

Soortgericht onderzoek boezembemaling Overwaard te Hardinxveld-Giessendam

Nader onderzoek naar het voorkomen van vleermuizen, gierzwaluw, huismus, kerkuil, steenuil, buizerd, boomvalk, havik, sperwer, kleine marterachtigen, heikikker, poelkikker, grote modderkruiper en platte schijfhoorn in het kader van de Omgevingswet



Sweco Nederland B.V.
Onderwerp

Soortgericht onderzoek boezembemaling
Overwaard te Hardinxveld-Giessendam

Projectnummer

51008778-029

Klant
Versie

Infram B.V./ Waterschap Rivierenland
C1

Datum

20-12-2024

Auteur

Joris van den Berg

Foto voorblad

© Waterschap Rivierenland

Document referentie

NL24-648800269-116641

Gecontroleerd door

Anne Paulusse



Vrijgegeven door

Peter Bergmans



Inhoudsopgave

1	Inleiding	4
1.1	Aanleiding	4
1.2	Voorgenomen werkzaamheden	4
1.3	Ligging en beschrijving onderzoeksgebied	6
2	Wettelijk kader Omgevingswet	9
2.1	Schadelijke handelingen Vogelrichtlijn (art. 11.37 Bal)	9
2.2	Schadelijke handelingen Habitatrichtlijn (art. 11.46 Bal)	10
2.3	Schadelijke handelingen Andere soorten (art. 11.54 Bal)	10
2.4	Specifieke zorgplicht	10
3	Soortgericht onderzoek	11
3.1	Vleermuizen	11
3.1.1	Methode	11
3.1.2	Resultaten	13
3.1.3	Effectbeoordeling	17
3.2	Vogels	20
3.2.1	Gierzwaluw	20
3.2.2	Huismus	21
3.2.3	Kerkuil	24
3.2.4	Steenuil	25
3.2.5	Buizerd	26
3.2.6	Boomvalk, havik en sperwer	28
3.3	Kleine marterachtigen	29
3.4	Amfibieën	32
3.4.1	Heikikker	32
3.4.2	Poelkikker	34
3.5	Grote modderkruiper	35
3.6	Platte schijfhoren	37
3.7	Overige soorten	38
4	Conclusie	39
4.1	Vleermuizen	39
4.2	Vogels	40
4.2.1	Gierzwaluw	40
4.2.2	Huismus	40
4.2.3	Kerkuil	41
4.2.4	Steenuil	41
4.2.5	Buizerd	41
4.2.6	Boomvalk, havik en sperwer	41
4.3	Kleine marterachtigen	41
4.4	Amfibieën	42
4.4.1	Heikikker	42
4.4.2	Poelkikker	42
4.5	Grote modderkruiper	42
	Referenties	43

Bijlage 1 Wet natuurbescherming: soortenbescherming

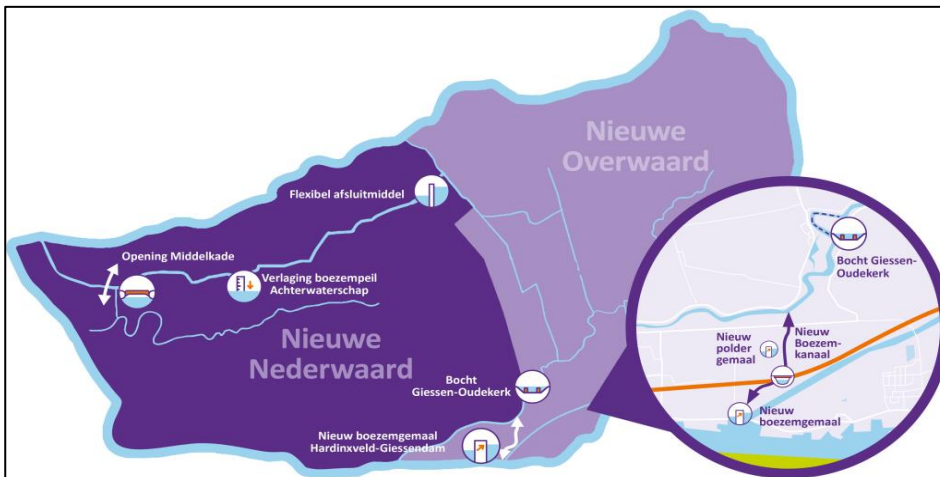
Bijlage 2 Tabellen met waarnemingen vleermuisonderzoek

Bijlage 3 Rapporten eDNA onderzoek heikikker, platte schijfhoren en grote modderkruiper

1 Inleiding

1.1 Aanleiding

Het Waterschap Rivierenland is met het Gebiedsprogramma A5H voornemens het watersysteem in de Alblasserwaard-Vijfheerenlanden toekomstbestendig te maken. Ten behoeve van de nieuwe indeling van de Overwaard en de Nederwaard zijn de realisatie van een nieuw boezemgemaal en kanaal bij Hardinxveld Giessendam beoogd (zie Figuur 1-1).



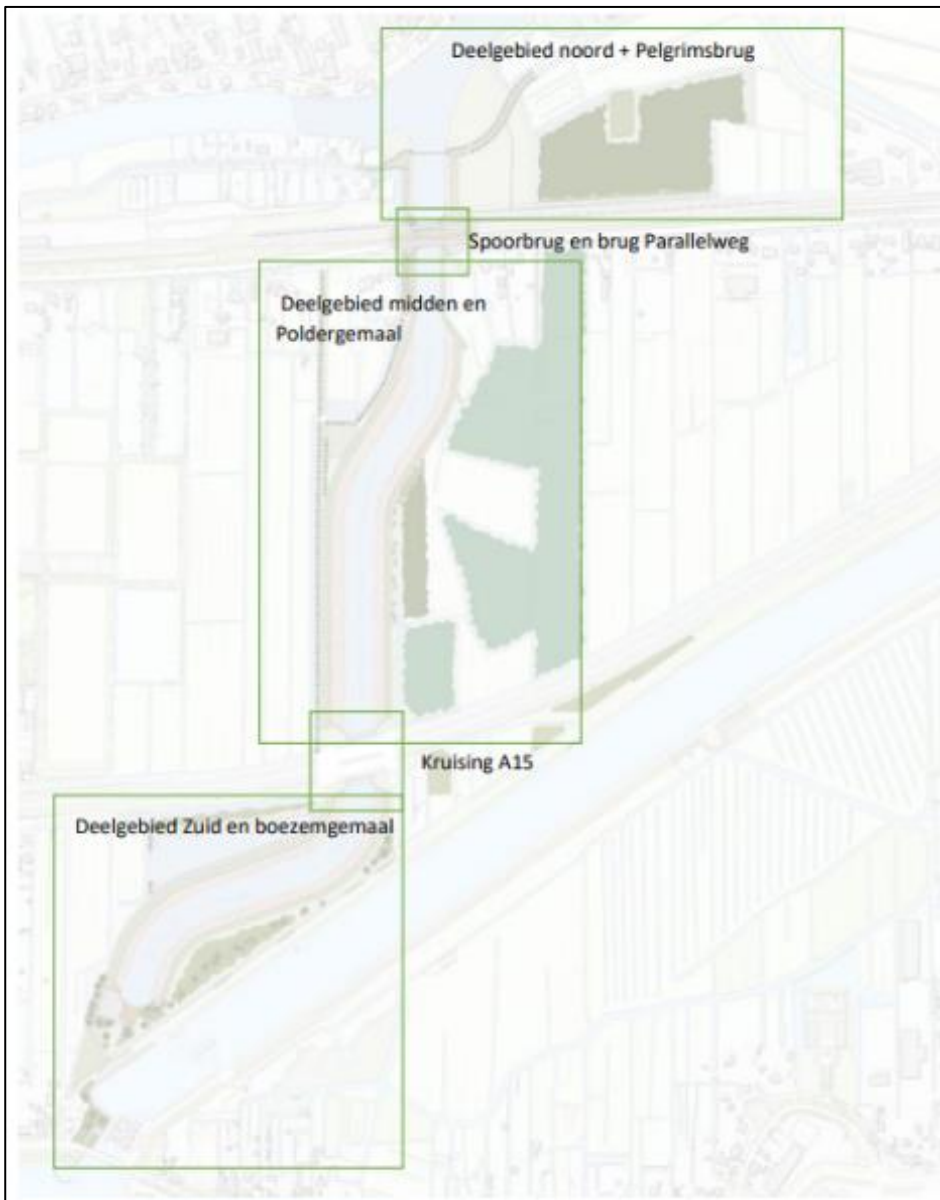
Figuur 1-1 Toekomstige indeling Alblasserwaard in Nieuwe Overwaard en Nieuwe Nederwaard met in de uitgelichte cirkel het projectgebied van "Nieuwe Waarden Alblasserwaard" (bron: Waterschap Rivierenland).

Uit het verkennend natuuronderzoek voor Overwaard (Sweco, 2024) blijkt dat in (de omgeving van) het projectgebied mogelijk beschermde functies van vleermuizen, gierzwaluw, huismus, kerkuil, steenuil, buizerd, boomvalk, havik, sperwer, grote modderkruiper en platte schijfhoren aanwezig zijn. Verder is vanuit de provincie Zuid-Holland het verzoek gekomen om aanwezigheid van heikikker en poelkikker bij de watergangen in het compensatiegebied in deelgebied Noord te inventariseren. Door de voorgenomen werkzaamheden worden bovengenoemde soorten en functies mogelijk aangetast, hetgeen schadelijke handelingen zijn onder artikel 11.46 lid 1a, 1b en 1d van de Omgevingswet.

Een soortgericht onderzoek is noodzakelijk om de aanwezigheid dan wel afwezigheid van bovengenoemde soorten aan te tonen. Bij aanwezigheid van een beschermde soort wordt inzichtelijk gemaakt welke functies het projectgebied voor de beschermde soort heeft. In dit rapport zijn de bevindingen van het onderzoek, uitgevoerd door Sweco Nederland B.V., beschreven.

1.2 Voorgenomen werkzaamheden

Het ontwerp van het nieuwe boezemkanaal, het boezemgemaal en de (inpassings-)maatregelen in de polder in Hardinxveld omvat de volgende deelgebieden: Deelgebied Noord, bruggen, deelgebied Midden, kruising A15 en deelgebied Zuid (zie Figuur 1-2). Het ontwerp wordt in de volgende paragrafen per deelgebied beschreven.



Figuur 1-2 Het ontwerpschets en deelgebieden toekomstige boezemkanaal.

Door het hele gebied legt het waterschap een faunapassage aan. Deze passage legt de verbinding tussen de Biesbosch en de Alblasserwaard. Doordat de nieuwe boezem het bestaande polderwatersysteem doorsnijdt, neemt het waterschap in alle deelgebieden maatregelen zodat het polderwatersysteem goed functioneert. Aan de westzijde van het boezemkanaal blijft het huidige systeem behouden; water wordt afgevoerd via de Molensloot door duikers onder het spoor en de Parallelweg. Deze route sluit aan op de bestaande A-watergangen.

Halverwege het boezemkanaal (in deelgebied Midden) komt een nieuw poldergemaal om water uit het westelijk polderwatersysteem op de nieuwe boezem af te wateren. Ter compensatie van het verlies aan bergingscapaciteit in het polderwatersysteem worden aan de westzijde van het boezemkanaal meerdere watergangen verbreedt en tussen de A15 en het Kanaal van Steenhoek wordt oppervlaktewater aangelegd, een meer van ca. 1 m diep.

Aan de oostzijde van het nieuwe boezemkanaal wordt een nieuwe A-watgang met beheerpad gerealiseerd. De rest van de polder blijft functioneren zoals in de huidige situatie. Om de hoeveelheid water vanuit het achterliggend gebied aan te kunnen wordt de bocht van de Giessen bij Giessen-Oudekerk verdiept en wordt er een onderwaterdamwand geplaatst.

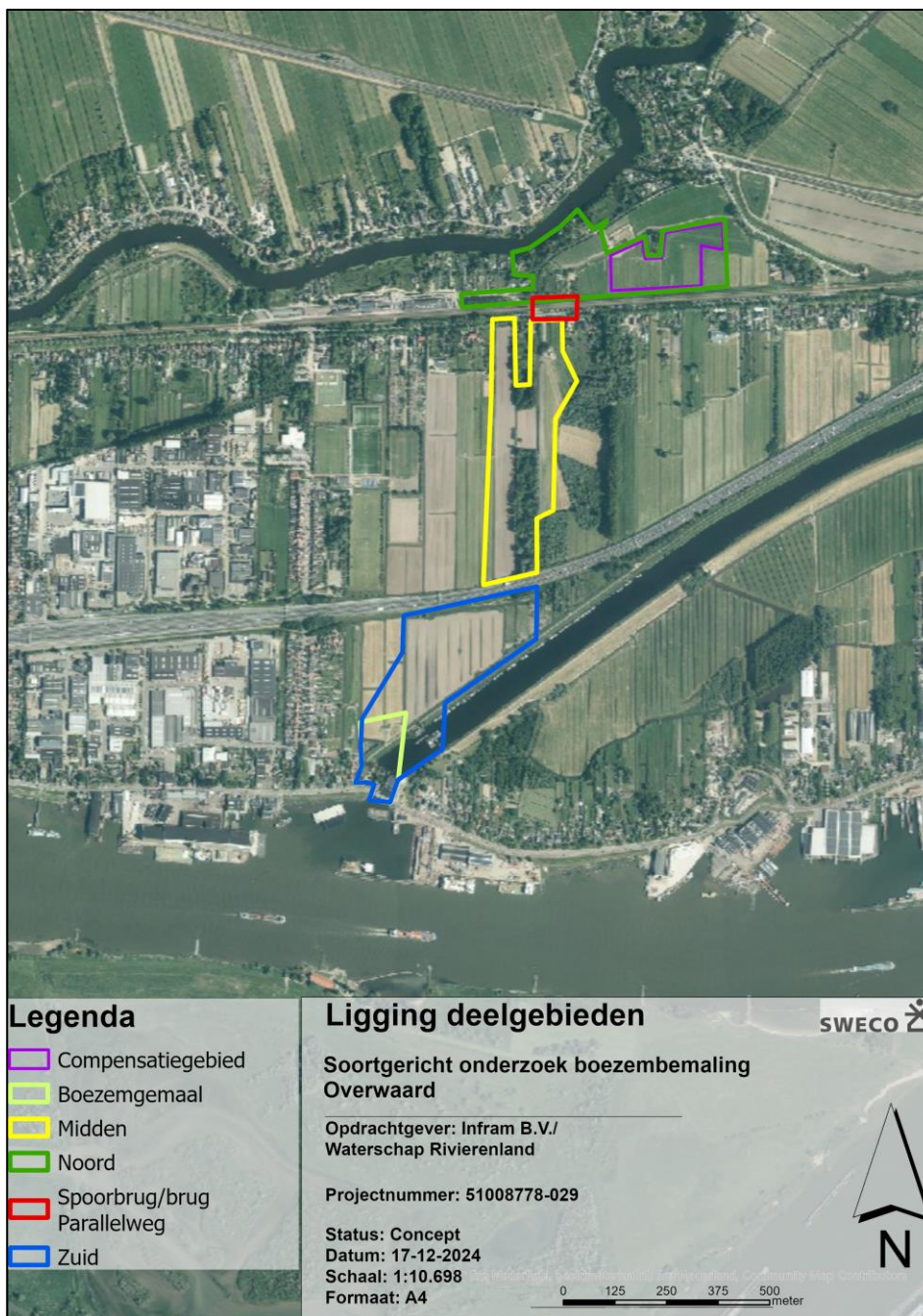
Om de plannen te kunnen realiseren worden de volgende werkzaamheden uitgevoerd:

- rooien van beplanting waaronder struweel, tuinbeplanting, bomenrijen van knotwilgen, bomenrijen van loofbomen, bospercelen van loof- en naaldbomen en solitaire bomen zoals wilgen, berken en els;
- het (gedeeltelijk) dempen van smalle watgangen haaks op en parallel aan de spoorlijn/Parallelweg, de A15 en de Kanaaldijk Noord;
- graafwerkzaamheden t.b.v. het nieuwe boezemkanaal;
- sloop van kleinschalige bebouwing in deelgebied noord en zuid;
- het verplaatsen en terugplaatsen van bebouwing bij Rivierdijk 519;
- Het inrichten en in stand houden van een bouwterrein.
- Het tijdelijk verplaatsen van de Parallelweg naar het zuiden (bypass). Hiervoor is het nodig de watgang parallel aan de weg ter plaatse (gedeeltelijk) te dempen.
- Het aanbrengen van damwanden.
- Het bouwen van twee bruggen.
- Het uitgraven van de boezem ter hoogte van de bruggen.
- Het aanleggen van faunapassages;
- Het afwerken van de locatie met het oog op de gebruiksfase.

Ten tijde van schrijven is niet bekend wanneer de werkzaamheden worden uitgevoerd en wanneer deze zijn afgerond.

1.3 Ligging en beschrijving onderzoeksgebied

Het onderzoeksgebied ligt in de bebouwde kom van Hardinxveld-Giessendam in de provincie Zuid-Holland, tussen de Giessen en het Merwede kanaal. Het onderzoeksgebied bestaat uit meerdere deelgebieden waar verschillende soortenonderzoeken zijn uitgevoerd. In Figuur 1-3 staan de deelgebieden weergegeven waar soortenonderzoek is uitgevoerd. Verder is per deelgebied een beschrijving gegeven.



Figuur 1-3 Ligging van het de deelgebieden ten buiten de bebouwde kom van Hardinxveld-Giessendam, in de provincie Zuid-Holland.

1. Noord

Dit deelgebied ligt tussen rivier de Giessen en de spoorbrug. Het gebied wordt gekenmerkt door volkstuinten met tuinhuisjes, bomensingels van knotwilgen langs een wandelpad, smalle watergangen met rietstroken, weilanden en een ruderaal perceel met ruige begroeiing en enkele opstallen (schuren). Aan de noordzijde van het spoor zijn diverse watergangen, een groenstrook, opslagplaatsen van (straat)stenen en betonplaten, enkele berkenbomen omgeven door hoge grassen en braamstruiken aanwezig. De groenstrook bestaat uit struikgewassen en loofbomen, enkele overwoekerd door klimop. Aan

de oostzijde van het gebied zijn agrarische graslanden aanwezig die worden doorkruist met watergangen. Deze graslanden zijn onderdeel van het toekomstig compensatiegebied. In het compensatiegebied wordt bos aangeplant ter compensatie voor het te verdwijnen NNN-gebied.

2. Spoorbrug/ brug Parallelweg

Dit deelgebied betreft de spoorweg en het deel van de Parallelweg ten oosten van Hardinxveld-Giessendam, tussen Giessenzoom 15 en Parallelweg 124a. De oeverzone tussen de watergang en het spoor is verruigd. Daarnaast zijn grasbermen aanwezig. Ten zuiden van het spoor liggen een fietspad, de Parallelweg, een voetpad en grasbermen met bomenrijen van loofbomen en knotwilgen en een watergang. Langs de parallelweg zijn woon- en agrarische percelen aanwezig. De watergangen ten noorden en zuiden van het spoor staan in verbinding met elkaar middels een onderdoorgang.

3. Midden

Dit deelgebied ligt tussen de Parallelweg en de autosnelweg A15 ten oosten van Hardinxveld-Giessendam en wordt gekenmerkt door agrarische percelen (weilanden), bomenrijen van knotwilgen, een bosperceel en een bomenrijke tuin met beschaduwde geïsoleerde poelen, allen begrenst en doorkruist door smalle watergangen met af en toe houten beschoeiing.

4. Zuid & Boezemgemaal

Dit deelgebied ligt tussen de A15 en de Rivierdijk welke langs het brede water van de rivier Beneden-Merwede loopt. Het gebied wordt gekenmerkt door agrarische percelen(akkerbouw) doorkruist en begrenst door smalle watergangen al dan niet voorzien van rietkragen met hier en daar enkele bomen. Enkele van de percelen zijn ingericht als volkstuin met opstallen (schuren) van golfplaten en hout. De agrarische percelen grenzen aan de Kanaaldijk Noord en het Kanaal Van Steenenhoek. Dit kanaal komt via het Mr. Dr. G. Kolff gemaal uit op de Beneden-Merwede. Aan de Rivierdijk (nr. 519) ligt een monumentale woning met een houten schuur beiden zonder spouw maar met schuine daken en gegolfde dakpannen. De tuin van Rivierdijk 519 bestaat uit gras, jaarrond groene hagen en fruitbomen en komt uit op het kanaal waar het wordt begrenst door een brede rietkraag.

2 Wettelijk kader Omgevingswet

Soortenbescherming is geregeld in de Omgevingswet. Alle activiteiten met mogelijke gevolgen voor van nature in het wild voorkomende dieren of planten zijn zogeheten flora- en fauna-activiteiten (bijlage 2 bij art. 1.1 Omgevingswet). Voor alle flora- en fauna-activiteiten is een specifieke zorgplicht opgenomen (art. 11.27 Bal).

Deze houdt in dat iedereen die een flora- en fauna-activiteit uitvoert, nadelige gevolgen zo veel als mogelijk dient te voorkomen, beperken of ongedaan te maken (art. 11.27, 1e lid Bal). Om te voldoen aan de specifieke zorgplicht dient eenieder onderzoek te doen naar het voorkomen van een aantal type soorten die kwetsbaar of bedreigd zijn (art. 11.27, 2e lid Bal). Indien er sprake is van schadelijke handelingen, leidt dit tot een vergunning plichtig geval. De schadelijke handelingen komen voort uit de Europese Vogelrichtlijn en Habitatrichtlijn en Internationale Verdragen.

