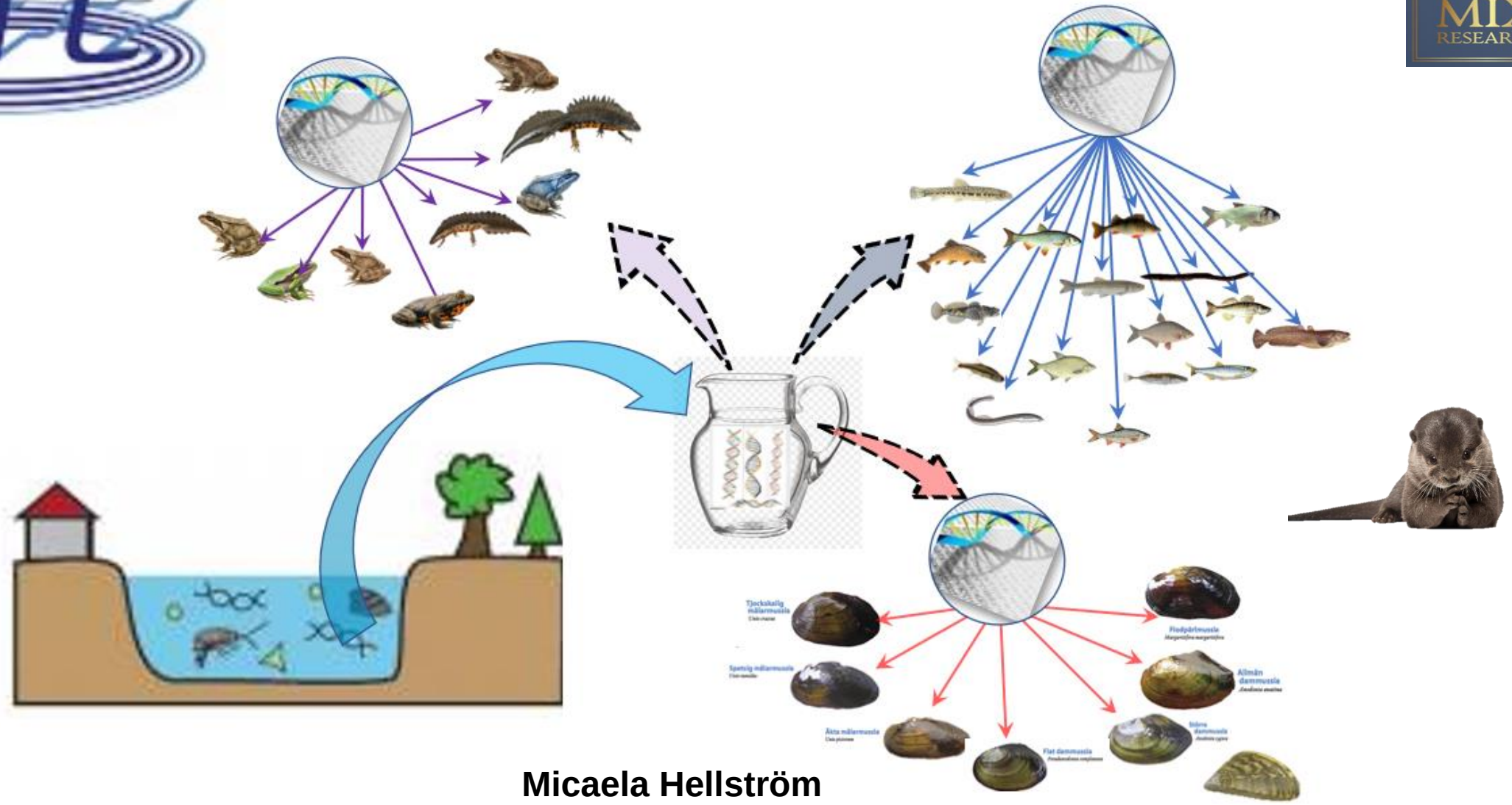
eDNA – inventeringsverktyg av biologisk mångfald för miljöövervakning och tillståndsprövningar



Micaela Hellström
info@mixresearch.se

Foto: Jacob Berggren, Naturforskarna, Licens Creative Commons

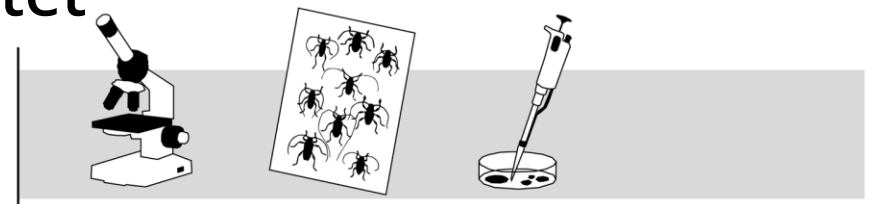
BAKGRUND

1. Tillståndsprövningar och åtgärder i sjöar och vattendrag bygger på rationella beslut baserade på tillgänglig information.
2. Första frågan: **Vilka arter** är närvarande? en utmaning för inventering av organismer under vattenytan.
3. I Sverige finns nästan **100 000 sjöar** större än en hektar
4. Informationen om arters närvaro inte komplett och ofta insamlad över lång tid

VARFÖR?

1. **Barriärer** för arter uppströms och nedströms
2. **Konnektivitet**
3. Då antropogena barriärer öppnas – hur utreda risken för att släppa in sjukdomar och **invasiva arter i systemen**?
4. Infrastrukturplaner – data på arters närvaro viktig speciellt gällande **hotade, blyga och invasiva**, redan innan infrastruktur inleds.
5. Hur påverkar ett **varmare klimat** artkompositionen i ett ekosystem?
6. **Åtgärder**, hur ser artkompositionen ut före och efter en åtgärd?
7. Datainsamling av arter på stor skala för att förstå våra vattensystem bättre.

Svårt att mäta biodiversitet



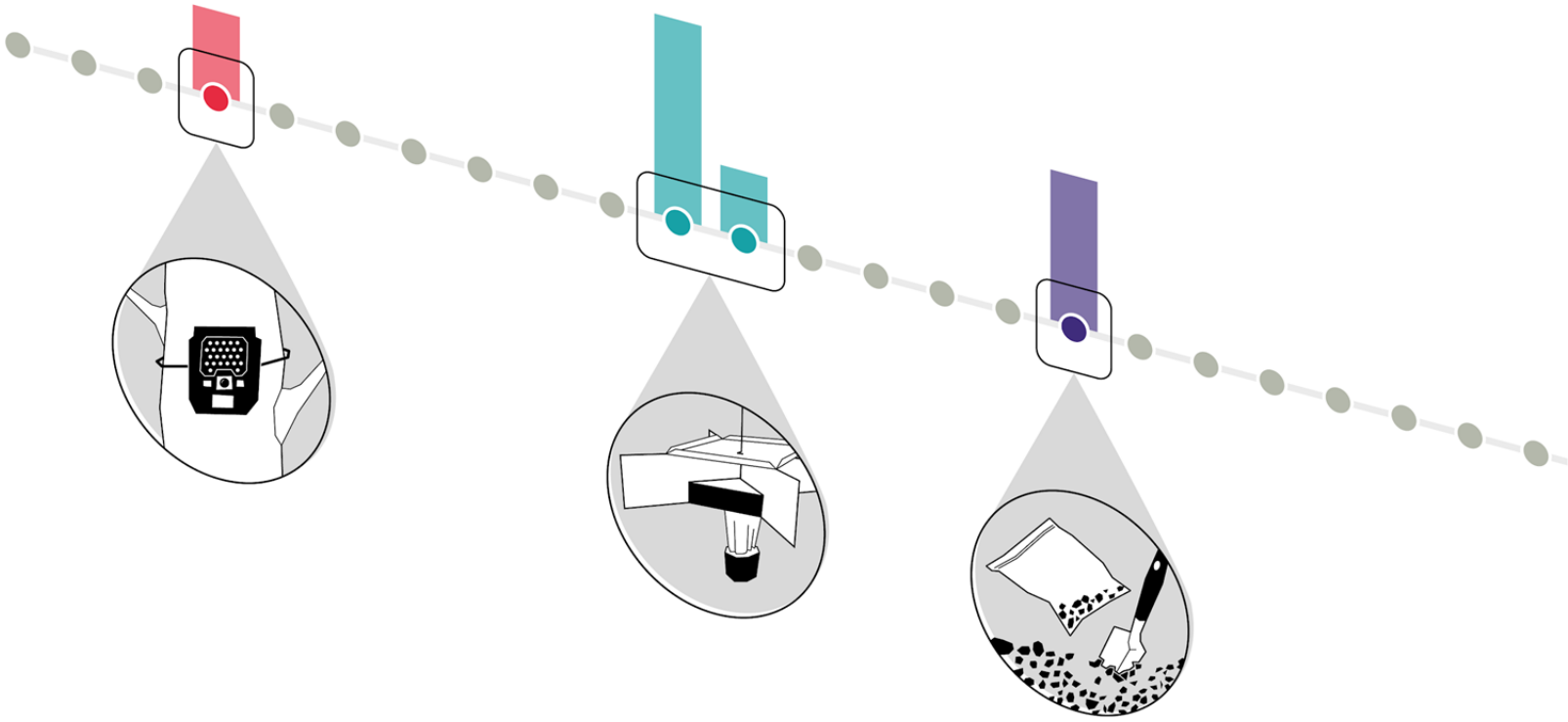
Traditionella metoder kräver mycket tid under mikroskop och arter upptäcks inte

Traditionella metoder **identifiering på det man ser**

Data är **dyrt och tidskrävande att få**

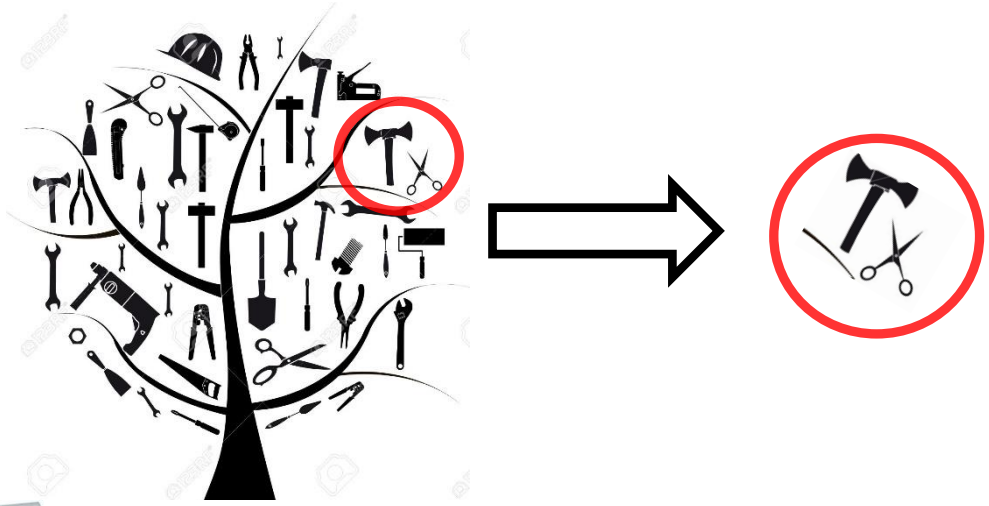
kräver **stora expertteam** I fält, väderberoende

