



Nader onderzoek grote modderkruiper

Lierderholthuisweg te Lierderholthuis

Aveco de Bondt

bezoekadres Podium 9
postbus 2674
postcode 3800 GE Amersfoort
telefoon (0)88 18 66 010
telefax (0)343 52 31 96
e-mail amersfoort@avecodebondt.nl
internet www.avecodebondt.nl

projectnaam Nader onderzoek grote modderkruiper Lierderholthuisweg te Lierderholthuis
projectnummer 183653
projectleider D. Boonstra, MSc.
referentie DBO/183653/02

opdrachtgever Gemeente Raalte
Team Ontwikkeling & Projecten
Postadres Zwolsestraat 16
8101 AC Raalte
contactpersoon Dhr. H. Scholtheis

status Concept
versie 01

aantal pagina's 13
datum 1 mei 2019

auteur D. Boonstra, MSc.

paraaf 
gecontroleerd ing. S. Verhaegh



INHOUDSOPGAVE

1	INLEIDING	3
1.1	Aanleiding	3
1.2	Doel	4
1.3	Leeswijzer	4
2	PLANGEBIED	FOUT! BLADWIJZER NIET GEDEFINIEERD.
2.1	Huidige situatie	5
2.2	Beoogde ontwikkeling	5
3	ONDERZOEKSMETHODE	7
3.1	Vleermuizen	Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.
3.2	Overige soorten	8
4	RESULTATEN	9
4.1	Vleermuizen	Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.
5	EFFECTENBEOORDELING	10
5.1	Effecten	10
5.2	Toetsing Wet natuurbescherming	Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.
6	CONCLUSIES	11
	BRONNEN	12

BIJLAGE 1: eDNA onderzoek naar grote modderkruiper.

1 INLEIDING

1.1 Aanleiding

De Gemeente Raalte is voornemens het akkerperceel aan de Lierderholthuisweg te Lierderholthuis (Gemeente Raalte, Provincie Overijssel) te verkavelen en geschikt te maken voor de bouw van enkele woonhuizen. Deze ingreep is middels een quickscan flora en fauna (Boonstra, 2019) getoetst waarbij gekeken is of deze mogelijk negatieve effect heeft op beschermde soorten en gebieden in het kader van de Wet natuurbescherming (Wnb) en het Natuurnetwerk Nederland. In onderstaande tabel zijn de resultaten van de quickscan samengevat.

Onderdeel van de werkzaamheden is het aanleggen van een extra aanrijroute. Uit de quickscan is gebleken dat met deze ingreep effecten op de jaarrond beschermde soort grote modderkruiper niet op voorhand zijn uit te sluiten. Doormiddel van een nader onderzoek naar grote modderkruiper kan vastgesteld worden of de soort aanwezig is en of deze aangetast wordt door de werkzaamheden. Pas als het exacte gebruik van het plangebied door deze soort bekend is, kan worden bepaald of sprake is van overtreding van de Wet natuurbescherming.

Deze rapportage beschrijft de methode en de resultaten van het nader onderzoek naar de beschermde soort grote modderkruiper en verwoordt of met de werkzaamheden sprake is van overtreding van de Wet natuurbescherming.

Tabel 1. Samenvatting quickscan flora en fauna Lierderholthuisweg.

Soort(groep)	Waargenomen / te verwachten soorten	Functie	Verstoring	Verbodsbepaling Wnb	Maatregelen/ vervolgstappen
Vaatplanten	geen	-	-	-	-
Vleermuizen	diverse soorten	foerageergebied	mogelijk	Artikel 3.5	uitstraling verlichting naar omgeving in tijdelijke en definitieve situatie voorkomen
	diverse soorten	vliegroute	mogelijk	Artikel 3.5	
Grondgebonden zoogdieren	geen	-	-	-	-



Broedvogels	algemene broedvogels: vink, Kievit, e.d.	nestlocatie	mogelijk	Artikel 3.1	werkzaamheden (starten) buiten broedseizoen (15 maart tot 1 augustus); of voorafgaand aan werkzaamheden een broedvrijcontrole uit laten voeren
Amfibieën	geen	-	-	-	-
Reptielen	geen	-	-	-	-
Vissen	grote modderkruiper	leefgebied	mogelijk	Artikel 3.10	nader onderzoek watergang*
Vlinders en libellen	geen	-	-	-	-
Overige soorten	geen	-	-	-	-

1.2 Doel

Door middel van het nader onderzoek worden de volgende vragen beantwoord:

- Zijn er vaste rust- en verblijfplaatsen van grote modderkruiper in het plangebied aanwezig?
- Hebben de voorgenomen werkzaamheden effect op bovengenoemde vaste rust- en verblijfplaatsen?
- Zijn deze effecten in strijd met de verbodsbepalingen uit de Wet natuurbescherming?
- Is een ontheffing Wet natuurbescherming noodzakelijk?

