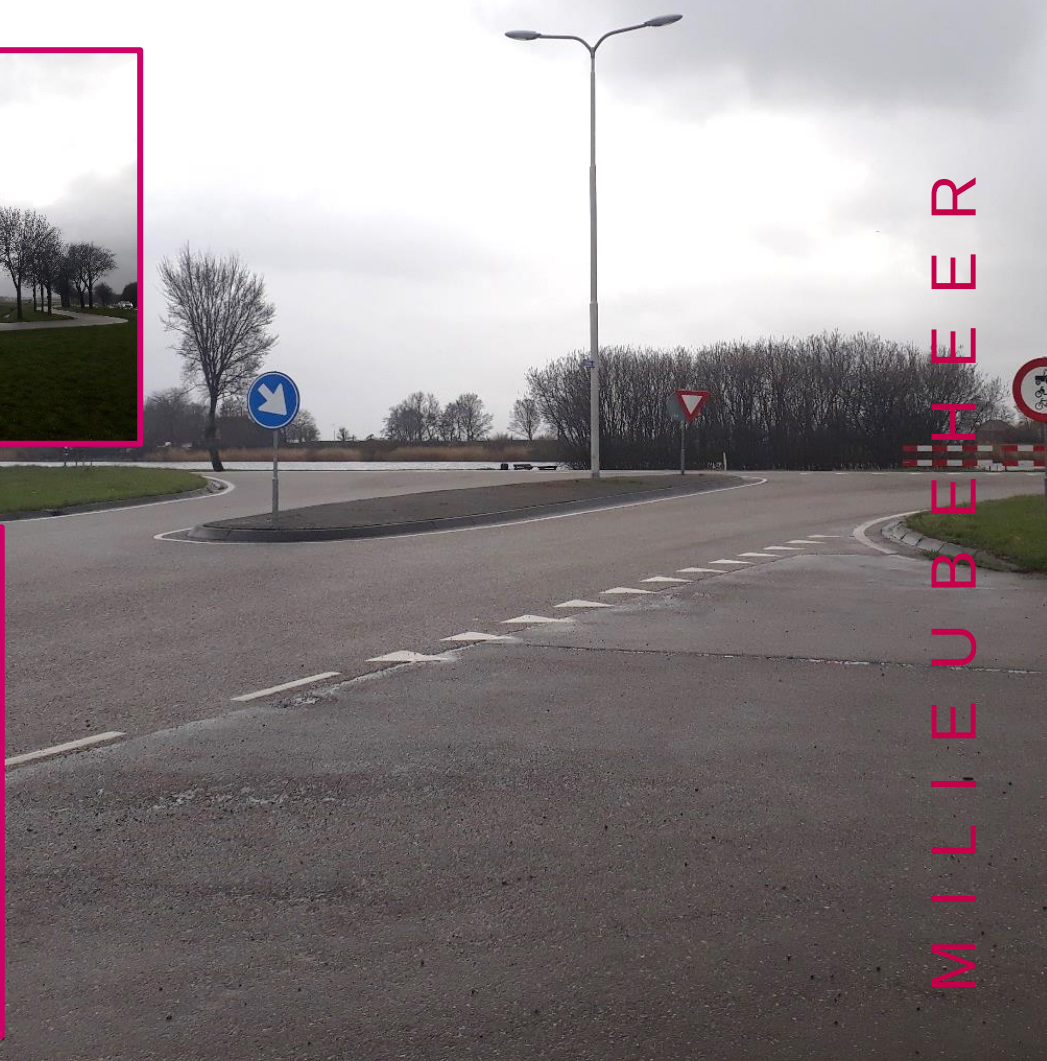


SOORTGERICHT ONDERZOEK

**SPERWER, RANSUIL, GROTE
MODDERKRUIPER EN PLATTE
SCHIJFHOREN**

KRUISING POLDERWEG

TE MIJNSHEERENLAND



SOORTGERICHT ONDERZOEK

SPERWER, RANSUIL, GROTE MODDERKRUIPER EN PLATTE SCHIJFHOREN

KRUISING POLDERWEG

TE MIJNSHEERENLAND

Colofon

Opdrachtgever: HaskoningDHV Nederland B.V.
George Hintzenweg 85
3068 AX Rotterdam

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

Projectfoto's: Dhr. ing. S.V. van Bakkum

Wijze van citeren: VanderHelm Milieubeheer B.V. (2021). DHHO20210525 *Kruising Polderweg te Mijnsheerenland, d.d. 24 september 2021*

© VanderHelm Milieubeheer B.V.

Projectcode: DHHO20210525

Verantwoording	Status / versie	Definitief, versie 1
	Datum	24 september 2021
Auteur	Dhr. ing. S.V. van Bakkum	
Kwaliteitscontrole	Mevr. ing. T. Deugd	
Vrijgave	Mevr. ing. K.E. Orie-Vreugdenhil	

INHOUDSOPGAVE

1 PROJECTBESCHRIJVING	4
1.1 HUIDIGE SITUATIE.....	4
1.2 TOEKOMSTIGE SITUATIE EN WERKZAAMHEDEN	6
2 SOORTGERICHT ONDERZOEK VOGELS	7
2.1 METHODE.....	7
2.2 RESULTATEN EN INTERPRETATIE.....	9
2.3 TOETSING WERKZAAMHEDEN	10
3 SOORTGERICHT ONDERZOEK GROTE MODDERKRUIPER EN PLATTE SCHIJFHOREN	11
3.1 METHODE.....	11
3.2 RESULTATEN EN INTERPRETATIE.....	12
3.3 TOETSING WERKZAAMHEDEN	13
4 CONCLUSIE	15
REFERENTIELIJST	16

BIJLAGEN

1. Kwaliteitsborging en verantwoording
2. Regionale situatiekaart projectgebied
3. Wettelijke en bestuurlijke kaders natuurbescherming
4. Tekening werkzaamheden
5. Zonsopkomst- en ondergang
6. Rapport Datura
7. Waarnemingen Soorten

1 PROJECTBESCHRIJVING

VanderHelm Milieubeheer B.V. te Berkel en Rodenrijs heeft van HaskoningDHV Nederland B.V. opdracht gekregen voor het uitvoeren van soortgericht onderzoek naar sperwer en ransuil (met een jaarrond beschermd nest uit categorie 4) en naar de grote modderkruiper en platte schijfhoren, ter plaatse van de kruising van de N217 met de Polderweg.

De begrenzing van het projectgebied wordt weergegeven in Afbeelding 1. De aanleiding tot het uitvoeren van dit onderzoek is de voorgenomen herinrichting van de kruising binnen het projectgebied en de Wet natuurbescherming. Het doel van het onderzoek is het aantonen dan wel uitsluiten van beschermde elementen van voornoemde soorten binnen de invloedssfeer van de werkzaamheden. Voor de regionale ligging van het projectgebied wordt verwezen naar bijlage 2.



Afbeelding 1: Begrenzing projectgebied met een rode lijn, een niet te kappen bosschage in het zuidoosten van het projectgebied (rood vlak), zes te kappen bomen (groene cirkels) en de twee te dempen watergangen (blauw gearceerd) (Bron: ArcGIS).

1.1 HUIDIGE SITUATIE

Het projectgebied bestaat uit de kruising van de N217 met de Polderweg in de Hoeksche Waard. Parallel aan de Polderweg loopt aan beide kanten een watergang. Ook ten zuiden en noorden van de N217 lopen watergangen parallel aan de N-weg. Aan de zuidkant van de N217 is een parallel lopend fietspad gelegen. Daarnaast zijn diverse stroken gras aanwezig. Bomenrijen (voornamelijk gewone essen en Spaanse aak) zijn aanwezig op kort gemaaid gras zowel aan de noordoostkant als aan de zuidwestkant van de kruising. Direct ten zuiden van de kruising bevindt zich een dichtere kleine bosschage. Ook aan de zuidoost- en noordwestgrens van het projectgebied staan dichtere bosschages. Daarnaast staat er in het noordwestelijk gedeelte van het projectgebied ook een rij knotwilgen langs de gebiedsgrens.

In Afbeelding 2 worden de beschreven gebiedselementen visueel weergegeven.



Afbeelding 2: Bomenrij op kort gemaaid gras langs de parallelweg (linksboven), bosschage ten zuiden van de kruising (rechtsboven), bosschage in het noordwesten van het projectgebied met op de achtergrond het rijtje knotwilgen (linksonder), bosschage in het zuidoosten van het projectgebied langs een watergang en fietspad parallel aan de N217(rechtsonder).

De omgeving van het projectgebied bestaat voornamelijk uit akkers en grasland, afgewisseld door boerderijen en verbindingswegen met aangrenzende watergangen en bomenrijen. Ten zuiden van het projectgebied ligt de Binnenbedijkte Maas. De Polderweg richting het noorden leidt naar een verbindingsweg tussen Heinenoord en Puttershoek. De N217 naar het westen leidt naar een kruising met de Vrouwe Huisjesweg. De N217 richting het oosten leidt naar Maasdam. Ten zuidoosten van het projectgebied staat een woning buiten het projectgebied, aansluitend aan de bovengenoemde bosschage binnen het projectgebied. Ook in de hoek van de kruising ten noordwesten van het projectgebied staat een woning. Afbeelding 3 laat enkele van de beschreven elementen in de omgeving zien.



Afbeelding 3: De Binnenbedijkte Maas (links) en de N217 richting het westen met woning buiten het projectgebied (rechts).

1.2 TOEKOMSTIGE SITUATIE EN WERKZAAMHEDEN

De kruising wordt heringericht. Ten behoeve van de herinrichting worden de volgende werkzaamheden uitgevoerd:

- Graafwerkzaamheden
- Dempen van twee watergangen
- Verleggen waterleiding
- Kappen van zes bomen
- Plaatsen voorbelasting
- Aanleg van nieuwe wegen

De werkzaamheden worden uitgevoerd in het eerste kwartaal van 2022. De werkzaamheden aan de Polderweg dienen uiterlijk eind 2022 gereed te zijn. Het is derhalve noodzakelijk om de werkzaamheden begin 2022 te starten. De totale doorlooptijd van de werkzaamheden bedraagt 37 weken. In Bijlage 4 is een tekening opgenomen van de uit te voeren werkzaamheden.

2 SOORTGERICHT ONDERZOEK VOGELS

Op basis van de eerder uitgevoerde ecologische quickscan (VanderHelm Milieubeheer B.V., kenmerk DHHO20210336, d.d. 7 mei 2021) wordt geconcludeerd dat de volgende juridisch zwaarder beschermde elementen van vogels worden verwacht. Deze zijn opgenomen in tabel 1.