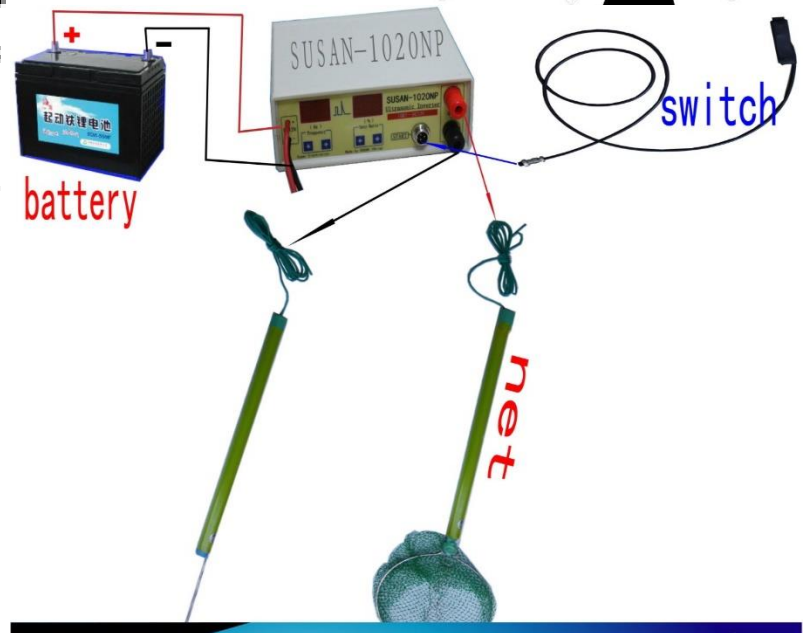
Ofullständig information



HÖG	GOD	MÅTTLIG	OTILLFREDSTÄLLANDE	DÅLIG

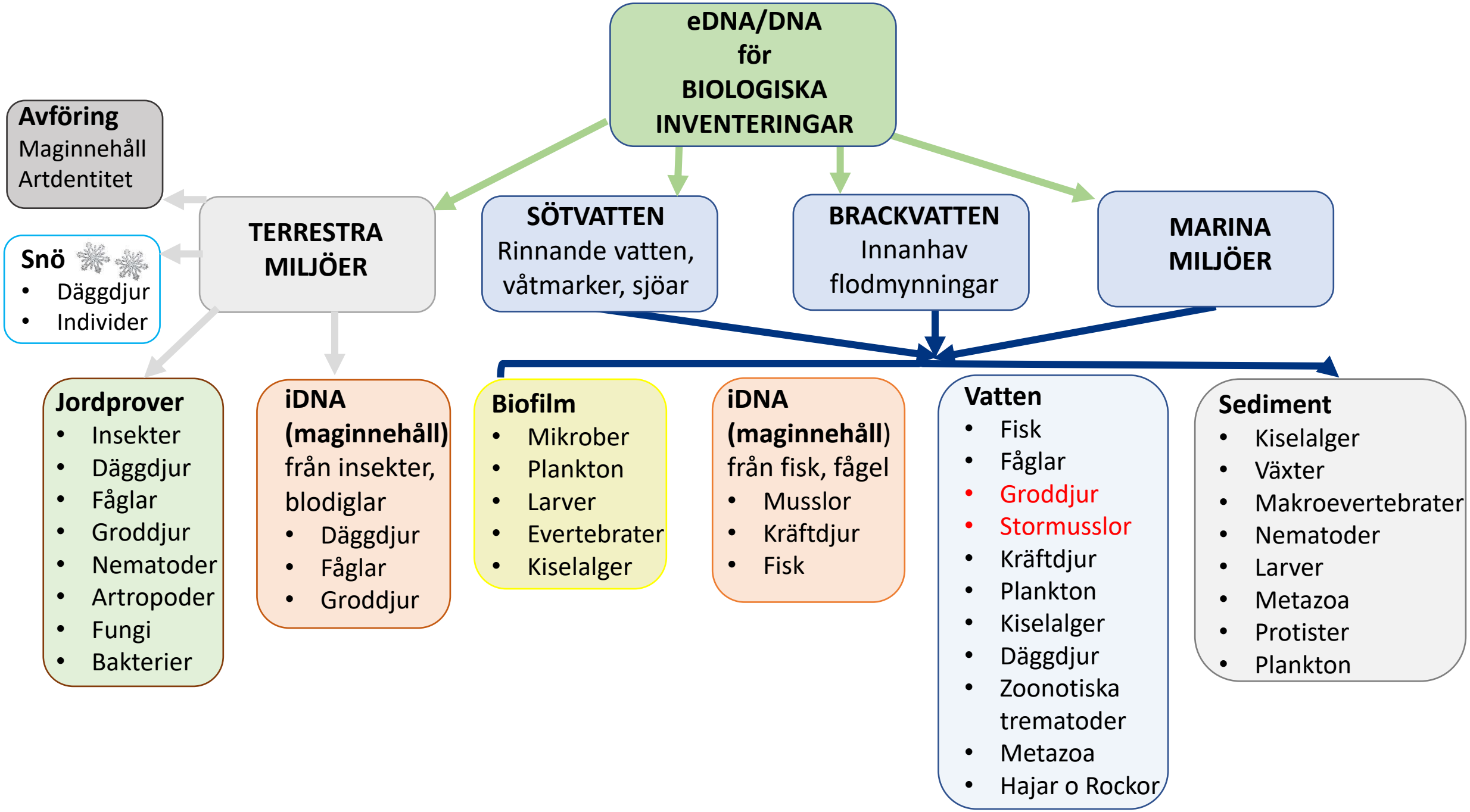
NYA KOMPLETTERANDE VERKTYG BEHÖVS



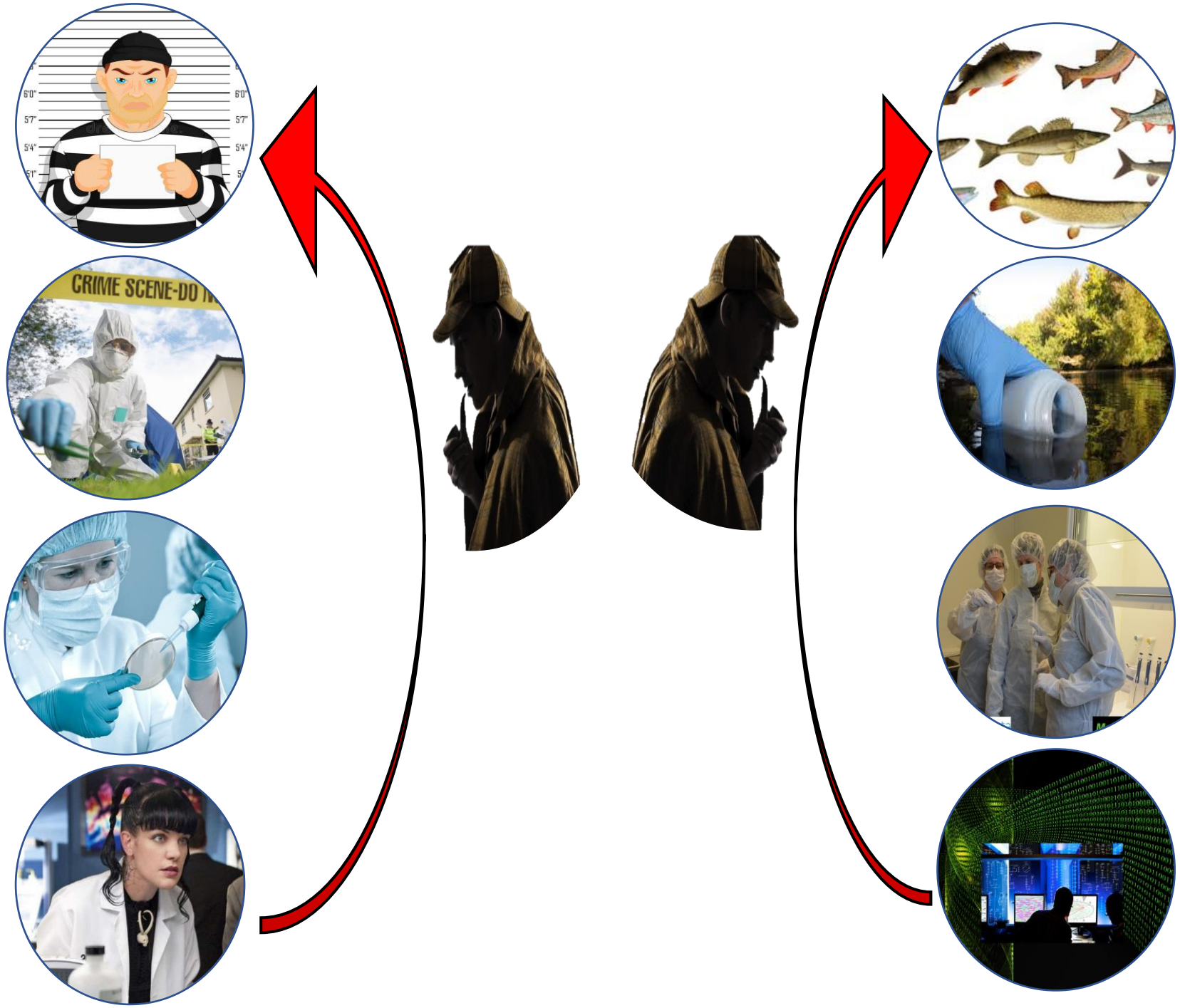


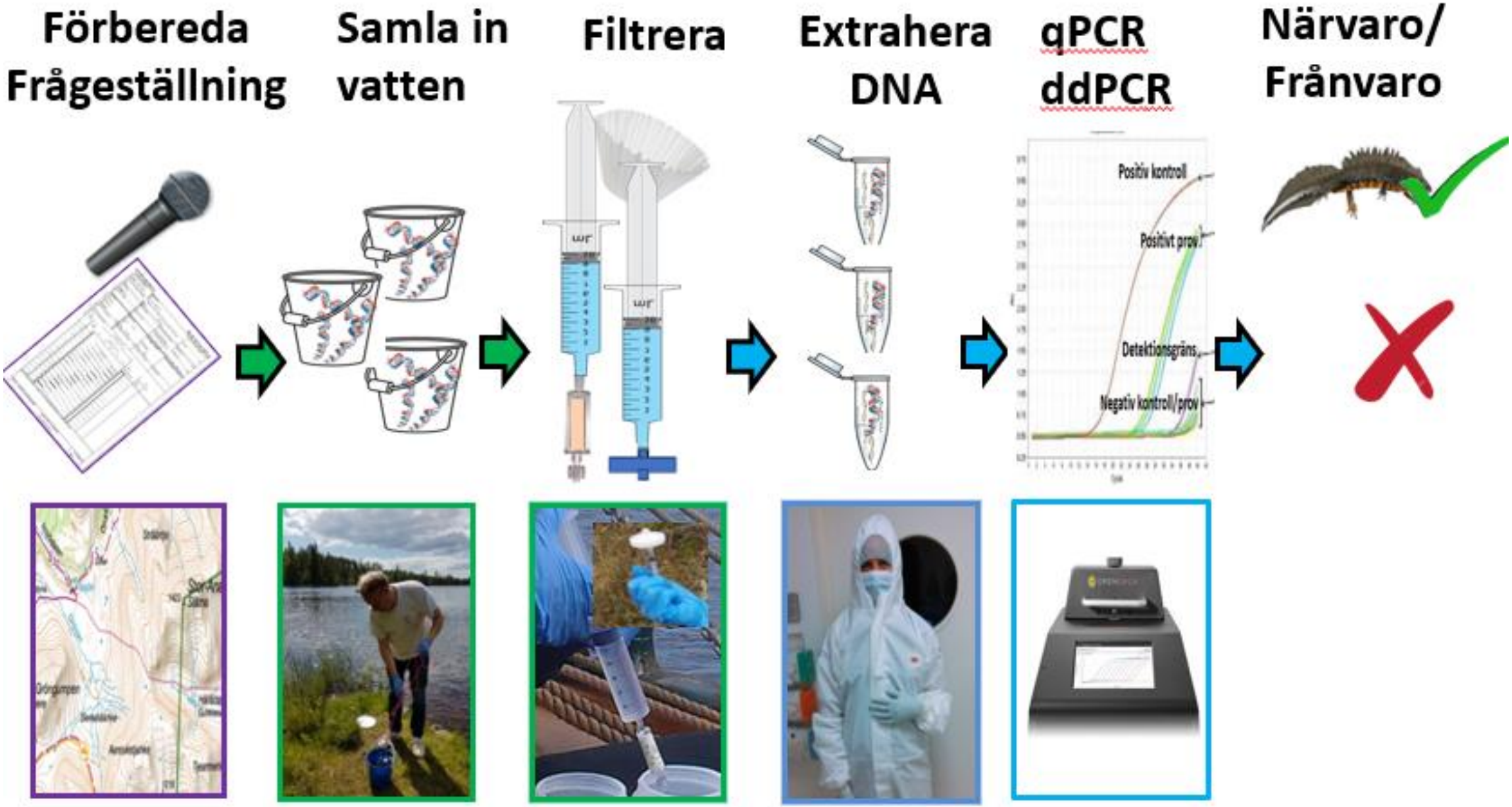
VAD är e-DNA??

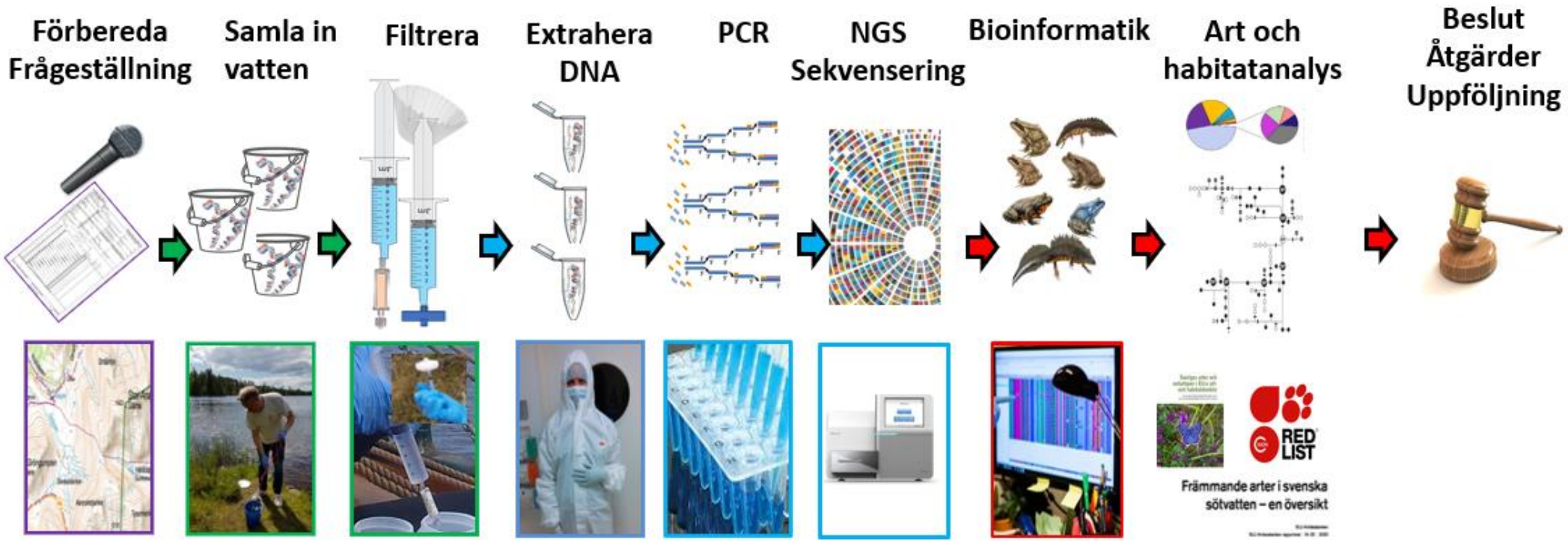
e-DNA e-DNA e-DNA eDNA


eDNA/DNA
för
BIOLOGISKA
INVENTERINGAR
Avföring
Maginnehåll
Artdentitet
Snö
Däggdjur
Individer
TERRESTRA
MILJÖER
SÖTVATTEN
Rinnande vatten,
våtmarker, sjöar
BRACKVATTEN
Innanhav
flodmynningar
MARINA
MILJÖER
Jordprover
Insekter
Däggdjur
Fåglar
Groddjur
Nematoder
Artropoder
Fungi
Bakterier
iDNA
(maginnehåll)
från insekter,
blodiglar
Däggdjur
Fåglar
Groddjur
Biofilm
Mikrober
Plankton
Larver
Evertebrater
Kiselalger
iDNA
(maginnehåll)
från fisk, fågel
Musslor
Kräftdjur
Fisk
Vatten
Fisk
Fåglar
Groddjur
Stormusslor
Kräftdjur
Plankton
Kiselalger
Däggdjur
Zoonotiska
trematoder
Metazoa
Hajar o Rockor
Sediment
Kiselalger
Växter
Makroevertebrater
Nematoder
Larver
Metazoa
Protister
Plankton

