

Rapportage nader ecologisch onderzoek

Eemdijk-oost

*Heikikker, poelkikker, rugstreeppad, grote modderkruiper, platte schijfhoren,
ringslang en haas*

In opdracht van: van der Wardt Bouw B.V.
21 oktober 2024

Colofon

© 2024 Laneco | van der Wardt Bouw B.V.

Tekst en samenstelling: A. Borgers

Tweede lezers: R. Eversteijn

Eindverantwoordelijk: D. van Pijkeren

Projectnummer: 06.23.26

In opdracht van: van der Wardt Bouw B.V.

Wijze van citeren: Borgers, A. (2024). *Rapportage nader ecologisch onderzoek Eemdijk-Oost*. Laneco, Voorthuizen.



Laneco is aangesloten bij het Netwerk Groene Bureaus, brancheorganisatie voor kwaliteitsbevordering en belangenbehartiging van ecologisch advies en onderzoek.

Niets uit dit rapport mag worden verveelvoudigd, gewijzigd en/of openbaar gemaakt worden door middel van scanning, internet, druk, fotokopie, microfilm of op welke andere wijze dan ook, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de opdrachtgever hierboven aangegeven en Laneco. Noch mag het zonder een dergelijke toestemming worden gebruikt voor enig ander doel dan waarvoor het is vervaardigd. Laneco is niet aansprakelijk voor gevolgschade, alsmede voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van Laneco. De opdrachtgever vrijwaart Laneco voor aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

INHOUD

1	INLEIDING	4
1.1	AANLEIDING.....	4
1.2	GEBIEDSBESCHRIJVING	5
1.3	BEOOGDE INGREEP	6
2	HABITATBESCHRIJVING	7
2.1	GROTE MODDERKRUIPER	7
2.2	PLATTE SCHIJFHOREN	7
2.3	RINGSLANG.....	7
2.4	HEIKIKKER.....	7
2.5	POELKIKKER	7
2.6	RUGSTREEPPAD	8
2.7	HAAS.....	8
3	ONDERZOEKSVRAAG EN METHODE	9
3.1	ONDERZOEKSVRAAG	9
3.2	ONDERZOEKSMETHODIEK	9
3.3	ONDERZOEKSRONDES	12
4	ONDERZOEKSRISULTATEN	14
4.1	GROTE MODDERKRUIPER EN PLATTE SCHIJFHOREN	14
4.2	RINGSLANG.....	15
4.3	HEIKIKKER.....	15
4.4	POELKIKKER	16
4.5	RUGSTREEPPAD	16
4.6	HAAS.....	17
5	CONCLUSIE EN CONSEQUENTIES.....	18
5.1	CONCLUSIES	18
5.2	CONSEQUENTIES	5
BIJLAGE 1	WAARNEMINGEN OP KAART	6
BIJLAGE 2	WETTELIJK KADER SOORTBESCHERMING	7
BIJLAGE 3	LITERATUURLIJST	9

Separate bijlagen

Bijlage A - eDNA onderzoek grote modderkruiper en platte schijfhoren Datura

1 INLEIDING

1.1 AANLEIDING

Aan de oostzijde van Eemdijk (gemeente Bunschoten, provincie Utrecht) liggen concrete plannen voor de nieuwbouw van woningen op agrarische gronden. Een globaal overzicht van het plangebied is weergegeven in Figuur 1.



Figuur 1: Globale ligging van het plangebied (gele contour) in Eemdijk (PDOK, 2024).

Natuurbank Overijssel heeft de beoogde ingrepen in 2022 getoetst aan de Wet natuurbescherming en een quickscan natuurwaardenonderzoek uitgevoerd. In deze quickscan zijn de geschiktheid van de habitat voor beschermde plant- en diersoorten en de verwachte effecten op deze soorten beoordeeld op basis van een gebiedsanalyse (ruimtelijk ecologisch), beschikbare soortgegevens en een eenmalige veldverkenning.

Uit de uitgevoerde quickscan flora en fauna is gebleken dat het plangebied potentieel geschikt is voor verschillende wettelijk beschermde soorten waaronder poelkikker (*Pelophylax lessonae*), heikikker (*Rana arvalis*) en grote modderkruiper (*Misgurnus fossilis*). Uit een door Laneco aangevulde memo ecologie blijkt dat het plangebied tevens potentieel geschikt is voor rugstreeppad (*Epidalea calamita*) en ringslang (*Natrix helvetica*) en platte schijfhoren (*Anisus vorticulus*). Nader ecologisch onderzoek is noodzakelijk om het gebruik van het plangebied voor deze beschermde soorten in beeld te brengen. Omdat haas (*Lepus europeus*) per 1 september 2024 van de vrijstellingslijst in de provincie Utrecht is gehaald, is tevens onderzoek uitgevoerd naar de aanwezigheid van haas.

1.2 GEBIEDSBESCHRIJVING

Het plangebied ligt aan de oostzijde van de bebouwde kom van Eemdijk (gemeente Bunschoten-Spakenburg, provincie Utrecht). Het plangebied wordt aan de zuidzijde begrensd door de Vaartweg. Aan de overige zijden wordt het plangebied omgeven door agrarische percelen. Ten oosten van het plangebied wordt het agrarisch gebied onderbroken door de Noorderwetering. Deze wetering komt stroomafwaarts uit in het Eemmeer.

Het plangebied bestaat volledig uit agrarisch cultuurland, in gebruik als grasland ten behoeve van de melkveehouderij. De weilanden worden doorsneden door smalle poldersloten. Een aantal van de poldersloten heeft een goed ontwikkelde water- en oevervegetatie. De graslanden bestaan uit een monocultuur van raaigras met bijbehorend intensief agrarisch gebruik. Wegen, opgaande beplanting en bebouwing ontbreken in het plangebied.