Tabel 1: verwachte beschermde elementen per vogelsoort, met daarachter aangegeven in welk deel van het onderzoeksgebied de elementen worden verwacht.

Soort	Verwacht element	Locatie verwacht element
Sperwer (cat. 4)	Nest	De bosschage in het zuidoosten van het projectgebied en het kraaiennest in het westen van het projectgebied.
Sperwer (cat. 4)	Essentieel foerageergebied	Indien nest aanwezig, in directe omgeving hiervan
Ransuil (cat. 4)	Nest	De bosschage in het zuidoosten van het projectgebied en het kraaiennest in het westen van het projectgebied.
Ransuil (cat. 4)	Essentieel foerageergebied	Indien nest aanwezig, in directe omgeving hiervan
Ransuil (cat. 4)	Roestplek	Het groepje coniferen in de zuidoostelijke hoek van het projectgebied.



Afbeelding 4: Het projectgebied met de bosschage in het zuidoosten van het projectgebied met een groen vak weergegeven, in het westen is met een blauw driehoekje een kraaiennest weergegeven.

2.1 METHODE

Het onderzoek naar beschermde elementen van vogels is gebaseerd op de ethische code van het Netwerk Groene Bureaus - Branchevereniging voor kwaliteitsbevordering en belangenbehartiging (juni 2008 en februari 2010) en uitgevoerd conform de telrichtlijnen van SOVON.

De bezoeken zijn met behulp van een verrekijker uitgevoerd.

In tabel 2 staan de datums van de veldbezoeken ten behoeve van het soortgericht onderzoek naar vogels weergegeven, evenals de tijden waarbinnen het veldbezoek is uitgevoerd en de onderzochte elementen. De weersomstandigheden van de betreffende data staan weergegeven in bijlage 6. Voor zonsopkomst- en ondergangstijden wordt verwezen naar bijlage 6.

Tabel 2: Datums en tijden van veldbezoeken ten behoeve van het soortgericht onderzoek naar vogels.

Datum	Tijd	Type bezoek	Veldwerkers
17/03/2021	10:54 – 13:49	Ecologische quickscan	Dhr. ing. A.W.M. Loeve & Dhr. ing. S.V. van Bekkum
19/04/2021	19:44 – 21:44	Ransuil-inspectie	Dhr. ing. N. Alderliesten & Mevr. J. van de Poel MSc.
10/05/2021	20:30 – 22:30	Ransuil-inspectie	Dhr. ing. A.W.M. Loeve & Dhr. A. Loeve
25/05/2021	14:00 – 17:45	Sperwer-inspectie	Dhr. ing. S.V. van Bekkum
10/06/2021	10:20 – 14:20	Sperwer-inspectie	Dhr. ing. S.V. van Bekkum
16/06/2021	00:45 – 02:45	Ransuil-inspectie	Dhr. ing. N. Alderliesten & Mevr. I. Buth
21/06/2021	10:30 – 14:15	Sperwer-inspectie	Dhr. ing. S.V. van Bekkum
22/07/2021	08:30 – 11:00	Sperwer-inspectie	Dhr. ing. N. Alderliesten

Ten behoeve van het vaststellen dan wel uitsluiten van nesten en rustplaatsen van de ransuil en sperwer is de hierna beschreven werkwijze gehanteerd.

2.1.1 RANSUIL & SPERWER (CATEGORIE 4)

Het onderzoek naar vogels met een nestplaats of rustplaats uit categorie 4 (specifiek: ransuil en sperwer) is gebaseerd op de telrichtlijnen van SOVON en is gedeeltelijk gecombineerd uitgevoerd met andere bezoeken. In totaal zijn acht bezoeken gebracht: drie ten behoeve van ransuil op 19 april 2021, 10 mei 2021 en 16 juni 2021 en vier ten behoeve van sperwer, op 25 mei 2021, 10 juni 2021, 21 juni 2021 en 22 juli 2021.

Tijdens het veldbezoek van de ecologische quickscan op 17 maart 2021 is de aanwezigheid van kraaien- en eksterne nesten geïnventariseerd.

Tijdens alle bezoeken is gelet op één of meer van de volgende waarnemingen, wat duidt op een aanwezige nestlocatie:

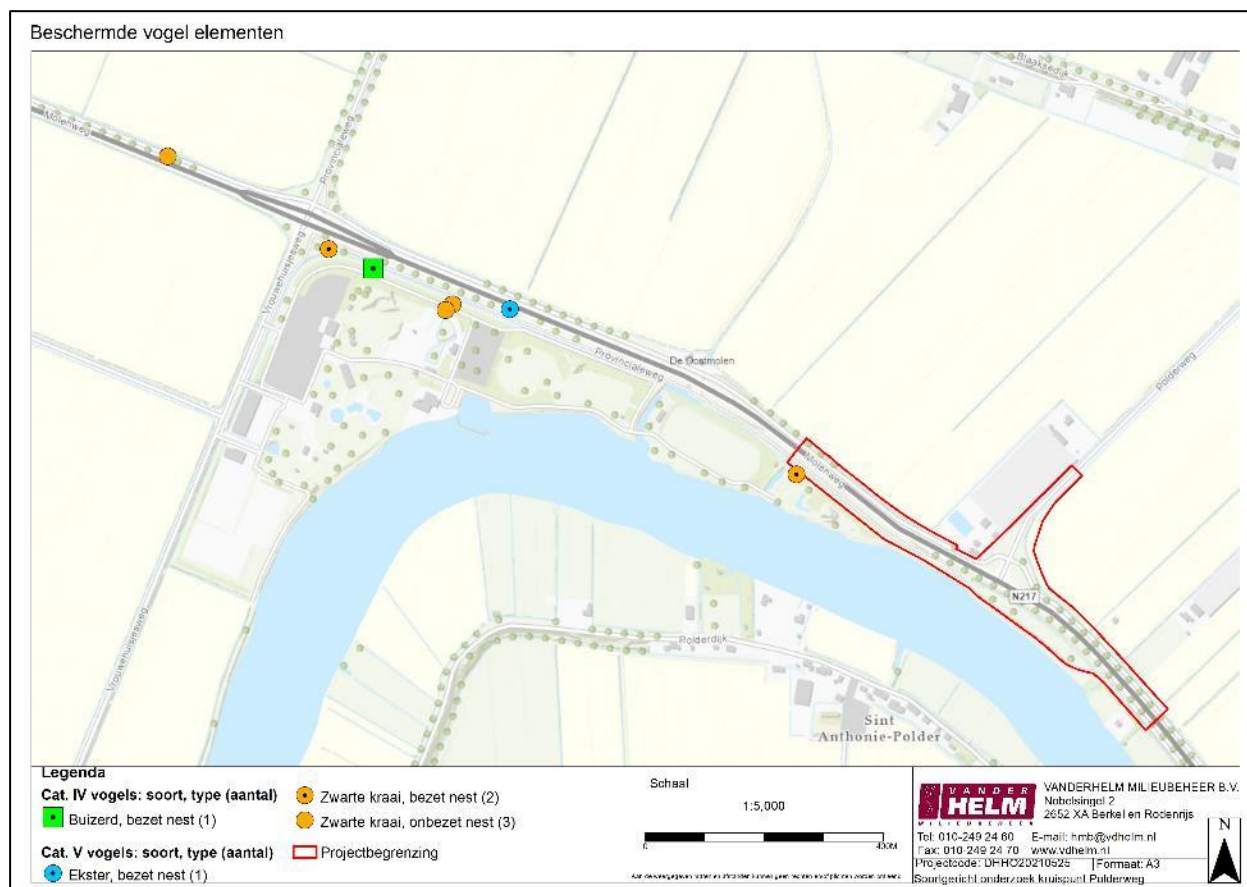
- een territoriaal individu of;
- een paartje bij een potentiële nestplaats of;
- roepende jongen, of;
- plukresten, krietstroken (poepsporen) en braakballen (ransuil), of;
- paring, overdracht van voedsel, of ander gedrag waaruit geconcludeerd kan worden dat er nesten aanwezig moeten zijn.

Tijdens het onderzoek is het aantal broedparen en de locaties van de nesten vastgesteld.

Ten behoeve van het soortgericht onderzoek naar vogels met nesten uit categorie 4 is het volledige projectgebied onderzocht. Dit gebied kon bij de bezoeken ten behoeve van het onderzoek naar sperwer, die overdag werden uitgevoerd, door 1 ecooloog worden overzien. In verband met de veiligheid zijn de bezoeken ten behoeve van het onderzoek naar ransuil, die in de avond en nacht plaatsvonden, met twee personen uitgevoerd. Door het onderzoek met tenminste 1 ecooloog uit te voeren zijn geen nesten van roofvogels of uilen met nesten in categorie 4 gemist. Omdat in de dichtbegroeide bosschage in het zuidoosten van het projectgebied door de dichte structuur geen nesten met het blote oog waarneembaar zijn, is hier van buiten de bosschage gelet op nest indicierend gedrag van zowel ransuil als sperwer.

2.2 RESULTATEN EN INTERPRETATIE

Uit het soortgericht onderzoek blijkt dat in het projectgebied geen jaarrond beschermde nesten van vogels uit categorie 4 aanwezig zijn. In de omgeving van het projectgebied zijn wel een buizerdnest en nesten van ekster en zwarte kraai aangetroffen. Eén van de kraaiennesten bevindt zich mogelijk binnen de invloedssfeer van de werkzaamheden. De vastgestelde zwaarder beschermde elementen in de omgeving van het projectgebied zijn weergegeven in afbeelding 5. De waarnemingen per bezoek zijn opgenomen in bijlage 7.



Afbeelding 5: Beschermde vogel elementen binnen het projectgebied.

In onderstaande paragrafen worden de resultaten van het soortgericht onderzoek naar ransuil & sperwer (categorie 4) nader toegelicht.

RANSUIL & SPERWER (CATEGORIE 4)

Tijdens de veldbezoeken ten behoeve van het vaststellen of uitsluiten van nesten van sperwer of ransuil zijn in of in de omgeving van het projectgebied geen waarnemingen gedaan van deze soorten. Er zijn geen plukresten aangetroffen. Ook zijn geen krietresten (poepsporen) waargenomen, of braakballen gevonden. Derhalve kunnen nesten van sperwer en ransuil en roestplaatsen van ransuil binnen het projectgebied worden uitgesloten.