1.3 Leeswijzer

Hoofdstuk 2 geeft een beschrijving van de huidige situatie van het plangebied en de geplande ingrepen. In hoofdstuk 3 wordt de onderzoeksmethode beschreven. In hoofdstuk 4 worden de resultaten van het onderzoek gepresenteerd. In hoofdstuk 5 zijn de mogelijke effecten van de ingreep gerelateerd aan de aanwezige soorten en getoetst aan de Wet natuurbescherming. In hoofdstuk 6 volgt de conclusie. Ten slotte is een korte literatuurlijst opgenomen.

2 HET PROJECT

2.1 Huidige situatie

Het plangebied ligt in een akkerlandschap aan de noordkant van Lierderholthuis (Gemeente Raalte, provincie Overijssel). Het plangebied wordt aan de oostzijde begrensd door de Lierderholthuisweg en aan de noord- en westzijde door agrarische percelen. Ten zuiden en zuidwesten van het perceel zijn de Molenerven en de Lierderbroek gelegen waaraan enkele woonhuizen grenzen en nieuwbouw plaatsvindt. Onderstaande afbeelding geeft de globale ligging van het plangebied weer.

Het plangebied bestaat uit een akkerperceel dat in 2018 werd gebruikt als maïsland. Het terrein is momenteel niet in gebruik. Het perceel bestaat uit een grotendeels kale grond met resten van maïsplanten en opkomend gras. Aan de oostrand van het perceel is een bomenrij gelegen. Ten zuiden staat een rij aan struikachtige planten en opslag.

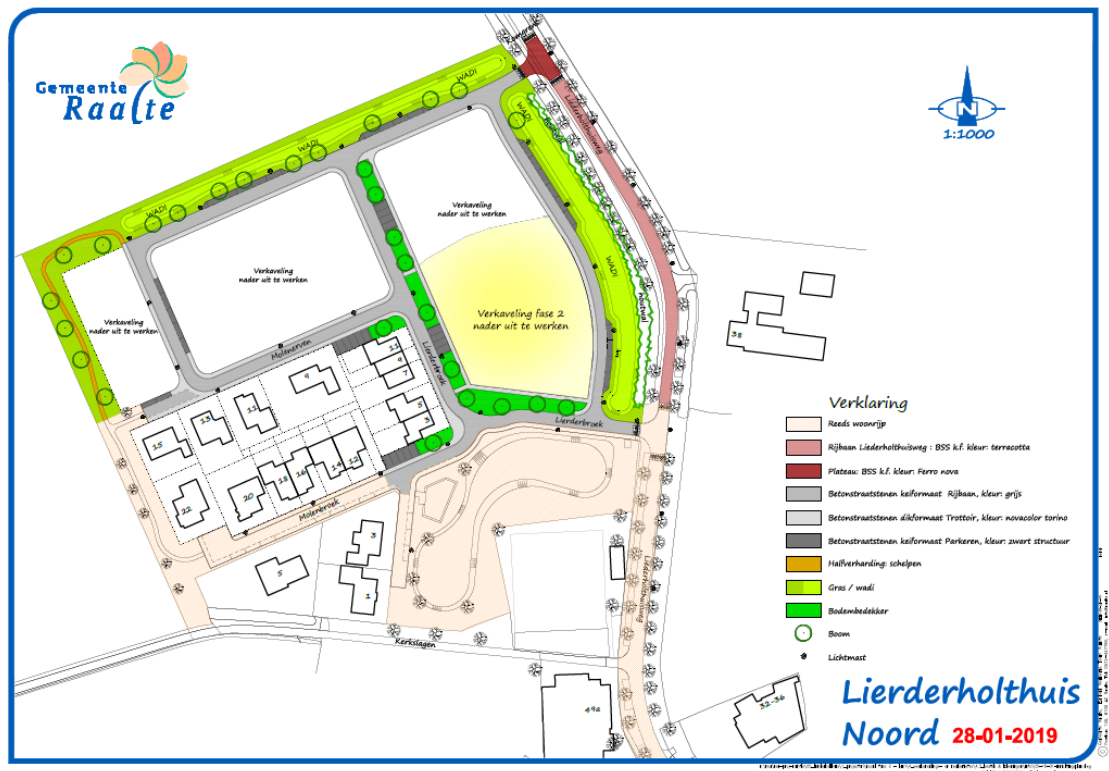


Afbeelding 1: Plangebied aan de Liederholthuisweg (kaart: Aveco de Bondt, 2019).