CRIME SCENE-DO N


CRIME SCENE-DO


Förbereda Frågeställning
Samla in vatten
Filtrera
Extrahera DNA
qPCR ddPCR
Närvaro/ Frånvaro
Positiv kontroll
Positivt prov
Detektionsgräns
Negativ kontroll/prov


Förbereda
Frågeställning
Samla in
vatten
Filtrera
Extrahera
DNA
PCR
NGS
Sekvensering
Bioinformatik
Art och
habitatanalys
Beslut
Åtgärder
Uppföljning
RED LIST
Främmande arter i svenska
sötvatten – en översikt

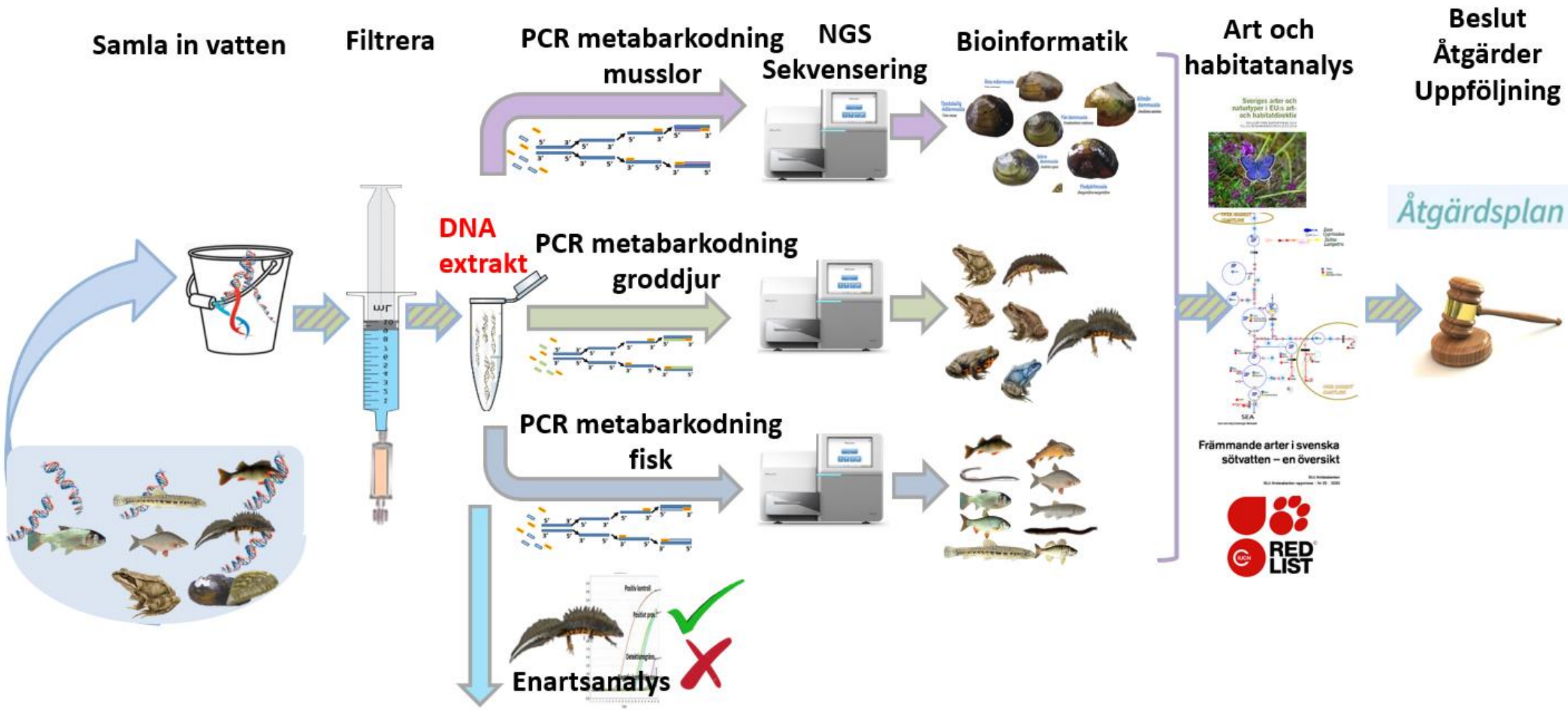
Enartsanalys - Barkodning

CGCCGCGGTTATACGAGA

Ja/Nej

Flerartsanalys - Metabarkoding

			Artlista	Dominans
CGCCGCGGTTATACGAGA	OTU 1	Match		10 %
CACCGCGGTTATACGAGA	OTU 2	Match		65 %
CGCCGCGGTTACACCACT	OTU 3	Match		5 %
CGCCGCGGCTACACCGTG	OTU 4	Match		20 %


Samla in vatten
Filtrera
PCR metabarkodning musslor
NGS Sekvensering
Bioinformatik
Art och habitatanalys
Beslut Åtgärder Uppföljning
DNA extrakt
PCR metabarkodning groddjur
Åtgärdsplan
PCR metabarkodning fisk
Enartsanalys
Positiv kontroll
Positivt prov
Detektionsgräns
Sveriges arter och naturtyper i EU:s art- och habitatdirektiv
SEA
Främmande arter i svenska sötvatten – en översikt
RED LIST

MiSeq FGx
illumina

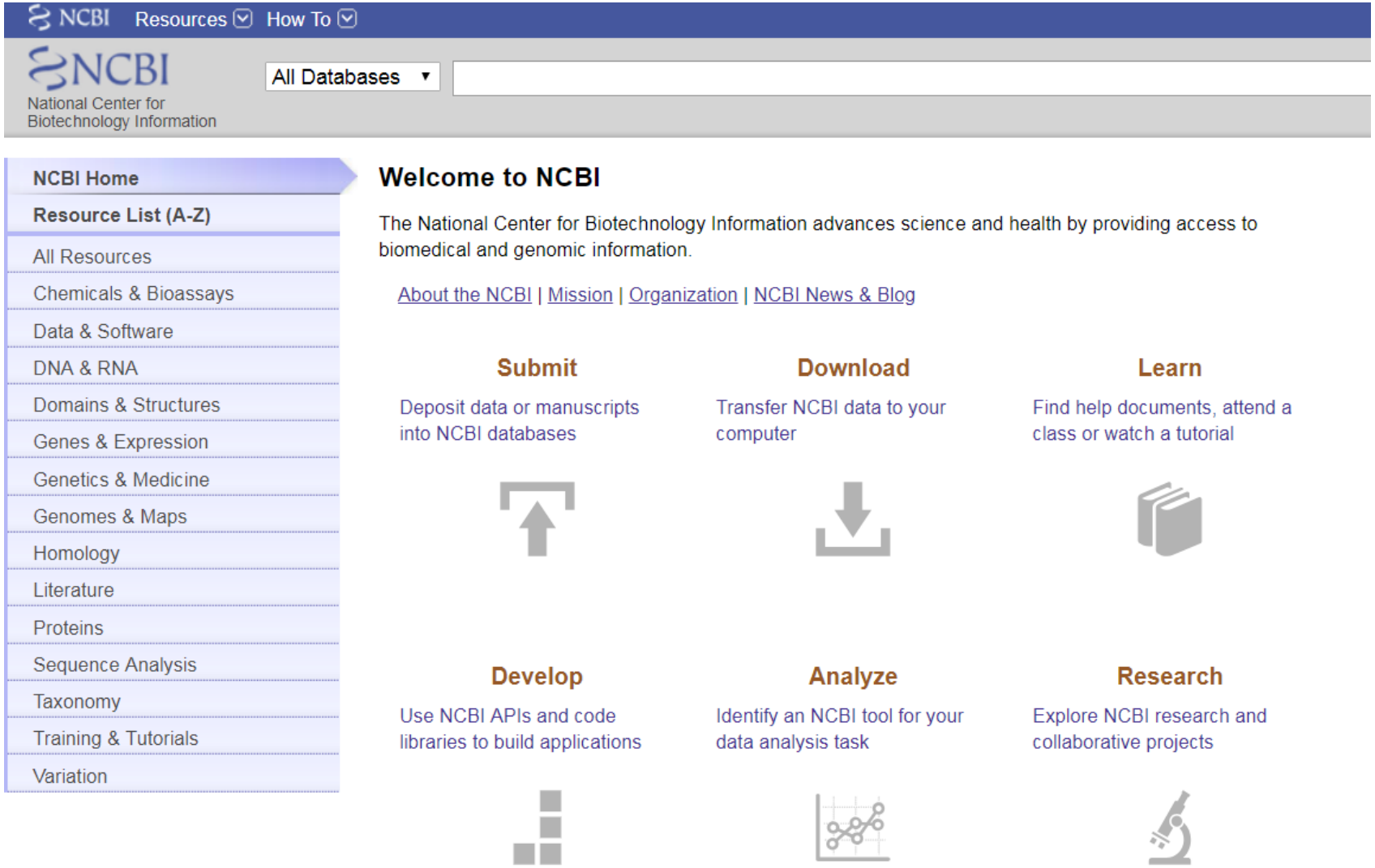
Info från en enda sekvensering

Motsvarar upp till 3 000 ton papper (Taberlet 2013)