Gierzwaluw, huismus, steenuil, kerkuil, buizerd, boomvalk, havik en sperwer zijn beschermd onder de Vogelrichtlijn, (artikel 11.37 Bal). Heikikker, poelkikker, platte schijffhoren en alle in Nederland voorkomende vleermuizen zijn beschermd onder de Habitatrichtlijn, (artikel 11.46 Bal). Voor vleermuizen geldt dat ook vliegroutes tussen verblijfplaatsen en geschikt foerageergebied die essentieel zijn voor het functioneren van verblijfplaatsen beschermd zijn. Kleine marterachtigen en grote modderkruiper vallen in de Omgevingswet onder het beschermingsregime *Andere soorten*, (artikel 11.54 Bal). De kleine marterachtigen (bunzing, wezel en hermelijn) zijn in de provincie Zuid-Holland vrijgesteld van de vergunningsplicht. Wel is de specifieke zorgplicht (artikel 11.27 van het Bal) van toepassing.

2.1 Schadelijke handelingen Vogelrichtlijn (art. 11.37 Bal)

Het in hun natuurlijk verspreidingsgebied opzettelijk doden of opzettelijk vangen van in het wild levend vogelsoorten zoals bedoeld in artikel 1 van de vogelrichtlijn. De schadelijke handelingen zijn;

- het opzettelijk doden of opzettelijk vangen van van nature in Nederland in het wild levende vogels;
- het opzettelijk vernielen of opzettelijk beschadigen van nesten, rustplaatsen en eieren van vogels of het opzettelijk wegnemen van nesten van die vogels;
- het rapen en onder zich hebben van eieren van vogels als bedoeld onder a;
- het opzettelijk storen van vogels, tenzij het storen niet van wezenlijke invloed is op de staat van instandhouding van de vogelsoort.
- Het verbod geldt niet als de activiteit uitvoering geeft aan een instandhoudingsmaatregel of passende maatregel.

2.2 Schadelijke handelingen Habitatrichtlijn (art. 11.46 Bal)

Het in hun natuurlijk verspreidingsgebied opzettelijk doden of opzettelijk vangen van in het wild levend dieren Hrl bijlage IV, onder a, Bern bijlage II, Bonn bijlage I (ex. Vogels art. I Vrl). De schadelijke handelingen zijn;

- Het opzettelijk verstoren van dieren.
- Het in de natuur opzettelijk vernielen of rapen van eieren van dieren.
- Het beschadigen of vernielen van de voortplantingsplaatsen of rustplaatsen van dieren.
- Het opzettelijk plukken en verzamelen, afsnijden, ontwortelen of vernielen van planten van soorten, genoemd in bijlage IV, onder b Hrl of bijlage I verdrag van Bern, in hun natuurlijk verspreidingsgebied.
- Het verbod geldt niet als de activiteit uitvoering geeft aan een instandhoudingsmaatregel of passende maatregel.

2.3 Schadelijke handelingen Andere soorten (art. 11.54 Bal)

- Het opzettelijk doden of vangen van in het wild levende zoogdieren, amfibieën, reptielen, vissen, dagvlinders, libellen en kevers van de soorten, genoemd in bijlage IX, onder A.
- Het opzettelijk beschadigen of vernielen van de vaste voortplantingsplaatsen, rustplaatsen of eieren van dieren.
- Het opzettelijk in hun natuurlijke verspreidingsgebied plukken en verzamelen, afsnijden, ontwortelen of vernielen van vaatplanten van de soorten, genoemd in bijlage IX, onder B.
- Het verbod geldt niet voor bosmuis, huisspitsmuis en veldmuis, voor zover deze dieren zich in of op gebouwen of daarbij behorende erven of roerende zaken bevinden.
- Het verbod geldt niet als de activiteit uitvoering geeft aan een instandhoudingsmaatregel of passende maatregel.

2.4 Specifieke zorgplicht

Degene die een flora- en fauna-activiteit of een activiteit verricht en weet of redelijkerwijs kan vermoeden dat die activiteit nadelige gevolgen kan hebben voor de belangen van in het wild voorkomende soorten is verplicht:

- Alle maatregelen te nemen die redelijkerwijs van diegene kunnen worden gevraagd om die gevolgen te voorkomen;
- Voor zover die gevolgen niet kunnen worden voorkomen: die gevolgen zoveel mogelijk te beperken of ongedaan te maken;
- Als die gevolgen onvoldoende kunnen worden beperkt: die activiteit achterwege te laten voor zover dat redelijkerwijs van diegene kan worden gevraagd.

3 Soortgericht onderzoek

3.1 Vleermuizen

3.1.1 Methode

Het onderzoek naar vleermuizen is uitgevoerd conform het meest recente vleermuisprotocol¹. Alle veldbezoeken zijn door één tot twee ter zake kundige ecologen van Sweco B.V. uitgevoerd. Bij de veldbezoeken is gebruik gemaakt van een Pettersen D240X batdetector en een warmtebeeldcamera. Tijdens de veldbezoeken zijn de waarnemingen digitaal ingevoerd in WrnPro. Alle waarnemingen zijn beschikbaar in één database en iedere waarneming is minimaal voorzien van soort, activiteit, datum, tijd en x/y-coördinaten (zie Bijlage 2).

De veldbezoeken zijn uitgevoerd bij goede weersomstandigheden: weinig wind (< 5 Bft), geen regen en een temperatuur van boven de 10°C. Zie Tabel 3-1 t/m 3-4 voor een overzicht per deelgebied van de bezoekmomenten en weersomstandigheden en onderzochte functies.

Kraam- en zomerverblijfplaatsen

Het onderzoek naar kraam- en zomerverblijfplaatsen is in de periode 15 mei tot 15 juli uitgevoerd bij boomholtes in deelgebied Noord en deelgebied Midden en bij de bebouwing van Rivierdijk 519 in deelgebied Boezemgemaal. Onderzoek bij de boomholte in deelgebied Noord en Midden is gericht op ruige dwergvleermuis, rosse vleermuis, baardvleermuis en watervleermuis. Het onderzoek bij de bebouwing in deelgebied Boezemgemaal is gericht op gewone dwergvleermuis, ruige dwergvleermuis, baardvleermuis, meervleermuis, gewone grootoorvleermuis en laatvlieger. Het onderzoek bestaat uit één ochtendbezoek en één tot twee avondbezoeken.

Paarverblijfplaatsen

Het onderzoek naar paarverblijfplaatsen is in de periode 15 augustus tot 15 oktober uitgevoerd bij boomholtes in deelgebied Noord en deelgebied Midden en bij de bebouwing van Rivierdijk 519 in deelgebied Boezemgemaal. Het onderzoek bij de boomholten is gericht op ruige dwergvleermuis, rosse vleermuis, baardvleermuis en watervleermuis. Het onderzoek bij de bebouwing van Rivierdijk 519 in deelgebied Boezemgemaal is gericht op gewone dwergvleermuis, ruige dwergvleermuis, baardvleermuis, meervleermuis, gewone grootoorvleermuis en laatvlieger. Het onderzoek bestaat uit twee nachtbezoeken.

Wegens het ontbreken van betredingstoestemming van de percelen in deelgebied Midden in de vakantieperiode van 2024 hebben de twee nachtrondes naar paarverblijfplaatsen in het bosperceel van deelgebied Midden niet plaats kunnen vinden. Deze veldbezoeken dienen in het de optimale onderzoeksperiode voor vleermuizen in 2025 alsnog uitgevoerd te worden.

Vliegroutes en foerageergebied

Het onderzoek naar vliegroutes en foerageergebied is in de periode van 15 mei tot 15 september uitgevoerd in deelgebied Noord, deelgebied Spoorbrug/brug, deelgebied Midden gericht op gewone dwergvleermuis, ruige dwergvleermuis, gewone grootoorvleermuis, laatvlieger, rosse vleermuis en baardvleermuis. Het

¹ Vleermuisvakberraad, Netwerk Groene Bureaus, 2021, Vleermuisprotocol 2021, www.netwerkgroenebureaus.nl.

onderzoek naar vliegroutes en foerageergebied bestaat uit twee avondbezoeken met een minimale tussenperiode van acht weken. De avondbezoeken voor vliegroutes en foerageergebied zijn gecombineerd met de bezoeken die zijn gedaan voor onderzoek naar verblijfplaatsen in de verschillende deelgebieden, aangezien deze onderzoeksmomenten en optimale periodes overlappen.

Tabel 3-1 Inventarisatiemomenten en weersomstandigheden voor vleermuisonderzoek, locatie deelgebied Noord, (boombewonende soorten en vliegroute).

Datum	Zonsopgang/ zonsondergang	Tijd	Weersomstandigheden	Onderzochte functies	Aantal onderzoekers
19-06-2024	22:04	22:04 – 00:28	droog, onbewolkt, 17 °C, 3 Bft N	Zomer- en kraamverblijf, Vliegroute Foerageergebied	2
10-07-2024	05:32	02:25 – 05:30	droog, 1/8 bewolkt, 16 °C, 2 Bft ZW	Zomer- en kraamverblijf	2
19-08-2024	20:55	20:54 – 00:00	droog, 3/8 bewolkt, 18 °C, 2 Bft ZO	Paarverblijf, Vliegroute Foerageergebied	2
11-09-2024	20:03	20:00- 00:00	droog*, 3/8 bewolkt, 18 °C, 2 Bft ZO	Paarverblijf	1

*Eerste half uur gemotregend, daarna was het geheel droog en is vleermuisactiviteit waargenomen.

Tabel 3-2 Inventarisatiemomenten en weersomstandigheden voor vleermuisonderzoek, locatie deelgebied Spoorbrug/brug, (vliegroute).

Datum	Zonsopgang/ zonsondergang	Tijd	Weersomstandigheden	Onderzochte functies	Aantal onderzoekers
19-06-2024	22:03	22:00 – 00:20u	droog, onbewolkt, 17 °C, 3 Bft N	Vliegroute Foerageergebied	1
19-08-2024	20:55	20:55 – 23:10u	droog, 8/8 bewolkt, 18 °C, 2 Bft W	Vliegroute Foerageergebied	1

Tabel 3-3 Inventarisatiemomenten en weersomstandigheden voor vleermuisonderzoek, locatie deelgebied Midden, bosperceel Parallelweg 110 (boombewonende soorten).

Datum	Zonsopgang/ zonsondergang	Tijd	Weersomstandigheden	Onderzochte functies	Aantal onderzoekers
21-06-2022*	22:08	22:00 – 00:12	droog, geheel bewolkt, 17 °C, 3 Bft ZW	Zomer- en kraamverblijf,	2
27-06-2024	05:21	02:21 – 05:22	droog, onbewolkt, 19 °C, 3 Bft ZW	Zomer- en kraamverblijf, Foerageergebied	2

* Velbezoek heeft plaatsgevonden in 2022 tijdens een gedeeltelijk uitgevoerd vleermuisonderzoek in het bosperceel in deelgebied Midden (Sweco, 2022).

Tabel 3-4 Inventarisatiemomenten en weersomstandigheden voor vleermuisonderzoek, locatie deelgebied Boezemgemaal, Rivierdijk 519 (gebouwbewonende soorten).

Datum	Zonsopgang/ zonsondergang	Tijd	Weersomstandigheden	Onderzochte functies	Aantal onderzoekers
29-05-2024	21:48	21:46 – 00:03	droog, 6/8 bewolkt, 15 °C, 3 Bft W	Zomer- en kraamverblijf	2
24-06-2024	22:04	22:04 – 00:21	droog, onbewolkt, 21 °C, 2 Bft N	Zomer- en kraamverblijf	2
01-07-2024	05:24	02:25 – 05:26	droog, onbewolkt, 12 °C, 2 Bft W	Zomer- en kraamverblijf	2
22-08-2024	20:48	20:42 – 00:30	droog, geheel bewolkt, 20 °C, 3 Bft ZW	Paarverblijf	1
12-09-2024	20:01	20:01 – 23:03	droog, 4/8 bewolkt, 12 °C, 2 Bft W	Paarverblijf	1

3.1.2 Resultaten

Deelgebied Noord

Onderstaand zijn de resultaten van het vleermuisonderzoek naar verblijfplaatsen in een boomholte, vliegrouete en foerageergebied in deelgebied Noord beschreven. In bijlage 2 zijn per deelgebied tabellen opgenomen met alle waarnemingen gedaan tijdens de veldbezoeken.

Ruige dwergvleermuis is slechts een keer waargenomen. Rosse vleermuis, baardvleermuis, gewone grootoorvleermuis en watervleermuis zijn niet waargenomen.

Eerste veldbezoek

Het eerste veldbezoek heeft 's avonds plaatsgevonden op 19 juni 2024. Activiteit tijdens het bezoek begon circa 30 minuten na zonsondergang, om 22:27. Tussen 22:27 en 23:00 is de piek van activiteit waargenomen met in totaal zes gewone dwergvleermuizen die zich parallel aan de Achterdijk Oost langs de rij knotwilgen richting het westen verplaatsten en drie die zich in tegengestelde richting verplaatsten. Verder zijn gedurende de piek vier foeragerende gewone dwergvleermuizen waargenomen en één overvliegende laatvlieger die zich richting het oosten verplaatste. Verspreid over de rest van het bezoek zijn nog zes foeragerende gewone dwergvleermuizen waargenomen en twee overvliegende gewone dwergvleermuizen richting oost. Ook zijn twee overvliegende laatvliegers en drie foeragerende laatvliegers waargenomen.

Tweede veldbezoek

Het tweede veldbezoek heeft 's ochtends plaatsgevonden op 10 juli 2024. De eerste activiteit van vleermuizen in het projectgebied werd circa 20 minuten na het begin van het bezoek waargenomen. De piek van vleermuisactiviteit was aanwezig tussen 02:46 en 03:06, waarin vijf foeragerende gewone dwergvleermuizen zijn waargenomen en één overvliegende gewone

dwergvleermuis. Gedurende de rest van het bezoek zijn met tussenpozen van 10 tot 15 minuten tien foeragerende en drie overvliegende gewone dwergvleermuizen waargenomen en één overvliegende laatvlieger. De laatste 45 minuten voor zonsopkomst is geen activiteit van vleermuizen meer waargenomen.

Derde veldbezoek

Het derde veldbezoek heeft 's avonds plaatsgevonden op 19 augustus 2024. De eerste activiteit betrof een foeragerende gewone dwergvleermuis en werd circa 25 minuten na zonsondergang waargenomen. Er is tijdens het bezoek geen duidelijke piek van activiteit waargenomen. Gedurende het bezoek zijn in totaal vijf foeragerende gewone dwergvleermuizen waargenomen en tien overvliegende gewone dwergvleermuizen, waarvan één zich richting het zuiden verplaatste en twee richting het oosten parallel aan de wilgenlaan. Van de overige vleermuizen kon de vliegrichting niet met zekerheid worden bepaald. Tevens werd om 22:35 één gewone dwergvleermuis waargenomen vliegend vanuit het noordwesten, die vervolgens terugvloog in noordwestelijke richting. Verder is gedurende het bezoek één overvliegende laatvlieger waargenomen.

Vierde veldbezoek

Het vierde veldbezoek heeft 's avonds plaatsgevonden op 11 september 2024. Tijdens het bezoek is weinig vleermuisactiviteit waargenomen en baltsende vleermuizen zijn niet aangetroffen. Verspreid over het veldbezoek zijn twee foeragerende en twee overvliegende gewone dwergvleermuizen waargenomen. Deze verplaatsten zich richting het westen, parallel aan de wilgenlaan. Verder is tijdens het bezoek één foeragerende ruige dwergvleermuis waargenomen.

Deelgebied Spoorbrug/brug

Onderstaand zijn de resultaten van het vleermuisonderzoek naar vliegroutes in deelgebied Spoorbrug/brug beschreven. In bijlage 2 zijn per deelgebied tabellen opgenomen met alle waarnemingen gedaan tijdens de veldbezoeken

Gedurende het onderzoek zijn de volgende soorten waargenomen: gewone dwergvleermuis, ruige dwergvleermuis en laatvlieger.

Net als in deelgebied Noord is ruige dwergvleermuis is slechts éénmaal waargenomen. Watervleermuis en gewone grootoorvleermuis zijn niet waargenomen.

Bij beide kwam de activiteit van vleermuizen circa 45 minuten na zonsondergang op gang. Verder is er tijdens beide bezoeken geen sprake van duidelijke pieken in activiteit of juist lange periodes zonder activiteit.

Eerste veldbezoek

Tijdens het eerste veldbezoek vlogen zes gewone dwergvleermuizen en één laatvlieger over. Vijf van deze overvliegende gewone dwergvleermuizen verplaatsten zich boven de watergang ten zuiden van de Parallelweg. Drie daarvan vlogen richting het oosten en twee richting het westen. Van de laatste overvliegende gewone dwergvleermuis en de overvliegende laatvlieger kon de vliegrichting niet worden vastgesteld.

Verder zijn tijdens het bezoek drie foeragerende gewone dwergvleermuizen en één foeragerende laatvlieger waargenomen in het weiland ten zuiden van de Parallelweg.

Tweede veldbezoek

Bij het tweede veldbezoek zijn zeven overvliegende gewone dwergvleermuizen

waargenomen en één overvliegende laatvlieger. Hiervan verplaatste drie gewone dwergvleermuizen zich richting het oosten. Van de overige gewone dwergvleermuizen en de laatvlieger is de richting waarin zij zich verplaatsten niet bekend.

Verder zijn acht foeragerende gewone dwergvleermuizen waargenomen, waarvan de meeste boven het weiland ten zuiden van de Parallelweg en een enkele boven de watergang. Deze waarnemingen van foeragerende vleermuizen zijn verspreid over het bezoek gedaan. Ook is kort van grote afstand een baltende ruige dwergvleermuis gehoord vanuit de richting van Parallelweg huisnummer 123.

Deelgebied Midden

Onderstaand zijn de resultaten van het vleermuisonderzoek naar verblijfplaatsen in boomholtes en foerageergebied in deelgebied Midden beschreven. In bijlage 2 zijn per deelgebied tabellen opgenomen met alle waarnemingen gedaan tijdens de veldbezoeken

Gedurende het onderzoek zijn de volgende soorten waargenomen: gewone dwergvleermuis, ruige dwergvleermuis en laatvlieger. Rosse vleermuis, baardvleermuis en watervleermuis zijn niet aangetroffen.

Net als in deelgebied Noord is de ruige dwergvleermuis slechts éénmaal waargenomen. Watervleermuis en gewone grootoorvleermuis zijn niet waargenomen.

Eerste veldbezoek

Het eerste veldbezoek heeft 's avonds plaatsgevonden op 21 juni 2022. Tijdens het bezoek zijn veelvuldig meerdere gewone dwergvleermuizen en ruige dwergvleermuizen waargenomen. De eerste gewone dwergvleermuis is foeragerend waargenomen rond 22.37. Daarna zijn er constant meerdere foeragerende gewone dwergvleermuizen aanwezig geweest. Rond 23.02 is de eerste ruige dwergvleermuis roepend waargenomen waarna deze foeragerend in het gebied aanwezig bleef. Rond 23.17 is er ook een roepende gewone dwergvleermuis waargenomen.

Tweede veldbezoek

Het tweede veldbezoek heeft 's ochtends plaatsgevonden op 27 juni 2024. Tijdens het onderzoek is weinig activiteit van vleermuizen waargenomen. De eerste activiteit betrof een foeragerende gewone dwergvleermuis en werd om 02:44 waargenomen waarna het een half uur stil is gebleven. Daarna is tussen 03:16 en 04:32 zeven keer een foeragerende en één keer een overvliegende gewone dwergvleermuis waargenomen. Verder zijn om 03:28 en 03:43 foeragerende laatvliegers waargenomen. In de laatste 45 minuten voor zonsopkomst zijn geen vleermuizen meer waargenomen.

Deelgebied Boezemgemaal

Onderstaand zijn de resultaten van het vleermuisonderzoek naar verblijfplaatsen in gebouwen in deelgebied Boezemgemaal beschreven. In bijlage 2 zijn per deelgebied tabellen opgenomen met alle waarnemingen gedaan tijdens de veldbezoeken

Gedurende het onderzoek zijn de volgende soorten waargenomen: gewone dwergvleermuis, ruige dwergvleermuis en laatvlieger. watervleermuis, rosse vleermuis. Meervleermuis, baardvleermuis en grootoorvleermuis zijn niet waargenomen.

Eerste veldbezoek

Het eerste veldbezoek heeft 's avonds plaatsgevonden op 29 mei 2024. De eerste activiteit betrof een overvliegende gewone dwergvleermuis en is circa 30 minuten na zonsondergang waargenomen.

Tussen 22:21 en 22:53 zijn in de tuin van Rivierdijk 519 vijf keer waarnemingen gedaan van één tot twee foeragerende gewone dwergvleermuizen en één overvliegende vleermuis richting het noorden. Het betreffen naar verwachting dezelfde individuen omdat zij gedurende deze periode een aantal keer achter elkaar aan vliegend zijn waargenomen. Verder is in deze periode één overvliegende laatvlieger waargenomen.

In het laatste uur van het veldbezoek zijn in totaal nog drie overvliegende gewone dwergvleermuizen, één overvliegende ruige dwergvleermuis en één overvliegende watervleermuis waargenomen.

Tweede veldbezoek

Het tweede veldbezoek heeft 's avonds plaatsgevonden op 24 juni 2024. De eerste activiteit is circa 20 minuten na zonsondergang om 22:30 waargenomen. De piek van activiteit is tussen 22:30 en 23:34 waargenomen. Aan het begin van de piek om 22:30 vlogen vier gewone dwergvleermuizen over richting het westen. Daarna zijn in de tuin van Parallelweg 519 afwisselend één tot uiteindelijk drie gelijktijdig foeragerende gewone dwergvleermuizen waargenomen. Ook vloog om 22:51 een laatvlieger over richting het westen. Vanaf 23:36 zijn nog drie waarnemingen van een enkele foeragerende gewone dwergvleermuis gedaan.