Een impressie van het plangebied is weergegeven in figuur 2.



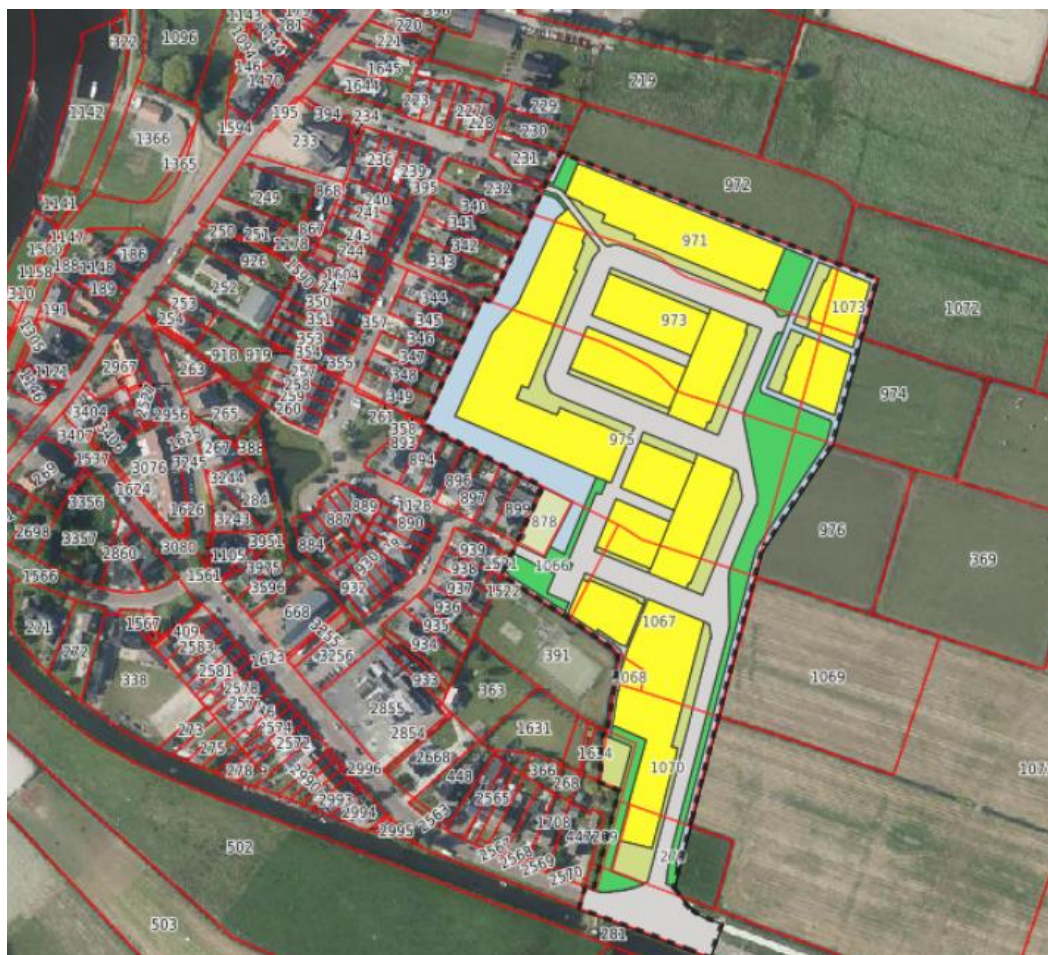
Figuur 2: Impressie van het plangebied (Natuurbank Overijssel, 2024).

1.3 BEOOGDE INGREEP

Het voornemen bestaat om grondgebonden woningen in het plangebied te bouwen. De woningen worden ontsloten via een aan te leggen ontsluitingsweg welke aansluit op de Vaartweg. Naast woningen worden alle bijbehorende voorzieningen aangelegd, zoals wegen, openbaar groen en open water voor de berging van hemelwater. In figuur 3 wordt een plattegrond van het wenselijke eindbeeld weergegeven.

Ten behoeve van de aanleg van 64 woningen worden de volgende ingrepen verwacht in het plangebied:

- Bouwrijpmaken plangebied;
- Bouw nieuwe woningen;
- Dempen en graven watergangen;
- Aanleg infrastructuur;
- Aanleg openbaar groen.



Figuur 3: Plattegrond eindbeeld (van der Wardt Bouw, 2024).

2 HABITATBESCHRIJVING

2.1 GROTE MODDERKRUIPER

Grote modderkruiper komt voor in zoete wateren met een rijke watervegetatie en een dikke sliblaag. Grote modderkruiper kan overleven in droogvallende sloten, door zich in de sliblaag in te graven.

2.2 PLATTE SCHIJFHOREN

Platte schijfhoren komt voor in zoete, heldere en schone wateren met een rijke begroeiing. Vaak in draadalg vegetaties, maar ook in andere vegetaties, zoals in wateren met krabbenscheer.

2.3 RINGSLANG

De meeste reptielensoorten houden zich voornamelijk op in geleidelijke overgangssituaties tussen natuurlijke biotopen in bos-, heide- en veengebieden. Ringslang is een soort die sterk gebonden is aan water. De habitat van ringslang ligt veelal op de overgang van zandgronden naar veen- en kleigronden. Beide gradiënten zijn cruciaal voor habitat van ringslang voor de verschillende levensstadia van ringslang. Voor de voortplanting is ringslang afhankelijk van broeihopen. Deze kunnen worden gevormd door compost- of bladhopen of andere opstapelingen van organisch composterend materiaal.

2.4 HEIKIKKER

Heikikker is een soort die onder andere ondiepe wateren en sloten als voortplantingswater gebruikt, ook in agrarisch gebied. De soorten komen vooral voor in heide- en hoogveengebieden.

