-soorten) en waarbij het sonogram uitsluitsel kan geven. Hierbij wordt gebruik gemaakt van analyseprogramma Batsound.

Het vleermuizenonderzoek is per soort verblijfplaats uitgevoerd binnen de meest gunstige periode van het jaar waarin vleermuizen aantoonbaar van de onderzoekslocatie gebruik kunnen maken. Gedurende de periode half april tot en met half juli bezetten de meeste soorten hun zomer- en kraamverblijfplaatsen en zijn de vleermuizen druk bezig met het grootbrengen van jonge dieren. In de maanden augustus en september maken vleermuizen gebruik van paarverblijfplaatsen en zijn veel soorten in de omgeving van hun winterverblijf te vinden. Tabel 4.2 bevat een overzicht van de uitgevoerde veldbezoeken. Tijdens de veldbezoeken is voornamelijk gelet op uitvliegende, invliegende of zwermende vleermuizen. Daarnaast is er ook gelet op foeragerende en passerende vleermuizen. Tijdens de veldbezoeken in de paarperiode is daarnaast gelet op sociale geluiden. In de periode augustus - september produceren mannetjes vleermuizen sociale geluiden vanuit of vliegend rondom bebouwing/bomen om vrouwtjes te lokken.

Het totaal aantal voorgestelde veldbezoeken is vastgesteld op basis van de grootte van de onderzoekslocatie (bosschage) en de voorgenomen ingreep, uitgaande van drie waarnemers per veldronde. Tijdens de veldbezoeken waren de weersomstandigheden voor het waarnemen van bosvleermuis, gewone dwergvleermuis, ruige dwergvleermuis, rosse vleermuis, watervleermuis en gewone grootoorvleermuis gunstig. Tijdens geen van de veldbezoeken was de temperatuur lager dan 11 °C (avondrondes) of 14 °C (ochtendronde), de windsnelheid lag beneden de 3 Bft. en er was geen sprake van regen.

Tabel 4.2. Omstandigheden aanvullend onderzoek boombewonende vleermuizen.

Datum	Onderzoeksrond	Tijd	Temperatuur	Weersomstandigheden
9 augustus 2023	paarronde	22:10 - 00:10	14°C	Droog, onbewolkt, 1 Bft.
31 augustus 2023	paarronde	22:00 – 00:00	12 °C	Droog, onbewolkt, 2 Bft.
20 september 2023	paarronde	21:30 – 23:30	18 °C	Droog, bewolkt, 2 Bft.
15 mei 2024	zomerverblijfplaats	02:45 – 05:45	15 °C	Droog, licht bewolkt, 1 Bft.
6 juni 2024	zomer/kraamverblijfplaats	21:35 – 00:20	15 °C	Droog, zwaar bewolkt, 1 Bft.
27 juni 2024	zomer/kraamverblijfplaats	21:40 – 00:25	25 °C	Droog, licht bewolkt, 2 Bft.



Figuur 4.1 Onderzoek naar vliegroule (observatiepunten in het rood) en onderzoek naar boombewonende soorten (observatiepunten in het geel)

4.3 Ringmus


Voor het onderzoek naar de ringmus zijn tussen 25 maart en 10 juni 2024 twee veldbezoeken uitgevoerd, gedurende de ochtend. Tijdens de veldbezoeken is middels een verrekijker gezocht naar nestbouw (nest zelf herkenbaar aan uit nestopening hangende strootjes en veren), alarm, transport van voedsel en ontlastingspakketjes (beide partners). Het onderzoek is uitgevoerd conform richtlijnen.

Tijdens de veldbezoeken ten behoeve van het onderzoek naar ringmus was de temperatuur hoger dan 10 °C, de windsnelheid lag beneden de 3 Bft. en er was enkel sprake van lichte miezer regen. In tabel 4.3 is een overzicht van de weersomstandigheden gedurende het ringmuisonderzoek weergegeven.

Tabel 4.3 Omstandigheden nader onderzoek ringmus.

Datum	Tijd	Temperatuur	Weersomstandigheden
3 april 2024	09:30 – 11:00	11 °C	droog, bewolkt, 2 Bft. Vanaf 10.30 miezer
30 mei 2024	09:50 – 11:45	16 °C	droog, licht bewolkt, 2 Bft.

4.4 Grote gele kwikstaart

Voor het onderzoek naar de grote gele kwikstaart zijn tussen 5 april en 15 juni 2024 twee veldbezoeken uitgevoerd, gedurende de ochtend. Tijdens de veldbezoeken is middels een verrekijker gezocht naar zang (vooral maart-april, zowel van zitplaats - graag een gebouw - als in baltsvlucht), alarm en transport van nestmateriaal, voedsel of uitwerpselpakketje.). Het onderzoek wordt uitgevoerd conform  richtlijnen.