2.2 Beoogde ontwikkeling

Het beoogde plan betreft de verkaveling van het akkerperceel en de bouw van enkele woonhuizen. Hiervoor wordt het terrein bouwrijp gemaakt door de aanleg van een bouwweg en kabels en leidingen, mogelijk zal een deel van het terrein opgehoogd worden met grond. Aan de noordoostzijde wordt een ontsluitingsweg gecreëerd. Hiervoor worden enkele bomen gekapt en

wordt een duiker geplaatst. Concrete indeling van het perceel is nog niet bekend. Onderstaande afbeelding geeft een indruk van indeling het plangebied.



Afbeelding 2. Inrichtingsplan Lierderholthuis Noord (Gemeente Raalte, 2019).



3 ONDERZOEKSMETHODE

Dit hoofdstuk beschrijft de onderzoeksmethode van het uitgevoerde nader onderzoek. Beschreven wordt voor welke soorten nader onderzoek is uitgevoerd, welke onderzoeksprotocollen gehanteerd zijn en welke dagen en, indien relevant, onder welke weersomstandigheden het onderzoek is uitgevoerd.

3.1 Grote modderkruiper

Het onderzoek naar grote modderkruiper is uitgevoerd volgens het soortinventarisatieprotocol van het Netwerk Groene Bureaus (Netwerk Groene Bureaus, 2017). Hierbij worden twee methodes omschreven om de aanwezigheid van grote modderkruiper aan te tonen: elektrovisserij en eDNA.

De aan te tasten watergang heeft een lengte van circa 10 meter. Het betreft een watergang met een fluctuerende waterstand en begroeiing. Omdat vooraf aan het veldbezoek niet kon worden ingeschat of de aanwezige waterstand voldoende zou zijn om elektrisch af te vissen, is gekozen om een eDNA analyse uit te voeren. Gezien de beperkte omvang en lengte van de watergang is deze aanvullend, na het nemen van de watermonsters, afgevist middels een schepnet.

Voor het aantonen van grote modderkruiper middels eDNA analyse dienen verspreid over de watergang watermonsters genomen te worden. Dit dient plaats te vinden in de periode maart - juli of september tot november. In de watergang zijn 20 subsamples verzameld die zijn gemengd in een steriele samplingzak. Vanuit deze samplingzak werd een sample van 90 mL genomen, dat werd verdeeld over 6 buizen die tot twee derde gevuld zijn met alcohol en een buffer. De buizen zijn vervolgens geanalyseerd in het laboratorium.

De bemonstering heeft plaatsgevonden op 13 maart 2019 door D. Boonstra, ecooloog van Aveco de Bondt. Weersomstandigheden waren als volgt: temperatuur, 7 °C, bewolkt met regen. Omdat de concentratie van mogelijk aanwezig DNA door de regenval in de bovenste waterlaag kan zijn verlaagd, is voorafgaand aan het nemen van elk monster het water geroerd, zonder de bodem aan te tasten, om een zo goed mogelijk watersample op te vangen. Analyse van de watermonsters op aanwezigheid van grote modderkruiper is uitgevoerd door Datura Molecular Solutions BV.

Het analyseren van een eDNA sample vindt plaats in drie stappen. Eerst wordt het eDNA geconcentreerd in een pellet en gezuiverd. Vervolgens wordt een controle analyse uitgevoerd om te testen of eDNA detectie in een sample eventueel geïnhibeerd wordt door storende stoffen. Tenslotte wordt het eDNA gedetecteerd met behulp van een real-time quantitative PCR. Exacte omschrijving van deze methode staat in Bijlage 1.



3.2 Overige soorten

Tijdens de veldronde is tevens gelet op overige aanwezige beschermde soorten. Waarnemingen van deze soorten worden, indien relevant voor de beoogde ontwikkelingen en het projectgebied hieronder beschreven.