Derde veldbezoek

Het derde veldbezoek heeft 's ochtends plaatsgevonden op 01 juli 2024. Aan het begin van het veldbezoek is één overvliegende gewone dwergvleermuis waargenomen en circa 15 minuten later nog één overvliegende. Verder zijn tussen 2:50 en 04:45 met af en toe korte tussenpozen vrijwel constant één tot twee foeragerende gewone dwergvleermuizen waargenomen in projectgebied. Om 04:15 was een korte piek waarneembaar van vier gelijktijdig foeragerende gewone dwergvleermuizen boven het water ten noorden van Rivierdijk 519.

In de laatste 30 minuten voor zonsopkomst is geen activiteit van vleermuizen meer waargenomen.

Vierde veldbezoek

Het vierde veldbezoek heeft 's nachts plaatsgevonden op 22 augustus 2024. De eerste activiteit betrof een foeragerende gewone dwergvleermuis en is 20 minuten na zonsondergang waargenomen. Gedurende de eerste 40 minuten van het onderzoek is drie keer foerageeractiviteit van gewone dwergvleermuis waargenomen. Hierna tussen 21:31 en het einde van het bezoek zijn met tussenpozen van enkele minuten voornamelijk overvliegende gewone dwergvleermuizen, en een aantal overvliegende ruige dwergvleermuizen waargenomen. De meeste overvliegende vleermuizen deden dit in oostelijke of westelijke richting. Op drie aparte momenten tijdens het bezoek om 21:43, 23:01 en 23:58 is de baltsroep van ruige dwergvleermuis gehoord vanuit de richting van het Mr. Dr. G. Kolff gemaal en om 22:57 is kort een baltsende ruige dwergvleermuis overgevlogen door het projectgebied. Verder is om 21:53 en later om 23:39 een overvliegende watervleermuis en om 22:54 en 23:20 een overvliegende laatvlieger waargenomen. Om 22:18 is één keer vanuit noordwestelijke richting in de verte een rosse vleermuis gehoord.

Vijfde veldbezoek

Het vijfde veldbezoek heeft 's nachts plaatsgevonden op 12 september 2024. De eerste activiteit betrof een foeragerende gewone dwergvleermuis en is circa 5 minuten na zonsondergang waargenomen. In het eerste 45 minuten na zonsondergang zijn twee foeragerende gewone- en twee ruige dwergvleermuizen waargenomen in het noordoosten van het projectgebied. Tussen 20:42 en 20:50 zijn in totaal drie overvliegende ruige dwergvleermuizen waargenomen die achter elkaar aanvlogen waarvan één sociale geluiden maakte. Om 20:50 is aan de noordzijde van het gemaal een mix van ruige en gewone dwergvleermuizen waargenomen die af en toe baltsten, naar schatting drie ruige dwergvleermuizen en vier gewone dwergvleermuizen. Om 20:53 is een baltsende ruige dwergvleermuis gehoord vanuit het gemaal. Om 21:26 waren ten noorden van het gemaal nog twee gewone dwergvleermuizen over waarvan één baltsend. Tussen 21:26 en 22:00 is nog één gewone dwergvleermuis kort foeragerend voor Rivierdijk 519 waargenomen net als twee overvliegende ruige dwergvleermuizen. Vanaf 22:07 is er in het projectgebied bijna geen activiteit meer waargenomen. Ook de activiteit achter het gemaal is vanaf dit tijdstip afgenomen tot één in de verte baltsende gewone dwergvleermuis ten oosten van het gemaal. Tenslotte is om 22:36 nog een overvliegende gewone dwergvleermuis waargenomen in het projectgebied.

3.1.3 Effectbeoordeling

Deelgebied Noord

Tijdens de bezoeken is geen activiteit van vleermuizen waargenomen rondom de onderzochte boomholte. Ook is tijdens het onderzoek geen baltsactiviteit waargenomen. De aanwezigheid van zomer- kraam en paarverblijfplaatsen kan worden uitgesloten. Negatieve effecten op verblijfplaatsen in boomholtes in het projectgebied zijn daarmee ook uitgesloten.

Tijdens de veldbezoeken zijn in totaal dertien gewone dwergvleermuizen waargenomen die zich parallel aan de wilgenlaan langs de Achterdijk in oostelijke of westelijk richting verplaatsten. Omdat deze wilgenlaan een van de weinige lijnvormige structuren in de directe omgeving is die een beschutte verbinding tussen oost en west vormt, kan de wilgenlaan daarmee aangewezen worden als onderdeel van een essentiële vliegroute voor de gewone dwergvleermuis. Bij de werkzaamheden, met name het rooien van een deel van wilgen in de laan langs de Achterdijk oost is daarmee sprake van een schadelijke handeling volgens art 11.46 derde lid van het *BaI*. Voor dit onderdeel van de werkzaamheden is het noodzakelijk om een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot de gewone dwergvleermuis aan te vragen. Ook zijn passende preventieve, mitigerende en herstellende maatregelen nodig. Deze dienen te worden opgenomen in een ecologisch werkprotocol.

In het deelgebied wordt voornamelijk door gewone dwergvleermuizen en een aantal laatvliegers als foerageergebied gebruikt. De kans op dubbeltellingen van foeragerende vleermuizen bestaat waardoor geschat wordt dat het deelgebied door acht tot dertien gewone dwergvleermuizen en 1 tot drie laatvliegers wordt gebruikt. Door de lage aantallen waarnemingen van foeragerende laatvliegers en omdat de soort ook beter in staat is om in open gebieden te foerageren is het deelgebied voor laatvlieger geen essentieel foerageergebied.

In de directe en wijdere omgeving van het projectgebied zijn geen grote hoeveelheden bosachtig gebied aanwezig dat direct als alternatief potentieel geschikt foerageergebied voor gewone dwergvleermuis kan functioneren. De boomrijke delen en verruigde percelen in het deelgebied zijn daardoor wel aan te wijzen als onderdeel van essentieel foerageergebied voor gewone dwergvleermuis. De herinrichting van het compensatiegebied en de natuurvriendelijke oeverzone van de voorgenomen boezembemaling zullen op lange termijn naar verwachting voor een toename aan foerageergebied voor gewone dwergvleermuis zorgen. Echter op de korte termijn zullen de voorgenomen plannen het bestaande foerageergebied aantasten hetgeen een schadelijke handeling betreft volgens art 11.46 derde lid van het *Bal*. Ook voor dit onderdeel van de werkzaamheden is het daarom noodzakelijk om een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot de gewone dwergvleermuis aan te vragen. Ook zijn passende preventieve maatregelen nodig. Deze dienen te worden opgenomen in een ecologisch werkprotocol.

Deelgebied Spoorbrug/brug

Tijdens de bezoeken is twee keer een gewone dwergvleermuis waargenomen die boven de Parallelweg langs de bomenrij vloog. Deze beperkte waarnemingen van vleermuizen langs de bomenrij wijzen erop dat de bomenrij geen onderdeel is van een belangrijke vliegroute. Het is daarmee uit te sluiten dat de bomenrij aan de noordzijde van de Parallelweg (tussen de Parallelweg en het spoor zie Figuur 3-1) onderdeel is van een essentiële vliegroute.

Overige gewone dwergvleermuizen die zich richting oosten of westen verplaatsten zijn vrijwel allemaal waargenomen boven de watergang ten zuiden van de Parallelweg (zie Figuur 3-1). Voor vleermuizen zijn er geen eenvoudig bereikbare alternatieve lijnvormige structuren aanwezig die over grote afstanden van oost naar west lopen, zonder dat zij gedwongen worden de spoorlijn over te steken. Daardoor is deze watergang, samen met de rij knotwilgen die erlangs ligt aan te wijzen als onderdeel van een essentiële vliegroute voor gewone dwergvleermuizen.

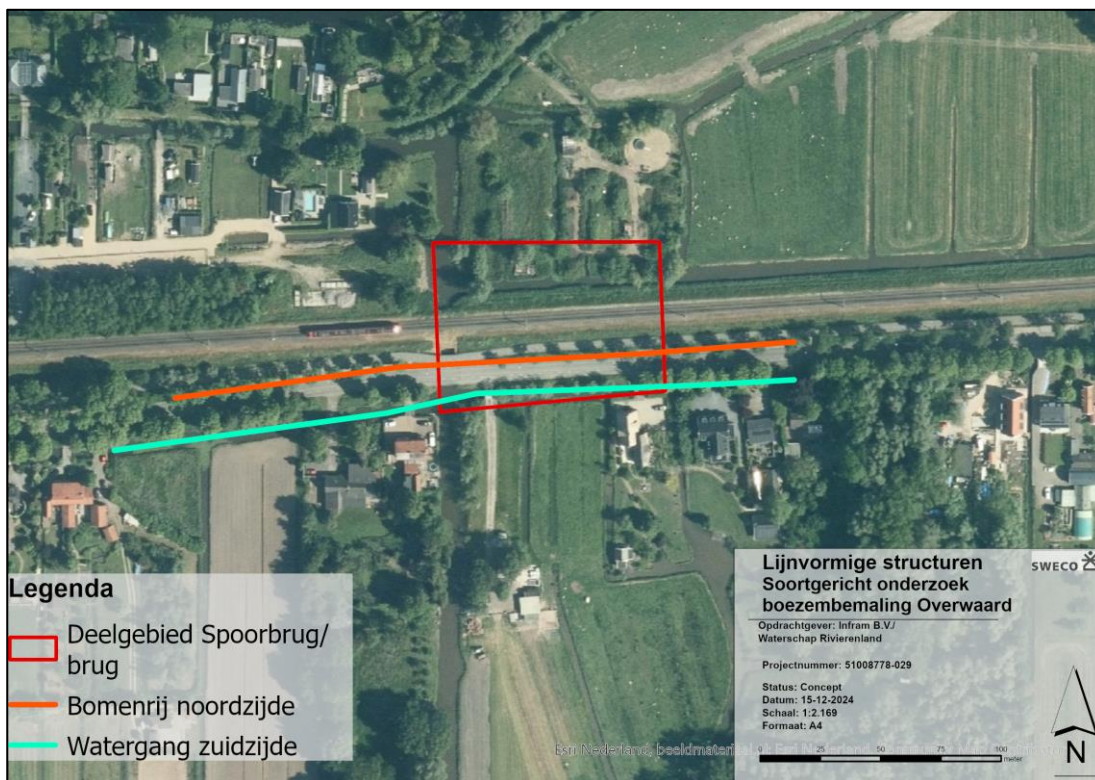
Bij de werkzaamheden, met name de gedeeltelijke demping van de watergang ten zuiden van de Parallelweg en het verwijderen van de rijen knotwilgen langs de watergang, is daarmee sprake van een schadelijke handeling volgens art 11.46 derde lid van het *Bal*. Voor dit onderdeel van de werkzaamheden is het noodzakelijk om een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot de gewone dwergvleermuis aan te vragen.

De waarnemingen van foeragerende gewone dwergvleermuizen zijn vrijwel allemaal in het weiland ten zuiden van de Parallelweg gedaan. Hetzelfde geldt voor de laatvlieger, waarvan alle waarnemingen zijn gedaan boven het weiland ten zuiden van de Parallelweg.

In het onderzoeksgebied zijn een klein aantal gewone dwergvleermuizen kort foeragerend boven de watergang ten zuiden van de Parallelweg waargenomen. Gedurende beide bezoeken zijn geen grote aantallen foeragerende vleermuizen waargenomen. Het grootste aantal tegelijk foeragerende gewone dwergvleermuizen dat is waargenomen betrof twee individuen boven het weiland ten zuiden van het onderzoeksgebied. Daarnaast vormen de bosschages en bomenrijen in de omgeving van het onderzoeksgebied een, vergelijkbaar of zelfs beter alternatief foerageergebied voor gewone dwergvleermuis of laatvlieger doordat zij verder weg liggen van het spoor of de verlichting langs de Parallelweg. Het is daarmee uitgesloten dat het

onderzoeksgebied belangrijk foerageergebied is voor gewone dwergvleermuis of laatvlieger.

Omdat er vanuit de richting van de woning aan Parallelweg 123 de baltsroep van ruige dwergvleermuis is gehoord is het mogelijk dat hier een paarverblijfplaats van ruige dwergvleermuis aanwezig is. De bebouwing valt niet binnen het planvoornemen. Wel zijn voorzorgsmaatregelen nodig om te voorkomen dat de werkzaamheden leiden tot verstoring van deze (en andere) mogelijk aanwezige verblijfplaatsen. De maatregelen houden in dat er geen lichtuitstraling mag zijn richting bebouwing tussen zonsondergang en zonsopkomst. Dit geldt zowel voor de realisatiefase als tijdens de gebruiksfase. Dit kan bewerkstelligd worden door de werkzaamheden alleen overdag uit te voeren en verlichting niet nabij en/of met uitstraling naar de bebouwing te plaatsen.



Figuur 3-1 Doorlopende lijnvormige structuren in het deelgebied.

Deelgebied Midden

Wegens het ontbreken van toegang tot de percelen in deelgebied Midden in de vakantieperiode van 2024 hebben de twee nachtbezoeken in het najaar naar paarverblijfplaatsen in het bosperceel van deelgebied Midden niet plaats kunnen vinden. Deze veldbezoeken dienen in het vleermuisseizoen van 2025 alsnog uitgevoerd te worden. Zolang de rondes niet uitgevoerd zijn kan geen uitspraak gedaan worden over de aan- of afwezigheid van verblijfplaatsen of foerageergebied in het bosperceel in deelgebied Midden. Wegens de verjaringstermijn van drie jaar voor vleermuisonderzoeken zal waarschijnlijk ook de veldbezoeken in de kraamperiode van 21 juni 2022 herhaald moeten worden.

Deelgebied Boezemgemaal

Tijdens de bezoeken is bij de bebouwing van Rivierdijk 519 geen gedrag van vleermuizen waargenomen die indicatief is voor kraam- zomer of paarverblijfplaatsen (zoals in- of uitvliegen aantikken of baltsen langs gebouw). Aanwezigheid van verblijfplaatsen van vleermuizen in de bebouwing kan daardoor worden uitgesloten. Daarmee zijn tevens negatieve effecten uit te sluiten.

Wel is tijdens het onderzoek veel activiteit en baltsactiviteit van ruige en gewone dwergvleermuis waargenomen aan de noordzijde van het Mr. Dr. G. Kolffgemaal. Aanwezigheid van paarverblijfplaatsen van ruige dwergvleermuis en gewone dwergvleermuis in het gemaal is vrijwel zeker. Het gemaal blijft met het planvoornemen ongemoeid, wel zijn voorzorgsmaatregelen nodig om te voorkomen dat de werkzaamheden in het projectgebied leiden tot verstoring van mogelijk aanwezige verblijfplaatsen. De maatregelen houden in dat er zowel tijdens de realisatiefase als gebruiksfase geen lichtuitstraling mag zijn richting bebouwing tussen zonsondergang en zonsopkomst. Dit kan bewerkstelligd worden door de werkzaamheden alleen overdag uit te voeren en verlichting niet nabij en/of met uitstraling naar het gemaal te plaatsen.

3.2 Vogels

3.2.1 Gierzwaluw

3.2.1.1 Methode

Het onderzoek naar de gierzwaluw is uitgevoerd bij Rivierdijk nummer 519, in deelgebied Boezemgemaal (zie Figuur 1-2), conform de soorteninventarisatieprotocollen van het Netwerk Groene Bureaus (NGB 2023). Hierbij is gelet op nestindicerend gedrag van gierzwaluwen, zoals gieren, laagvliegen en in- of uitvliegen. Afwezigheid kan aangetoond worden wanneer tijdens twee veldbezoeken in de periode van 15 juni tot en met 15 juli geen waarnemingen zijn gedaan die duiden op de aanwezigheid van nesten. De veldbezoeken zijn vanaf een uur vóór zonsondergang tot een half uur na zonsondergang uitgevoerd.

De veldbezoeken zijn door een ter zake kundige van Sweco Nederland B.V. uitgevoerd en zijn uitgevoerd onder gunstige weersomstandigheden (geen regen, geen kou en geen extreme hitte met een maximale windsterkte van 3 Bft). Zie Tabel 3-5 voor een overzicht van de veldbezoeken en de weersomstandigheden.

Tabel 3-5 Veldbezoekoverzicht met weersomstandigheden van het gierzwaluwonderzoek.

Datum	Zonsondergang	Tijd	Weersomstandigheden	Aantal onderzoekers
24-06-2024	22:04	21:04 – 22:34	droog, onbewolkt, 24 °C, 2 Bft N	1
10-07-2024	21:58	20:57 – 22:30	droog, 2/8 bewolkt, 20 °C, 3 Bft ZW	1

3.2.1.2 Resultaten

Eerste veldbezoek

Het eerste veldbezoek heeft plaatsgevonden op 24 juni 2024. Er zijn geen waarnemingen gedaan van laagvliegende, gierende of anderszijds laagvliegende

gierzwaluwen. Tijdens het bezoek zijn in de omgeving van het projectgebied naar schatting 25 op hoogte vliegende gierzwaluwen waargenomen. Rond 22:16 uur waren alle gierzwaluwen in de omgeving van het projectgebied verdwenen en zijn geen andere waarnemingen van gierzwaluw gedaan.

Tweede veldbezoek

Het tweede veldbezoek heeft plaatsgevonden op 10 juli 2024. Tijdens het bezoek zijn naar schatting 15 gierzwaluwen waargenomen, foeragerend in de wijde omgeving van het projectgebied. Tegen het einde van het bezoek, om 22:24 zijn circa zeven gierzwaluwen laagvliegend waargenomen in buurt van de woningen aan de Sluisweg, op 150 meter van het projectgebied.

3.2.1.3 Effectbeoordeling

Er zijn geen waarnemingen van gierzwaluwen die nestindicerend gedrag vertonen in het projectgebied gedaan. Aanwezigheid van nesten van gierzwaluw in het projectgebied kan derhalve worden uitgesloten. Tevens zijn de enige laagvliegende gierzwaluwen tijdens het onderzoek nabij de woningen aan de Sluisweg waargenomen, op circa 150 meter afstand van het projectgebied. Deze afstand is ruim voldoende om verstoring door de werkzaamheden van eventueel aanwezige nesten van gierzwaluw in de woningen van de Sluisweg op voorhand uit te sluiten. Het aanvragen van een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot gierzwaluw is niet nodig.

3.2.2 Huismus

3.2.2.1 Methode

Het onderzoek naar de huismus is uitgevoerd bij Rivierdijk nummer 519, in deelgebied Boezemgemaal (zie Figuur 1-2), conform het Kennisdocument huismus (BIJ12, 2023b). Hierbij is gelet op territoriaal- en nestindicerend gedrag van de huismus of eventuele aanwezige jongen. Afwezigheid kan aangetoond worden wanneer tijdens drie bezoeken van een uur in de periode van 10 maart tot en met 20 juni (waarvan één tussen 1 april en 15 mei), geen waarnemingen zijn gedaan die duiden op de aanwezigheid van nesten.

De veldbezoeken zijn door een ter zake kundige ecooloog van Sweco Nederland B.V. onder gunstige weersomstandigheden uitgevoerd (geen regen, geen kou en geen extreme hitte met een maximale windsterkte van windkracht 4). Zie Tabel 3-6 voor een overzicht van de onderzoeksmomenten naar huismus.

Tabel 3-6 Veldbezoekoverzicht met de weersomstandigheden van het huismusonderzoek.

Datum	Zonsopkomst	Tijd	Weersomstandigheden	Aantal onderzoekers
08-05-2024	05:56	10:20 – 11:22	droog, geheel bewolkt, 13 °C, 2 Bft NW	1
28-05-2024	05:28	11:00 – 12:00	droog, 3/8 bewolkt, 14 °C, 3 Bft ZW	1
13-06-2024	05:19	09:35 – 10:35	Droog, 7/8 bewolkt, 16 °C, 2 Bft ZW	1

3.2.2.2 Resultaten

Eerste veldbezoek.

Het eerste veldbezoek heeft plaatsgevonden op 8 mei 2024. Aan het begin van

het bezoek is een huismus roepend gehoord vanuit de heg tussen de tuin van Rivierdijk 519 en de Kanaaldijk Noord. Circa tien minuten later zijn naar schatting vier huismussen kwetterend gehoord vanuit de tuin achter de garages van Rivierdijk 520 en 521, circa 40 meter ten noordwesten van het projectgebied. Later zijn in de zelfde heg van Rivierdijk 519 naar schatting twee kwetterende huismussen gehoord.

Tweede veldbezoek.

