

eDNA validatie bijzondere soorten

Detecteerbaarheid bijzondere gebouwbewonende vleermuissoorten

21 november 2024 - Confidential

Contactpersoon

WOUT VAN LANKVELD
Senior projectleider ecologie

E wout.vanlankveld@arcadis.com

Arcadis Nederland B.V.
Postbus 264
6800 AG Arnhem
Nederland

Inhoudsopgave

Samenvatting	5
Leeswijzer	5
1 Inleiding	6
1.1 Aanleiding onderzoek	6
1.2 Rapportage opzet	6
2 Methode	8
2.1 Literatuurstudie naar ecologie en gedrag	8
2.2 Praktijkonderzoek	8
2.2.1 Bemonsterde locaties	8
2.2.2 Bemonstering	9
2.2.3 Analyse eDNA	11
3 Resultaten	12
3.1 Laatvlieger - <i>Eptesicus serotinus</i>	12
3.2 Meervleermuis - <i>Myotis dasycneme</i>	15
3.3 Gewone grootoorvleermuis - <i>Plecotus auritus</i>	17
3.4 Rosse vleermuis - <i>Nyctalus noctula</i>	20
3.5 Tweekleurige vleermuis - <i>Vespertilio murinus</i>	22
3.6 Baardvleermuis - <i>Myotis mystacinus</i>	23
4 Overzicht resultaten	26
5 Conclusies	27
6 Discussie	28
6.1 Bespreking negatieve resultaten	28
6.2 Invlieggedrag en gebruik spouwmuur	28
6.3 Risico's voor de soorten	28
6.4 Gedeelde verblijven	29

6.5	Beperkingen van het onderzoek	29
-----	-------------------------------	----

Bijlagen

Bijlage 1 Resultaten literatuuronderzoek losse waarnemingen	30
--	-----------

Bijlage 2 Labinformatie eDNA analyse door SGS search	32
---	-----------

Colofon	33
----------------	-----------

Samenvatting

Eerder onderzoek toont aan dat de eDNA-methode effectief is voor het detecteren van vleermuisverblijfplaatsen¹, maar er is nog onvoldoende bewijs voor de identificatie van bijzondere soorten (zoals meervleermuis en laatvlieger). Dit is noodzakelijk voor de acceptatie van deze nieuwe onderzoeksmethode door de bevoegde gezagen en ecologische adviseurs. De VRO heeft subsidie verstrekt aan Unitura om de validiteit van deze methode voor bijzondere vleermuizen in spouwmuren in Nederland te onderzoeken. Als verblijfplaatsen van bijzondere soorten ook met de eDNA-methode gevonden kunnen worden in spouwmuren, is dit een belangrijke stap naar het daadwerkelijke gebruik van eDNA bemonstering voorafgaand aan spouwmuurisolatie.

Dit onderzoek richt zich op de nog openstaande vraag of alle gebouwbewonende vleermuizen detecteerbaar zijn via eDNA bemonstering. In oktober 2024 is dit onderzoek uitgevoerd, waarbij de bemonstering, uitvoering en projectleiding is gedaan door Unitura. SGS search heeft de eDNA analyse gedaan, en Arcadis heeft de data-analyse uitgevoerd en de rapportage opgesteld. Van bijzondere soorten is met literatuur en waarnemingen onderzocht wat bekend is over het gebruik van spouwmuren als verblijfplaats en het invlieggedrag om een inschatting te maken wat het risico voor de soort is als de spouwmuur niet meer als verblijf kan dienen. Een aantal bekende verblijfplaatsen is bemonsterd en geanalyseerd op eDNA met qPCR en op soort bepaald met metabarcoding. De hypothese is dat alle bijzondere soorten met een verblijfplaats in spouwmuren detecteerbaar zijn met de eDNA-methode.

Van 6 bijzondere vleermuissoorten zijn tussen de 1 en 4 bekende verblijfplaatsen bemonsterd: 13 van de 14 verblijfplaatsen gaven een positief resultaat op de aanwezigheid van vleermuizen DNA. Deze verblijfplaatsen zijn vervolgens ook op soort bepaald. Daarbij is in 12 van de 13 eDNA-bemonsteringen de verwachte soort daadwerkelijk aangetroffen. Daarnaast is op 9 verblijfplaatsen een extra soort gedetecteerd, waar dus twee verschillende soorten de verblijfplaats gebruikt hebben.

De laatvlieger, meervleermuis, gewone grootoorvleermuis, rosse vleermuis en baardvleermuis hebben volgens de resultaten een betrouwbare detecteerbaarheid met de eDNA methode. De gewone grootoorvleermuis is in één van de vier gevallen niet waargenomen. De tweekleurige vleermuis is op de enige bemonsteringslocatie niet gedetecteerd.

Leeswijzer

In het volgende deel wordt besproken hoe het onderzoek is opgebouwd. Daarna worden de gebruikte methoden besproken. De onderzoeksresultaten worden per soort gepresenteerd. De ecologie van de bijzondere soorten wordt eerst besproken, gevolgd door de resultaten van de eDNA bemonstering. Deze resultaten worden gebruikt om te bepalen wat dit betekent voor de detectie van verblijfplaatsen in de spouwmuren met eDNA. Tot slot worden de belangrijkste bevindingen voor elke soort samengevat, waarbij de onderzoeksvraag wordt beantwoord. In de discussie worden de resultaten van alle soorten samengevat en besproken hoe de resultaten geïnterpreteerd kunnen worden. In de conclusie worden de belangrijkste bevindingen van het onderzoek samengevat.

¹ eDNA als methode voor het detecteren van vleermuisverblijven Arcadis, 2024, ongepubliceerd.

1 Inleiding

1.1 Aanleiding onderzoek

Het doel van dit onderzoek is om de eDNA-detectiemethode te valideren, ook voor de bijzondere vleermuissoorten die in spouwmuren van grondgebonden woningen in Nederland voorkomen. Uit eerder in 2024 uitgevoerde onderzoeken² blijkt dat eDNA een effectieve methode is om verblijfplaatsen van algemene vleermuizen te detecteren. Het is echter nog onbekend of het ook mogelijk is om bijzondere vleermuissoorten aan te tonen. Binnen het reeds uitgevoerde onderzoek zijn deze bijzondere vleermuissoorten niet aangetroffen tijdens het protocolonderzoek en waren daarmee geen onderdeel van de studie. Dit heeft geleid tot terughoudendheid bij bevoegde gezagen om eDNA te mogen gebruiken voor vooronderzoek bij spouwmuurisolatie. Het ministerie van VRO heeft daarom subsidie verstrekt om dit hiaat te laten onderzoeken. De bemonstering, uitvoering en projectleiding is gedaan door Unitura. SGS search heeft de eDNA analyse uitgevoerd en Arcadis heeft de analyse en rapportage gedaan.

1.2 Rapportage opzet

In een literatuurstudie wordt eerst gekeken naar de ecologie en het gedrag van de bijzondere vleermuissoorten rondom de verblijfplaats. Daarmee kunnen we inschatten wat de kans is dat een bijzondere soort een verblijfplaats heeft in de spouwmuur en dat deze invliegt op de bemonsterde plekken. Vervolgens worden bekende verblijfplaatsen van de vleermuissoorten met eDNA bemonsterd om de detecteerbaarheid van de bijzondere soorten te controleren. Als deze soorten ook met eDNA worden gedetecteerd, dan ondersteunt dit de hypothese dat alle gebouwbewonende vleermuizen, dus ook de bijzondere soorten, gevonden kunnen worden bij het vooronderzoek van spouwmuurisolatie.

Welke bijzondere soorten onderzoeken we en waarom?

De volgende vleermuissoorten zijn onderzocht in dit onderzoek:

- Laatzvlieger (*Eptesicus serotinus*)
- Grootoorvleermuis (*Plecotus auritus*)
- Rosse vleermuis (*Nyctalus noctula*)
- Meervleermuis (*Myotis dasycneme*)
- Baardvleermuis (*Myotis mystacinus*)
- Tweekleurige vleermuis (*Vespertilio murinus*)

Bij het voorgaande eDNA validatie-onderzoek zijn deze soorten niet aangetroffen en/of was controle niet goed mogelijk. Dit komt door de zeldzaamheid en veelal moeilijke detectie van de vleermuizen door specifieke verblijfplaatsen. Dit geldt overigens ook voor de reguliere onderzoeksmethode. Zo heeft de gewone grootoorvleermuis een bijzondere variatie aan geluiden en is daarom lastig te identificeren met nu gebruikte onderzoeksmethoden³.

De invloed van gedrag van de bijzondere soorten in de spouwmuur

Iedere soort kan ander gedrag vertonen in- en om de verblijfplaats. Dit gedrag kan invloed hebben op de hoeveelheid eDNA rondom de bemonsteringsplekken. Om te bepalen of dit invloed heeft op de detectie van verblijfplaatsen met eDNA, kijkt dit onderzoek naar mogelijke variatie per soort. Van sommige soorten is weinig informatie bekend, mede door de zeldzame status. Indien beschikbaar, is kennis verzameld over:

- de zeldzaamheid van de soort;
- het gedrag rondom de verblijfplaats;
- voorkeuren voor gebouwen en specifieke plekken.

² RVO eDNA-rapport en Arcadis eDNA validatierapport, 2024, nog niet gepubliceerd.

³ BIJ12, Kennisdocument Gewone Grootoorvleermuis Versie 1.0, juli 2017

De onderzoeksvragen

In dit rapport proberen we twee vragen te beantwoorden. Bekend is dat algemene soorten gedetecteerd kunnen worden met eDNA, nu willen we weten of dit ook geldt voor bijzondere soorten. De eerste vraag is daarom:

Kan de vastgestelde eDNA-methode de bijzondere vleermuissoorten detecteren?

