

**SOORTGERICHT ONDERZOEK
NAAR WATERSPITSMUIS
PLAS VAN BUIJSEN
TE PIJNACKER**



SOORTGERICHT ONDERZOEK
NAAR WATERSPITSMUIS
PLAS VAN BUIJSEN
TE PIJNACKER

Colofon

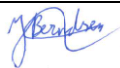


Opdrachtgever: Gemeente Pijnacker-Nootdorp
Oranjeplein 1
2641EZ Pijnacker

Adviesbureau: VanderHelm Milieubeheer B.V.
Nobelsingel 2
2652 XA Berkel en Rodenrijs
010 -249 24 60
info@vdhelm.nl www.vdhelm.nl

Projectfoto's: Dhr. M. Loeve

© VanderHelm Milieubeheer B.V.

Projectcode: 20170971

Verantwoording	Status / versie	Definitief
	Datum	27-11-2017
Auteur	Dhr. ing. J. Berndsén	
Kwaliteitscontrole	Mevr. M. Kortlever-Boer MSc.	
Vrijgave	Dhr. ing. A.A. Heijboer	

INHOUDSOPGAVE

1. INLEIDING	3
1.1 AANLEIDING	3
1.2 DOELSTELLING	3
1.3 DESKUNDIGHEID	3
1.4 KWALITEITSBORGING.....	4
1.5 VERANTWOORDING	4
2. PROJECTGEBIED	5
2.1 HUIDIGE SITUATIE	5
2.2 TOEKOMSTIGE SITUATIE, WERKZAAMHEDEN EN PLANNING.....	5
2.3 RESULTATEN EERDER UITGEVOERD ECOLOGISCH ONDERZOEK	6
2.4 ONTHEFFING TIJDELIJKE NATUUR	7
3. METHODE	8
3.1 ENVIRONMENTAL DNA	8
3.2 WATERSPITSMUIS.....	8
3.2 OVERZICHT BEZOEKEN EN WEERGEDEVENS	9
4. ONDERZOEKSRISULTATEN, INTERPRETATIE EN TOETSING AAN WETGEVING	10
4.1 ONDERZOEKSRISULTATEN	10
4.2 TOETSING AAN WETGEVING	10
5. CONCLUSIES	11
5.1 CONCLUSIES	11
5.2 VERVOLGSTAPPEN	11
5.3 INTERPRETATIE WET NATUURBESCHERMING	11
REFERENTIELIJST	12

BIJLAGEN

1. REGIONALE SITUATIEKAART
2. WETTELIJKE EN BESTUURLIJKE KADERS NATUURBESCHERMING
3. ONTHEFFING TIJDELIJKE NATUUR Besluit (FF/75C/2014/0543.toek.bl)
4. TEKENING VOORBELASTING EN VOORLOPIG VERKAVELINGSPLAN
5. LAB RESULTATEN EDNA ANALYSE



1. INLEIDING

VanderHelm Milieubeheer B.V. te Berkel en Rodenrijs heeft van gemeente Pijnacker-Nootdorp opdracht gekregen voor het uitvoeren van een soortgericht onderzoek naar waterspitsmuis ter plaatse van de Plas van Buijsen (Keizershof deelgebied 2) te Pijnacker.

1.1 AANLEIDING

Aanleiding tot dit soortgericht onderzoek zijn de geplande werkzaamheden, de ontheffing Tijdelijke Natuur (Besluit FF/75C/2014/0543.toek.bl) en het resultaat uit de ecologische inspectie (VanderHelm Milieubeheer B.V., kenmerk 20170971, d.d. 10-07-2017).

Het projectgebied maakt onderdeel uit van Keizershof, een terrein waar in de toekomst huizen worden gebouwd. Voor dit projectgebied is op 14 augustus 2015 een ontheffing Tijdelijke Natuur afgegeven door het Ministerie van Economische Zaken (bijlage 3). De ontheffing is afgegeven voor o.a. Met de start van de werkzaamheden komt een einde aan de tijdelijke natuur die zich de afgelopen tijd op het terrein kon ontwikkelen. Conform de ontheffing (voorschrift 10) moet voorafgaand aan de start van de werkzaamheden bepaald worden of er beschermde soorten aanwezig zijn in het gebied.

Uit de ecologische inspectie (VanderHelm Milieubeheer B.V., kenmerk 20170971, d.d. 10-07-2017) blijkt dat in het projectgebied mogelijk nesten, voortplantingsplaatsen en rustplaatsen van (beschermde) flora- en faunasoorten aanwezig zijn waaronder de waterspitsmuis. Hierdoor is bij de uitvoering van de werkzaamheden kans op overtreding van de Wet natuurbescherming. Om dit te voorkomen dient eerst uitgezocht te worden of de verwachte soorten aanwezig zijn in het projectgebied en zo ja, of deze nadelig beïnvloed worden door de werkzaamheden.

Deze rapportage is alleen van toepassing op het soortgericht onderzoek naar de waterspitsmuis. De onderzoeken naar overige beschermde soorten die in het gebied verwacht worden dienen nog gestart of afgerond te worden en worden in andere rapporten beschreven.

1.2 DOELSTELLING

Doel van dit soortgericht onderzoek is het uitsluiten dan wel aantonen van de aanwezigheid van waterspitsmuis in het projectgebied. Vervolgens wordt bepaald welke vervolgstappen in het kader van de Wet natuurbescherming noodzakelijk zijn. Overige beschermde soorten die mogelijk in het projectgebied voorkomen worden niet behandeld in dit rapport.

1.3 DESKUNDIGHEID

De ingezette ecologen voldoen aan ten minste één van de door het Ministerie van Economische Zaken, zie box 1, genoemde voorwaarden en zijn daarmee gekwalificeerd als deskundige.

Box 1: Deskundigheid (Bron: Ministerie van Economische Zaken)

Het Ministerie van Economische Zaken verstaat onder een deskundige een persoon die voor de situatie en soorten ten aanzien waarvan hij of zij gevraagd is te adviseren en/of te begeleiden, aantoonbare ervaring en kennis heeft op het gebied van soortspecifieke ecologie. De ervaring en kennis dienen te zijn opgedaan doordat de deskundige:

- op HBO-, dan wel universitair niveau een opleiding heeft genoten met als zwaartepunt (Nederlandse) ecologie; en/of
- op MBO niveau een opleiding heeft afgerond met als zwaartepunt de Wet natuurbescherming, soortenherkenning en zorgvuldig handelen ten opzichte van die soorten; en/of
- als ecoloog werkzaam is voor een ecologisch adviesbureau, zoals een bureau welke is aangesloten bij het Netwerk Groene Bureaus; en/of
- zich aantoonbaar actief inzet op het gebied van de soortenbescherming en is aangesloten bij en werkzaam voor de daarvoor in Nederland bestaande organisaties (zoals de Zoogdiervereniging, RAVON, Stichting Das en Boom, Vogelbescherming Nederland, Vlinderstichting, Natuurhistorisch Genootschap, KNNV, NJN, IVN, EIS Nederland, FLORON, SOVON, STONE, Staatsbosbeheer, Natuurmonumenten, De Landschappen en Stichting Beheer Natuur en Landelijk gebied); en/of
- zich aantoonbaar actief inzet op het gebied van de soortenmonitoring en/of soortenbescherming.

1.4 KWALITEITSBORGING

VanderHelm Milieubeheer B.V. is lid van het 'Netwerk Groene Bureaus (NGB) - Brancheorganisatie voor kwaliteitsbevordering en belangenbehartiging'. De werkzaamheden die door VanderHelm Milieubeheer B.V. worden uitgevoerd, zijn gebaseerd op het door de NGB vastgestelde gedragscode (versie juni 2008, aangevuld in februari 2010).

VanderHelm Milieubeheer B.V. is VCA** (versie 2008/05) gecertificeerd.

Onderhavig project is uitgevoerd in overeenstemming met het kwaliteitssysteem van VanderHelm Milieubeheer B.V. Dit kwaliteitssysteem is gecertificeerd conform de norm ISO 9001:2008.

1.5 VERANTWOORDING

VanderHelm Milieubeheer B.V. is een onafhankelijk adviesbureau en verklaart hierbij geen financiële of juridische belangen te hebben bij de uitkomst van het gevoerde onderzoek.



2. PROJECTGEBIED

2.1 HUIDIGE SITUATIE

Het projectgebied bestaat uit de Plas van Buijsen inclusief de oevers en het oostelijke veld, welke al deels is voorbelast. Op de westoever van de plas staan diverse grote bomen met een dichte onderbegroeiing.

De oost en zuidoever bestaan uit riet- en moerasland met op diverse plaatsen wilgenopslag. De noordelijke oever heeft het meest open karakter waar een smalle rietkraag het water van een vrij droge verruigde oever scheidt. Het deels voorbelaste oostelijke veld is begroeid met diverse ruigtekruiden, waar vooral witte honingklaver, akkerdistel en landriet de boventoon voeren. De uit te graven watergang aan de noordzijde van het gebied is nu verland en ligt voor een groot gedeelte droog.

De begrenzing van het projectgebied wordt weergegeven in afbeelding 1 en voor de regionale ligging wordt verwezen naar bijlage 1.

Tabel 1: Gegevens projectgebied

Projectgebied:	Plas van Buijsen (Keizershof deelgebied 2)
Plaats:	Pijnacker
Gemeente:	Pijnacker-Nootdorp
Provincie:	Zuid-Holland
Kilometerhok (Rijksdriehoekskoördinaten):	X: 446, Y:89-90



Afbeelding 1: Begrenzing van het projectgebied aangegeven met een rode lijn (Bron: google maps)

2.2 TOEKOMSTIGE SITUATIE, WERKZAAMHEDEN EN PLANNING

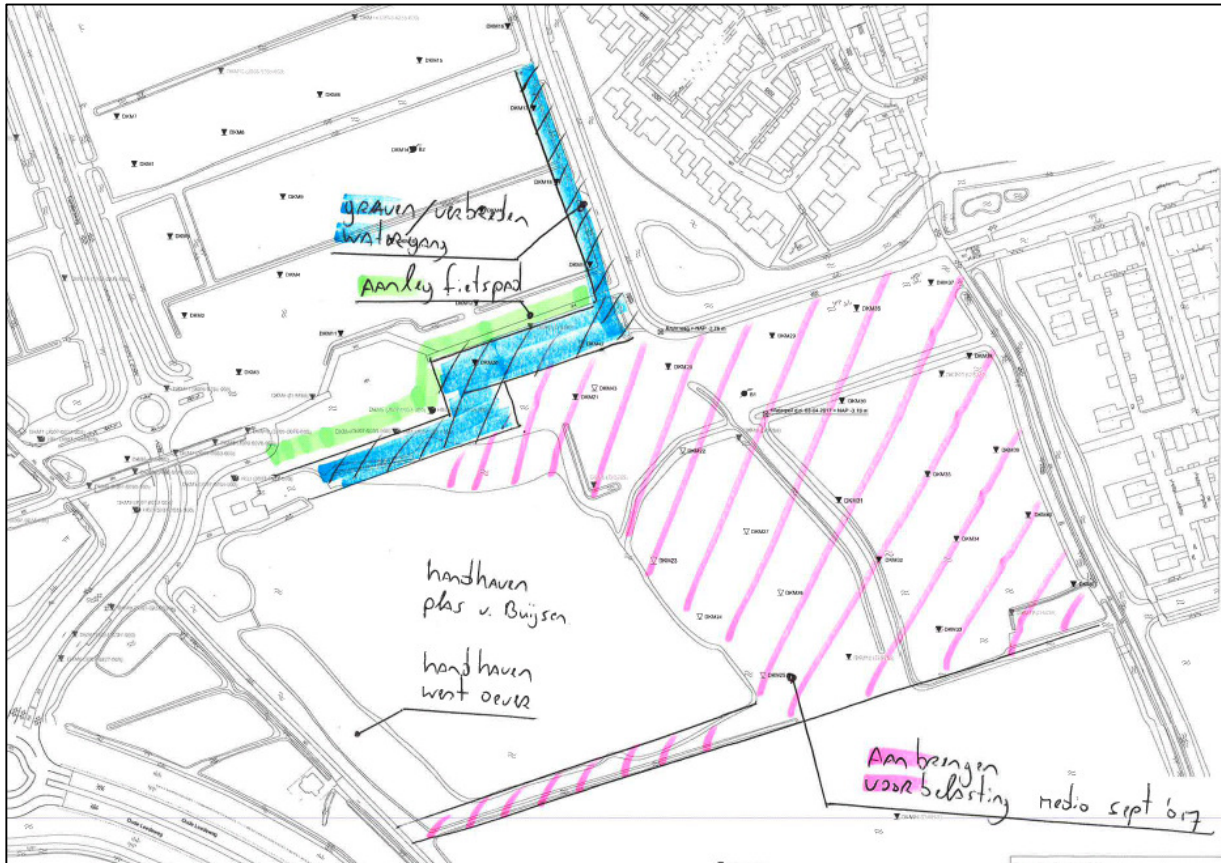
Eind 2017/ begin 2018 wordt gestart met de werkzaamheden. Het groen rondom de vijver wordt verwijderd, er wordt voorbelasting aangebracht en de plas wordt gebaggerd. Uiteindelijk worden op de terreinen ten oosten en zuiden van de vijver woningen gebouwd. Aan de noordzijde wordt een sloot gegraven en verbreed. De bomenrijke westoever van de plas blijft behouden. In bijlage 4 is een tekening van de voorbelasting opgenomen en het voorlopig ontwerp van het verkavelingsplan.

De volgende werkzaamheden staan op de planning:

- Medio december 2017 verwijderen groen rondom de plas;
- Eind december 2017, verplanten Horsten van zuidoever naar westoever;
- Medio januari 2018 aanbrengen voorbelasting aan oost- en zuidzijde plas;
- Medio februari 2018 baggeren Plas van Buijsen;

- Medio januari 2019 verwijderen voorbelasting.

