

# Pilotstudie bruikbaarheid eDNA voor onderzoek naar kwabaal



REPTIELEN AMFIBIEËN VISSSEN ONDERZOEK NEDERLAND





# **Pilotstudie bruikbaarheid eDNA voor onderzoek naar kwabaal**

Een rapportage van RAVON  
in opdracht van Waternet / Rijkswaterstaat Zuid-Nederland / Rijkswaterstaat Oost-Nederland

Frank Spikmans & Jelger Herder  
Maart 2015



STICHTING RAVON  
POSTBUS 1413  
6501 BK NIJMEGEN  
[www.ravon.nl](http://www.ravon.nl)

Colofon

© 2015 Stichting RAVON, Nijmegen

Rapport nummer: 2014.069

Tekst: Frank Spikmans & Jelger Herder

Met medewerking van: Spygen (analyses)  
Jeroen Bosveld (Bureau Submers)  
Arthur de bruin & Joran Janse (RAVON)

Foto voorzijde: Jelger Herder

Wijze van citeren: Spikmans, F. & J.E. Herder, 2015. Pilotstudie bruikbaarheid eDNA voor onderzoek naar kwabaal. Stichting RAVON, Nijmegen.

## INHOUD

1 INLEIDING .....	1
2 METHODE.....	3
3 RESULTATEN .....	6
4 CONCLUSIES, DISCUSSIE & AANBEVELINGEN .....	7
4.1 Aanwezigheid kwabaal in de onderzochte gebieden.....	7
4.2 Toepassingswijze van eDNA voor onderzoek kwabaal.....	8
4.2.1 Methode van monstername .....	8
4.2.2 Monsterplaatskeuze.....	9
4.2.3 Timing van de monstername.....	10
4.2.4 Bemonsteringsinspanning.....	10
4.2.5 Betrouwbaarheid eDNA: positieve & negatieve controles .....	10
4.3 Conclusies.....	11
5 LITERATUUR.....	12
Dankwoord.....	13



## 1 INLEIDING

De kwabaal (*Lota lota*) is een zeldzame en bedreigde soort. De soort is in veel beken en plassen in Nederland uitgestorven en in zijn overgebleven leefgebieden is de dichtheid vaak laag (Bosveld *et al.*, 2014). Voor het in beeld brengen van de resterende populaties en het volgen van ontwikkelingen na het nemen van herstelmaatregelen is een goede monitoringsmethode van belang.

Door de vaak lage dichtheden en zijn bovendien verborgen levenswijze is de aanwezigheid van kwabaal echter vaak lastig vast te stellen. Het is de verwachting dat eDNA methode (zie kader hieronder) geschikt kan zijn voor het monitoren van de verspreiding van de soort en mogelijk ook ontwikkelingen in de dichtheden. De hoge efficiëntie en trefkans van de eDNA methode ten opzichte van conventionele vangmethoden is vastgesteld voor andere soorten met een verborgen levenswijze zoals grote modderkruiper (Herder *et al.*, 2012; 2013a, Kranenbarg *et al.*, 2014) en knoflookpad (Herder *et al.*, 2013b).

De unieke karakteristieken van de kwabaal (bodembewoner, voorkeur voor koud water, voorkomend in zowel grote diepe plassen als stromende wateren) zijn naar verwachting van invloed op de efficiëntie (trefkans) van eDNA. RAVON heeft daarom in samenwerking met een drietal waterbeheerders (Waternet, Rijkswaterstaat Oost-Nederland en Rijkswaterstaat Zuid-Nederland) een pilotstudie uitgevoerd naar de bruikbaarheid van eDNA als monitoringsmethodiek voor de kwabaal. Hierbij is gekeken naar de benodigde inspanning (aantal monsters), wijze van monsternamen en de trefkans per watertype. Zodoende is getracht vast te stellen op welke wijze eDNA in de toekomst ingezet kan worden voor verder onderzoek naar de kwabaal.