Uit onderzoek blijkt dat de verblijfplaatsen van algemenere vleermuissoorten detecteerbaar zijn. Het is echter belangrijk om te overwegen dat het invlieggedrag en de verblijfplaatsen van bijzondere soorten mogelijk anders zijn dan die van algemenere soorten. Om te bepalen of dit invloed heeft op de detectie met eDNA bij spouwmuren van grondgebonden woningen is de tweede vraag:

Kunnen de bekende verblijfplaatsen van bijzondere, gebouwbewonende vleermuissoorten in spouwmuren ook met de vastgestelde eDNA-methode worden aangetoond?

De hypothese

Alle bijzondere soorten met een verblijfplaats in de spouwmuur zijn detecteerbaar met eDNA-methode in grondgebonden woningen.

2 Methode

2.1 Literatuurstudie naar ecologie en gedrag

In een theoretische studie wordt gekeken naar de ecologie van de bijzondere soorten in relatie tot verblijfplaatsen in de spouwmuur. De focus ligt op de mate waarin verblijfplaatsen van de bijzondere soorten worden waargenomen in spouwmuren. Daarbij wordt er ingegaan op het invlieggedrag, gebruikte invliegopeningen en de locatie van de verblijfplaats in de spouwmuur.

Vervolgens worden deze resultaten vergeleken met de gestelde eDNA-roller-methode. Met de roller worden kansrijke invliegopeningen bemonsterd volgens het protocol (zie bemonstering onder 2.2.2.). Om een betrouwbaar resultaat te geven is het belangrijk dat de vleermuizen invliegen op de plekken die bemonsterd zijn. Met literatuur en waarnemingen verzamelen we informatie over de invliegopeningen die soorten gebruiken. Als de invliegopeningen van de verblijfplaatsen grotendeels overeenkomen met de bemonsterde gebieden van de eDNA-methode, is de kans groot dat het eDNA wordt gedetecteerd.

Werkwijze

Eerst is gekeken naar algemeen bekende informatie over verblijfplaatsen, daarna is gezocht naar specifieke waarnemingen en schaarse kennis. Voor informatie over de verblijfplaatsen van de bijzondere soorten is gebruikt gemaakt van enkele zoekwoorden, daarbij zijn enkel gevonden bronnen gebruikt van betrouwbare organisaties/partijen met relevante en waardevolle resultaten. Gebruikte zoekwoorden zijn: *Verblijfplaats *soortnaam**, *Verblijfplaats *soortnaam* stedelijk gebied*, *Spouwmuur verblijfplaats *soortnaam** en *ecologie *soortnaam**.

De informatie komt uit (peer-reviewd) artikelen, relevante data en onderzoeken over de vleermuisecologie van de betreffende soort, van betrouwbare bronnen, zoals bekende ecologie/vleermuis instellingen, natuurbeschermingsorganisaties en bekende vleermuisexperts.

Naast artikelen zijn ook waarnemingen van Waarneming.nl en beeldmateriaal van YouTube geraadpleegd. Deze waarnemingen zijn ook afkomstig van bekende ecologie/vleermuis instellingen.

2.2 Praktijkonderzoek

Het praktijkonderzoek bestaat uit drie stappen: het selecteren van bemonsteringslocaties, het bemonsteren en de analyse van het verkregen eDNA.

2.2.1 Bemonsterde locaties

Onderzoeklocaties voor dit onderzoek zijn afkomstig van ecologische partijen/adviesbureaus en vleermuisexperts die de verblijfplaatsen hebben kunnen verifiëren op aanwezigheid van de bijzondere soort. De locaties zijn bekende locaties van vleermuisexperts of verkregen tijdens protocolonderzoek. Dit type onderzoek vormt nu de standaard bij vergunningsprocedures, waarbij gebouwbewonende vleermuizen in het geding komen. De onderzoeklocaties zijn weergegeven in Tabel 1.

Tabel 1: onderzoeklocaties bijzondere soorten. De letters van de code komen met de vleermuissoort overeen. Per soort zijn 1-4 verblijfplaatsen gevonden en bemonsterd.

Locatie-code	Soort	Gevel/Kast	Invlieglocatie	Type
LV1	Laatvlieger	Kopgevel	Nokpan & Kantpannen, Zuidkant	Verblijfplaats
LV2	Laatvlieger	Kopgevel	Nokpan & Kantpannen, Zuidkant	Kraamverblijf
LV3	Laatvlieger	Kopgevel	Nokpan & Kantpannen, Zuidkant	Kraamverblijf
MV1	Meervleermuis	Kopgevel	Nokpan & Kantpannen, Zuidkant	Kraamverblijf
MV2	Meervleermuis	Kopgevel	Nokpan & Kantpannen, Oostkant	Kraamverblijf
MV3	Meervleermuis	Kopgevel	Nokpan & Kantpannen, Zuidkant	Kraamverblijf

GG1	Gewone grootoorvleermuis	Kopgevel	Nokpan & Kantpannen, Westkant	Kraamverblijf
GG2	Gewone grootoorvleermuis	Kast	Kast noordkant, heide/bos.	Zomerverblijf
GG3	Gewone grootoorvleermuis	Kopgevel	Kopgevel, Oostkant.	Verblijfplaats
GG4	Gewone grootoorvleermuis	Zolder	Zolder, openstaand raampje.	Verblijfplaats
RV1	Rosse vleermuis	Kopgevel	Nokpan & Kantpannen, Zuidkant	Verblijfplaats
RV2	Rosse vleermuis	Kast	Kast zuidkant, Heide/bos.	Verblijfplaats
TV1	Tweekleurige vleermuis	Kopgevel	Nokpan & Kantpannen, Zuidkant	Kraamverblijf
BV1	Baardvleermuis	Schuur	Schuur, gevel zuid	Winterverblijf

Dit onderzoek is gericht op spouwmuren van grondgebonden woningen, zoals rijtjeshuizen, en is niet gericht op grote gebouwen. Grotere gebouwen hebben een hogere kans op grote kolonies met mogelijk andere invlieglocaties en zijn daarnaast moeilijker toegankelijk voor bemonstering. Het gaat in dit onderzoek om spouwmuren, waarbij wordt gekeken naar overstekende dakpannen die toegang tot de spouw kunnen bieden, maar niet naar losliggende dakpannen midden op het dakvlak.

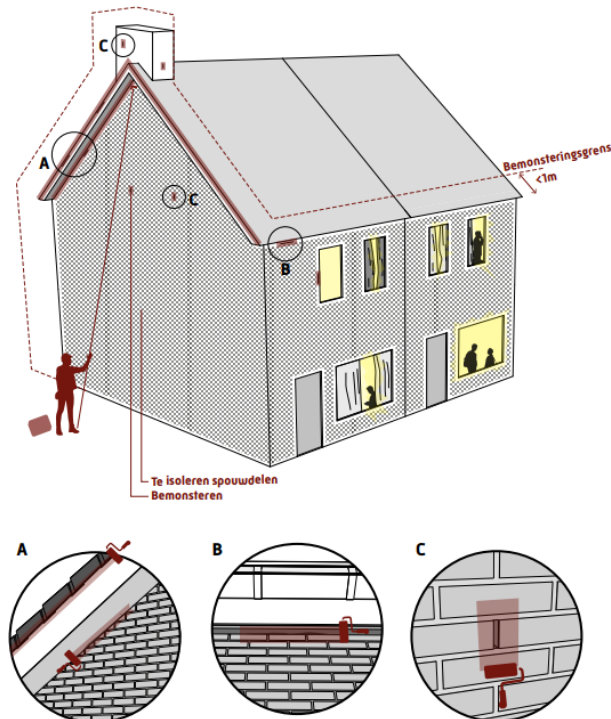
Voor enkele bijzondere vleermuissoorten was het vinden van een verblijfplaats lastig, omdat er weinig bevestigde waarnemingen in spouwmuren zijn, waardoor in vier gevallen is gekozen voor een alternatieve locatie, zoals een vleermuiskast of zolder, die in lijn lopen met invlieglocaties van verblijfplaatsen in spouwmuren. Voor twee soorten betekent dit dat er slechts één verblijf is gevonden voor bemonstering.

2.2.2 Bemonstering

De bemonstering is verlopen volgens het SGS-bemonsteringsprotocol (zie, *bijlage 1*). De bemonsteringen zijn uitgevoerd door medewerkers van SGS search & Unitura die bekend zijn met het SGS-protocol. Een vleermuisexpert was op drie locaties (GG2, GG4 en RV2) mee en heeft tijdens de bemonstering de locaties geïnspecteerd en aanwezige vleermuizen op soort geïdentificeerd. Blind onderzoek is niet nodig, omdat het hier alleen gaat om de controle of de aangetroffen bijzondere vleermuizen ook gevonden worden met eDNA.

De bemonsteraar (uitvoerder van het veldonderzoek) start de bemonstering met het zoeken naar potentiële invliegopeningen die direct of indirect verbonden zijn met de spouwmuur. Aangeven in figuur 1 zijn de bemonsterde invliegopeningen. Enkel de invliegopeningen die in een zone van 1 meter direct of indirect verbonden zijn met de spouwmuur zijn bemonsterd (Figuur 1). Wanneer de locatie niet uit een kopgevel of spouwmuur bestond, is de invliegopening, die vergelijkbaar is met de invliegopening van de spouwmuur, bemonsterd. Bijvoorbeeld: wanneer de verblijfplaats zich in een kast bevond, is het opvliegplankje van de kast bemonsterd en niet de volledige binnenkant van de kast. Daarbij lag de voorkeur bij kasten van houtbeton, aangezien deze sterker vergelijkbaar zijn dan houten kasten.