2.5 POELKIKKER

Poelkikker is een soort die onder andere ondiepe wateren en sloten als voortplantingswater gebruikt, ook in agrarisch gebied. Ze gebruiken zowel grasland als dichte vegetaties als landhabitat.

2.6 RUGSTREEPPAD

De rugstreeppad staat bekend als een pionierssoort. Hij duikt regelmatig op bij bouwterreinen en pas opgespoten gronden in het stedelijk gebied. Naarmate een gebied meer dichtgroeit met bomen en struiken, verdwijnt de rugstreeppad, om plaats te maken voor de gewone pad. Rugstreeppad heeft een voorkeur voor ondiepe, snel opwarmende wateren. Daarnaast is de aanwezigheid van vergraafbaar zand een belangrijk kenmerk voor de habitat van rugstreeppad.

2.7 HAAS

Haas heeft een voorkeur voor kleinschalig gras- en bouwland, open velden zoals akkers en weilanden, maar komt ook voor in open bos of heide. Hazen maken gebruik van een zogenaamd leger als rustplaats, een lagergelegen ligplaats in de grond of vegetatie. Haas eet voornamelijk grassen en verschillende kruiden, maar ook vruchten of akkerbouwproducten.

3 ONDERZOEKSVRAAG EN METHODE

3.1 ONDERZOEKSVRAAG

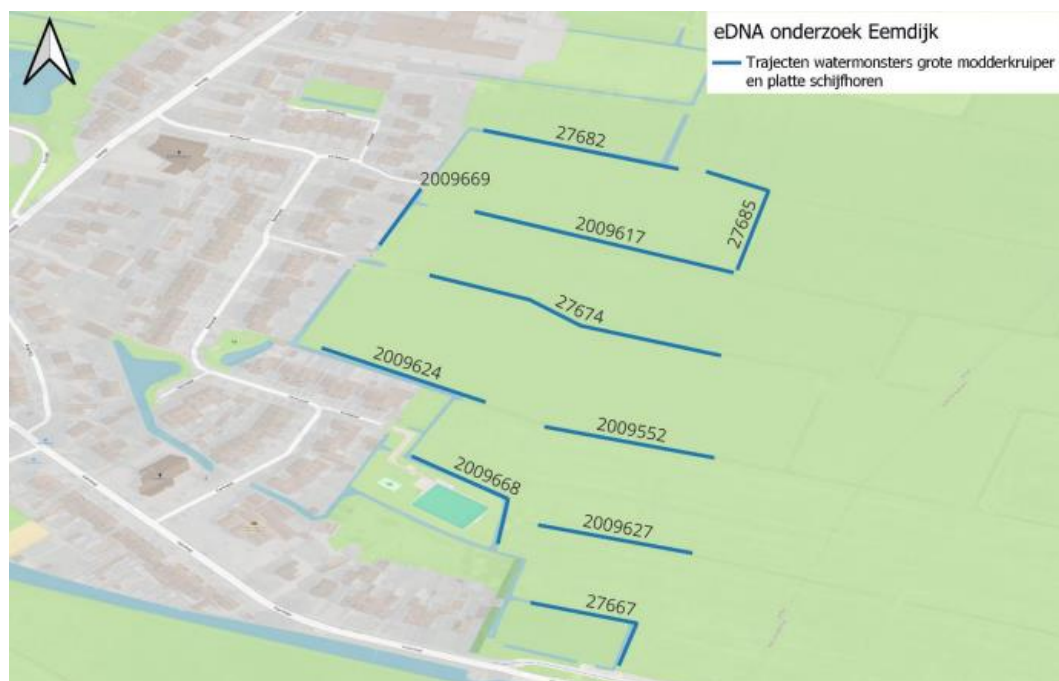
Het doel van dit onderzoek is om vast te stellen in welke mate beschermde soorten gebruik maken van het plangebied en welke vervolgpcedures wel of niet nodig zijn. Aantasting van rust-, verblijf- en/of standplaatsen en andere essentiële onderdelen van het leefgebied van deze soorten kan procedurele gevolgen hebben in het kader van de Omgevingswet. Gericht veldinventarisaties kunnen het gebruik van het plangebied beter in beeld brengen en daarmee de procedurele gevolgen voor het plan inzichtelijk maken.

Als de effecten op (één van) deze beschermde soorten en/of soortgroepen zodanig zijn dat belangrijke onderdelen van het leefgebied of de verblijfplaatsen (indirect) verloren gaan, dan moet een omgevingsvergunning in het kader van de Omgevingswet voor de ingrepen worden aangevraagd.

3.2 ONDERZOEKSMETHODIEK

3.2.1 Grote modderkruiper en platte schijfhoren

eDNA is een geschikte onderzoeksmethode om de aanwezigheid van grote modderkruiper en platte schijfhoren vast te stellen. Voor het eDNA onderzoek is één monsterpunt per 200 meter aan slootlengte aangehouden, in totaal zijn er tien monsters genomen (zie figuur 5). Het eDNA onderzoek is uitgevoerd in mei 2024.



Figuur 4: Onderzochte watergangen met eDNA (Datura, 2024).

Daarnaast is in augustus een steeknetcontrole uitgevoerd om het aantal aanwezige individuen van grote modderkruiper te inventariseren. Het gaat om een aanvullend onderzoek, na het uitvoeren van DNA onderzoek waarmee aanwezigheid reeds is aangetoond. De steeknetcontrole is uitgevoerd met zes personen om de trefkans van vangen te vergroten. De watervegetatie was in augustus nog niet volledig dichtgegroeid en de betreffende watergang betreft een relatief diepe watergang (1,20m diep). Naar verwachting is de watergang niet in gebruik als voortplantingsplaats omdat deze daarvoor te diep is. Om die reden is ervoor gekozen om het uitvoeren van een steeknetcontrole juist niet in de voortplantingsperiode uit te voeren.