In deze rapportage worden de aanpak en resultaten van het onderzoek beschreven en worden aanbevelingen gedaan over de toekomstige toepassing van eDNA voor kwabaal.

### Environmental DNA (eDNA)

De eDNA-methode is gebaseerd op het feit dat alle in het water levende organismen in water DNA achterlaten, bijvoorbeeld door huidschilfers, slijm, uitwerpselen, etc. Dit DNA kan in watermonsters worden aangetoond met behulp van soortspecifieke primers. Dit zijn korte stukjes DNA die enkel hechten aan het DNA van de doelsoort. Vervolgens wordt via een Polymerase Chain Reaction (PCR) alleen dat DNA vermenigvuldigd, dat aan de primers gebonden is. De aanwezigheid van het DNA van de doelsoort wordt zichtbaar gemaakt met qPCR op basis van fluorescentie. Zie voor een uitgebreide beschrijving van de toepassingsmogelijkheden van eDNA en de achterliggende methode het in 2014 verschenen review (Herder *et al.*, 2014), te downloaden op de website [www.environmental-dna.nl](http://www.environmental-dna.nl)





## 2 METHODE

### Wijze monstername

Er zijn twee manieren voor het nemen van watermonsters toegepast:

- Neerslag: hierbij wordt water opgeschept en toegevoegt aan een buffer van met ethanol en natrium acetaat. Waarna het eDNA uit de monsters middels centrifugering in het lab wordt verzameld. Voordeel van deze methode is dat al het eDNA uit het water verzameld wordt. Nadeel is dat er kleinere volumes water verzameld worden. Deze wijze van monstername is toegepast in drie stilstaande wateren: Vinkeveense Plassen, Spiegelplas en de positieve controle vijver
- Filtratie: bij deze methode worden grote volumes water gefiltreerd middels een filter in het veld. Voordeel is het grotere monstervolume. Nadeel kan zijn dat vrij opgelost eDNA zo klein is dat het door het filter heen gaat. Deze wijze van monstername is toegepast in alle onderzochte wateren.

### Neerslag met schepmonsters

In de oeverzones zijn monsters verzameld vanaf het oppervlak tot maximaal 1,5 meter diepte door het opscheppen van water. In deze rapportage wordt verder over 'neerslagmonster' gesproken. Hierbij is vanuit een boot in een oevertraject van 100 tot 300 meter lengte (tabel 1) een mengmonster van 0,5 liter verzameld door schepjes te nemen van zo'n 10 ml. Vanuit dit mengmonster zijn zes monsters van 15 ml genomen, welke geconserveerd zijn met 35 ml buffer. De buffer voorkomt verdere degradatie van eDNA in de monsters. De neerslagmonsters zijn in een vriezer bewaard bij -20°C tot aan de verzending naar het laboratorium.

### Filtratie met pomp & filter

Filtratie van het water is toegepast voor het verzamelen van watermonsters nabij de bodem op 3 tot 15 meter diepte, over een trajectlengte van 200 tot 800 meter. In deze rapportage wordt verder over 'filtermonster' gesproken. Er is gebruik gemaakt van een pomp waarmee vanuit een boot water van vlak boven de bodem (0,5 meter) door een slang naar het oppervlak is gepompt. Hierbij is circa 50 liter water door een filter gepompt. Aan het einde van de bemonstering is het filter gevuld met een conserveringsbuffer om verdere afbraak van eDNA te voorkomen. De filtermonsters zijn in een koeling bewaard tot aan de verzending naar het laboratorium.

Gedurende de bemonsteringen is gewerkt volgens een strikt hygiëneprotocol om besmetting tussen monsters te voorkomen. Voor elke bemonstering werd gebruik gemaakt van nieuw (steriel) materiaal.