Bemonsteringsinstructie



Figuur 1: bemonstering van de invliegopeningen

Na het identificeren van de invliegopeningen heeft de bemonsteraar gezocht naar aanwezigheid of sporen van vleermuisaanwezigheid. Daarna is de daadwerkelijke bemonstering gestart. Eerst is de roller verzadigd met de bijgeleverde bemonsteringsvloeistof (Figuur 2). Vervolgens is de roller op een steriele manier bevestigd op een telescopische stok. Daarna is de roller zachtjes langs of onder de invliegopeningen gerold. Daarbij is erop gelet om de roller niet te hard bij de eerst paar invliegopeningen te drukken, om niet te veel vocht uit de roller te verliezen. Tijdens het bemonsteren is gecontroleerd of de roller na verloop van tijd niet is uitgedroogd. Als dit zo is, kan de roller met het toevoegen van extra vloeistof opnieuw bevochtigd worden. Tot slot is de roller op steriele wijze opgeborgen en voorzien van een label.



Figuur 2: eDNA Sampling kit SGS search

2.2.3 Analyse eDNA

Met de eDNA-analyse is bepaald óf, en zo ja, welke vleermuissoorten in het monster aangetoond kunnen worden. Het eDNA-sample is geanalyseerd door middel van een qPCR-analyse door het SGS search-laboratorium. Daarmee is bepaald of er in het sample vleermuis DNA aanwezig is. Als het monster DNA van een vleermuis bevat, hoe weinig ook, geeft dit resultaat een positieve uitslag.

Daarna is het eDNA-sample op soort gebracht door middel van een metabarcoding-analyse. Hierbij is het monster gecontroleerd op 15 vleermuissoorten die in gebouwen verwacht kunnen worden in Nederland.

Analyse resultaten met beoordelingsmatrix

Tenslotte worden de resultaten van de literatuur en bemonstering beoordeeld in een beoordelingsmatrix. Op basis van de literatuur wordt gekeken hoeveel de soort gebruik maakt van spouwmuren. Dit biedt een risico-inschatting van de gevolgen voor de soort wanneer een spouwmuurverblijf verdwijnt en wat dit betekent voor de soort. Sporadisch, niet-exclusief gebruik in de zomer van een individu geeft een lager risico dan een kraamkolonie die bijna alleen spouwmuren gebruikt als verblijfplaats. De betrouwbaarheid van eDNA-bemonstering wordt beoordeeld op basis van de mate waarin de invliegopeningen uit het literatuuronderzoek overeenkomen met de bemonsterde muurdelen volgens het protocol en de resultaten van de eDNA-analyse

Risico voor de soort

Hoog: soort maakt met **voornamelijk** gebruik van spouwmuren als verblijfplaats.
 Matig/middel: soort maakt met **regelmaat** gebruik van spouwmuren als verblijfplaats, maar heeft ook andere verblijfplaatsen.
 Laag: soort maakt **nauwelijks** gebruik van spouwmuren als verblijfplaats.

Betrouwbaarheid van eDNA

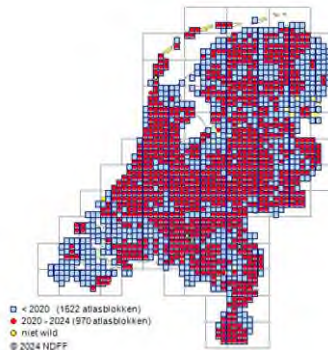
Hoog: soort vliegt **wel** in binnen bemonsteringszone + detecteerbaar met eDNA methode.
 Matig/middel: soort vliegt **niet** in binnen bemonsteringszone + soort is **wel** detecteerbaar met eDNA methode.
 Laag: soort vliegt **niet** in binnen bemonsteringszone + **niet** detecteerbaar*.

*Binnen dit onderzoek is het niet gelukt de soort te detecteren op een representatieve plek.

3 Resultaten

3.1 Laatvlieger - *Eptesicus serotinus*

Zeldzaamheid: Algemeen – NDFF Verspreidingsatlas



Laatvlieger, Bron: Zoogdiervereniging, 2024

Verspreiding Laatvlieger, Bron: NDFF

Ecologie

Hoe vaak komt de soort voor?

Volgens de NDFF komt de soort algemeen voor in Nederland en in alle provincies.

Waar heeft de soort zijn verblijfplaatsen?

Verblijfplaatsen van laatvliegers bevinden zich voornamelijk in gebouwen, zoals spouwmuren, onder dakpannen en op zolders. Zowel kraam-, winter-, zomer- en paarverblijfplaatsen zijn waargenomen in spouwmuren. Laatvliegers hebben een voorkeur voor beschutte droge plaatsen, vaak zitten ze diep weggestopt in hun verblijfplaatsen (*Laatvlieger*, z.d.). Kraamverblijven in Nederland bevinden zich bijna allemaal in gebouwen, in daken en spouwmuren (Dietze et al., 2011). Laatvliegers treden hun verblijfplaatsen in spouwmuren binnen via invliegopeningen, zoals stootvoegen, kantpannen en overige openingen met een minimale grootte van 8 mm (*Bouwen Voor de Laatvlieger | vleermuizenindestad.nl*, z.d.).

Maakt de soort veel gebruik van spouwmuren van grondgebonden woningen?

De soort maakt algemeen gebruik van spouwmuren van grondgebonden woningen. Op Waarnemingen.nl zijn vele waarnemingen bekend van laatvliegerverblijfplaatsen in spouwmuren van grondgebonden woningen.

Wat is de kans dat de in/uitvliegplek van de soort zich binnen de bemonsteringszone bevindt?

Om deze vraag te beantwoorden zijn er 10 waarnemingsvideo's bekeken (*Bijlage 1*). Op 9 video's is te zien dat de laatvliegers invliegen in de zone rond de kantpannen, of in stootvoegen/ventilatieroosters (zie Figuur 3). Op 1 video vliegen de laatvliegers in/uit via het dakvlak. Bij de 9 video's liggen de in/uitvliegopeningen dus binnen de bemonsteringszone. Als de geplaatste video's representatief zijn, dan is het zeer waarschijnlijk dat laatvliegers in/uitvliegen binnen de bemonsteringszone.



Figuur 3: op beelden is te zien waar laatvliegers invliegen bij spouwmuren van gevels.

Bemonstering spouwverblijfplaatsen

De bemonstering van de bewoonde laatvliegerverblijfplaatsen is uitgevoerd bij drie verschillende spouwmuren. In figuur Figuur 3 is weergegeven om welke verblijfplaatsen het gaat en welke waarneming daar is gedaan.



Figuur 4: De 3 bemonsterde locaties van laatvliegerverblijven. Van links naar rechts: LV1, LV2 en LV3.

Locatie	LV1	LV2	LV3
Invlieglocatie	Nokpan & Kantpannen, Zuidkant (kast niet bemonsterd)	Nokpan & Kantpannen, Zuidkant	Nokpan & Kantpannen, Zuidkant
Waarneming	Aug 2022: 3 laatvliegers	2024: 37 laatvliegers	2024: kraamverblijf vastgesteld
Type verblijf	Verblijfplaats	Kraamverblijf	Kraamverblijf
Bron	Arcadis	VM protocol	VM protocol

Resultaat eDNA analyse:

Locatie	QPCR resultaat	Metabarcoding resultaat
LV 1	Positief	Laatvlieger, Gewone dwergvleermuis
LV 2	Positief	Laatvlieger
LV 3	Positief	Laatvlieger, Ruige dwergvleermuis

Conclusie

Theorie:

De laatvlieger komt algemeen voor in spouwmuren van grondgebonden woningen. De soort vliegt doorgaans in en uit binnen de bemonsteringszone van de eDNA-methode. De laatvlieger maakt veel gebruik van spouwmuren, en in kraamkolonies zijn ze redelijk afhankelijk van geschikte spouwmuren. Het risico voor de soort is daarom hoog.

Praktijk:

Het eDNA van de laatvlieger is gemeten en alle drie de laatvlieger-verblijfplaatsen zijn detecteerbaar met de gestelde eDNA-methode. Daarnaast is de laatvlieger gedetecteerd op drie aanvullende locaties binnen dit onderzoek (GG1, RV1 en RV2), waar vanuit het protocolonderzoek geen verblijfplaatsen bekend waren van deze soort. De laatvlieger maakt gebruik van de bemonsteringszone (kantpannen) en de resultaten bevestigen de aanwezigheid van eDNA. Daarom beoordelen we de betrouwbaarheid als hoog.

Conclusie

Beoordelingsmatrix:

Risicoprofiel	Betrouwbaarheid eDNA-methode
Hoog	Hoog

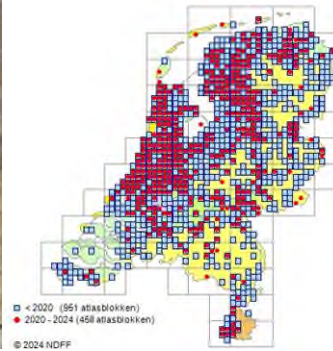
Verblijfplaatsen van de laatvlieger zijn te detecteren met de gestelde eDNA-methode.