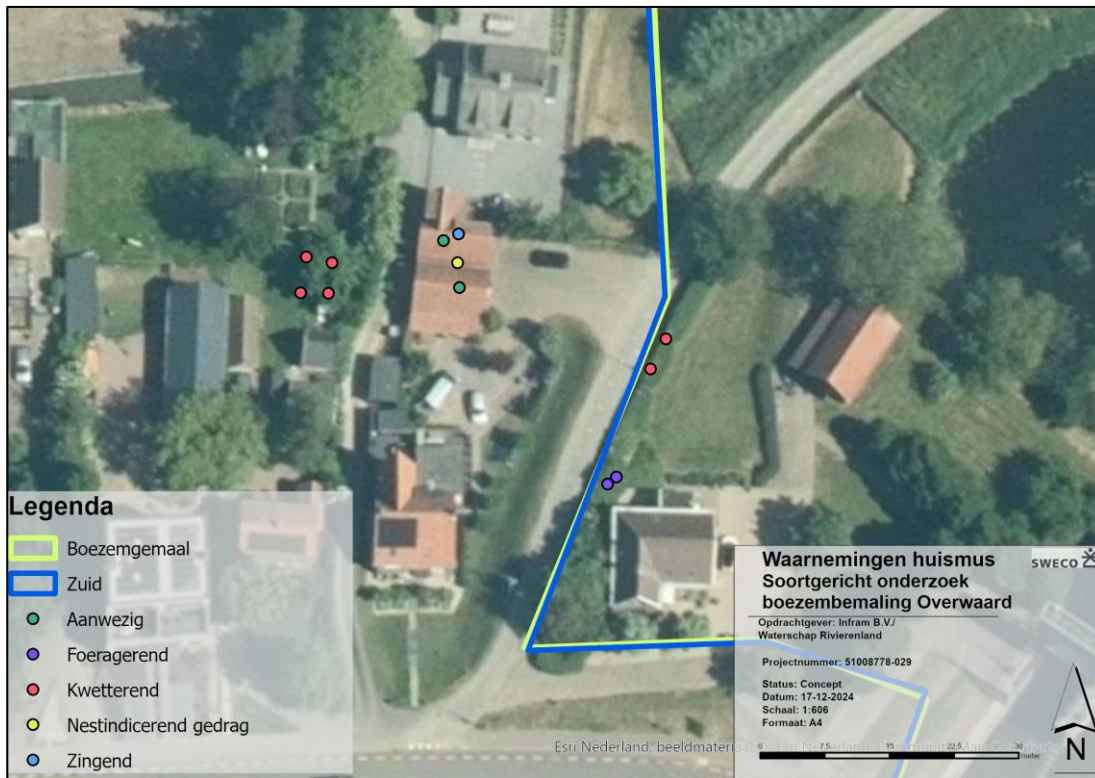
Het tweede veldbezoek heeft plaatsgevonden op 28 mei 2024. Tijdens de eerste helft van het bezoek is buiten het projectgebied een keer één huismus mannetje waargenomen zingend vanaf de nok van het dak van de garage van Rivierdijk 520 en iets later is vanuit de tuin achter de garage naar schatting één huismus kwetterend gehoord. Ongeveer 15 minuten later is vanaf dezelfde plek nog een keer naar schatting een huismus kwetterend gehoord. Aan het einde van het bezoek om 11:50 uur is binnen het projectgebied één huismus kwetterend gehoord vanuit de heester die tegen de noordwesthoek van Rivierdijk 519 staat.

Derde veldbezoek

Het derde veldbezoek heeft plaatsgevonden op 13 juni 2024. Bij de start van het bezoek zijn buiten het projectgebied vijf kwetterende huismussen waargenomen op de nok van de garage van Rivierdijk 520. Een van de huismussen is in de goot van deze garage waargenomen en later gezien terwijl hij onder de dakpannen verdween. Circa 20 minuten later is nog één huismus op de nok van de garage gezien en hadden de overige individuen zich verplaatst naar de tuin achter de garage. Iets later is één huismus waargenomen op het dak van Rivierdijk 520 en zijn binnen het projectgebied gedurende twee minuten naar schatting drie huismussen kwetterend gehoord vanuit de heester aan de noordwestzijde van Rivierdijk 519. Ongeveer 10 minuten later vlogen twee van deze huismussen richting

de garage van Rivierdijk 521 en is in de heester naast Rivierdijk 519 nog één foeragerende huismus waargenomen.

Waarnemingen van het onderzoek staan weergegeven in Figuur 3-2.



Figuur 3-2 Waarnemingen van huismus in de omgeving van het projectgebied.

3.2.2.3 Effectbeoordeling

Tijdens geen van de veldbezoeken zijn geen huismussen waargenomen die nestindicerend verdrag vertoonden nabij of in de bebouwing van Rivierdijk 519. Hierdoor kan aanwezigheid van nesten van huismussen in het projectgebied worden uitgesloten. Wel zijn foeragerende en kwetterende huismussen waargenomen in het groen aan de westkant van het projectgebied.

Tijdens het onderzoek zijn wel huismusnesten aangetoond in de garage van Rivierdijk 520 op circa 30 meter van het projectgebied. Ten gevolge van de voorgenomen werkzaamheden worden deze nesten niet fysiek aangetast maar kunnen wel mogelijk worden verstoord. Verstoring van de nesten kan optreden door de aanwezigheid van mensen, materiaal of effecten van licht en geluid.

Door deze verstoring zijn negatieve effecten op de aanwezige huismussen niet op voorhand uitgesloten, zoals het verlaten van nesten. Verstoring waardoor de functie van nestplaatsen niet als zodanig kan worden behouden, is een schadelijke handeling onder artikel 11.37 van het Bal, Ow. Verstoring (en daarmee negatieve effecten) kan worden uitgesloten als preventieve maatregelen worden getroffen. Deze preventieve maatregelen houden in dat de werkzaamheden in deelgebied boezemgemaal (zie Figuur 1-3) buiten de broedperiode van huismus worden uitgevoerd. De broedperiode van huismus loopt van maart tot en met september.

Indien deze preventieve maatregelen niet toegepast kunnen worden is het aanvragen van een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot huismus noodzakelijk. Ook is het in dat geval nodig om passende mitigerende en compenserende maatregelen te treffen. Deze maatregelen dienen te worden uitgewerkt in een ecologisch werkprotocol.

3.2.3 Kerkuil

3.2.3.1 Methode

Het onderzoek naar essentieel foerageergebied van kerkuil is uitgevoerd in deelgebieden Noord, Midden en Zuid (zie Figuur 1-2), conform het Kennisdocument kerkuil (BIJ12, 2017a). Hiervoor zijn drie bezoeken uitgevoerd, in de periode van 1 februari tot en met oktober. De bezoeken zijn door twee ter zake kundige ecologen van Sweco Nederland B.V. uitgevoerd. De onderzoeken zijn na zonsondergang uitgevoerd en tijdens het onderzoek is gebruik gemaakt van een warmtebeeldcamera type Hikmicro Lynx Pro LH25.

De veldbezoeken zijn uitgevoerd onder gunstige weersomstandigheden (geen regen, geen kou en geen extreme hitte met een maximale windsterkte van windkracht 4). Zie Tabel 3-7 voor een overzicht van de onderzoeksmomenten en weersomstandigheden.

Tabel 3-7 Veldbezoekoverzicht kerkuil met de weersomstandigheden gespecificeerd

Datum	Zonsondergang	Tijd	Weersomstandigheden	Aantal onderzoekers
19-03-2024	18:36	19:30 – 22:30	droog, 2/8 bewolkt, 17 °C, 1 Bft ZW	2
04-04-2024	20:19	20:50 – 23:50	droog, 1/8 bewolkt, 11 °C, 3 Bft ZW	2
23-04-2024	20:52	20:50 – 00:00	Droog. 5/8 bewolkt. 8 °C, 3 Bft NW	2

3.2.3.2 Resultaten

Eerste veldbezoek

Het eerste veldbezoek heeft plaatsgevonden op 19 maart 2024. Tijdens het veldbezoek is in deelgebied Midden twee keer een jagende kerkuil waargenomen, de eerste om 19:54 en later om 20:21. Beide keren werd de kerkuil in het veld tussen het bosperceel van Parallelweg 110 en de achtertuin van Parallelweg 118 gezien. Tijdens deze ronde zijn in deelgebied Noord en deelgebied Zuid geen kerkuilen waargenomen.

Tweede veldbezoek

Het tweede veldbezoek heeft plaatsgevonden op 4 april 2024. Tijdens dit bezoek zijn in alle drie de deelgebieden geen kerkuilen waargenomen.

Derde veldbezoek

Het derde veldbezoek heeft plaatsgevonden op 23 april 2024. Tijdens dit bezoek zijn in alle drie de deelgebieden geen kerkuilen waargenomen.

3.2.3.3 Effectbeoordeling

Tijdens het onderzoek naar kerkuil is de soort in deelgebied Midden in totaal twee keer kort jagend waargenomen tijdens hetzelfde veldbezoek met een tussenperiode van circa 30 minuten. Door het ontbreken van verdere waarnemingen van kerkuil tijdens de overige veldbezoeken (inclusief die voor vleermuizen) kan worden vastgesteld dat het deelgebied Midden geen essentieel foerageergebied voor kerkuil vormt. In de deelgebieden Noord en Zuid zijn gedurende het onderzoek helemaal geen waarnemingen van kerkuil gedaan. Derhalve kan hier de aanwezigheid van essentieel foerageergebied van kerkuil worden uitgesloten. Bij de geplande werkzaamheden is daarmee

geen sprake van schadelijke handelingen met betrekking tot kerkuil. Er hoeft geen omgevingsvergunning flora- en fauna- activiteit met betrekking tot kerkuil aangevraagd te worden.

3.2.4 Steenuil

3.2.4.1 Methode

Het onderzoek naar steenuil is uitgevoerd in deelgebieden Noord, Midden en Zuid. Het onderzoek is uitgevoerd conform de soortinventarisatieprotocollen van Netwerk Groene Bureaus en het Kennisdocument steenuil (BIJ12, 2017b). Hiervoor zijn vier bezoeken uitgevoerd in de optimale periode van 1 februari tot en met 30 april. Bij drie van de bezoeken is de baltsroep van de steenuil afgespeeld om een respons van mogelijk aanwezige steenuilen uit te lokken en zo een indicatie te krijgen van de aanwezigheid van een individu of een paar. Bij het vierde veldbezoek is naar sporen en nestplekken van steenuil gezocht.

De veldbezoeken zijn door twee ter zake kundige ecologen van Sweco Nederland B.V. uitgevoerd onder gunstige weersomstandigheden (geen regen, geen kou en geen extreme hitte met een maximale windsterkte van Bft 4). Zie

Tabel 3-8 Tabel 3-7 voor een overzicht van de onderzoeksmomenten en weersomstandigheden.

Voor dit aanvullend onderzoek voor de steenuil is informatie over bekende steenuil territoria en nestkasten binnen en rondom het projectgebied opgevraagd bij Steenuilen Overleg Nederland (STONE) en Steenuilenwerkgroep Alblasserwaard (persoonlijke communicatie, 11 maart 2024).

Tabel 3-8 Veldbezoekoverzicht steenuil met de weersomstandigheden gespecificeerd.

Datum	Zonsondergang	Tijd	Weersomstandigheden	Type bezoek	Aantal onderzoekers
19-03-2024	18:36	19:30 – 22:30	droog, 2/8 bewolkt, 17 °C, 1 Bft ZW	Afspelen baltsroep	2
04-04-2024	20:19	20:50 – 23:50	droog, 1/8 bewolkt, 11 °C, 3 Bft ZW	Afspelen baltsroep	2
23-04-2024	20:52	20:50 – 00:00	Droog. 5/8 bewolkt. 8 °C, 3 Bft NW	Afspelen baltsroep	2
03-05-2024	21:09	19:19 – 20:27	Droog. 2/8 bewolkt. 16 °C, 4 Bft NW	Zoeken nesten en sporen	1

3.2.4.2 Resultaten

Er zijn tijdens de vier bezoeken geen steenuilen of sporen en/of nesten van steenuilen aangetroffen binnen of nabij het projectgebied.

3.2.4.3 Effectbeoordeling

De aanwezigheid van territoria van steenuil in het projectgebied kan worden uitgesloten aangezien tijdens het onderzoek geen steenuilen of sporen zijn aangetroffen. Daarmee zijn negatieve effecten op deze soort ook uitgesloten. Er

hoeft geen omgevingsvergunning flora- en fauna- activiteit aangevraagd te worden met betrekking tot steenuil.

3.2.5 Buizerd

3.2.5.1 Methode

De inventarisatie naar jaarrond beschermde nesten van de buizerd is uitgevoerd in deelgebied Midden, conform het kennisdocument buizerd (BIJ12, 2017c). De aanwezigheid van een nest of rustplaats van de buizerd wordt aangetoond dan wel uitgesloten middels de uitvoering van vier gerichte veldbezoeken. Deze veldbezoeken zijn overdag uitgevoerd in de periode van 1 maart tot en met 15 mei, met een minimale tussenperiode van 10 dagen.

De veldbezoeken zijn door één ter zake kundige ecooloog van Sweco uitgevoerd. Tijdens de inventarisatie is gelet of de in deelgebied Midden aanwezige nesten in gebruik zijn/worden genomen door individuen van de buizerd. Zie onderstaande overzicht van de bezoekmomenten en de weersomstandigheden (Tabel 3-9).

Tabel 3-9 Veldbezoekoverzicht buizerd met de weersomstandigheden gespecificeerd.

Datum	Zonsondergang	Tijd	Weersomstandigheden	Aantal onderzoekers
12-04-2024	20:33	18:00 – 19:15	droog, 2/8 bewolkt, 17 °C, 3 Bft ZW	1
23-04-2024	20:52	19:10 – 20:30	Droog. 5/8 bewolkt. 8 °C, 3 Bft NW	1
03-05-2024	21:09	19:19 – 20:27	Droog. 2/8 bewolkt. 16 °C, 4 Bft ZO	1
13-05-2024	21:25	14:00 – 15:00	Droog. 5/8 bewolkt. 19 °C, 2 Bft ZO	1

3.2.5.2 Resultaten

Eerste veldbezoek

Het eerste veldbezoek heeft plaatsgevonden op 12 maart 2024. Tijdens het veldbezoek is drie keer een overvliegende buizerd waargenomen. De eerste keer op de hoek van het bosperceel van Parallelweg 110, de tweede keer nabij de rij populieren ten oosten van het deelgebied Midden en de derde keer boven het veld aan de oostkant van het deelgebied. Ook is tijdens het bezoek een groot nest waargenomen in de eerder genoemde rij populieren op 140 meter ten oosten van het projectgebied.

Tweede veldbezoek

Het tweede veldbezoek heeft plaatsgevonden op 23 maart 2024. Tijdens het bezoek is één keer kort een overvliegende buizerd waargenomen boven het veld aan de oostkant van het deelgebied Midden.

Derde veldbezoek

Het derde veldbezoek heeft plaatsgevonden op 3 mei 2024. Tijdens het bezoek zijn twee buizerds miauwend gehoord en gezien nabij de rij populieren ten oosten van het deelgebied Midden. Verder is tijdens het bezoek een zwarte kraai op een nest waargenomen in het bosperceel van Parallelweg 110.

Vierde veldbezoek

Het vierde veldbezoek heeft plaatsgevonden op 13 mei 2024. Tijdens het bezoek is een jagende buizerd waargenomen boven het veld ten westen van het bosperceel van Parallelweg 110. Na enkele minuten vloog de buizerd weg in oostelijke richting over het bosperceel. Daarna werd een buizerd (mogelijk zelfde individu) ten oosten van het deelgebied Midden nabij de rij populieren langere tijd langsvliegend en laagvliegend waargenomen.

Overige waarnemingen

Tijdens één van de bezoeken aan deelgebied Midden voor het aanvullende onderzoek marterachtigen op 4 november 2024, is een buizerd opvliegend vanaf de grond waargenomen aan de oostzijde van het bosperceel van Parallelweg 110. De buizerd vloog vanaf de grond richting het oosten het bosperceel uit, zie Figuur 3-3. Bij inspectie van de plek van opvliegen zijn geen prooiresten aangetroffen,



Figuur 3-3 Waarnemingen van buizerd in de omgeving van het projectgebied en locaties nesten in deelgebied Midden.

3.2.5.3 Effectbeoordeling

Rondom de nesten in het deelgebied Midden is geen activiteit of nestindicatief gedrag van buizerd waargenomen. Ook rond het tijdens eerder onderzoek (Sweco, 2021) aangetroffen buizerdnest is bij dit onderzoek geen activiteit waargenomen (zie Figuur 3-3). Bij de nesten zijn geen sporen van gebruik door buizerd gevonden zoals vers opgelegde takken (breuklijn in het nest), prooiresten of krijtsporen. Aanwezigheid van jaarrond beschermde nesten van buizerd in het projectgebied kan worden uitgesloten. Gebruik door het paartje

buizerds van het nest in de populieren rij op 140 meter ten oosten van het projectgebied kon niet met zekerheid worden vastgesteld of uitgesloten. Dit nest ligt echter op voldoende afstand van het projectgebied om verstoring van eventueel broedende buizerds hier uit te sluiten. Het aanvragen van een omgevingsvergunning flora- en fauna- activiteit met betrekking tot buizerd is niet nodig.

3.2.6 Boomvalk, havik en sperwer.

3.2.6.1 Methode

De inventarisatie naar nesten van de boomvalk, havik en sperwer is uitgevoerd in deelgebied Midden. Voor het onderzoek naar deze soorten is gebruik gemaakt van de methodes die zijn opgesteld door Sovon Vogelonderzoek Nederland (Handleiding Sovon Broedvogelmonitoring: BMP & kolonievogels). Voor boomvalk zijn tussen 25 april en 31 augustus twee bezoeken uitgevoerd. Voor havik zijn twee bezoeken tussen 25 januari en 10 juli en voor de sperwer twee bezoeken tussen 25 februari en 10 juli uitgevoerd. Tijdens de veldbezoeken is gelet op nestindicerend gedrag zoals prooivluchten, baltsen, alarmroepen, nestbouw of uitwerpselen.

De veldbezoeken zijn door één ter zake kundige ecooloog van Sweco uitgevoerd. Tijdens de inventarisatie is gelet of in deelgebied Midden aanwezige nesten (zie Figuur 3-3) in gebruik zijn genomen door boomvalk, havik of sperwer. Zie Tabel 3-10) voor de bezoekmomenten en de weersomstandigheden.

Tabel 3-10 Onderzoeksmomenten en weersomstandigheden voor nestenonderzoek boomvalk, havik en sperwer

Datum	Zonsondergang	Tijd	Weersomstandigheden	Onderzochte soorten	Aantal onderzoekers
12-04-2024	20:33	18:00 – 19:15	droog, 2/8 bewolkt, 17 °C, 3 Bft ZW	Havik, sperwer	1
23-04-2024	20:52	19:10 – 20:30	Droog. 5/8 bewolkt. 8 °C, 3 Bft NW	Havik, sperwer	1
03-05-2024	21:09	19:19 – 20:27	Droog. 2/8 bewolkt. 16 °C, 4 Bft ZO	Boomvalk (havik, sperwer)	1
13-05-2024	21:25	14:00 – 15:00	Droog. 5/8 bewolkt. 19 °C, 2 Bft ZO	Boomvalk (havik sperwer)	1

3.2.6.2 Resultaten

Er zijn tijdens de veldbezoeken geen waarnemingen gedaan van boomvalk, havik of sperwer in of nabij het projectgebied.

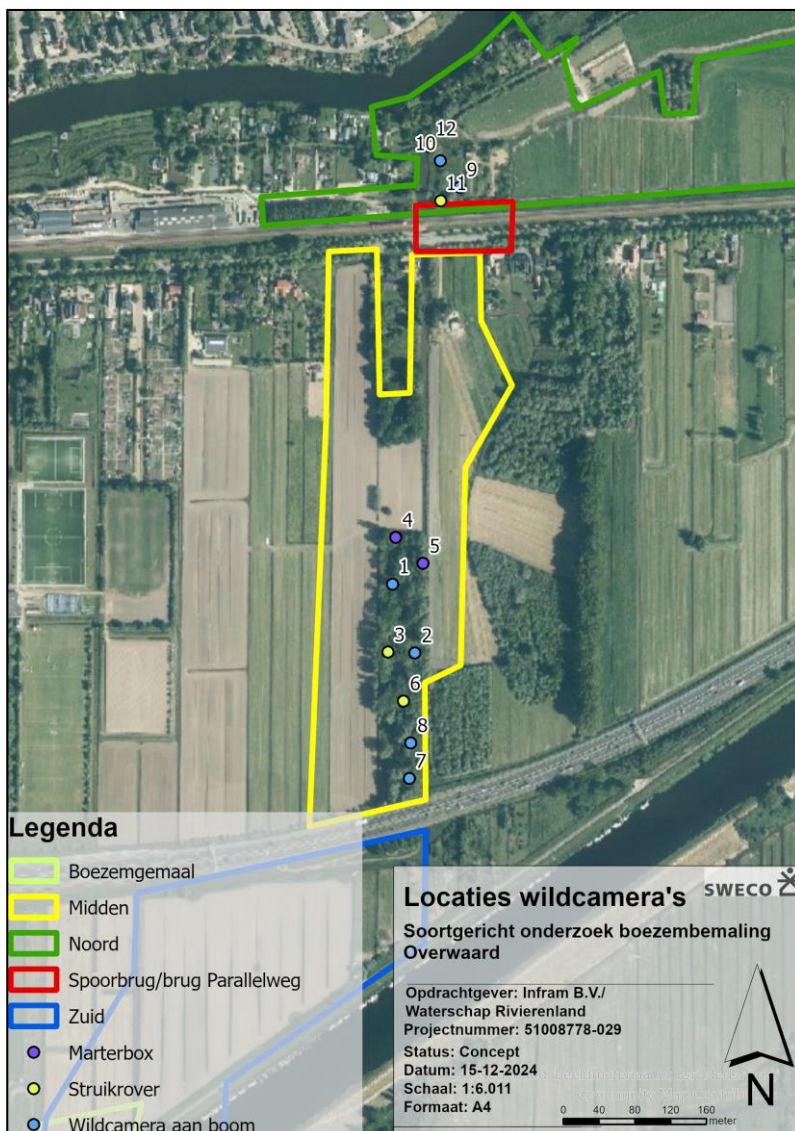
3.2.6.3 Effectbeoordeling

Omdat geen waarnemingen zijn gedaan van boomvalk, havik en sperwer, kan de aanwezigheid van nesten van deze soorten worden uitgesloten. Negatieve effecten op deze soorten kunnen worden uitgesloten. Er hoeft derhalve geen omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit aangevraagd te worden.

3.3 Kleine marterachtigen

3.3.1.1 *Methode*

Het onderzoek naar kleine marterachtigen is uitgevoerd in deelgebied Noord en deelgebied Midden. Voor de inventarisatie van bunzing, hermelijn en wezel is gebruik gemaakt van wildcamera's. Het onderzoek is uitgevoerd conform het kennisdocument kleine marterachtigen van BIJ12 (BIJ12, 2024). Het onderzoek heeft minimaal 8 weken geduurd en per 0,25 hectare geschikt leefgebied is één meetpunt toegepast. De wildcamera's zijn op kansrijke locaties geplaatst in het onderzoeksgebied op plaatsen waar mogelijk rust- of voortplantingsplaatsen, foerageergebieden en verbindingzones aanwezig zijn. Op 20 september zijn zes wildcamera's uitgezet. Op 4 november zijn de wildcamera's naar andere plekken verplaatst om meer meetpunten te creëren waardoor in totaal 12 meetpunten zijn onderzocht. Bij de verplaatsing zijn tevens de batterijen, SD-kaarten en het lokaas vervangen. De camera's zijn op 2 december 2024 uit het veld gehaald. De locaties van de meetpunten zijn weergegeven in Figuur 3-4.

