

Sylphium

molecular ecology



Opdrachtgever:	Blom Ecologie
Contactpersoon:	Martine Visschers
Aantal monsters:	7
Aan te tonen organisme:	Alpenwatersalamander
Uitgevoerd door:	Zarina Rorije

Analyserapport

Datum rapport: 7 May 2025

Inhoudsopgave

1. Materialen en methoden	3
1.1 Bemonstering en filtratie	3
1.2 eDNA isolatie	4
1.3 eDNA qPCR analyse alpenwatersalamander	4
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 Blom Ecologie met de SYL009 - eDNA sampling set (1). De volgende monsters zijn door Sylphium molecular ecology ontvangen (**Tabel 1**).

Monstercode	Monstertype
E4470	eDNA Dual Filter (0.8µM)
E4475	eDNA Dual Filter (0.8µM)
E4476	eDNA Dual Filter (0.8µM)
E4481	eDNA Dual Filter (0.8µM)
E4485	eDNA Dual Filter (0.8µM)
E4702	eDNA Dual Filter (0.8µM)
E4703	eDNA Dual Filter (0.8µM)

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). Voor de volledige beschrijving van het isolatieproces wordt verwezen naar de webpagina van deze kit, waar de handleiding beschikbaar is om te downloaden.

1.3 eDNA qPCR analyse alpenwatersalamander

De analyse en kwaliteitscontrole op alpenwatersalamander-eDNA werd uitgevoerd volgens het protocol en validatierapport van SYL166 - *Ichthyosaura alpestris* detection kit (3). Voor de volledige beschrijving van de analyse wordt verwezen naar de webpagina van deze kit, waar de handleiding beschikbaar is om te downloaden.

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:

Source	
Rendement en inhibitiecontrole (RIC)	Aan de monsters is xenobiotisch DNA toegevoegd als controle om vals-negatieve PCR-resultaten door storende factoren in het DNA-isolaat uit te sluiten en om de isolatie-efficiëntie/DNA-afbraak (conservering) te bepalen. Indien storende factoren worden aangetroffen, wordt het experiment herhaalt met monsterverdunningen van 2x, 4x, en 8x, waarna op basis hiervan de optimale verdunning voor de alpenwatersalamander-analyse wordt uitgevoerd.
Procedure-blanco	Alleen conserveringsmiddel dat alle isolatie- en analysestappen doorloopt om eventuele DNA-contaminatie tijdens de verwerking aan te tonen.
PCR-positieve controle	Alpenwatersalamander-DNA is toegevoegd aan de PCR-mix om vals-negatieve PCR-resultaten door procesfouten uit te sluiten.
PCR-negatieve controle	Geen monster of DNA toegevoegd, als extra controle om vals-positieve resultaten door contaminatie uit te sluiten.

2. Resultaten

Het aangeleverde monster E4476 gaf in minstens 1 van de 8 replica's een positief signaal voor de aanwezigheid van alpenwatersalamander DNA (**tabel 2**). De overige monsters gaven in geen van de replica's een positief signaal voor de aanwezigheid van alpenwatersalamander DNA. De positieve controles gaven in alle gevallen een positief resultaat. De negatieve controles gaven in alle gevallen een negatief resultaat. Dit geeft aan dat alle procedures goed zijn doorlopen.

Monstercode	Resultaat alpenwatersalamander	Procedure blanco	Conservering controle	Inhibitie controle	PCR <i>neg.</i> controle	PCR <i>pos.</i> controle
E4470	0/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E4475	0/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E4476	6/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E4481	0/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E4485	0/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E4702	0/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E4703	0/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok

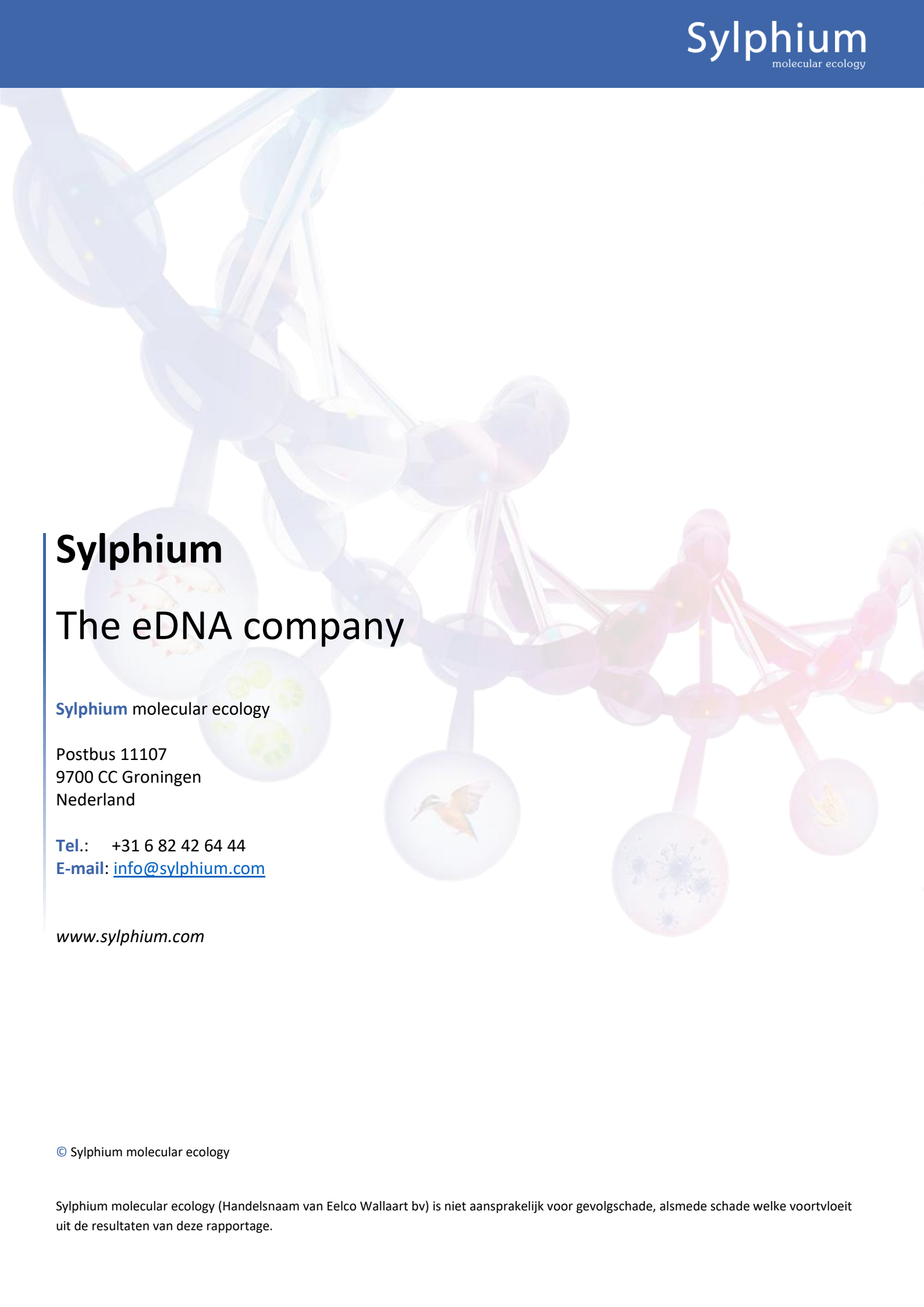
Tabel 2. PCR resultaten analyse monsters.

3. Conclusie

Het aangeleverde monster E4476 is positief bevonden voor de aanwezigheid van alpenwatersalamander 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/DNA-afbraak of DNA-contaminaties van de doelsoort aanwezig waren. Hiermee kunnen voor de analyseprocedures vals-negatieve en vals-positieve resultaten worden uitgesloten. Indien de bemonstering is uitgevoerd volgens de aanbevelingen zoals weergegeven in de handleiding van SYL009 - eDNA sampling set (1) kan er een trefkans van 95% behaald worden.

4. Referenties

1. <https://sylphium.com/webshop/product/syl009>
2. <https://sylphium.com/webshop/product/syl002>
3. <https://sylphium.com/webshop/product/166>



Sylphium

The eDNA company

Sylphium molecular ecology

Postbus 11107
9700 CC Groningen
Nederland

Tel.: +31 6 82 42 64 44
E-mail: info@sylphium.com

www.sylphium.com

© 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.