Tabel 1. Aantal bemonsterde trajecten per onderzocht water.

water	watertype	Aantal filtermonsters	Aantal neerslagmonsters
Vinkeveense plassen	plas	5	5
Spiegelplas	plas	5	5
Zwarte Water / Vecht	rivier	10	-
Maas	rivier	10	-
Kweekvijver (positieve controle)	vijver	1	1
Divers (negatieve controle)	poel / sloot	1	3

### Onderzoeksgebieden en monsterplaatskeuze

Het onderzoek is uitgevoerd in een viertal gebieden waarvan het (historisch) voorkomen van kwabaal bekend is, te weten: Vinkeveense plassen, Spiegelplas, Zwarte Water / Overijsselse Vecht en de Maas.

Als positieve controle is een vijver van de viskwekerij van het INBO (Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek) te Linkebeek (België) bemonsterd. In deze vijver zijn kwabalen aanwezig die worden gebruikt voor een Vlaams herintroductieprogramma (Coeck, et al., 2008). Als negatieve controle zijn twee poelen, een vijver en een sloot bemonsterd, waarvan het voorkomen van de kwabaal wordt uitgesloten.

De ligging van de bemonsterde trajecten is weergegeven in figuur 1. Het aantal monsters per gebied is weergegeven in tabel 1. De monsterplaatsen in deze wateren zijn gekozen op basis van historische verspreidingsgegevens (bron: NDFD), informatie van beroepsvissers of op basis van de geschiktheid van het habitat (expert-judgement). De vier gebieden zijn bemonsterd in november 2014.

### Laboratoriumanalyses

In het laboratorium van SPYGEN wordt het monster opgewerkt (DNA geëxtraheerd). Uiteindelijk worden daarbij van elk monster 12 afzonderlijke PCR replica's getest op DNA van de kwabaal. Dit hoge aantal replicaties is noodzakelijk voor het betrouwbaar aantonen van zeldzame soorten (Ficetola et al., 2014). De uitslag van de analyse bestaat uit het aantal positieve PCR replica's van 12. Dit aantal geeft een maat voor de hoeveelheid eDNA van de kwabaal in het monster.

