

## Notitie

---

Onderwerp: Actualisatie verkennend natuuronderzoek soortenbescherming De Ruiting 2B Esch

Projectnummer: 364141

Referentienummer:

Datum: 17-05-2021

---

## 1 Inleiding

### 1.1 Aanleiding

In het kader van het project RvR locatie De Ruiting 2B in Esch moet rekening worden gehouden met het huidige voorkomen van op grond van de Wet natuurbescherming beschermde soorten. In 2019 heeft Tritium Advies in dit kader een quick scan voor de Flora en fauna uitgevoerd. De provincie Noord-Brabant heeft de initiatiefnemer gevraagd om een update van het rapport te verzorgen voor het onderdeel soortenbescherming. In overleg is besloten om geen nieuw rapport te maken, maar om een oplegnotitie te verzorgen, die bij de quick scan flora en fauna van 2019 kan worden gevoegd. In deze oplegnotitie komen de volgende zaken aan de orde:

- Aanpak van de actualisatie (gebruikte methoden);
- Resultaten van de actualisatie;
- Korte beoordeling of de actualisatie aanleiding is voor een aanpassing van de quick scan flora en fauna uit 2019 door Tritium, waarbij een eventuele aanpassing een onderdeel vormt van deze oplegnotitie.

### 1.2 Aanpak actualisatie

De aanpak is tweeledig. Enerzijds betreft dit een bronnenonderzoek, anderzijds een oriënterend veldbezoek. Figuur 1 geeft een beeld van het begrensde plangebied. Het plangebied is op 24 februari 2021 tussen 10.00 – 14.00 bezocht door deskundig ecooloog dhr. J. [REDACTED]. Op basis van dit oriënterend veldbezoek is het plangebied beoordeeld op geschiktheid van biotopen voor beschermde soorten. Deze beoordeling brengt samen met het bronnenonderzoek de beschermde soorten(groepen) in beeld die in het plangebied (kunnen) voorkomen.

Het bronnenonderzoek heeft als doel een overzicht te verkrijgen van de beschikbare informatie met betrekking tot het voorkomen van beschermde soorten in het plangebied en omgeving. Hiervoor zijn onder andere landelijke (digitale) verspreidingsatlassen (waaronder de NDFF-Verspreidingsatlas ([www.verspreidingsatlas.nl](http://www.verspreidingsatlas.nl))), regionale verspreidingsatlassen en voorgaande onderzoeken geraadpleegd. Ook is data direct uit de Nationale Databank Flora en Fauna (NDFF) gebruikt, uit de afgelopen 5 jaar.



*Figuur 1. Begrenzing (rode omlijning) plangebied De Ruiting 2B te Esch.*

Een impressie van de huidige inrichting van het plangebied is weergegeven aan de hand van enkele foto's, welke zijn weergegeven in figuur 2.



*Figuur 2. Impressie huidige inrichting De Ruiting 2B te Esch.*

## 2 Resultaten en analyse

### 2.1 Vaatplanten

#### *Resultaten*

Uit bestaande gegevens zijn geen nieuwe waarnemingen bekend, die duiden op een (mogelijke) recente vestiging van beschermde vaatplanten. Tijdens het oriënterend veldbezoek op 24 februari 2021 is gelet op geschikte groeiplaatsen van hogere beschermde planten. Vergelijkbaar met de bevindingen uit het onderzoek van Tritium (2019) is echter geen nieuw geschikt biotoop voor beschermde flora aangetroffen. Het plangebied bestond in 2019 grotendeels nog uit bebouwing met een voedselrijk karakter. In de huidige situatie betreft dit een meer open voedselrijk en sterk verstoord grasland.

#### *Effectanalyse*

De huidige inrichting van het plangebied omvat geen geschikt biotoop voor beschermde vaatplanten. Derhalve is er geen noodzaak voor vervolgonderzoek.