OVERIGE WAARNEMINGEN

Buiten het projectgebied is een buizerdnest (bezet) waargenomen. Het buizerdnest valt buiten de invloedssferen van de geplande werkzaamheden.

Daarnaast zijn ook nesten van vogels uit categorie 5 (met voldoende alternatief) vastgesteld. Buiten het projectgebied zijn kraaiennesten (2 bezet en 3 onbezet) en een eksternest (bezet) waargenomen. Eén bezet kraaiennest ligt binnen 75 meter van het projectgebied en valt hierdoor binnen de invloedssfeer van de werkzaamheden.

2.3 TOETSING WERKZAAMHEDEN

Uit het soortgericht onderzoek blijkt dat er in het projectgebied geen nesten of rustplaatsen van ransuil en sperwer aanwezig zijn. Voor de ransuil en sperwer zijn dan ook geen vervolgstappen noodzakelijk in het kader van de Wet natuurbescherming. Door de mogelijke aanwezigheid van algemene broedvogels en vogels met jaarrond beschermde nesten uit categorie 5 (voldoende alternatief) wordt geadviseerd om de werkzaamheden buiten het broedseizoen uit te voeren. Bij het uitvoeren van de werkzaamheden tijdens het broedseizoen, dient door middel van broedvogelinspecties door een deskundig ecooloog te worden voorkomen dat nest bouwende of broedende vogels worden verstoord; om een overtreding van de Wet natuurbescherming te voorkomen. Omdat de werkzaamheden in het broedseizoen worden uitgevoerd, wordt geadviseerd om het kraaiennest binnen de invloedssfeer van de werkzaamheden gedurende de winterperiode te laten verwijderen voor de start van het broedseizoen in maart 2022. Hiermee kan mogelijk gebruik van dit nest door ransuilen in het broedseizoen van 2022 worden voorkomen.

3 SOORTGERICHT ONDERZOEK GROTE MODDERKUIPER EN PLATTE SCHIJFHOREN

Op basis van de eerder uitgevoerde ecologische quickscan (VanderHelm Milieubeheer B.V., kenmerk DHHO20210336, d.d. 7 mei 2021) ter plaatse van de kruising van de N217 met de Polderweg wordt geconcludeerd dat de volgende juridisch zwaarder beschermde elementen van de grote modderkruiper en platte schijfhoren worden verwacht. De te verwachten beschermde elementen zijn opgenomen in tabel 3.

Tabel 3: Verwachte beschermde elementen van de grote modderkruiper en platte schijfhoren, met daarachter aangegeven in welk deel van het onderzoeksgebied de elementen worden verwacht.

Soort	Verwacht element	Locatie verwacht element
Grote modderkruiper	Foerageergebied, voortplantingsplaats, migratieroute, overwinteringsgebied	In de watergangen (inclusief de 2 te dempen watergangen)
Platte schijfhoren	Foerageergebied, voortplantingsplaats, migratieroute, overwinteringsgebied	In de watergangen (inclusief de 2 te dempen watergangen)

3.1 METHODE

Het onderzoek naar beschermde elementen van de grote modderkruiper en platte schijfhoren is gebaseerd op de ethische code van het Netwerk Groene Bureaus - Branchevereniging voor kwaliteitsbevordering en belangenbehartiging (juni 2008 en februari 2010), het Kennisdocument Grote modderkruiper (BIJ12, 2017).

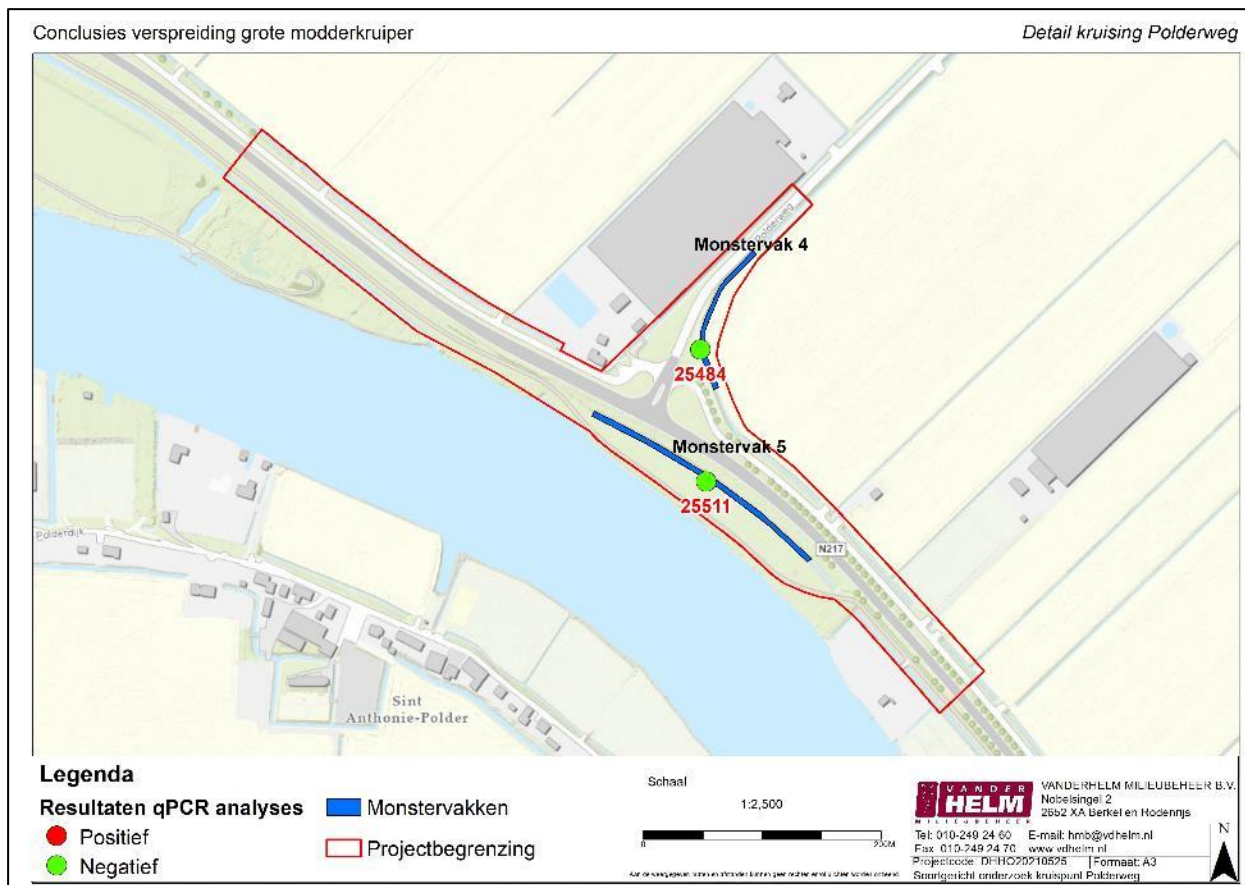
De aanwezigheid van de grote modderkruiper en platte schijfhoren is onderzocht door inventarisatie middels eDNA onderzoek. Op 27 juli 2021 zijn hiervoor samples uit de te dempen watergangen verzameld. Daarnaast is tijdens hetzelfde bezoek steekproefsgewijs met een schepnet geïnventariseerd of deze soorten in de te onderzoeken watergangen aanwezig zijn. Indien de grote modderkruiper aanwezig is in één of meerdere watersystemen, dient in beeld gebracht te worden hoe de aangetroffen soort het gebied gebruikt.

Ten behoeve van het vaststellen dan wel uitsluiten van de aanwezigheid van de grote modderkruiper en platte schijfhoren is de hierna beschreven werkwijze gehanteerd.

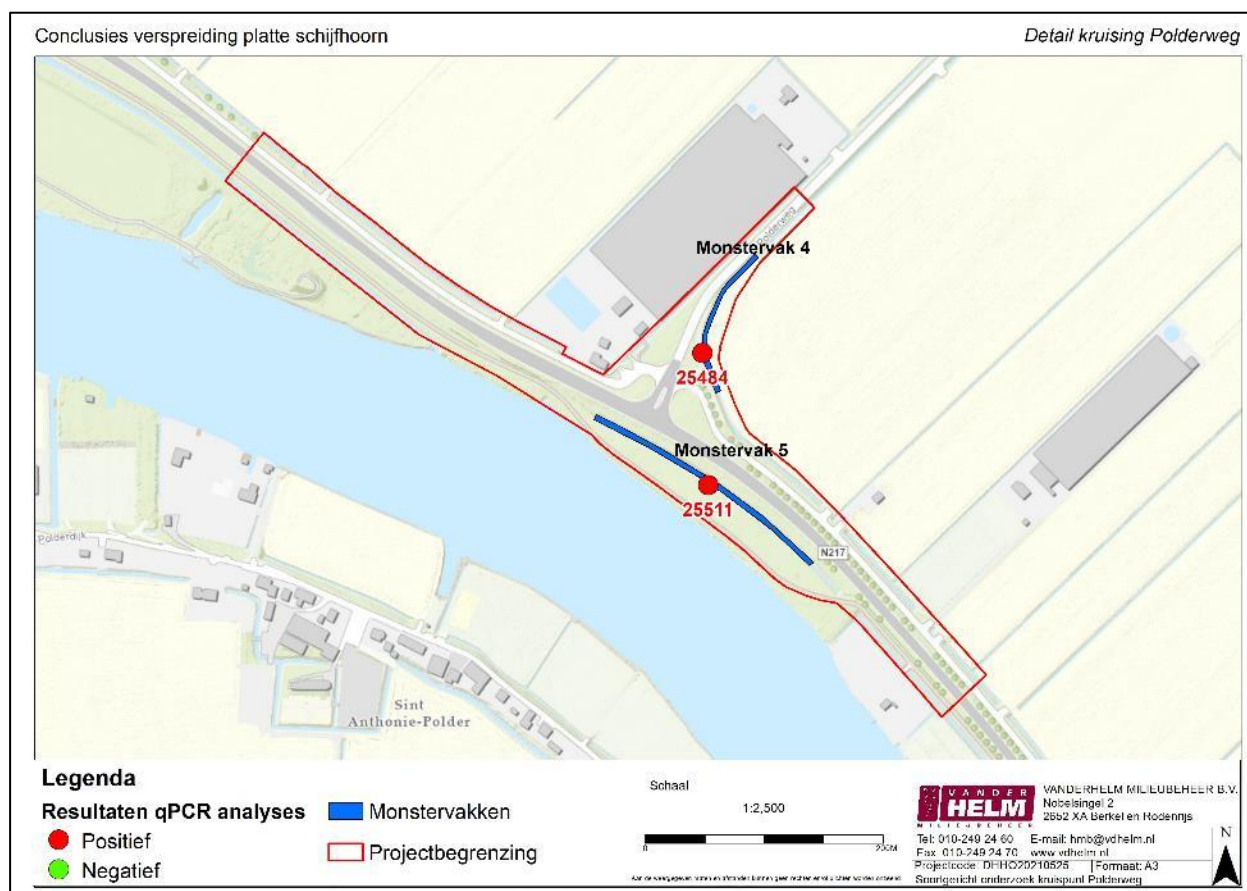
Op 27 juli 2021 zijn in de twee te dempen watergangen op advies van Datura in totaal 7 watermonsters verzameld volgens gestandaardiseerde protocollen van Datura. De monsters zijn geleverd aan het laboratorium van Datura en vervolgens door een soortdeskundige getest op de aanwezigheid van eDNA van de grote modderkruiper en platte schijfhoren.