In oktober is een tweede steeknetcontrole uitgevoerd om het aantal aanwezige individuen van grote modderkruiper te inventariseren. De steeknetcontrole is uitgevoerd met drie personen in het gehele plangebied.

3.2.2 Ringslang

In april, mei, augustus en september is de aanwezigheid van zomerbiotoop van ringslang onderzocht. Er zijn vier rondes gelopen in de ochtend/middag langs



Figuur 5: Geplaatste herpetoplaten 42 stuks (Ondergrond: PDOK, 2024).

structuurovergangen met behulp van vooraf geplaatste herpetoplaten. De 42 herpetoplaten zijn gemarkeerd met stokjes om schade als gevolg van bijvoorbeeld maaien te voorkomen. Tussen de onderzoeksrondes zat minimaal één week. De onderzoeksrondes zijn uitgevoerd door één persoon.

3.2.3 Heikikker

In de maanden februari en maart is de aanwezigheid van heikikker onderzocht door te luisteren naar roepende exemplaren. Er zijn drie rondes naar koorroep van heikikker uitgevoerd. De kooractiviteit is in het begin van de avond bij schemering onderzocht op relatief warme avonden. De onderzoeksrondes zijn uitgevoerd door twee personen.

3.2.4 Poelkikker

In de maanden mei en juni is de aanwezigheid van poelkikker onderzocht door te luisteren naar roepende exemplaren. Er zijn drie rondes naar koorroep van poelkikker uitgevoerd. De kooractiviteit is onderzocht op warme, vochtige avonden. De onderzoeksrondes zijn uitgevoerd door twee personen.

3.2.5 Rugstreeppad

Vanaf 15 april t/m 15 mei is de aanwezigheid van rugstreeppad onderzocht door te luisteren naar roepende exemplaren. Er zijn twee rondes naar koorroep van rugstreeppad uitgevoerd. Een dergelijke onderzoeksronde is voor de 3e keer herhaalt in de periode juni/juli, waarbij tevens de aanwezigheid van ei-snoeren, larven en/of juvenielen is bepaald. Het onderzoek is uitgevoerd door twee personen op relatief warme avonden na een natte periode.

3.2.6 Haas

Er is onderzoek uitgevoerd naar haas met twee onderzoeksrondes tussen februari en juni, waarvan één bezoek in juni. Met behulp van warmtebeeldcamera's is het plangebied onderzocht op de aanwezigheid van haas. De onderzoeken zijn uitgevoerd vanaf een half uur na zonsondergang tot middernacht. Het onderzoek is uitgevoerd door twee personen vanaf twee strategische punten met veel overzicht. Deze twee punten zijn gedurende de avond twee keer onderzocht.

3.3 ONDERZOEKSRONDES

Tabel 1: Grote modderkruiper en platte schijfhoren

Datum	Start/Einde onderzoek	Soort	Personen	Wind (Bft)	Temp. (°C)	Weer
07-05-24	08:00-16:00	eDNA bemonstering	1	1	15	Droog, bewolkt
14-08-24	09:00-11:30	Steeknetcontrole	6	1	23	Droog, zonnig
18-10-24	10:00-14:00	Steeknetcontrole	3	1	16	Droog, bewolkt

Tabel 2: Ringslang

Datum	Start/Einde onderzoek	Soort	Personen	Wind (Bft)	Temp. (°C)	Weer
15-03-24	18:00-18:30	Uitleggen platen	2	4	12	Droog
06-04-24	07:00-08:30	Ringslang	1	2-3	14	Droog, zonnig
13-05-24	07:00-08:30	Ringslang	1	1-2	24	Droog, zonnig
14-08-24	09:00-11:30	Ringslang	1	1	23	Droog, bewolkt
04-09-24	09:45-10:45	Ringslang	1	0	18	Droog, bewolkt

Tabel 3: Heikikker

Datum	Start/Einde onderzoek	Soort	Personen	Zon op/ onder	Wind (Bft)	Temp. (°C)	Weer
04-03-24	18:00-19:30	Heikikker	2	18:00	2	10	Helder
15-03-24	18:00-20:30	Heikikker	2	18:30	4	12	Helder
20-03-24	19:00-21:00	Heikikker	2	18:51	1-2	12	Lichtbewolkt

Tabel 4: Poelkikker

Datum	Start/Einde onderzoek	Soort	Personen	Zon op/ onder	Wind (Bft)	Temp. (°C)	Weer
02-05-24	21:00-22:30	Poelkikker	1	21:00	2-3	16	Bewolkt
15-05-24	21:20-23:30	Poelkikker	1	21:28	1-2	19	Bewolkt
17-06-24	21:45-23:45	Poelkikker	2	22:00	1	16	Droog, helder

Tabel 5: Rugstreeppad

Datum	Start/Einde onderzoek	Soort	Personen	Zon op/ onder	Wind (Bft)	Temp. (°C)	Weer
02-05-24	21:00-22:30	Rugstreeppad	1	21:00	2-3	16	Bewolkt
15-05-24	21:20-23:30	Rugstreeppad	1	21:28	1-2	19	Bewolkt
17-06-24	21:45-23:45	Rugstreeppad	2	22:00	1	16	Droog, helder

Tabel 6: Haas

Datum	Start/Einde onderzoek	Soort	Personen	Zon op/ onder	Wind (Bft)	Temp. (°C)	Weer
04-03-24	18:00-19:30	Haas	2	18:00	2	10	Helder
17-06-24	21:45-23:45	Haas	2	22:00	1	16	Droog, helder

4 ONDERZOEKSRESULTATEN

De waarnemingen van de onderzoeksrondes die van belang zijn voor het onderzoek zijn visueel weergegeven op de kaarten in bijlage 1.