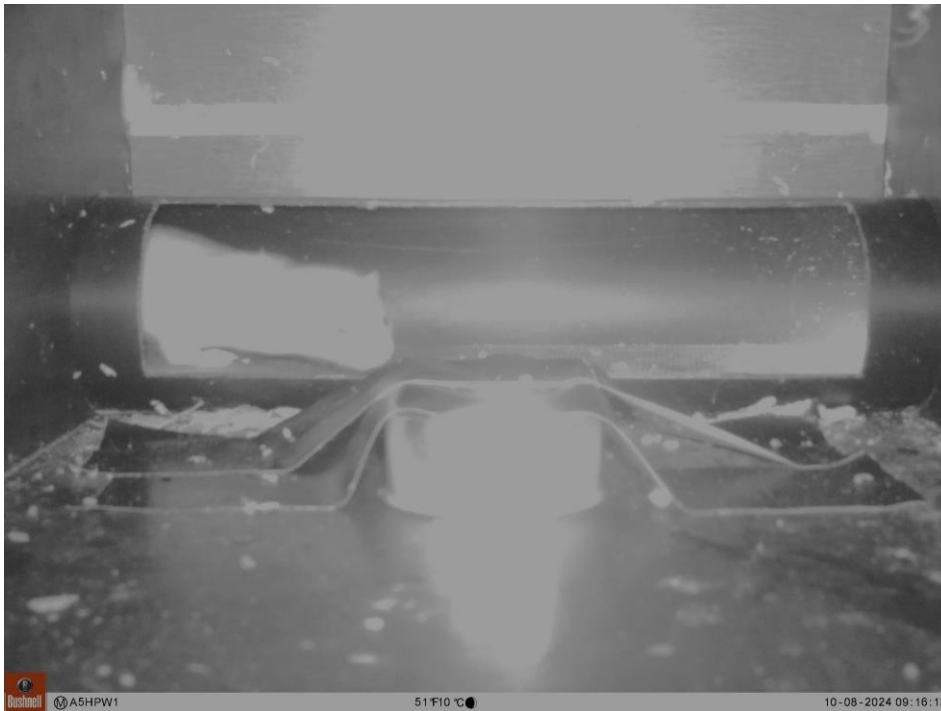


Figuur 3-4 Locaties van uitgezette wildcamera's in deelgebieden Noord en Midden.

3.3.1.2 Resultaten

Bunzing is gedurende het onderzoek niet waargenomen.

Op 6 oktober om 17:52 uur en twee dagen later op 8 oktober om 09:18 uur is in deelgebied Midden een hermelijn waargenomen op camera 4 (zie Figuur 3-5).
Op 17 oktober om 07:56 is een wezel waargenomen op camera 9 (zie Figuur 3-6).



Figuur 3-5 Hermelijn in marterbox, waargenomen in deelgebied Midden op camera 4. Vermoedelijk dezelfde hermelijn werd twee dagen eerder in dezelfde marterbox vastgelegd.



Figuur 3-6 Wezel waargenomen in deelgebied Noord op camera 9.

3.3.1.3 *Effectbeoordeling*

De bunzing is tijdens het onderzoek niet aangetroffen in het projectgebied of in de omgeving daarvan, waardoor het aanwezigheid van verblijfplaatsen van bunzing in het projectgebied is uitgesloten. Daarmee zijn tevens negatieve effecten op de soort uit te sluiten. Het nemen van maatregelen of het aanvragen van een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot bunzing is niet nodig.

Met de waarnemingen uit het onderzoek is het voorkomen van wezel in deelgebied Noord en hermelijn in deelgebied midden vastgesteld. Beide wezel en hermelijn kunnen gebruik maken van kleine holen (in het geval van wezel zelfs muizenholen) of hopen hout of puin als verblijfplaats. De soorten maken gebruik van een netwerk van verschillende verblijfplaatsen in hun territorium. Bovendien kan de territoriumgrootte voor wezel en hermelijn sterk uiteenlopen van 1 – 25 ha voor wezel en 1 – 40 hectare voor hermelijn. Het bosperceel in deelgebied Midden en de verruigde percelen in deelgebied Noord zijn bij uitstek geschikte plekken voor verblijfplaatsen en foerageergebied van deze soorten. Omdat in de directe omgeving veel minder geschikte biotopen voor verblijfplaatsen en foerageergebied van wezel en hermelijn aanwezig zijn, zoals intensief beheerde akkers of weilanden, is het aannemelijk dat in het bosperceel van Parallelweg 110 (deelgebied Midden) en de verruigde percelen van deelgebied Noord één of meerdere verblijfplaatsen van wezel en hermelijn aanwezig zijn. Door het gebrek aan geschikte alternatieve biotopen die kunnen dienen als leefgebied, zal het verdwijnen van deze geschikte percelen, als gevolg van de voorgenomen plannen, mogelijk een negatief effect hebben op aanwezige individuen van wezel of hermelijn. Omdat wezel en hermelijn in de Provincie Zuid-Holland vrijgesteld zijn van de vergunningplicht hoeft voor de soorten geen omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit aangevraagd te worden. Wel is de specifieke Zorgplicht (art 11.27 van het Bal) van toepassing. Het is daarom nodig om passende preventieve maatregelen te nemen om te zorgen dat de staat van instandhouding van de soorten niet wordt aangetast. Deze maatregelen dienen te worden vastgelegd in een ecologisch werkprotocol.

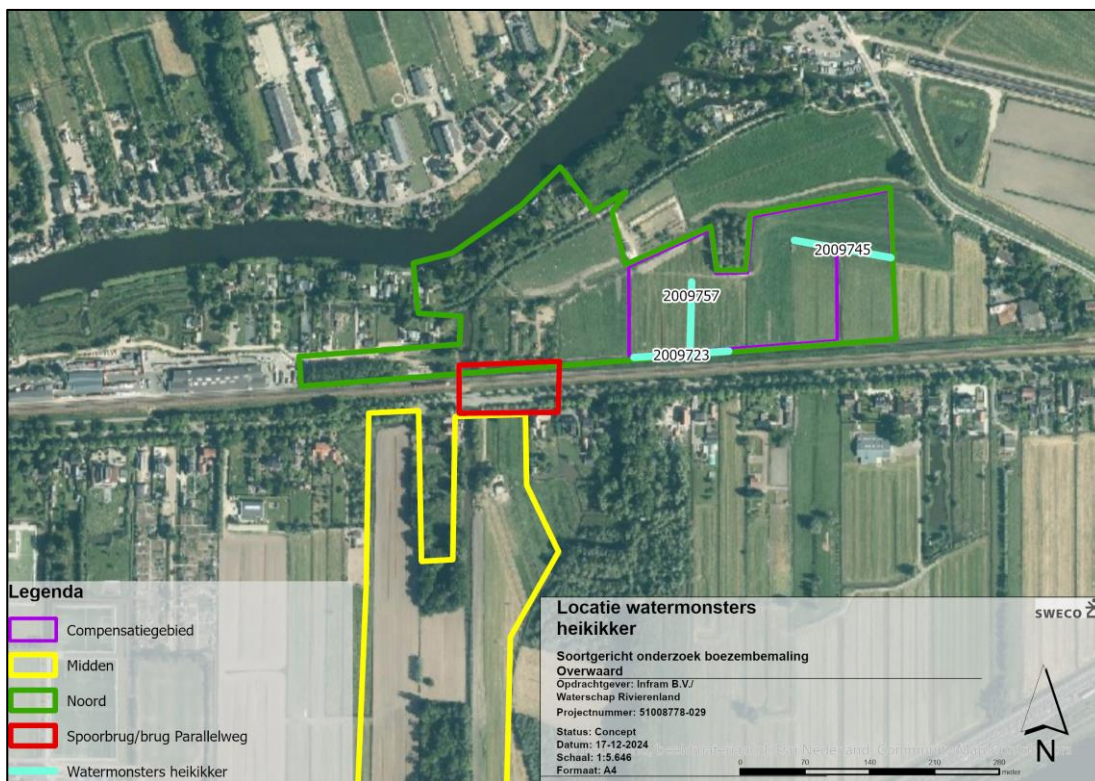
3.4 Amfibieën

3.4.1 Heikikker

3.4.1.1 *Methode*

De inventarisatie van heikikker is uitgevoerd bij de watergangen van het compensatiegebied in deelgebied Noord en is gedaan middels eDNA onderzoek. Uit de watergangen in het deelgebied zijn op 11 oktober 2024 watermonsters genomen door ecologen van Sweco Nederland B.V.. De locaties van de genomen watermonsters is weergegeven in Figuur 3-7.

De analyse van de watermonsters is uitgevoerd door Datura. De watermonsters zijn middels real-time Q-PCR getest op de aanwezigheid van DNA van heikikker. Verdere details over de analyse van de watermonsters zijn terug te vinden in het onderzoeksrapport van Datura (Kool *et al*, 2024).



Figuur 3-7 Locaties en monsternummers van watermonsters eDNA onderzoek heikikker.

3.4.1.2 Resultaten

In het watermonster 2009723, uit de watergang aan de zuidzijde van deelgebied Noord, (zie Figuur 3-7) is eDNA van heikikker gedetecteerd. Het aantal positieve replicaties kan een grove indicatie geven van de hoeveelheid aanwezig eDNA. Dit betekent dat in monster 2009723 een lage concentratie eDNA van heikikker is gedetecteerd. Middels het uitgevoerde eDNA onderzoek is met voldoende zekerheid aangetoond dat heikikker voorkomt in het projectgebied.

Monsternummer	Resultaat heikikker
2009723	1/12
2009745	0/12
2009757	0/12

3.4.1.3 Effectbeoordeling

Met de voorgenomen plannen om de watergangen in deelgebied noord rondom het toekomstige contour van het kanaal gedeeltelijk te dempen en het compensatiegebied opnieuw in te richten wordt mogelijk leefgebied van heikikker aangetast en worden mogelijk individuen van de soort gedood. Dit zijn schadelijke handelingen onder art. 11.46, lid 1a en 1d van het Bal. Voor de uitvoering van de voorgenomen werkzaamheden dient een omgevingsvergunning flora-en fauna-activiteit met betrekking tot heikikker aangevraagd te worden. Verder dienen in deelgebied Noord mitigerende maatregelen getroffen te worden om de negatieve effecten van de werkzaamheden op heikikker zoveel mogelijk te verzachten. Hierbij kan gedacht worden aan het één kant op werken bij het dempen van de watergang,

het uitvoeren van de werkzaamheden in de watergangen zoveel mogelijk buiten de voortplantingsperiode van heikikker (van half februari tot half juli), en graafwerkzaamheden op het land zoveel mogelijk buiten de winterrustperiode van heikikker (van oktober tot half februari). Deze maatregelen dienen nader te worden uitgewerkt en te worden vastgelegd in een ecologisch werkprotocol.

3.4.2 Poelkikker

3.4.2.1 Methode

Het onderzoek naar de poelkikker is uitgevoerd bij de watergangen van het compensatiegebied in deelgebied Noord, conform het soortinventarisatieprotocol van het Netwerk Groene Bureaus (NGB, 2023). Hiervoor is onderzoek uitgevoerd naar kooractiviteit en aanwezigheid van adulten. In totaal zijn twee veldbezoeken uitgevoerd in de periode mei tot en met half juli, waarvan één bezoek 's avonds naar kooractiviteit en één bezoek overdag voor zichtwaarnemingen. De bezoeken zijn uitgevoerd onder geschikte weersomstandigheden, warm en windkracht van minder dan 4 Bft

De veldbezoeken zijn door één ter zake kundige ecooloog van Sweco uitgevoerd. Zie onderstaande overzicht van de bezoekmomenten en de weersomstandigheden (zie Tabel 3-11).

Tabel 3-11 Overzicht van onderzoeksmomenten en weersomstandigheden onderzoek poelkikker

Datum	Zonsondergang	Tijd	Weersomstandigheden	Type bezoek	Aantal onderzoekers
19-06-2024	22:04	22:00 – 00:00	droog, 2/8 onbewolkt, 17 °C, 3 Bft N	Kooractiviteit en zichtwaarnemingen met zaklamp	1
10-07-2024	21:58	19:30 – 20:53	Droog, 7/8 bewolkt. 21 °C, 2 Bft NW	Zichtwaarnemingen overdag	1

3.4.2.2 Resultaten

Eerste bezoek

Het eerste veldbezoek heeft plaatsgevonden op 19 juni 2024. Tijdens het bezoek zijn geen poelkikkers waargenomen.

Wel is tijdens het bezoek vier keer kooractiviteit van bastaardkikker gehoord vanuit de Molensloot in deelgebied Noord. De eerste keer is kooractiviteit gehoord om 22:20 uur van naar schatting twee individuen, de tweede keer om 22:39 uur van één individu, de derde keer om 23:44 uur van één individu en de laatste keer om 23:57 uur ook van één individu.

Tweede bezoek

Het tweede veldbezoek heeft plaatsgevonden op 10 juli 2024. Tijdens het bezoek zijn geen waarnemingen gedaan van poelkikker.

3.4.2.3 Effectbeoordeling

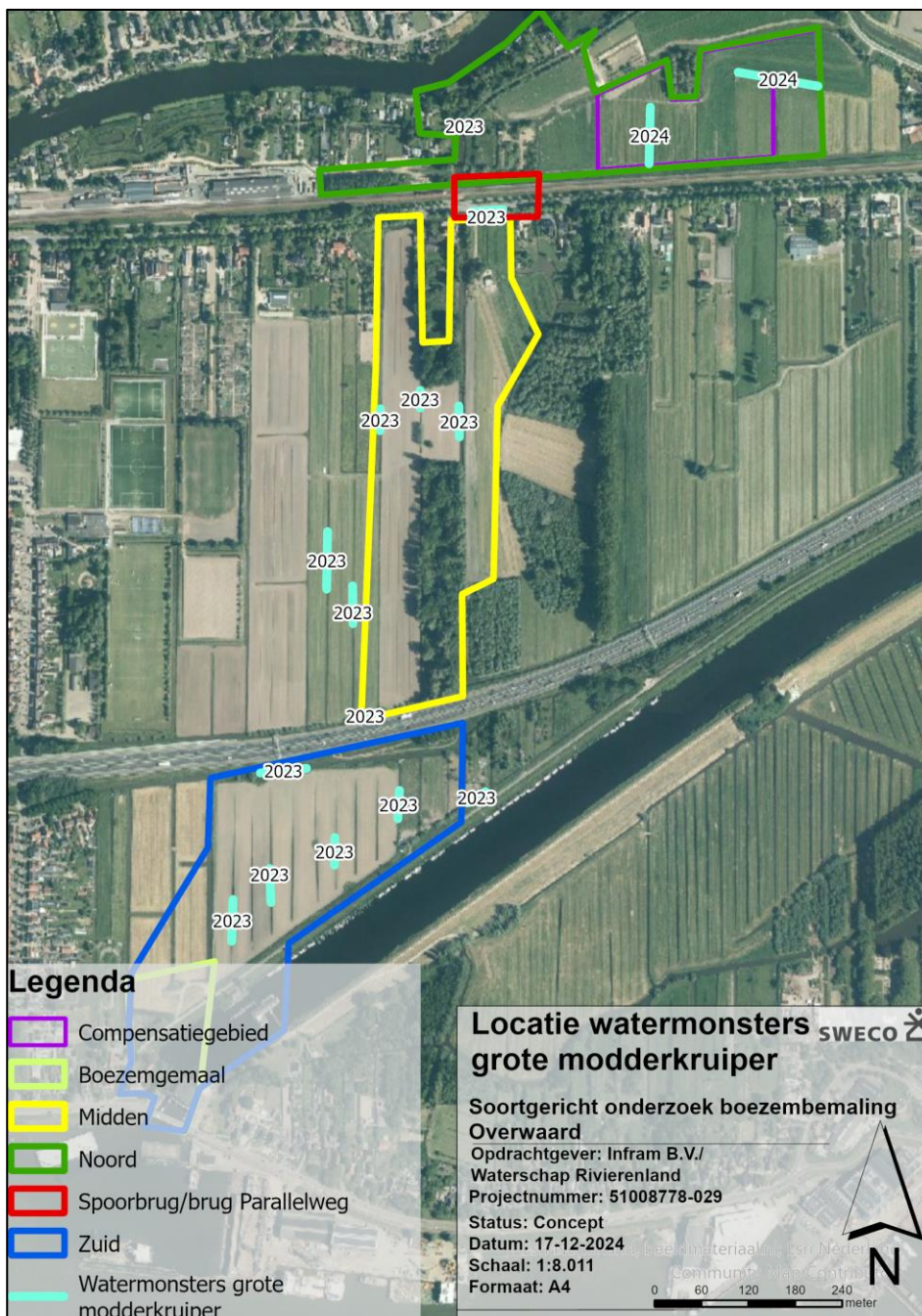
Het voorkomen van poelkikker in het compensatiegebied in deelgebied noord kan worden uitgesloten. Er is daarmee geen sprake van schadelijke handelingen bij het uitvoeren van de voorgenomen werkzaamheden. Het aanvragen van een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot poelkikker is niet nodig.

3.5 Grote modderkruiper

3.5.1.1 Methode

De inventarisatie van grote modderkruiper is uitgevoerd middels eDNA onderzoek. In 2023 zijn de watergangen in deelgebied Zuid, Midden en Noord, met uitzondering het compensatiegebied. In 2024 is het onderzoek uitgebreid met de watergangen in het compensatiegebied. De watermonsters voor de eDNA onderzoek uit 2023 zijn op 11 april in opdracht van Sweco B.V. door een medewerker van Datura Molecular Solutions B.V. genomen. Voor het eDNA onderzoek uit 2024 zijn op 11 oktober 2024 watermonster genomen door onderzoekers van Sweco Nederland B.V.. De locaties van de genomen watermonsters en de jaartallen zijn weergegeven in Figuur 3-8.

Analyse van de watermonsters is uitgevoerd door Datura. De monsters zijn middels real-time Q-PCR getest op de aanwezigheid van DNA van grote modderkruiper. Verdere details over de analyse van de samples zijn, naast de resultaten, terug te vinden in de onderzoeksrapporten van Datura (Wellens-Roemaat *et al.*, 2023; Kool *et al.*, 2024).



Figuur 3-8 Locaties genomen watermonsters voor het onderzoek naar grote modderkruiper in deelgebieden Noord, Midden, Zuid en compensatiegebied.

3.5.1.2 Resultaten

In de watermonsters is geen eDNA van grote modderkruiper gedetecteerd. Op basis hiervan kan worden uitgesloten dat grote modderkruiper in de watergangen in of direct rondom het projectgebied aanwezig is.

3.5.1.3 Effectbeoordeling

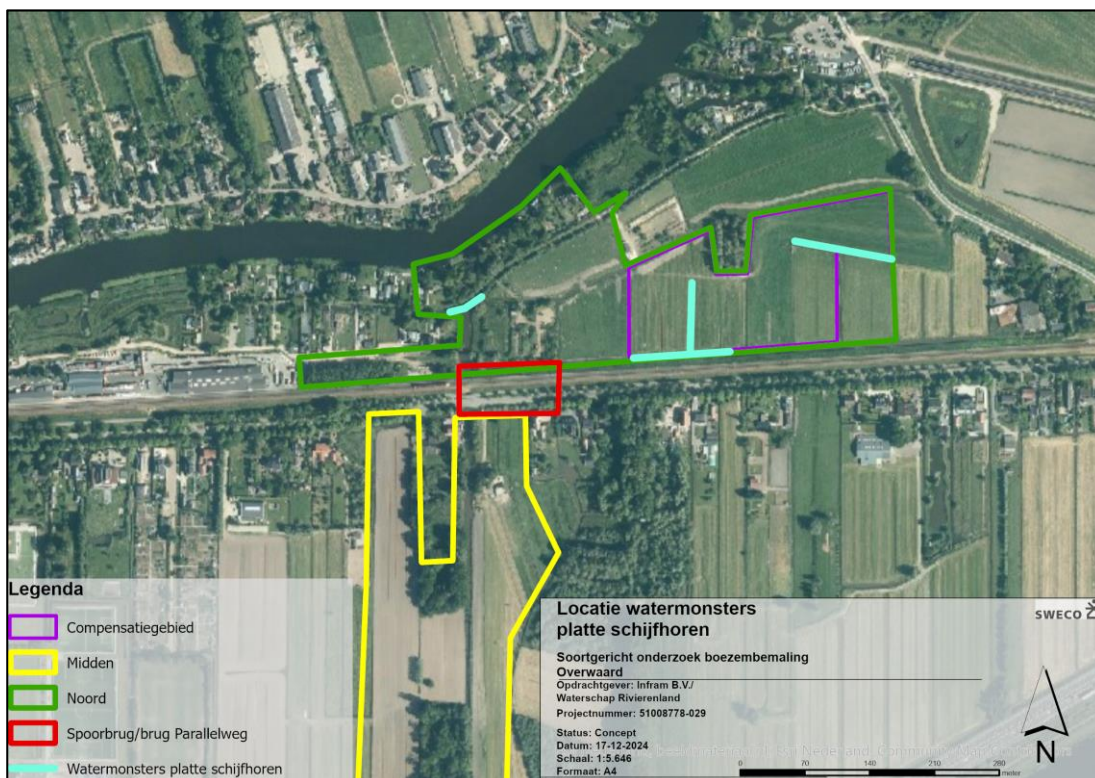
Door afwezigheid van eDNA van grote modderkruiper kan worden uitgesloten dat deze soort aanwezig is binnen het projectgebied. Bij de geplande werkzaamheden is daarmee geen sprake van schadelijke handelingen met betrekking tot grote modderkruiper. Het aanvragen van een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot grote modderkruiper is niet nodig.