micaela.hellstrom@aquabiota.se

Dessa enorma mängder data

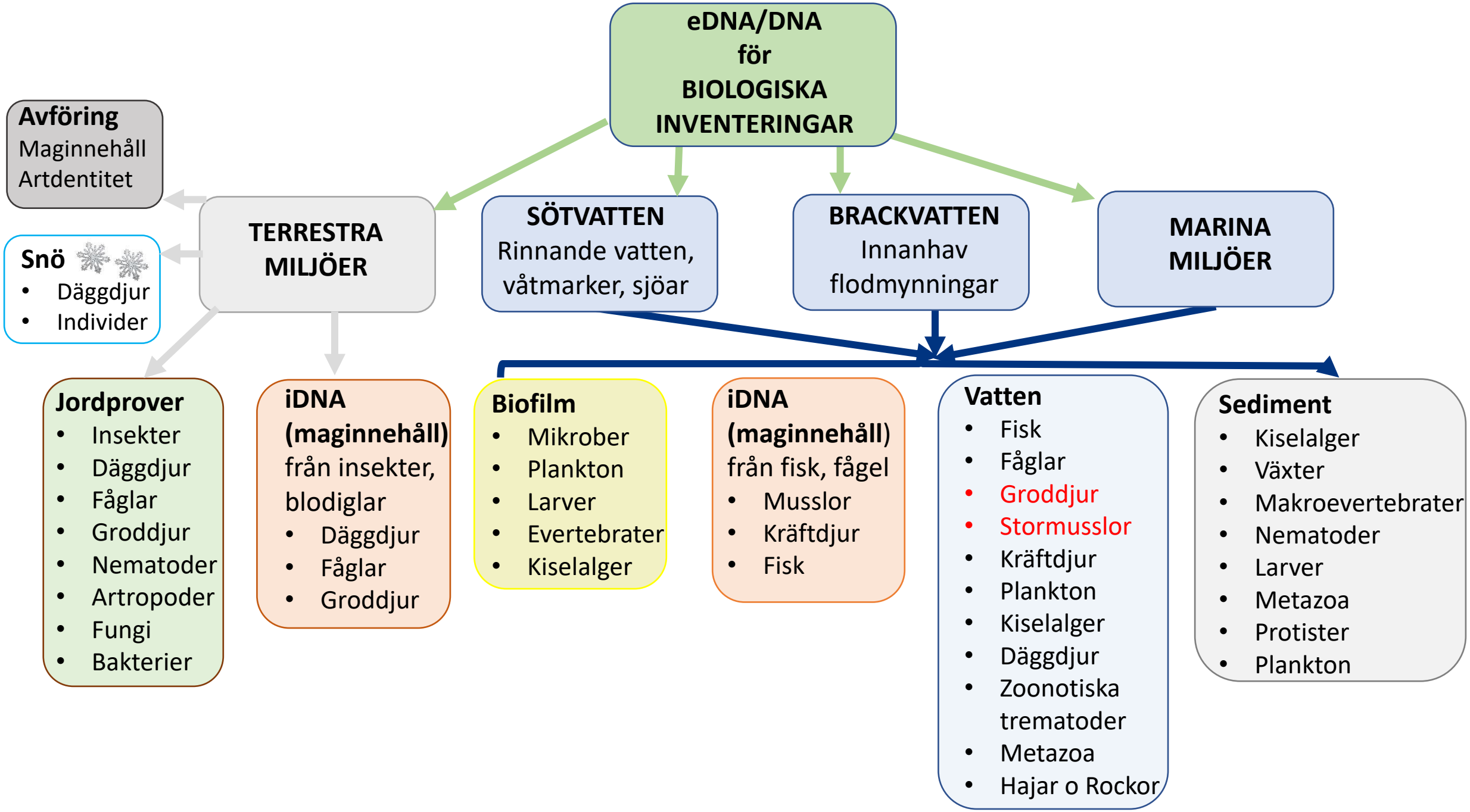
analyseras



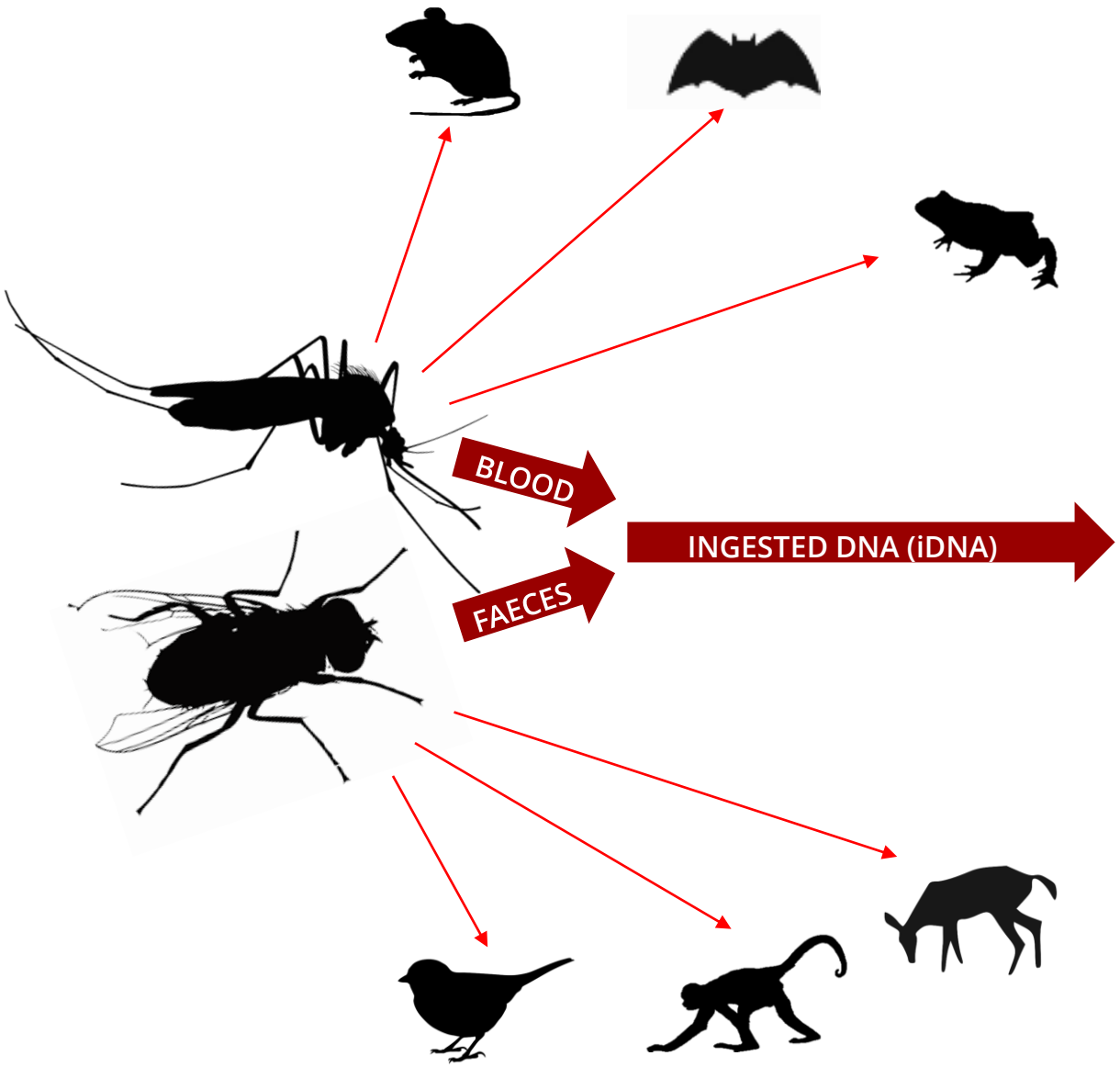
450 000 kända arter med 1 miljard och
6.25 triljoner baspar enligt NCBIs hemsida. (Sayers m.fl. 2020)

……resulterar i en artlista

		LOKAL 1	LOKAL 2	LOKAL 3	LOKAL 7	LOKAL 8	LOKAL 9	LOKAL 10
MÖRT	**286 242**	**65 491**	**34 540**	**28 393**	**18 669**	**53 603**	**53 096**	**32 450**
ABBORRE	**183 784**	**29 223**	**29 270**	**31 655**	**5 075**	**72 044**	**3 213**	**13 304**
BRAXEN	**73 546**	1 785	**21 176**	483	**41 195**	8 303	604	
ÖRING	**21 890**							**21 890**
GÄDDA	**21 388**	1 928	537	3 046	678	6 160	496	8 543
GÄRS	**19 571**	6 364	2 480	7 596		3 131		
SUTARE	**18 736**	1 064	396	2 613	1 312	**13 125**	226	
LÖJA	**18 365**	3 603	837	3 373		8 582	1 094	876
ELRITSA	**11 140**		160	5 274				5 706
SARV	**7 816**		1 369	1 081	675	4 143		548
NISSÖGA	**6 745**	646		3 375		2 724		
SMÅSPIGG	**6 633**			483				6 150
ID	**5 627**	1 960	3 667					
ÅL	**5 165**			5 165				
LAKE	**3 141**			666	655	290		1 530
STENSIMPA	**2 876**	2 514	362					
FÄRNA	**2 503**	2 503						
BJÖRKNA	**1 743**		1 463		227	53		
NEJONÖGON	**536**							536
SILVERKARP	**124**			**124**				
TOTALT	**ARTER**	**11**	**12**	**14**	**8**	**11**	**6**	**10**


eDNA/DNA
för
BIOLOGISKA
INVENTERINGAR
Avföring
Maginnehåll
Artdentitet
Snö
Däggdjur
Individer
TERRESTRA
MILJÖER
SÖTVATTEN
Rinnande vatten,
våtmarker, sjöar
BRACKVATTEN
Innanhav
flodmynningar
MARINA
MILJÖER
Jordprover
Insekter
Däggdjur
Fåglar
Groddjur
Nematoder
Artropoder
Fungi
Bakterier
iDNA
(maginnehåll)
från insekter,
blodiglar
Däggdjur
Fåglar
Groddjur
Biofilm
Mikrober
Plankton
Larver
Evertebrater
Kiselalger
iDNA
(maginnehåll)
från fisk, fågel
Musslor
Kräftdjur
Fisk
Vatten
Fisk
Fåglar
Groddjur
Stormusslor
Kräftdjur
Plankton
Kiselalger
Däggdjur
Zoonotiska
trematoder
Metazoa
Hajar o Rockor
Sediment
Kiselalger
Växter
Makroevertebrater
Nematoder
Larver
Metazoa
Protister
Plankton

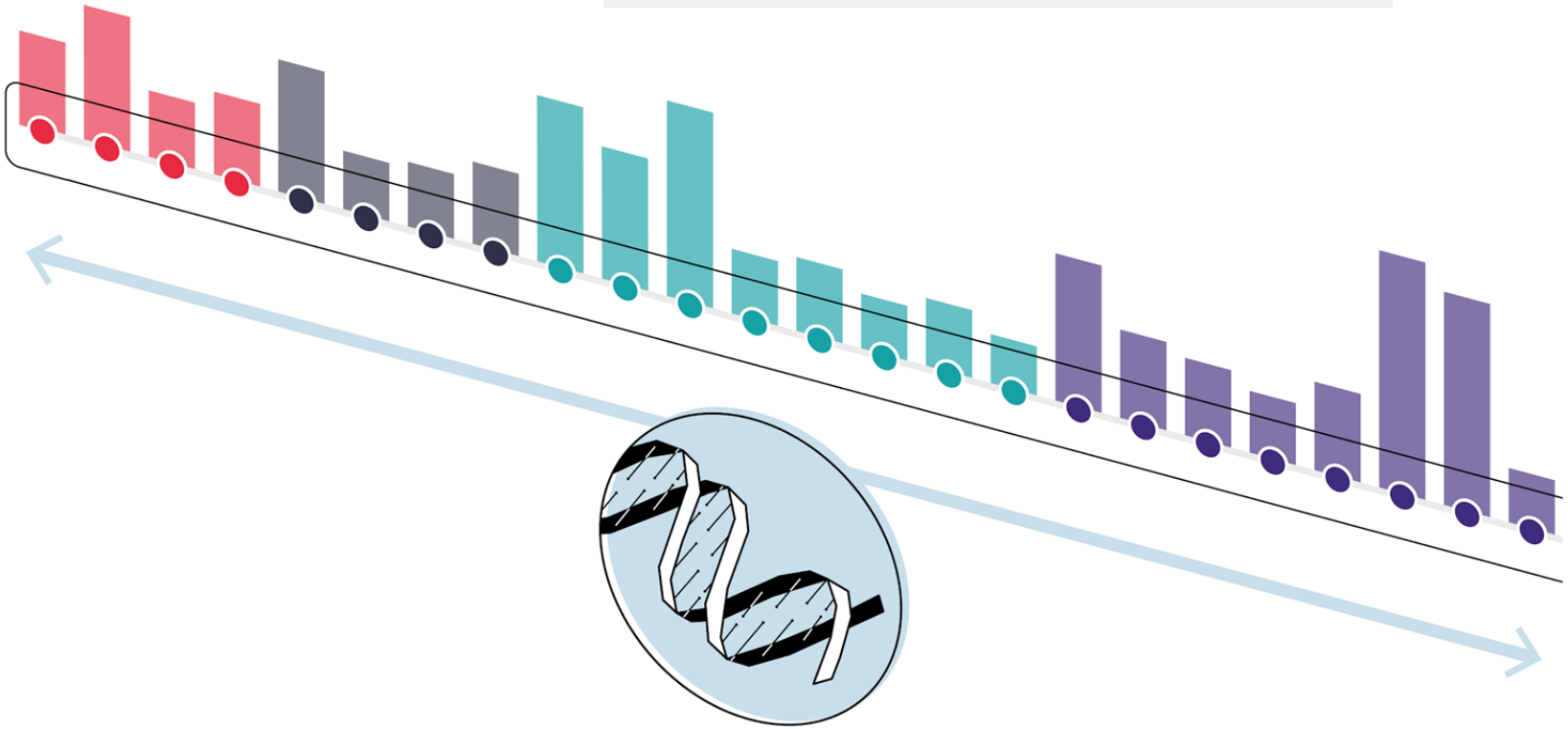
Insekter kan användas för att ta reda på ryggradsjur de lever på



iDNA eller ingestion DNA tas från insektblod, blodiglar etc

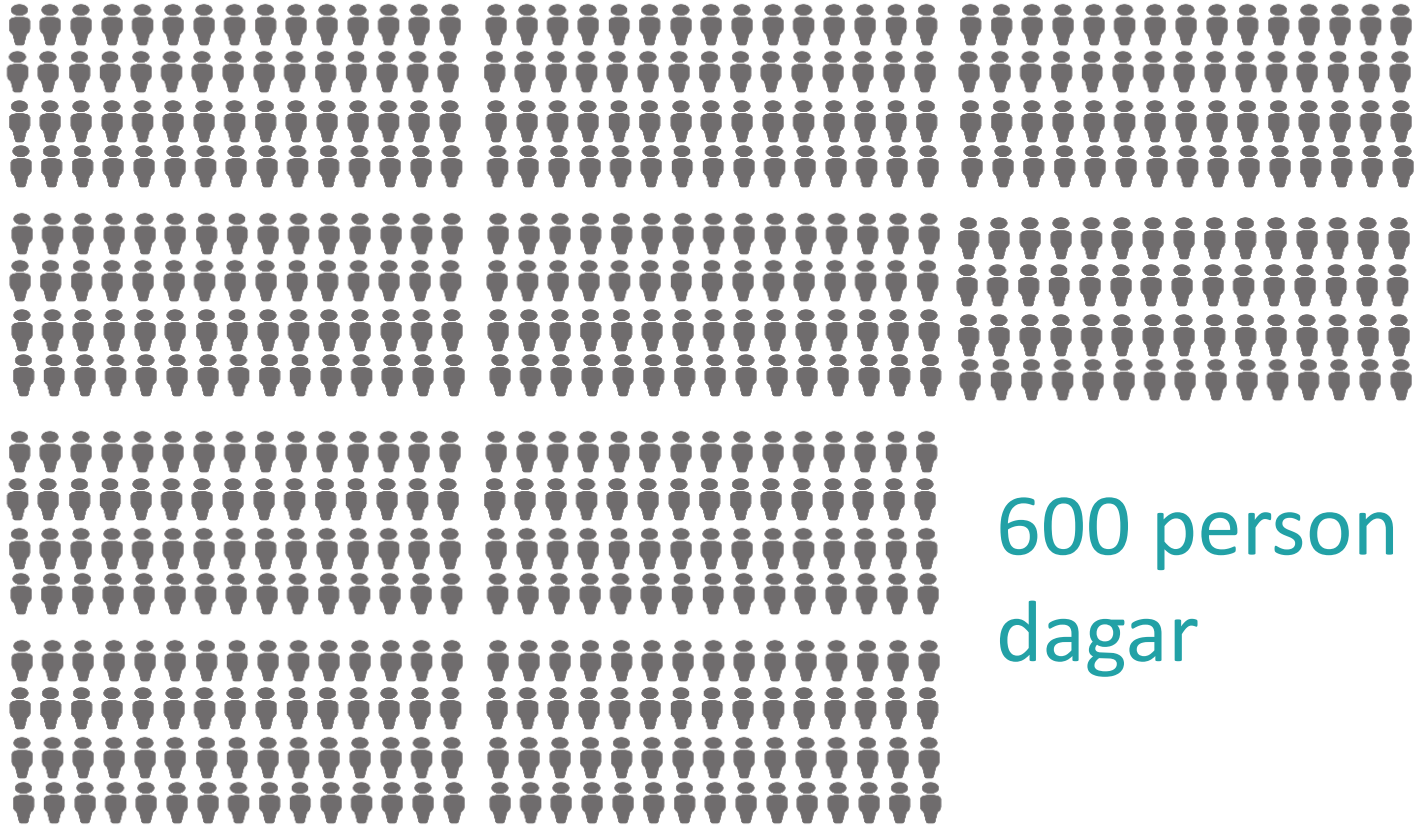
eDNA för att övervinna inventerings utmaning - paradigmshift

eDNA ger data som tidigare var omöjligt att erhålla. Mycket data över stora geografiska områden