Deze werkzaamheden zijn weergegeven op onderstaande tekening (afbeelding 2).



Afbeelding 2: werkzaamheden (planning is niet meer actueel).

De exacte planning voor wat betreft het bouwen van de woningen en aanleggen van de infrastructuur is niet bekend.

2.3 RESULTATEN EERDER UITGEVOERD ECOLOGISCH ONDERZOEK

In 2014 is een soortgericht onderzoek naar waterspitsmuis uitgevoerd met vallen (VanderHelm Milieubeheer B.V., Ecologische bevindingen inventarisatie waterspitsmuis, d.d. 04-11-2014). Waterspitsmuis is tijdens het soortgericht niet vastgesteld. Het onderzoek in 2014 is uitgevoerd voor de aanvraag van de ontheffing tijdelijke natuur.

Conform voorschrift 10 uit de ontheffing Tijdelijke Natuur is voorafgaand aan de werkzaamheden een ecologische inspectie uitgevoerd. Op basis van de ecologische inspectie (VanderHelm Milieubeheer B.V., kenmerk 20170971, d.d. 22 augustus 2017) ter plaatse Keijzershof deelgebied 2 (Plas van Buijzen) wordt geconcludeerd dat de volgende juridisch zwaarder beschermde soorten worden verwacht:

- Europees beschermd: Gewone dwergvleermuis, ruige dwergvleermuis, rosse dwergvleermuis, meervleermuis, laatvlieger en watervleermuis.
- Nationaal beschermd: Waterspitsmuis
- categorie 4: Buizerd, ransuil en sperwer
- categorie 5: Oeverwaluw
- algemene broedvogels

Waterspitsmuis

Ten tijde van de inspecties in 2016 en 2017 zijn geen exemplaren van de waterspitsmuis waargenomen. Ook zijn er uit de literatuur geen waarnemingen bekend uit het gebied. De waterspitsmuis is echter een zeer moeilijk waar te nemen zoogdier. Waterspitsmuizen komen veelal in lage dichtheden voor en zijn vrij moeilijk waarneembaar. De meeste zichtwaarnemingen worden gedaan in toegankelijke gebieden waar men makkelijk dichtbij het wateroppervlakte kan komen en waar met regelmaat veel mensen komen, wat de kans op waarnemingen vergroot. Dit is hier niet het geval. De plas van Buijsen is op de meeste plaatsen slecht bereikbaar door de hoge vegetatie en kenmerkt zich door zijn rustige karakter. Dit resulteert in weinig waarnemingen in alle soortgroepen in dit gebied. De geschiktheid van het gebied voor deze soort is in vergelijking met 2014 hetzelfde gebleven of mogelijk verbeterd. Door de werkzaamheden en aanwezige voorbelasting om het gebied heen is de plas meer onbereikbaar geworden. Op een paar visplaatsen na is de oever van de plas vrijwel nergens te bereiken en dichtgegroeid. Hierdoor kennen deze oevers veel reliëf en een rijke oeervervegetatie, zeer geschikt terrein voor deze soort. In de provincie Zuid-Holland wordt de soort met enige regelmaat waargenomen in nieuwe gebieden. Vooral jonge waterspitsmuizen verlaten het leefgebied van de ouderdieren en gaan op zoek naar een eigen territorium. Daarbij kunnen ze relatief grote afstanden afleggen en doorkruisen ze ook gebieden zonder water. In theorie zou de soort de plas van Buijsen kunnen hebben bereikt sinds het onderzoek in 2014 waarbij deze soort niet werd aangetroffen. Op basis van de ecologische inspectie kan de aanwezigheid van de waterspitsmuis niet worden uitgesloten. Daarnaast is het onderzoek naar waterspitsmuizen uit 2014 is drie jaar geldig en verloopt in november 2017.

Geadviseerd is om een soortgericht onderzoek uit te voeren naar de waterspitsmuis om uit te sluiten dan wel aan te tonen dat deze voorkomt in en rondom de plas van Buijsen.

Dit rapport betreft alleen het onderzoek naar de waterspitsmuis. Voortplantingsplaatsen en rustplaatsen van waterspitsmuis zijn beschermd middels artikel 3.10 van de Wet natuurbescherming. Daarnaast is het ook verboden opzettelijk exemplaren van waterspitsmuis te doden.

2.4 ONTHEFFING TIJDELIJKE NATUUR

Op 14 augustus 2015 is een ontheffing Tijdelijke Natuur afgegeven door het Ministerie van Economische Zaken (bijlage 3) voor de periode 14 augustus 2015 tot en met 1 januari 2025. De ontheffing is afgegeven voor de volgende soorten: Drijvende waterweegbree, Groenknolorchis, Rietorchis, Wilde marjolein, verschillende zoogdieren (o.a. waterspitsmuis), vogels met jaarrond beschermde nesten, amfibieën reptielen, vissen en insecten zoals aangegeven op de lijst van de bio-geografische regio's.

Voor de flora betreft het een ontheffing op het verbod om bovenstaande soorten uit te steken, vernielen, beschadigen, ontwortelen of op enigerlei andere wijze van groeiplaats te verwijderen. Voor de fauna betreft het een ontheffing op het verbod om nesten, holen of andere voortplantings- of vaste rustplaatsen van bovenstaande soorten te beschadigen, vernielen of verstoren.

Met de start van de werkzaamheden komt een einde aan de tijdelijke natuur die zich de afgelopen tijd op het terrein kon ontwikkelen. In de ontheffing zijn voorschriften opgenomen die gevolgd moeten worden. Hiervoor is reeds een ecologische werkprotocol (VanderHelm Milieubeheer B.V., Ecologisch werkprotocol baggeren Plas van Buijsen en aanbrengen voorbelasting te Pijnacker, d.d. 2-11-2017) opgesteld en een startmelding ingediend bij Omgevingsdienst Zuid-Holland-Zuid.

3. METHODE

Het onderzoek naar de aanwezigheid van waterspitsmuizen is gebaseerd op de ethische code van het Netwerk Groene Bureaus - Branchevereniging voor kwaliteitsbevordering en belangenbehartiging (juni 2008 en februari 2010).

3.1 ENVIRONMENTAL DNA

Om de aan- of afwezigheid van waterspitsmuis in het projectgebied aan te tonen wordt gebruik gemaakt van Environmental DNA (eDNA). Met behulp van eDNA onderzoek is het mogelijk om soorten aan te tonen zonder ze daadwerkelijk te vangen. Alle organismen laten in hun leefgebied sporen van DNA achter (faeces, huidcellen en urine). Soortspecifiek eDNA in een water- of bodemonster toont de aanwezigheid van deze soort aan op de locatie waar de monsters zijn verzameld. De aanwezigheid van eDNA in een monster wordt onderzocht met laboratorium analyses.

Er is gekozen om het onderzoek naar waterspitsmuis uit te voeren met een eDNA onderzoek doordat dit een hogere detectiekans oplevert dan traditioneel onderzoek met vallen. In 2016 is in de Weerribben een pilot onderzoek uitgevoerd om de detectiekans van waterspitsmuis met eDNA te vergelijken met traditioneel vallenonderzoek. Op 9 locaties waarvan bekend is dat waterspitsmuis voorkomt zijn raaien van 2x10 life-traps geplaatst en zijn eDNA water- en bodemonsters verzameld. De trefkans van lifetraps en eDNA watermonsters bedroeg beiden 75% en de trefkans met eDNA bodemonderzoek bedroeg 100% (Bochove, K, eDNA monitoring muizen, d.d. 22-02-2017).

3.2 WATERSPITSMUIS

In het projectgebied wordt de waterspitsmuis verwacht ter plaatse van de plas en de oeverzone. Om de aanwezigheid van waterspitsmuis aan te tonen of uit te sluiten is een eDNA onderzoek uitgevoerd conform protocol (Datura, eDNA filter sampling protocol en Datura, eDNA bodembemonstering van waterspitsmuis). In het projectgebied zijn op 5 locaties bodem mengmonsters verzameld en op 3 locaties water mengmonsters. Er is gekozen om zowel bodemonsters als watermonsters te analyseren. De bodemonsters zijn heel locatie specifiek, als er wel waterspitsmuis in het gebied voorkomt maar niet aanwezig is op de exacte plekken die bemonsterd zijn dan wordt de soort niet aangetoond door het ontbreken van eDNA. De watermonsters geven een lagere detectiekans, maar doordat eDNA zich in water makkelijk verspreid vanaf de locatie waar het in het water is gekomen kan je met een watermonster een groter gebied onderzoeken.

De bodem- en watermonsters zijn genomen door een deskundig ecooloog in geschikt habitat voor waterspitsmuis (ruig begroeide oevers met een goed ontwikkelde watervegetatie). De locaties staan beschreven in tabel 2 en weergegeven in afbeelding 3.

eDNA bodemonstername

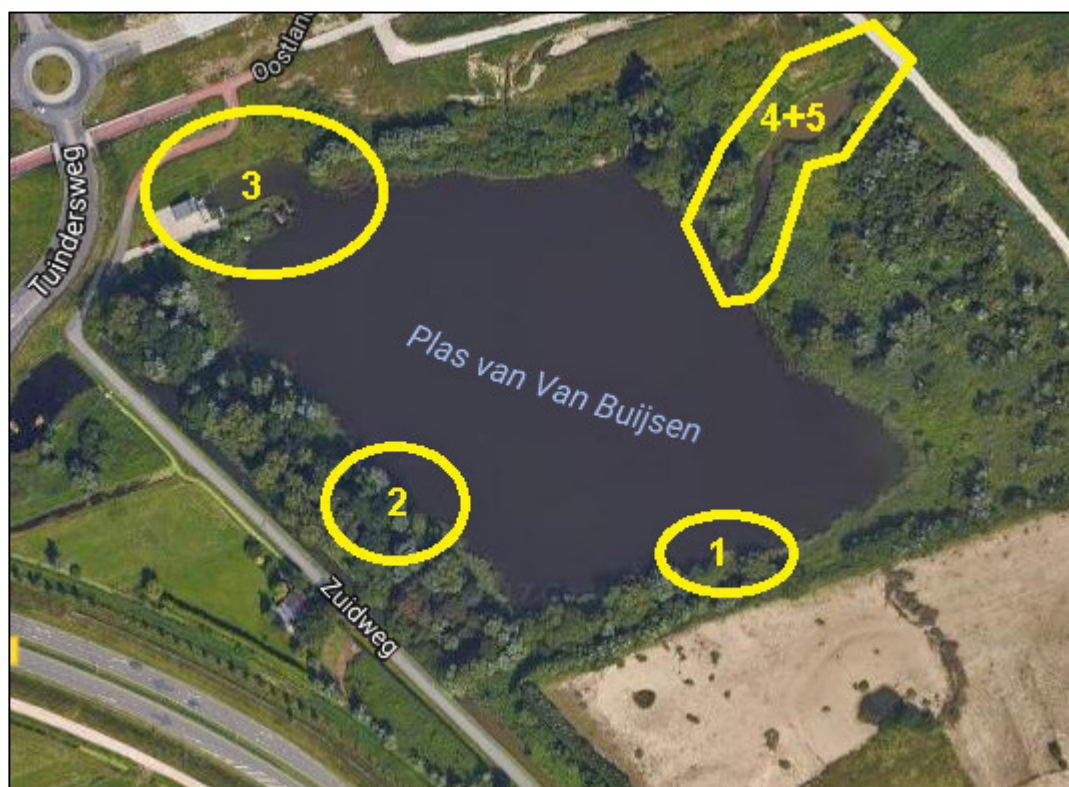
Om contaminatie van het bodemonster te voorkomen is op elke bemonsteringslocatie gewerkt met nieuw steriel materiaal en handschoenen die in het veld uit de verpakking zijn gehaald. Over een traject van 50-100 meter zijn op geschikte plekken (grens tussen water en land) meerdere bodem "subsamples" verzameld door strooiselmateriaal en de bovenste centimeter van de bodem af te schrapen. De "subsamples" zijn goed gemengd in een steriele pot met MilliQ-water en 75 ml van deze gemengde oplossing is bewaard in een conserverende oplossing om geanalyseerd te worden in het laboratorium.

eDNA watermonstername

Om contaminatie van het watermonster te voorkomen is op elke bemonsteringslocatie gewerkt met nieuw steriel materiaal en handschoenen die in het veld uit de verpakking zijn gehaald. Over een traject van 50-100 meter zijn minimaal 26 "subsamples" water verzameld in een steriele samplingzak. Het verzamelde water is gefiltreerd en het filter is bewaard in een conserverende oplossing om geanalyseerd te worden in het laboratorium.

Tabel 2: Gegevens bodem- en watermonsters eDNA

Type monster	Monster codering	Bemonstering locatie
Bodem	6168	1
Bodem	6165	2
Bodem	6161	3
Bodem	6164	4
Bodem	6166	5
Water	20012	1 en 2
Water	20011	3
Water	20010	4 en 5



Afbeelding 3: bemonster locaties.

3.2 OVERZICHT BEZOEKEN EN WEERGEGEVENS

In tabel 3 is een overzicht opgenomen van de uitgevoerde veldbezoeken. In tabel 4 zijn de weersomstandigheden op de dag van uitvoering weergegeven.

Tabel 3: Uitgevoerd veldbezoek

Datum	Activiteit	Soortgroep	Tijdstip (begin - einde)	Uitvoerende(n)
02-10-2017	eDNA onderzoek	waterspitsmuis	14:00 - 16:45	M. Loeve, J. Berndsen
03-10-2017	eDNA onderzoek	waterspitsmuis	09:30 - 10:45	M. Loeve, J. Berndsen

Tabel 4: Weersomstandigheden*

Datum	Temperatuur (°C)		Overheersende windrichting –kracht (Bft)	Bewolking	Neerslag (mm)
	Min.	Max.			
02-10-2017	13.5	17.8	WZW-4	Geheel bewolkt	0.8
03-10-2017	12.3	16.3	W-3	Zwaar bewolkt	0.5

* Weersomstandigheden dichtstbijzijnde weerstation (Rotterdam).