Tijdens de veldbezoeken ten behoeve van het onderzoek naar grote gele kwikstaart was de temperatuur hoger dan 15 °C, de windsnelheid lag beneden de 3 Bft. en er was geen sprake van neerslag. In tabel 4.4 is een overzicht van de weersomstandigheden gedurende het grote gele kwikstaart weergegeven.

Tabel 4.4 Omstandigheden nader onderzoek grote gele kwikstaart.

Datum	Tijd	Temperatuur	Weersomstandigheden
30 april 2024	10:00 – 11:00	21 °C	droog, zonnig, 2 Bft
30 mei 2024	09:50 – 11:45	16 °C	droog, licht bewolkt, 2 Bft.

4.5 Drijvende waterweegbree

De drijvende waterweegbree bloeit in de periode mei tot augustus. In deze bloeiperiode is één veldbezoek uitgevoerd om de aan of afwezigheid van deze soort vast te stellen binnen het plangebied, zie tabel 4.5 Het onderzoek naar drijvende waterweegbree is uitgevoerd door visuele waarnemingen.

Tabel 4.5 Omstandigheden nader onderzoek drijvende waterweegbree.

Datum	Tijd	Temperatuur	Weersomstandigheden
30 mei 2024	09:50 – 11:45	16 °C	droog, licht bewolkt, 2 Bft.

4.6 Grote modderkruiper

Om aan te tonen of de grote modderkruiper al dan niet aanwezig is op de onderzoekslocatie, is gebruik gemaakt van eDNA. eDNA is DNA dat wordt verzameld uit verschillende omgevingsmonsters, zoals bodem, (zee)water, sneeuw of lucht. Door interacties van organismen met de omgeving wordt DNA uitgescheiden, waarna het zich ophoopt in de omgeving vanuit verschillende bronnen zoals uitwerpselen en huidschilfers. In de afgelopen jaren is eDNA gebruikt als hulpmiddel om dieren in het wild te detecteren die anders ongezien waren.

Voor het onderzoek naar de grote modderkruiper zijn op 28 augustus 2023 door Datura Environmental Solutions eenmalig vijf watermonsters genomen die vervolgens in het laboratorium zijn geanalyseerd. Indien DNA van de grote modderkruiper is aangetroffen, kan ervan uit worden gegaan dat de grote modderkruiper gebruikmaakt van de onderzoekslocatie. In dit geval is mogelijk een ontheffing noodzakelijk. Het veldbezoek om eDNA te verzamelen kan jaarrond uitgevoerd worden conform het eDNA filter samplingsprotocol van Datura.

Tabel 4.6 bevat een overzicht van de uitgevoerde veldbezoeken.

Tabel 4.6 Onderzoeksinspanning per soortgroep.

		2023			2024					
		augustus	september	oktober	maart	april	mei	juni	juli	augustus
Vliegrou- te vlee- r- muizen	tijd- stip							2 x avond**		
	datum							16 mei en 17 juli 2024		
	func- tie							zomer- kraamverblijf		
Boombewo- nende vlee- r- muizen	tijd- stip	3 x avond **	-	-				2 x avond** 1 x ochtend**		-
	datum	9 augustus 2023 31 augustus 2023 20 september 2023						15 mei 2024 6 juni 2024 27 juni 2024		
	func- tie	paar/baltsverblijf						zomer- kraamverblijf		
Ringmus, grote gele kwikstaart en drijvende wa- terweegbree	tijd- stip				-	2 x ochtend*				
	datum					3 april 2024 30 april 2024 30 mei 2024				
	func- tie					Nestplaatsen en groei- plaats				
Grote modder- kruiper	tijd- stip	1 x overdag*								
	datum	28 augustus 2023								
	func- tie	watersamples verzamelen								

* uitgevoerd door een persoon

** uitgevoerd door drie personen

5 ONDERZOEKSRESULTATEN

5.1 Vliegroure

Vleermuizen maken veelal gebruik van lijnvormige (donkere) landschapselementen als houtsingels, beken en lanen om zich te verplaatsen tussen verblijfplaatsen en foerageergebieden. Tijdens beide veldbezoeken foerageerde circa 5 vleermuizen gewone dwergvleermuizen en laatvliegers boven de Kabroekse beek en de waterloop ten oosten van de voormalige tuinderskast. Ook aan de randen van de bosschages zijn meerder foeragerende vleermuizen waargenomen. Echter, geen van de waargenomen individuen toonde een duidelijke binding met deze waterlopen. Tussen de drie observatieposten zijn eveneens geen duidelijke migratie van vleermuizen waargenomen die duiden dat de waterlopen als vliegroure worden gebruikt

De Kabroekse beek en de waterloop ten oosten van de voormalige tuinderskas doen geen dienst als vliegroure voor vleermuizen. Het wordt enkel gebruikt als foerageergebied voor gewone dwergvleermuizen en laatvliegers. Bij de voorgenomen werkzaamheden als ook in de eindfase dient te allen tijde geen toename van verlichting op te treden tussen zonsondergang en zonsopgang op en nabij de waterlopen. Daarnaast dient te allen tijde de algemene zorgplicht gehandhaafd te worden.