Literatuur:

Laatvlieger. (z.d.). De Zoogdiervereniging. <https://www.zoogdiervereniging.nl/zoogdiersoorten/laatvlieger>
Bouwen voor de laatvlieger | vleermuizenindestad.nl. (z.d.). <https://www.vleermuizenindestad.nl/node/48.html>
Dietze, C., Von Helversen, O., Nill, D. (2011). *Vleermuizen* (1e editie). Triton Natuur.
NDFF Verspreidingsatlas. (z.d.). <https://www.verspreidingsatlas.nl/>

3.2 Meervleermuis - *Myotis dasycneme*

Zeldzaamheid: Vrij zeldzaam – NDFF Verspreidingsatlas



Meervleermuis, Bron: Zoogdierverseniging,

Verspreiding Meervleermuis, Bron: NDFF

Ecologie

Hoe vaak komt de soort voor?

Volgens de NDFF is de soort vrij zeldzaam in Nederland.

Waar heeft de soort zijn verblijfplaatsen?

Kolonies van meervleermuizen worden voornamelijk aangetroffen in gebouwen, in kerkzolders, en ook in de spouwmuren en onder dakpannen van woningen. Ze overwinteren doorgaans in mergelgroeven, bunkers, forten, vestingwerken, oude steenfabrieken en kelders, maar worden soms ook in gebouwen aangetroffen. Als paarverblijven gebruiken ze onder andere vleermuiskasten en woonhuizen (*Meervleermuis*, z.d.). Individuen bevinden zich ook in boomholten en in kasten aan bomen en gebouwen (Dietze et al., 2011).

Maakt de soort veel gebruik van spouwmuren van grondgebonden woningen?

Spouwmuren dienen als kraamverblijven en zomerverblijven (Dietze et al., 2011). De meervleermuis maakt gebruik van spouwmuren als verblijfplaats, waarbij ze invliegen bij stootvoegen, kantpannen en nokpannen (*Meervleermuis*, z.d.).

Wat is de kans dat de in/uitvliegplek van de soort zich binnen de bemonsteringszone bevindt?

Om deze vraag te beantwoorden, zijn 7 waarnemingsvideo's geanalyseerd (zie Bijlage 1). In alle 7 van deze video's zijn meervleermuizen te zien die in- en uitvliegen in de zone rond de kantpannen, of via stootvoegen/ventilatioeroosters. Als de geplaatste video's representatief zijn, dan zullen meervleermuizen in alle gevallen in- en uitvliegen binnen de bemonsteringszone.



Figuur 5: Invliegende meervleermuis

Bemonstering (spouw)verblijfplaatsen



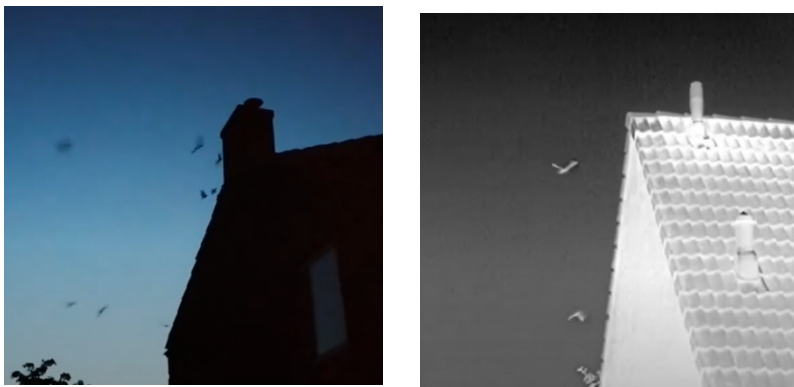
Figuur 6: De 3 bemonsterde locaties van meervleermuisverblijven. Van links naar rechts: MV1, MV2 en MV3.

De bemonstering van de bewoonde meervleermuisverblijfplaatsen is uitgevoerd bij drie verschillende spouwmuren. In figuur 6 is weergegeven om welke verblijfplaatsen het gaat en welke waarneming daar is gedaan.

Locatie	MV1	MV2	MV3
Invlieglocatie	Nokpan & Kantpannen, Zuidkant	Nokpan & Kantpannen, Oostkant	Nokpan & Kantpannen, Zuidkant
Waarneming	07-2023: 112 meervleermuizen	07-2021: 40 meervleermuizen 2023: onbekend aantal	07-2021: 141 meervleermuizen 2023: onbekend aantal
Type verblijf	Kraamverblijf	Kraamverblijf	Kraamverblijf
Bron	VM protocol	VM protocol	VM protocol

Resultaat analyse:

Locatie	QPCR resultaat	Metabarcoding resultaat
MV1	Positief	Meervleermuis
MV2	Positief	Meervleermuis, Ruige dwergvleermuis
MV3	Positief	Meervleermuis



Figuur 7: Beelden van invliegende meervleermuizen

Conclusie

Theorie:

Meervleermuizen maken gebruik van spouwmuren van grondgebonden woningen. De soort vliegt volgens onze resultaten altijd in en uit binnen de bemonsteringszone van de eDNA-methode. Het risico voor de soort wordt daarom hoog beoordeeld.

Praktijk:

De meervleermuis en de verblijfplaatsen zijn in alle gevallen detecteerbaar met de gestelde eDNA-methode. De betrouwbaarheid is daarom hoog beoordeeld.

Conclusie

Beoordelingsmatrix

Risicoprofiel	Betrouwbaarheid eDNA-methode
Hoog	Hoog

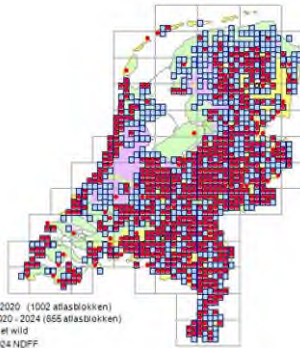
Verblijfplaatsen van de meervleermuis zijn te detecteren met de gestelde eDNA-methode.

Literatuur:

Meervleermuis. (z.d.). De Zoogdiervereniging. <https://www.zoogdiervereniging.nl/zoogdiersoorten/meervleermuis>
 Dietze, C., Von Helversen, O., Nill, D. (2011). Vleermuizen (1e editie). Triton Natuur.
 NDFV Verspreidingsatlas. (z.d.). <https://www.verspreidingsatlas.nl/>

3.3 Gewone grootoorvleermuis - *Plecotus auritus*

Zeldzaamheid: Vrij zeldzaam – NDFF Verspreidingsatlas



Gewone grootoorvleermuis, Bron: Zoogdiervereniging, 2024

Verspreiding Meervleermuis, Bron: NDFF

Ecologie

Hoe vaak komt de soort voor?

Volgens het NDFF is de gewone grootoorvleermuis vrij zeldzaam.

Waar heeft de soort zijn verblijfplaatsen?

De gewone grootoorvleermuis maakt gebruik van een uiteenlopende variatie aan verblijfplaatsen. In westelijk Europa is er vermoedelijk 's zomers een voorkeur voor gebouwen en 's winters voor ondergrondse verblijven (Dietze et al., 2011). Ze worden in gebouwen zowel op zolders als achter betimmeringen, daklijsten en vensterluiken, in brede spouwmuren en onder dakpannen, in holten en spleten in bomen en in vleermuiskasten gevonden (*Kennisdocument Gewone Grootoorvleermuis*, 2017). De kleine groepjes van 2 tot 25 dieren maken gebruik van een groot aantal verblijfplaatsen naast elkaar en verhuizen vaak (*Gewone Grootoorvleermuis*, z.d.).

Maakt de soort veel gebruik van spouwmuren van grondgebonden woningen?

De soort gebruikt in enkele gevallen de spouwmuur als verblijfplaats (*Kennisdocument Gewone Grootoorvleermuis*, 2017), maar door hun verscheidenheid in verblijfplaatsen zijn ze niet afhankelijk van spouwverblijfplaatsen.

Wat is de kans dat de in/uitvliegplek van de soort zich binnen de bemonsteringszone bevindt?

Om deze vraag te beantwoorden zijn verschillende (video)waarnemingen van de gewone grootoorvleermuis bekeken (bijlage 1). Van de 7 videofragmenten en 8 waarnemingen van Waarneming.nl is slechts één keer een verblijf van grootoorvleermuizen in een spouwmuur gemeld. Deze muur was gevuld met isolatieparels, onduidelijk hoe is hoe de vleermuis uit/in de spouw is gekomen.

Bemonstering (spouw)verblijfplaatsen

De bemonstering van de bewoonde gewone grootoorverblijfplaatsen is uitgevoerd bij vier verschillende spouwmuren. In figuur 8 is weergegeven om welke verblijfplaatsen het gaat en welke waarneming daar is gedaan.



Figuur 8: De 4 bemonsterde locaties van gewone grootoorvleermuisverblijven. Van links naar rechts: GG1, GG2, GG3, GG4.

Locatie	GG1	GG2	GG3	GG4
Invieliglocatie	Nokpan & Kantpannen, Westkant	Kast, opvliegplankje Noord. Heide/bos	Kopgevel, Oostkant	Zolder, openstaand raampje
Waarneming	2023	Sept 2024	Week 29 2024.	Sept 2024
Type verblijf	Kraamverblijf	Zomerverblijf	-	-
Bron	VM protocol	VM werkgroep	Validatie onderzoek SGS	VM werkgroep, bewoners

Resultaat analyse:

Locatie	QPCR resultaat	Metabarcoding resultaat
GG1	Positief	Laatvlieger, gewone dwergvleermuis
GG2	Positief	Gewone grootoorvleermuis
GG3	Positief	Gewone dwergvleermuis, gewone grootoorvleermuis
GG4	Positief	Gewone dwergvleermuis, gewone grootoorvleermuis

Conclusie

Theorie:

De gewone grootoorvleermuis heeft een grote verscheidenheid aan verschillende verblijfplaatsen. Spouwmuren worden ook als verblijfplaats gebruikt, maar de soort is flexibel in diverse gebouwen en daardoor niet afhankelijk van spouwmuren. Het risico schatten we daarom laag in. De soort vliegt in binnen de bemonsteringszone volgens gestelde waarnemingen.