3.6 Platte schijfhoren

3.6.1.1 Methode

De inventarisatie van platte schijfhoren is uitgevoerd bij de watergangen van deelgebied Noord en is gedaan middels eDNA onderzoek. Uit de watergangen in het deelgebied zijn op 11 oktober 2024 watermonsters genomen door ecologen van Sweco Nederland B.V. De locaties van de genomen watermonsters zijn weergegeven in Figuur 3-9.

Analyse van de watermonsters is uitgevoerd door Datura. De samples zijn middels real-time Q-PCR getest op de aanwezigheid van DNA van platte schijfhoren. Verdere details over de analyse van de samples zijn terug te vinden in het onderzoeksrapport van Datura (Kool *et al*, 2024).



Figuur 3-9 Locaties watermonsters eDNA onderzoek platte schijfhoren.

3.6.1.2 Resultaten

In de watermonsters is geen eDNA van platte schijfhoren gedetecteerd. Op basis hiervan kan worden uitgesloten dat platte schijfhoren in de watergangen in of direct rondom deelgebied Noord aanwezig is.

3.6.1.3 Effectbeoordeling

Op basis van het uitgevoerde eDNA onderzoek kan worden uitgesloten dat platte schijfhoren aanwezig is in de watergangen van deelgebied Noord. Bij de geplande werkzaamheden is daarmee geen sprake van schadelijke handelingen met betrekking tot platte schijfhoren. Het aanvragen van een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot platte schijfhoren is niet nodig.

3.7 Overige soorten

Tijdens het onderzoek met wildcamera's naar beschermde soorten zijn diverse beschermde, maar vrijgestelde soorten op beeld vastgelegd. Dit zijn ree, haas, bruine rat en verschillende soort spits- en woel- muizen. Verder is tijdens het onderzoek naar amfibieën ook de bastaardkikker waargenomen. Deze soorten zijn in de provincie Zuid-Holland vrijgesteld van de vergunningsplicht en door het in acht nemen van maatregelen wordt de Staat van Instandhouding geborgd. Daarmee hoeft er geen omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit aangevraagd te worden. Wél geldt de specifieke zorgplicht (art. 11.27 Bal) en de plicht dat onnodig lijden wordt voorkomen (art. 11.28 Bal). Derhalve dienen passende preventieve maatregelen getroffen te worden om te voorkomen dat deze dieren onnodig geschaad worden. Deze dienen opgenomen en uitgewerkt te worden in een ecologisch werkprotocol.

Broedvogels

Tijdens het onderzoek naar buizerd is in het bosperceel van Parallelweg 110 een zwarte kraai op een nest waargenomen. Zwarte kraai is een categorie 5 soort met jaarrond beschermde nesten. Dit houdt in dat de nesten van zwarte kraai jaarrond beschermd zijn als er sprake is van zwaarwegende ecologische redenen, zoals het ontbreken van voldoende alternatieve nestlocaties. Omdat er in de omgeving van het projectgebied voldoende andere bospercelen en bomenlanen aanwezig zijn, zijn de nesten van zwarte kraai in dit geval niet jaarrond beschermd. Wel is het verstoren of vernietigen van een nest in gebruik een schadelijke handeling.

Naast zwarte kraai is het aannemelijk dat ook andere algemeen voorkomende broedvogels zoals ekster, spreeuw, houtduif, koolmees, winterkoning en heggemus, zanglijster, merel en roodborst in het bosperceel broeden. De nesten van deze broedvogels zijn tijdens het broedseizoen (ca. half maart tot half juli) beschermd. Derhalve dienen passende preventieve maatregelen genomen te worden. Deze dienen opgenomen en uitgewerkt te worden in een ecologisch werkprotocol.

4 Conclusie

Uit het soortgerichte onderzoek, kunnen de volgende, onderstaande, conclusies worden getrokken.

4.1 Vleermuizen

Deelgebied Noord

- De wilgenlaan langs de Achterdijk oost maakt onderdeel uit van een essentiële vliegroute voor gewone dwergvleermuis.
- De boomrijke delen en verruigde percelen in deelgebied Noord maken onderdeel uit van essentieel foerageergebied voor gewone dwergvleermuis.
- In deelgebied Noord zijn geen verblijfplaatsen van boombewonende vleermuizen aanwezig.
- Bij het rooien van een deel van de wilgen in de laan langs de Achterdijk oost wordt de essentiële vliegroute verstoord of zelfs ongeschikt. Daarmee is sprake van een schadelijke handeling volgens art 11.46 eerste lid onder d van het Bal.
- Bij het rooien van een deel van de boomrijke omgeving in deelgebied Noord wordt essentieel foerageergebied van gewone dwergvleermuis aangetast. Daarmee is sprake van een schadelijke handeling volgens art 11.46 eerste lid van het Bal.
- Voorafgaand aan bovenstaande onderdelen van het projectvoornemen dient een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit artikel 11.46 eerste lid Bal aangevraagd te worden.
- Hiervoor moet een activiteitenplan geschreven worden, waarin duidelijk gemaakt moet worden dat de werkzaamheden noodzakelijk zijn, er geen andere alternatieven zijn en er sprake van een groot wettelijk belang is. Verder dienen passende mitigerende en compenserende maatregelen genomen te worden. Deze dienen te worden opgenomen in een ecologisch werkprotocol.

Deelgebied Spoorbrug/brug

- De watergang en daarlangs liggende rij knotwilgen ten zuiden van de Parallelweg maken onderdeel uit van een essentiële vliegroute van gewone dwergvleermuis.
- De bomenrij ten noorden van de Parallelweg maakt geen onderdeel uit van een essentiële vliegroute.
- De (gedeeltelijke) demping van de watergang en kap van de knotwilgen en/of gebruik van tijdelijke (bouw)verlichting zorgt ervoor dat de essentiële vliegroute wordt verstoord of zelfs ongeschikt wordt, wat een negatief effect heeft op de vleermuizen die gebruik maken van de route.
- Voor het (gedeeltelijk) dempen van de watergang en/of het kappen van de knotwilgen dient voorafgaand aan de werkzaamheden een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit artikel 11.46 eerste lid aangevraagd te worden voor het verstoren van gewone dwergvleermuis.
- Hiervoor moet een activiteitenplan geschreven worden, waarin duidelijk gemaakt moet worden dat de gedeeltelijke demping en kap van de knotwilgen noodzakelijk is, er geen andere alternatieven zijn en er een groot

wettelijk belang is. Ook dienen passende mitigerende en compenserende maatregelen genomen te worden. Deze dienen te worden opgenomen in een ecologisch werkprotocol

Deelgebied Midden

- Wegens het ontbreken van toegang tot de percelen in deelgebied Midden in de vakantieperiode van 2024 hebben de twee nachtrondes in het najaar naar paarverblijfplaatsen in het bosperceel van deelgebied Midden niet plaats kunnen vinden. Deze onderzoeksrondes dienen in het vleermuisseizoen van 2025 alsnog uitgevoerd te worden. Zolang de rondes niet uitgevoerd zijn kan geen uitspraak gedaan worden over de aan- of afwezigheid van verblijfplaatsen of foerageergebied in het bosperceel in deelgebied Midden. Wegens de verjaringstermijn van drie jaar voor vleermuisonderzoeken zal waarschijnlijk ook het veldbezoek in de kraamperiode van 21 juni 2022 herhaald moeten worden.

Deelgebied Boezemgemaal

- In de bebouwing van Rivierdijk 519 zijn geen verblijfplaatsen van gebouwbewonende vleermuizen aanwezig.
- Voor de sloop of verplaatsing van de bebouwing van Rivierdijk 519 is geen omgevingsvergunning flora- en fauna nodig.
- In het Mr. Dr. G. Kolffgemaal zijn wel (paar) verblijfplaatsen van gewone en ruige dwergvleermuis aanwezig maar het gemaal blijft bij de voornemens ongemoeid.
- De voorgenomen werkzaamheden in deelgebied Boezemgemaal kunnen mogelijk wel leiden tot verstoring van verblijfplaatsen in het Mr. Dr. G. Kolffgemaal.
- Er dienen preventieve maatregelen te worden getroffen om verstoring van de verblijfplaatsen te voorkomen. De maatregelen houden in dat er geen lichtuitstraling mag zijn richting het gemaal tussen zonsondergang en zonsopkomst. Dit geldt zowel voor de realisatiefase als tijdens de gebruiksfase.

4.2 Vogels

4.2.1 Gierzwaluw

- In de bebouwing van Rivierdijk 519 zijn geen nesten van gierzwaluw aanwezig.
- Bij de voorgenomen werkzaamheden is daarmee met betrekking tot gierzwaluw geen sprake van schadelijke handelingen onder art. 11.37 van het Bal.
- Het is niet nodig om een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot gierzwaluw aan te vragen of maatregelen te nemen.

4.2.2 Huismus

- In de bebouwing van Rivierdijk 519 zijn geen nesten van huismus aanwezig.
- In de garages van Rivierdijk 520 zijn wel nesten van huismus aanwezig. Deze nesten worden door de voorgenomen werkzaamheden niet fysiek

aangetast maar verstoring van de nesten ten gevolge van de werkzaamheden kan wel optreden door de aanwezigheid van mensen, materiaal of effecten van licht en geluid.

- Verstoring van de nesten kan worden uitgesloten als preventieve maatregelen (werken buiten de broedperiode) worden getroffen. De broedperiode van huismus loopt van maart tot en met september
- Indien preventieve maatregelen niet toegepast kunnen worden is het aanvragen van een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot huismus noodzakelijk. Ook is het nodig om passende mitigerende en compenserende maatregelen te treffen. Deze maatregelen dienen te worden uitgewerkt in een ecologisch werkprotocol.

4.2.3 Kerkuil

- Het projectgebied is geen belangrijk foerageergebied van kerkuil.
- Bij de voorgenomen werkzaamheden is daarmee met betrekking tot kerkuil geen sprake van schadelijke handelingen onder art. 11.37 van het Bal.
- Het is niet nodig om een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot kerkuil aan te vragen of maatregelen te nemen.

4.2.4 Steenuil

- Er zijn in het projectgebied geen nesten of territoria van steenuil aanwezig.
- Bij de voorgenomen werkzaamheden is daarmee met betrekking tot steenuil geen sprake van schadelijke handelingen onder art. 11.37 van het Bal.
- Het is niet nodig om een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot steenuil aan te vragen of maatregelen te nemen.

4.2.5 Buizerd

- In het projectgebied zijn geen jaarrond beschermde nesten van buizerd aanwezig.
- Bij de voorgenomen werkzaamheden is met betrekking tot buizerd geen sprake van schadelijke handelingen onder art. 11.37 van het Bal.
- Het is niet nodig om een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot buizerd aan te vragen of maatregelen te nemen.

4.2.6 Boomvalk, havik en sperwer

- In het projectgebied zijn geen jaarrond beschermde nesten van boomvalk, havik of sperwer aanwezig.
- Bij de voorgenomen werkzaamheden is met betrekking tot deze soorten geen sprake van schadelijke handelingen onder art. 11.37 van het Bal.
- Het is niet nodig om een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot boomvalk, havik of sperwer aan te vragen of maatregelen te nemen.

4.3 Kleine marterachtigen

- Aanwezigheid van verblijfplaatsen van bunzing in het projectgebied is uitgesloten.
- Het voorkomen van wezel en hermelijn in deelgebied Noord en deelgebied Midden is vastgesteld.

- Wezel en hermelijn zijn in de provincie Zuid Holland vrijgesteld van vergunningsplicht. Het is daarom niet nodig om een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot wezel of hermelijn aan te vragen.
- Om aan de specifieke zorgplicht (art.11.27 van het Bal) te voldoen is nodig om passende preventieve of compenserende maatregelen te nemen om te zorgen dat de staat van instandhouding van de soorten niet wordt aangetast. Deze maatregelen dienen te worden vastgelegd in een ecologisch werkprotocol.

4.4 Amfibieën

4.4.1 Heikikker

- Middels eDNA onderzoek is aanwezigheid van heikikker in de watergangen van het compensatiegebied aangetoond.
- Met de voorgenomen plannen om de watergangen in deelgebied noord rondom het toekomstige contour van de boezembemaling gedeeltelijk te dempen en het compensatiegebied opnieuw in te richten wordt mogelijk leefgebied van heikikker aangetast en worden mogelijk individuen van de soort gedood. Dit zijn schadelijke handelingen onder art. 11.46 lid 1a en 1d van het Bal.
- Voor het uitvoeren van de geplande werkzaamheden is het aanvragen van een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit met betrekking tot heikikker noodzakelijk. Ook dienen passende mitigerende maatregelen te worden getroffen. Deze maatregelen dienen te worden vastgelegd in een ecologisch werkprotocol.

4.4.2 Poelkikker

- Het compensatiegebied in deelgebied Noord is geen voortplantingsgebied of leefgebied van poelkikker aanwezig.
- Bij de voorgenomen werkzaamheden is daarmee met betrekking tot poelkikker geen sprake van schadelijke handelingen onder art 11.46 van het Bal.
- Het aanvragen van een omgevingsvergunning flora- en fauna activiteit met betrekking tot poelkikker of het treffen van maatregelen is niet nodig.

4.5 Grote modderkruiper

- De aanwezigheid van grote modderkruiper in het projectgebied is op basis van eDNA onderzoek uit te sluiten.
- Bij de voorgenomen werkzaamheden is daarmee met betrekking tot poelkikker geen sprake van schadelijke handelingen onder art 11.54 van het Bal.
- Het aanvragen van een omgevingsvergunning flora- en fauna-activiteit of het nemen van maatregelen met betrekking tot grote modderkruiper zijn niet aan de orde.

Referenties

- BIJ12 (2017a) Kennisdocument kerkuil. Versie 1.0, juli 2017.
- BIJ12 (2017b) Kennisdocument steenuil. Versie 1.0, juli 2017.
- BIJ12 (2017c) Kennisdocument buizerd. Versie 1.0, juli 2017.
- BIJ12 (2023a) Kennisdocument gierzwaluw. Versie 2.0, juli 2023.
- BIJ12 (2023b) Kennisdocument huismus. Versie 2.1, februari 2023.
- BIJ12 (2024) Kennisdocument kleine marterachtigen. Versie 1.1, juli 2024
- Kool L. & Wellens-Roemaat S. (2024). *eDNA onderzoek grote modderkruiper platte schijfhoren en heikikker*. Rapport RA24222. Datura Molecular Solutions BV, Wageningen
- Netwerk Groene Bureaus, werkgroep 'Standaarden en protocollen' (2023) Soortinventarisatieprotocollen in het kader van de Wet natuurbescherming, versie november 2023.
- Netwerk Groene Bureaus (2021). Vleermuisprotocol 2021.
- Vergeer J.W., Boele A., van Bruggen J. & van Turnhout C. (2023). Handleiding Sovon Broedvogelmonitoring: Broedvogel Monitoring Project en kolonievogels. Sovon Vogelonderzoek Nederland, Nijmegen.
- Wellens-Roemaat S., Kool L., Goes, M. (2023). *eDNA onderzoek grote modderkruiper & kamsalamander*. Rapport RA23067. Datura Molecular Solutions BV, Wageningen
- Sweco (2021). Nader soortenonderzoek project boezembemaling Overwaard, november 2021. NL21-648800269-8723. Sweco Nederland B.V., De Bilt.
- Sweco (2022). *Notitie Vleermuisveldbezoek Hardinxveld*. Referentienummer: NL22-648800269-32719
- Sweco (2024). *Verkenndend natuuronderzoek boezembemaling Overwaard. Een oriënterend onderzoek in het kader van de wet- en regelgeving voor natuur*. Referentienummer: NL24-648800269-109786. Sweco Nederland B.V., De Bilt

Bijlage 1 | Omgevingswet: soortenbescherming

Bescherming van soorten wordt in de Omgevingswet geregeld in hoofdstuk 5. Alle activiteiten met mogelijke gevolgen voor van nature in het wild voorkomende dieren of planten zijn zogeheten flora- en fauna-activiteiten (bijlage 2 bij art. 1.1 Omgevingswet). Voor alle flora- en fauna-activiteiten is een specifieke zorgplicht opgenomen (art. 11.27 Bal). Deze houdt in dat iedereen die een flora- en fauna-activiteit uitvoert, nadelige gevolgen zo veel als mogelijk dient te voorkomen, beperken of ongedaan te maken (art. 11.27, 1e lid Bal). Om te voldoen aan de specifieke zorgplicht dient eenieder onderzoek te doen naar het voorkomen van een aantal type soorten die kwetsbaar of bedreigd zijn (art. 11.27, 2e lid Bal). Deze soorten betreffen in Nederland van nature voorkomende:

- Vogelrichtlijn-soorten zoals genoemd in bijlage I Vrl en niet in die bijlage genoemde, geregeld in Nederland voorkomende trekvogelsoorten als bedoeld in artikel 4, 2e lid Vrl.
- Habitatrichtlijn-soorten als opgenomen in bijlage II, IV en V Hrl.
- Dieren of planten die staan opgenomen op de Rode Lijsten.
- Nationaal beschermde soorten (bijlage IX Bal).

Indien er sprake is van schadelijke handelingen, leidt dit tot een vergunning plichtig geval. De schadelijke handelingen komen voort uit de Europese Vogelrichtlijn en Habitatrichtlijn en Internationale Verdragen en betreffen de volgende handelingen:

Schadelijke handelingen Vogelrichtlijn (art. 11.37 Bal):

- Het opzettelijk doden of opzettelijk vangen van van nature in Nederland in het wild levende vogels van soorten als bedoeld in art. 1 Vrl.
- Het opzettelijk vernielen of opzettelijk beschadigen van nesten, rustplaatsen en eieren van vogels, of het opzettelijk wegnemen van nesten van die vogels.
- Het rapen en onder zich hebben van eieren van vogels.
- Het opzettelijk storen van vogels.
- Het verbod op het opzettelijk storen van vogels, geldt niet, als het storen niet van wezenlijke invloed is op de staat van instandhouding van de vogelsoort
- Het verbod geldt niet als de activiteit uitvoering geeft aan een instandhoudingsmaatregel of passende maatregel.

Schadelijke handelingen Habitatrichtlijn (art. 11.46 Bal):

Het in hun natuurlijk verspreidingsgebied opzettelijk doden of opzettelijk vangen van in het wild levend dieren Hrl bijlage IV, onder a, Bern bijlage II, Bonn bijlage I (ex. Vogels art. I Vrl).

- Het opzettelijk verstoren van dieren.
- Het in de natuur opzettelijk vernielen of rapen van eieren van dieren.
- Het beschadigen of vernielen van de voortplantingsplaatsen of rustplaatsen van dieren.

- Het opzettelijk plukken en verzamelen, afsnijden, ontwortelen of vernielen van planten van soorten, genoemd in bijlage IV, onder b Hrl of bijlage I verdrag van Bern, in hun natuurlijk verspreidingsgebied.
- Het verbod geldt niet als de activiteit uitvoering geeft aan een instandhoudingsmaatregel of passende maatregel.

Schadelijke handelingen andere soorten (art. 11.54 Bal):

- Het opzettelijk doden of vangen van in het wild levende zoogdieren, amfibieën, reptielen, vissen, dagvlinders, libellen en kevers van de soorten, genoemd in bijlage IX, onder A.
- Het opzettelijk beschadigen of vernielen van de vaste voortplantingsplaatsen, rustplaatsen of eieren van dieren.
- Het opzettelijk in hun natuurlijke verspreidingsgebied plukken en verzamelen, afsnijden, ontwortelen of vernielen van vaatplanten van de soorten, genoemd in bijlage IX, onder B.
- Het verbod geldt niet voor bosmuis, huisspitsmuis en veldmuis, voor zover deze dieren zich in of op gebouwen of daarbij behorende erven of roerende zaken bevinden.
- Het verbod geldt niet als de activiteit uitvoering geeft aan een instandhoudingsmaatregel of passende maatregel.

Voor *Vogelrichtlijn*- en *Habitatrichtlijn*soorten geldt dat voortplantings- en rustplaatsen (inclusief functionele leefomgeving) niet opzettelijk verstoord of vernietigd mogen worden, en dat exemplaren niet opzettelijk mogen worden gedood of verwond. In gebruik zijnde nesten van vogels zijn te allen tijde gedurende het broedseizoen beschermd.

Van een aantal vogelsoorten geniet de vaste rust- en verblijfplaats een aanvullende jaarronde bescherming. Er is een indicatieve landelijke lijst opgesteld², maar provincies hebben de mogelijkheid deze aan te passen.

Vogels met jaarrond beschermde nesten zijn ingedeeld in 5 categorieën, waarbij de nesten van soorten van categorie 1 t/m 4 in principe altijd jaarrond beschermd zijn, en nesten van soorten van categorie 5 enkel wanneer er een zwaarwegend ecologisch belang is om het nest wel jaarrond te beschermen. Zie Tekstbox 1 voor een toelichting per categorie. Ook voor soorten van categorieën 1 t/m 4 kunnen zich uitzonderingssituaties voordoen waarbij een nest geen jaarronde beschermd behoeft. Dit wordt beoordeeld door een ecooloog. Soorten van categorie 1 t/m 4 zijn de volgende: boomvalk, gierzwaluw, grote gele kwikstaart, havik, huismus, kerkuil, oehoe, ooievaar, ransuil, roek, slechtvalk, sperwer, steenuil, wespandief en zwarte wouw. Van een aantal andere soorten zijn de nesten enkel beschermd indien er onvoldoende alternatieven zijn.

