



Analyserapport

Postbus 11107
9700 CC Groningen
Tel: 0503632272
E-mail: info@sylphium.com
www: sylphium.com

Opdrachtgever	Ecologisch advies Bureau X
Contact persoon	J. de Vries
Aantal monsters	9
Aan te tonen organisme(s)	grote modderkruiper
Datum rapport	11-7-2022
Uitgevoerd door	Jan Warmink

Contents

1. Materialen en methoden	3
1.1. Bemonstering en filtratie	3
1.2. eDNA isolatie.....	3
1.3. eDNA qPCR analyse grote modderkruiper.....	3
1.4. Kwaliteitswaarborging	4
2. Resultaten	5
3. Conclusie	6
4. Referenties.....	7

1. Materialen en methoden

1.1. Bemonstering en filtratie

Bemonstering en filtratie werden ter plaatse uitgevoerd door Ecologisch advies Bureau X volgens de handleiding en het validatierapport van de SYL009 - eDNA sampling set (1). De volgende monsters zijn ontvangen door Sylphium molecular ecology van Ecologisch advies Bureau X.

Monstercode	Monstertype
E32678	eDNA Dual Filter
E32679	eDNA Dual Filter
E32680	eDNA Dual Filter
E32681	eDNA Dual Filter
E32682	eDNA Dual Filter
E32683	eDNA Dual Filter
E32684	eDNA Dual Filter
E32685	eDNA Dual Filter
E32686	eDNA Dual Filter

Tabel 1: Aangeleverde monsters.

1.2. eDNA isolatie

eDNA-isolatie en kwaliteitscontrole werden uitgevoerd volgens de handleiding en het validatierapport van de SYL002 - Environmental DNA isolation kit (2).

1.3. eDNA qPCR analyse grote modderkruiper

De analyse en kwaliteitscontrole op grote modderkruiper werd uitgevoerd volgens het protocol en validatierapport van SYL159 - *Misgurnus fossilis* detection kit (3).

1.4. Kwaliteitswaarborging

De analyses van de monsters zijn in achtvoud uitgevoerd. Een monster wordt positief bevonden als minimaal één van deze analyses een positief signaal geeft. Als controles werden gebruikt:

- Rendement en inhibitiecontrole (RIC): Aan de monsters is xenobiotisch-DNA toegevoegd als controle. Deze controle sluit vals negatieve PCR resultaten uit, die veroorzaakt worden door storende factoren in het DNA-isolaat. Tevens bepaald deze controle de isolatie-efficiëntie van de uitgevoerde procedure en sluit hiermee vals negatieve resultaten uit. Bij het aantreffen van storende factoren wordt het experiment herhaald bij een monsterverdunning van 2x, 4x en 8x. Op basis van deze resultaten wordt besloten met welke verdunning de grote modderkruiper analyse wordt uitgevoerd.
- Procedure blanco: Alleen conserveringsmiddel dat alle isolatie en analyse stappen doorloopt. Deze controle toont eventuele contaminatie met DNA tijdens de handelingen aan.
- PCR positieve controle: grote modderkruiper DNA toegevoegd aan PCR mix. Deze controle sluit vals negatieve PCR resultaten uit, door fouten in het PCR proces.
- PCR negatieve controle: Geen monster of DNA toegevoegd. Dit is een extra controle op vals positieve resultaten door contaminatie.

2. Resultaten

De aangeleverde monsters E32678, E32679, E32681, E32682, E32685 en E32686 gaven in minstens 1 van de 8 replica's een positief signaal voor de aanwezigheid van grote modderkruiper DNA. De overige monsters gaven in geen van de replica's een positief signaal voor de aanwezigheid van grote modderkruiper DNA. De positieve controles gaven in alle gevallen een positief resultaat. De negatieve controles gaven in alle gevallen een negatief resultaat.

Monstercode	Resultaat grote modderkruiper	Procedure blanco	Conservering controle	Inhibitie controle	PCR negatieve controle	PCR positieve controle
E32678	8/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E32679	6/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E32680	0/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E32681	7/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E32682	4/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E32683	0/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E32684	0/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E32685	6/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E32686	8/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E32678	0/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok

Tabel 2: PCR resultaten analyse monsters.

3. Conclusie

De aangeleverde monsters E32678, E32679, E32681, E32682, E32685 en E32686 zijn positief bevonden voor de aanwezigheid van grote modderkruiper DNA. De overige monsters zijn negatief bevonden voor de aanwezigheid van grote modderkruiper DNA. Alle positieve controles gaven een positief resultaat en alle negatieve controles gaven een negatief resultaat. Deze controles geven aan dat er geen storende factoren of DNA contaminaties van de doelsoort aanwezig waren. Hiermee kunnen voor de analyseprocedures vals negatieve en vals positieve resultaten worden uitgesloten.

4. Referenties

- 1 <https://sylphium.com/webshop/product/edna-sampling-set-with-edna-dual-filter-capsule-and-valves/>
- 2 <https://sylphium.com/webshop/product/syl002-environmental-dna-isolation-kit/>
- 3 <https://sylphium.com/webshop/product/syl159-misgurnus-fossilis-edna-qpcr-detection-kit/>

© Sylphium Molecular Ecology

Sylphium Molecular Ecology (Handelsnaam van Eelco Wallaart bv) is niet aansprakelijk voor gevolgschade, alsmede schade welke voortvloeit uit de resultaten van deze rapportage.