### Primer ontwikkeling

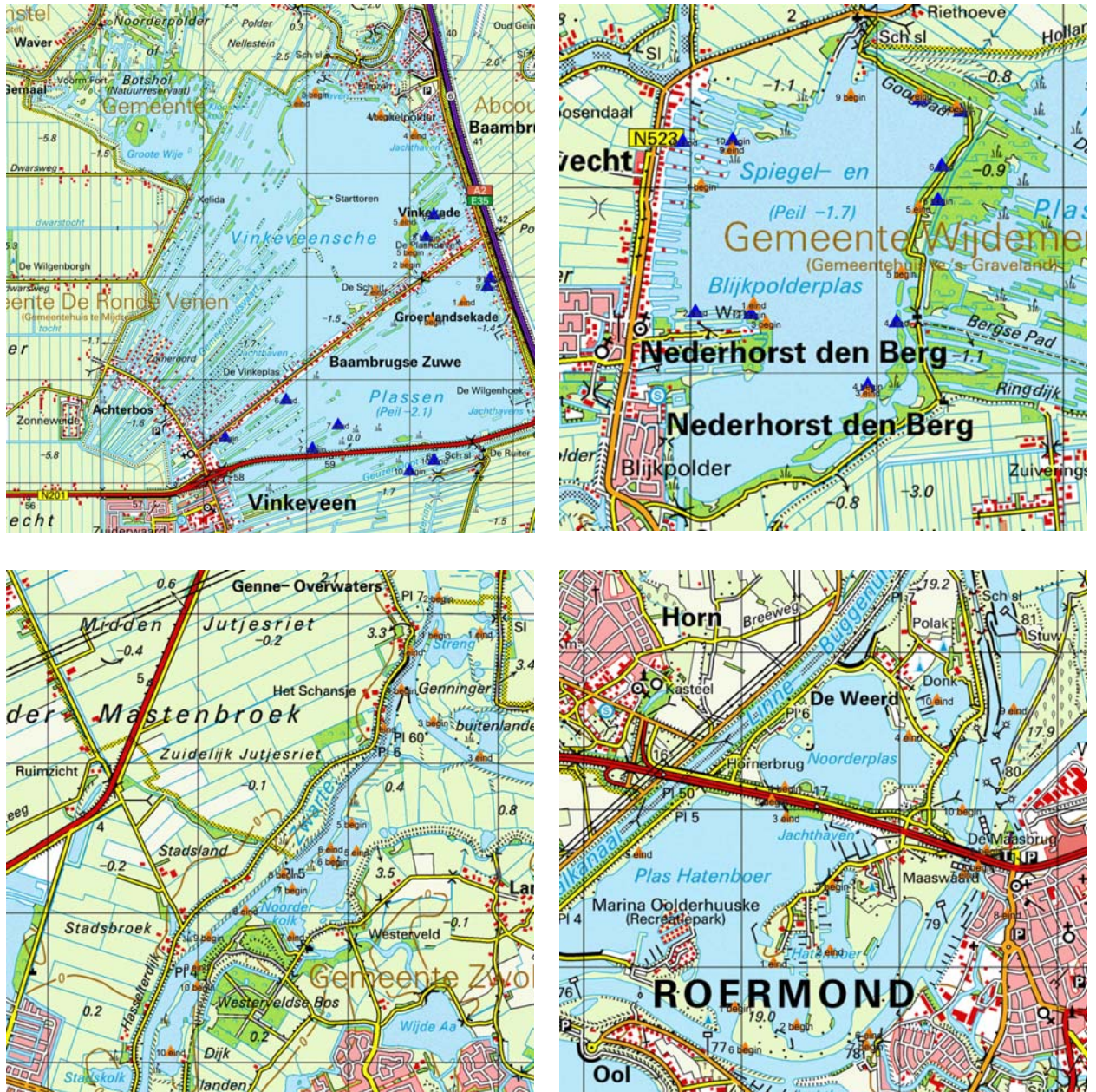
Voor deze pilotstudie zijn door SPYGEN primers ontworpen die enkel eDNA van de kwabaal vermeerderen. Een positieve PCR reactie wijst dan ook op de aanwezigheid van kwabaal DNA in het monster.

De betrouwbaarheid van de soortspecifieke primers is gevalideerd middels drie stappen Herder et al.(2014) :

- *In silico tests*: de ontworpen primers worden bioinformatisch getest middels software en referentiedatabases. Hierbij wordt getest of de primers enkel DNA van de doelsoort vermeerderen.
- *In vitro tests*: de primers worden getest op weefsel van de doelsoort en verwante soorten. Hiermee wordt getest of ze succesvol DNA van de doelsoort vermeerderen en niet dat van verwante soorten
- *In situ tests*: de primers worden in het veld getest:

Negatieve veldtest (controle): testen op locaties waar de soort met zekerheid niet voorkomt (check of de primers niet onbedoeld DNA van andere (in de referentiedatabase onbekende) soorten vermenigvuldigd).

Positieve veldtest (controle): testen op locaties waar de soort met zekerheid voorkomt (om te bevestigen dat de methode werkt).



Figuur 1. Bemonsterde trajecten in de Vinkveense Plassen (linksboven), Spiegelplas (rechtsboven), Zwarte Water / Vecht (linksonder) en Maas (rechtsonder). In elk gebied zijn 10 monsters genomen, per monster is het begin- en eindpunt aangegeven. Oranje: filtermonsters, blauw: neerslagmonsters.

### 3 RESULTATEN

De aanwezigheid van kwabaal is in twee van de vier onderzochte gebieden aangetoond met behulp van eDNA: Vinkeveense plassen en Zwarte Water / Vecht. In totaal waren drie van de 40 monsters in de vier onderzochte gebieden positief: twee filtermonsters en één neerslagmonster. Tabel 2 geeft een overzicht van de resultaten per gebied en monstertype.