4 RESULTATEN

Dit hoofdstuk beschrijft de resultaten van het uitgevoerde nader onderzoek naar grote modderkruiper. Per gebruiksfunctie worden de resultaten besproken. In dit hoofdstuk wordt de eerste vraag van de doelstelling beantwoord;

Zijn in het plangebied vaste rust- en verblijfplaatsen van strikt beschermde soorten aanwezig?

4.1 Grote modderkruiper

Uit de eDNA analyse blijkt dat er geen DNA van grote modderkruiper aangetroffen is in de watermonsters. Tijdens het afvissen van de watergang middels een schepnet zijn tevens geen grote modderkruipers waargenomen. De bodem van de watergang is tevens geïnspecteerd, hieruit kwam naar voren dat er weinig slib/modder op de bodem van de watergang aanwezig was. De watergang is hierdoor minder geschikt als leefgebied voor grote modderkruiper.

Op basis van bovenstaande resultaten kan geconcludeerd worden dat de aanwezigheid van de grote modderkruiper uitgesloten kan worden. Binnen het plangebied is geen leefgebied van grote modderkruiper aanwezig.

4.2 Overige soorten

Tijdens het onderzoek zijn geen andere beschermde soorten in het veld aangetroffen. Tijdens het afvissen zijn tevens geen andere vissoorten waargenomen.



5 EFFECTENBEOORDELING

Dit hoofdstuk beschrijft of de ingreep zoals beschreven in hoofdstuk 2 leidt tot overtreding van de Wet natuurbescherming. De resultaten van het nader onderzoek (hoofdstuk 4) worden getoetst aan de verboden zoals genoemd in de Wet natuurbescherming. In dit hoofdstuk worden de tweede en derde vraag van de doelstelling beantwoord:

Hebben de voorgenomen werkzaamheden effect op bovengenoemde vaste rust- en verblijfplaatsen?

Zijn deze effecten in strijd met de verbodsbepalingen uit de Wet natuurbescherming?

5.1 Effecten

Binnen het plangebied zijn geen vaste rust- of verblijfplaatsen of leefgebied van beschermde soorten aangetroffen. Werkzaamheden hebben geen effect op verblijfplaatsen of leefgebied van beschermde soorten. Overtreding van de Wet natuurbescherming is niet aan de orde, verdere toetsing is niet noodzakelijk.



6 CONCLUSIES

Op basis van het nader onderzoek naar grote modderkruiper aan de Lierderholthuisweg te Lierderholthuis (Gemeente Raalte, Provincie Overijssel) kunnen de volgende conclusies worden getrokken ten behoeve van de geplande ingreep:

- In het plangebied is geen leefgebied van de grote modderkruiper aanwezig;
- Vaste rust- of verblijfplaatsen van overige beschermde soorten zijn niet aangetroffen;
- De werkzaamheden hebben geen negatief effect op vaste rust- of verblijfplaatsen van beschermde soorten flora en/of fauna;
- Werkzaamheden kunnen zonder ontheffing van de Wet natuurbescherming plaatsvinden.



BRONNEN

Boonstra, D., 2019. Quicksan flora en fauna Lierderholthuisweg te Lierderholthuis. Aveco de Bondt, Amersfoort.

Netwerk Groene Bureaus, 2017. Soortinventarisatieprotocollen in het kader van de Wet natuurbescherming (versie juli 2017). Netwerk Groene Bureaus, Odijk.



BIJLAGE 1: eDNA onderzoek Grote Modderkruiper

eDNA onderzoek naar grote modderkruiper



Colofon

Titel	eDNA onderzoek naar grote modderkruiper.
Tekst, foto's en samenstelling	K. van Bochove en J. Rook
In opdracht van	Aveco
Naam opdrachtgever	Dieuwertje Boonstra
Rapportnummer	RA2019032
Datum oplevering rapport	26 april 2019
Aantal pagina's	7
Wijze van citeren	van Bochove K. 2019. eDNA onderzoek naar grote modderkruiper. Rapport RA2019032, Datura, Wageningen.
Laboratorium analist	J. Rook



Datura Molecular Solutions BV

Agro Business Park 10
6708 PW, Wageningen
Nederland

info@datura.nl
www.datura.nl

0031(0)628022473
jitske.rook@datura.nl

Inhoudsopgave

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

1. Doelstelling

Vaststellen van de aan- of afwezigheid van eDNA van grote modderkruiper (*Misgurnus fosillis*) in opdracht van Aveco.