Onderzoeken naar het voorkomen van soorten uit de *Vogelrichtlijn*- en/of *Habitatrichtlijn* hebben een geldigheidsduur van drie jaar. Na deze termijn dient het onderzoek te worden geactualiseerd.

Voor *Andere soorten* geldt dat voortplantingsplaatsen en rustplaatsen (inclusief functionele leefomgeving) van deze soorten niet (opzettelijk) vernietigd mogen worden en dat exemplaren niet (opzettelijk) mogen worden gedood of verwond.

² RVO, 2021. Indicatieve lijst jaarrond beschermde vogelnesten
<https://www.rvo.nl/sites/default/files/2021/04/Lijst-jaarrond-beschermde-vogelnesten.pdf>

Verstoring van deze soorten is geen schadelijke handeling die leidt tot een vergunning plichtig geval. Ten aanzien van de *Andere soorten* geldt dat het bevoegd gezag (provincies c.q. ministerie van LNV) de vrijheid heeft om soorten binnen deze categorie onder voorwaarden vrij te stellen.

Tekstbox 1 Vogels met jaarrond beschermde nesten.

Op de volgende categorieën geldt een jaarronde vergunning plicht voor F&F activiteiten:

1. Nesten die, behalve gedurende het broedseizoen als nest, buiten het broedseizoen in gebruik zijn als vaste rust- en verblijfplaats (voorbeeld: steenuil).
2. Nesten van koloniebroeders die elk broedseizoen op dezelfde plaats broeden en die daarin zeer honkvast zijn of afhankelijk van bebouwing of biotoop. De (fysieke) voorwaarden voor de nestplaats zijn vaak zeer specifiek en limitatief beschikbaar (voorbeeld: roek, gierzwaluw en huismus).
3. Nesten van vogels, zijnde geen koloniebroeders, die elk broedseizoen op dezelfde plaats broeden en die daarin zeer honkvast zijn of afhankelijk van bebouwing. De (fysieke) voorwaarden voor de nestplaats zijn vaak zeer specifiek en limitatief beschikbaar (voorbeeld: ooievaar, kerkuil en slechtvalk).
4. Vogels die jaar in jaar uit gebruik maken van hetzelfde nest en die zelf niet of nauwelijks in staat zijn een nest te bouwen (voorbeeld: boomvalk en ransuil).

Op soorten van de volgende categorie geldt een jaarronde vergunning plicht voor F&F activiteiten:

5. Nesten van vogels die weliswaar vaak terugkeren naar de plaats waar zij het jaar daarvoor hebben gebroed of de directe omgeving daarvan, maar die wel over voldoende flexibiliteit beschikken om, als de broedplaats verloren is gegaan, zich elders te vestigen. Deze zijn buiten het broedseizoen niet beschermd. Categorie 5-soorten zijn wel jaarrond beschermd als zwaarwegende feiten of ecologische omstandigheden dat rechtvaardigen. Indien dit het geval is, is een omgevingscheck benodigd.

Tabel 0-1 Vrijgestelde soorten in provincie Zuid-Holland.

Zoogdieren		Amfibieën
Aardmuis	Huisspitsmuis	Bastaardkikker
Bosmuis	Konijn	Bruine kikker
Bunzing	Ree	Gewone pad
Dwergmuis	Rosse Woelmuis	Kleine watersalamander
Dwergspitsmuis	Veldmuis	Meerkikker
Egel	Vos	
Gewone bosspitsmuis	Wezel	
Haas	Woelrat	
Hermelijn		

Een aantal uitzonderingen op de vergunningplicht en de vergunningsvrije gevallen zijn benoemd. Er geldt geen vergunningplicht wanneer:

- Schadelijke handelingen uitgevoerd worden ten behoeve van instandhoudings- en passende maatregelen in het kader van het bereiken van Natura-2000 doelstellingen (zie art. 11.37, lid 2 onder b, art. 11.46, lid 2 onder b en art. 11.54 lid 2 onder c Bal).
- Flora- en fauna-activiteiten aangewezen zijn in een programma (bijvoorbeeld in een Natura 2000-beheerplan).
- Flora- en fauna-activiteiten zijn aangewezen in een omgevingsverordening (bijvoorbeeld door de provincie vrijgestelde soorten en handelingen).
- Flora- en fauna-activiteiten zijn aangewezen in een ministeriële regeling (bijvoorbeeld door de minister van LNV vrijgestelde soorten en handelingen).

- Flora- en fauna-activiteiten aantoonbaar worden uitgevoerd conform een per ministeriële regeling aangewezen gedragscode.

Voor beschermde soorten die niet zijn vrijgesteld of voor voorgenomen schadelijke handelingen geldt een vergunningplicht.

Een omgevingsvergunning kan enkel worden verleend als aan bepaalde voorwaarden wordt voldaan (artikel 8.74l Bkl):

- De activiteit nodig is vanwege bepaalde belangen.
- Geen andere bevredigende oplossing mogelijk is.
- De activiteit niet nadelig is voor de gunstige staat van instandhouding van populaties.
- Verder geldt in geval van populatiebeheer een aanvullende beoordelingsregel.

Voor vogels gelden zwaardere belangen dan voor soorten van Habitatrichtlijn of verdragen, en voor andere soorten. Voor andere soorten wordt ook vergunning verleend voor activiteiten in het kader van ruimtelijke inrichting of ontwikkeling en bestendig beheer of onderhoud en voor een zelf nader te specificeren 'Algemeen belang'.

Rode Lijstsoorten

De Rode Lijsten hebben geen juridische status. Rode Lijst-soorten vallen derhalve niet automatisch onder specifieke beschermingsregels. Voor Rode Lijst-soorten van nationaal belang, zoals vermeld in Bijlage IX van het Bal, gelden wel specifieke beschermingsregels. Soms kan het verrichten van activiteiten nadelig zijn voor een Rode Lijstsoort. De activiteit is dan een flora- en fauna-activiteit waarvoor de specifieke zorgplicht geldt

Bijlage 2 | Tabellen met waarnemingen van het vleermuisonderzoek

Tabel 0-2 Waarnemingen vleermuisonderzoek deelgebied Noord

Datum	Tijd	Soortnaam	Soortnaam wetenschappelijk	Activiteit	Abundantie	Locatie.lat	Locatie.lng
2024-06-19	22:27:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend oost-west	1	51,83279	4,864127
2024-06-19	22:28:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend oost-west	2	51,83265	4,864018
2024-06-19	22:29:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend oost-west	2	51,83247	4,863689
2024-06-19	22:30:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend oost-west	1	51,83247	4,863687
2024-06-19	22:31:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend oost-west	1	51,83275	4,864064
2024-06-19	22:36:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend oost-west	1	51,83273	4,864065
2024-06-19	22:37:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend west-oost	1	51,8326	4,863851
2024-06-19	22:39:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83277	4,864078
2024-06-19	22:41:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83276	4,864097
2024-06-19	22:48:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83279	4,86406
2024-06-19	22:50:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,83276	4,86408
2024-06-19	22:50:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Overvliegend west-oost	1	51,83278	4,864071
2024-06-19	22:55:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend west-oost	1	51,83276	4,864104
2024-06-19	23:00:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend west- oost	1	51,83288	4,864468
2024-06-19	23:07:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83278	4,864082
2024-06-19	23:12:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,83276	4,864069
2024-06-19	23:13:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Overvliegend	1	51,83276	4,864076
2024-06-19	23:16:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,83287	4,864477
2024-06-19	23:18:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,83287	4,864488
2024-06-19	23:21:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Overvliegend	1	51,83288	4,864473

2024-06-19	23:30:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Foeragerend	1	51,83278	4,864095
2024-06-19	23:32:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Foeragerend	1	51,83277	4,864087
2024-06-19	23:34:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Foeragerend	1	51,83279	4,864069
2024-06-19	23:35:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83278	4,864096
2024-06-19	23:40:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,8328	4,864069
2024-06-19	23:45:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83277	4,86407
2024-06-19	23:47:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Foeragerend	1	51,83276	4,864089
2024-06-19	23:47:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83277	4,864086
2024-06-19	23:49:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Foeragerend	1	51,83278	4,864055
2024-06-19	23:59:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Foeragerend	1	51,83278	4,864149
2024-06-20	00:07:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Foeragerend	1	51,83279	4,86414
2024-07-10	02:46:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83273	4,864107
2024-07-10	02:47:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,83276	4,86409
2024-07-10	02:51:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83276	4,864091
2024-07-10	02:57:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83273	4,864051
2024-07-10	03:02:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83276	4,864077
2024-07-10	03:06:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83275	4,864102
2024-07-10	03:21:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83274	4,864091
2024-07-10	03:30:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83276	4,864089
2024-07-10	03:39:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83275	4,86411
2024-07-10	03:41:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,83272	4,864076
2024-07-10	03:52:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83275	4,864104
2024-07-10	03:54:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83276	4,864066
2024-07-10	04:12:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Overvliegend	1	51,83273	4,864073

2024-07-10	04:13:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,83276	4,864067
2024-07-10	04:16:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,83275	4,864064
2024-07-10	04:19:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83273	4,864087
2024-07-10	04:22:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,83276	4,863985
2024-07-10	04:24:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83272	4,864074
2024-07-10	04:35:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,83275	4,864092
2024-07-10	04:43:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,83275	4,864095
2024-08-19	21:18:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend noord-zuid	1	51,83275	4,864104
2024-08-19	21:19:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83274	4,864128
2024-08-19	21:25:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83274	4,864088
2024-08-19	21:43:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend richting oost	1	51,83276	4,864086
2024-08-19	21:49:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,83238	4,863409
2024-08-19	21:58:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,83275	4,864097
2024-08-19	22:09:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,83353	4,866275
2024-08-19	22:09:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,83277	4,864103
2024-08-19	22:20:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,83278	4,864113
2024-08-19	22:22:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83276	4,864095
2024-08-19	22:26:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Passerend	1	51,83261	4,864349
2024-08-19	22:28:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,83277	4,864127
2024-08-19	22:35:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend uit noordwesten	1	51,83276	4,864089
2024-08-19	23:01:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Overvliegend	1	51,8328	4,864108
2024-08-19	23:11:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Passerend	1	51,83278	4,864146
2024-08-19	23:14:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83427	4,868309
2024-08-19	23:34:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83278	4,864146

2024-09-11	22:22:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,83284	4,864393
2024-09-11	22:26:00	Ruige dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Foeragerend	1	51,8324	4,863384
2024-09-11	22:59:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend oost-west	1	51,83271	4,864073
2024-09-11	23:08:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend oost-west	1	51,83274	4,864188
2024-09-11	23:45:00	Gewone Dweravleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Kort foeragerend	1	51,83271	4,864073

Tabel 0-3 Waarnemingen vleermuisonderzoek deelgebied Spoorbrug/brug

Datum	Tijd	Soortnaam	Soortnaam wetenschappelijk	Abundantie	Activiteit	Locatie.lat	Locatie.lng
2024-06-19	22:42:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Foeragerend boven weiland	51,831261	4,864221
2024-06-19	22:56:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	1	Foeragerend boven weiland	51,831261	4,864221
2024-06-19	23:11:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Verplaatsend naar west	51,831376	4,864147
2024-06-19	23:15:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Verplaatsend naar west	51,83138	4,864284
2024-06-19	23:17:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Verplaatsend naar oost	51,831379	4,864418
2024-06-19	23:19:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	1	Net gestopt met foerageren	51,831154	4,864317
2024-06-19	23:35:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	1	Overvliegend	51,831467	4,864111
2024-06-19	23:47:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Kort foeragerend	51,831372	4,864183
2024-06-19	23:58:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Verplaatsend naar oost	51,831385	4,864228
2024-06-20	00:03:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Verplaatsend naar oost	51,831396	4,864361
2024-06-20	00:12:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Foeragerend	51,831442	4,864279
2024-08-19	21:37:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	In de verte foeragerend	51,831455	4,864043
2024-08-19	21:43:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	1	Overvliegend	51,831792	4,863297
2024-08-19	21:46:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Verplaatsend naar oost boven weg	51,831493	4,864317

2024-08-19	21:50:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Verplaatsend naar oost	51,831315	4,864148
2024-08-19	21:52:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	2	Foeragerend boven weiland	51,83133	4,864275
2024-08-19	22:01:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Verplaatsend naar oost boven weg	51,831498	4,864251
2024-08-19	22:10:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Overvliegend	51,831451	4,864121
2024-08-19	22:19:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Foeragerend	51,831277	4,864387
2024-08-19	22:24:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Overvliegend	51,831481	4,864157
2024-08-19	22:40:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Foeragerend	51,831253	4,864202
2024-08-19	22:44:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Foeragerend	51,831154	4,864540
2024-08-19	22:50:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	1	Baltsend	51,831401	4,864506
2024-08-19	22:57:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Overvliegend	51,831339	4,864409
2024-08-19	23:01:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Foeragerend	51,831208	4,864406
2024-08-19	23:08:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Overvliegend	51,831211	4,864193
2024-08-19	23:11:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1	Foeragerend	51,831447	4,864154

Tabel 0-4 Waarnemingen vleermuisonderzoek deelgebied Midden

Datum	Tijd	Soortnaam	Soortnaam wetenschappelijk	Activiteit	Abundantie	Locatie.lat	Locatie.lng
2024-06-27	02:44:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,82764	4,863526
2024-06-27	03:16:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,82765	4,8635
2024-06-27	03:20:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,8276	4,863528
2024-06-27	03:27:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,82756	4,863524
2024-06-27	03:28:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Foeragerend	1	51,82763	4,863549
2024-06-27	03:43:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Foeragerend	1	51,82773	4,863211
2024-06-27	04:02:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,82754	4,863309

2024-06-27	04:05:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,82672	4,863554
2024-06-27	04:13:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,82674	4,863602
2024-06-27	04:21:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,82757	4,863123
2024-06-27	04:32:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,82762	4,863188

Tabel 0-5 Waarnemingen vleermuisonderzoek deelgebied Boezemgemaal

Datum	Tijd	Soortnaam	Soortnaam wetenschappelijk	Activiteit	Abundantie	Locatie.lat	Locatie.lng
2024-05-29	22:21:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,821381	4,857784
2024-05-29	22:32:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,821554	4,85801
2024-05-29	22:32:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821342	4,857755
2024-05-29	22:38:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,821373	4,857708
2024-05-29	22:40:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Overvliegend	1	51,821384	4,857769
2024-05-29	22:53:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,821426	4,857823
2024-05-29	23:13:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,821585	4,858036
2024-05-29	23:20:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,82129	4,85778
2024-05-29	23:39:00	Watervleermuis	<i>Myotis daubentonii</i>	Overvliegend	1	51,821404	4,857811
2024-05-29	23:50:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,821369	4,857858
2024-05-30	00:01:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Overvliegend	1	51,821468	4,857838
2024-06-24	22:30:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend richting westen	4	51,821667	4,857774
2024-06-24	22:31:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend richting westen	2	51,821659	4,857767
2024-06-24	22:35:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821655	4,857741
2024-06-24	22:37:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,821392	4,857798
2024-06-24	22:39:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821284	4,857964

2024-06-24	22:41:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821651	4,85779
2024-06-24	22:43:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,821463	4,857625
2024-06-24	22:48:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821655	4,85782
2024-06-24	22:48:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821181	4,857643
2024-06-24	22:51:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Overvliegend richting westen	1	51,821674	4,85779
2024-06-24	22:51:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821671	4,857799
2024-06-24	22:53:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821407	4,85779
2024-06-24	22:57:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821537	4,857877
2024-06-24	23:04:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,821667	4,857812
2024-06-24	23:16:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	3	51,821384	4,857831
2024-06-24	23:34:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	3	51,821423	4,857831
2024-06-24	23:36:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821396	4,857838
2024-06-24	23:58:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821274	4,85781
2024-06-25	00:01:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821426	4,857857
2024-07-01	02:28:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,821424	4,857687
2024-07-01	02:50:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821419	4,857799
2024-07-01	02:55:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,821388	4,85781
2024-07-01	03:02:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821419	4,857799
2024-07-01	03:08:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,8214	4,857821
2024-07-01	03:17:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821426	4,857814
2024-07-01	03:30:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,82143	4,857804
2024-07-01	03:33:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,821415	4,857808
2024-07-01	03:38:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821344	4,857716
2024-07-01	03:51:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821396	4,857824

2024-07-01	03:55:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,8214	4,857833
2024-07-01	04:08:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821299	4,857781
2024-07-01	04:10:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,821449	4,857841
2024-07-01	04:15:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	4	51,821506	4,858121
2024-07-01	04:45:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821278	4,857779
2024-07-01	04:45:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,821487	4,857759
2024-08-22	21:11:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821442	4,857828
2024-08-22	21:22:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,82131	4,857704
2024-08-22	21:31:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Overvliegend	1	51,821566	4,858071
2024-08-22	21:32:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821474	4,858043
2024-08-22	21:40:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Overvliegend	1	51,821461	4,857911
2024-08-22	21:43:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Baltsend	1	51,821232	4,856952
2024-08-22	21:53:00	Watervleermuis	<i>Myotis daubentonii</i>	Overvliegend	1	51,82165	4,858051
2024-08-22	22:18:00	Rosse Vleermuis	<i>Nyctalus noctula</i>	Overvliegend	1	51,82204	4,858588
2024-08-22	22:28:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Verplaatsend naar west	2	51,821232	4,857558
2024-08-22	22:50:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,82147	4,858139
2024-08-22	22:53:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Overvliegend	1	51,821298	4,857931
2024-08-22	22:54:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Overvliegend	1	51,821541	4,857972
2024-08-22	22:57:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Overvliegend, baltsend	1	51,821461	4,857868
2024-08-22	23:01:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Baltsend	1	51,821403	4,858514
2024-08-22	23:02:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Overvliegend	1	51,82151	4,857984
2024-08-22	23:20:00	Laatvlieger	<i>Eptesicus serotinus</i>	Overvliegend	1	51,821447	4,857734
2024-08-22	23:26:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,82155	4,857789
2024-08-22	23:33:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,821349	4,857855

2024-08-22	23:39:00	Watervleermuis	<i>Myotis daubentonii</i>	Overvliegend	1	51,821228	4,857738
2024-08-22	23:43:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,821449	4,857789
2024-08-22	23:47:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,821449	4,85782
2024-08-22	23:57:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Overvliegend	1	51,821417	4,857888
2024-08-22	23:58:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Baltsend	1	51,82129	4,858495
2024-08-23	00:00:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,821427	4,858113
2024-09-12	20:08:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,821437	4,858047
2024-09-12	20:15:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	2	51,821392	4,858109
2024-09-12	20:32:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	1	51,82143	4,857954
2024-09-12	20:39:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Foeragerend	2	51,82143	4,858064
2024-09-12	20:42:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Overvliegend	2	51,821367	4,858249
2024-09-12	20:42:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Overvliegend, baltsend	1	51,82132	4,857634
2024-09-12	20:50:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Overvliegend kort foeragerend	3	51,821351	4,857939
2024-09-12	20:53:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Foeragerend	4	51,821345	4,858824
2024-09-12	20:53:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Baltsend - vanuit verblijf	2	51,821317	4,858638
2024-09-12	21:04:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,821402	4,857774
2024-09-12	21:07:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Foeragerend	1	51,821514	4,857661
2024-09-12	21:26:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Baltsend	1	51,821357	4,858624
2024-09-12	21:37:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Foeragerend	1	51,82117	4,857532
2024-09-12	21:47:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,821422	4,857785
2024-09-12	21:55:00	Ruige Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus nathusii</i>	Overvliegend	2	51,821428	4,858115
2024-09-12	22:00:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,821423	4,857932
2024-09-12	22:07:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Baltsend	1	51,821236	4,858905
2024-09-12	22:36:00	Gewone Dwergvleermuis	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Overvliegend	1	51,821351	4,857794

Bijlage 3 | Rapporten eDNA onderzoek heikikker, platte schijfhoren en grote modderkruiper

eDNA onderzoek grote modderkruiper, platte schijfhoren en heikikker



Colofon

Titel	eDNA onderzoek grote modderkruiper, platte schijfhoren en heikikker
Tekst, foto's en samenstelling	Lindy Kool, Suzan Wellens-Roemaat
In opdracht van	Sweco Nederland B.V.
Naam opdrachtgever	Joris van den Berg
Kenmerk opdrachtgever	PO-24-510-02836
Rapportnummer	RA24222
Datum opstelling	11-11-2024
Aantal pagina's	8
Contactpersoon vanuit Datura	Lindy Kool
Wijze van citeren	Kool, L. & Wellens-Roemaat, S. 2024 eDNA. Rapport eDNA onderzoek grote modderkruiper, platte schijfhoren en heikikker, RA24222, Datura Molecular Solutions BV, Wageningen



Datura Molecular Solutions BV

Gevestigd te:

Agro Business Park 10
6708 PW Wageningen
Nederland

+31(0) 618441781
www.datura.nl
lindy.kool@datura.nl

Inhoudsopgave

1.	Doelstelling.....	4
2.	Methode.....	4
2.1	Bemonstering.....	4
2.2	Laboratoriumanalyse	4
2.3	Kwaliteitswaarborging.....	5
2.3.1	Hoe fout positieve waarnemingen worden voorkomen.....	5
2.3.2	Hoe fout negatieve waarnemingen worden voorkomen (qPCR).....	7
3.	Resultaten.....	8

1. Doelstelling

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

2. Methode

2.1 Bemonstering

De bemonstering is uitgevoerd door een medewerker van Sweco Nederland B.V. volgens gestandaardiseerde protocollen van Datura Molecular Solutions B.V. (opvraagbaar). Er zijn zes watermonsters verzameld en aangeleverd aan het laboratorium van Datura (Tabel 1).