4.1 GROTE MODDERKRUIPER EN PLATTE SCHIJFHOREN

Eerste onderzoeksrunde eDNA onderzoek – 7 mei 2024

In watermonster 2009552 is eDNA van grote modderkruiper gedetecteerd. In de overige monsters is geen eDNA van zowel grote modderkruiper als platte schijfhoren gedetecteerd. Een overzicht van de resultaten van dit onderzoek wordt weergegeven in Tabel 7.

Tabel 7: Resultaten van de qPCR analyses van de watermonsters met 12 replica's

Monsternummer	Resultaat grote modderkruiper	Resultaat platte schijfhoren
27682	0/12	0/12
27685	0/12	0/12
2009617	0/12	0/12
2009669	0/12	0/12
2009624	0/12	0/12
2009552	7/12	0/12
2009668	0/12	0/12
2009627	0/12	0/12
27667	0/12	0/12
27674	0/12	0/12

Iedere analyse is uitgevoerd met behulp van 12 replica's. De resultaten worden weergegeven als het aantal 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 werden wel geamplificeerd. Dit geeft aan dat de analyse juist is uitgevoerd.

Tweede onderzoeksronde steeknetcontrole – 7 mei 2024

Op 7 mei is een steeknetcontrole uitgevoerd naar de aanwezigheid van grote modderkruiper in de watergang waar eerder eDNA van grote modderkruiper is vastgesteld. Bij de steeknetcontrole zijn geen waarnemingen van grote modderkruiper en platte schijfhoren gedaan.

Derde onderzoeksronde steeknetcontrole – 18 oktober 2024

Op 18 oktober is nog een steeknetcontrole uitgevoerd naar de aanwezigheid van grote modderkruiper in de watergang waar eerder eDNA van grote modderkruiper is vastgesteld. Bij de steeknetcontrole zijn geen waarnemingen van grote modderkruiper en platte schijfhoren gedaan.

Samenvatting grote modderkruiper en platte schijfhoren

Binnen de grenzen van het plangebied is grote modderkruiper aangetroffen met behulp van eDNA in één van de watergangen. De beoogde planontwikkeling heeft mogelijk een aantastend effect op het leefgebied van grote modderkruiper.

Tijdens de onderzoeksrondes zijn geen waarnemingen gedaan van platte schijfhoren. Negatieve effecten op platte schijfhoren zijn daarom uitgesloten.

4.2 RINGSLANG

Uitleggen herpetoplaten – 15 maart 2024

Op 15 maart zijn 42 herpetoplaten uitgelegd langs de structuurovergangen in het plangebied.

Vier onderzoeksrondes – 6 april, 13 mei, 14 augustus en 4 september 2024

Op 6 april, 13 mei, 14 augustus en 4 september zijn in totaal vier onderzoeksrondes uitgevoerd naar de aanwezigheid van ringslang in het plangebied. Daarbij zijn er geen waarnemingen en/of sporen van ringslang aangetroffen in het plangebied.

Samenvatting ringslang

Tijdens de onderzoeksrondes zijn geen waarnemingen gedaan van ringslang. Negatieve effecten op ringslang zijn daarom uitgesloten.

4.3 HEIKIKKER

Drie onderzoeksrondes 4 maart, 15 maart en 20 maart 2024

Op 4 maart, 15 maart en 20 maart zijn in totaal drie onderzoeksrondes uitgevoerd naar de aanwezigheid van heikikker in het plangebied. Daarbij zijn er geen waarnemingen van heikikker aangetroffen in het plangebied.

Samenvatting heikikker

Tijdens de onderzoeks rondes zijn geen waarnemingen gedaan van heikikker. Negatieve effecten op heikikker zijn daarom uitgesloten.

4.4 POELKIKKER

Eerste onderzoeksronde 2 mei 2024

Op 2 mei is de eerste onderzoeksronde naar poelkikker uitgevoerd. Tijdens deze ronde zijn geen waarnemingen gedaan van poelkikker. Binnen het plangebied waren tientallen roepende bastaardkikkers (*Pelophylax klepton esculentus*) te horen.

Tweede onderzoeksronde 15 mei 2024

Op 15 mei is de tweede onderzoeksronde naar poelkikker uitgevoerd. Tijdens deze ronde zijn opnieuw tientallen waarnemingen gedaan van bastaardkikker. Daarnaast zijn er vijf tot acht poelkikkers roepend waargenomen. De poelkikkers zaten met name aan de zuidelijke rand van het plangebied in de watergang tegen de Vaartweg aan. Daarnaast zijn twee poelkikkers roepend waargenomen meer noordelijk in het plangebied.

Derde onderzoeksronde 17 juni 2024

Op 17 juni is de derde onderzoeksronde naar poelkikker uitgevoerd. Tijdens deze ronde zijn opnieuw tientallen waarnemingen gedaan van bastaardkikker. Daarnaast zijn er zes poelkikkers roepend waargenomen. Vier poelkikkers zaten roepend aan de zuidelijke rand van het plangebied in de watergang tegen de Vaartweg aan. Daarnaast zijn twee poelkikkers roepend waargenomen net ten oosten van het plangebied richting Bunschoten.

Samenvatting poelkikker

Gedurende het onderzoek naar poelkikker is een kleine populatie poelkikker vastgesteld binnen het plangebied. De beoogde planontwikkeling heeft mogelijk een aantastend effect op het leefgebied van deze populatie poelkikker.