### 2.2 Vogels

#### *Resultaten*

Uit bestaande gegevens zijn geen nieuwe waarnemingen bekend die duiden op een recente vestiging van vogels met jaarrond beschermde verblijfplaatsen. Tijdens het oriënterend veldbezoek op 24 februari 2021 is gelet op de aanwezigheid van oude nesten, prooiresten, danwel andere aanwijzingen die indicatief zijn voor de aanwezigheid van jaarrond leefgebied voor vogels.

In tegenstelling tot de inrichting ten tijde van het onderzoek door Tritium in 2019, ontbreekt nog enige vorm van bebouwing binnen het plangebied. Destijds zijn sporen binnen de toenmalige bebouwing aangetroffen, die duiden op een verblijfplaats van de kerkuil. Ten gevolge van de ongelukkige vroegtijdige sloop in 2019 is mogelijk sprake geweest van aantasting van een verblijfplaats. Na melding door de initiatiefnemer zijn hiervoor in goed overleg met het ODBN, passende maatregelen getroffen in de omgeving van het plangebied. In de huidige situatie ontbreekt een aanleiding om nog verblijfplaatsen van de kerkuil te verwachten binnen het plangebied. De bestaande inrichting van het plangebied is in beperkte mate geschikt als leefgebied en niet van essentieel belang voor de soort.

Tijdens het oriënterend veldbezoek zijn diverse algemeen voorkomende broedvogels waargenomen, waaronder winterkoning, pimpelmees, groene specht, koolmees en houtduif. Binnen het plangebied zelf ontbreken geschikte nestlocaties voor vogels met jaarrond beschermde nesten. De inrichting van het plangebied is beperkt geschikt als leefgebied voor de buizerd. Gelet op de territoriumgrootte van de soort en de aanwezigheid van vergelijkbaar biotoop in de omgeving, is het plangebied niet van essentieel belang.

Het is aannemelijk dat onder het dak van het elektriciteitshuisje (zie figuur 3) ten noorden van de het plangebied zich een verblijfplaats bevindt van een paartje huismussen. Een territoriale man was duidelijk zichtbaar vanaf de rand van de dakgoot. Enkele tientallen huismussen waren eveneens duidelijk zicht- en hoorbaar aanwezig langs de bestaande erfinrichting en paardenweides van de burens ten noorden van het plangebied.



*Figuur 3. Elektriciteitshuisje ten noorden van het plangebied*

#### *Effectanalyse*

Met de voorgenomen inrichting zal geen essentieel leefgebied voor de buizerd worden aangetast en blijft de gunstige staat van instandhouding voor de soort onveranderd. Bovendien zal een deel van het plangebied worden ingericht als hoogwaardige natuurlijk grasland en bomen worden aangeplant hetgeen het prooiaanbod en nestgelegenheid voor de soort zal verhogen.

Het huidige leefgebied van de huismus is sterk begrensd, waarbij de scheiding tussen het leefgebied ten noorden van het plangebied sterk scheidt van de bestaande inrichting van het plangebied zelf. Binnen het plangebied ontbreekt namelijk het typisch kleinschalige karakter met voldoende dekking, zaad- en besdragende vegetatie en rommelige insectenrijke hoekjes. Met de voorgenomen ontwikkeling tot natuur, groen en wonen is geen noodzaak tot sloop van het elektriciteitshuisje, waardoor mogelijke verblijfplaatsen en het actueel leefgebied van de huismus behouden blijven. De toekomstige omvorming van het plangebied naar natuur, groen en wonen zal geen negatief effect hebben op de gunstige staat van instandhouding van de aanwezige huismuspopulatie. Het is zelfs aannemelijk dat met de herinrichting tot wonen, tuin, groen en natuur het kleinschalige karakter van het plangebied wordt vergroot en het leefgebied van de soort zich zal vergroten. Men dient wel rekening te houden met mogelijke verstoring van de huismus als broedvogel gedurende de broedtijd van de soort van maart tot half juli, vergelijkbaar met overige zangvogels.