4. ONDERZOEKSRÉSULTATEN, INTERPRETATIE EN TOETSING AAN WETGEVING

In dit hoofdstuk worden de belangrijkste resultaten nader toegelicht en is beschreven wat de wettelijke consequenties zijn die voortvloeien uit deze resultaten. Voor meer informatie over de juridische achtergronden wordt verwezen naar bijlage 2.

4.1 ONDERZOEKSRÉSULTATEN

In de verzamelde bodem- en watermonsters is geen eDNA van waterspitsmuis gedetecteerd. Dit betekent dat er geen waterspitsmuizen voorkomen in het projectgebied. De exacte laboratoriumresultaten van de eDNA analyse staan in bijlage 5.

4.2 TOETSING AAN WETGEVING

Met betrekking tot de waterspitsmuis zijn geen vervolgstappen noodzakelijk in het kader van de Wet natuurbescherming en ontheffing tijdelijke natuur. De werkzaamheden zijn immers niet van invloed op de waterspitsmuis omdat deze niet voorkomt in het projectgebied.

5. CONCLUSIES

Ter plaatse van de Plas van Buijsen (Keijzershof deelgebied 2) te Pijnacker is een soortgericht onderzoek naar waterspitsmuis uitgevoerd. Ten oosten en zuiden van de plas worden in de toekomst huizen gebouwd. Het onderzoek is uitgevoerd conform voorschrift 10 van de ontheffing tijdelijke natuur (Besluit FF/75C/2014/0543.toek.bl) die voor dit projectgebied is afgegeven.

Het doel van het onderzoek is het uitsluiten dan wel aantonen van de aanwezigheid van waterspitsmuis in het projectgebied. Vervolgens is bepaald of door de werkzaamheden sprake kan zijn van het overtreden van de Wet natuurbescherming en welke vervolgstappen mogelijk noodzakelijk zijn met betrekking tot de waterspitsmuis.

5.1 CONCLUSIES

Op basis van het soortgericht onderzoek is geconcludeerd dat:

Soort(groep)	Conclusie
Waterspitsmuis	<ul style="list-style-type: none"> In het projectgebied komen geen waterspitsmuizen voor.

5.2 VERVOLGSTAPPEN

Op basis van het soortgericht onderzoek wordt aanbevolen om:

Vervolgstappen	Uitvoering vervolgstappen	Periode
Waterspitsmuis	<ul style="list-style-type: none"> Vanwege het ontbreken van deze soort in het projectgebied hoeven er in het kader van de waterspitsmuis geen vervolgstappen genomen te worden. 	Nvt.
Vleermuizen	<ul style="list-style-type: none"> Het soortgericht onderzoek naar vleermuizen is reeds gestart en moet nog afgerond worden. 	15 mei t/m 15 augustus 2018
Vogels	<ul style="list-style-type: none"> Het soortgericht onderzoek naar vogels moet nog uitgevoerd worden. 	december 2017 t/m 15 mei 2018
Overige soorten	<ul style="list-style-type: none"> Maatregelen die genomen moeten worden bij de werkzaamheden (baggeren en aanbrengen voorbelasting) staan beschreven in het ecologisch werkprotocol (VanderHelm Milieubeheer B.V., Ecologisch werkprotocol baggeren Plas van Buijsen en aanbrengen voorbelasting te Pijnacker, d.d. 2-11-2017). 	

5.3 INTERPRETATIE WET NATUURBESCHERMING

De Wet natuurbescherming is op 1 januari 2017 in werking getreden. De interpretatie van de wet, de werkwijze en procedure van de provincies zullen in de loop van 2017 worden gespecificeerd. Op basis van jurisprudentie zal blijken op welke wijze de wet dient te worden geïnterpreteerd. Bij de toetsing van de werkzaamheden aan de Wet natuurbescherming is in onderhavige ecologische quickscan uitgegaan van de interpretatie en werkwijze zoals deze werd gehanteerd door Rijksdienst voor Ondernemend Nederland onder de Flora- en faunawet en informatie die vrij komt via provincies, omgevingsdiensten en Netwerk Groene Bureaus.

REFERENTIELIJST

VanderHelm Milieubeheer B.V., 2017, Kenmerk 20170971, *Veldinspectie*.

VanderHelm Milieubeheer B.V., *Ecologische bevindingen inventarisatie waterspitsmuis*, d.d. 04-11-2014.

VanderHelm Milieubeheer B.V., 2017, Kenmerk 20170971, *Ecologisch werkprotocol baggeren Plas van Buijsen en aanbrengen voorbelasting te Pijnacker*.

Bochove, K., 2017, *eDNA monitoring muizen*.

Datura., *eDNA filter sampling protocol*.

Datura, *eDNA bodembemonstering van waterspitsmuis*.



BIJLAGE 1 REGIONALE SITUATIEKAART PROJECTGEBIED



○ = Projectgebied



BIJLAGE 2 WETTELIJKE EN BESTUURLIJKE KADERS NATUURBESCHERMING

In Nederland wordt de bescherming van natuur geregeld met behulp van de Wet natuurbescherming. Onder de Wet natuurbescherming valt de bescherming van enerzijds in het wild levende dieren (fauna) en planten (flora) en anderzijds de gebiedsbescherming en de bescherming van houtopstanden. In dit hoofdstuk wordt een beschrijving gegeven van de vigerende wet- en regelgeving inzake de Wet natuurbescherming.

WET NATUURBESCHERMING (01-01-2017)

De Wet natuurbescherming is een samenkomst van drie voormalige natuurwetten: De Flora- en faunawet, de Natuurbeschermingswet 1998 en de Boswet. Onder de Wet natuurbescherming valt nu de soortenbescherming en de gebiedsbescherming.

SOORTENBESCHERMING (FLORA EN FAUNA)

De Wet natuurbescherming beschermd kwetsbare en zeldzame flora en fauna. De wet geldt daar waar beschermde soorten voorkomen. De beschermde soorten zijn onderverdeeld in Europees- en nationaal beschermde dier- en plantensoorten. Afhankelijk van de beschermde status van een soort dient bij de aantasting van exemplaren of nesten, voortplantings- of rustplaatsen van deze soort, een ontheffing op de Wet natuurbescherming te worden aangevraagd. Belangrijk voor de toekenning hiervan is de status, maar ook of de duurzame instandhouding van de populatie wel of niet in het geding is. Indien geen verbodsbepalingen worden overtreden kan mogelijk worden volstaan met een mitigatieplan.

Europees beschermde dier- en plantensoorten

Deze soorten betreffen in het wild levende dieren van soorten, genoemd in bijlage IV, onderdeel a, bij de Habitatrichtlijn, bijlage II bij het Verdrag van Bern, bijlage I bij het Verdrag van Bonn en vogels van soorten als bedoeld in artikel 1 van de Vogelrichtlijn.

Soorten, genoemd in bijlage IV, onderdeel a, bij de Habitatrichtlijn, bijlage II bij het Verdrag van Bern, bijlage I bij het Verdrag van Bonn

Voor deze soorten dienen in het geval van ruimtelijke ontwikkeling mitigerende maatregelen opgesteld te worden die ervoor zorgen dat de functionaliteit van de nesten, voortplantings- of rustplaatsen gegarandeerd wordt. Tevens kunnen werkzaamheden, onder voorwaarden, worden uitgevoerd volgens een goedgekeurde gedragscode. Wanneer dit niet mogelijk is kan, indien de volgende belangen aan de orde zijn: bescherming van flora en fauna, dwingende redenen van groot openbaar belang of volksgezondheid of openbare veiligheid, een ontheffing aangevraagd worden.

Vogels van soorten als bedoeld in artikel 1 van de Vogelrichtlijn

Voor vogels dienen in het geval van ruimtelijke ontwikkeling mitigerende maatregelen opgesteld te worden die ervoor zorgen dat de functionaliteit van de nesten en rustplaatsen gegarandeerd wordt. Tevens kunnen werkzaamheden, onder voorwaarden, worden uitgevoerd volgens een goedgekeurde gedragscode. Wanneer dit niet mogelijk is kan, indien de volgende belangen aan de orde zijn: bescherming van flora en fauna, veiligheid van het luchtverkeer of volksgezondheid of openbare veiligheid, een ontheffing aangevraagd worden.

Nationaal beschermde dier- en plantensoorten

Deze soorten betreffen in het wild levende zoogdieren, amfibieën, reptielen, vissen, dagvlinders, libellen en kevers van de soorten, genoemd in de bijlage, onderdeel A, bij de Wet natuurbescherming.



Vrijstelling

Middels een vrijstellingsregeling kan in het kader van ruimtelijke inrichting en ontwikkeling vrijstelling verleend worden voor nationaal beschermde dier- en plantensoorten. Derhalve hoeft voor deze soorten geen ontheffing te worden aangevraagd. Voor deze soorten blijft wel de algemene zorgplicht van kracht. Per provincie wordt een vrijstellingslijst opgesteld. Elke provincie kan ervoor kiezen om verschillende soorten vrij te stellen. Per project zal gekeken moeten worden welke dier- en plantensoorten in de betreffende provincie zijn vrijgesteld. Voor soorten die niet zijn vrijgesteld dient gewerkt te worden volgens een goedgekeurde gedragscode, of dient bij de aantasting van exemplaren nesten, voortplantings- of rustplaatsen van deze soort bij activiteiten die de verbodsbepalingen overtreden, een ontheffing op de Wet natuurbescherming te worden aangevraagd.

VERBODEN HANDELINGEN

Naast de zorgplicht zijn een aantal verboden handelingen opgenomen. Deze worden hieronder weergegeven.

Artikel 3.1 Vogelrichtlijn

1. Het is verboden opzettelijk van nature in Nederland in het wild levende vogels van soorten als bedoeld in artikel 1 van de Vogelrichtlijn te doden of te vangen.
2. Het is verboden opzettelijk nesten, rustplaatsen en eieren van vogels als bedoeld in het eerste lid te vernielen of te beschadigen, of nesten van vogels weg te nemen.
3. Het is verboden eieren van vogels als bedoeld in het eerste lid te rapen en deze onder zich te hebben.
4. Het is verboden vogels als bedoeld in het eerste lid opzettelijk te storen.
5. Het verbod, bedoeld in het vierde lid, is niet van toepassing indien de storing niet van wezenlijke invloed is op de staat van instandhouding van de desbetreffende vogelsoort.

Artikel 3.5 Habitatrictlijn

1. Het is verboden in het wild levende dieren van soorten, genoemd in bijlage IV, onderdeel a, bij de Habitatrictlijn, bijlage II bij het Verdrag van Bern of bijlage I bij het Verdrag van Bonn, in hun natuurlijk verspreidingsgebied opzettelijk te doden of te vangen.
2. Het is verboden dieren als bedoeld in het eerste lid in de natuur opzettelijk te vernielen of te rapen.
3. Het is verboden eieren van dieren als bedoeld in het eerste lid in de natuur opzettelijk te vernielen of te rapen.
4. Het is verboden de voortplantingsplaatsen of rustplaatsen van dieren als bedoeld in het eerste lid te beschadigen of te vernielen.
5. Het is verboden planten van soorten, genoemd in bijlage IV, onderdeel b, bij de Habitatrictlijn of bijlage I bij het Verdrag van Bern, in hun natuurlijke verspreidingsgebied opzettelijk te plukken en te verzamelen, af te snijden, te ontwortelen of te vernielen.

Artikel 3.10 Nationaal beschermde dier- en plantensoorten

1. Onverminderd artikel 3.5, eerste, vierde en vijfde lid, is het verboden:
 - a. in het in het wild levende zoogdieren, amfibieën, reptielen, vissen, dagvlinders, libellen en kevers van de soorten, genoemd in de bijlage, onderdeel A, bij deze wet, opzettelijk te doden of te vangen;
 - b. de vaste voortplantingsplaatsen of rustplaatsen van dieren als bedoeld in onderdeel a opzettelijk te beschadigen of te vernielen, of
 - c. vaatplanten van de soorten, genoemd in de bijlage, onderdeel B, bij deze wet, in hun natuurlijke verspreidingsgebied opzettelijk te plukken en te verzamelen, af te snijden, te ontwortelen of te vernielen.
2. Artikel 3.8, met uitzondering van het derde en vierde lid, is van overeenkomstige toepassing op de verboden, bedoeld in het eerste lid, met dien verstande dat, in aanvulling op de redenen, genoemd in het vijfde lid, onderdeel b, de noodzaak voor de ontheffing of vrijstelling ook verband kan houden met handelingen:
 - a. in het kader van de ruimtelijke inrichting of ontwikkeling van gebieden, daaronder begrepen het daarop volgende gebruik van het ingerichte of ontwikkelde gebied;
 - b. ter voorkoming van schade of overlast, met inbegrip van schade aan sportvelden, schietterreinen, industrieterreinen, kazernes, of begraafplaatsen;



- c. ter beperking van de omvang van de populatie van dieren, in verband met door deze dieren ter plaatse en in het omringende gebied veelvuldig veroorzaakte schade of in verband met de maximale draagkracht van het gebied waarin de dieren zich bevinden;
 - d. ter voorkoming of bestrijding van onnodig lijden van zieke of gebrekkige dieren;
 - e. in het kader van bestendig beheer of onderhoud in de landbouw of bosbouw;
 - f. in het kader van bestendig beheer of onderhoud aan vaarwegen, watergangen, waterkeringen, waterstaatswerken, oevers, vliegvelden, wegen, spoorwegen of bermen, of in het kader van natuurbeheer;
 - g. in het kader van bestendig beheer of onderhoud van de landschappelijke kwaliteiten van een bepaald gebied, of
 - h. in het algemeen belang.
3. De verboden, bedoeld in het eerste lid, onderdelen a, en b, zijn niet van toepassing op de bosmuis, de huisspitsmuis en de veldmuis voor zover deze dieren zich in of op gebouwen of daarbij behorende erven of roerende zaken bevinden.