Kostnader i Peru Amazonas: Persondagar I avlägsna områden

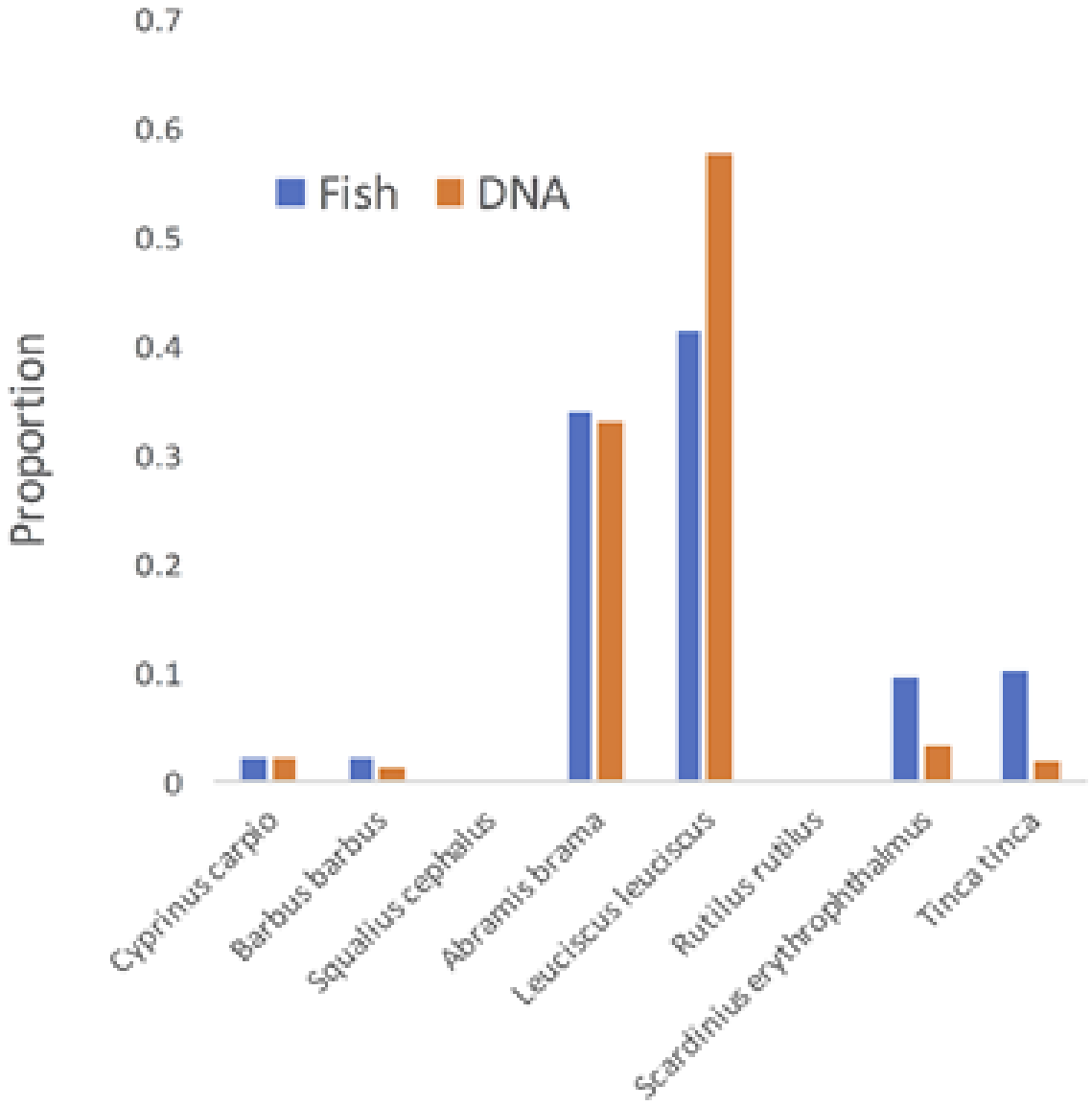
Traditionella metoder



600 person dagar

20 person dagar

Relativ Biomassa i damm
FISK eDNA



Exempel på projekt

eDNA för mijöövervakning

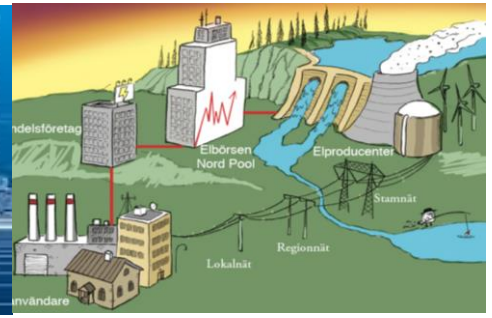
Tillståndsprövningar

Vikt att veta arters förekomst

Komplett storskaligt data sparar ekonomiska och tidsresurser

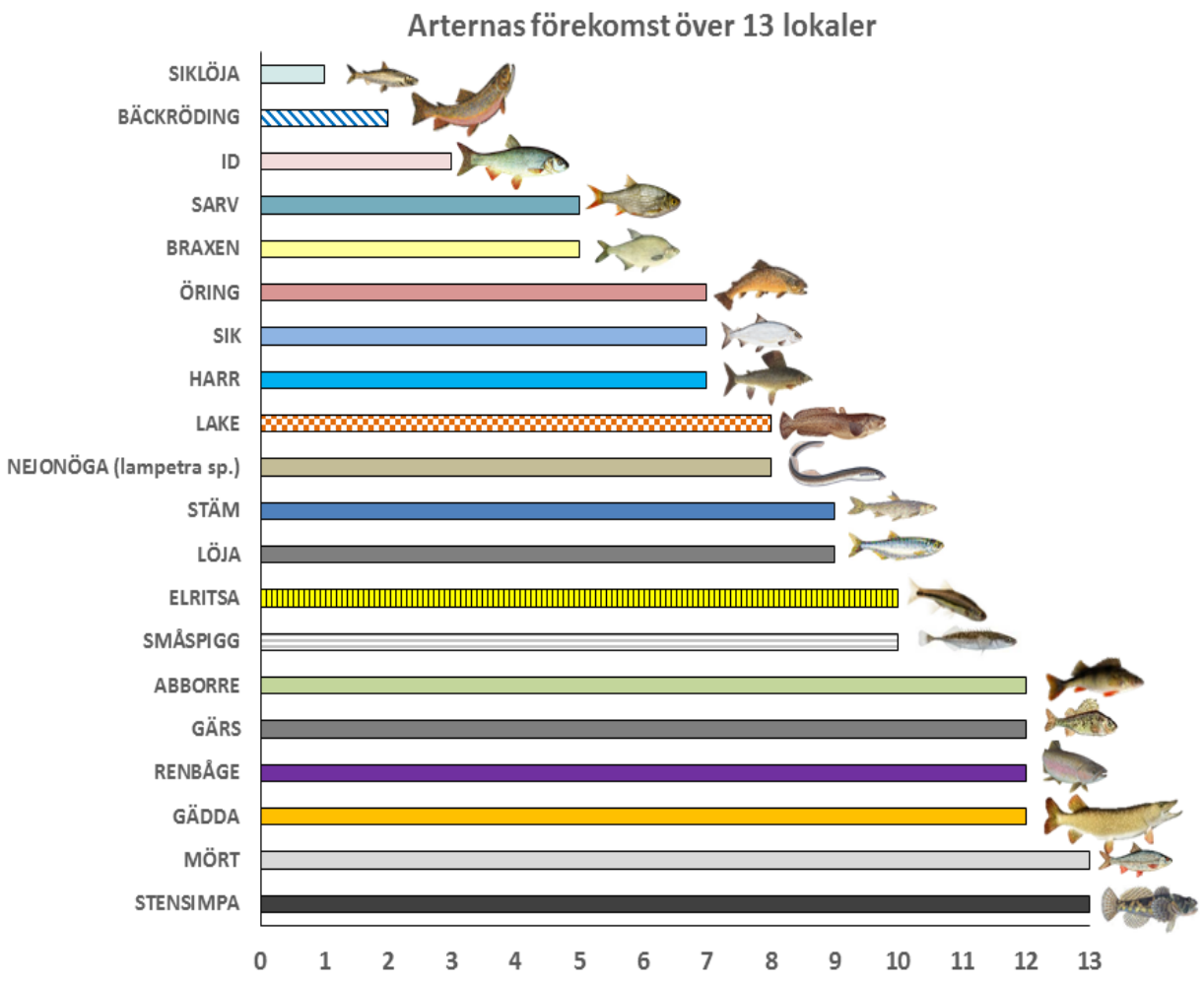
Mindre risk för överraskningar efter påbörjat arbete med infrastruktur

Åtgärder



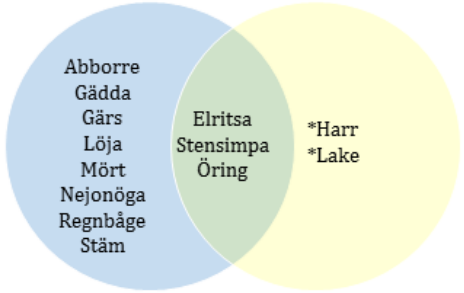
Fiskartsförekosmt ovan och nedan Spjutmo kraftverk med eDNA som inventeringsmetod.

Hellström M[1], Spens J[1], Kat Bruce[2], Jialnong Li[3], Watson H[3], Isaeus M[1], and Hänfling B[3].

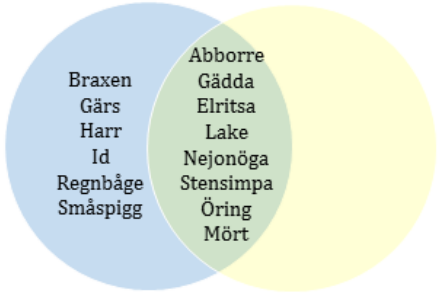


eDNA vs. ELFISKEN

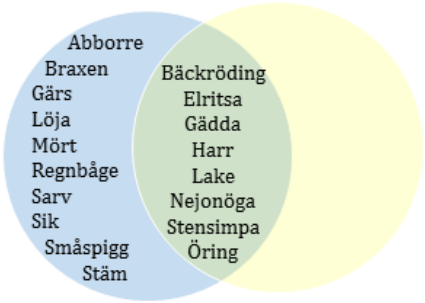
A. VATTENDRAG UPPSTRÖMS KV (L-2, 3)