Aanwezige kleine zangvogels bevinden zich met name in de verschillende bomenrijen met relatief jonge beuken, essen, eiken, wilgen en enkele zwarte elzen. Met name geconcentreerd langs de watergangen en perceelsgrenzen. Het is aannemelijk dat voornamelijk op deze plekken broedvogels worden aangetroffen gedurende het broedseizoen. Het broedseizoen duurt van ongeveer half maart tot half juli. Dit kan echter afwijken, gelet op fluctuaties van weersomstandigheden.

### **2.3 Grondgebonden zoogdieren**

#### *Resultaten*

Waarnemingen van beschermde grondgebonden zoogdieren binnen het plangebied en directe omgeving ontbreken. Recent (2020) is de das vastgesteld op landgoed Eikenhorst ten noordwesten van Esch en zijn oudere waarnemingen bekend langs de Bosscheweg en andere kant van de rijksweg A2 op enkele kilometers afstand tot het plangebied. Daarnaast



is het voorkomen van reeën en de bever (in en rondom de bypass van de Essche stroom) bekend uit de Halsche beemden op enkele kilometers afstand tot het plangebied.

Tijdens het oriënterend veldbezoek zijn graafsporen aangetroffen die duiden op actueel leefgebied van de mol binnen het plangebied. Op naastgelegen graspercelen zijn tevens een tweetal hazen waargenomen. Er zijn geen mest-, snuitputjes, burchten of duidelijke wissels vastgesteld die duiden op aanwezigheid van de das binnen of in de directe omgeving van het plangebied. Uit het onderzoek door Tritium in 2019 volgt het vermoeden dat de steenmarter zich op het terrein bevindt. Gelet op de aanwezige bebouwing destijds, is dit begrijpelijk. In de huidige situatie is de kans echter zeer klein dat het plangebied nog actueel leefgebied vormt voor de steenmarter. Geschikte verblijfplaatsen ontbreken, vanwege het ontbreken van bebouwing of structuren die voldoende dekking bieden als verblijfplaats. Mogelijkerwijs gebruikt zo nu en dan de steenmarter nog wel de aanwezige dekking langs watergangen om zich te verplaatsen binnen het leefgebied. Geschikte verblijfplaatsen van de soort bevinden zich voornamelijk in en rondom (oude) bebouwing in de omgeving van het plangebied. Het plangebied biedt echter geen essentieel leefgebied.

Voor de wezel en bunzing vormt de begroeide watergang langs de oostzijde geschikt leefgebied. Voor beide soorten geeft de houtige beplanting dekking, geleiding en foerageergelegenheid. Het overgrote deel van het plangebied betreft een open terrein, hetgeen nauwelijks waarde heeft voor beide soorten aan dekking. Tevens zijn vrijwel geen sporen aangetroffen van een goed ontwikkelde muizenpopulatie, hetgeen van groot belang is voor de wezel. Voor de bunzing is dit vergelijkbaar, al is het dieet wat gevarieerder. Doch ook voor de bunzing is de bestaande inrichting van het plangebied een schraal contrast in vergelijking met het kleinschalige karakter van de omgeving.

Het plangebied vormt geen geschikt biotoop voor de bever. Ook de nabijgelegen Essche stroom biedt voornamelijk geen geschikt biotoop vanwege het gebrek aan voldoende oeverbeplanting. Bovendien ontbreekt enige ecologische relatie tussen de Essche stroom met de voorgenomen planvoornemens binnen het plangebied.

#### *Effectbepaling*

Effecten vanuit het planvoornemen op beschermde grondgebonden zijn beperkt tot de mol. De mol is beschermd, doch vrijgesteld van ontheffingsplicht inzake de Wet natuurbescherming bij ruimtelijke ingrepen. De Zorgplicht is echter wel van toepassing.

Met de voorgenomen planontwikkeling blijft het plangebied onverminderd passeerbaar voor de steenmarter, bunzing en wezel. Gelet op de voornemens tot ontwikkeling van het aanwezige cultuurlandschap met ruimte voor natuur en inzet van diverse landschapselementen is het zelfs aannemelijk dat het leefgebied voor deze soorten wordt vergroot. De gunstige staat van instandhouding van de betreffende soorten is hierdoor niet in het geding.