5.2 Boombewonende vleermuizen

Zomer-, kraam- en (milde)winterverblijfplaatsen

Tijdens geen van de veldbezoeken zijn invliegende, uitvliegende of zwermende boombewonende vleermuizen waargenomen ter plaatse van de bomen op de onderzoekslocatie. Een winterverblijfplaats is moeilijk aan te tonen, echter kan deze niet uitgesloten worden op het moment dat een andere verblijfplaats (bijvoorbeeld zomerverblijfplaats) aanwezig is. Aangezien geen sprake is van een zomer- of kraamverblijfplaats ter plaatse van de bomen op de onderzoekslocatie, kan redelijkerwijs worden aangenomen dat tevens geen sprake is van een (milde) winterverblijfplaats.

Paar/baltsverblijf

Tijdens een veldbezoek zijn gedurende de paarronde in de bosschages enkele baltsende gewone/ruige dwergvleermuizen waargenomen. Gedurende het veldbezoek zijn middels de warmtebeeldcamera en de batlogger de te kappen bomen individueel onderzocht op individuen van de gewone/ruige dwergvleermuis. Echter zijn deze niet waargenomen bij de betreffende te kappen bomen. Daarnaast werd het baltsgeluid niet duidelijker/scherper bij het benaderen van de betreffende bomen. Hoogstwaarschijnlijk zijn de waargenomen baltsgeluiden afkomstig van vleermuizen roepend van bomen centraler gelegen in de bosschage.

Verder zijn er enkele baltsende gewone dwergvleermuizen waargenomen ter plaatse van de sloot (ten oosten gelegen van de voormalige tuinderskas). Echter, ter plaatse zijn geen bomen aanwezig, enkel een grote loods (gelegen buiten de onderzoekslocatie).

Op basis van de huidige onderzoeksinspanning en bovenstaande bevindingen kan worden aangenomen dat aanwezige te kappen bomen geen functie vervuld als paar/baltsverblijf voor vleermuizen. Bij de voorgenomen werkzaamheden als ook in de eindfase dient te allen tijde geen toename van verlichting op te treden tussen

zonsondergang en zonsopgang op en nabij de bomen in de bosschage welke de buitenrand vormen nadat de bomenrand gekapt is. Daarnaast dient te allen tijde de algemene zorgplicht gehandhaafd te worden.

Verblijfsfunctie buiten de onderzoekslocatie

Buiten de onderzoekslocatie zijn verder geen indicaties aangetroffen voor de aanwezigheid van een vaste rust- of voortplantingsplaats. Er zijn geen aantikkende, zwermende, in- of uitvliegende of anderszins indicaties voor binding met de bebouwing/bomen aangetroffen. Daarmee kan uitgesloten worden dat sprake is van een vaste rust- of voortplantingsplaats in de directe omgeving van de onderzoekslocatie, die wellicht verstoring zou kunnen ondervinden van de voorgenomen werkzaamheden.

Foeragerende vleermuizen

Tijdens de diverse onderzoeken zijn boven de waterlopen alsook aan de bosrand foeragerende gewone dwergvleermuizen en een enkele laatvlieger waargenomen. Gedurende de veldwerkrondes vlogen gewone dwergvleermuizen en laatvliegers rondom de boomkruinen en boven het water. Op deze plaatsen zijn insectenrijke vegetaties beschikbaar die gebruikt worden om te foerageren. Bij de voorgenomen werkzaamheden is enkel sprake van bomenkap aan de randzone en zullen de waterlopen behouden blijven. Bij de waterlopen wordt enkel het talud aangepast. Bij de voorgenomen werkzaamheden blijft voldoende insectenrijke vegetaties behouden op de onderzoekslocatie en de directe omgeving hiervan. Daarmee zal geen belangrijk foerageergebied afnemen, mits bij de voorgenomen werkzaamheden als ook in de eindfase te allen tijde geen toename van verlichting optreedt tussen zonsondergang en zonsopgang op en nabij de bomen welke de buitenrand vormen nadat de bomenrand gekapt is en de waterlopen. Daarnaast dient te allen tijde de algemene zorgplicht gehandhaafd te worden.

Overige soorten

Gedurende het veldwerk naar zomerverblijfplaatsen is een bruine rat waargenomen in de oever van de oostelijk gelegen sloot. Bij de voorgenomen werkzaamheden dient ten aanzien van de bruine rat de algemene zorgplicht gehandhaafd te worden.

5.3 Ringmus

De ringmus broedt vooral in agrarisch cultuurland met veel kleine landschapselementen, weinig meer in bossen (vooral randen), regionaal ook aan randen van dorpen en steden. De ringmus benut bestaande hopen, zowel in bomen (ingerotte plekken, spechtenhopen) als anderszins (holtes in schuurtjes, nestkasten, oeverzwaluwnesten, randen van grote nesten zoals van blauwe reiger, ooievaar, havik en buizerd).