2. Methode

2.1 Sampling

De bemonstering is uitgevoerd door een medewerker van Aveco op 13 maart 2019.

2.2 Laboratorium analyse watersamples

Het eDNA sample is geanalyseerd op de aanwezigheid van eDNA van grote modderkruiper. Het analyseren van een eDNA sample vindt plaats in drie stappen. Eerst wordt het eDNA geconcentreerd in een pellet en gezuiverd. Vervolgens wordt een controle analyse uitgevoerd om te testen of eDNA detectie in een sample eventueel geïnhibeerd wordt door storende stoffen. Tenslotte wordt het eDNA gedetecteerd met behulp van een real-time quantitative PCR.

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

2.3 Kwaliteitswaarborging

2.3.1 Hoe vals positieve waarnemingen voorkomen worden

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

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

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

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

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

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

1. Verschillende onderdelen van de analyse workflow worden uitgevoerd in fysiek gescheiden laboratorium ruimtes. Het samenstellen van de eDNA sample kits en het voorbereiden van de qPCR reagentia vindt plaats in een **DNA clean room**. Dit is een ruimte waarin geen DNA samples aanwezig zijn. Zodoende kunnen we garanderen dat er geen DNA aanwezig is in de eDNA sample kits en de reagentia (zoals de primers en probes) die later gebruikt worden in de eDNA analyses. Het extraheren van de eDNA samples gebeurt in een **pre-PCR laboratorium**. Dit is een ruimte waarin uitsluitend lage concentraties DNA aanwezig zijn. Vervolgens worden hier de eDNA samples samen met de qPCR reagentia in een 96-well plaat gepipetteerd. Deze plaat wordt luchtdicht afgesloten. Tenslotte wordt de qPCR uitgevoerd in een **post-PCR laboratorium**. In dit laboratorium wordt het eDNA vermeerderd en hier zijn dus hoge concentraties DNA aanwezig.
2. Er wordt een **unidirectionele workflow** gehanteerd om contaminatie van de DNA clean room en het pre-PCR laboratorium te voorkomen. Dit houdt in dat materialen die eenmaal in het post-PCR laboratorium geweest zijn niet meer terug mogen naar de DNA clean room en het pre-PCR laboratorium. Ook mogen medewerkers van Datura niet dezelfde dag van een post-PCR laboratorium terug naar de DNA clean room en het pre-PCR laboratorium.

3. In iedere analyse worden **controle analyses** uitgevoerd. Zo worden er samples geëxtraheerd waaraan geen slootwater wordt toegevoegd (zogenaamde extractie controles). In de qPCR worden naast de extractie controles ook negatieve PCR controles meegenomen. Zodoende kan heel nauwkeurig gemonitord worden of er inderdaad geen contaminatie optreedt.

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

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

2.4.2 Hoe vals negatieve waarnemingen voorkomen worden

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

1. Per water sample worden **25 subsamples** verzameld. Hiermee wordt de kans vergroot dat eDNA in het sample terecht komt.
2. Een zeer gevoelige **qPCR detectie** wordt uitgevoerd met behulp van **12 replica's**. Wanneer minder replica's uitgevoerd worden kan er minder gevoelig gedetecteerd worden. Meer dan 12 qPCR replica's leidt echter niet tot gevoeliger detectie;
3. Gebruik van een **zeer korte merker** van maximaal 100 basepaar;
4. Van ieder sample wordt **vastgesteld of de qPCR detectie geïnhibeerd** wordt door storende stoffen. Indien dit het geval is wordt er een **extra zuiveringstap** uitgevoerd. Vervolgens wordt nogmaals getest of er inderdaad geen inhibitie meer optreedt (zie methode voor een uitgebreidere beschrijving);
5. Er wordt altijd een **positieve controle** reactie van doelsoort DNA meegenomen in de qPCR detectie. Deze controle reactie moet altijd resulteren in positieve detectie. Ook als alle samples negatief zijn, kan zodoende vastgesteld worden dat de detectie juist is uitgevoerd.

3. Resultaten

Er is geen eDNA van grote modderkruiper aangetoond (tabel 1).

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

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

Samenvattend, de eDNA analyses zijn met succes uitgevoerd. Er is geen eDNA van grote modderkruiper aangetoond.

Tabel 1. Resultaten van eDNA analyse.

Sample nummer	Aantal positieve reacties grote modderkruiper
2254	0/12