Gedragscode

Voor zowel Europees als nationaal beschermde soorten geldt dat werkzaamheden uitgevoerd kunnen worden volgens een door Onze Minister goedgekeurde gedragscode. De betreffende gedragscode moet voor de werkzaamheden en soort(groep) geschreven en beschikbaar zijn. Dit geldt indien de werkzaamheden plaatsvinden in het kader van:

- een bestendig beheer of onderhoud aan vaarwegen, watergangen, waterkeringen, waterstaatswerken, oevers, vliegvelden, wegen, spoorwegen of –bermen, of in het kader van natuurbeheer;
- een bestendig beheer of onderhoud in de landbouw of de bosbouw;
- een bestendig gebruik, of
- een ruimtelijke inrichting of ontwikkeling.

Werkzaamheden kunnen worden uitgevoerd onder een gedragscode, mits de functionaliteit van de nesten, voortplantings- of rustplaatsen van de soorten behouden blijft.

Positieve afwijzing

Als er maatregelen genomen worden om de functionaliteit van de nesten, voortplantings- of rustplaatsen van zowel Europees als nationaal beschermde soorten garanderen, is een ontheffing van de Flora- en faunawet niet noodzakelijk. Om er echter zeker van te zijn of de opgestelde mitigerende maatregelen voldoende zijn, kan op basis van deze maatregelen een ontheffing bij de betreffende provincie worden aangevraagd. Indien de provincie akkoord gaat met de mitigerende maatregelen en de functionaliteit van de nesten, voortplantings- of rustplaatsen van de soorten hiermee behouden blijft, wordt de ontheffingsaanvraag positief afgewezen en mogen de werkzaamheden zonder ontheffing worden uitgevoerd.

ZORGPLICHT

De zorgplicht valt onder zowel de soortenbescherming (dier- en plantensoorten) als gebiedsbescherming. Onderstaand worden de maatregelen met betrekking tot zorgvuldig handelen weergegeven, zoals opgenomen artikel 1.11 en artikel 3.31, lid 3, van de Wet natuurbescherming.

Artikel 1.11 van de Wet natuurbescherming

1. Een ieder neemt voldoende zorg in acht voor Natura-2000 gebieden, bijzondere nationale natuurgebieden en voor in het wild levende dieren en planten en hun directe leefomgeving.
2. De zorg, bedoeld in het eerste lid, houdt in elk geval in dat een ieder die weet of redelijkerwijs kan vermoeden dat door zijn handelen of nalaten nadelige gevolgen kunnen worden veroorzaakt voor een Natura-2000 gebied, een bijzonder nationaal natuurgebied of voor in het wild levende dieren en planten:
 - a. dergelijke handelingen achterwege laat, dan wel,
 - b. indien dat achterwege laten redelijkerwijs niet kan worden gevergd, de noodzakelijke maatregelen treft om die gevolgen te voorkomen, of
 - c. voor zover die gevolgen niet kunnen worden voorkomen, deze zoveel mogelijk beperkt of ongedaan maakt.
3. Het eerste lid is niet van toepassing op handelen of nalaten in overeenstemming met het bij of krachtens deze wet of de Visserijwet 1963 bepaalde.



Artikel 3.31, lid 3, van de Wet natuurbescherming

3. Van zorgvuldig handelen is in elk geval sprake, indien is voldaan aan de volgende voorwaarden:
- a. er worden slechts handelingen verricht waarvan geen wezenlijke invloed uitgaat op de soorten, bedoeld in het tweede lid, en
 - b. ingeval handelingen worden verricht die invloed hebben op dieren wordt voorafgaand en tijdens de handelingen in redelijkheid alles verricht of gelaten om te voorkomen of zoveel mogelijk te beperken dat:
 - i. dieren als bedoeld in artikel 3.1, 3.5, eerste lid, of 3.10, eerste lid, worden gedood;
 - ii. nesten van vogels worden vernield, beschadigd of weggenomen, rustplaatsen van vogels worden vernield of beschadigd, dan wel voortplantingsplaatsen of rustplaatsen van de in artikel 3.5, eerste lid, of artikel 3.10, eerste lid, bedoelde dieren worden beschadigd of vernield, en
 - iii. eieren van dieren als bedoeld in artikel 3.1, 3.5, eerste lid, of 3.10, eerste lid, worden vernield, of
 - c. ingeval handelingen worden verricht die invloed hebben op planten van soorten als bedoeld in artikel 3.5, vijfde lid, of 3.10, eerste lid, wordt voorafgaand aan en tijdens de handelingen in redelijkheid alles verricht of gelaten om te voorkomen dat deze planten worden geplukt, afgesneden, onworteld of vernield.

GEBIEDSBESCHERMING

Onder de gebiedsbescherming vallen de Natura 2000-gebieden, Natuurnetwerk Nederland, Beschermd Natuurmonumenten, gebieden ter uitvoering van verdragen en andere internationale verplichtingen (zoals wetlands) en houtopstanden.

NATURA2000

Natura 2000-gebieden zijn gebieden die zijn aangewezen in het kader van de Europese Habitat- en Vogelrichtlijn. Voor elk Natura 2000-gebied wordt door de betreffende provincie een beheerplan opgesteld, waarin de nodige instandhoudingsmaatregelen zijn opgenomen.

Artikel 2.7, lid 2, van de Wet natuurbescherming stelt over Natura 2000-gebieden het volgende:
'Het is verboden zonder vergunning van gedeputeerde staten projecten te realiseren of andere handelingen te verrichten die gelet op de instandhoudingsdoelstellingen voor een Natura 2000-gebied de kwaliteit van de natuurlijke habitats of de habitats van soorten in dat gebied kunnen verslechteren of een significant verstrend effect kunnen hebben op de soorten waarvoor dat gebied is aangewezen.'

De toetsing betreft het vaststellen of het projectgebied in of in de omgeving van een beschermd natuurgebied gelegen is en of er sprake is van een negatief effect op de beschermde natuurwaarden. Als dit niet het geval is dan is verder onderzoek niet nodig. Indien er wel sprake is van een effect op beschermde natuurwaarden is een aanvullende toetsing noodzakelijk, waarbij wordt vastgesteld in hoeverre er sprake is van een negatief effect.

NATUURNETWERK NEDERLAND

Het beschermingsregime voor gebieden die vallen onder het NNN vloeit voort uit het Natuurbeleidsplan uit 1991 en de Vijfde Nota Ruimtelijke Ordening. Het is in de Nota Ruimte op nationaal niveau en vervolgens door de provincies op provinciaal niveau nader uitgewerkt. Bescherming van deze gebieden is op planologische basis en er wordt van uitgegaan van het "Nee, tenzij"-regime en compensatiebeginsel. Het ruimtelijk beleid voor het NNN is gericht op behoud en ontwikkeling van de wezenlijke kenmerken en waarden. Daarom geldt in het NNN het "nee, tenzij"-regime. Indien een voorgenomen ingreep de "nee, tenzij"-afweging met positief gevolg doorloopt kan de ingreep plaatsvinden, mits de eventuele nadelige gevolgen worden gemitigeerd en resterende schade wordt gecompenseerd. Indien een voorgenomen ingreep niet voldoet aan de voorwaarden uit het "nee, tenzij"-regime dan kan de ingreep niet plaatsvinden.



Houtopstanden

Onder de Wet natuurbescherming (houtopstanden) vallen:

- alleen bossen die buiten de 'bebouwde kom Boswet' liggen;
- alle beplantingen van bomen die groter zijn dan 10 are;
- bomen in een rijbeplanting, als de rij uit meer dan 20 bomen bestaat.

De gemeente stelt de grenzen van de 'bebouwde kom Boswet' bij besluit vast. Deze grenzen kunnen afwijken van de 'bebouwde kom Verkeerswet'. Het besluit wordt door de provincie goedgekeurd.

Wanneer voor het uitvoeren van werkzaamheden houtopstanden zoals hierboven beschreven gekapt moeten worden geldt een meldings- en herplantplicht. De kapmelding is geen kapvergunning. In sommige gemeenten is een kapvergunning vereist, die door de gemeente wordt afgegeven. Voordat gekapt wordt, is het raadzaam bij de gemeente na te vragen of een vergunning vereist is. Als dat zo is, moet die apart worden aangevraagd. Gemeenten leggen in de bomenverordening vast welke bomen zonder vergunning mogen worden gekapt en voor welke bomen een meldings- of vergunningsplicht geldt. Binnen drie jaar nadat een bos is gekapt, moet het worden herplant. Deze termijn van drie jaar geldt ook als het bos door een calamiteit (brand, storm, ziekten of plagen) verloren gaat. Na drie jaar moet er een geslaagde herbebossing zijn uitgevoerd. Een herbeplanting die niet goed is aangeslagen moet, binnen 3 jaar na kap, worden ingeboet.

In de Wet natuurbescherming zijn verboden handelingen ten aanzien van houtopstanden opgenomen in artikel 4.2. Deze worden hieronder weergegeven.

Artikel 4.2 van de Wet natuurbescherming

1. Het is verboden een houtopstand geheel of gedeeltelijk te vellen of te doen vellen, met uitzondering van het periodiek vellen van vriend- of hakhout, zonder voorafgaande melding daarvan bij gedeputeerde staten.
2. Provinciale staten kunnen bij verordening regels stellen over de melding, bedoeld in het eerste lid. Deze regels kunnen in elk geval betrekking hebben op:
 - a. de gegevens die bij de melding worden verstrekt;
 - b. de termijn waarbinnen de melding wordt gedaan, en
 - c. de wijze waarop de melding wordt gedaan.
3. Gedeputeerde staten kunnen het vellen van houtopstanden telkens voor ten hoogste vijf jaar verbieden ter bescherming van bijzondere natuur- of landschapswaarden.

De meldings- en herplantplicht is niet van toepassing:

- indien houtopstanden worden geveld ter uitvoering van instandhoudingsmaatregelen of ten behoeve van Natura 2000-gebieden;
- voor het vellen van houtopstanden en herbeplanten op een wijze die is beschreven in en aantoonbaar wordt gerealiseerd overeenkomstig een door Onze Minister goedgekeurde gedragscode.

In uitzonderingsgevallen kan een kapverbod worden opgelegd als het natuur- en landschapsschoon ernstig geschaad dreigt te worden door de voorgenomen kap. In de praktijk gebeurt dit nagenoeg nooit. Er moet sprake zijn van opstanden of lanen van een uitzonderlijke natuurwaarde of landschappelijke waarde.



BIJLAGE 3 ONTHEFFING TIJDELIJKE NATUUR BESLUIT (FF/75C/2014/0543.TOEK.BL)





> Retouradres Postbus 19530 2500 CM Den Haag

Gemeente Pijnacker-Nootdorp
R. van Loenen
Postbus 1
2640 AA PIJNACKER

**Rijksdienst voor
Ondernemend Nederland**

Postbus 19530
2500 CM Den Haag
mijn.rvo.nl

T 088 042 42 42
F 070 378 61 39
ffwet@rvo.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
5190014755700

Kenmerk
FF/75C/2014/0543.toek.bl

Bijlagen

3

Datum 14 augustus 2015
Betreft Toekenning ontheffing
Ruimtelijke ingrepen

Geachte heer Van Loenen,

Naar aanleiding van uw verzoek van 22 december 2014 en de aanvulling hierop van 12 augustus 2015, geregistreerd onder aanvraagnummer 5190014755700, om een ontheffing als bedoeld in artikel 75 van de Flora- en faunawet te krijgen, deel ik u het volgende mee.

Hierbij ontvangt u de ontheffing die u heeft aangevraagd, van de verbodsbepalingen genoemd in artikel 8 van de flora- en faunawet voor zover dit betreft het uitsteken, vernielen, beschadigen, ontwortelen of op enigerlei andere wijze van de groeiplaats verwijderen van de drijvende waterweegbree, groenknolorchis, rietorchis en de wilde marjolein, alsmede van de verbodsbepalingen genoemd in artikel 11 van de Flora- en faunawet voor zover dit betreft het beschadigen, vernielen of verstoren van nesten, holen of andere voortplantings- of vaste rust- of verblijfplaatsen van verschillende zoogdieren, vogels met jaarrond beschermde nesten, amfibieën, reptielen, vissen en insecten zoals aangegeven op de lijst van de biogeografische regio's. Een soortenlijst is als bijlage 2 bij dit besluit gevoegd.

De aanvraag

De aanvraag heeft betrekking op de realisatie van het project 'Tijdelijke Natuur - Keizershof, Ackerswoude en Tuindershof te Pijnacker', gelegen in de gemeente Pijnacker-Nootdorp. Er wordt ontheffing aangevraagd voor het creëren en over een aantal jaren weer verwijderen van tijdelijke natuur. Ontheffing wordt gevraagd van de verbodsbepalingen genoemd in de artikelen 8 en 13, lid 1 van de Flora- en faunawet voor wat betreft exemplaren van de rietorchis (*Dactylorhiza praetermissa*) en de wilde marjolein (*Origanum vulgare*), alsmede van de verbodsbepalingen genoemd in de artikelen 11, 12 en 13, lid 1 van de Flora- en faunawet voor wat betreft exemplaren van de rugstreeppad (*Bufo calamita*) en de waterspitsmuis (*Neomys fodiens*).

Gebied- en habitatbeschrijving

Het plangebied is verdeeld over vier deelgebieden gelegen in de wijken Keijzershof, Ackerswoude en Tuinderhof te Pijnacker. Deelgebied 1 bestaat uit een oud gronddepot begroeit met ruigtekruiden en opslag van schietwilg. Deelgebied 2 bestaat grotendeels uit een waterpartij en een verruigd terrein waarvan delen nog begroeid zijn met pluimzeggehorsten. Deelgebied 3 heeft zich ontwikkelt tot een ontoegankelijk moerasbos met bramen. Deelgebied 4 bestaat deels uit grasland en deels uit kale gronden. Optioneel wordt beheer toegepast om de biodiversiteit van de gebieden te vergroten.