Tijdens de twee veldbezoeken zijn geen individuen van de ringmussen waargenomen (zowel visueel als auditief) ter plaatse van de bosschage (holten in bomen, vogelkasten) alsook in de directe omgeving. Op basis van de huidige onderzoeksinspanning en bovenstaande bevindingen kunnen nestplaatsen van de ringmus ter plaatse van de bosschages en de directe omgeving worden uitgesloten. Gedurende de veldonderzoeken zijn enkel waarnemingen gedaan van algemene voorkomende vogelsoorten zoals de houtduif, vink, tijfjaf, groen specht, roodborst, winterkoning, koolmees, pimpelmees, boomkruiper, zwartkop, kauw en zanglijster. Bij de voorgenomen werkzaamheden zal dan ook geen overtreding van de Omgevingswet plaatsvinden ten aanzien van de ringmus. Wel dient te allen tijde de algemene zorgplicht gehandhaafd te worden.

5.4 Grote gele kwikstaart

De grote gele kwikstaart broedt en foerageert vrijwel uitsluitend aan de oevers van beken en rivieren, liefst met loofbos of loofbomen omzoomd. Deze soort nestelt langs snelstromende beken in natuurlijke oevers of onder bruggen en aan gebouwen.

Tijdens de twee veldbezoeken zijn geen individuen van de grote gele kwikstaarten waargenomen (zowel visueel als auditief) op de onderzoekslocatie alsook in de directe omgeving. Extra aandacht is besteed aan het inspecteren van duikers, bruggetjes en de oevers langs de waterlopen. Daarbij zijn ook geen nesten aangetroffen. Op basis van de huidige onderzoeksinspanning en bovenstaande bevindingen kunnen nestplaatsen van de grote gele kwikstaart ter plaatse van de Kabroekse beek, de beek gelegen ten oosten van de onderzoekslocatie en het bosschage worden uitgesloten. Bij de voorgenomen werkzaamheden zal dan ook geen overtreding van de Omgevingswet plaatsvinden ten aanzien van de grote gele kwikstaart. Wel dient te allen tijde de algemene zorgplicht gehandhaafd te worden.

5.5 Drijvende waterweegbree

Gedurende het veldbezoek zijn geen exemplaren van de drijvende waterweegbree aangetroffen. Bij de voorgenomen werkzaamheden zal dan ook geen overtreding van de Omgevingswet plaatsvinden ten aanzien van de drijvende waterweegbree. Wel dient te allen tijde de algemene zorgplicht gehandhaafd te worden.

5.6 Grote modderkruiper

Uit het eDNA onderzoek van Datura (zie bijlage 1) blijkt dat er geen eDNA aanwezig is van de grote modderkruiper in de watermonsters van de waterlopen op de onderzoekslocatie. Op basis van de huidige onderzoeksinspanning en bovenstaande bevindingen kan de aanwezigheid van de grote modderkruiper in de betreffende waterlopen worden uitgesloten. Bij de voorgenomen werkzaamheden zal dan ook geen overtreding van de Omgevingswet plaatsvinden ten aanzien van de grote modderkruiper. Wel dient te allen tijde de algemene zorgplicht gehandhaafd te worden.

5.7 Werken in de vrijstellingsperiode van de steenmarter en eekhoorn

In het zuiden van de bosschage staan verschillende potentiële verblijfplaatsen van de steenmarter (verschillende houten huisjes en takkenrillen, zie figuur 5.1 en 5.2). Deze blijven bij de toekomstige werkzaamheden behouden en ter plaatse zullen geen werkzaamheden meer plaatsvinden (persoonlijke communicatie opdrachtgever).



Figuur 5.1 Houtopslag in het zuiden van de bosschage



Figuur 5.2 Houtenopstal in het zuiden van de bosschage

Voor wat betreft de eekhoorn zijn tijdens het veldbezoek op 3 april 2024 twee potentiële eekhoornnesten aangetroffen. Eén nest in het midden van de bosschage (waar geen werkzaamheden gepland staan) en één nest ten noordwesten van de bosschage, zie figuur 5.3. Ter plaatse van deze potentiële nesten (noordwesten) worden eveneens geen werkzaamheden uitgevoerd (persoonlijke communicatie opdrachtgever).



Figuur 5.3 Aangetroffen eekhoornnestebij rode stip.

Voor beide soorten blijft op basis van de beschreven werkzaamheden (enkel opschoonwerkzaamheden aan de noordzijde en bomenkap van een strook van 5 à 7 m² ten oosten) nog voldoende leefgebied voor de steenmarter en eekhoorn voorhanden. Daarnaast blijven verblijfplaatsen van de steenmarter en nestplaatsen van de eekhoorn behouden. Daarmee is in overleg met de opdrachtgever besloten dat er vooralsnog geen noodzaak is om aanvullend onderzoek uit te voeren indien gewerkt kan worden in de vrijstellingsperiode. De vrijstellingsperiode die in de provincie Limburg geldt voor de eekhoorn betreft de periode maart-april en juli tot en met november

en voor steenmarter betreft de periode 15 augustus tot en met februari. Daarmee wordt een overtreding van de Omgevingswet voorkomen.