B. VATTENDRAG NEDSTRÖMS KV (L-1, 10)

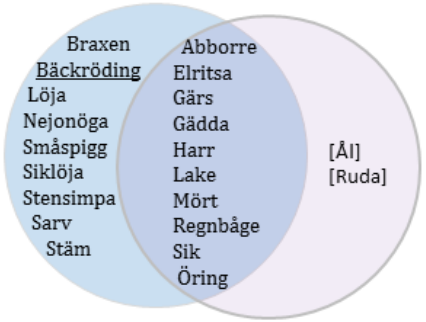


C. SPJUTMOSJÖN, (L-7)



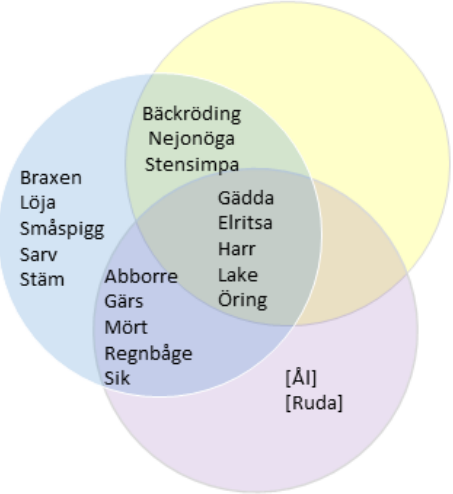
eDNA vs. INTERVJUER

D. SPJUTMOSJÖN (L-5, 6, 7, 8,9, 12, 13)



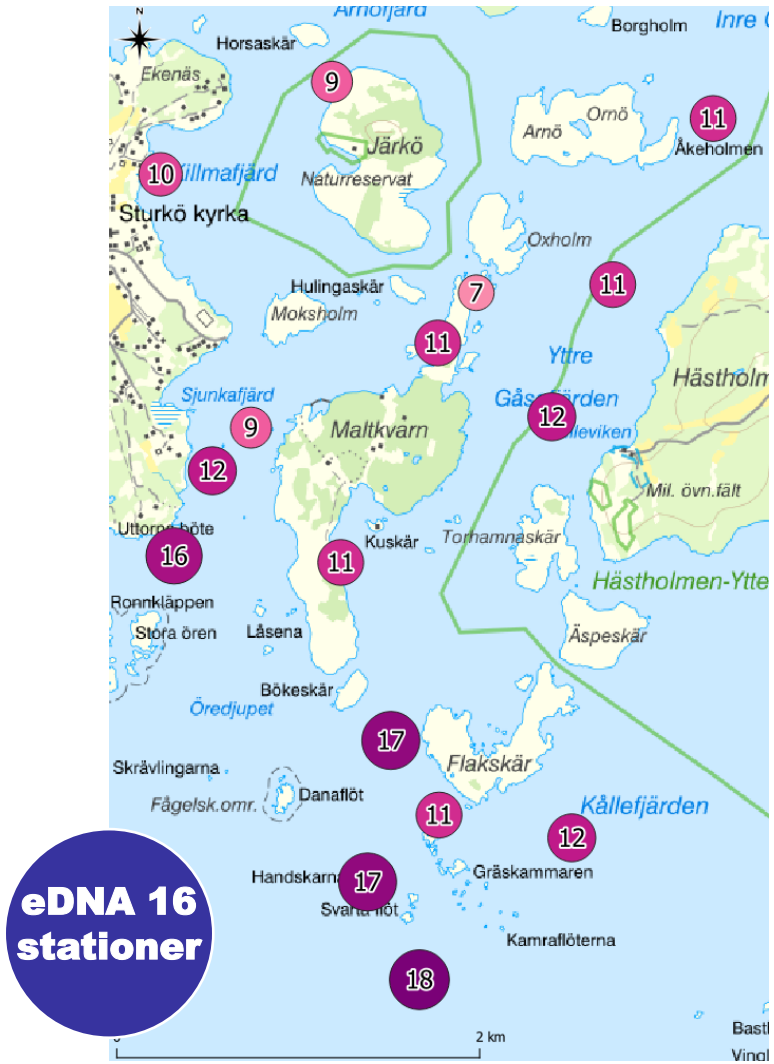
eDNA vs. ELFISKEN vs.INTERVJUER

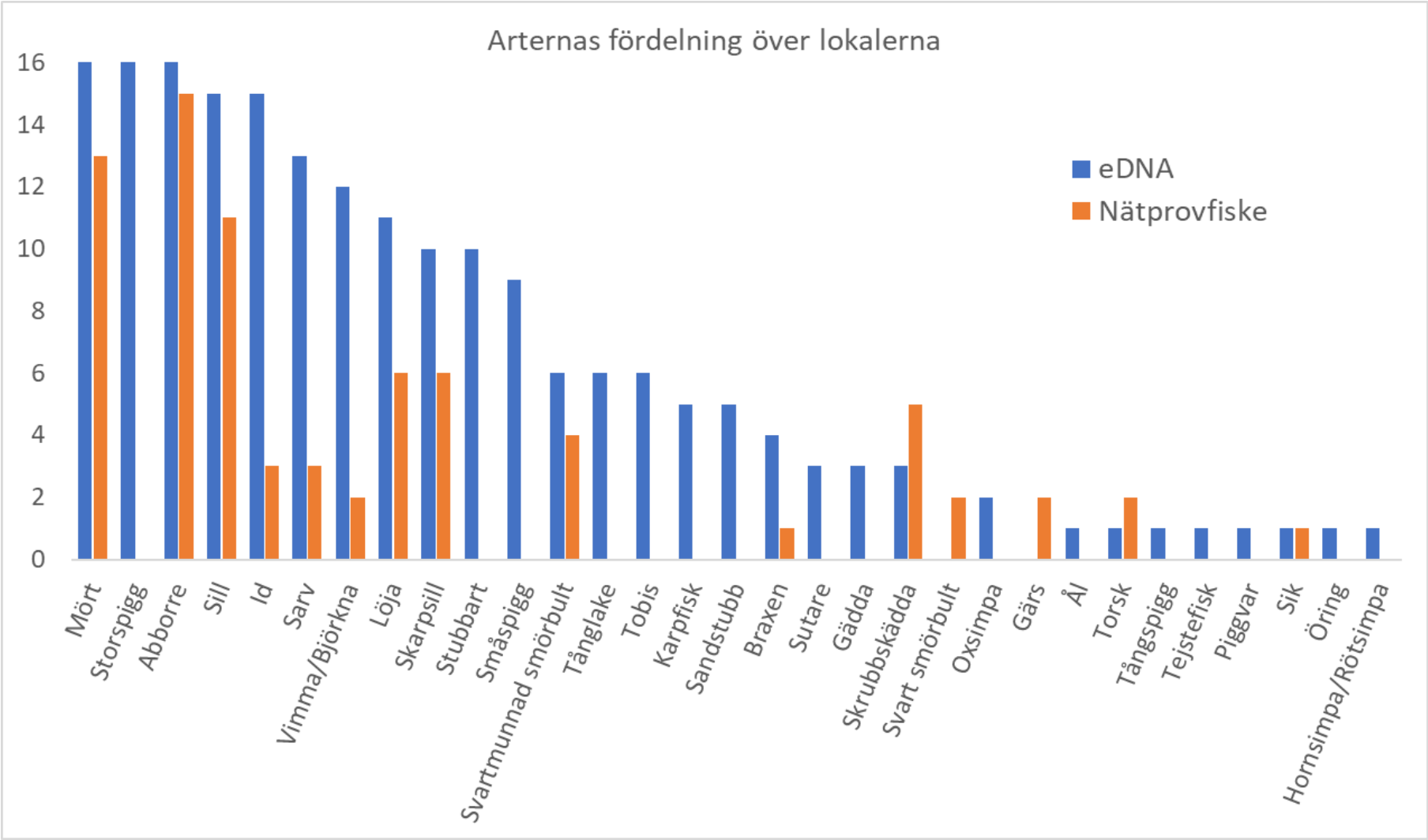
E. SPJUTMOSJÖN, (L-7)



Karlskrona Skärgård

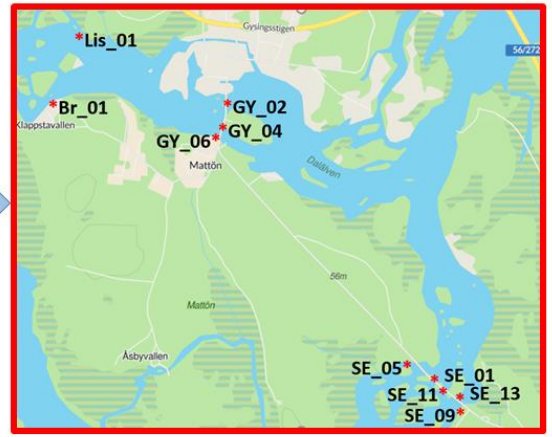
Antalet fiskarter per local – översiktsnät vs. eD




Arternas fördelning över lokalerna
16
14
12
10
8
6
4
2
0
eDNA
Nätprovfiske
Mört
Storspigg
Abborre
Sill
Id
Sarv
Vimma/Björkna
Löja
Skarpsill
Stubbart
Småspigg
Svartmunnad smörbult
Tånglake
Tobis
Karpfisk
Sandstubb
Braxen
Sutare
Gädda
Skrubbskädda
Svart smörbult
Oxsimpa
Gärs
Ål
Torsk
Tångspigg
Tejstefisk
Piggvar
Sik
Öring
Hornsimpa/Rötsimpa

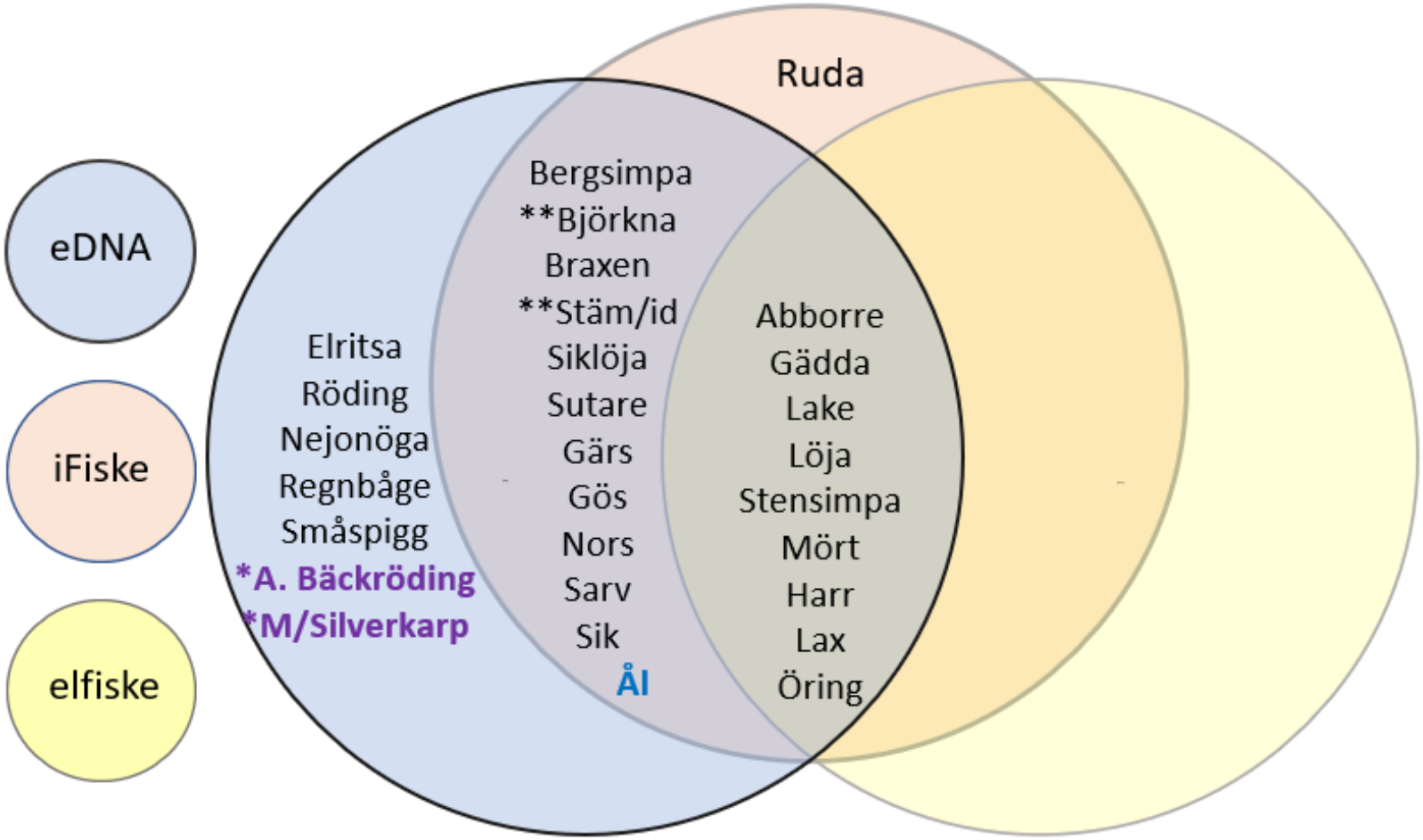
Länsstyrelsen Gävleborg

MIX RESEARCH



Länsstyrelsen Gävleborg

MIX RESEARCH



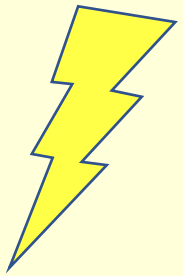
Länsstyrelsen Gävleborg

MIX RESEARCH

el totalt	2014	2015	2016	2018	2019	2020	2020
8							19
Lax							**Ål**
Lake							**Braxen**
Löja							**Id/Stäm**
Gädda							**Elriza**
Harr							**Fjällröding**
Abborre							**Sutare**
Mört							**Björkna**
Stensimp							**Gärs**
							Gös
							Regnbåge
							Am Bäckröding
							Öring
							Lax
							Lake
							Löja
							Gädda
							Abborre
							Mört
							Stensimpa
	3	5	6	4	4	5	
	Abborre	Gädda	Löja	Lake	Lax	**Harr**	
	Mört	**Harr**	Gädda	Abborre	Abborre	Mört	
	Stensimpa	Lake	Lake	Löja	Mört	Lake	
		Löja	Abborre	Mört	Stensimpa	Abborre	
		Stensimpa	Mört	Stensimpa		Stensimpa	
			Stensimpa				

el totalt	2014	2015	2016	2019	2020
8					11
Lax					**Braxen**
Löja					**Elriza**
Öring					**Am. B-röding**
Mört					**Regnbåge**
Lake					**Gärs**
Gädda					**Sik**
Abborre					Löja
Stensimpa					Lake
					Gädda
					Abborre
					Stensimpa
	6	4	6	5	
	Öring	Lake	**Öring**	**Öring**	
	Mört	Gädda	**Mört**	**Lax**	
	Lake	Abborre	Lake	Lake	
	Gädda	Stensimpa	Löja	Abborre	
	Abborre		Abborre	Stensimpa	
	Stensimpa		Stensimpa		

Elfiske – fokus på öring, lax och stensimpa



Anpassat för fisk som dyker ner på botten och stannar

Användbart på grunda vattten

De flesta andra arter flyr när de känner elström: Stäm, mört, harr m fl

Ger data p[[lder, k;n

eDNA – biologisk mångfald

Kan även anpassas för enskilda arter

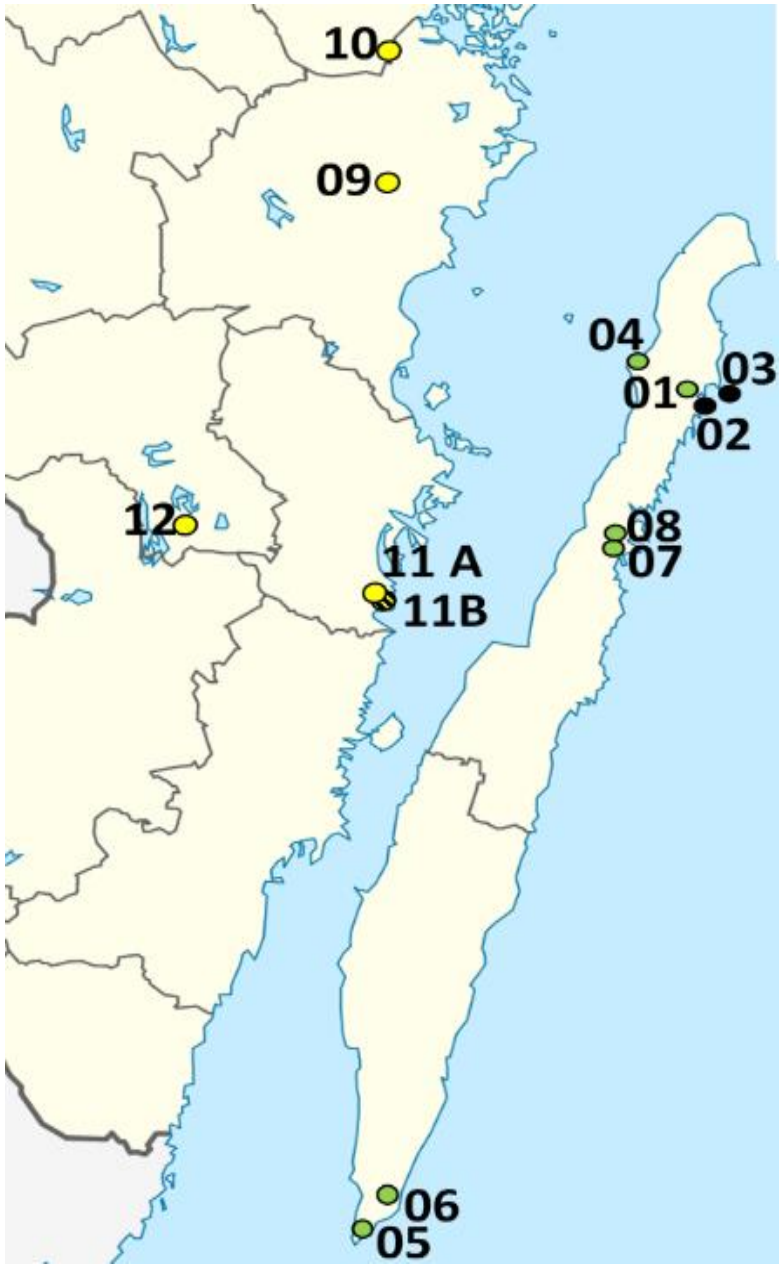
-eDNA signalen där arten inte är närvarande släcks ut SNABBT där arter inte närvarande

-eDNA ger ändå 2-3 ggr fler arter.