3.2 RESULTATEN EN INTERPRETATIE

Uit het eDNA onderzoek blijkt dat in de te dempen watergangen in het projectgebied geen DNA van de grote modderkruiper aanwezig is. Wel is DNA van de platte schijfhoren in de te dempen watergangen vastgesteld. De resultaten van het eDNA onderzoek zijn weergegeven in afbeelding 6 en 7.



Afbeelding 6: Resultaten van het eDNA onderzoek naar de aanwezigheid van de grote modderkruiper in de te dempen watergangen binnen het projectgebied.



Afbeelding 7: Resultaten van het eDNA onderzoek naar de aanwezigheid van de platte schijfhoorn in de te dempen watergangen binnen het projectgebied.

In onderstaande paragraaf worden de resultaten van het soortgericht onderzoek naar de grote modderkruiper en platte schijfhoorn nader toegelicht.

Uit het eDNA onderzoek ten behoeve van het vaststellen of uitsluiten van de grote modderkruiper en platte schijfhoorn in de te dempen watergangen in het projectgebied, blijkt dat de grote modderkruiper niet aanwezig is en de platte schijfhoorn wel aanwezig is. Derhalve kan enkel de aanwezigheid van de grote modderkruiper in de te dempen watergangen binnen het projectgebied worden uitgesloten. Deze bevindingen zijn terug te vinden in het rapport van Datura (zie Bijlage 8).

3.3 TOETSING WERKZAAMHEDEN

Uit het soortgericht onderzoek blijkt dat er in de te dempen watergangen in het projectgebied geen grote modderkruiper aanwezig is. Er zijn voor het uitvoeren van de geplande werkzaamheden, voor wat betreft de grote modderkruiper, dan ook geen vervolgstappen noodzakelijk in het kader van de Wet natuurbescherming.

De platte schijfhoorn is Europees beschermd. Deze soort is opgenomen in de Habitatrichtlijn bijlage IV onderdeel a, het Verdrag van Bern bijlage II en het Verdrag van Bonn bijlage I. Door het dempen van de watergangen gaan voortplantings- en rustplaatsen van de platte schijfhoorn verloren, worden individuen verstoord of gedood en eieren vernield wat een overtreding van artikel 3.5 van de Wet natuurbescherming betreft.

Voor het overtreden van de Wet natuurbescherming is een ontheffing benodigd. Voor het verkrijgen van een ontheffing, dient sprake te zijn van één of meer van de volgende belangen uit de Habitatrichtlijn:

- de bescherming van flora en fauna;
- de veiligheid van het luchtverkeer;
- de volksgezondheid of openbare veiligheid.

- dwingende redenen van groot openbaar belang, met inbegrip van redenen van sociale of economische aard en voor het milieu wezenlijk gunstige effecten.

Daarnaast dient met betrekking tot de werkzaamheden te worden aangetoond dat geen alternatieven voor het project bestaan die hetzelfde resultaat hebben, maar die niet leiden tot overtreding van artikel 3.5 van de Wet natuurbescherming.

4 CONCLUSIE

Ter plaatse van de kruising van de N217 met de Polderweg is een soortgericht onderzoek naar ransuil, sperwer, grote modderkruiper en platte schijfhoren uitgevoerd. Ter plaatse van het projectgebied is men voornemens in de toekomst de kruising her in te richten.

Het doel van het onderzoek is het uitsluiten dan wel aantonen van nesten, essentieel foerageergebied, voortplantingsplaatsen en rustplaatsen van voornoemde soorten in het projectgebied. Vervolgens is bepaald of door de werkzaamheden sprake kan zijn van het overtreden van de Wet natuurbescherming en welke vervolgstappen mogelijk noodzakelijk zijn.

Op basis van het soortgericht onderzoek is het volgende geconcludeerd:

Tabel 4: Conclusies soortgericht onderzoek.

Soort(groep)	Conclusie
Ransuil & sperwer (cat. 4)	- In het projectgebied is de aanwezigheid van nestplaatsen van de ransuil en sperwer uitgesloten.
Grote modderkruiper	- In het projectgebied is de aanwezigheid van de grote modderkruiper uitgesloten.
Platte schijfhoren	- In het projectgebied is de aanwezigheid van de platte schijfhoren bevestigd.
Overige waarnemingen	- In het projectgebied kunnen tijdens het broedseizoen nesten of rustplaatsen van algemene broedvogels aanwezig zijn. In de uitgevoerde ecologische quickscan (VanderHelm Milieubeheer B.V., kenmerk DHHO20210336, d.d. 7 mei 2021) is reeds geadviseerd op welke manier hier rekening mee gehouden dient te worden gedurende de werkzaamheden. Geadviseerd wordt om het kraaiennest binnen de invloedssfeer van de werkzaamheden te laten verwijderen voor de start van het broedseizoen in maart 2022. Hiermee kan mogelijk gebruik van dit nest door ransuilen in het broedseizoen van 2022 worden voorkomen.

In tabel 5 is weergegeven welke werkzaamheden leiden tot een overtreding op de Wet natuurbescherming, en voor welke soort(groep)en.

Tabel 5: Werkzaamheden die leiden tot een overtreding op de Wet natuurbescherming.

Werkzaamheden	Locatie	Van invloed op:
Dempen van de watergangen	Aan de zuid- en noordoostzijde van de N217	Platte schijfhoren

Voor het dempen van de watergangen met aanwezigheid van de platte schijfhoren is een ontheffing op artikel 3.5 van de Wet natuurbescherming aangevraagd. Onderhavig rapport, benodigd voor het verlenen van de ontheffing, wordt nagestuurd. Ten behoeve van de ontheffingsaanvraag is een activiteitenplan opgesteld (waarin onder andere het wettelijk belang en de alternatievenafweging zijn opgenomen) en mitigerende maatregelen zijn opgenomen.

REFERENTIELIJST

- Bij12 (2017) Kennisdocument Grote Modderkruiper
- Koning, J. de; Broek, JW van den; Meyere, D. de & Bruens, H. (2009). *Dendrologie van de lage landen*. Uitgeverij KNNV.
- Koninklijk Nederlands Meteorologisch Instituut (KNMI). *Weeroverzichten*
- Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit (1979). *Vogelrichtlijn*. 79/409/EEG.
- Nationale Databank Flora en Fauna (2016), *NDFF Uitvoerportaal*.
- Nie, H.W. de (1996). *Atlas van de Nederlandse Zoetwatervissen*.
- Provincie Zuid-Holland (2016). *Besluit van Provinciale Staten van Zuid-Holland van 9 november 2016, tot vaststelling van de Verordening uitvoering Wet natuurbescherming Zuid-Holland, met nummer 6949*
- Provincie Zuid-Holland (2016), *Interactieve atlassen en kaarten*. <https://www.zuid-holland.nl/overons/feiten-cijfers/interactieve/>
- Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu. *AERIUS Calculator*
- Rijksoverheid (2012). Versie 0.4. *Memorie van toelichting bij het voorstel van wet met regels ter bescherming van de natuur (Wet natuurbescherming)*
- Rijksoverheid (2016). *Staatsblad van het Koninkrijk der Nederlanden*. Stb-2016-34 ISSN 0920 – 2064 's-Gravenhage 2016. *Wet van 16 december 2015, houdende regels ter bescherming van de Natuur (Wet natuurbescherming)*.
- SOVON Vogelonderzoek Nederland. <https://www.sovon.nl/>
- SOVON Vogelonderzoek Nederland (2002). *Atlas van de Nederlandse broedvogels 1998 - 2000 - Nederlandse fauna 5*. KNNV & EIS.
- SOVON Vogelonderzoek Nederland en Vogelbescherming Nederland (2005). *Rode Lijst van de Nederlandse broedvogels*. Tirion Uitgevers
- Stichting Reptielen Amfibieën Vissen Onderzoek Nederland (RAVON). <http://www.ravon.nl/>
- Stichting VeldOnderzoek Flora en Fauna (VOFF). *Waarnemingen van flora en fauna*. <https://www.telmeel.nl/?c=portal&m=telmeel>
- VanderHelm Milieubeheer B.V., kenmerk DHHO20210336, d.d. 7 mei 2021
- Van Himbeeck, R & van Bochove, K. 2021 eDNA onderzoek grote modderkruiper en platte schijfhoren. Rapport RA21106, Datura Molecular Solutions BV, Wageningen.

BIJLAGE 1 KWALITEITSBORGING EN VERANTWOORDING

DESKUNDIGHEID

De uitvoerend ecologen voldoen aan ten minste één van de door het Ministerie van Economische Zaken genoemde voorwaarden en zijn daarmee gekwalificeerd als deskundige. Deze voorwaarden zijn vermeld in Box 1.

Box 1: Voorwaarden voor deskundigheid, Ministerie van Economische Zaken.

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

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

VOLLEDIGHEID ONDERZOEK

De ecologische quickscan betreft een onderzoek naar onder andere de (mogelijk) aanwezige beschermde flora en fauna in en nabij het projectgebied. Het onderzoek is gebaseerd op een bureaustudie en een éénmalig veldbezoek. Voor een volledige inventarisatie van alle aanwezige flora en fauna ter plaatse van het projectgebied dient een soortgericht onderzoek te worden uitgevoerd wat veelal gebonden is aan bepaalde perioden in het jaar.

Uit een soortgericht onderzoek kan naar voren komen dat beschermde soorten aanwezig zijn en dat daarop een negatief effect ontstaat. Mitigerende en/of compenserende maatregelen zijn dan nodig en mogelijk dient een ontheffing te worden aangevraagd om de werkzaamheden te kunnen uitvoeren. Deze vervolgstappen zijn geen onderdeel van de ecologische quickscan.