6 ALGEMENE BROEDVOGELS EN ZORGPLICHT

Voor de binnen het projectgebied voorkomende algemene broedvogels geldt dat, indien ingrepen buiten het broedseizoen worden uitgevoerd of worden gestart, er geen overtredingen plaats zullen vinden met betrekking tot broedvogels. In de Omgevingswet wordt geen vaste periode gehanteerd voor het broedseizoen. Globaal kan voor het broedseizoen de periode maart tot half augustus worden aangehouden. Geldend is en blijft de aanwezigheid van een broedgeval op het moment van ingrijpen. In het geval van het ontbreken van een broedgeval binnen en binnen de invloedssfeer van het projectgebied kunnen de werkzaamheden starten voorafgaand en gedurende het broedseizoen.

Op de onderzoekslocatie zijn, naast algemene broedvogels, enkel vaste rust- of verblijfplaatsen van “algemene” soorten te verwachten waarvoor een algehele vrijstelling van de Omgevingswet met betrekking tot de ruimtelijke ontwikkelingen en herinrichting geldt. Dit neemt echter niet weg dat er aan de zorgplicht moet worden voldaan en zorgvuldig gehandeld moet worden. Dit houdt in dat het noodzakelijk is om voldoende zorg te dragen voor de aanwezige individuen en al het redelijkerwijs mogelijke dient gedaan te worden om het doden van individuen te voorkomen. Aanwezige dieren moeten de gelegenheid krijgen om veilig weg te komen of dienen zorgvuldig te worden verplaatst naar een geschikte locatie in de directe omgeving. Zorgvuldig handelen houdt onder andere in dat er geen ‘wezenlijke invloed’ is op beschermde soorten en dat schade aan soorten zo veel mogelijk wordt voorkomen. Een ecologische planning voor de uitvoering van werkzaamheden voor soortgroepen waarvoor de zorgplicht geldt is weergegeven in tabel 6.1.

Tabel 6.1. Ecologische planning voor uitvoeren van werkzaamheden per ingreep/soortgroep.

Ingreep	Soortgroep	mei	juni	juli	aug.	sept.	okt.	nov.	dec.	jan.	febr.	maart	april
Werzaamheden	broedvogels	red	red	red	red	green	green	green	green	green	green	red	red
	zoogdieren en amfibieën	yellow	yellow	yellow	yellow	green	green	yellow	yellow	yellow	yellow	yellow	yellow
minst ongunstige periode om werkzaamheden uit te voeren		green											
ongunstigste periode om werkzaamheden uit te voeren (in het kader van de algemene zorgplicht deze periode bij voorkeur ontzien)		yellow											
ongunstigste periode om werkzaamheden uit te voeren		red											

7 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

Econsultancy heeft van BRO opdracht gekregen voor het uitvoeren van een aanvullend ecologisch onderzoek aan de Almeweg (ong.) te Horst.

Het aanvullend ecologisch onderzoek is uitgevoerd in het kader van een bestemmingsplanwijziging en naar aanleiding van de resultaten van de quickscan Wet natuurbescherming die Econsultancy op de onderzoekslocatie heeft uitgevoerd (rapport quickscan Wet natuurbescherming Almeweg (ong.) te [REDACTED] rapportnummer 20196.003, versie D3, d.d. 8 juni 2023).

Uit de quickscan blijkt dat, om de effecten van de ingreep volledig te kunnen toetsen aan de Omgevingswet er omtrent de aanwezigheid van boombewonende vleermuizen, vliegrouete, ringmus, grote gele kwikstaart, drijvende waterweegbree en grote modderkruiper meer informatie is benodigd. Deze beschermde soorten kunnen door de voorgenomen werkzaamheden aan de beken en aan het bosschage mogelijk negatieve effecten ervaren.

In een eerder uitgevoerd aanvullend ecologisch onderzoek, rapportnummer 20196.010, d.d. 16 oktober 2023, zijn beschermde soorten onderzocht die mogelijk negatieve effecten ervaren van het slopen van de tuinderskas met opslagloods en het dempen van het waterbassin. Destijds is geconcludeerd dat er geen vaste verblijfs- en/of voortplantingsplaatsen en nestlocaties van gebouwbewonende vleermuizen, huismus, steenuil, kerkuil en Alpenwatersalamander binnen de onderzoekslocatie zijn vastgesteld. Nestlocaties van huismussen in de nabije bebouwing zullen, gezien de onderlinge afstand en de aard van de werkzaamheden, geen hinder ondervinden van de geplande sloopwerkzaamheden op de onderzoekslocatie. Ook het nabijgelegen territorium van de steenuil (op 200 meter ten westen van de onderzoekslocatie, nabij de Kabroekse beek, gelegen tussen de openbare wegen Meterikseweg en Janssenweg) zal wegens de afstand tot de onderzoekslocatie geen hinder ondervinden van de voorgenomen werkzaamheden.