Många fångas ej med el ens om många fler decenniers elfiske läggs till.

Inventering av fiskar, groddjur, stormusslor och Chytridiomykos (BD) med akvatiska eDNA analyser i Kalmar län, 2021

Länsstyrelsen
Kalmar län



1 a. Lilla Hamnen utlopp

2. Kustvatten Högby Hamn

4. Stenbrottet Horns Udde

5. Dammar Fyrbyn Ottenby

6. Brushanekärret Ottenby

7. Petgärde träsk

8. Djurstad träsk

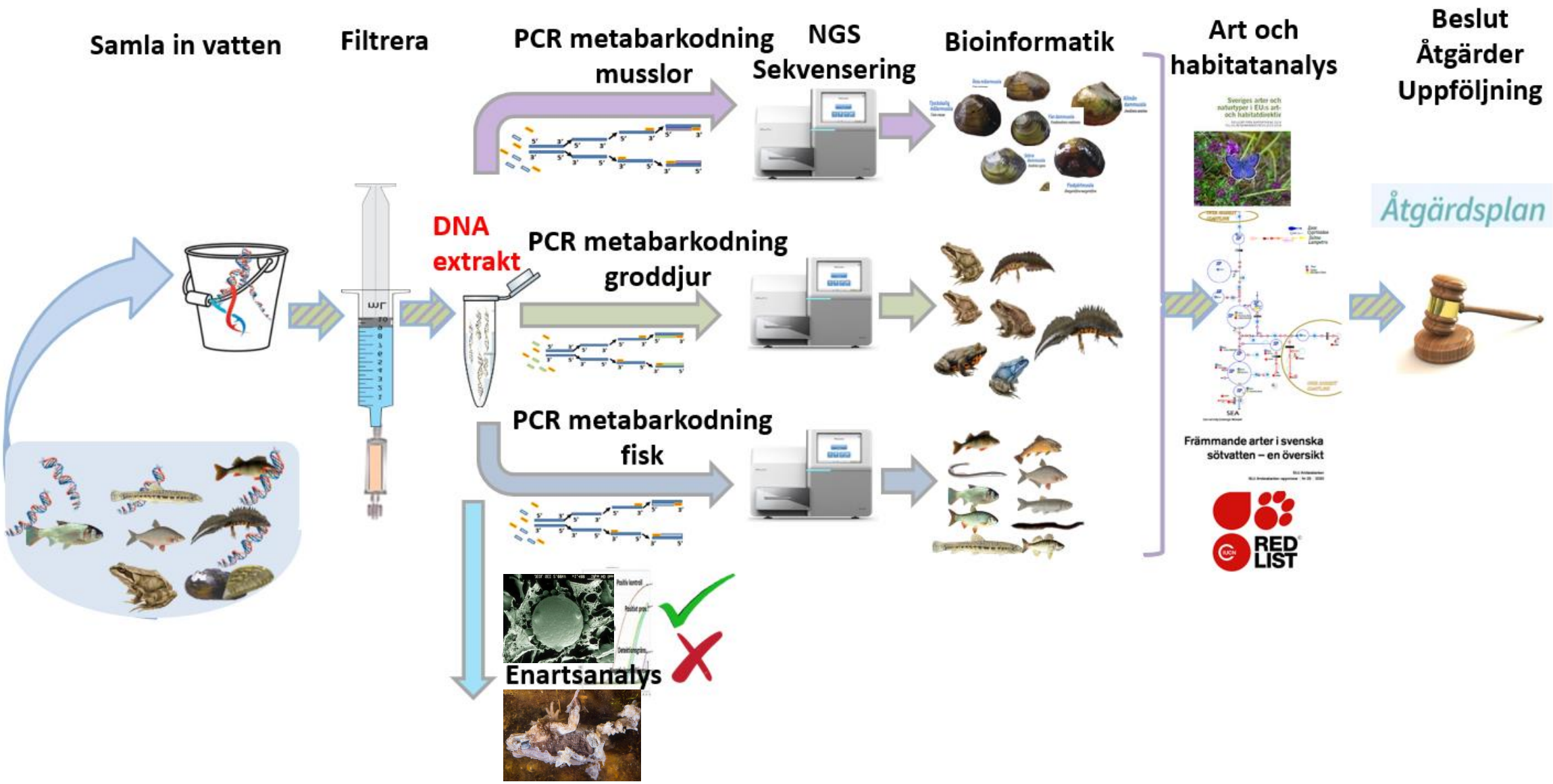
9.
Återskapad våtmark, Stamsjövägen

10. Mörtfors

11a. Alsteråns mynning uppströms

11b. Alsteråns mynning mot havet

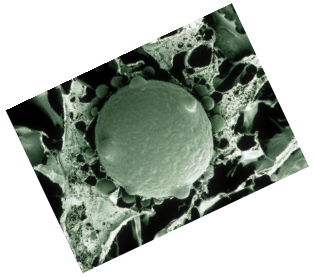
12. Uddevallahyttan


Samla in vatten
Filtrera
PCR metabarkodning musslor
NGS Sekvensering
Bioinformatik
Art och habitatanalys
Beslut Åtgärder Uppföljning
DNA extrakt
PCR metabarkodning groddjur
PCR metabarkodning fisk
Åtgärdsplan
Enartsanalys
Sveriges arter och naturtyper i EU:s art- och habitatdirektiv
Främmande arter i svenska sötvatten – en översikt
RED LIST

82 arter

ÖL	
Abborre	
Björkna /Vimma	
Björkna /Vimma	
Björkna/Vimma	
Braxen	
Elritsa	
Gädda	
Gärs	
Gös	
Id/Stäm	
Lerstubb	
Mört	
Näbbgädda	
Nejonöga	
Öring	
Sandstubb	
Sarv	
Skrubbskädda	
Småspigg	1
Stensimpa	
Storspigg	
Strömming	
Sutare	
Svartmunnad smörbul	
Padda	
Mindre vattensalaman	
Stötrre vattensalaman	
Mink	

Art
Abborre/Gös
Björkna/Vimma
Elritsa
Gädda
Gers
Id
Lake
Lax
Lerstubb
Mal
Mört
Näbbgädda
Nejonöga (flod/bäck)
Plattfisk
Ringbuk
Ruda
Sandstubb
Sjuströlig smörbult
Småspigg
Stensimpa
Storspigg
Strömming
Sutare
Svartmunnad smörbult
Tånglake
Tångsnälla
Ål
Öring
Vanlig padda
Åkergroda
Vanlig groda
Mindre Vattensalaman
Större Vattensalamand
Kronhjort
Vattennäbbmus
Fälthare
Vattensork
Mindre/Större Skogsmu
Ko
Kylckling
Får
Gris
Hund
Människa

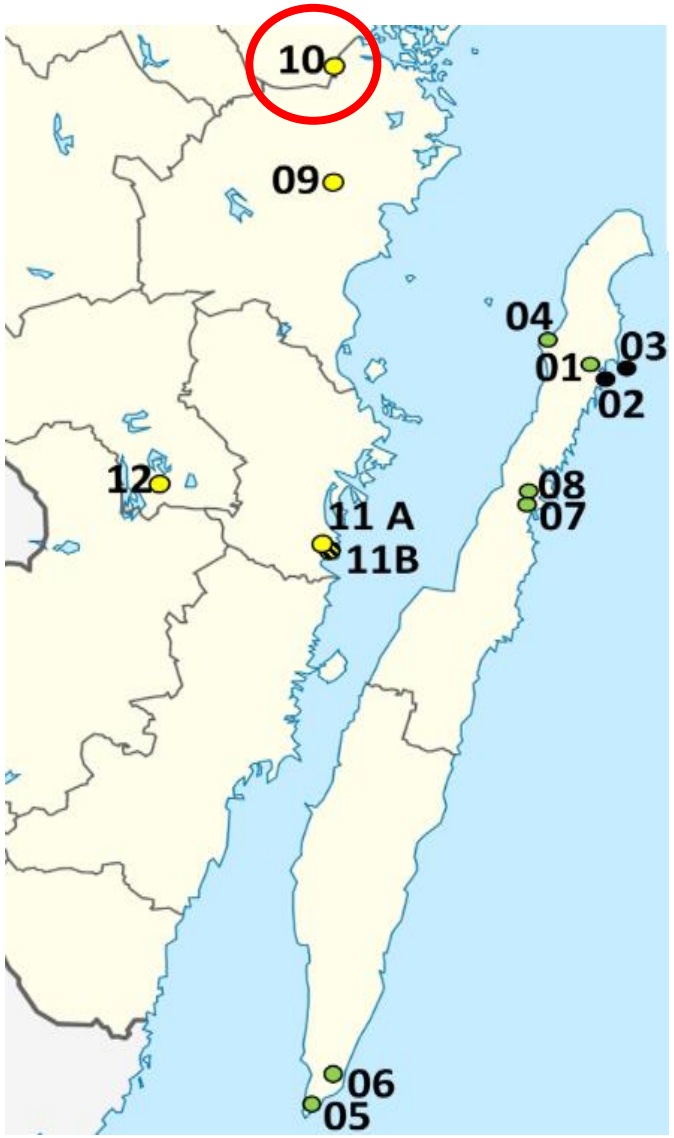


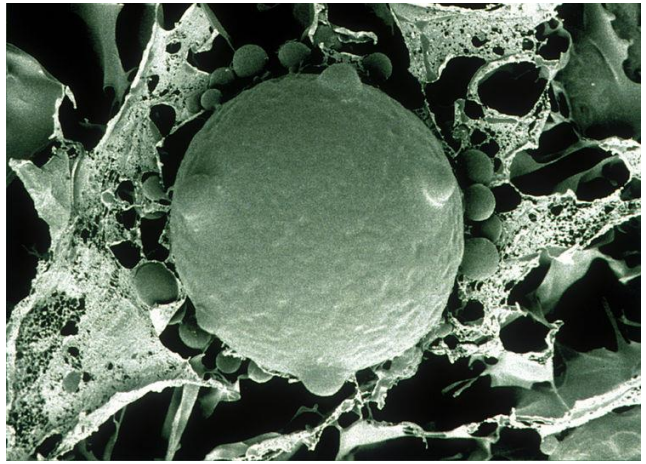
Art
Drillsnäppa
Duvart
Grå flugsnappare
Gråhäger
Gräsart
Grönbena/Rödbena
Havsörn/Jättehavsörn
Knipa
Ladusvala
Morkulla
Ormvråk
Rödhake
Rostand
Skärfläcka
Sothöna
Stare
Storskarv
Strandskata (NT)
Talgoxe
Talltita/Svartmes
Taltrast
Tofsvipa (VU- Sårbar)
Trana
Vattenrall
Kråkfågelart (Corvus sp
Måsart (laridae sp.)
Andart (Anatiade sp.)
Passeriformes

Art
Allmän ärtmussla a
Allmänn klotmussla
Glänsande ärtmussla b
Glatt ärtmussla
Kantig ärtmussla
Kärrärtmussla
Nordlig hjärtmussla
Östersjömussla
Stor ärtmussla
Sned ärtmussla*/Flodärtmussla
Läsningar totalt

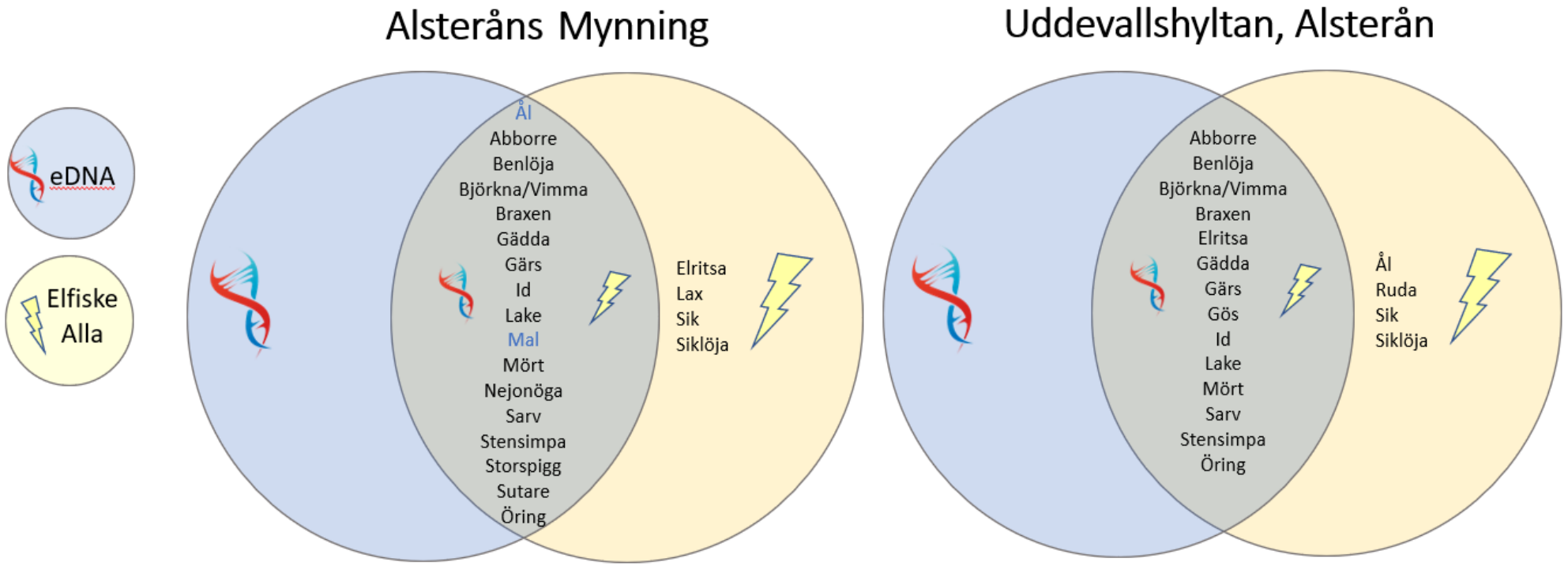
Art Svenska
Blåmussla
Allmän dammussla
Större dammussla
Flat dammussla
Äkta målarmussla
Spetsig målarmussla
Tjockskalig målarmussla