KWALITEITSBORGING

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

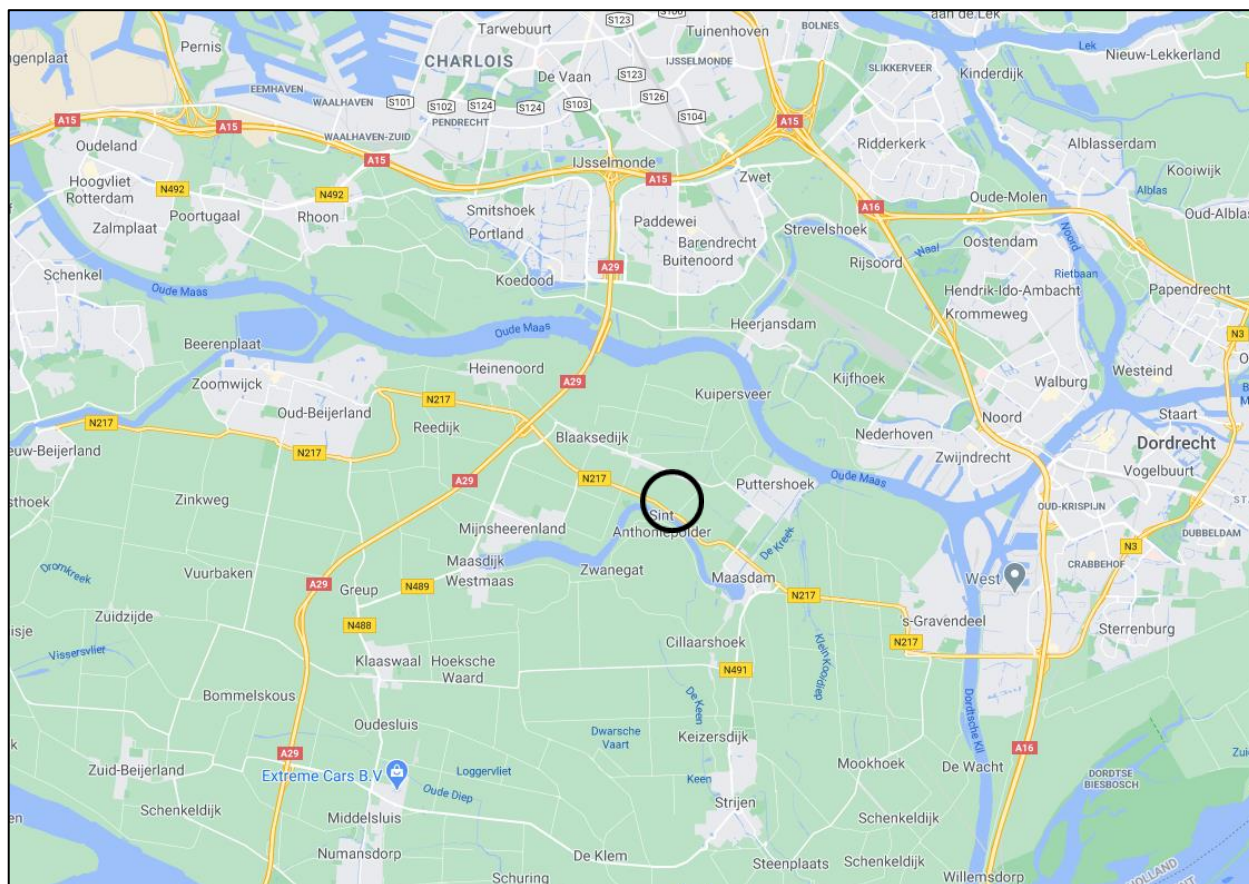
VanderHelm Milieubeheer B.V. is VCA** (versie 2008/05) gecertificeerd.

Onderhavig project is uitgevoerd in overeenstemming met het kwaliteitssysteem van VanderHelm Milieubeheer B.V.

VERANTWOORDING

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

BIJLAGE 2 REGIONALE SITUATIEKAART PROJECTGEBIED



 = Projectgebied

Bron: Google Maps

BIJLAGE 3: WETTELIJKE EN BESTUURLIJKE KADERS NATUURBESCHERMING

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

WET NATUURBESCHERMING (01-01-2017)

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

SOORTENBESCHERMING (FLORA EN FAUNA)

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

Europees beschermde dier- en plantensoorten

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

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

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

Vogels van soorten als bedoeld in artikel 1 van de Vogelrichtlijn

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

Nationaal beschermde dier- en plantensoorten

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

Vrijstelling

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

Verboden handelingen

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

Artikel 3.1 Vogelrichtlijn

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

Artikel 3.5 Habitatrictlijn

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

Artikel 3.10 Nationaal beschermde dier- en plantensoorten

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

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

Gedragscode

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

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

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

Zorgplicht

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

Artikel 1.11 van de Wet natuurbescherming

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

Artikel 3.31, lid 3, van de Wet natuurbescherming

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

GEBIEDSBESCHERMING

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

Natura2000

Natura 2000-gebieden zijn gebieden die zijn aangewezen in het kader van de Europese Habitat- en Vogelrichtlijn. Voor elk Natura2000-gebied wordt door de betreffende provincie een beheerplan opgesteld, waarin de nodige instandhoudingsmaatregelen zijn opgenomen.

Artikel 2.7, lid 2, van de Wet natuurbescherming stelt over Natura2000-gebieden het volgende:

‘Het is verboden zonder vergunning van gedeputeerde staten projecten te realiseren of andere handelingen te verrichten die gelet op de instandhoudingsdoelstellingen voor een Natura 2000-gebied de kwaliteit van de natuurlijke habitats of de habitats van soorten in dat gebied kunnen verslechteren of een significant verstorend effect kunnen hebben op de soorten waarvoor dat gebied is aangewezen.’

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

Natuurnetwerk Nederland

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

Houtopstanden

Onder de Wet natuurbescherming (houtopstanden) vallen:

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

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

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

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

Artikel 4.2 van de Wet natuurbescherming

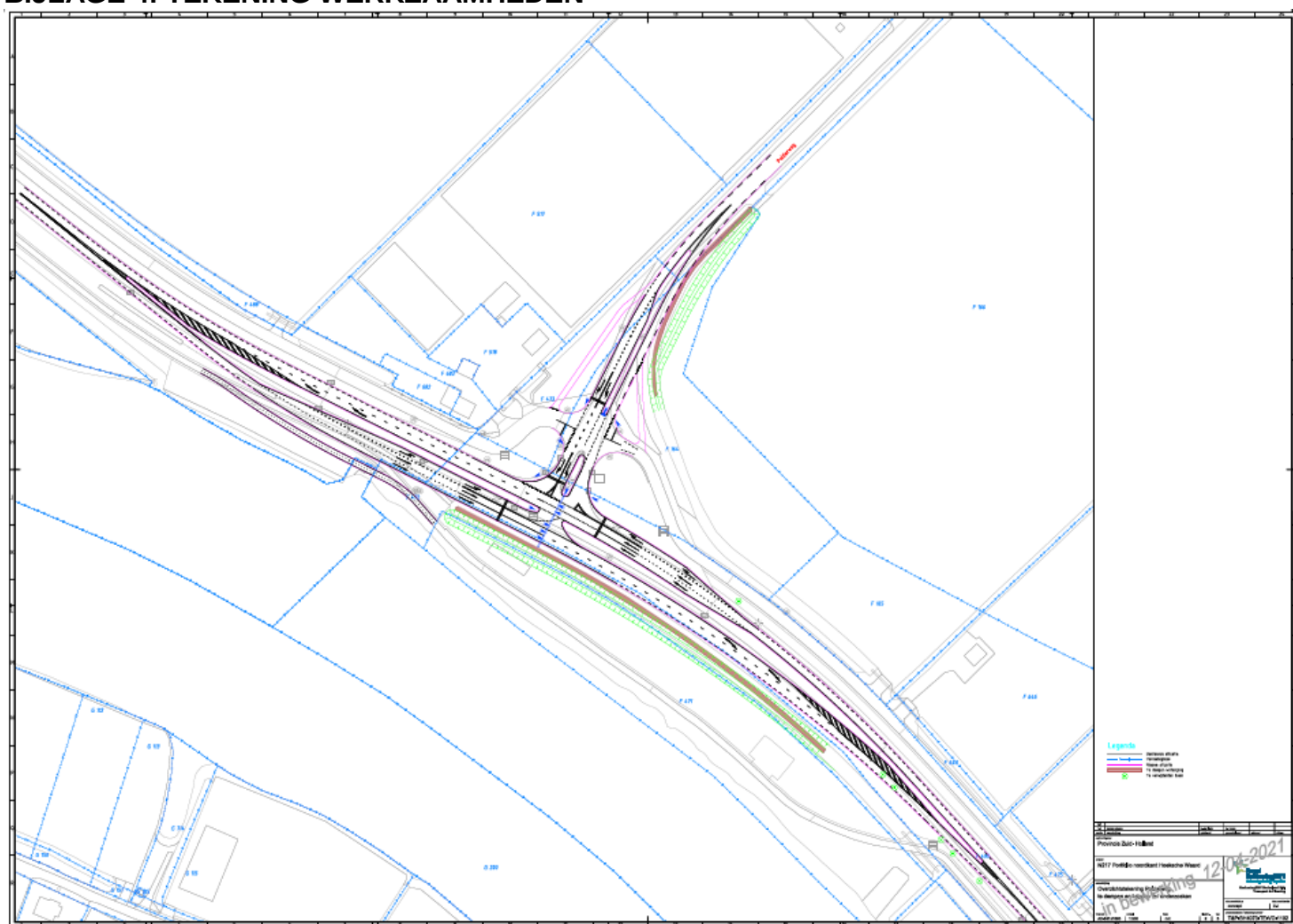
1. Het is verboden een houtopstand geheel of gedeeltelijk te vellen of te doen vellen, met uitzondering van het periodiek vellen van vriend- of hakhout, zonder voorafgaande melding daarvan bij gedeputeerde staten.
2. Provinciale staten kunnen bij verordening regels stellen over de melding, bedoeld in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

De meldings- en herplantplicht is niet van toepassing:

- indien houtopstanden worden geveld ter uitvoering van instandhoudingsmaatregelen of ten behoeve van Natura2000-gebieden.
- voor het vellen van houtopstanden en herbeplanten op een wijze die is beschreven in en aantoonbaar wordt gerealiseerd overeenkomstig een door Onze Minister goedgekeurde gedragscode.