Het plangebied valt onder de biogeografische regio's stedelijke gebied, laagveengebied en droogmakerijen van de provincie Zuid-Holland. Gezien het stedelijk karakter van het plangebied binnen de regio's laagveengebied en droogmakerijen, vormt het plangebied potentieel geschikt habitat voor de soorten genoemd in bijlage 2 van dit besluit.

Beleidslijn Tijdelijke Natuur

In de praktijk blijkt dat grondeigenaren, bouwers en projectontwikkelaars het niet aandurven om tijdelijke natuurontwikkeling op hun terreinen toe te staan. Ondanks dat de meeste soorten die van tijdelijke natuur profiteren niet beschermd zijn, proberen grondeigenaren en projectontwikkelaars tot op heden dergelijke natuur toch buiten de deur te houden vanwege het risico dat zich ook beschermde soorten vestigen.

Voor het verwijderen van beschermde soorten is ontheffing ex artikel 75 van de Flora- en faunawet vereist. Beschermde soorten kunnen (indien hier geen rekening mee is gehouden) daarom bouwplannen tenminste ophouden, hetgeen extra kosten met zich mee brengt. Vaak zouden in dat geval de bouwplannen moeten worden gewijzigd en worden compenserende maatregelen voorgeschreven. In een enkel geval kan een project zelfs geen doorgang vinden. Daarom wordt gepoogd om dergelijke natuur weg te houden. Het ontstaan van nieuwe natuur wordt zodoende tegen gegaan, wat niet de bedoeling is geweest van de wetgever (Ministerie van Economische Zaken).

Het Ministerie van Economische Zaken heeft daarom de concept beleidslijn Tijdelijke Natuur opgesteld. In deze concept beleidslijn worden de mogelijkheden verkend om binnen de bestaande wettelijke kaders tijdelijke natuur een kans te geven zich te ontwikkelen en de mogelijkheid te bieden dergelijke natuur ook weer te ruimen, wanneer het betreffende terrein zijn uiteindelijke definitieve bestemming krijgt.

Wat wordt onder Tijdelijke Natuur verstaan: natuur op terreinen die een andere bestemming hebben dan natuur. Deze bestemming ligt vast, maar is nog niet gerealiseerd en er vindt tussen het vaststellen van de bestemming en de daadwerkelijke realisatie van de bestemming spontane of geleidelijke natuurontwikkeling plaats.

**Rijksdienst voor
Ondernemend Nederland**

Datum
14 augustus 2015

**Onze referentie
aanvraagnummer**
5190014755700

Tijdelijke Natuur is met name van belang voor pioniersoorten en vroege soorten, die afhankelijk zijn van dynamiek in het landschap en die in een volgend stadium van natuurlijke successie vanzelf verdwijnen. Tijdelijke Natuur kan permanente winst zijn. Soorten kunnen zich in het tijdelijke gebied versterken en van daaruit nieuwe terreinen bezetten.

Binnen Tijdelijke Natuur is gebruik gemaakt van de biogeografische kaart van Nederland en bijbehorende soortenlijst. Voor alle biogeografische regio's is de vestigingskans per beschermde soort onderzocht. Deze soortenlijst geeft per biogeografische regio een indicatie welke soorten zich in een gebied voor Tijdelijke Natuur zouden kunnen vestigen.

Overwegingen

Wettelijk kader

Beschermde soorten

De lijst met beschermde soorten volgt uit de biogeografische kaart en bijbehorende soortenlijst. De beschermde soortgroepen in de betrokken biogeografische regio zijn:

- beschermde inheemse plantensoorten als bedoeld in artikel 3, lid 1, van de Flora- en faunawet.
- beschermde inheemse diersoorten als bedoeld in artikel 4, lid 1, onder a, van de Flora- en faunawet.
- Vogels zijn beschermde inheemse diersoorten als bedoeld in artikel 4, lid 1, onder b, van de Flora- en faunawet. Voor vogels is alleen ontheffing nodig indien het nest valt onder de bescherming van artikel 11 van de Flora- en faunawet. Hieronder zal dit nader worden toegelicht.
- beschermde inheemse amfibieën en reptielen als bedoeld in artikel 4, lid 1, onder c, van de Flora- en faunawet.
- beschermde inheemse vissoorten als bedoeld in artikel 4, lid 1, onder d, van de Flora- en faunawet.
- beschermde inheemse insecten als bedoeld in artikel 4, lid 2, van de Flora- en faunawet.

Deze soorten kunnen tevens opgenomen zijn in:

- bijlage IV van de EU-Habitatrichtlijn, dier- en plantensoorten van communautair belang die strikt moeten worden beschermd.
- bijlage 1, behorende bij het Besluit vrijstelling beschermde dier- en plantensoorten.

Verbodsbepalingen

Op grond van artikel 8 en 13, lid 1, van de Flora- en faunawet is het onder meer verboden om beschermde inheemse plantensoorten te plukken, te verzamelen, af te snijden, uit te steken, te vernielen, te beschadigen, te ontwortelen of op enigerlei andere wijze van hun groeiplaats te verwijderen of te vervoeren en onder zich te hebben.

Op grond van de artikelen 11, 12 en 13, lid 1, van de Flora- en faunawet is het onder meer verboden om holen of andere voortplantings- of vaste rust- of verblijfplaatsen van beschermde inheemse diersoorten te beschadigen, te vernielen, uit te halen, weg te nemen of te verstoren; eieren van beschermde inheemse diersoorten te zoeken, te rapen, uit het nest te nemen, te beschadigen of te vernielen; te vervoeren en onder zich te hebben.

Voortplantings- of vaste rust- of verblijfplaatsen

Tot voortplantings- of vaste rust- of verblijfplaatsen als bedoeld in artikel 11 van de Flora- en faunawet worden locaties gerekend waarin zich kraamkolonies, paarverblijven, overwinteringsplaatsen en verblijven van groepen mannetjes bevinden, afhankelijk van de soort. Essentiële migratie- en vliegroutes en foerageergebieden die van belang zijn voor de instandhouding van een voortplantings- of vaste rust- of verblijfplaats van de soort op populatieniveau, vallen hier ook onder. Daarnaast vallen ook tijdelijke, seizoensgebonden, verblijfplaatsen (bijvoorbeeld nesten, holen, burchten) of standplaatsen die van belang zijn voor de gunstige staat van instandhouding van een soort op populatieniveau of per exemplaar hieronder.

Vogelnest

Het nest van een vogel is de plaats of ruimte die een vogel gebruikt voor het leggen en uitbroeden van de eieren en, voor zover het geen nestvlieders betreft, het grootbrengen van de jongen. In de context van artikel 11 van de Flora- en faunawet moet onder nest ook de inhoud en de functionele omgeving daarvan, voor zover het broedsucces van vogels daarvan afhankelijk is, worden begrepen. Daartoe zijn alle activiteiten begrepen die het broedsucces negatief beïnvloeden of teniet doen. Artikel 11 van de Flora- en faunawet is gedurende het broedseizoen van toepassing op alle in gebruik zijnde nesten van vogels. De meeste vogels maken elk broedseizoen een nieuw nest of zijn in staat een nieuw nest te maken en gebruiken hun nest niet als vaste rust- of verblijfplaats. Dergelijke nesten voor eenmalig gebruik genieten buiten het broedseizoen niet de bescherming van artikel 11 van de Flora- en faunawet.

Nesten van de blauwe reiger (*Ardea cinerea*), boerenwaluw (*Hirundo rustica*), bonte vliegenvanger (*Ficedula hypoleuca*), boomklever (*Sitta europaea*), boomkruiper (*Certhia brachydactyla*), ekster (*Pica pica*), gekraagde roodstaart (*Phoenicurus phoenicurus*), glanskop (*Parus palustris*), grauwe vliegenvanger (*Muscicapa striata*), groene specht (*Picus viridis*), grote bonte specht (*Dendrocopos major*), huiswaluw (*Delichon urbicum*), kleine bonte specht (*Dendrocopos minor*), koolmees (*Parus major*), pimpelmees (*Parus caeruleus*), spreeuw (*Sturnus vulgaris*), torenvalk (*Falco tinnunculus*), zwarte kraai (*Corvus corone*), zwarte mees (*Parus ater*) en de zwarte roodstaart (*Phoenicurus ochruros*) vallen buiten het broedseizoen niet onder de definitie van het begrip nesten in artikel 11 van de Flora- en faunawet. Dit type wordt niet weer in gebruik genomen en is dus buiten het broedseizoen niet van belang voor de instandhouding van soorten. Derhalve is ontheffing hiervoor niet aan de orde.

Het verstoren van broedgevallen van deze vogelsoorten (opgenomen in de lijst met biogeografische regio's) dient voorkomen te worden door werkzaamheden buiten de broedperiode van de aanwezige soorten uit te voeren. Tevens kunnen voorbereidende maatregelen worden getroffen om te voorkomen dat vogels tot broeden kunnen komen binnen het plangebied.

**Rijksdienst voor
Ondernemend Nederland**

Datum
14 augustus 2015

Onze referentie
aanvraagnummer
5190014755700

Sommige nesten van vogels vallen ook buiten het broedseizoen onder de definitie van 'vaste rust- of verblijfplaatsen' in artikel 11 van de Flora- en faunawet. Deze nesten zijn daarom, voor zover ze niet permanent verlaten zijn, jaarrond beschermd. Een lijst van aangevraagde vogelsoorten met een jaarrond beschermde nest is opgenomen in bijlage 2 bij dit besluit gevoegd.

Afwijzing artikel 13, lid 1, van de Flora- en faunawet

U heeft ontheffing aangevraagd van de verbodsbepalingen genoemd in artikel 13, lid 1, van de Flora- en faunawet voor zover dit het vervoeren en onder zich hebben van de rietorchis en de wilde marjolein betreft. U heeft hiervoor echter geen ontheffing van het betreffende artikel nodig, omdat het vervoeren valt onder artikel 8 van de Flora- en faunawet. Slechts als soorten niet binnen een redelijke termijn worden teruggeplaatst, heeft u ontheffing nodig van artikel 13, lid 1, van de Flora- en faunawet.

Afwijzing artikel 12 van de Flora- en faunawet

U heeft ontheffing aangevraagd van de verbodsbepalingen genoemd in artikel 12 van de Flora- en faunawet voor zover dit het zoeken, rapen, uit het nest nemen, beschadigen of vernielen van eieren van de rugstreepad en de waterspitsmuis betreft. Het is echter niet toegestaan om de voortplantingsperiode van de genoemde soorten werkzaamheden uit te voeren. U dient te wachten tot na deze periode. De meest geschikte periode voor de uitvoering van de werkzaamheden dient te worden bepaald door een deskundige op het gebied van de rugstreepad. Ontheffing is niet aan de orde. De waterspitsmuis legt geen eieren, waardoor dit artikel niet van toepassing is voor wat betreft de waterspitsmuis.

Afwijzing artikel 13, lid 1, van de Flora- en faunawet

U heeft ontheffing aangevraagd van de verbodsbepalingen genoemd in artikel 13, lid 1, van de Flora- en faunawet voor zover dit het vangen en vervoeren van de rugstreepad en de waterspitsmuis betreft. U heeft hiervoor echter geen ontheffing nodig, omdat het niet de bedoeling is deze soort definitief aan de natuur te onttrekken en onder u te houden, maar te verplaatsen binnen hun natuurlijke leefomgeving. Slechts als soorten niet binnen een redelijke termijn worden teruggeplaatst, heeft u ontheffing nodig van artikel 13, lid 1, van de Flora- en faunawet. De zorgplicht uit artikel 2 van de Flora- en faunawet is wel van toepassing.

Ontheffing

Op grond van artikel 75, lid 5, van de Flora- en faunawet worden ontheffingen slechts verleend wanneer er geen afbreuk wordt gedaan aan een gunstige staat van instandhouding van de soort. Op grond van artikel 75, lid 6, aanhef en onder c, wordt voor soorten genoemd op bijlage IV van de Habitatrichtlijn, de Vogelrichtlijn en/of bijlage 1 van het Besluit vrijstelling beschermde dier- en plantensoorten¹ ontheffing slechts verleend wanneer er, naast de voorwaarde dat geen afbreuk wordt gedaan aan een gunstige staat van instandhouding van de soort, geen andere bevredigende oplossing bestaat en met het oog op andere, bij algemene maatregel van bestuur aan te wijzen, belangen. De belangen waarnaar verwezen wordt, zijn genoemd in artikel 2, lid 3 van het Besluit vrijstelling beschermde dier- en plantensoorten.

Instandhouding van de soorten

Er bestaat een kans dat de soorten zich binnen de looptijd van de ontheffingsperiode van Tijdelijke Natuur in het plangebied kan gaan vestigen. Het concept 'tijdelijke natuur' zal succesvol zijn als soorten daadwerkelijk de kans krijgen om zowel het gebied te koloniseren, als vanuit het gebied nieuwe gebieden te koloniseren.

Daarom is het van belang dat de soorten waarvoor ontheffing wordt verleend gedurende de periode dat Tijdelijke Natuur wordt toegestaan, de kans krijgen het gebied te kunnen koloniseren en/of zich kunnen verspreiden vanuit het plangebied naar de omgeving.

Vóórafgaand aan het in gebruik nemen van het terrein dienen een aantal mitigerende maatregelen te worden genomen, die alle voortvloeien uit de zorgplicht, zoals genoemd in artikel 2 van de Flora- en faunawet. Deze maatregelen dienen te worden bepaald door een deskundige². Het uitvoeren van de werkzaamheden in de kwetsbare perioden van de eventueel voorkomende soort dienen te worden vermeden. Om deze maatregelen te kunnen uitvoeren dient vóóraf door een deskundige geïnventariseerd te worden of de soort aanwezig is in het plangebied. Bovenstaande mitigerende maatregelen dienen in een ecologisch werkprotocol te worden opgenomen.