4.5 RUGSTREEPPAD

Eerste onderzoeksronde 2 mei 2024

Op 2 mei is de eerste onderzoeksronde naar rugstreeppad uitgevoerd. Tijdens deze ronde zijn tientallen waarnemingen gedaan van rugstreeppad ver buiten het plangebied. De waarnemingen van rugstreeppad waren op grote afstand ter hoogte van de Eem ten zuidwesten van het plangebied.

Tweede onderzoeksronde 15 mei 2024

Op 15 mei is de tweede onderzoeksronde naar rugstreeppad uitgevoerd. Tijdens deze ronde zijn geen waarnemingen gedaan van rugstreeppad.

Derde onderzoeksrunde 17 juni 2024

Op 17 juni is de derde onderzoeksrunde naar rugstreeppad uitgevoerd. Tijdens deze ronde zijn geen waarnemingen gedaan van rugstreeppad.

Samenvatting rugstreeppad

Tijdens de onderzoeksrondes zijn geen waarnemingen gedaan van rugstreeppad binnen het plangebied. Negatieve effecten op rugstreeppad zijn daarom uitgesloten.

4.6 HAAS

Eerste onderzoeksrunde 4 maart 2024

Op 4 maart is de eerste onderzoeksrunde naar haas uitgevoerd. Tijdens deze ronde zijn in totaal twaalf hazen aangetroffen, waarvan vijf in het plangebied. Zeven hazen foerageerde buiten het plangebied aan de oostzijde.

Tweede onderzoeksrunde 17 juni 2024

Op 17 juni is de tweede onderzoeksrunde naar haas uitgevoerd. Tijdens deze ronde zijn in totaal drie hazen aangetroffen binnen het plangebied.

Overige rondes

Op 15 maart tijdens de onderzoeksrunde naar heikikker zijn zes hazen aangetroffen in het plangebied. Op 20 maart tijdens de onderzoeksrunde naar heikikker zijn twee hazen aangetroffen binnen het plangebied. Op 6 april tijdens de onderzoeksrunde naar ringslang zijn in totaal tien hazen aangetroffen, waarvan vier binnen het plangebied. Op 15 mei tijdens de onderzoeksrunde naar poelkikker zijn drie hazen aangetroffen binnen het plangebied.

Samenvatting haas

Gedurende het onderzoek naar haas is een kleine populatie haas vastgesteld binnen het plangebied. De beoogde planontwikkeling heeft mogelijk een aantastend effect op het leefgebied van deze populatie.

5 CONCLUSIE EN CONSEQUENTIES

Aan de oostzijde van Eemdijk (gemeente Bunschoten, provincie Utrecht) liggen concrete plannen voor de nieuwbouw van woningen op agrarische gronden. Uit de eerder uitgevoerde quickscan flora en fauna (Natuurbank Overijssel, 2022) is gebleken dat het plangebied potentieel geschikt is voor verschillende wettelijk beschermde soorten. Aan de hand van de quickscan is er een nader ecologisch onderzoek uitgevoerd naar de volgende soorten/soortgroepen:

- Grote modderkruiper;
- Platte schijfhoren;
- Ringslang;
- Heikikker;
- Poelkikker;
- Rugstreeppad;
- Haas.

5.1 CONCLUSIES

Grote modderkruiper

Binnen de grenzen van het plangebied is grote modderkruiper aangetroffen met behulp van eDNA in één van de watergangen. De beoogde planontwikkeling heeft mogelijk een aantastend effect op het leefgebied van grote modderkruiper.

Platte schijfhoren

Tijdens de onderzoeksronde zijn geen waarnemingen gedaan van platte schijfhoren. Negatieve effecten op platte schijfhoren zijn daarom uitgesloten.

Ringslang

Tijdens de onderzoeksronde zijn geen waarnemingen gedaan van ringslang. Negatieve effecten op ringslang zijn daarom uitgesloten.

Heikikker

Tijdens de onderzoeksronde zijn geen waarnemingen gedaan van heikikker. Negatieve effecten op heikikker zijn daarom uitgesloten.

Poelkikker

Gedurende het onderzoek naar poelkikker is een kleine populatie (5-10) poelkikker vastgesteld binnen het plangebied. De beoogde planontwikkeling heeft mogelijk een aantastend effect op het leefgebied van deze populatie poelkikker.

Rugstreeppad

Tijdens de onderzoeksronde zijn geen waarnemingen gedaan van rugstreeppad binnen het plangebied. Negatieve effecten op rugstreeppad zijn daarom uitgesloten.

Haas

Gedurende het onderzoek naar haas is een kleine populatie (5-15) haas vastgesteld binnen het plangebied. De beoogde planontwikkeling heeft mogelijk een aantastend effect op het leefgebied van deze populatie. Het plangebied is onderdeel van het leefgebied van haas. Daarbij valt op te merken dat de omgeving van het plangebied ten noorden, oosten en zuiden omgeven is door (alternatief) leefgebied van haas.

5.2 CONSEQUENTIES

De beoogde nieuwbouwplannen hebben een aantastend effect op grote modderkruiper, poelkikker en haas. Voor de nieuwbouwplannen in Eemdijk-Oost is een Omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit nodig voor het aantasten van leefgebied van de hierboven genoemde soorten.

Daarnaast geldt een specifieke zorgplicht waarbij de initiatiefnemer alles moet doen wat in zijn macht licht om het doden en of verwonden van in het wild levende dieren te voorkomen. Het is raadzaam om maatregelen vast te leggen in een ecologisch werkprotocol om te voldoen aan de specifieke zorgplicht. Daarbij moeten er maatregelen worden genomen om het doden en of verwonden van dieren te voorkomen. Daarnaast moeten er maatregelen worden genomen om het leefgebied van deze voorkomende dieren zoveel mogelijk te herstellen/compenseren.