Praktijk:

De gewone grootoorvleermuizen en de verblijfplaatsen zijn detecteerbaar met de gestelde eDNA methode. Op de locatie GG1 is de soort niet waargenomen: mogelijke verklaringen worden besproken in de discussie, de reden is niet 100% bekend. Wel is aangetoond dat de soort en de verblijven detecteerbaar zijn met de eDNA methode en de uitslag beoordelen we daarom als middel tot hoog.

Conclusie**Beoordelingsmatrix**

Risicoprofiel	Betrouwbaarheid eDNA-methode
Laag	Middel/Hoog

Literatuur

Kennisdocument Gewone Grootoorvleermuis, versie 1.0 BIJ12 juli 2017

Gewone grootoorvleermuis. (z.d.). De Zoogdiervereniging

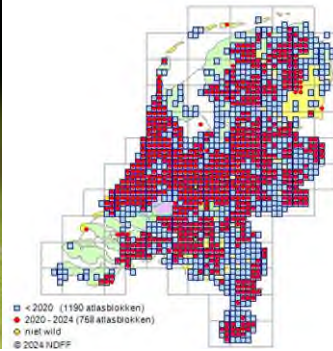
<https://www.zoogdiervereniging.nl/zoogdiersoorten/gewone-grootoorvleermuis#:~:text=Verblijfplaatsen,en%20in%20nest%2D%20en%20vleermuiskasten>.

Dietze, C., Von Helversen, O., Nill, D. (2011). *Vleermuizen* (1e editie). Triton Natuur

NDFF Verspreidingsatlas. (z.d.). <https://www.verspreidingsatlas.nl/>

3.4 Rosse vleermuis - *Nyctalus noctula*

Zeldzaamheid: Vrij Zeldzaam – NDFF Verspreidingsatlas



Rosse vleermuis, Bron: Zoogdiervereniging, 2024 Verspreiding Rosse vleermuis, Bron: NDFF Verspreidingsatlas

Ecologie

Hoe vaak komt de soort voor?

De Rosse vleermuis is vrij zeldzaam volgens de NDFF.

Waar heeft de soort zijn verblijfplaatsen?

De Rosse vleermuis staat bekend als boombewoner, maar waarnemingen van kraam- en wintergroepen in bruggen en spouwmuren zijn redelijk algemeen. Zo zijn er in 2021 ruim 240 dieren in een flat waargenomen. (*Rosse Vleermuizen: Ook in Gebouwen*, z.d.). De Rosse vleermuis maakt voornamelijk gebruik van boomholtes en heeft een voorkeur voor spechtengaten, maar ook vleermuiskasten worden graag gebruikt (Dietze et al., 2011). Stedelijke situaties, die lijken op rotsspleten, worden wel gebruikt, ook om te overwinteren. Dit zijn bijvoorbeeld spleten tussen betonplaten van hoge gebouwen en in bruggen. Bij uitzondering bevinden zich kraamverblijfplaatsen in gebouwen (*Kennisdocument Rosse Vleermuis - BIJ12*, 2024). In de zomer kunnen groepen mannetjes zich ook ophouden in dit soort spleten of gebouwen (Dietze et al., 2011).

Maakt de soort veel gebruik van spouwmuren van grondgebonden woningen?

Rosse vleermuizen maken zelden gebruik van spouwmuren als verblijfplaatsen, voornamelijk boomholtes zijn geliefd (*Kennisdocument Rosse Vleermuis - BIJ12*, 2024). Ook waarnemingen op Waarneming.nl ondersteunen dit gegeven, Bijlage 1.

Wat is de kans dat de in/uitvliegplek van de soort zich binnen de bemonsteringszone bevindt?

Als een Rosse vleermuis gebruikt maakt van een spouwmuurverblijfplaats, dan gebruiken ze deze net zoals algemenere soorten gebruik maken van stootvoegen, kantpannen en nokpannen als invliegopeningen (*Kennisdocument Rosse Vleermuis - BIJ12*, 2024). Spouwmuurverblijfplaatsen bestaan vaak wel uit grote aantallen individuen, zie bijlage 1.

Bemonstering (spouw)verblijfplaatsen

De bemonstering van de bewoonde Rosse vleermuisverblijfplaatsen is uitgevoerd bij twee verschillende spouwmuren. In figuur 9 is weergegeven om welke verblijfplaatsen het gaat en welke waarneming daar is gedaan.



Figuur 9: De 2 bemonsterde locaties van Rosse vleermuisverblijven. Van links naar rechts: RV1 en RV2.

Locatie	RV1	RV2
Inlieglocatie	Nokpan & Kantpannen, Zuidkant	Kast zuidkant, opvliegplankje gat onderzijde, Heide/bos
Waarneming	2020, ongeveer 30 individuen	Oct 2024, vleermuis ter plaatse tijdens bemonstering
Type verblijf	Verblijfplaats	Verblijf
Bron	VM werkgroep; waarneming.nl	VM werkgroep; vleermuisexpert tijdens bemonstering

Resultaat analyse:

Locatie	QPCR resultaat	Metabarcoding resultaat
RV1	Positief	Rosse vleermuis, laatvlieger
RV2	Positief	Rosse vleermuis, laatvlieger

Conclusie

Theorie:

De Rosse vleermuis gebruikt spouwmuren zelden als verblijfplaats, echter wanneer de soort de verblijfplaats wel gebruikt, is dit vaak als kraam/winterverblijf. Hierbij worden grote aantallen individuen aangetroffen. Het risico wordt daarom vastgesteld op matig.

Praktijk:

Rosse vleermuizen en hun verblijfplaatsen zijn in beide gevallen detecteerbaar met de gestelde eDNA-methode.

Conclusie

Beoordelingsmatrix

Risicoprofiel	Betrouwbaarheid eDNA-methode
Matig/middel	Hoog

Literatuur:

Rosse vleermuizen: ook in gebouwen. (z.d.). De Zoogdierverseniging

<https://www.zoogdierverseniging.nl/actueel/nieuws/rosse-vleermuizen-ook-gebouwen#:~:text=Beschrijvingen%20van%20kraamgroepen%2C%20maar%20ook,de%20grootste%20vleermuizen%20van%20Nederland.>

Kennisdocument Rosse Vleermuis - BIJ12. (2024b, oktober 17). BIJ12

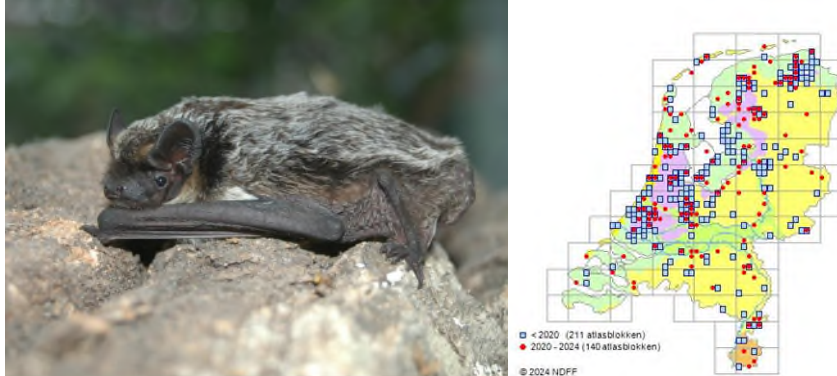
<https://www.bij12.nl/kennisdocumenten/kennisdocument-rosse-vleermuis/>

Dietze, C., Von Helversen, O., Nill, D. (2011). Vleermuizen (1e editie). Triton Natuur

NDFF Verspreidingsatlas. (z.d.). <https://www.verspreidingsatlas.nl/>

3.5 Tweekleurige vleermuis - *Vespertilio murinus*

Zeldzaamheid: Zeer Zeldzaam – NDFF Verspreidingsatlas



Tweekleurig vleermuis, Bron: Zoogdierverseniging, 2024

Verspreiding Tweekleurige vleermuis, Bron: NDFF

Ecologie

Hoe vaak komt de soort voor?

Volgens de NDFF is de tweekleurige vleermuis zeer zeldzaam in Nederland.

Waar heeft de soort zijn verblijfplaatsen?

Van oorsprong voelt de tweekleurige vleermuis zich thuis in rotsspleten en bergachtige bossen. In de stedelijke omgeving worden hoge gebouwen gebruikt als vervanging hiervan. Het lijkt erop dat kieren in hoge flatgebouwen het best voldoen aan de eisen van de soort. (*Tweekleurige Vleermuis*, z.d.-b). In de zomer is de tweekleurige vleermuis in de Nederlandse omgeving te vinden muurspleten en zolders van hoge gebouwen (*Tweekleurige Vleermuis*, z.d.). Kraam- en zomerverblijfplaatsen zijn onder andere gevonden in rolluikkasten en daken van woningen en schuren, en hoge gebouwen. In de kraamperiode zitten de mannetjes in grote kolonies soms ver weg van de kraamverblijven (Dietze et al., 2013). In het najaar vallen de dieren op rondom hoge gebouwen door opvallend vlieggedrag. Voor de winterverblijven is een voorkeur voor grotten, kelders, hoogbouw en torens (*Tweekleurige Vleermuis*, z.d.).