*Tabel 2. eDNA score (aantal positieve PCR replica's van de 12) kwabaal in de vier onderzochte gebieden en de positieve en negatieve controles. Monsternummers corresponderen met nummering in figuur 1.*

Gebied	Monsternummer	Type monster	eDNA score
Vinkeveense plassen	10	neerslag	3/12
	1-9	4x neerslag / 5x filter	0/12
Spiegelplas	1-10	5x neerslag / 5x filter	0/12
Zwarte Water / Vecht	2	filter	1/12
	3	filter	2/12
	1 & 4-10	filter	0/12
Maas	1-10	5x neerslag / 5x filter	0/12
Positieve controle		1x neerslag	11/12
		1x filter	12/12
Negatieve controle		3x neerslag	0/12
		1x filter	0/12

In de Vinkeveense plassen is één van de tien monsters positief voor eDNA kwabaal. Het betreft een neerslagmonster dat verzameld is in de Geuzensloot, ten zuiden van de provinciale weg N201. Deze locatie staat in open verbinding met de rest van de Vinkeveense plassen. Van dit positieve monster scoorde 3 uit 12 PCR replica's positief. De vier ander neerslagmonsters en alle 5 de filtermonsters scoorden negatief.

In het gebied Zwarte Water / Vecht zijn uitsluitend filtermonsters genomen. In twee ervan werd kwabaal DNA aangetroffen: (1) in de Vecht, vlak bij de monding in het Zwarte Water en (2) in het Zwarte Water direct benedenstrooms van de Vechtmonding. De monsters scoorde respectievelijk 2 en 1 uit 12 PCR replica's positief (wat betekent dat er weinig eDNA in de monsters zat). Alle monsters in zijwateren (Streng, Noorderklok en Westerveldse kolk) en het Zwarte Water bovenstrooms van de Vecht zijn negatief.

Alle monsters in de Maas en Spiegelplas scoorden negatief.

De positieve controle monsters die zijn genomen in de kwabaal-kweekvijver te Linkebeek scoorden positief. Van het filtermonster waren alle PCR replica's (12 van 12) positief, bij het neerslagmonster waren dit er 11 van de 12. Het hoge aantal positieve replica's betekent dat er veel eDNA van de kwabaal in de monsters zat.

De vier negatieve controle monsters, die zijn genomen in wateren waar de kwabaal afwezig is, scoorden allen negatief.

## 4 DISCUSSIE, CONCLUSIES & AANBEVELINGEN

In twee van de vier onderzochte gebieden waarin het voorkomen van kwabaal (historisch) bekend is werd deze aangetroffen met behulp van eDNA. De eDNA scores in deze monsters waren laag, hetgeen duidt op een beperkte trefkans van de soort. Mogelijk oorzaken voor deze beperkte trefkans zijn: (1) kwabaal is in lage dichtheid aanwezig op de monsterplaatsen, (2) de toepassing van de methode werkt nog niet optimaal in de praktijk. Deze factoren worden in paragraaf 4.1 en 4.2 besproken. Vervolgens worden conclusies getrokken en aanbevelingen gedaan.