¹ Besluit vrijstelling beschermde dier- en plantensoorten (Stb. 2000, 525), laatstelijk gewijzigd bij Stb.2012, 615.

² Het Ministerie van Economische Zaken verstaat onder een deskundige een persoon die voor de situatie en soorten ten aanzien waarvan hij of zij gevraagd is te adviseren en/of te begeleiden, aantoonbare ervaring en kennis heeft op het gebied van soortspecifieke ecologie. De ervaring en kennis dient te zijn opgedaan doordat de deskundige:

- op HBO-, dan wel universitair niveau een opleiding heeft genoten met als zwaartepunt (Nederlandse) ecologie; en/of
- op MBO niveau een opleiding heeft afgerond met als zwaartepunt de Flora- en faunawet, soortenherkenning en zorgvuldig handelen ten opzichte van die soorten; en/of
- als ecooloog werkzaam is voor een ecologisch adviesbureau, zoals bijvoorbeeld een bureau welke is aangesloten bij het Netwerk Groene Bureaus; en/of
- zich aantoonbaar actief inzet op het gebied van de soortenbescherming en is aangesloten bij en werkzaam voor de daarvoor in Nederland bestaande organisaties (zoals bijvoorbeeld Zoogdierverseniging, RAVON, Stichting Das en Boom, Vogelbescherming Nederland, Vlinderstichting, Natuurhistorisch Genootschap, KNNV, NJN, IVN, EIS Nederland, FLORON, SOVON, STONE, Staatsbosbeheer, Natuurmonumenten, De Landschappen en Stichting Beheer Natuur en Landelijk gebied) en/of
- zich aantoonbaar actief inzet op het gebied van de soortenmonitoring en/of - bescherming.

Dit ecologisch werkprotocol dient op de locatie aanwezig te zijn en onder betrokken werknemers bekend te zijn. Werkzaamheden dienen conform dit protocol te worden uitgevoerd.

**Rijksdienst voor
Ondernemend Nederland**

Datum

14 augustus 2015

**Onze referentie
aanvraagnummer
5190014755700**

De gunstige staat van instandhouding van de in bijlage 2 genoemde soorten komt niet in gevaar, mits gewerkt wordt conform de bovengenoemde maatregelen en volgens de overige in de ontheffing opgelegde voorwaarden.

Belang van de ingreep

U heeft ontheffing van verbodsbepalingen aangevraagd op grond van het belang: 'De bescherming van flora en fauna'. Tijdelijke Natuur draagt bij aan de duurzame instandhouding van de inheemse flora en fauna; het biedt mogelijkheden om de verspreiding van soorten te bevorderen. Met name pioniersoorten en vroege soorten die afhankelijk zijn van dynamiek in het landschap, zullen profiteren. In een volgend stadium van natuurlijke successie zullen deze soorten vanzelf verdwijnen, maar zal het gebied ruimte bieden aan andere beschermde soorten.

Tijdelijke natuur kan daarom een permanente winst zijn. Soorten kunnen zich in het tijdelijke gebied versterken en van daaruit nieuwe terreinen bezetten. Het belang waarop ontheffing wordt verleend is de bescherming van de flora en fauna. Gelet op het voorgaande en door het treffen van de in de ontheffing genoemde maatregelen ben ik van oordeel dat het verbeteren van de situatie voor de eerdergenoemde soorten van een zodanig belang is dat de negatieve effecten op beschermde dier- en plantensoorten die als gevolg van de opruiming van de Tijdelijke natuur zullen optreden rechtvaardigen.

Andere bevredigende oplossing

Een alternatievenafweging is niet aan de orde. De terreinen waar nu natuur wordt geweerd kunnen door het toestaan van natuurontwikkeling de kans krijgen zich te ontwikkelen tot biotopen waar allerlei soorten flora en fauna profijt van kunnen hebben. De alternatievenafweging ziet dan meer toe op de te treffen maatregelen in het kader van de zorgplicht. Hiermee is het voldoende aangetoond dat geen andere bevredigende oplossing voorhanden is.

Overige soorten

De ontheffing geldt voor de soorten die in bijlage 2 zijn genoemd. Het is echter mogelijk dat zich in de toekomst soorten gaan vestigen die niet in deze ontheffing zijn genoemd of die hierboven zijn afgewezen. Als soorten worden aangetroffen op welke deze ontheffing geen betrekking heeft moet u deze melden bij Rijksdienst voor Ondernemend Nederland. De ontheffing zal dan worden aangepast.

Zorgplicht

Voor de soort waarvoor ik u ontheffing verleen, bent u gehouden aan de in de ontheffing opgenomen voorschriften. Voor alle soorten echter, geldt de zorgplicht ex artikel 2 van de Flora- en faunawet, die van toepassing is op zowel beschermde als onbeschermde dier- en plantensoorten, ongeacht vrijstelling of ontheffing. Op grond hiervan dient u zoveel als redelijkerwijs mogelijk is schade aan deze soorten te voorkomen.

Vogels

U dient gedurende de werkzaamheden rekening te houden met het broedseizoen van vogels. Verstoring van broedgevallen van vogels dient te worden voorkomen. Voor de in het plangebied te verwachten vogelsoorten kan dit plaatsvinden door werkzaamheden buiten de broedperiode van aanwezige soorten uit te voeren. Tevens kunnen voorbereidende maatregelen worden getroffen om te voorkomen dat vogels tot broeden kunnen komen binnen het plangebied. Ik wijs u erop dat voor het broedseizoen geen standaardperiode wordt gehanteerd in het kader van de Flora- en faunawet. Van belang is of een broedgeval aanwezig is, ongeacht de periode.

Conclusie

Gelet op het voorgaande verleen ik u ontheffing ex artikel 75 van de Flora- en faunawet. Aan deze ontheffing zijn voorschriften verbonden.

De ontheffing en de voorschriften treft u hierbij aan.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief digitaal of schriftelijk een bezwaarschrift indienen. De datum bovenaan deze brief is de verzenddatum.

Een digitaal bezwaarschrift kunt u indienen via mijn.rvo.nl/bezwaar. Als u schriftelijk bezwaar wilt maken, stuurt u het ondertekende bezwaarschrift naar de Rijksdienst voor Ondernemend Nederland, afdeling Juridische Zaken, postbus 40219, 8004 DE Zwolle.

Vermeld in uw bezwaarschrift in ieder geval onze referentie, het briefkenmerk en de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt. U vindt onze referentie en het briefkenmerk in de rechter kantlijn van deze brief.

Meer informatie

Heeft u nog vragen, kijk dan op onze website mijn.rvo.nl. Of bel ons: 088 042 42 42 (lokaal tarief).

Met vriendelijke groet,

De Staatssecretaris van Economische Zaken,
namens deze:


Marco Klaassen

De teammanager Vergunningen Rijksdienst voor Ondernemend Nederland

**Rijksdienst voor
Ondernemend Nederland**

Datum
14 augustus 2015

Onze referentie
aanvraagnummer
5190014755700



ONTHEFFING

Naar aanleiding van het verzoek van heer R. van Loenen op 22 december 2014, namens de Gemeente Pijnacker-Nootdorp en de aanvulling hierop van 12 augustus 2015

gelet op artikel 75, lid 3, van de Flora- en faunawet

Verleent de Staatssecretaris¹ van Economische Zaken hierbij aan:

Naam: Gemeente Pijnacker-Nootdorp (hierna: ontheffinghouder)
Adres: Oranjeplein 1
Postcode en woonplaats: 2641 EZ PIJNACKER

Ontheffing **5190014755700** voor het tijdvak van: 14 augustus 2015 tot en met 1 januari 2025

Van de verbodsbepalingen genoemd in artikel 8 van de Flora- en faunawet voor zover dit betreft het uitsteken, vernielen, beschadigen, ontwortelen of op enigerlei andere wijze van de groeiplaats verwijderen van de drijvende waterweegbree (*Luronium natans*), groenknolorchis (*Liparis loeselii*), rietorchis (*Dactylorhiza praetermissa*) en de wilde marjolein (*Origanum vulgare*), alsmede van de verbodsbepalingen genoemd in artikel 11 van de Flora- en faunawet voor zover dit betreft het beschadigen, vernielen of verstoren van nesten, holen of andere voortplantings- of vaste rust- of verblijfplaatsen van verschillende zoogdieren, vogels met jaarrond beschermde nesten, amfibieën, reptielen, vissen en insecten zoals aangegeven op de lijst van de biogeografische regio's. Een volledige soortenlijst is als bijlage 2 bij dit besluit gevoegd.

Het gebied waarvoor de ontheffing geldt, betreft het plangebied voor de realisatie van het project 'Tijdelijke Natuur - Keizershof, Ackerswoude, Tuindershof te Pijnacker', gelegen in de wijken Keizershof, Ackerswoude en Tuindershof te Pijnacker, één en ander zoals is weergegeven op de afbeeldingen 1 en 2 van het bij de aanvraag gevoegde bijlage 'Activiteitenplan Tijdelijke Natuur'.

Aan deze ontheffing zijn de volgende voorschriften verbonden:

Algemene voorschriften

1. De ontheffing wordt slechts voor de soorten die zijn opgenomen in de bijlage, en beschreven verboden handelingen verleend.
2. Deze ontheffing geldt alleen voor de werkzaamheden die conform de aanvraag worden uitgevoerd, voor zover in deze ontheffing zelf niet anders is aangegeven.
3. De ontheffinghouder dient onverwijld contact op te nemen met Rijksdienst voor Ondernemend Nederland indien bij het uitvoeren van de werkzaamheden van het project andere beschermde soorten dan de genoemde worden aangetroffen of andere handelingen als bedoeld in voorschrift 1 noodzakelijk zijn.
4. Deze ontheffing kan uitsluitend gebruikt worden door (medewerkers van) de ontheffinghouder of in opdracht van de ontheffinghouder handelende (rechts-)personen. De ontheffinghouder blijft daarbij verantwoordelijk en aansprakelijk voor de juiste naleving van deze ontheffing.

¹ Krachtens de wettekst is de Minister bevoegd tot het afgeven van een ontheffing ex artikel 75 van de Flora- en faunawet. Op basis van de portefeuillevindeling tussen de Minister van EZ en de Staatssecretaris van EZ is deze bevoegdheid belegd bij de Staatssecretaris.

5. Tijdens de uitvoering van de werkzaamheden dient een afschrift van deze ontheffing en de bijbehorende brief op de locatie van de werkzaamheden aanwezig te zijn en op verzoek te worden getoond aan de daartoe bevoegde toezichthouders of opsporingsambtenaren.
6. De ontheffinghouder dient, zodra de datum waarop de werkzaamheden zullen aanvangen bekend is, het bijgevoegde meldingsformulier volledig in te vullen en naar Rijksdienst voor Ondernemend Nederland te zenden.

Specifieke voorschriften

7. U dient, met in achtneming van onderstaande voorschriften, de maatregelen uit te voeren zoals beschreven in hoofdstuk 4 van de bij de aanvraag toegevoegde bijlage 'Activiteitenplan Tijdelijk Natuur' (bijlage 3 bij dit besluit).
8. Maatregelen die ertoe leiden dat de kans op kolonisatie door de soorten waarvoor ontheffing wordt verleend wordt verkleind, dienen zoveel mogelijk achterwege te worden gelaten vanaf het begin van de ontheffingsperiode tot het moment van ingebruikname van het plangebied.
9. Maatregelen die ertoe leiden dat de kans op verspreiding vanuit het plangebied naar de omgeving, van de soorten waarvoor ontheffing wordt verleend wordt verkleind, dienen zoveel mogelijk achterwege te worden gelaten vanaf het begin van de ontheffingsperiode tot het moment van ingebruikname van het plangebied.
10. Vóór de aanvang van het gebruik van het plangebied dient een inventarisatie te worden uitgevoerd van de eventueel in het gebied voorkomende soorten waarvoor ontheffing is verleend. De methodologie van deze inventarisatie dient afgestemd te zijn op de soorten die redelijkerwijs kunnen worden verwacht in het gebied, gebaseerd op de bij de aanvraag toegevoegde biotooianalyse.
11. Op basis van de inventarisatie dienen maatregelen te worden opgesteld die schade aan planten en dieren zo veel mogelijk dienen te worden voorkomen of tot een minimum te beperken. Hiertoe dienen onderstaande voorwaarden te worden uitgevoerd:
 - a. In het plangebied aangetroffen soorten dienen op zorgvuldige wijze te worden verplaatst naar een geschikt biotoop in de directe omgeving van het plangebied.
 - b. Bij de planning van de werkzaamheden dient rekening gehouden te worden met de seizoensactiviteiten van de soorten waarvoor ontheffing wordt verleend, om verstoring in de meest kwetsbare perioden (voortplanting, winterrust) te voorkomen. De geschiktheid van de periode voor het uitvoeren van de werkzaamheden dient te worden bepaald door een deskundige² op het gebied van de betreffende soorten.
 - c. Voorafgaand aan de werkzaamheden dient, indien de soort aanwezig is, de groeiplaats, vaste rust- of verblijfplaats en/of het foerageergebied van de betreffende soort op het juiste moment (buiten de kwetsbare periode van die soort) ongeschikt gemaakt te worden, om herkolonisatie tegen te gaan. Dit dient onder begeleiding van een deskundige van de betreffende soort(en) uitgevoerd te worden.