Functie onderzoekslocatie voor beschermde soorten

Er zijn geen vaste rust- en verblijfplaatsen aangetroffen van boombewonende vleermuizen op de onderzoekslocatie. Ook een vliegrouete is niet vastgesteld ter plaatse van de waterlopen. Nestlocaties van ringmus, en grote gele kwikstaart en standplaatsen van de drijvende waterweegbree zijn eveneens niet waargenomen. Daarnaast zijn geen eDNA sporen aangetroffen van de grote modderkruiper.

Vanwege de aanwezigheid van foeragerende vleermuizen dient tijdens de uitvoeringsfase als ook in de eindfase te allen tijde geen toename van verlichting op te treden tussen zonsondergang en zonsopgang op en nabij de waterlopen alsook ter plaatse van de bosschage. Verder dienen werkzaamheden ter plaatse van de bosschage uitgevoerd te worden in de vrijstellingsperiode van de steenmarter en eekhoorn.

Ten aanzien van algemene broedvogels kunnen overtredingen worden voorkomen door rekening te houden met het broedseizoen of door voorafgaand aan de werkzaamheden een broedvogelcheck uit te voeren. Het wordt verder geadviseerd om materiaalopslag buiten het broedseizoen te verwijderen.

Verder geldt te allen tijde de algemene zorgplicht ten aanzien van algemene grondgebonden zoogdieren en amfibieën. Dit houdt in dat al het redelijkerwijs mogelijke gedaan dient te worden om het doden en verwonden van individuen te voorkomen.

Conclusies

Econsultancy verwacht dat juridisch gezien er geen overtreding van de verbodsartikelen uit de Omgevingswet aan de orde is en dat een ontheffing niet noodzakelijk is. Door de voorgenomen werkzaamheden worden geen vaste rust- en/of verblijfplaatsen en nestlocaties van boombewonende vleermuizen, vliegroutes, ringmus, grote gele kwikstaart, grote modderkruiper en drijvende waterweegbree verstoord dan wel vernietigd.

Aanbevelingen

Gedurende de werkzaamheden dient te allen tijde de algemene zorgplicht in acht te worden genomen. Eventueel ten tijde van de werkzaamheden op de onderzoekslocatie aanwezige dieren dienen de mogelijkheid te krijgen om weg te komen.

Geraadpleegde bronnen

BIJ12 (2017b). Kennisdocument gewone dwergvleermuis. Opgehaald van <https://www.bij12.nl/wp-content/uploads/2024/04/Kennisdocument-Gewone-dwergvleermuis-versie-2.0.pdf>

BIJ12 (2017d). Kennisdocument ruige dwergvleermuis. Opgehaald van <https://www.bij12.nl/assets/BIJ12-2017-018-Kennisdocument-Ruige-dwergvleermuis-1.0.pdf>.

Limpens H. & Regelink J. (2017). Vleermuizen en planologie. Zoogdiervereniging, Nijmegen.

█ (z.d.). Soortenoverzicht. Geraadpleegd op 1 augustus 2024 van <https://stats.█nl/stats/soorten>.

Vleermuisvakberaad Netwerk Groene Bureaus (2021). Vleermuisprotocol 2021. Opgehaald van <https://netwerkgroenebureaus.nl/vleermuisprotocol>.

Soortinventarisatieprotocollen Netwerk Groene Bureaus (2023). Opgehaald van <https://www.netwerkgroenebureaus.nl/werken-aan-kwaliteit/soortinventarisatieprotocollen/protocollen-vis-amfibie-reptiel-vogel>

Verklarende woordenlijst

Activiteitenplan

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

Broedseizoen

Voor het broedseizoen staat in de wet geen vaste periode. De looptijd verschilt per soort en varieert per jaar. Veel vogelsoorten broeden ongeveer tussen 15 maart 1 september.

Expert Judgement

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

Externe werking

Niet alleen activiteiten in een Natura 2000-gebied/NNN 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/NNN, ongeacht de afstand tot het beschermde gebied.

Foeragegebied

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 voortplantingsplaats 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 habitattype als de omstandigheden waarin de soort of het habitattype voorkomt perspectief bieden op een duurzaam voortbestaan van die soort of dat habitattype.

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.

Kraamkolonie

De kraamkolonie bestaat uit alle vruchtbare vrouwtjes binnen een kolonie vleermuizen een kraamkolonie bestaat uit meerdere kraamgroepen.

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 kan oplopen tot meerdere honderden exemplaren.

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.

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.

Mitigerende maatregelen

Maatregelen die negatieve effecten bij een ingreep voorkomen of reduceren.