### 4.1 Aanwezigheid kwabaal in de onderzochte gebieden

Locatie	Actueel voorkomen kwabaal (2000 – 2015)	eDNA score
Vinkeveense plassen	Kwabaal is verspreid over de hele plas waargenomen, onder meer door duikers en beroepsvissers (figuur 2). Het is één van de weinige wateren in Nederland waar juveniele dieren zijn aangetroffen.	Alleen in de Geuzensloot was er een positieve score. Hier vindt waarschijnlijk paai plaats (mondelling mededeling beroepsvisser) en is de trefkans mogelijk groter doordat de dichtheid kwabaal er lokaal hoger is.
Spiegelplas	Beperkt waargenomen in met name het noordelijke deel van de plas, in een oever waar grote stortstenen aanwezig zijn (figuur 2). De laatste melding hier dateert uit 2012. De lokale beroepsvisser meldt dat de soort in de afgelopen jaren niet meer gevangen is.	Met eDNA is de kwabaal niet aangetoond in de Spiegelplas. Mogelijk is dit gerelateerd aan de lage dichtheden of het (lokaal) ontbreken van de soort.
Zwarte Water / Vecht	In de IJssel-Vecht delta wordt de soort regelmatig aangetroffen (o.a. door beroepsvissers en in MWTL-vismonitoring). Sinds 2006 is het aantal waarnemingen toegenomen, waarschijnlijk als gevolg van uitzettingen in het Duitse deel van de Vecht (Bosveld <i>et al.</i> , 2014).	Beide positieve eDNA monsters zijn genomen in of dichtbij Vechtmonding. In het Zwarte Water bovenstrooms van Vecht en in bemonsterde zijwateren van Zwarte Water is de kwabaal niet aangetroffen.
Maas	In de omgeving van de Maas is de soort sinds 2000 zeer beperkt waargenomen. Nabij de monding van de Swalm in de Maas is een kwabaal waargenomen in 2005. In 2003 is er een waarneming gedaan in de Hambeek (Roer), op korte afstand van de monding in de Maas (figuur 2).	In geen van de monsters uit de Maas, zijwateren en de monding van de Roer en Hambeek werd eDNA van kwabaal aangetroffen. Waarschijnlijk is dit gerelateerd aan de lage dichtheden of het (lokaal) ontbreken van de soort.
Linkebeek (België)	De soort is in de bemonsterde vijver in hoge dichtheid aanwezig als onderdeel van kweekprogramma voor herintroductieproject in Vlaanderen.	Beide monsters scoorden positief en bevatten een grote hoeveelheid eDNA (hoog aantal positieve PRC replica's per monster).



Resumerend lijkt er een verband te zijn tussen de mate van aanwezigheid (dichtheid) van kwabaal en de detectie met eDNA (tabel 3). In de kweekvijvers waar kwabaal in hoge dichtheid aanwezig is, wordt een hoge eDNA-score behaald. In de Vinkeveense plassen en Zwarte Water / Vecht, waar de kwabaal nog regelmatig wordt gezien, is de soort eveneens met eDNA aangetoond. Hier is de eDNA-score echter laag, waarschijnlijk door de lagere dichtheden of het lokaal (op de monsterplaats) afwezig zijn van de soort. In de Spiegelplas en Maas, waar de soort de afgelopen 15 jaar alleen incidenteel werd waargenomen en de laatste jaren niet, is geen eDNA van kwabaal aangetroffen. Gezien het beperkte aantal waarnemingen van kwabaal in deze gebieden is het goed mogelijk dat de soort hier niet op de monsterplaatsen aanwezig was.

Tabel 3. Relatie tussen de aanwezigheid van kwabaal in wateren en de detectiekans met eDNA. De aanwezigheid van kwabaal is ingeschat op basis van recente waarnemingen van de soort (2000-2015).

Locaties	Aanwezigheid kwabaal	eDNA score kwabaal
Kweekvijver Linkebeek	Veel	Hoog
Vinkeveen , Zwart Water / Vecht	Regelmatig	Laag
Spiegelplas, Maas	Beperkt	Afwezig
Negatieve controles	Afwezig	Afwezig

## 4.2 Toepasbaarheid eDNA voor kwabaal in de praktijk

Methodologische factoren die van invloed zijn op de trefkans zijn: (1) de methode van monstername, (2) de monsterplaatskeuze, (3) de periode waarin de monsters worden genomen, (4) het aantal monsters en (5) de betrouwbaarheid van de methode. Deze factoren worden in de onderstaande paragrafen 4.2.1 t/m 4.2.5 nader besproken.