Maakt de soort veel gebruik van spouwmuren van grondgebonden woningen?

Tweekleurige vleermuizen maken gebruik van spouwmuren als verblijfplaats, waarbij ze gebruik maken van stootvoegen, kantpannen en nokpannen als invliegopening. Dit wordt bevestigd door de gevonden waarnemingen van Waarneming.nl.

Wat is de kans dat de in/uitvliegplek van de soort zich binnen de bemonsteringszone bevindt?

De kans is zeer aanwezig dat de tweekleurige vleermuis invliegt binnen de bemonsteringszone van de eDNA methode. Echter is hier in de literatuur geen bewijs voor gevonden.

Bemonstering (spouw)verblijfplaatsen

De bemonstering van de tweekleurige vleermuisververblijfplaatsen is uitgevoerd bij één spouwmuur. In figuur 10 is weergegeven om welke verblijfplaats het gaat en welke waarneming daar is gedaan.



Figuur 10: De bemonsterde locatie van de tweekleurige vleermuis: TV1

Locatie	TV1
Invlieglocatie	Nokpan & Kantpannen, zuidkant
Waarneming	2022, 20 dieren
Type verblijf	Kraamverblijf
Bron	VM werkgroep

Resultaat analyse:

Locatie	QPCR resultaat	Metabarcoding resultaat
TV1	Negatief	Niet van toepassing

Conclusie**Theorie:**

De tweekleurige vleermuis kan gebruik maken van spouwmuren en daken als kraam- en zomerverblijven. De winterverblijven kunnen zich ook in daken en spouwmuren bevinden, hier is een grotere kans op bij hoge gebouwen. Omdat de kolonies van de soort afhankelijk zijn van gebouwen, is het risicoprofiel hier hoog.

Praktijk:

Vanwege de zeldzaamheid is er een verblijfplaats bemonsterd, waar geen positief eDNA-resultaat uit is gekomen. Tijdens de voorinspectie zijn weinig sporen gevonden bij de kantpannen. Het dak van de woning is begin 2023 vervangen en er zijn nog doorlopende werkzaamheden in de straat. Mogelijk gebruiken de vleermuizen een andere locatie tot de rust is wedergekeerd. Het is onwaarschijnlijk dat een kraamkolonie niet zou zijn vastgesteld met eDNA, maar zonder meer data is de betrouwbaarheid van de eDNA-methode voor de tweekleurige vleermuis niet vast te stellen.

Conclusie**Beoordelingsmatrix**

Risicoprofiel	Betrouwbaarheid eDNA-methode
Hoog	Onbekend

Literatuur

Tweekleurige vleermuis. (z.d.). De Zoogdierverseniging

<https://www.zoogdierverseniging.nl/zoogdiersoorten/tweekleurige-vleermuis>

Tweekleurige vleermuis. (z.d.-b). Tweekleurige Vleermuis | Natuurpunt

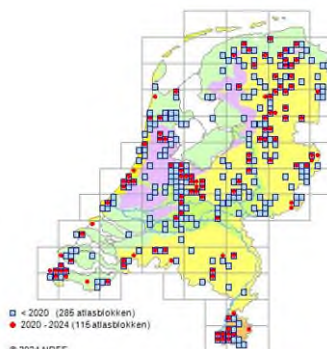
https://www.natuurpunt.be/soorten/zoogdieren/tweekleurige-vleermuis#paragraaf--layout_2_col--2547

Dietze, C., Von Helvesen, O., Nill, D. (2011). Vleermuizen (1e editie). Triton Natuur.

NDFF Verspreidingsatlas. (z.d.). <https://www.verspreidingsatlas.nl/>

3.6 Baardvleermuis - Myotis mystacinus

Zeldzaamheid: Vrij zeldzaam – NDFF Verspreidingsatlas



Baardvleermuis, Bron: Zoogdierverseniging,

Verspreiding Baardvleermuis, Bron: NDFF Verspreidingsatlas

Ecologie

Hoe vaak komt de soort voor?

De baardvleermuis is vrij zeldzaam volgens de NDFF.

Waar heeft de soort zijn verblijfplaatsen?

De baardvleermuis gebruikt variabele ruimtes als zomerverblijf: zowel boomholtes, vleermuiskasten en zolders als kleine kieren, zoals vensterluiken en gevelbetimmeringen (Dietze et al., 2011).

In de winter is er een sterke voorkeur voor ondergrondse ruimten, zoals grotten, kelders en bunkers (*Baardvleermuis*, z.d.). Het type gebouwen dat hier geschikt voor is, is onder andere mergelgroeven, vestingwerken, oude steenfabrieken en (kasteel)kelders, waar ze graag verblijven bij de koelere plaatsen bij de ingangen (*Baardvleermuis*, z.d.-b).

Maakt de soort veel gebruik van spouwmuren van grondgebonden woningen?

Individueen kunnen dus op allerlei plekken worden gevonden. Bij gebouwen gebruiken een variatie aan verblijfplaatsen, en zijn ze ook gevonden tussen dakpannen, achter bepleistering en achter vensterluiken. De voorkeur ligt in gebouwen bij spleten en kleine holtes (*Baardvleermuis*, z.d.-b). Spouwmuren vallen hier niet specifiek onder, hoewel de soort een brede selectie aan kleine verblijfplaatsen heeft.

Wat is de kans dat de in/uitvliegplek van de soort zich binnen de bemonsteringszone bevindt?

De kans is laag, bij gebouwen lijken voornamelijk open ruimtes aantrekkelijk voor de baardvleermuizen. Daarbij zijn er ook enkel waarnemingen, waarbij vleermuizen gebruik maakte van grote openingen als invliegopening.

Bemonstering (spouw)verblijfplaatsen

De bemonstering van de baardvleermuisververblijfplaatsen is uitgevoerd bij één spouwmuur. In figuur 11 is weergegeven om welke verblijfplaats het gaat en welke waarneming daar is gedaan.



Figuur 11: De bemonsterde locatie van de baardvleermuis: BV1. Schuur Westerbork, Tussen Steunbalk deur en gevel: 10-2024, Vleermuis ter plaatse (rechts)

Locatie	BV1
Invlieglocatie	Schuur, gevel zuid, tussen steunbalk deur en gevel
Waarneming	2024: 5 vleermuizen ter plaatse tijdens bemonstering
Type verblijf	Winterverblijf
Bron	VM protocol

Resultaat analyse:

Locatie	QPCR resultaat	Metabarcoding resultaat
BV1	Positief	Baardvleermuis, Gewone dwergvleermuis

Conclusie**Theorie:**

Hoewel de individuen van de baardvleermuis op veel verschillende plekken voorkomen en ook graag in kieren rondom gebouwen kruipt, heeft hij geen voorkeur voor spouwmuren, en er zijn geen voorbeelden bekend van kolonies in spouwmuren. Het is niet ondenkbaar dat een enkel dier eens in een spouwmuur zit, maar dit heeft niet de voorkeur. Het risico voor de soort is daarom op laag ingeschat.

Praktijk:

De soort is gedetecteerd met eDNA en het verblijf is met succes waargenomen. De vleermuizen waren aanwezig tijdens bemonstering, maar zoals in alle gevallen zijn de dieren niet verstoord en de bemonstering is terughoudend van de gevel genomen. Het positieve resultaat van de twee soorten wijst op een hoge betrouwbaarheid.

Conclusie**Beoordelingsmatrix**

Risicoprofiel	Betrouwbaarheid eDNA-methode
Laag	Hoog

Literatuur:

Baardvleermuis. (z.d.). De Zoogdierverseniging. <https://www.zoogdierverseniging.nl/zoogdiersoorten/baardvleermuis>

Baardvleermuis. (z.d.-b). Ecopedia. <https://www.ecopedia.be/dieren/baardvleermuis>

Dietze, C., Von Helversen, O., Nill, D. (2011). *Vleermuizen* (1e editie). Triton Natuur.

NDFF Verspreidingsatlas. (z.d.). <https://www.verspreidingsatlas.nl/>

4 Overzicht resultaten

Hieronder staan de resultaten in overzichtstabellen nogmaals weergegeven, in Tabel 2 een overzicht van de DNA analyse, en in Tabel 3 een samenvatting van de theorie en DNA beoordeling. Van de in totaal 14 verblijfplaatsen gaven 13 een positief resultaat op de aanwezigheid van vleermuizen DNA. De tweekleurige vleermuis is niet gedetecteerd. Met metabarcoding is de soort bepaald en daar is in 12 van de 13 bemonsteringen de verwachte soort aangetroffen. De gewone grootoorvleermuis is in één van de vier gevallen niet waargenomen, maar hier zijn wel twee andere soorten gedetecteerd. De laatvlieger, meervleermuis, gewone grootoorvleermuis, rosse vleermuis en baardvleermuis hebben volgens de resultaten een betrouwbare detecteerbaarheid van hun verblijven met de eDNA methode.