Tabel 1: monsterinformatie

Monsternummer	Datum monstername	Coördinaten	Te testen soort
2009722	11-10-2024	51.832374, 4.863629	Platte schijfhoren
2009724	11-10-2024	51.911301, 4.828609	Platte schijfhoren
			Grote modderkruiper
2009725	11-10-2024	51.910845, 4.829425	Platte schijfhoren
			Grote modderkruiper
2009723	11-10-2024	51.831879, 4.866478	Heikikker
2009745	11-10-2024	51.832942, 4.869378	Platte schijfhoren
			Grote modderkruiper
			Heikikker
2009757	11-10-2024	51.832542, 4.867080	Platte schijfhoren
			Grote modderkruiper
			Heikikker

2.2 Laboratoriumanalyse

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

1. Het eDNA in de watermonsters is geëxtraheerd middels een chloroform-phenol extractie. Storende stoffen als humuszuren kunnen detectie van het eDNA inhiberen wat kan leiden tot fout negatief

resultaat. Gedurende de extracties zijn deze inhiberende stoffen zo veel mogelijk verwijderd.

2. Er wordt altijd een controle uitgevoerd om na te gaan of eDNA detectie in een monster geïnhibeerd wordt. Dit wordt gedaan door een bekende hoeveelheid van een fragment artificieel DNA toe te voegen. Vervolgens wordt de concentratie gemeten van dit fragment artificieel DNA. Dit wordt zowel gedaan in een reactie waar een hoeveelheid monster aan toegevoegd wordt, als in een reactie waar geen monster aan toegevoegd wordt. Als DNA detectie in een monster geïnhibeerd wordt, dan is de gemeten concentratie artificieel DNA in de reactie waarin monster toegevoegd wordt lager ten opzichte van de reactie waaraan geen monster aan toegevoegd is. Met name in zuur water, waarin veel organische deeltjes aanwezig zijn kan inhibitie optreden. In een dergelijk geval wordt een extra zuivering stap uitgevoerd of wordt het monster verdund. Vervolgens wordt opnieuw gekeken of de inhiberende stoffen voldoende verwijderd zijn.
3. Detectie van eDNA vindt plaats door middel van een real-time quantitative PCR. Het principe achter deze techniek is dat een specifiek deel van het DNA zeer vaak vermenigvuldigd (geamplificeerd) wordt. Datura maakt gebruik van soort-specifieke primers die uitsluitend hechten aan DNA van de doelsoort en dit vervolgens vermenigvuldigen. Datura werkt bovendien met soort-specifieke probes (een soort primer) die uitsluitend binden aan eDNA van de doelsoort. Binding van de probe aan het vermenigvuldigde eDNA van de doelsoort resulteert in een fluorescent signaal. Dit signaal wordt gedetecteerd met behulp van een qPCR platform (CFX96 Touch™ van Bio-Rad). De qPCR detectie wordt uitgevoerd met 12 replica's. Daardoor kan zeer gevoelig gedetecteerd worden. De qPCR detectie wordt uitgevoerd met behulp van de TaqMan® Environmental Mastermix 2.0 (Life Technologies®). Naast het eDNA monster worden PCR reacties uitgevoerd waaraan geen monster is toegevoegd. Deze moeten negatief zijn. Zodoende kan bevestigd worden dat de analyse schoon is uitgevoerd en er geen contaminatie optreedt. Tenslotte worden ook enkele reacties geanalyseerd waaraan een bekende concentratie DNA is toegevoegd. Deze reacties moeten positief zijn. Dit bevestigt dat de analyse juist is uitgevoerd.

2.3 Kwaliteitswaarborging

2.3.1 Hoe fout positieve waarnemingen worden voorkomen

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

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

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

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

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

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

1. Verschillende onderdelen van de analyse workflow worden uitgevoerd in fysiek gescheiden laboratorium ruimtes. Het samenstellen van de eDNA monster kits en het voorbereiden van de qPCR reagentia vindt plaats in een **DNA clean room**. Dit is een ruimte waarin geen DNA monsters aanwezig zijn. Zodoende kunnen we garanderen dat er geen DNA aanwezig is in de eDNA monster kits en de reagentia (zoals de primers en probes) die later gebruikt worden in de eDNA analyses. Het extraheren van de eDNA monsters gebeurt in een **eDNA laboratorium**. Dit is een ruimte waarin uitsluitend lage concentraties DNA aanwezig zijn. Vervolgens worden hier de eDNA monsters samen met de qPCR reagentia in een 96-well plaat gepipetteerd. Deze plaat wordt luchtdicht afgesloten. Tenslotte wordt de qPCR uitgevoerd in een **post-PCR laboratorium**. In dit laboratorium wordt het eDNA vermeerderd en hier zijn dus hoge concentraties DNA aanwezig.
2. Er wordt een **unidirectionele workflow** gehanteerd om contaminatie van de DNA clean room en het eDNA laboratorium te voorkomen. Dit houdt in dat materialen die eenmaal in het post-PCR laboratorium geweest zijn niet meer terug mogen naar de DNA clean room en eDNA laboratorium. Ook medewerkers van Datura mogen niet dezelfde dag van een post-PCR laboratorium terug naar een ruimte waarin weinig DNA aanwezig is.
3. In iedere analyse worden **controle analyses** uitgevoerd. Zo worden er monsters geëxtraheerd waaraan DNase free water is toegevoegd (zogenaamde extractie controles). In de qPCR worden naast de extractie controles ook negatieve PCR controles meegenomen. Zodoende kan heel nauwkeurig gemonitord worden of er inderdaad geen contaminatie optreedt.

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

Het **bemonsteringsprotocol** van Datura wordt gevolgd. Dit protocol schrijft een specifieke werkwijze voor. In de praktijk is gebleken dat er geen contaminatie plaats vindt als dit protocol gevolgd wordt.

2.3.2 Hoe fout negatieve waarnemingen worden voorkomen (qPCR)

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

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

3. Resultaten

Er is in watermonster 2009725 eDNA van platte schijfhoren gedetecteerd. In watermonster 2009723 is eDNA van heikikker gedetecteerd. In de overige monsters is geen eDNA van de doelsoorten gedetecteerd. Een overzicht van de resultaten van dit onderzoek wordt weergegeven in Tabel 2.

Iedere analyse is uitgevoerd met behulp van 12 replica's (zie 2.2 Laboratoriumanalyse). De resultaten worden weergegeven als het aantal replica's (van de 12 replica's) dat positief scoorde voor eDNA van de doelsoorten in de betreffende monsters. Als er een score van "0/12" is verkregen, betekent dit dat er geen eDNA van de doelsoort in het betreffende monster is gedetecteerd. Als er minstens 1 positieve replica is verkregen (bijvoorbeeld '1/12' of hoger) dan betekent dit dat er eDNA van de doelsoort is gedetecteerd. Het aantal positieve replica's is een grove maat voor de concentratie eDNA van de doelsoort: bij een laag aantal positieve replica's (bijvoorbeeld '1/12') is de verwachting dat de eDNA concentratie van de doelsoort zeer laag is.

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

Tabel 2: Resultaten van de qPCR analyses van de watermonsters met 12 replica's.

Monsternummer	Resultaat qPCR grote modderkruiper	Resultaat qPCR platte schijfhoren	Resultaat qPCR heikikker
2009722	-	0/12	-
2009724	0/12	0/12	-
2009725	0/12	1/12	-
2009723	-	-	1/12
2009745	0/12	0/12	0/12
2009757	0/12	0/12	0/12

eDNA onderzoek grote modderkruiper & kamsalamander



Colofon

Titel	eDNA onderzoek grote modderkruiper & kamsalamander
Tekst, foto's en samenstelling	Suzan Wellens-Roemaat, Jitske Rook, Marijn Goes
In opdracht van	Sweco Nederland B.V.
Naam opdrachtgever	Raisja Spijker
Rapportnummer	RA23067
Datum opstelling	4-5-2023
Aantal pagina's	8
Contactpersoon vanuit Datura	Suzan Wellens-Roemaat
Wijze van citeren	Goes, M. J., Rook, J., & Wellens-Roemaat, S. 2023 eDNA. Rapport eDNA onderzoek grote modderkruiper & kamsalamander RA23067, Datura Molecular Solutions B.V., Wageningen



Datura Molecular Solutions BV

Gevestigd te:

Agro Business Park 10
6708 PW Wageningen
Nederland

+31(0)643288093
www.datura.nl
suzan.wellens@datura.nl

Inhoudsopgave

1. Doelstelling	4
2. Methode	4
2.1 Bemonstering	4
2.2 Laboratoriumanalyse	5
2.3 Kwaliteitswaarborging	6
2.3.1 Hoe fout positieve waarnemingen worden voorkomen	6
2.3.2 Hoe fout negatieve waarnemingen worden voorkomen (qPCR).....	7
3. Resultaten	8

1. Doelstelling

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

2. Methode

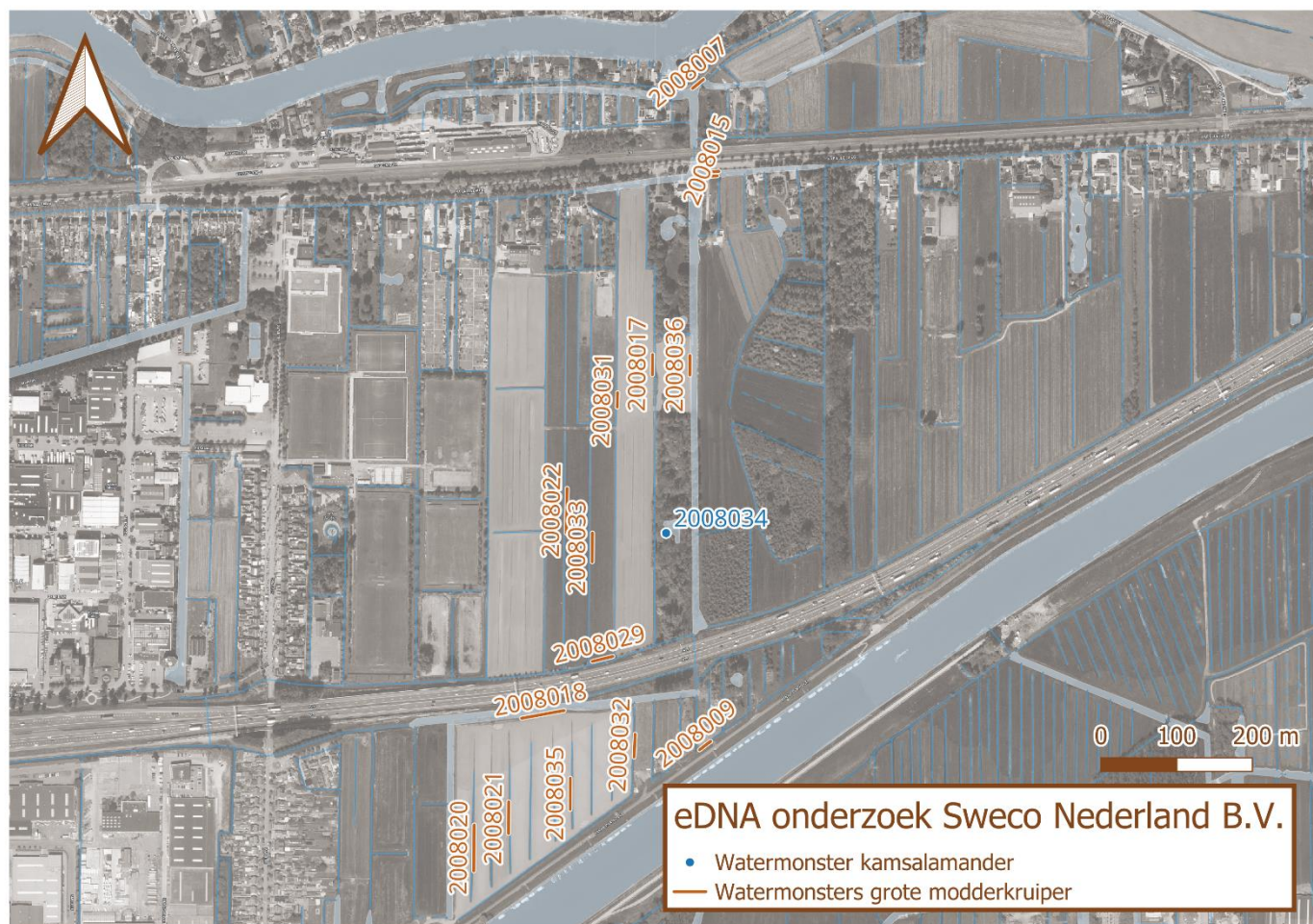
2.1 Bemonstering

De bemonstering is uitgevoerd door een medewerker van Datura Moleculair Solutions B.V. volgens gestandaardiseerde protocollen van Datura (opvraagbaar). Er zijn in totaal vijftien watermonsters verzameld (één watermonster voor de kamsalamander en veertien voor de grote modderkruiper) en aangeleverd aan het laboratorium van Datura. Elk monster heeft een eigen nummer gekregen, dit nummer tezamen met de coördinaten van waar het monster is genomen zijn te vinden in de onderstaande tabel (Tabel 1). Omdat dit onderzoek meer dan één soort beslaat is in de tabel tevens de doelsoort van elk monster genoteerd. Figuur 1 geeft daarnaast nog een grafische weergave van de monsterlocaties ter verduidelijking. De watermonsters zijn verzameld op 11 april en 13 april van 2023.

Tabel 1: monsterinformatie eDNA onderzoek Sweco Nederland B.V.

Monsternummer	Doelsoort	Coördinaten	Datum van monstername
2008034	Kamsalamander	51.827141,4.863070	11-04-2023
2008029	Grote modderkruiper	51.825525,4.8614679	11-04-2023
2008031	Grote modderkruiper	51.8287724,4.8621009	11-04-2023
2008017	Grote modderkruiper	51.8292365,4.862809	11-04-2023
2008022	Grote modderkruiper	51.8269639,4.8610602	11-04-2023
2008033	Grote modderkruiper	51.82707,4.8615967	11-04-2023
2008036	Grote modderkruiper	51.8293293,4.8635708	11-04-2023
2008020	Grote modderkruiper	51.8238039,4.8594004	13-04-2023
2008021	Grote modderkruiper	51.8239763,4.8600871	13-04-2023
2008035	Grote modderkruiper	51.8243476,4.8612994	13-04-2023
2008018	Grote modderkruiper	51.8249709,4.8604089	13-04-2023
2008009	Grote modderkruiper	51.8246084,4.8638817	13-04-2023
2008032	Grote modderkruiper	51.8249005,4.8624574	13-04-2023
2008015	Grote modderkruiper	51.8313768,4.8639645	13-04-2023
2008007	Grote modderkruiper	51.8324216,4.8638606	13-04-2023

Figuur 1: monsterlocaties eDNA onderzoek Sweco Nederland B.V.



2.2 Laboratoriumanalyse

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

1. Het eDNA in de watermonsters is geëxtraheerd middels een chloroform-phenol extractie. Storende stoffen als humuszuren kunnen detectie van het eDNA inhiberen wat kan leiden tot fout negatief resultaat. Gedurende de extracties zijn deze inhiberende stoffen zo veel mogelijk verwijderd.
2. Er wordt altijd een controle uitgevoerd om na te gaan of eDNA detectie in een monster geïnhibeed wordt. Dit wordt gedaan door een bekende hoeveelheid van een fragment artificieel DNA toe te voegen. Vervolgens wordt de concentratie gemeten van dit fragment artificieel DNA. Dit wordt zowel gedaan in een reactie waar een hoeveelheid monster aan toegevoegd wordt, als in een reactie waar geen monster aan toegevoegd wordt. Als DNA detectie in een monster geïnhibeed wordt, dan is de gemeten concentratie artificieel DNA in de reactie waarin monster toegevoegd wordt lager ten opzichte van de reactie waaraan geen monster aan toegevoegd is. Met name in zuur water, waarin veel organische deeltjes aanwezig zijn kan inhibitie optreden. In een dergelijk geval wordt een extra zuivering stap uitgevoerd of wordt het monster verdund. Vervolgens wordt opnieuw gekeken of de inhiberende stoffen voldoende verwijderd zijn.

3. Detectie van eDNA vindt plaats door middel van een real-time quantitative PCR. Het principe achter deze techniek is dat een specifiek deel van het DNA zeer vaak vermenigvuldigd (geamplificeerd) wordt. Datura maakt gebruik van soort-specifieke primers die uitsluitend hechten aan DNA van de doelsoort en dit vervolgens vermenigvuldigen. Datura werkt bovendien met soort-specifieke probes (een soort primer) die uitsluitend binden aan eDNA van de doelsoort. Binding van de probe aan het vermenigvuldigde eDNA van de doelsoort resulteert in een fluorescent signaal. Dit signaal wordt gedetecteerd met behulp van een qPCR platform (CFX96 Touch™ van Bio-Rad). De qPCR detectie wordt uitgevoerd met 12 replica's. Daardoor kan zeer gevoelig gedetecteerd worden. De qPCR detectie wordt uitgevoerd met behulp van de TaqMan® Environmental Mastermix 2.0 (Life Technologies®). Naast het eDNA monster worden PCR reacties uitgevoerd waaraan geen monster is toegevoegd. Deze moeten negatief zijn. Zodoende kan bevestigd worden dat de analyse schoon is uitgevoerd en er geen contaminatie optreedt. Tenslotte worden ook enkele reacties geanalyseerd waaraan een bekende concentratie DNA is toegevoegd. Deze reacties moeten positief zijn. Dit bevestigt dat de analyse juist is uitgevoerd.

2.3 Kwaliteitswaarborging

2.3.1 Hoe fout positieve waarnemingen worden voorkomen

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

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

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

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

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

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

1. Verschillende onderdelen van de analyse workflow worden uitgevoerd in fysiek gescheiden laboratorium ruimtes. Het samenstellen van de eDNA monster kits en het voorbereiden van de qPCR reagentia vindt plaats in een **DNA clean room**. Dit is een ruimte waarin geen DNA monsters aanwezig zijn. Zodoende kunnen we garanderen dat er geen DNA aanwezig is in de eDNA monster kits en de reagentia (zoals de primers en probes) die later gebruikt worden in de eDNA analyses. Het extraheren van de eDNA monsters gebeurt in een **eDNA laboratorium**. Dit is een ruimte waarin uitsluitend lage concentraties DNA aanwezig zijn. Vervolgens worden hier de eDNA monsters samen met de qPCR reagentia in een 96-well plaat gepipetteerd. Deze plaat wordt luchtdicht afgesloten. Tenslotte wordt de qPCR uitgevoerd in een **post-PCR laboratorium**. In dit laboratorium wordt het eDNA vermeerderd en hier zijn dus hoge concentraties DNA aanwezig.
2. Er wordt een **unidirectionele workflow** gehanteerd om contaminatie van de DNA clean room en het eDNA laboratorium te voorkomen. Dit houdt in dat materialen die eenmaal in het post-PCR laboratorium geweest zijn niet meer terug mogen naar de DNA clean room en eDNA laboratorium. Ook medewerkers van Datura mogen niet dezelfde dag van een post-PCR laboratorium terug naar een ruimte waarin weinig DNA aanwezig is.
3. In iedere analyse worden **controle analyses** uitgevoerd. Zo worden er monsters geëxtraheerd waaraan DNase free water is toegevoegd (zogenaamde extractie controles). In de qPCR worden naast de extractie controles ook negatieve PCR controles meegenomen. Zodoende kan heel nauwkeurig gemonitord worden of er inderdaad geen contaminatie optreedt.

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

Het **bemonsteringsprotocol** van Datura wordt gevolgd. Dit protocol schrijft een specifieke werkwijze voor. In de praktijk is gebleken dat er geen contaminatie plaats vindt als dit protocol gevolgd wordt.

2.3.2 Hoe fout negatieve waarnemingen worden voorkomen (qPCR)

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

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

3. Resultaten

Er is in de watermonsters geen eDNA van grote modderkruiper of kamsalamander gedetecteerd. Een overzicht van de resultaten van dit onderzoek zijn weergegeven in Tabel 2 en Tabel 3. Tabel 2 toont de resultaten van de qPCR analyse voor grote modderkruiper en Tabel 3 toont de resultaten van de qPCR analyse voor kamsalamander.

Iedere analyse is uitgevoerd met behulp van 12 replica's (zie 2.2 Laboratoriumanalyse). De resultaten worden weergegeven als het aantal replica's (van de 12 replica's) dat positief scoorde voor eDNA van de doelsoorten in de betreffende monsters. Als er een score van "0/12" is verkregen, betekent dit dat er geen eDNA van de doelsoort in het betreffende monster is gedetecteerd. Als er minstens 1 positieve replica is verkregen (bijvoorbeeld '1/12' of hoger) dan betekent dit dat er eDNA van de doelsoort is gedetecteerd. Het aantal positieve replica's is een grove maat voor de concentratie eDNA van de doelsoort: bij een laag aantal positieve replica's (bijvoorbeeld '1/12') is de verwachting dat de eDNA concentratie van de doelsoort zeer laag is.

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

Tabel 2: Resultaten van de qPCR analyses voor grote modderkruiper van de watermonsters met 12 replica's.

Monsternummer	Doelsoort	Resultaat van de qPCR analyse
2008029	Grote modderkruiper	0/12
2008031	Grote modderkruiper	0/12
2008017	Grote modderkruiper	0/12
2008022	Grote modderkruiper	0/12
2008033	Grote modderkruiper	0/12
2008036	Grote modderkruiper	0/12
2008020	Grote modderkruiper	0/12
2008021	Grote modderkruiper	0/12
2008035	Grote modderkruiper	0/12
2008018	Grote modderkruiper	0/12
2008009	Grote modderkruiper	0/12
2008032	Grote modderkruiper	0/12
2008015	Grote modderkruiper	0/12
2008007	Grote modderkruiper	0/12

Tabel 3: Resultaten van de qPCR analyses voor kamsalamander van de watermonsters met 12 replica's.

Monsternummer	Doelsoort	Resultaat van de qPCR analyse
2008034	Kamsalamander	0/12