### 4.2.1 Methode van monstername

De positieve controles die met beide methoden (filter- en neerslagmonsters) zijn genomen, zijn beiden positief. Op basis hiervan kan worden aangenomen dat beide methoden bruikbaar zijn voor de detectie van kwabaal eDNA.

Het voordeel van een filtermonster ten opzichte van een neerslagmonster is dat er een groter watervolume bemonsterd wordt (Herder *et al.*, 2014). Het nadeel bij gebruik van een filter is dat kleine DNAfragmenten door het filter heengaan. Deze kleine fragmenten worden met een neerslagmonster wel verzameld. Het aantal positieve eDNA scores is in dit onderzoek te beperkt om de effectiviteit van de toegepaste monstermethodes goed te vergelijken. Deze vergelijking is ook niet mogelijk, omdat er geen kennis is over de aan- of afwezigheid van de kwabaal op een monsterpunt (behalve in de positieve en negatieve controles).

Door opwerping van substraat (slib) zijn in dit onderzoek de filters regelmatig vervuild geraakt. Dit is moeilijk te voorkomen bij het monsternemen op diepte. Dit slib in de filters kan voor problemen zorgen bij de DNA-extractie uit de monsters. Hiervoor zijn op een aantal monsters extra analyses uitgevoerd waarbij getracht is eDNA uit het sediment van de filters te extraheren. Deze analyses hebben echter geen extra positieven opgeleverd. Het is daarom aannemelijk dat dit geen grote rol heeft gespeeld.



Figuur 2. Actuele verspreiding van de kwabaal (2000-2015) in de vier onderzochte gebieden (bron: NDFP).

#### 4.2.2 Monsterplaatskeuze

Onderzoek naar de grote modderkruiper heeft uitgewezen dat het belangrijk is om de eDNA bemonstering uit te voeren in het habitat waar individuen van de soort zich daadwerkelijk ophouden. Gezien de zeldzaamheid van de kwabaal in de onderzochte wateren is het aannemelijk dat (in ieder geval voor een deel van de monsters) de kwabaal niet aanwezig was op de monsterplaats, wat het “missen” met eDNA kan verklaren.

In de praktijk is het zo dat er van de meeste wateren in Nederland weinig of geen kennis is over de verspreiding, dichtheden of ligging van paaiplaatsen van kwabaal. De monsterplaatskeuze moet in dat geval bepaald worden op basis van een inschatting van de kwaliteit van het habitat. Nader inzicht in habitatgebruik van de kwabaal kan verkregen worden door bijvoorbeeld een jaarrond bemonstering of op basis van onderzoek met gezenderde kwabalen. Die kennis kan gebruikt worden voor een betere monsterplaatskeuze.

#### 4.2.3 Periode van de monsternamen

De bemonsteringen zijn uitgevoerd in november. Dit werd een geschikte periode geacht, omdat bekend is dat kwabaal juist actief is bij lage temperatuur en in de zomer zelfs in rust gaat. In de Vinkeveense plassen is in de maand voorafgaand aan de bemonstering nog een actieve kwabaal gezien door een duiker. Op diezelfde locatie (traject 3, figuur 1) scoorde het eDNA monster echter negatief.

Mogelijk is er in de periode januari-maart een hogere trefkans, omdat dan de paai plaatsvindt. Anderzijds zou ook de periode mei-juni geschikter kunnen zijn, wanneer er juvenielen aanwezig zijn, die zich in dit stadium in de oeverzones ophouden. Om meer duidelijkheid te krijgen over de trefkans door het jaar heen, is nader onderzoek nodig.