Omgevingscheck

Een omgevingscheck wordt uitgevoerd bij verlies van leefgebied van een jaarrond 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.

Omgevingsvergunning

Het onderdeel soortbescherming onder de Omgevingswet heeft als om planten- en diersoorten die vrij in het wild leven te beschermen. Om deze kwetsbare soorten te beschermen bevat de Omgevingswet een aantal schadelijke handelingen. Onder bepaalde voorwaarden mogen de activiteiten wel doorgaan, daarvoor kan een omgevingsvergunning benodigd zijn. Een omgevingsvergunning 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. Een 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 Omgevingswet. 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 Omgevingswet 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 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.

Voortplantingsplaats of rustplaats

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

Viegroute

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

Buiten de kraamperiode worden deze door groepjes vrouwtjes en jongen gebruikt, in de kraamperiode door individuele mannetjes.

eDNA onderzoek grote modderkruiper te 



Colofon

Titel	eDNA onderzoek grote modderkruiper te [REDACTED]
Tekst, foto's en samenstelling	[REDACTED]
In opdracht van	Econsultancy [REDACTED]
Naam opdrachtgever	[REDACTED]
Kenmerk opdrachtgever	20196.12
Rapportnummer	RA23090
Datum opstelling	6 september 2023
Aantal pagina's	10
Contactpersoon vanuit Datura	[REDACTED]
Wijze van citeren	[REDACTED] 2023 eDNA. Rapport RA23090 eDNA onderzoek grote modderkruiper te [REDACTED] Datura Molecular Solutions BV, Wageningen



Datura Molecular Solutions BV

Gevestigd te:

Agro Business Park 10

[REDACTED] Wageningen

Nederland



Inhoudsopgave

1. Doelstelling	4
2. Methode	4
2.1 Bemonstering	4
2.2 Laboratoriumanalyse	5
2.3.1 Hoe fout positieve waarnemingen worden voorkomen	5
2.3.2 Hoe fout negatieve waarnemingen worden voorkomen (qPCR).....	7
3. Resultaten	8
Bijlagen – foto's bemonsteringslocaties	9