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

BIJLAGE 4: TEKENING WERKZAAMHEDEN



BIJLAGE 5: ZONSOPKOMST- EN ONDERGANG

 Koninklijk Nederlands Meteorologisch Instituut Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat																									
tijden van zonopkomst en -ondergang 2021																									
52°00' noorderbreedte en 5°00' oosterlengte																									
januari		februari		maart		april		mei		juni		juli		augustus		september		oktober		november		december			
dag	op	onder	op	onder	op	onder	op	onder	op	onder	op	onder	op	onder	op	onder	op	onder	op	onder	op	onder	op	onder	dag
01	08.48	16.39	08.20	17.28	07.26	18.20	07.15	20.14	06.10	21.05	05.26	21.51	05.24	22.03	06.02	21.30	06.52	20.27	07.41	19.17	07.35	17.11	08.26	16.32	01
02	08.48	16.41	08.18	17.30	07.23	18.22	07.12	20.16	06.08	21.07	05.25	21.52	05.25	22.03	06.04	21.28	06.54	20.25	07.43	19.15	07.37	17.09	08.27	16.31	02
03	08.48	16.42	08.16	17.32	07.21	18.24	07.10	20.17	06.06	21.08	05.24	21.53	05.26	22.02	06.05	21.26	06.55	20.22	07.44	19.13	07.39	17.08	08.29	16.31	03
04	08.47	16.43	08.15	17.34	07.19	18.25	07.08	20.19	06.05	21.10	05.24	21.54	05.27	22.02	06.07	21.24	06.57	20.20	07.46	19.10	07.41	17.06	08.30	16.30	04
05	08.47	16.44	08.13	17.36	07.17	18.27	07.05	20.21	06.03	21.12	05.23	21.55	05.28	22.01	06.08	21.23	06.58	20.18	07.48	19.08	07.42	17.04	08.31	16.30	05
06	08.47	16.45	08.11	17.37	07.14	18.29	07.03	20.23	06.01	21.13	05.22	21.56	05.29	22.01	06.10	21.21	07.00	20.15	07.50	19.06	07.44	17.03	08.32	16.30	06
07	08.46	16.47	08.10	17.39	07.12	18.31	07.01	20.24	05.59	21.15	05.22	21.56	05.29	22.00	06.11	21.19	07.02	20.13	07.51	19.03	07.46	17.01	08.34	16.29	07
08	08.46	16.48	08.08	17.41	07.10	18.32	06.59	20.26	05.57	21.17	05.21	21.57	05.30	21.59	06.13	21.17	07.03	20.11	07.53	19.01	07.48	16.59	08.35	16.29	08
09	08.45	16.49	08.06	17.43	07.08	18.34	06.56	20.28	05.56	21.18	05.21	21.58	05.31	21.59	06.15	21.15	07.05	20.08	07.55	18.59	07.49	16.58	08.36	16.29	09
10	08.45	16.51	08.04	17.45	07.05	18.36	06.54	20.29	05.54	21.20	05.21	21.59	05.32	21.58	06.16	21.13	07.07	20.06	07.56	18.57	07.51	16.56	08.37	16.29	10
11	08.44	16.52	08.02	17.47	07.03	18.38	06.52	20.31	05.52	21.21	05.20	21.59	05.34	21.57	06.18	21.11	07.08	20.04	07.58	18.54	07.53	16.54	08.38	16.28	11
12	08.43	16.54	08.00	17.49	07.01	18.40	06.50	20.33	05.51	21.23	05.20	22.00	05.35	21.56	06.19	21.09	07.10	20.01	08.00	18.52	07.55	16.53	08.39	16.28	12
13	08.43	16.55	07.59	17.51	06.59	18.41	06.48	20.35	05.49	21.25	05.20	22.01	05.36	21.55	06.21	21.08	07.11	19.59	08.01	18.50	07.57	16.51	08.40	16.28	13
14	08.42	16.57	07.57	17.52	06.56	18.43	06.45	20.36	05.48	21.26	05.20	22.01	05.37	21.54	06.23	21.06	07.13	19.57	08.03	18.48	07.58	16.50	08.41	16.28	14
15	08.41	16.58	07.55	17.54	06.54	18.45	06.43	20.38	05.46	21.28	05.19	22.02	05.38	21.53	06.24	21.04	07.15	19.54	08.05	18.46	08.00	16.49	08.42	16.29	15
16	08.40	17.00	07.53	17.56	06.52	18.47	06.41	20.40	05.45	21.29	05.19	22.02	05.39	21.52	06.26	21.01	07.16	19.52	08.07	18.44	08.02	16.47	08.43	16.29	16
17	08.39	17.02	07.51	17.58	06.49	18.48	06.39	20.41	05.43	21.31	05.19	22.03	05.41	21.51	06.28	20.59	07.18	19.50	08.08	18.41	08.04	16.46	08.43	16.29	17
18	08.38	17.03	07.49	18.00	06.47	18.50	06.37	20.43	05.42	21.32	05.19	22.03	05.42	21.50	06.29	20.57	07.20	19.47	08.10	18.39	08.05	16.45	08.44	16.29	18
19	08.37	17.05	07.47	18.02	06.45	18.52	06.35	20.45	05.40	21.34	05.20	22.03	05.43	21.49	06.31	20.55	07.21	19.45	08.12	18.37	08.08	16.43	08.45	16.30	19
20	08.36	17.07	07.45	18.04	06.42	18.53	06.32	20.47	05.39	21.35	05.20	22.04	05.45	21.47	06.32	20.53	07.23	19.43	08.14	18.35	08.09	16.42	08.45	16.30	20
21	08.35	17.08	07.43	18.05	06.40	18.55	06.30	20.48	05.38	21.37	05.20	22.04	05.46	21.46	06.34	20.51	07.25	19.40	08.15	18.33	08.10	16.41	08.46	16.30	21
22	08.34	17.10	07.41	18.07	06.38	18.57	06.28	20.50	05.36	21.38	05.20	22.04	05.48	21.45	06.36	20.49	07.26	19.38	08.17	18.31	08.12	16.40	08.46	16.31	22
23	08.32	17.12	07.38	18.09	06.35	18.59	06.26	20.52	05.35	21.39	05.20	22.04	05.49	21.43	06.37	20.47	07.28	19.36	08.19	18.29	08.14	16.39	08.47	16.32	23
24	08.31	17.14	07.36	18.11	06.33	19.00	06.24	20.53	05.34	21.41	05.21	22.04	05.50	21.42	06.39	20.45	07.29	19.33	08.21	18.27	08.15	16.38	08.47	16.32	24
25	08.30	17.15	07.34	18.13	06.31	19.02	06.22	20.55	05.33	21.42	05.21	22.04	05.52	21.41	06.41	20.42	07.31	19.31	08.23	18.25	08.17	16.37	08.47	16.33	25
26	08.28	17.17	07.32	18.15	06.29	19.04	06.20	20.57	05.32	21.43	05.22	22.04	05.53	21.39	06.42	20.40	07.33	19.29	08.24	18.23	08.18	16.36	08.48	16.34	26
27	08.27	17.19	07.30	18.16	06.26	19.05	06.18	20.58	05.31	21.45	05.22	22.04	05.54	21.38	06.44	20.38	07.34	19.26	08.26	18.21	08.20	16.35	08.48	16.34	27
28	08.26	17.21	07.28	18.18	06.24	19.07	06.16	21.00	05.30	21.46	05.23	22.04	05.56	21.36	06.45	20.36	07.36	19.24	08.28	18.19	08.21	16.34	08.48	16.35	28
29	08.24	17.23			07.22	20.09	06.14	21.02	05.29	21.47	05.23	22.04	05.57	21.35	06.47	20.34	07.38	19.22	08.30	18.17	08.23	16.33	08.48	16.36	29
30	08.23	17.25			07.19	20.11	06.12	21.03	05.28	21.48	05.24	22.03	05.59	21.33	06.49	20.31	07.39	19.19	08.31	18.15	08.24	16.33	08.48	16.37	30
31	08.21	17.26			07.17	20.12			05.27	21.49			06.00	21.31	06.50	20.29			07.33	17.13			08.48	16.38	31

vanaf 1 januari tot en met 27 maart Midden-Europese Tijd | vanaf 28 maart tot en met 30 oktober Midden-Europese Zomertijd | vanaf 31 oktober tot en met 31 december Midden-Europese Tijd

begin van de lente: 20 maart 10.37 MET
begin van de zomer: 21 juni 05.32 MEZT
begin van de herfst: 22 september 21.21 MEZT
begin van de winter: 21 december 16.59 MET

BIJLAGE 6: RAPPORT DATURA

eDNA onderzoek grote modderkruiper en platte schijfhoren



Colofon

Titel	eDNA onderzoek grote modderkruiper en platte schijfhoren
Tekst, foto's en samenstelling	Robbert van Himbeeck, Kees van Bochove
In opdracht van	VanderHelm Milieubeheer B.V.
Naam opdrachtgever	Tirza Deugd
Rapportnummer	RA21106
Datum opstelling	13-08-2021
Aantal pagina's	7
Contactpersoon vanuit Datura	Robbert van Himbeeck
Wijze van citeren	van Himbeeck, R & van Bochove, K. 2021 eDNA onderzoek grote modderkruiper en platte schijfhoren. Rapport RA21106, Datura Molecular Solutions BV, Wageningen



Datura Molecular Solutions BV

Gevestigd te:
Agro Bussiness Park 106708
PW Wageningen Nederland

+31(0)618441781
www.datura.nl
robert.vanhimbeeck@datura.nl

Inhoudsopgave

1. DOELSTELLING.....	4
2. METHODE.....	4
2.1 BEMONSTERING	4
2.2 LABORATORIUMANALYSE	4
2.3.1 HOE VALS POSITIEVE WAARNEMINGEN WORDEN VOORKOMEN	5
2.3.2 HOE VALS NEGATIEVE WAARNEMINGEN WORDEN VOORKOMEN (qPCR)	6
3. RESULTATEN.....	7

1. DOELSTELLING

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

2. METHODE

2.1 BEMONSTERING

De bemonstering is uitgevoerd door VanderHelm Milieubeheer B.V. volgens gestandaardiseerde protocollen van Datura (opvraagbaar). Er zijn 7 watermonsters verzameld en aangeleverd aan het laboratorium van Datura (codes: 25503, 25502, 25483, 25484, 25511, 25488, 25513).