BIJLAGE 1 WAARNEMINGEN OP KAART



Legenda

- Aangetroffen eDNA grote modderkruiper
- Waarneming haas (met indicatief leefgebied in witte cirkel)
- Waarneming poelkikker

BIJLAGE 2 WETTELIJK KADER SOORTBESCHERMING

Soortenbescherming is altijd aan de orde, hiervoor is de Omgevingswet bepalend. De Omgevingswet is gericht op het duurzaam in stand houden van natuurlijke habitats en wilde flora en fauna in hun natuurlijke leefomgeving. Deze wet heeft de beschermingsregels, zoals die ook in de Europese Vogelrichtlijn en Habitatrichtlijn zijn opgenomen, overgenomen en voor de Nederlandse situatie toegepast.

Deze bescherming is, afhankelijk van het beschermingsregime, als volgt in de Omgevingswet opgenomen:

Vogelrichtlijn

- Artikel 11.37 lid 1 Bal: Het is verboden in het wild levende vogels opzettelijk te doden of te vangen.
- Artikel 11.38 lid 1 Bal: Het is verboden opzettelijk nesten, rustplaatsen en eieren van vogels te vernielen of te beschadigen, of nesten van vogels weg te nemen.
- Artikel 11.37 lid 1 Bal: Het is verboden eieren te rapen en deze onder zich te hebben.
- Artikel 11.37 lid 1 en 3 Bal: Het is verboden vogels opzettelijk te storen, tenzij de storing niet van wezenlijke invloed is op de staat van instandhouding van de desbetreffende vogelsoort.

Habitatrichtlijn, Bern bijlage II, Bonn bijlage I

- Artikel 11.46 lid 1 Bal: Het is verboden soorten in hun natuurlijke verspreidingsgebied opzettelijk te doden of te vangen.
- Artikel 11.46 lid 1 Bal: Het is verboden dieren opzettelijk te verstoren.
- Artikel 11.46 lid 1 Bal: Het is verboden eieren van dieren in de natuur opzettelijk te vernielen of te rapen.
- Artikel 11.46 lid 1 Bal: Het is verboden de voortplantingsplaatsen of rustplaatsen van dieren te beschadigen of te vernielen.
- Artikel 11.46 lid 1 Bal: Het is verboden plantensoorten in hun natuurlijke verspreidingsgebied opzettelijk te plukken en te verzamelen, af te snijden, te onwortelen of te vernielen.

Nationaal beschermde soorten

- Artikel 11.54 lid 1 Bal: Het is verboden soorten opzettelijk te doden of te vangen.
- Artikel 11.54 lid 1 Bal: Het is verboden de vaste voortplantingsplaatsen of rustplaatsen van dieren opzettelijk te beschadigen of te vernielen.
- Artikel 11.54 lid 1 Bal: Het is verboden plantensoorten in hun natuurlijke verspreidingsgebied opzettelijk te plukken en te verzamelen, af te snijden, te onwortelen of te vernielen.

Procedurele gevolgen

De procedurele consequenties zijn afhankelijk van de soorten die door de ingreep worden beïnvloed. Kortweg worden er drie beschermingsregimes onderscheiden:

- *Soorten van de Vogelrichtlijn:*
Dit betreffen alle vogelsoorten die in Nederland als broedvogel, standvogel, wintergast of doortrekker aanwezig kunnen zijn, met uitzondering van exoten en verwilderde soorten, zoals bedoeld in artikel 1 van de Vogelrichtlijn.
- *Soorten van de Habitatrichtlijn, het Verdrag van Bern en het Verdrag van Bonn:*
Dit zijn alle soorten in onderdeel A van bijlage IV van de Habitatrichtlijn inclusief bijlage II van het Verdrag van Bern en bijlage I van het Verdrag van Bonn, voor zover hun natuurlijke verspreidingsgebied zich in Nederland bevindt. In de bijlagen van de Verdragen van Bern en Bonn worden ook vogels genoemd.
- *Nationaal beschermde soorten:*
Dit zijn soorten die genoemd zijn in bijlage A van de Omgevingswet. Het betreft hier de bescherming van zoogdieren, amfibieën, reptielen, vissen, dagvlinders, libellen, kevers en vaatplanten voorkomend in Nederland.

Een project kan in strijd zijn met de Omgevingswet wanneer een ruimtelijke ingreep direct of indirect leidt tot het aantasten van verblijf- en/of rustplaatsen van de aangewezen, niet vrijgestelde beschermde soorten of hun leefgebied. Afhankelijk van de ingreep en de soort kan dan een omgevingsvergunning noodzakelijk zijn. Omgevingsvergunningen worden slechts verleend wanneer er geen andere bevredigende oplossing voor de ingreep bestaat, de ingreep vanwege een in de wet genoemd belang dient plaats te vinden en de gunstige staat van instandhouding van de soort niet in gevaar komt. Vaak worden hierbij mitigerende en compenserende maatregelen gevraagd.

Wettelijke belangen

Om een omgevingsvergunning te krijgen voor soorten van bijlage IV van de Habitatrichtlijn moet worden voldaan aan een van de volgende belangen:

- Ter bescherming van wilde flora en fauna en instandhouding van natuurlijke habitats.
- Wanneer de volksgezondheid en/of de openbare veiligheid in het geding is.
- Andere dwingende redenen van groot openbaar belang, met inbegrip van redenen van sociale of economische aard, en voor het milieu wezenlijk gunstige effecten.

Om een omgevingsvergunning te krijgen voor soorten van de Vogelrichtlijn moet worden voldaan aan een van de volgende belangen:

- Wanneer de volksgezondheid en/of de openbare veiligheid in het geding is.
- Wanneer de veiligheid van het luchtverkeer in het geding is.
- Ter bescherming van flora en fauna.

Voor nationaal beschermde soorten geldt:

- Er is sprake van een bij de wet genoemd belang.