## **2.4 Vleermuizen**

#### *Resultaten*

Uit bestaande gegevens zijn geen nieuwe waarnemingen van vleermuizen bekend binnen het plangebied. In tegenstelling tot de situatie in 2019 ontbreekt bebouwing in de huidige situatie. Verblijfplaatsen in bebouwing zijn dan ook op voorhand uitgesloten. De aanwezige bomen zijn opnieuw visueel gecontroleerd op invliegopeningen, scheuren en loshangende bast. Hierbij zijn geen geschikte openingen vastgesteld, die toegang geven tot potentiële verblijfplaatsen. De aanwezige bomen(rijen) blijven bovendien behouden. Dit zal overigens

ook niet leiden tot het verlies van lijnvormige elementen die kunnen dienen als vliegroute voor vleermuizen. Het open karakter met zeer beperkte ondergroei en beperkte variatie biedt nauwelijks foerageergelegenheid voor vleermuizen. Essentieel leefgebied ontbreekt voor de soortgroep.

#### *Effectbepaling*

De voorgenomen planontwikkeling leidt niet tot negatieve effecten op het essentiële leefgebied van vleermuizen. De herinrichting naar de beoogde combinatie van wonen, groen en natuur met landschapselementen als overhoekjes, natuurlijk grasland en struweel biedt een kwaliteitsimpuls voor vleermuizen. De gunstige staat van instandhouding van vleermuizen is hierdoor niet in het geding.

## **2.5 Amfibieën, reptielen en vissen**

#### *Resultaten*

Uit bestaand gegevens blijkt het voorkomen van amfibieën, zoals de bruine kikker, gewone pad en bastaardkikker uit de omgeving van het plangebied. Tevens zijn waarnemingen op enige afstand bekend van de kamsalamander uit het recreatiegebied Noenes en een tweetal poelen aan de Essche baan nabij De Langspier. Beide locaties liggen op een afstand van ca. 1,5 km tot het plangebied. Waarnemingen van beschermde reptielen en vissen ontbreken binnen het plangebied en de directe omgeving.

Tijdens het oriënterend veldbezoek zijn watergangen beoordeeld op geschiktheid voor amfibieën en vissen. Deze blijken nauwelijks een toegevoegde waarde te vormen als leefgebied voor de bovengenoemde algemeen voorkomende soorten (bruine kikker, gewone pad, bastaardkikker) uit de directe omgeving. De in het zuidwesten van het plangebied gelegen waterpartij kwalificeert wel als voortplantingswater voor bovengenoemde soorten, evenals de kleine watersalamander, kamsalamander en alpenwatersalamander. Deze waterpartij ligt vrij toegankelijk, is vrij van vis, half beschaduwd en ligt met name omgeven door oud cultuurlandschap met andere (geschikte) poelen binnen migratiebereik van genoemde soorten.

Het plangebied kwalificeert niet als geschikt leefgebied voor reptielen gelet op het ontbreken van geschikt typisch biotoop zoals open door zon beschenen bosranden of heischrale bermen. Voor beschermde vissen ontbreken geschikte waterpartijen, zoals oude brede watergangen met een geschikte oever in een verlandingsstadium of stromend water.

#### *Nader onderzoek beschermde amfibieën*

Op 24 maart 2021 zijn watermonsters genomen voor eDNA onderzoek om te bepalen welke amfibieën binnen het plangebied voorkomen. De watermonsters zijn door Datura onderzocht op het mogelijk voorkomen van alpenwatersalamander, kamsalamander en overige amfibieën. Uit nadere analyse blijkt het voorkomen van de gewone pad, bruine kikker en kleine watersalamander er zijn geen aanwijzingen voor het voorkomen van de alpenwatersalamander en kamsalamander.