² Het Ministerie van Economische Zaken verstaat onder een deskundige een persoon die voor de situatie en soorten ten aanzien waarvan hij of zij gevraagd is te adviseren en/of te begeleiden, aantoonbare ervaring en kennis heeft op het gebied van soortspecifieke ecologie. De ervaring en kennis dient te zijn opgedaan doordat de deskundige:

- op HBO-, dan wel universitair niveau een opleiding heeft genoten met als zwaartepunt (Nederlandse) ecologie; en/of
- op MBO niveau een opleiding heeft afgerond met als zwaartepunt de Flora- en faunawet, soortenherkenning en zorgvuldig handelen ten opzichte van die soorten; en/of
- als ecooloog werkzaam is voor een ecologisch adviesbureau, zoals bijvoorbeeld een bureau welke is aangesloten bij het Netwerk Groene Bureaus; en/of
- zich aantoonbaar actief inzet op het gebied van de soortenbescherming en is aangesloten bij en werkzaam voor de daarvoor in Nederland bestaande organisaties (zoals bijvoorbeeld Zoogdierverseniging, RAVON, Stichting Das en Boom, Vogelbescherming Nederland, Vlinderstichting, Natuurhistorisch Genootschap, KNNV, NJN, IVN, EIS Nederland, FLORON, SOVON, STONE, Staatsbosbeheer, Natuurmonumenten, De Landschappen en Stichting Beheer Natuur en Landelijk gebied) en/of
- zich aantoonbaar actief inzet op het gebied van de soortenmonitoring en/of -bescherming.

12. Alle mitigerende maatregelen dienen te worden uitgevoerd onder begeleiding van een deskundige op het gebied van de soorten waarvoor ontheffing is verleend.
13. Bovenstaande mitigerende maatregelen dienen in een ecologisch werkprotocol te worden opgenomen. Dit ecologisch werkprotocol dient op de locatie aanwezig te zijn en onder betrokken werknemers bekend te zijn. Werkzaamheden dienen conform dit protocol te worden uitgevoerd.
14. Er dient te worden gemonitord welke soorten (wettelijk beschermd) op welke wijze gebruik maken van het terrein. Een eindrapport dient onmiddellijk na het aflopen van de geldigheidstermijn van deze ontheffing te worden overlegd.

Overige voorschriften

15. Deze ontheffing kan worden ingetrokken, indien blijkt dat de ontheffinghouder zich niet houdt aan de voorschriften.
16. Indien blijkt dat de in de ontheffing gestelde termijn niet voldoende is om de werkzaamheden waarop de ontheffing betrekking heeft uit te voeren, dient u, zeker vier maanden voor het verstrijken van deze termijn een nieuwe aanvraag indienen. Dit voorkomt onnodige vertraging van het project.
17. Aanspreekpunt in het kader van deze ontheffing en de daaruit voortvloeiende voorschriften is Rijksdienst voor Ondernemend Nederland, Postbus 40225, 8004 DE Zwolle.

Den Haag, 14 augustus 2015

De Staatssecretaris van Economische Zaken,
namens deze:



Merce Klaassen
De Teammanager vergunningen Rijksdienst voor Ondernemend Nederland

Ma TFC Smits

beschermde soorten. Geef aan hoe u aan deze verplichtingen voldoet.

Vogels met een jaarrond beschermd nest en vaste rust- en verblijfplaatsen van vleermuizen

Ruim een jaar voor aanvang van de werkzaamheden zal een broedvogelinventarisatie en een vleermuisonderzoek worden uitgevoerd. Naar aanleiding van de resultaten worden mitigerende maatregelen genomen en zal indien nodig een ontheffing worden aangevraagd om overtredingen van de Flora- en faunawet te voorkomen.

Algemene broedvogels

- Broedende vogels mogen niet verstoord worden. Indien noodzakelijk, worden voorafgaand aan het broedseizoen maatregelen (zoals het verwijderen van begroeiing) genomen, om te voorkomen dat vogels gaan broeden in het projectgebied. Wanneer dit niet mogelijk is zullen voor broedvogels verstorende werkzaamheden buiten het broedseizoen worden uitgevoerd.
- Bij twijfel of broedvogels aanwezig zijn wordt het projectgebied en de directe omgeving voor de start van de werkzaamheden ('invloedsfeer van de werkzaamheden') gecontroleerd op broedvogels. Indien broedende vogels aanwezig zijn, is het aan een deskundige om te bepalen of de werkzaamheden kunnen worden uitgevoerd.

Kleine modderkruiper

Voor het realiseren van de woonwijken worden sloten gedempt. Hierdoor wordt het leefgebied van de kleine modderkruiper vernietigd. Om de gunstige staat van instandhouding van de kleine modderkruiper te waarborgen worden mitigerende maatregelen genomen. Deze maatregelen worden beschreven in de volgende paragraaf. Voor het dempen van watergangen is reeds een ontheffing (referentienummer: FF/7582014/0386) afgegeven. De werkzaamheden zullen worden uitgevoerd conform de maatregelen zoals worden opgenomen in de afgegeven ontheffing. Mitigerende maatregelen worden opgenomen in een ecologisch werkprotocol. De kleine modderkruipers zullen voorafgaand aan het dempen van sloten worden gevangen en elders worden uitgezet.

4 Maatregelen

4.1 Welke maatregelen neemt u voordat u de uiteindelijke bestemming gaat realiseren?

Beschrijf de mitigerende maatregelen die u gaat nemen. Besteed daarbij ook aandacht aan planning en fasering.

Toelichting: Als u het terrein in gebruik neemt om de uiteindelijke bestemming te realiseren, moet u mitigerende maatregelen nemen. Met het nemen van mitigerende maatregelen geeft u invulling aan de zorgplicht.

Beantwoord deze vraag per soort (-groep).

Maakt u gebruik van een gedragscode? Geef dan aan welke gedragscode u wilt gebruiken.

Rugstreppadden

De gebieden waar in de nabije toekomst ruimtelijke ingrepen plaats zullen gaan vinden worden een seizoen voor aanvang van de werkzaamheden gemonitord op de aanwezigheid van rugstreppadden. Met de resultaten van de monitoring kunnen passende vervolgstappen worden uitgevoerd. Zo zullen er geen verstorende werkzaamheden worden uitgevoerd tijdens de gevoelige periode (het voortplantingsseizoen van de soort).

Ten behoeve van het vaststellen of uitsluiten van de aanwezigheid van de rugstreppad

worden drie veldbezoeken verspreid over het seizoen van april t/m midden juli uitgevoerd. Tijdens twee van deze bezoeken wordt op geschikte avonden geluisterd naar kooractiviteit. Met geschikte avonden worden relatief warme, windstille avonden en nachten bedoelt. Naast het luisteren naar kooractiviteiten worden geschikte watergangen onderzocht op eisnoeren en larven van de rugstreeppad in de maanden juni of juli.

Voorafgaand aan de werkzaamheden buiten de gevoelige periode zullen de eventueel aanwezige rugstreeppadden door een deskundig ecooloog worden weggevangen en elders worden uitgezet in een geschikt leefgebied.

Vogels met jaarrond beschermde nesten en vleermuizen

Op dit moment is nog niet duidelijk welke maatregelen ten aanzien van deze soortgroepen worden genomen omdat dit afhankelijk is van de aanwezige beschermde elementen. Naar aanleiding van het onderzoek naar het voorkomen van vogels met een jaarrond beschermd nest en vaste rust- en verblijfplaatsen van vleermuizen kan worden bepaald of het noodzakelijk is om mitigerende maatregelen te treffen en of een ontheffing voor overtreding van artikel 11 van de Flora- en faunawet nodig is.

Algemene broedvogels

Met de planning van de werkzaamheden wordt zoveel mogelijk rekening gehouden met het broedseizoen om te voorkomen dat verstoring van broedvogels optreedt. Bosschages en onderbegroeiing zullen voorafgaand aan het broedseizoen worden gerooid om te voorkomen dat vogels gaan broeden in het projectgebied. Indien er toch tijdens het broedseizoen broedvogels in het plangebied aanwezig kunnen zijn zal in overleg met een deskundig ecooloog worden besloten of er andere mitigerende maatregelen mogelijk zijn en of de werkzaamheden doorgang kunnen vinden.

Kleine modderkruiper en overige vissen

Voorafgaand aan het dempen van sloten worden de vissen (waaronder de kleine modderkruiper) conform de afgegeven ontheffing gevangen en elders uitgezet in geschikte sloten. Het leefgebied van de kleine modderkruiper wordt voorafgaand aan het dempen gecompenseerd door sloten te graven.

Wilde marjolein

Tijdens de bloeiperiode (in augustus) van de wilde marjolein worden alle geschikte gedeelten (zandige terreinen) van de tijdelijke natuurgebieden grondig onderzocht op het voorkomen van de wilde marjolein. Hierbij wordt gelet op bloeiende of vegetatieve exemplaren van de wilde marjolein.

Voorafgaand aan het bouwrijp maken van de terrein wordt tijdens de bloeiperiode van de wilde marjolein geïnventariseerd of de soort aanwezig is op het terrein. Indien er planten van deze soort op het terrein worden vastgesteld zullen deze worden verplaatst naar een elders geschikt biotoop.

Algemeen (Zorgplicht)

- Tijdens de werkzaamheden is men alert op het voorkomen van (beschermde) dieren op en rond het projectgebied. Bij het voorkomen van (beschermde) dieren, deze de tijd te gunnen om te kunnen vluchten.
- Indien men onverwachts zwaarder (Tabel 2 of 3) beschermde soorten aantreft die niet zijn vastgesteld tijdens de nulmeting (ecologische onderzoeken uit 2014) wordt in overleg met Rijksdienst voor Ondernemend Nederland bepaald of de soorten kunnen

worden verplaatst of dat mitigerende maatregelen nodig zijn;

- Bij twijfel over de aanwezigheid van beschermde soorten wordt de hulp van een deskundige in geroepen.

4.2 Hoe gaat u het terrein inventariseren?

Beschrijf hoe u het gebied gaat inventariseren op de al aanwezige soorten. Besteed daarbij ook aandacht aan planning en methode. De methode van inventarisatie moet u afstemmen op de soorten die u verwacht in het gebied.

Toelichting: Voordat u mitigerende maatregelen kunt uitvoeren, moet u eerst inventariseren welke soorten aanwezig zijn in het gebied.

Maakt u gebruik van een gedragscode? Geef dan aan welke gedragscode u wilt gebruiken.

Vogels met jaarrond beschermde nesten

In het voorjaar minimaal een jaar voor uitvoering van de werkzaamheden wordt een broedvogelinventarisatie uitgevoerd op basis van de Broedvogelmonitoring methode van Sovon. Op basis van geluidswaarnemingen worden de territoria van broedvogels in kaart gebracht. Hiervoor wordt vijf ochtendbezoeken bij zonsopkomst in april t/m juni uitgevoerd, met daartussen tenminste 10 dagen. Tevens wordt in deze periode één avondbezoek uitgevoerd.

Vaste rust- en verblijfplaatsen van vleermuizen

Om te bepalen of er vaste rust- en verblijfplaatsen van vleermuizen voorkomen wordt een vleermuisonderzoek conform de meest actuele versie van het vleermuisprotocol uitgevoerd.

5 Literatuur

5.1 Welke literatuur heeft u gebruikt?

Neem een literatuurlijst op van de documenten waarnaar u in dit activiteitenplan verwijst, zoals

- rapporten
- ontheffingen
- gedragscodes
- beleidsstukken.

Geef aan welke documenten u aan deze aanvraag heeft toegevoegd.

Literatuurlijst

- Ecologisch onderzoek bestaande uit een quickscan en een inventarisatie van vissen en rugstreeppadden, VanderHelm Milieubeheer B.V., d.d. 04-08-2014;
- Inventarisatie wilde marjolein, VanderHelm Milieubeheer B.V., d.d. 29-08-2014;
- Ecologische bevindingen inventarisatie waterspitsmuis, VanderHelm Milieubeheer B.V., d.d. 04-11-2014.
- Ontheffingsaanvraag ruimtelijke ingrepen Keijzershof, Ackerwoude en Tuinderhof te

Pijnacker, aanvraagnummer 5190014517494, d.d. 14-10-2014

- Toekenning ontheffing Ruimtelijke ingreep, kenmerk FF/ 75C/ 2014/ 0386.toek.5g, d.d. 11-11-2014