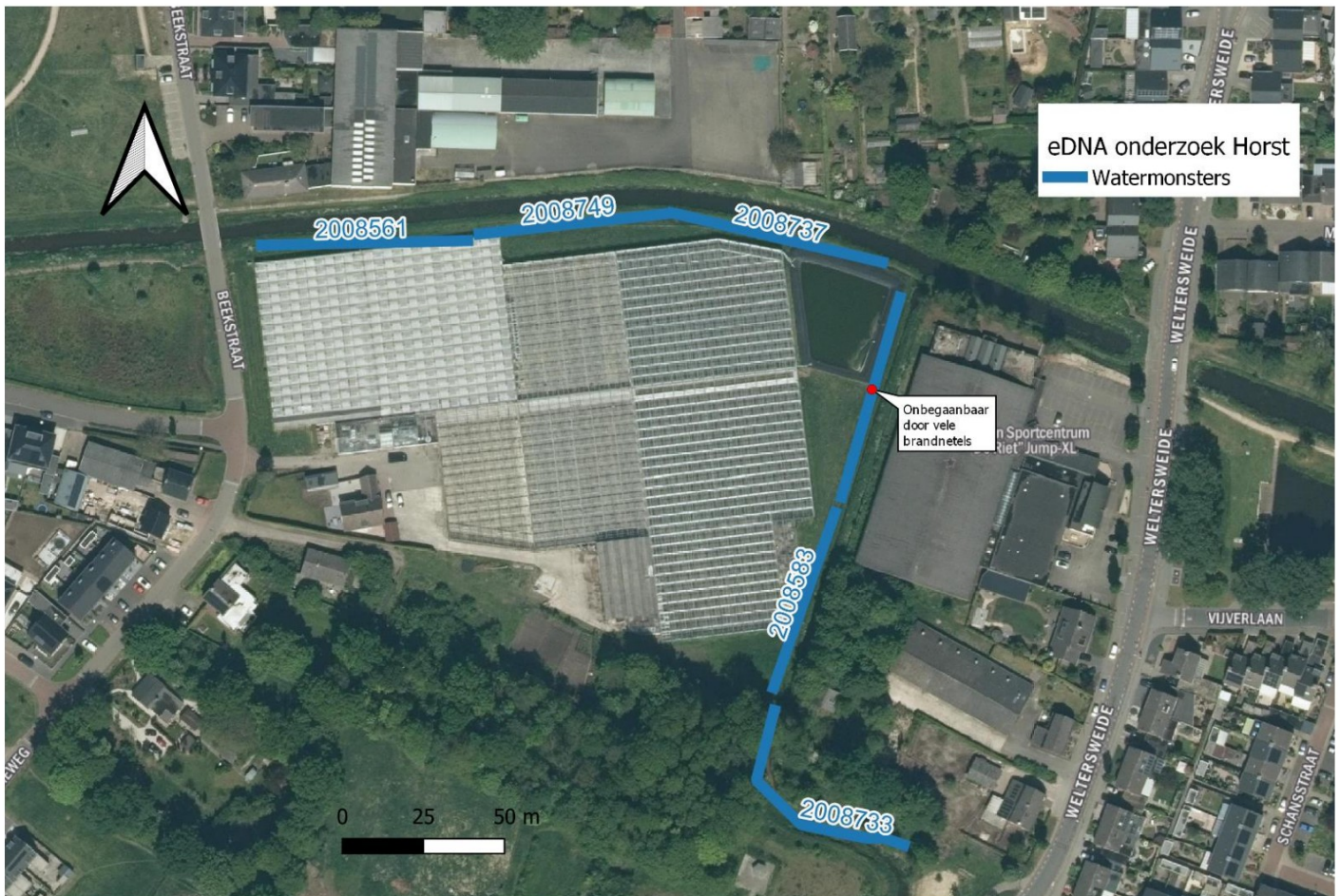
1. Doelstelling

De doelstelling van dit onderzoek is het aantonen van de aan- of afwezigheid van grote modderkruiper (*Misgurnus fossilis*) aan de hand van (e)DNA onderzoek. Hiervoor is gebruik gemaakt van eDNA watermonsters. Dit onderzoek is uitgevoerd in opdracht van Econsultancy B.V..

2. Methode

2.1 Bemonstering

De bemonstering is uitgevoerd door een medewerker van Datura Molecular Solutions B.V., volgens gestandaardiseerde protocollen van Datura (opvraagbaar). In totaal zijn er vijf watermonsters verzameld en aangeleverd aan het laboratorium van Datura. De exacte bemonsteringslocaties tezamen met de unieke monstercode zijn te vinden in figuur 1. De monsters zijn verzameld op 28 augustus 2023. Een deel van het traject was ontoegankelijk voor bemonstering door de vele brandnetels langs het water. Foto's van de bemonsteringslocaties zijn te vinden in de bijlagen – foto's bemonsteringslocaties.



Figuur 1: bemonsteringslocaties van de watermonsters op locatie Almereweg 14 te

2.2 Laboratoriumanalyse

De watermonsters zijn getest op de aanwezigheid van eDNA van grote modderkruiper. 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 de watermonsters is geëxtraheerd middels een chloroform-phenol extractie. Storende stoffen als humuszuren kunnen detectie van het eDNA inhiberen wat kan leiden tot fout 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 hechten aan DNA van de doelsoort en dit vervolgens vermenigvuldigen. Datura werkt bovendien met 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 behulp van 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 fout positieve waarnemingen worden voorkomen

Het optreden van zowel fout positieve als fout negatieve waarnemingen wordt tot het minimum beperkt. Fout 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 fout positieve waarnemingen voorkomen worden. Omdat de kans op fout positieve waarnemingen zeer klein is, kunnen we niet exact kwantificeren hoe groot de kans daadwerkelijk is. Datura kan daarom niet 100% zeker garanderen dat fout positieve waarnemingen nooit optreden. In de praktijk (middels validatie studies) nemen we echter geen fout positieve waarnemingen waar. Het is daarom aannemelijk dat fout positieve waarnemingen vrijwel niet optreden.

Het voorkomen van fout 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 diverse andere (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 fout 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 DNase free water 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 fout negatieve waarnemingen worden voorkomen (qPCR)

Naast fout positieve waarnemingen kunnen ook fout 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 fout negatieve waarnemingen aanzienlijk verkleind worden. Maatregelen die genomen worden om fout 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 nog invloed hebben en er inderdaad geen inhibitie meer optreedt (zie methode voor een uitgebreidere beschrijving);
5. Er wordt altijd een **positieve DNA controle** van de doelsoort 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

Er is in de watermonsters geen eDNA van grote modderkruiper gedetecteerd.

Een overzicht van de resultaten van dit onderzoek wordt weergegeven in Tabel 1. Iedere analyse is uitgevoerd met behulp van 12 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 de doelsoorten in de betreffende monsters. Als er een score van "0/12" is verkregen, betekent dit dat er geen eDNA van de doelsoort in het betreffende monster is gedetecteerd. Als er minstens 1 positieve replica is verkregen (bijvoorbeeld '1/12' of hoger) dan 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 (bijvoorbeeld '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 van de qPCR analyses van de watermonsters met 12 replica's.

Monsternummer	Type	Resultaat grote modderkruiper
2008733	Water	0/12
2008583	Water	0/12
2008561	Water	0/12
2008749	Water	0/12
2008737	Water	0/12

Bijlagen – foto's bemonsteringslocaties

Watermonster 2008733



watermonster 2008583



Watermonster 2008561



watermonster 2008749



Watermonster 2008737



locatie niet bemonsterd door vele brandnetels