BIJLAGE 3 LITERATUURLIJST

Broekhuizen, S., Spoelstra, K., Thissen, J.B.M., Canters, K.J. & Buys, J.C. (redactie), 2016. Atlas van de Nederlandse zoogdieren. Natuur in Nederland 12. Naturalis Biodiversity Center & EIS Kenniscentrum Insecten en andere ongewervelden, Leiden.

Limpens, H., K. Mosterd en W. Bongers, 1997. Atlas van de Nederlandse vleermuizen. Onderzoek naar verspreiding en ecologie. KNNV Uitgeverij, Utrecht.

Provincie Utrecht 2024. Concept onderzoeksprotocol naar aan- en afwezigheid van haas. Provincie Utrecht, Utrecht.

Leemreise, P. (2022). *Quickscan natuurwaardenonderzoek Kerkepad e.o. te Eemdijk*. Natuurbank Overijssel, Aalten.

Websites

BIJ12 (2023) Gierzwaluw. Kennisdocument. Geraadpleegd in juni 2024 van www.bij12.nl/assets/BIJ12-2017-006-Kennisdocument-Gierzwaluw-1.0.pdf. Utrecht.

BIJ12 (2023) Huismus. Kennisdocument. Geraadpleegd in juni 2024 van <https://www.bij12.nl/onderwerpen/natuur-en-landschap/kennisdocumenten-soorten-ontheffingen-wet-natuurbescherming/>. Utrecht.

Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat, 2024b. *Natura 2000 gebieden*. Geraadpleegd in juni 2024 van <https://www.atlasleefomgeving.nl/kaarten>

Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat, 2024a. *Natuurnetwerk Nederland (EHS)*. Geraadpleegd in juni 2024 van <https://www.atlasleefomgeving.nl/kaarten>

NDFF & RAVON, 2024c. NDFF Verspreidingsatlas Amfibieën. Geraadpleegd in juni 2024 van <https://www.verspreidingsatlas.nl/amfibieen>.

NDFF & RAVON, 2024d. NDFF Verspreidingsatlas Reptielen. Geraadpleegd in juni 2024 van <https://www.verspreidingsatlas.nl/reptielen>.

NDFF & VAATPLANTEN, 2024a. NDFF Verspreidingsatlas Vaatplanten. Geraadpleegd in juni 2024 van <https://www.verspreidingsatlas.nl/planten>.

NDFF & ZOOGDIEREN, 2024b. NDFF Verspreidingsatlas Zoogdieren. Geraadpleegd in juni 2024 van <https://www.verspreidingsatlas.nl/zoogdieren>.

PDOK Viewer (2024) PDOK. Geraadpleegd in juni 2024 van www.pdok.nl/viewer/#

IPLO.nl (2024). Geraadpleegd in juni 2024 van <https://iplo.nl/regelgeving/regels-voor-activiteiten/activiteiten-natuur/flora-en-fauna-activiteit/rijksregels/#h268ccba6-b8b8-4140-ae4-04939c317ada>

Netwerk Groene Bureaus, werkgroep 'Standaarden en protocollen' (2023)
Soortinventarisatieprotocollen in het kader van de Wet natuurbescherming, versie nov 2023

eDNA onderzoek
grote modderkruiper en platte schijfhoren



Colofon

Titel	eDNA onderzoek grote modderkruiper en platte schijfhoren
Tekst, foto's en samenstelling	Lindy Kool, Suzan Wellens-Roemaat
In opdracht van	Laneco B.V.
Naam opdrachtgever	Bas Borgers
Kenmerk opdrachtgever	Eemdijk oost
Rapportnummer	RA23259
Datum opstelling	04-6-2024
Aantal pagina's	8
Contactpersoon vanuit Datura	Lindy Kool
Wijze van citeren	Kool, L. & Wellens-Roemaat, S. 2024 eDNA. Rapport eDNA onderzoek grote modderkruiper en platte schijfhoren RA23259, Datura Molecular Solutions BV, Wageningen



Datura Molecular Solutions BV

Gevestigd te:

Agro Business Park 10
6708 PW Wageningen
Nederland

+31(0)6 18441781
www.datura.nl
lindy.kool@datura.nl

Inhoudsopgave

1. Doelstelling.....	4
2. Methode.....	4
2.1 Bemonstering.....	4
2.2 Laboratoriumanalyse	5
2.3 Kwaliteitswaarborging	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

1. Doelstelling

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

2. Methode

2.1 Bemonstering

De bemonstering is uitgevoerd door medewerkers van Datura Molecular Solutions B.V. volgens gestandaardiseerde protocollen van Datura (opvraagbaar). Er zijn 10 watermonsters verzameld en aangeleverd aan het laboratorium van Datura. Deze code is tezamen met de locatie van monstername te vinden in Figuur 1. De monsters zijn verzameld op 7 mei 2024.



Figuur 1. Trajecten watermonsters grote modderkruiper en platte schijfhoren Eemdijk Oost

2.2 Laboratoriumanalyse

De watermonsters zijn getest op de aanwezigheid van eDNA van grote modderkruiper en platte schijfhoren. 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 geïnhibeed 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 geïnhibeed 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 geïnhibeed 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 gevoeliger 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

In watermonster 2009552 is eDNA van grote modderkruiper gedetecteerd. In de overige monsters is geen eDNA van zowel grote modderkruiper als platte schijfhoren 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 werden 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	Resultaat grote modderkruiper	Resultaat platte schijfhoren
27682	0/12	0/12
27685	0/12	0/12
2009617	0/12	0/12
2009669	0/12	0/12
2009624	0/12	0/12
2009552	7/12	0/12
2009668	0/12	0/12
2009627	0/12	0/12
27667	0/12	0/12
27674	0/12	0/12