#### *Effectbepaling*

Uit onderzoek blijkt het voorkomen van gewone pad, bruine kikker en kleine watersalamander binnen het plangebied. De betreffende soorten zijn eenieder beschermd conform art. 3.10 van de Wet natuurbescherming. Echter, voor betreffende soorten geldt bovendien dat deze zijn vrijgesteld van ontheffingsplicht inzake Wet natuurbescherming bij ruimtelijke ingrepen. Wel geldt bij onverhoopt voorkomen de Zorgplicht, waarbij effecten tot

een minimum beperkt dienen te blijven. Er is geen noodzaak voor het nemen van nadere vervolgstappen. In de bijlage zijn de resultaten van het eDNA onderzoek weergegeven.

## **2.6 Overige beschermde soorten**

### *Resultaten*

Uit bestaande gegevens zijn geen nieuwe waarnemingen bekend van overige beschermde soorten binnen het plangebied. De voedselrijke inrichting geeft geen aanleiding om te verwachten dat zich bijvoorbeeld beschermde ongewervelden binnen het plangebied bevinden. Veelal stellen ongewervelden (zeer) specifieke eisen aan hun leefomgeving, waaronder kalkrijk en schrale of zure omstandigheden, andere soorten of waardplanten. Deze typische kenmerken ontbreken binnen de invloedssfeer van het planvoornemen.

### *Effectbepaling*

Het plangebied bestaat uit een open voedselrijk milieu wat niet direct aanleiding geeft om overige beschermde soorten te verwachten. Typische (waard)planten ontbreken. Nadere vervolgstappen zijn niet noodzakelijk.

## **3 Conclusie**

Er is geen aanleiding om de grote lijn in de conclusies van het onderzoek door Tritium uit 2019 te herzien. De conclusie ten aanzien van soortenbescherming inzake Wet natuurbescherming blijft grotendeels intact. Ten aanzien van de mogelijke aantasting van een verblijfplaats van de kerkuil heeft in 2020 de nodige afstemming met bevoegd gezag plaats gevonden. In goed overleg zijn hiervoor passende maatregelen getroffen.

Er dient alleen een nuancering ten aanzien van beschermde amfibieën te worden aangebracht. Voor de alpenwatersalamander en kamsalamander is nader onderzoek uitgevoerd om aanwezigheid van beide soorten te kunnen bepalen. Beide soorten blijken echter niet te zijn aangetroffen, waardoor negatieve effecten zijn uitgesloten. Er is geen noodzaak voor het nemen van aanvullende stappen.

## Verantwoording


Titel Actualisatie verkennend natuuronderzoek  
soortenbescherming De Ruiting 2B Esch

Projectnummer 364141

Referentienummer

Revisie D1.0

Datum 17-05-2021

Auteur 

E-mailadres 

Gecontroleerd door 

Paraaf gecontroleerd 

Goedgekeurd door 

Paraaf goedgekeurd 



## Bijlage 1 eDNA onderzoek amfibieën



**Datura**  
molecular solutions in ecology

## eDNA onderzoek amfibieën



## Colofon

Titel	eDNA onderzoek amfibieën
Tekst, foto's en samenstelling	Robbert van Himbeek, Kees van Bochove
In opdracht van	Sweco Nederland B.V.
Naam opdrachtgever	Jody Ettema
Rapportnummer	RA21018
Datum oplevering rapport	12-05-2021
Aantal pagina's	7
Wijze van citeren	Van Himbeek, R., van Bochove, K. 2021, eDNA onderzoek amfibieën, Datura Molecular Solutions, Wageningen.
Laboratorium analist	J. Rook



### Datura Molecular Solutions BV

*Gevestigd te:*

Agro Business Park 10  
6708 PW Wageningen

0031(0)618441781

[www.datura.nl](http://www.datura.nl)

[robert.vanhimbeek@datura.nl](mailto:robert.vanhimbeek@datura.nl)

# Inhoudsopgave

1. Doelstelling.....	4
2. Methode.....	4
2.1 Bemonstering .....	4
2.2 Laboratorium analyse .....	4
2.3 Data-analyse .....	5
3. Resultaten.....	7

# 1. Doelstelling

Het doel van dit onderzoek was om een overzicht van de voorkomende amfibie soorten in een poel te genereren middels eDNA metabarcoding. Hiervoor is een eDNA watermonster verzameld. Dit onderzoek is uitgevoerd in opdracht van Sweco Nederland B.V.