2.2 LABORATORIUMANALYSE

De watermonsters zijn getest op de aanwezigheid van eDNA van grote modderkruiper en platte schijfhoren. Het analyseren van een eDNA monster vindt plaats in drie stappen. Eerst wordt het eDNA in het monster geconcentreerd en gezuiverd. Vervolgens wordt een controle analyse uitgevoerd om te testen of eDNA detectie in een monster eventueel 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 vals 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 soortprimer) 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 vals positieve waarnemingen worden voorkomen

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

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

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

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

1. Verschillende onderdelen van de analyse workflow worden uitgevoerd in fysiek gescheiden laboratoriumruimtes. 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 (zogenoemde 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 vals negatieve waarnemingen worden voorkomen (qPCR)

Naast vals positieve waarnemingen kunnen ook vals 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 vals negatieve waarnemingen aanzienlijk verkleind worden. Maatregelen die genomen worden om vals 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 geïnhibeed** wordt door storende stoffen. Indien dit het geval is wordt er een **extra zuiveringstap** uitgevoerd. Vervolgens wordt nogmaals getest of de inhiberende stoffen nog invloed hebben en er inderdaad geen inhibitie meer optreedt (zie methode voor een uitgebreidere beschrijving);
5. Er wordt altijd een **positieve DNA controle** van de doelsoort meegenomen in de qPCR detectie. Deze controle moet altijd resulteren in positieve detectie. Ook als alle monsters

negatief zijn, kan zodoende vastgesteld worden dat de detectie juist is uitgevoerd.

3. RESULTATEN

In 3 watermonsters is eDNA van grote modderkruiper aangetroffen. In 3 andere watermonsters is eDNA van platte schijfhoren gedetecteerd. Een overzicht van de resultaten van dit onderzoek worden weergegeven in tabel 1. Iedere analyse is uitgevoerd met behulp van 12 replica's (zie 2.2 Laboratoriumanalyse). De resultaten worden weergegeven als het aantal replica's (van de 12 replica's) dat positief scoorde voor eDNA van de doelsoorten in de betreffende monsters. Indien er een score van "0/12" is bekomen, betekent dit dat er geen eDNA van de doelsoort in het betreffende monster is aangetroffen. Indien er minstens 1 positieve replica is in een monster (i.e. '1/12' of hoger) 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 (e.g. '1/12') is de verwachting dat de eDNA concentratie van de doelsoort zeer laag is.

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

Tabel 1: Resultaten van de qPCR analyses van de watermonsters met 12 replica's.

Monster	Locatie	Inhibitie?	Resultaat grote modderkruiper	Resultaat platte schijfhoren
25503	Monsterpunt 1	Nee	12/12	0/12
25502	Monsterpunt 2	Nee	12/12	0/12
25483	Monsterpunt 3	Nee	8/12	0/12
25484	Monsterpunt 4	Nee	0/12	2/12
25511	Monsterpunt 5	Nee	0/12	4/12
25488	Monsterpunt 6	Nee	0/12	1/12
25513	Monsterpunt 7	Nee	0/12	0/12

BIJLAGE 7: WAARNEMINGEN SOORTEN





Legenda

Waarnemingen: soort, gedrag (aantal dieren)

•

 buizerd, bezet nest

▲

 buizerd, ter plaatse

●

 ekster, bezet nest

●

 ekster, onbezet nest

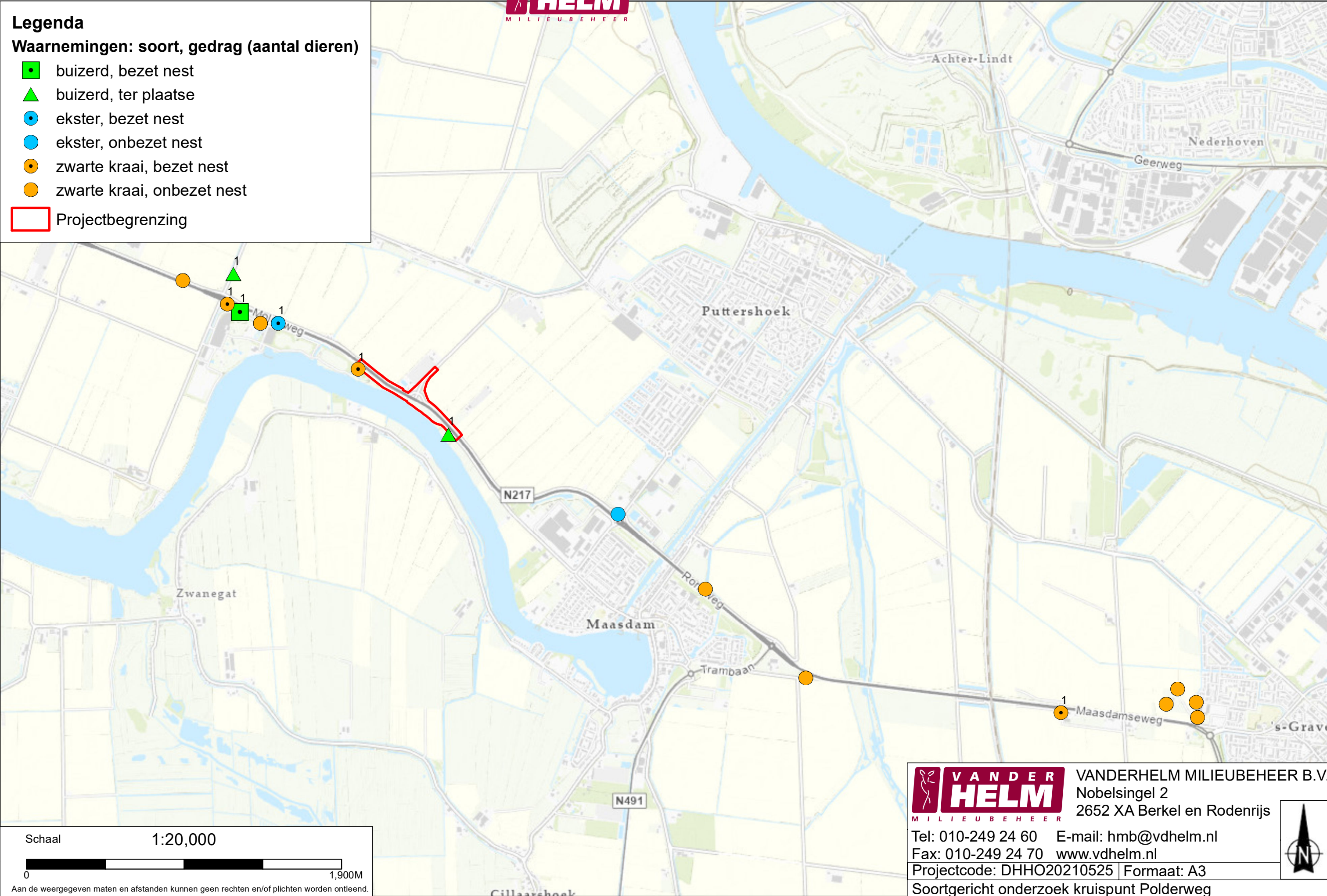
●

 zwarte kraai, bezet nest

●

 zwarte kraai, onbezet nest

Projectbegrenzing



Schaal 1:20,000

0

1,900M

Aan de weergegeven maten en afstanden kunnen geen rechten en/of plichten worden ontleend.

VANDERHELM

MILIEUBEHEER

VANDERHELM MILIEUBEHEER B.V.
Nobelsingel 2
2652 XA Berkel en Rodenrijs

Tel: 010-249 24 60

E-mail: hmb@vdhelm.nl

Fax: 010-249 24 70

www.vdhelm.nl

Projectcode: DHHO20210525

Formaat: A3

Soortgericht onderzoek kruispunt Polderweg



Legenda

Waarnemingen: soort, gedrag (aantal dieren)

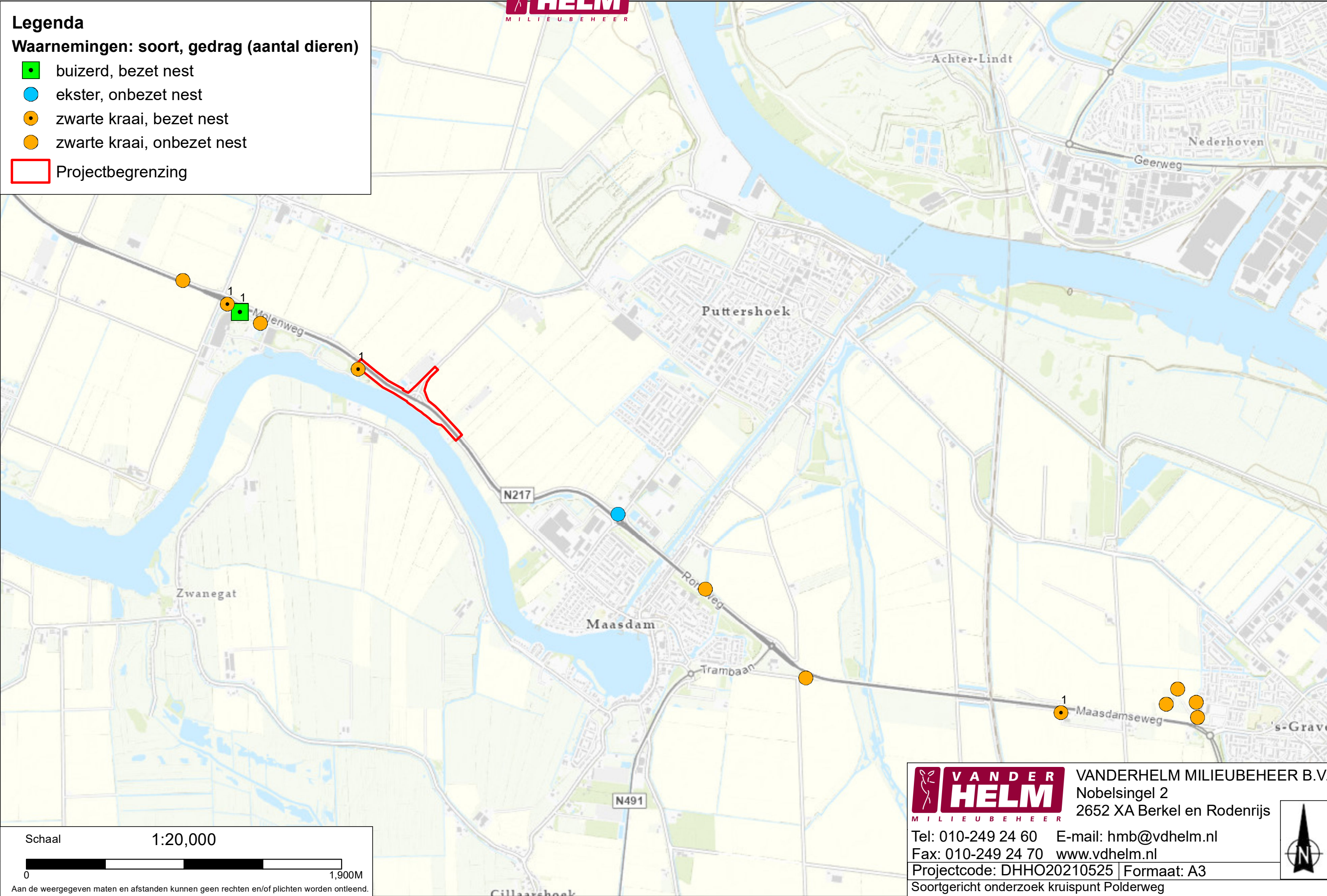
buizerd, bezet nest

ekster, onbezet nest

zwarte kraai, bezet nest

zwarte kraai, onbezet nest

Projectbegrenzing



VANDERHELM MILIEUBEHEER B.V.
Nobelsingel 2
2652 XA Berkel en Rodenrijs

Tel: 010-249 24 60 E-mail: hmb@vdhelm.nl
Fax: 010-249 24 70 www.vdhelm.nl
Projectcode: DHHO20210525 Formaat: A3
Soortgericht onderzoek kruispunt Polderweg