Bijlage 1: Kaarten bestemmingsplan

Bijlage 2: Ecologisch onderzoek

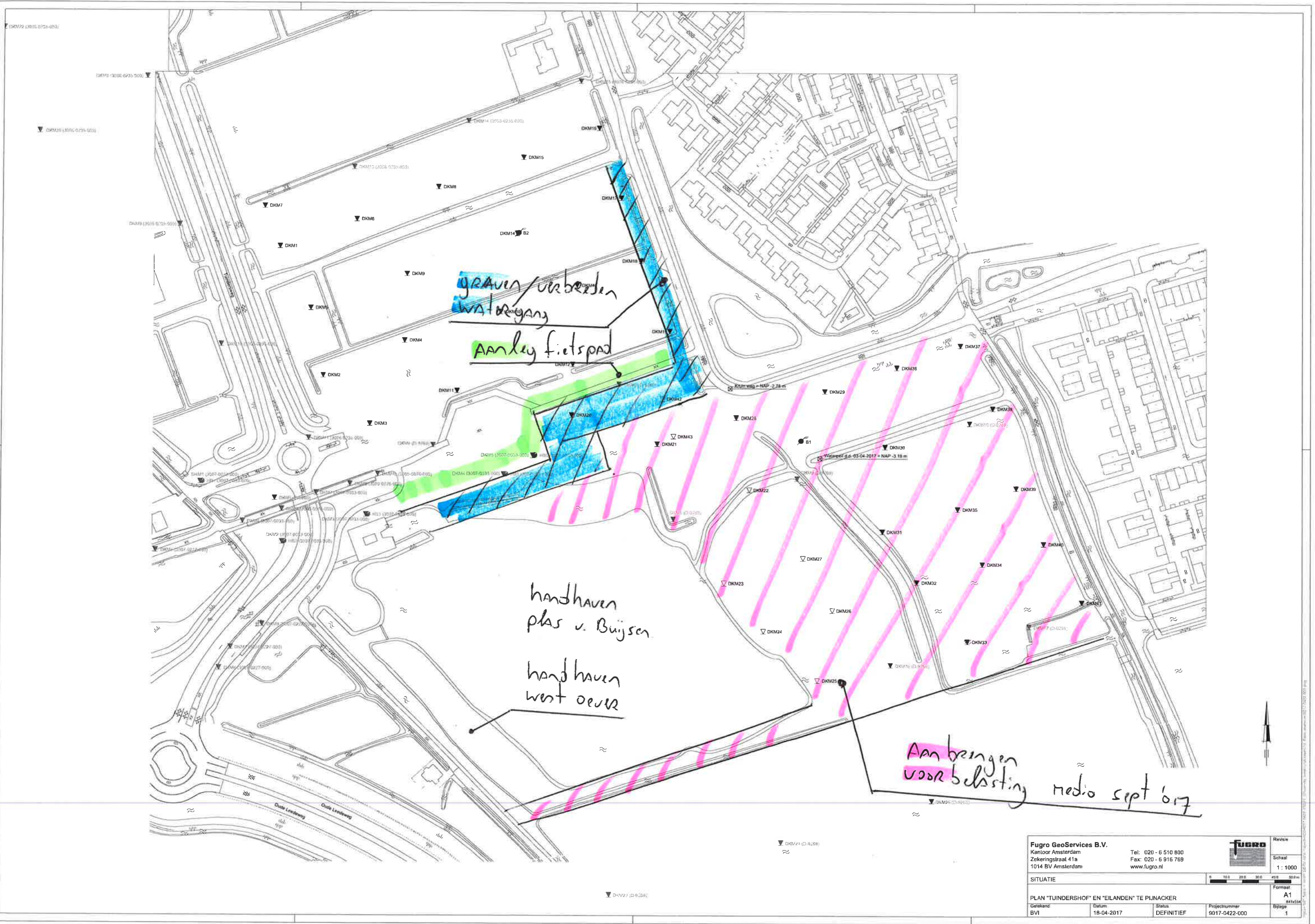
Bijlage 3: Onderzoek naar wilde marjolein

Bijlage 4: Onderzoek naar waterspitsmuis

Bijlage 5: Ontheffing Ruimtelijke ingreep voor kleine modderkruiper en rugstreeppad

BIJLAGE 4 TEKENING VOORBELASTING EN VOORLOPIG VERKAVELINGSPLAN





GRAVEN/verbreden
watergang

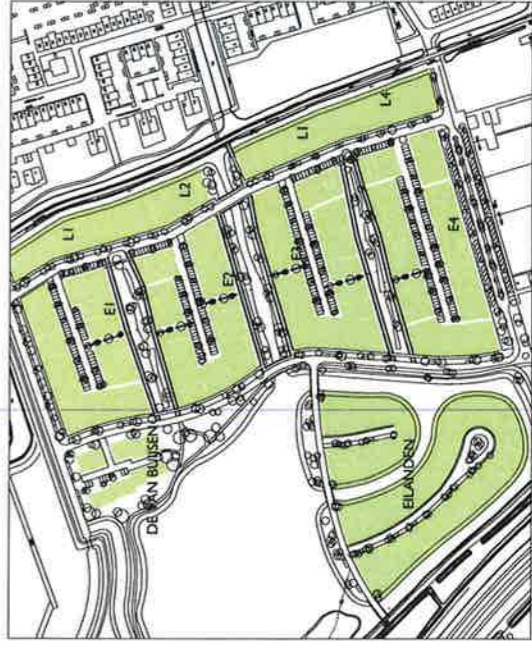
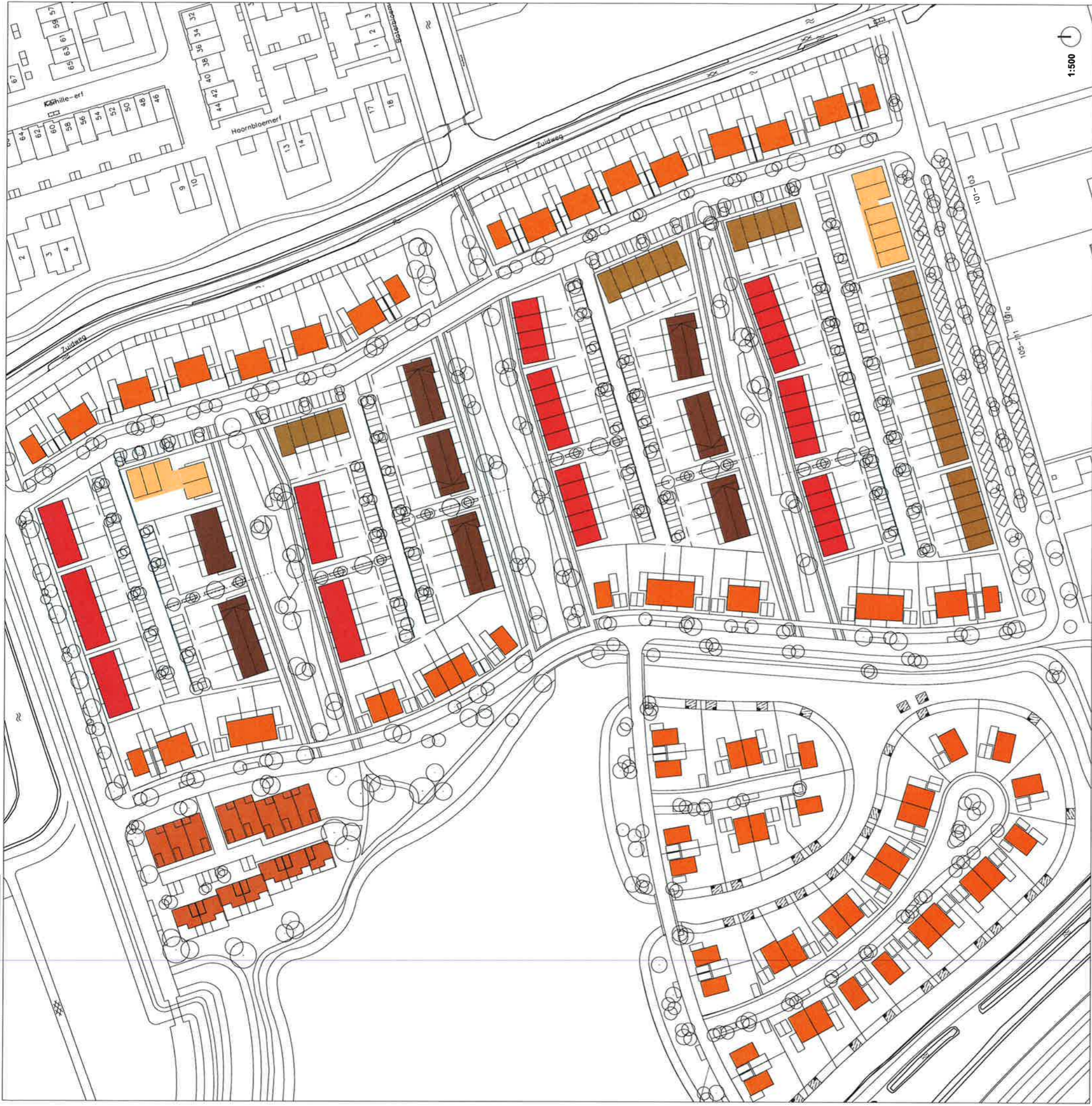
Aanleg fietspad

handhaven
plas v. Buijssen

handhaven
west oever

Aanbrengen
voorbetsing
medio sept '07

Fugro GeoServices B.V. Kantoor Amsterdam Zekeringsstraat 41a 1014 BV Amsterdam		Tel: 020 - 6 510 800 Fax: 020 - 6 916 769 www.fugro.nl			Revisie Schaal 1 : 1000
SITUATIE					
PLAN "TUINDERSHOF" EN "EILANDEN" TE PIJNACKER					Formaat A1
Geleend BVI	Datum 18-04-2017	Status DEFINITIEF	Projectnummer 9017-0422-000	Blz 1	1



UITGEEFBAAR	
E1 + L1	8.454m ²
E2 + L2	8.773m ²
E3 + L3	9.655m ²
E4 + L4	10.521m ²
DE VAN BUIJSSEN	1.651m ²
EILANDEN	14.271m ²
Totaal	53.325m²



WONINGTYPES	
patio's	15
tweekappers + vrijstaand	88
rij normaal	53
rij veranda	34
rij goedkoop	36
app goedkoop	24
Totaal	250



PARKEREN	
openbaar	71
privé	22
Totaal	93

norm	
E1 + L1	81
E2 + L2	75
E3 + L3	86
E4 + L4	115
DE VAN BUIJSSEN	28
EILANDEN	78

BIJLAGE 5 LAB RESULTATEN EDNA ANALYSE



eDNA onderzoek naar waterspitsmuis



Colofon

Titel	eDNA onderzoek naar waterspitsmuis.
Tekst, foto's en samenstelling	K. van Bochove
In opdracht van	Van der Helm
Naam opdrachtgever	M. Loeve
Rapportnummer	RA2017290-B
Datum oplevering rapport	27 november 2017
Aantal pagina's	8
Wijze van citeren	van Bochove K. 2017. eDNA onderzoek naar waterspitsmuis. Rapport RA2017290-B, Datura, Wageningen.
Laboratorium analist	J. Rook



Datura Molecular Solutions BV

Gevestigd te:

Johan Buziastraat 55
6708 NR Wageningen
Nederland

Postadres laboratorium:

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

0031(0)629455328

www.datura.nl

keesvanbochove@datura.nl

Inhoudsopgave

1. Doelstelling	4
2. Methode	4
2.1 Sampling.....	4
2.2 Laboratorium analyse watersamples	4
2.3 Laboratorium analyse bodemsamples	5
2.4 Kwaliteitswaarborging.....	5
2.4.1 Hoe vals positieve waarnemingen voorkomen worden	5
2.4.2 Hoe vals negatieve waarnemingen voorkomen worden	6
3. Resultaten.....	7

1. Doelstelling

Vaststellen van de aan- of afwezigheid van eDNA van waterspitsmuis (*Neomys fodiens*) in opdracht van Van der Helm.

2. Methode

2.1 Sampling

De bemonstering is uitgevoerd door Van der Helm.

2.2 Laboratorium analyse watersamples

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

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

2.3 Laboratorium analyse bodemsamples

De bodemsamples zijn geanalyseerd op de aanwezigheid van eDNA van waterspitsmuis. Het analyseren van een bodem eDNA sample vindt plaats in drie stappen. Eerst wordt het eDNA geconcentreerd in een pellet. Daarna volgt een extractie met een Qiagen Blood & Tissue kit. De inhibitietest en eDNA detectie wordt op dezelfde manier uitgevoerd als bij de watersamples (zie punt 2 en 3 in paragraaf 2.2).

2.4 Kwaliteitswaarborging

2.4.1 Hoe vals positieve waarnemingen voorkomen worden

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

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

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

Het voorkomen van vals positieve waarnemingen door het ontwerp en validatie van specifieke primers en probes:

1. Er wordt gebruik gemaakt van een **2-staps** qPCR protocol, hetgeen de kans op aspecifieke detectie verkleint;
2. Gebruik van zeer **specifieke primers** waarmee uitsluitend eDNA van de doelsoort gedetecteerd kan worden. De primers zijn ontwikkeld met behulp van specialistische software;
3. Een qPCR detectie wordt uitgevoerd met behulp van een zeer specifieke **probe**. Deze probe hecht uitsluitend aan DNA van de doelsoort, hetgeen resulteert in een fluorescent signaal;
4. De primers en de probe zijn in het laboratorium getest. Eerst is getest of de qPCR detectie inderdaad negatief resultaat geeft na het toevoegen van DNA van verwante soorten;
5. Vervolgens is de methode **gevalideerd** door het testen van veldsamples. Er zijn eDNA samples verzameld op locaties waar de doelsoort niet voorkomt. Er werd geen eDNA gedetecteerd in deze samples. Zodoende kon aangetoond worden dat de methode niet resulteert in positieve detectie als de doelsoort niet aanwezig is.

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

1. Verschillende onderdelen van de analyse workflow worden uitgevoerd in fysiek gescheiden laboratorium ruimtes. Het samenstellen van de eDNA sample kits en het voorbereiden van de qPCR reagentia vindt plaats in een **DNA clean room**. Dit is een ruimte waarin geen DNA samples aanwezig zijn. Zodoende kunnen we garanderen dat er geen DNA aanwezig is in de eDNA sample kits en de reagentia (zoals de primers en probes) die later gebruikt worden in de eDNA analyses. Het extraheren van de eDNA samples gebeurt in een **pre-PCR laboratorium**. Dit is een ruimte waarin uitsluitend lage concentraties DNA

aanwezig zijn. Vervolgens worden hier de eDNA samples samen met de qPCR reagentia in een 96-well plaat gepipetteerd. Deze plaat wordt luchtdicht afgesloten. Tenslotte wordt de qPCR uitgevoerd in een **post-PCR laboratorium**. In dit laboratorium wordt het eDNA vermeerderd en hier zijn dus hoge concentraties DNA aanwezig.

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

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

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

2.4.2 Hoe vals negatieve waarnemingen voorkomen worden

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

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

3. Resultaten

In geen van de samples is eDNA van waterspitsmuis gedetecteerd (tabel 1).

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

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

Samenvattend, de eDNA analyses zijn met succes uitgevoerd. Er is geen eDNA van de waterspitsmuis aangetroffen.

Tabel 1. Resultaten van eDNA analyse.

Sample nummer	Soort sample	Aantal positieve reacties waterspitsmuis
20012	Water	0/12
20011	Water	0/12
20010	Water	0/12
6165	Bodem	0/12
6168	Bodem	0/12
6166	Bodem	0/12
6161	Bodem	0/12
6164	Bodem	0/12