## 2. Methode

### 2.1 Bemonstering

De bemonstering is uitgevoerd door Sweco Nederland B.V. en in totaal is er 1 watermonster (code: 23882) aangeleverd aan het laboratorium van Datura.

### 2.2 Laboratorium analyse

Het watermonster is geanalyseerd op de aanwezigheid van eDNA van amfibieën. Het analyseren van een dergelijk eDNA-monster vindt plaats in een aantal stappen. Eerst wordt het DNA uit een monster geconcentreerd en gezuiverd. Vervolgens wordt DNA geamplificeerd (vermeerderd) met behulp van PCR. De PCR-fragmenten zijn gezuiverd en een DNA library is voorbereid. De library is gesequenced met behulp van Next Generation Sequencing (Novaseq 6000).

#### **Analyse stappen:**

1. Het DNA is uit het watermonster geëxtraheerd. Storende stoffen zoals humuszuren kunnen detectie van het eDNA inhiberen wat kan leiden tot vals negatief resultaat. Gedurende de DNA-extractie zijn deze inhiberende stoffen zo veel mogelijk verwijderd. De DNA-extractie is uitgevoerd middels een phenol-chloroform extractie.
2. Het DNA is geamplificeerd middels PCR waarbij een primerset is gebruikt die zeer efficiënt het DNA van amfibieën amplificeert. De primers bevatten ieder een unieke tag (7 nucleotiden). Gedurende de bioinformatica analyse kunnen de reads aan de hand van deze tags toegewezen worden aan het juiste monster. De PCR is uitgevoerd met behulp van de TaqMan® Environmental Mastermix 2.0 (Life Technologies®). De PCR is uitgevoerd met 12 replica's. De PCR-producten van de 12 replica's zijn samengevoegd.
3. Door middel van gelelektroforese is vastgesteld of de PCR geresulteerd heeft in PCR-producten van de juiste lengte. Middels van een tweede PCR zijn Illumina Nextera XT adaptors aan de PCR-producten gezet. Vervolgens zijn de PCR-producten samengevoegd. De pool van PCR-producten van verschillende samples is gezuiverd. Deze pool van PCR-producten vormen de zogenaamde DNA library, wat gebruikt wordt om het DNA te sequencen.
4. De PCR-producten zijn gesequenced met behulp van Next Generation Sequencing (Illumina Novaseq 6000 platform, 150 bp paired-end). Hierbij worden miljoenen stukjes (zogenaamde reads) van het DNA uitgelezen. In deze stap wordt het fysieke DNA in het buisje dus vertaald in digitale reads.



## 2.3 Data-analyse

Eerst is een standaard verwerking van Illumina paired-end data uitgevoerd. Deze omvat de volgende stappen:

1. FASTQ sequence files zijn gegenereerd met behulp van de Illumina Casava pipeline.
2. Een eerste kwaliteitscheck is uitgevoerd door middel van Illumina Chastity filtering.
3. Vervolgens zijn reads welke PhiX controle bevatten verwijderd.
4. (Restanten van) de sequencing adapters zijn uit de reads geknipt.
5. De kwaliteit van de overgebleven reads is getest met de FastQC tool.

Vervolgens worden de sequenties geanalyseerd met behulp van het software package Obitools. Deze pipeline resulteert uiteindelijk in een tabel waarin voor elk sample aangegeven is hoeveel reads er van elke soort gedetecteerd zijn. Omdat er behoorlijke rekenkracht nodig is voor het verwerken van de sequencing data wordt een workstation gebruikt welke beschikt over 40-core processoren met hyper-threading en 512 Gb Ram-geheugen. De volgende stappen zijn doorlopen:

1. **Illuminapairedend**: Genereren van een consensus sequentie op basis van de forward en reverse read.
2. **Obigrep**: sequenties die niet alligned werden zijn verwijderd.
3. **NGSfilter**: Op basis van de gebruikte primers, en de tags die toegevoegd zijn in de eerste stappen, zijn alle sequenties toegewezen aan het corresponderende sample.
4. **Obiuniq**: Om de dataset die nu nog bestaat uit miljoenen reads hanteerbaarder te maken zijn alle identieke sequenties binnen een sample samengevoegd.
5. **Obigrep**: Bepaalde sequenties worden verwijderd omdat dit sequencing fouten betreffen.
6. **Obiuniq**: Alle sequenties (ook van de verschillende monsters) worden samengevoegd.
7. **Ecotag**: De Ecotag tool wordt gebruikt om de sequenties te matchen met de referentie database. Deze database is opgebouwd op basis van referentie monsters die verzameld zijn door Datura, en aangevuld met DNA-sequenties afkomstig van museumvouchers.
8. **Obiclean**: Vervolgens is obiclean tool gebruikt om sequencingfouten en PCR-fouten als zodanig te labelen. In de basis wordt elke waarneming het label 'singleton' (=op zichzelf staand) meegegeven. Sequentie A wordt vervolgens als 'internal' (=fout) aangemerkt als sequentie A slechts beperkt afwijkt van sequentie B, en als sequentie A aanzienlijk minder voorkomt dan sequentie B. Sequentie B wordt vervolgens aanmerkt als 'head' (correcte sequentie).

Obiclean is 4 maal uitgevoerd, met de volgende instellingen:

1.  $r=0,05$  en  $d=1$
2.  $r=0,005$  en  $d=2$
3.  $r=0,001$  en  $d=3$
4.  $r=0,0005$  en  $d=4$

Hierbij staat 'r' voor het percentage dat sequentie A maximaal mag voorkomen ten opzichte van B. En 'd' staat voor het aantal verschillen tussen sequentie A en B.

9. **Obitab:** Tenslotte worden de resultaten geëxporteerd naar een .tab file.

Het vervolg van de pipeline is geprogrammeerd in Python waarin de .tab files worden samengevoegd, met als resultaat de voorkomende taxa per monster.

### 3. Resultaten

Tabel 1 geeft een overzicht van de read fracties van de gevonden amfibie soorten. Binnen één monster beschrijft deze fractie het relatieve aandeel aangetroffen DNA ten opzichte van de totale hoeveelheid DNA van amfibieën in dat monster. Door deze waarden met 100 te vermenigvuldigen, worden percentages verkregen die weergeven welk % van het aangetroffen DNA in het monster afkomstig was van de desbetreffende soort. In theorie is het mogelijk dat in de PCR het DNA van de ene soort efficiënter vermeerderd wordt dan het DNA van een andere soort. Als gevolg daarvan kunnen er 'afwijkingen' ontstaan binnen een monster wat betreft de relatieve percentages. Uit onze ervaring blijkt echter dat deze afwijking doorgaans niet groot is en dus bij relatief grote verschillen (bijv. Soort A 60% en soort B 10 %) is het aannemelijk dat van soort A meer DNA aanwezig was in het monster dan van soort B. Indien de verschillen klein zijn (bijv. soort A 5% en soort B 3%), is het advies om voorzichtiger te zijn met conclusies over de relatieve hoeveelheden aangetroffen DNA. Deze relatieve fracties zijn op dit moment nog niet te relateren aan absolute aantallen of biomassa.

In het monster is DNA van 3 soorten amfibieën aangetroffen: kleine watersalamander (*Lissotriton vulgaris*), gewone pad (*Bufo bufo*) en bruine kikker (*Rana temporaria*).

**Tabel 1: fracties van de amfibie soorten op basis van amfibie reads.**

Soort	23882
<i>Lissotriton vulgaris</i>	0,5392
<i>Bufo bufo</i>	0,0095
<i>Rana temporaria</i>	0,4513

*Bij verdere vragen over de interpretatie van metabarcoding resultaten, neem gerust contact op met Robbert van Himbeek:*

**tel:** +31 6 18 44 17 81

**email:** [robbert.vanhimbeek@datura.nl](mailto:robbert.vanhimbeek@datura.nl)