Tabel 2: een overzicht van de resultaten van de eDNA analyse

Locatie	QPCR resultaat	Metabarcoding resultaat
LV 1	Positief	Laatvlieger, gewone dwergvleermuis
LV 2	Positief	Laatvlieger
LV 3	Positief	Laatvlieger, ruige dwergvleermuis
MV1	Positief	Meervleermuis
MV2	Positief	Meervleermuis, ruige dwergvleermuis
MV3	Positief	Meervleermuis
GG1	Positief	Laatvlieger, gewone dwergvleermuis
GG2	Positief	Gewone grootoorvleermuis
GG3	Positief	Gewone grootoorvleermuis, gewone dwergvleermuis
GG4	Positief	Gewone grootoorvleermuis, gewone dwergvleermuis
RV1	Positief	Rosse vleermuis, laatvlieger
RV2	Positief	Rosse vleermuis, laatvlieger
TV1	Negatief	Niet van toepassing
BV1	Positief	Baardvleermuis, gewone dwergvleermuis

Tabel 3: een samenvatting van de analyse uit de theorie en de eDNA analyse. Het risico geeft aan hoeveel de soort afhankelijk is van spouwmuren. De betrouwbaarheid van de eDNA methode is gebaseerd op het eDNA-resultaat en of de invliegopeningen uit de literatuur overeenkomen met de bemonsterde muurdelen.

Soort	Risicoprofiel voor de soort	Betrouwbaarheid eDNA-methode	Reden van lagere betrouwbaarheid
Laatvlieger	Hoog	Hoog	
Meervleermuis	Hoog	Hoog	
Gewone grootoorvleermuis	Laag	Middel/Hoog	1 van 4 verblijven niet de soort gevonden; laatste waarneming 15 maanden geleden; wel eDNA van 2 andere soorten
Rosse vleermuis	Matig/middel	Hoog	
Tweekleurige vleermuis	Hoog	Onbekend	1 verblijf totaal, geen eDNA detectie, laatste waarneming 2 jaar geleden
Baardvleermuis	Laag	Hoog	

5 Conclusies

De eerste onderzoeksvraag had als doel te bepalen of de vastgestelde eDNA-methode de bijzondere vleermuissoorten kan detecteren. Vijf bijzondere soorten, de laatvlieger, meervleermuis, gewone grootoorvleermuis, rosse vleermuis en baardvleermuis, zijn gedetecteerd met de eDNA-roller methode, de tweekleurige vleermuis is niet gedetecteerd.

Met de tweede onderzoeksvraag onderzochten we of de bekende verblijfplaatsen van de bijzondere, gebouwbewonende vleermuissoorten in spouwmuren ook met de vastgestelde eDNA-methode kon worden aangetoond. Hierin combineerden we de eDNA-resultaten en het invlieggedrag uit het literatuuronderzoek. Van de 14 bemonsterde verblijven is op 12 locaties de verwachte soort gedetecteerd; op 1 locatie is geen vleermuis-DNA gevonden en op 1 locatie zijn andere soorten gedetecteerd.

Twee van de drie soorten met een hoog risico vanwege hun voorkeur voor spouwmuren (laatvlieger en meervleermuis) hebben een hoge betrouwbaarheid van de detectie van hun verblijfplaatsen met eDNA volgens de rollermethode. De tweekleurige vleermuis is niet gedetecteerd in de bemonsterde verblijfplaats, de laatste zekere waarneming is 2 jaar geleden dus de status is onbekend. Bij 9 van de 13 op soort geanalyseerde verblijfplaatsen is een extra vleermuissoort aangetoond ten opzichte van het protocolonderzoek.

De soorten uit dit onderzoek maken in verschillende mate gebruik van spouwmuren en vliegen daarbij graag in via de kantpannen, en kunnen daarnaast stootvoegen gebruiken. Met de voorgeschreven bemonsteringsmethode uit dit onderzoek (zie methode onder 2.2.2) kan daarmee een verblijf in de spouwmuur worden aangetoond, ook als de soort via de dakrand of kantpan invliegt en op die manier naar de spouwmuur verplaatst.

6 Discussie

6.1 Bespreking negatieve resultaten

De gewone grootoorvleermuis is op één locatie niet gedetecteerd. De DNA analyse met blanco's en de detecteerbaarheid van de andere vleermuizen laten zien dat het geen probleem was met de bemonstering of analyse. Na aanvullende navraag blijkt dat er zeven gewone grootoorvleermuizen zijn waargenomen eind juni en begin juli 2023 door een ervaren ecooloog met minstens tien jaar ervaring met vleermuizen. De dieren zijn ingevlogen rondom de schoorsteen en bij de kantpannen van de kopgevel. Hoewel gewone grootoorvleermuizen bijzonder lastig te identificeren zijn op basis van geluid alleen, is er geen concrete aanleiding om te denken dat het om een misidentificatie van de soort gaat. Uit het eDNA validatie houdbaarheidsonderzoek blijkt daarnaast dat eDNA minstens 13 maanden detecteerbaar is. De bemonstering vond plaats in week 41 van 2024, tussen de laatste zekere waarneming en de bemonstering zaten 15 maanden. Sindsdien werd de verblijfplaats gebruikt door laatvliegers en gewone dwergvleermuis, zoals blijkt uit de metabarcoding. Gewone grootoorvleermuizen gebruiken een variatie aan verblijven en hebben niet dezelfde sterke locatietrouw als andere soorten. Het is mogelijk dat de grootoren in 2024 een ander verblijf hebben gebruikt, en dat de combinatie van 15 maanden geen gebruik, maar wel aanwezigheid van twee andere soorten ertoe heeft geleid dat de soort niet meer te detecteren was.

De tweekleurige vleermuis is op de enige bemonsteringslocatie niet gedetecteerd, hierdoor is niet aangetoond dat de verblijven van deze soort detecteerbaar zijn. De laatste zekere waarneming op deze locatie is meer dan twee jaar geleden (juli 2022). Ondertussen is het dak van deze locatie vervangen (het nieuwe dak is vleermuis-inclusief opgeleverd aangezien het verblijf van deze soort bekend was) en het pand tegenover deze kopgevel heeft in 2024 werkzaamheden ondergaan. Tijdens de dakwerkzaamheden zijn de eDNA sporen hoogstwaarschijnlijk verwijderd. Het is mogelijk dat de vleermuizen door de verandering en verstoringen sindsdien gebruik hebben gemaakt van een andere verblijfplaats, totdat ze gewend zijn en de verstoring voorbij is.

6.2 Invlieggedrag en gebruik spouwmuur

Het is belangrijk om het invlieggedrag van de vleermuizen te overwegen, met name of de soort gebruik maakt van de bemonsteringszone. In de meeste gevallen gebruiken de vleermuizen graag de overstekende kantpannen en stootvoegen. Soms worden ook dakpannen midden op het dak gebruikt. Dit maakt het minder waarschijnlijk dat de soort zich in de spouwmuur ophoudt, en is dus relevanter bij dakwerkzaamheden. Dit onderzoek heeft zich specifiek gericht op spouwmuren en zolang de methode wordt gebruikt zoals in dit onderzoek, waarbij zorgvuldig de invliegopeningen worden geïnspecteerd en bemonsterd, kan betrouwbaar worden vastgesteld of de spouwmuur een verblijfplaats is voor zeldzame soorten.

De onderzochte soorten uit dit onderzoek kunnen gebruik maken van spouwmuren. Daarbij is het belangrijk of een soort in een bepaalde fase, zoals de kraamfase, afhankelijk is van spouwmuren. Het verlies van een geschikte spouwmuur of kopgevel kan dan grote gevolgen hebben voor de soort. De kans op aanwezigheid verschilt onder andere door hun flexibiliteit in verblijfskeuze en daarmee is een risicoprofiel vastgesteld.

6.3 Risico's voor de soorten

Een hoog risico voor de soort vraagt om een hoge betrouwbaarheid voor het aantonen van een verblijf van de soort. De laatvlieger en meervleermuis hebben een hoog risico en de resultaten laten een betrouwbaar resultaat zien met eDNA. De tweekleurige vleermuis heeft ook een hoog risico en daarvan is de betrouwbaarheid nog niet aangetoond. Mogelijk kan met aanvullende bemonstering meer informatie worden verkregen. De gewone grootoorvleermuis en baardvleermuis hebben een laag risico en een middel/hoge en hoge betrouwbaarheid. Tot slot heeft de rosse vleermuis een middel/matig risico en hoge betrouwbaarheid.

6.4 Gedeelde verblijven

Op 9 van de 13 geanalyseerde verblijfplaatsen zijn extra soorten gedetecteerd, waar twee soorten dus een verblijfplaats gebruikt hebben. De verblijfplaatsen kunnen tegelijk zijn gebruikt of in andere periodes, aangezien eDNA minstens een jaar te detecteren is (eDNA validatieonderzoek houdbaarheid). De soorten, die als bonussoort gedetecteerd worden, zijn gewone dwergvleermuis (5 keer), laatvlieger (3 keer) en ruige dwergvleermuis (2 keer). Als de soorten tegelijk gebruik hebben gemaakt van een verblijf, is dit mogelijk omdat hun voorkeur overeenkomt en ze geen problemen hebben samen te wonen. Van sommige soorten is bekend dat ze vaker samen gezien worden en dit is mogelijk een bewuste keus voor veiligheid. Het delen van verblijven is een indicatie dat de aanwezigheid van de ene soort een geschikt verblijf aantoont, en daarmee ook andere soorten kan huizen.

6.5 Beperkingen van het onderzoek

Vanwege de zeldzaamheid van deze soorten en de benodigde expertise om ze waar te nemen was het niet makkelijk voldoende bemonsteringslocaties te verzamelen. Bij de tweekleurige vleermuis en de baardvleermuis moeten we ons daarom baseren op een enkele bemonsteringslocatie. Hoewel dit niet ideaal is, is een positief resultaat in elk geval voldoende om aan te tonen dat de soort en de verblijfplaats aangetoond kunnen worden met eDNA.