#### 4.2.4 Bemonsteringsinspanning

De bemonsteringsinspanning hangt af van de vraagstelling. Bij een onderzoek naar aan- of afwezigheid in een water is een lagere inspanning nodig dan wanneer de verspreiding binnen een water onderzocht wordt. De bemonsteringsinspanning in dit onderzoek is voldoende gebleken om de aanwezigheid van kwabaal in Zwarte Water / Vecht en in de Vinkeveense plassen aan te tonen. De inspanning is mogelijk onvoldoende geweest om de kwabaal ook in de Spiegelplas aan te tonen, aangenomen dat de soort daar nog voorkomt.

#### 4.2.5 Betrouwbaarheid eDNA: positieve & negatieve controles

Er zijn voor dit onderzoek vier negatieve veldcontroles verzameld. Deze scoorden allen zoals verwacht negatief wat laat zien dat de primers soortspecifiek zijn.

Er zijn twee positieve veldcontroles verzameld (zowel neerslagmonster als filtermonster) in de kweekvijver te Linkebeek, waar met zekerheid kwabaal aanwezig is. Deze scoorden beiden positief. Het hoge aantal positieve PCR replica's liet eveneens zien dat er, zoals verwacht, veel eDNA in deze monsters zat.



#### 4.3 Conclusies & aanbevelingen

- De eDNA methode met behulp van een soort-specifieke primer is geschikt om de aanwezigheid van kwabaal vast te stellen.
- Er lijkt een verband te bestaan tussen de detectiekans met eDNA en de aanwezigheid (dichtheid) van kwabaal in een gebied.
- Het is wenselijk om meer inzicht te krijgen op de trefkans van de soort door het jaar heen.
- Kennis over het habitatgebruik is gewenst om betere keuzes te kunnen maken voor monsterplaatsen.

## 5 LITERATUUR

- Bosveld, J. J. Kranenbarg & R. Lenders, 2014. Recente toename van Kwabaal in de IJssel-Vechtdelta: goed of slecht nieuws voor herstel van relictpopulaties? *De Levende Natuur* 115(4): 184-189.
- Coeck, J., A. Dillen, D. de Charleroy, I. Vught & K. de Gelas, 2008. Soortherstelproject kwabaal – nieuwe kansen voor een verdwenen vissoort in Vlaanderen. *RAVON* 29 10(2): 31-35.
- Ficetola, G. F., J. Pansu, A. Bonin, E. Coissac, C. Giguët-Covex, M. De Barba, L. Gielly, C.M. Lopes, F. Boyer, F. Pompanon, G. Rayé and P. Taberlet, 2014. Replication levels, false presences and the estimation of the presence/absence from eDNA metabarcoding data. *Molecular Ecology*.
- Herder, J.E., Valentini, A. & J. Kranenbarg, 2012. Detectie van grote modderkruipers met behulp van Environmental DNA. *H2O*, nr 3, pagina 25-27.
- Herder, J.E., J. Kranenbarg, A. de Bruin and A. Valentini, 2013a. Op jacht naar DNA - Effectief zoeken naar grote modderkruipers. *Visionair*, nr 28, pagina 8-11.
- Herder, J.E., J. van Delft, E. Bellemain and A. Valentini, 2013b. Environmental DNA krachtig gereedschap voor het monitoren van fauna. *De Levende Natuur*, jaargang 114 (3), pagina 108-113
- Herder, J.E., A. Valentini, E. Bellemain, T. Dejean, J.J.C.W. van Delft, P.F. Thomsen en P. Taberlet., 2014. Environmental DNA - toepassingsmogelijkheden voor het opsporen van (invasieve) soorten. Stichting RAVON, Nijmegen. Rapport 2013-104.
- Kranenbarg, J., A. de Bruin, F. Spikmans, J.E. Herder, J. de Jong en B. Prudon, 2014. Nieuwe inventarisatiemethode helpt bij behoud (beschermd) grote modderkruiper. *H2O-online*, 21 oktober 2014.

## Dankwoord

Voor het beschikbaar stellen van informatie over het voorkomen van de kwabaal danken we de betrokken beroepsvissers uit de Vinkeveense plassen en Spiegelplas.