Legenda

Waarnemingen: soort, gedrag (aantal dieren)

•

 buizerd, bezet nest

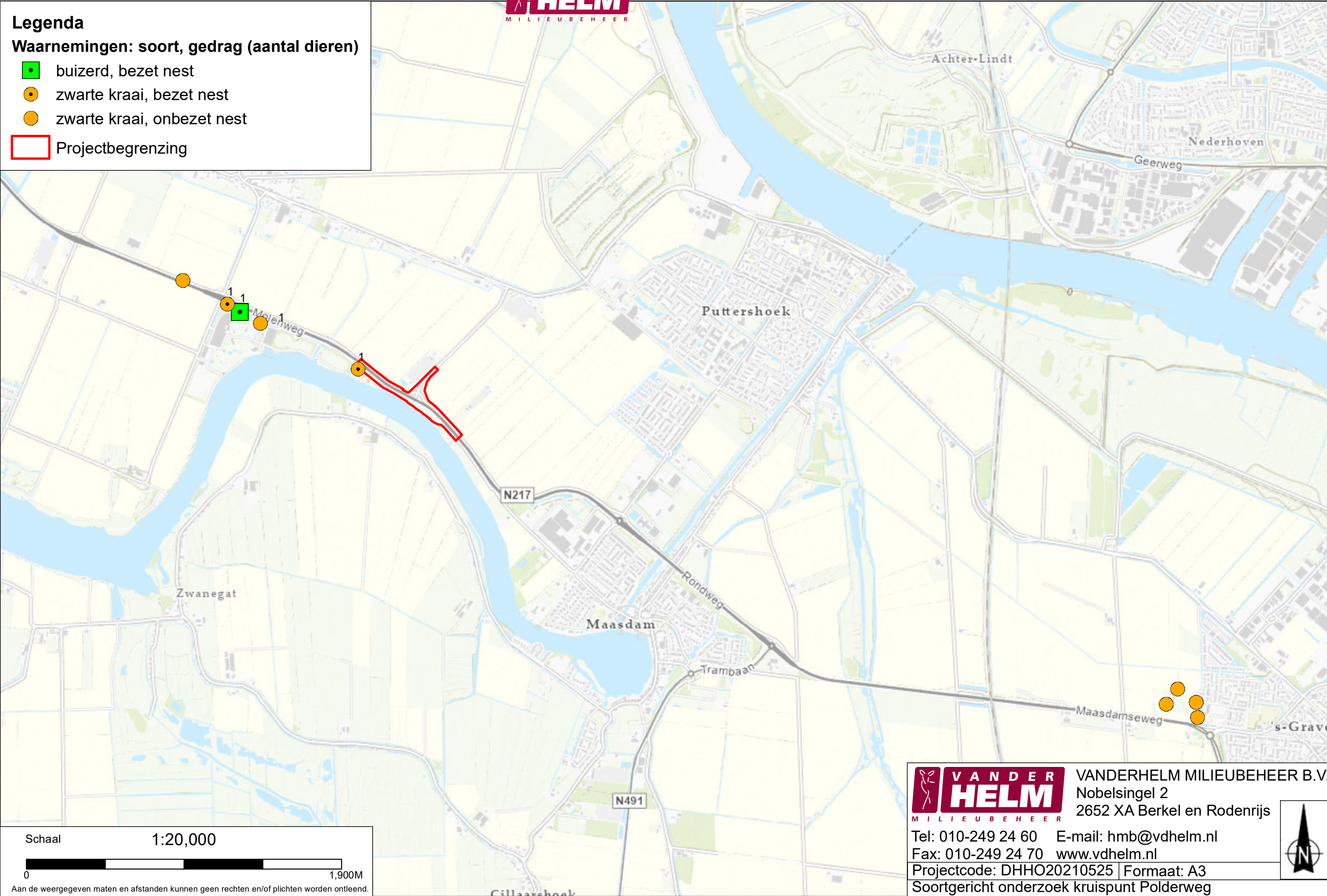
•

 zwarte kraai, bezet nest

•

 zwarte kraai, onbezet nest

Projectbegrenzing



Schaal 1:20,000

0

1,900M

Aan de weergegeven maten en afstanden kunnen geen rechten en/of plichten worden ontleend.

VANDER HELM MILIEUBEHEER

VANDERHELM MILIEUBEHEER B.V.
Nobelsingel 2
2652 XA Berkel en Rodenrijs

Tel: 010-249 24 60

E-mail: hmb@vdhelm.nl

Fax: 010-249 24 70

www.vdhelm.nl

Projectcode: DHHO20210525

Formaat: A3

Soortgericht onderzoek kruispunt Polderweg



Legenda

Waarnemingen: soort, gedrag (aantal dieren)

■

 buizerd, bezet nest

●

 ekster, bezet nest

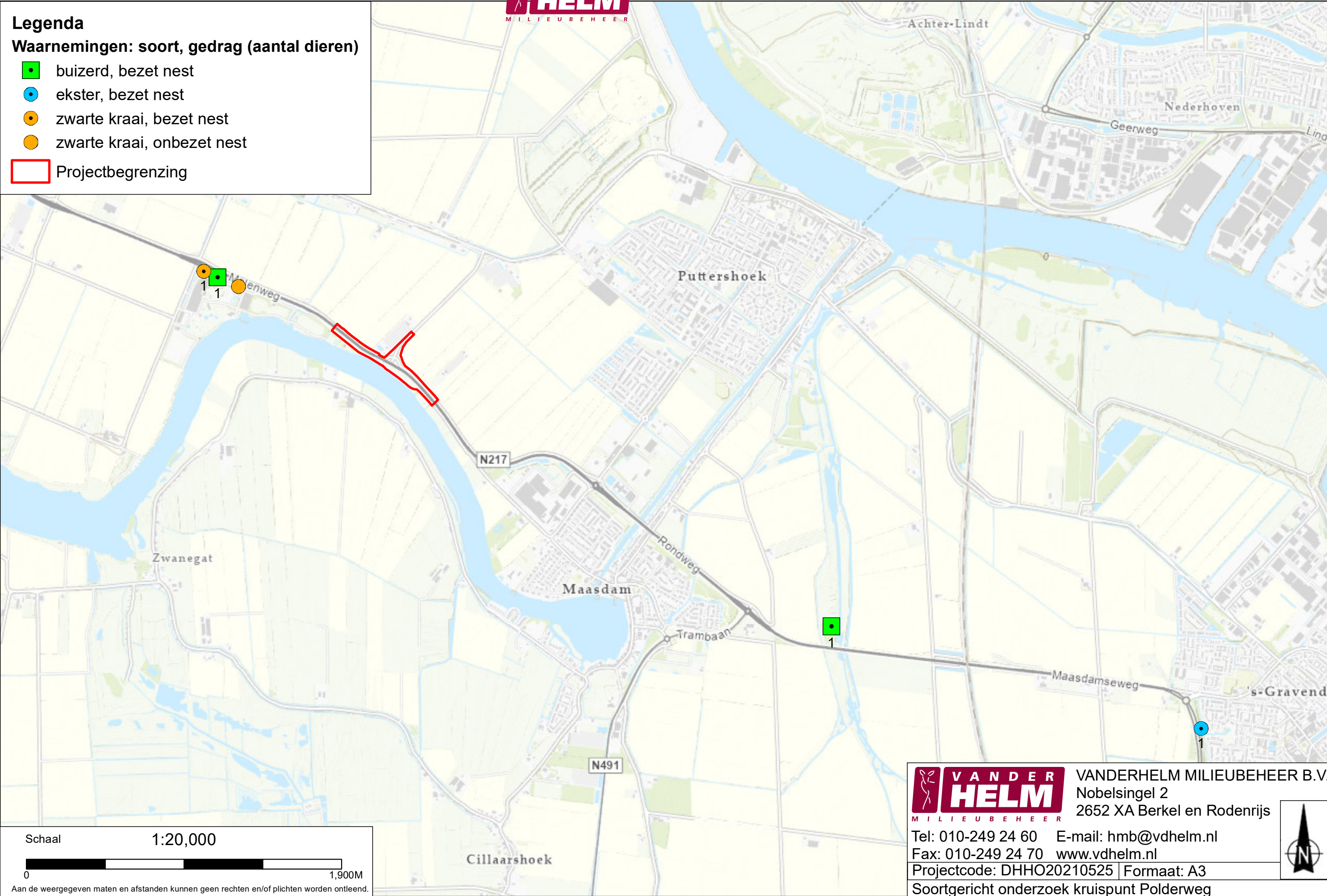
●

 zwarte kraai, bezet nest

●

 zwarte kraai, onbezet nest

Projectbegrenzing



VANDERHELM MILIEUBEHEER B.V.
Nobelsingel 2
2652 XA Berkel en Rodenrijs

Tel: 010-249 24 60 E-mail: hmb@vdhelm.nl
Fax: 010-249 24 70 www.vdhelm.nl
Projectcode: DHHO20210525 Formaat: A3
Soortgericht onderzoek kruispunt Polderweg