In het algemeen weten vleermuizen ons regelmatig te verrassen met hun keuzes en dit geldt nadrukkelijk voor bijzondere soorten. Daarom is het verstandig om gebruik van een spouwmuur door een vleermuissoort niet zomaar af te wijzen. Bij bijzondere soorten is de kennis niet volledig, en onze inzichten over hun verblijfplaatsen zijn gebaseerd op huidige kennis en (internationale) waarnemingen. Daaruit blijkt onder andere dat vleermuizen zich in het buitenland anders gedragen dan in Nederland en verblijfplaatsen verschillen afhankelijk van het habitat. Temperatuur is zeer belangrijk voor de keuze in verblijfplaatsen en dit kan in de toekomst leiden tot ander gedrag rondom verblijfplaatsen. Het gebruik van eDNA kan een bijdrage leveren aan een bredere kennisbasis van bijzondere vleermuissoorten.

Bijlage 1 Resultaten literatuuronderzoek losse waarnemingen

Soortnaam	Bron	Link
Laatvlieger	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=j86CetrIxpU
Laatvlieger	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=lodgFuKaU-8
Laatvlieger	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=06BGTzcUSQc
Laatvlieger	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=K7ApDvq8g3s
Laatvlieger	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=xLgpPE4jgPU
Laatvlieger	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=yDS1fJiT0tc
Laatvlieger	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=i4ske73K_OY
Laatvlieger	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=hUh6M-CcVPg
Laatvlieger	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=2TLrG7kX5UU
Laatvlieger	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=5JKaeDJcZyc
Meervleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=qOPEerhAcU
Meervleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=eLA50WoQpGc
Meervleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=1Mcq_Hb79Og
Meervleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=oG3oAcBIOOA
Meervleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=UZoD5TNQxqo
Meervleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=1G_9ZRCa1u4
Meervleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=Ke7B5khlZ1o
Gewone Grootoorvleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=y9jtp1XGd0A
Gewone Grootoorvleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=woeBFM5rZyU&t=3s
Gewone Grootoorvleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=R5tgc4mbpvM
Gewone Grootoorvleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=LddPIwyQb-8
Gewone Grootoorvleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=bBMJVEmiv58
Gewone Grootoorvleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=25QKQYrUaSc
Gewone Grootoorvleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=k8ebosKW7w0
Gewone Grootoorvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/330989395/
Gewone Grootoorvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/295975981/
Gewone Grootoorvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/328251546/
Gewone Grootoorvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/315066552/
Gewone Grootoorvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/296833746/
Gewone Grootoorvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/312446147/
Gewone Grootoorvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/327192526/
Gewone Grootoorvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/312574589/
Rosse vleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=T4enPkGzKMs
Rosse vleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=8zR6mRy3zdY
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/233587893/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/239016668/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/198697584/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/198697870/

Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/243751656/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/175108330/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/198698548/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/202049026/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/189664119/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/243751656/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/321362457/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/315866263/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/301662610/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/324211172/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/328313739/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/315483635/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/317901109/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/323795510/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/305663667/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/316810198/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/332618133/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/305663655/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/305663675/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/305663657/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/304473073/
Rosse vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/299904959/
Tweekleurige vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/318614812/
Tweekleurige vleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/318614298/
Baardvleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=y9DmlG9n5QI
Baardvleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=5396PZM_Gg4
Baardvleermuis	Youtube	https://www.youtube.com/watch?v=k8yKcgGcw5Y
Baardvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/297381836/
Baardvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/297436828/
Baardvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/295975987/
Baardvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/297436843/
Baardvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/297020501/
Baardvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/327079823/
Baardvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/327752857/
Baardvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/234638057/
Baardvleermuis	Waarneming.nl	https://waarneming.nl/observation/234638905/

Bijlage 2 Labinformatie eDNA analyse door SGS search

Het team

Het team van experts heeft een sterke technische expertise, gecombineerd met relevante commerciële ervaring en een sterke kennis van de industrie, en een bewezen staat van dienst op het gebied van wetenschappelijke en technische publicaties.

Daarnaast heeft het team:

- toegang tot SGS-laboratoria, die zijn uitgerust met meerdere sequencingplatforms: Illumina (MiSeq- en NextSeq-apparatuur), Thermo Fisher Ion Torrent en Oxford Nanopore (MinION en GridION). De laboratoria zijn ook uitgerust met qPCR, druppel digitale PCR en draagbare qPCR-technologieën;
- een diepgaand begrip op DNA/RNA gebaseerde moleculaire technieken en hoe deze in verschillende sectoren kunnen worden gebruikt. Heeft assays ontwikkeld voor ecologische veldtoepassingsgebieden (bosbouw, agro-ecosystemen en hoogwaardige beschermingsgebieden), maar ook voor de gezondheids-, olie- en gassector, horeca;
- ervaring met extracties van DNA-monsters uit verschillende soorten omgevingsmonsters en uitdagende DNA-monsters met hoge remmers;
- ervaring met het ontwerpen en opzetten van laboratoria, de implementatie van moleculaire assays en methodologieën in andere laboratoria begeleid en SOP's geschreven;
- ervaring in het plannen en uitvoeren van veldbemonsteringsprogramma's voor eDNA-toepassingen;
- een verzameling van veld- of biologische monsters (oppervlakken, bodems, sedimenten, vegetatie, bladafval, water), experimenteel ontwerp en biodiversiteitsmonitoringonderzoeken in terrestrische habitats;
- ervaring in computationele data-analyse en een sterke statistische achtergrond;
- diepgaand begrip van het runnen van commerciële laboratoria, gedefinieerde procedures van monsterregistratie tot rapportage en vastgestelde kwaliteitsnormen;
- ervaring met implementatie van ISO-certificering;
- ervaring met LIMS-systemen.

Metabarcoding eDNA analysis

De metabarcoding-analyse voor de detectie van vleermuizen werd uitgevoerd op lucht- en oppervlaktemonsters die waren verzameld uit de infrastructuren, waarvan werd vermoed dat ze vleermuizen herbergden. Bij aankomst in het laboratorium werden luchtfilters en oppervlaktemonsters verwerkt om het aanwezige biologische materiaal op te halen. Het geconcentreerde biologische materiaal, dat uit de monsters werd gehaald, werd vervolgens verwerkt voor DNA-extractie via een geautomatiseerde procedure om de reproduceerbaarheid tussen de monsters te garanderen.

Na DNA-extractie werden monsters behandeld voor verwijdering van remmers, gevolgd door de voorbereiding van sequencingbibliotheken door middel van tweestaps PCR als volgt: geoptimaliseerde amplificatie van het DNA van belang met behulp van de volgende moleculairemarkers: moleculaire marker van gewervelde dieren gericht op dit taxon via het 16S rRNA-gen; moleculaire marker van zoogdieren gericht op dit taxon via het COI-gen. Meerdere amplicon PCR-reacties werden gebruikt om de identificatie te vergroten. Integriteitscontrole, kwantificering, schatting en zuivering van de PCR-producten. Adapter PCR voor het coderen van monsters. Integriteitscontrole, zuivering en kwantificering van de bibliotheken. Sequencing van de volgende generatie werd uitgevoerd met een NextSeq-systeem van Illumina met een verwachte minimale output van 100k reads per sample.

Bioinformatic pipeline and data analysis

Sequentiegegevens werden geanalyseerd met behulp van een pijplijn die gebruik maakt van de nieuwste ontwikkelingen op het gebied van eDNA-gegevensverwerking. Ruwe reads werden gedemultiplext, op kwaliteit gecontroleerd en bijgesneden. Een Amplicon Sequence Variant (ASV)-software werd gebruikt om de originele unieke sequenties in elk monster te identificeren en een Naïve Bayes-classificator, getraind op een openbaar beschikbare en gecensureerde sequentiedatabase van ribosomale RNA- en COI-sequenties, werd gebruikt om taxonomieën toe te wijzen aan de unieke geïdentificeerde sequenties. De resulterende tabellen van taxa, die in elk monster werden gedetecteerd, werden vervolgens gecorrigeerd voor tag-jumping en gefilterd op vleermuissoorten.

Colofon

EDNA VALIDATIE BIJZONDERE SOORTEN
DETECTEERBAARHEID BIJZONDERE GEBOUWBEWONENDE VLEERMUISOORTEN

AUTEUR

Laura Zeeman

PROJECTNUMMER

30232970

ONZE REFERENTIE

RSNJV4WH7UYN-1011023107-171:1

DATUM

21 november 2024

STATUS

Definitief

GECONTROLEERD DOOR

Max Klasberg
Senior Consultant

VRIJGEGEVEN DOOR

Wout van Lankveld
Senior Projectleider

Over Arcadis

Arcadis is de leidende wereldwijd opererende datagedreven duurzame ontwerp-, advies- en consultancyorganisatie op het gebied van de natuurlijke en gebouwde omgeving. Wij zijn met 36.000 architecten, data-analisten, ingenieurs, projectplanners, water- en duurzaamheidexperts. Onze gedeelde passie is: Improving quality of life. Toewijding aan de strategie 'accelerating a planet positive future' onderschrijft onze wereldwijde samenwerking met klanten en hoe we hen helpen met duurzame projectkeuzes. We combineren digitale met mensgerichte innovaties en omarmen toekomstgerichte vaardigheden op het gebied van milieu, energie, water, gebouwen, transport en infrastructuur. We werken vanuit meer dan dertig landen en rapporteerden in 2023 een bruto omzet van 5 miljard euro. www.arcadis.com

www.arcadis.com

Arcadis Nederland B.V.

Postbus 264
6800 AG Arnhem
Nederland

T [+31 \(0\)88 4261 261](tel:+3120884261261)