Enartsanalys Chytridmykos (BD) *Batrachochytrium dendrobatidis*





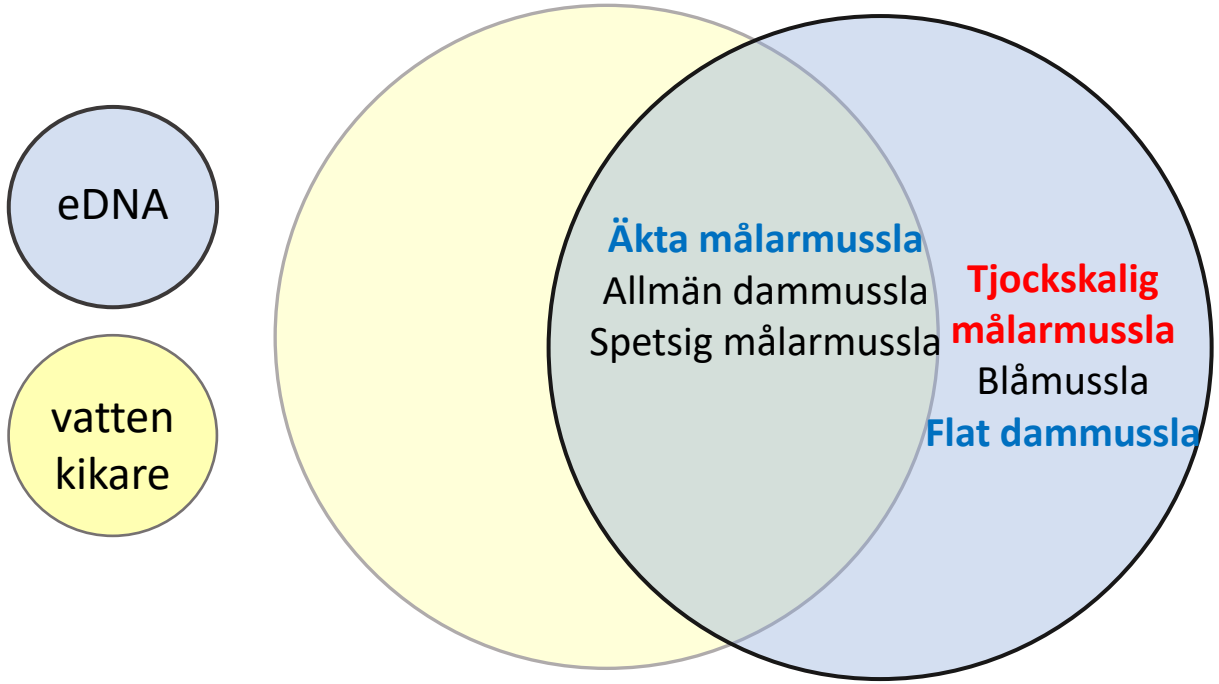
Fisk Alsterån

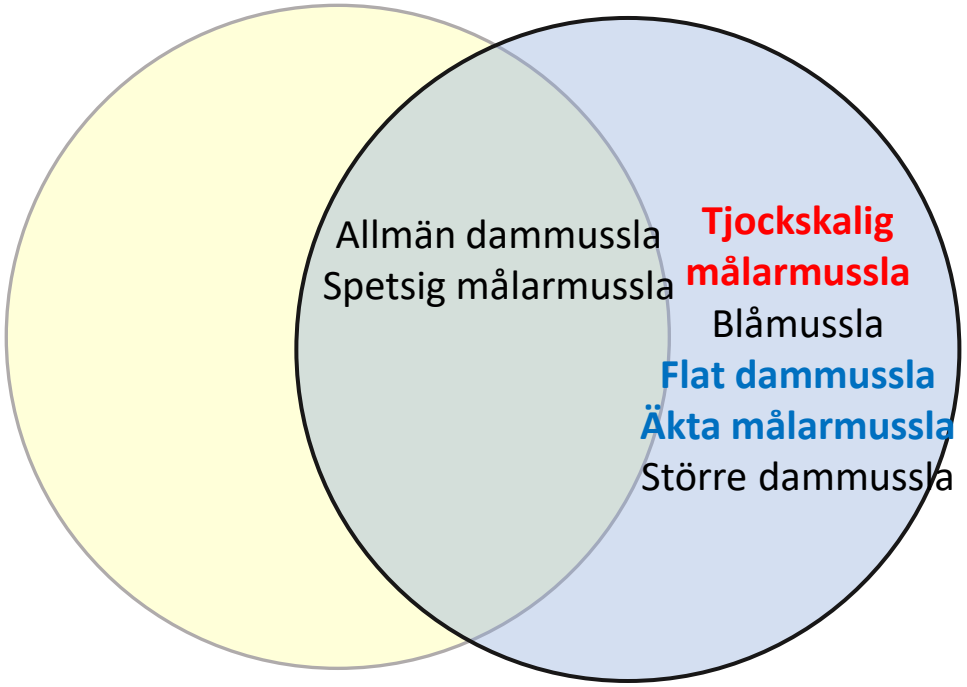


MIX RESEARCH

Länsstyrelsen
Kalmar län

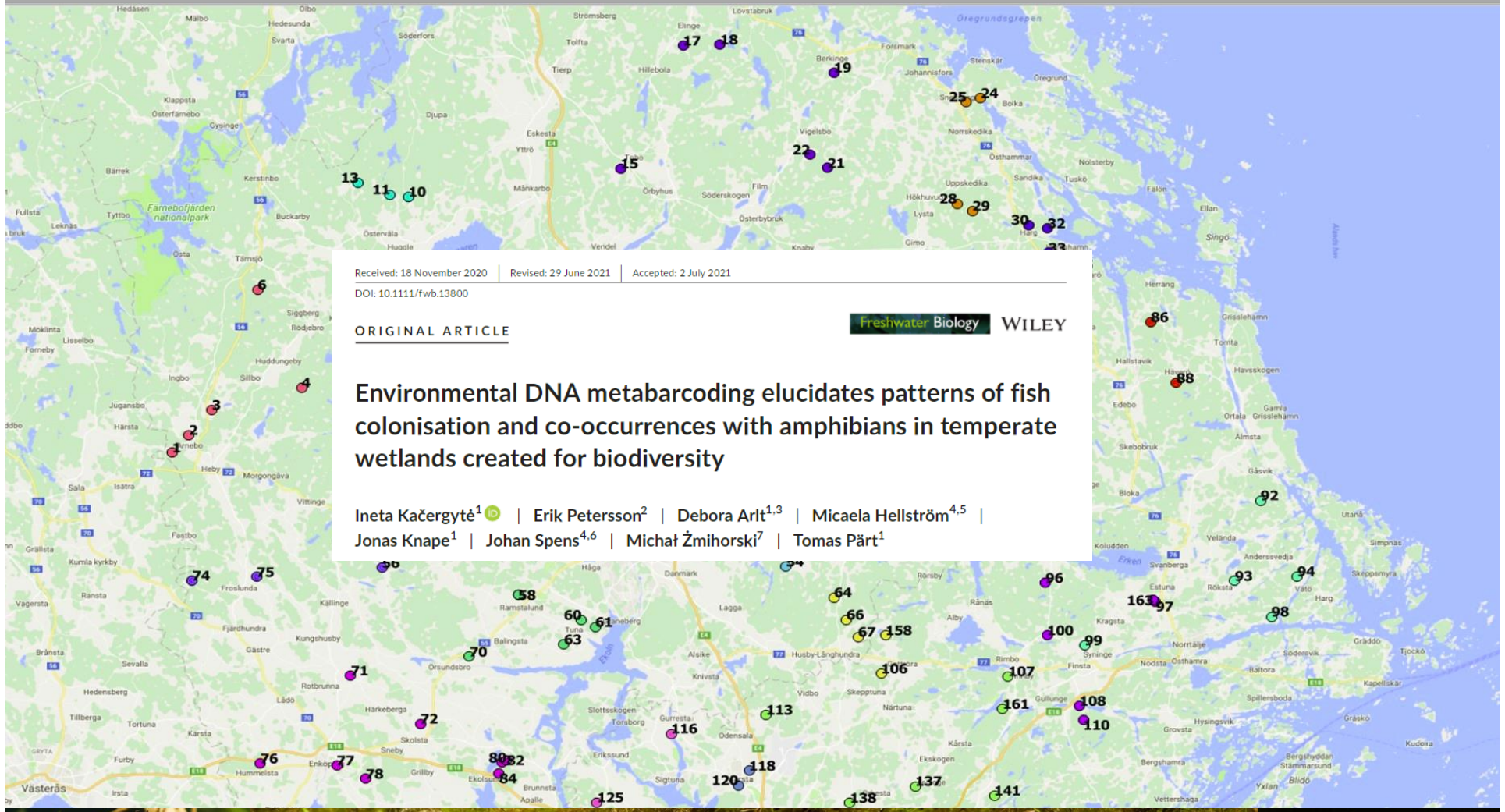
Stormusslor Alsterån





Länsstyrelsen Kalmar län

54 fågelsjöar I Uppsala och Stockholm, 27/54 innehöll Större vattensalamander



Received: 18 November 2020 | Revised: 29 June 2021 | Accepted: 2 July 2021
DOI: 10.1111/fwb.13800

ORIGINAL ARTICLE

Freshwater Biology WILEY

Environmental DNA metabarcoding elucidates patterns of fish colonisation and co-occurrences with amphibians in temperate wetlands created for biodiversity

Ineta Kačergytė[1] | Erik Petersson[2] | Debora Arlt[1,3] | Micaela Hellström[4,5] | Jonas Knape[1] | Johan Spens[4,6] | Michał Żmihorski[7] | Tomas Pärt[1]

JORD

~~SOL~~, VIND OCH VATTEN

Musik: Ted Gärdestad
Text: Kenneth Gärdestad
Arr: Anders Widestrand

S
A
T
B

mf *mp*

Sol, vind och vat - ten, sol, vind och vat - ten.

mf *mp*

Sol, vind och vat - - ten. *mf* 1. Än -

Sol, vind, vat - ten. Sol, vind,

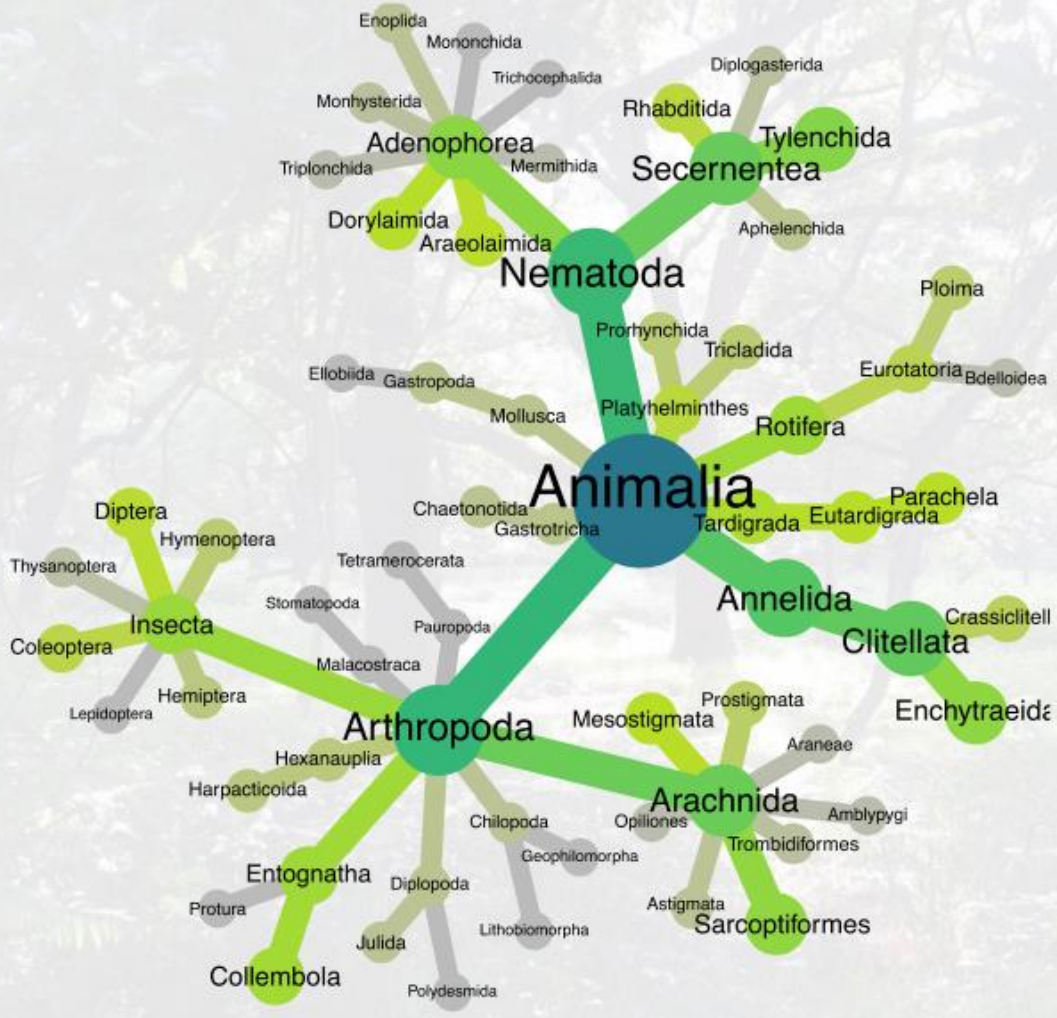
mu spe - lar syr - sor till vin - dar - nas sus, än - nu rul - lar ku - lor - na på
vill ve - ta väl - gen till her - dar - nas hus, jag be - hö - ver att om - ges av en

vat - - ten. Sol, vind, vat - - ten.

skol - går - dens grus. Och än stå - lar so - len på brun - bän - da ben, än -
led - stjär - nas ljus. Det skym - mer vid Si - on och nat - ten blir sval, men

mf Det finns
Det finns

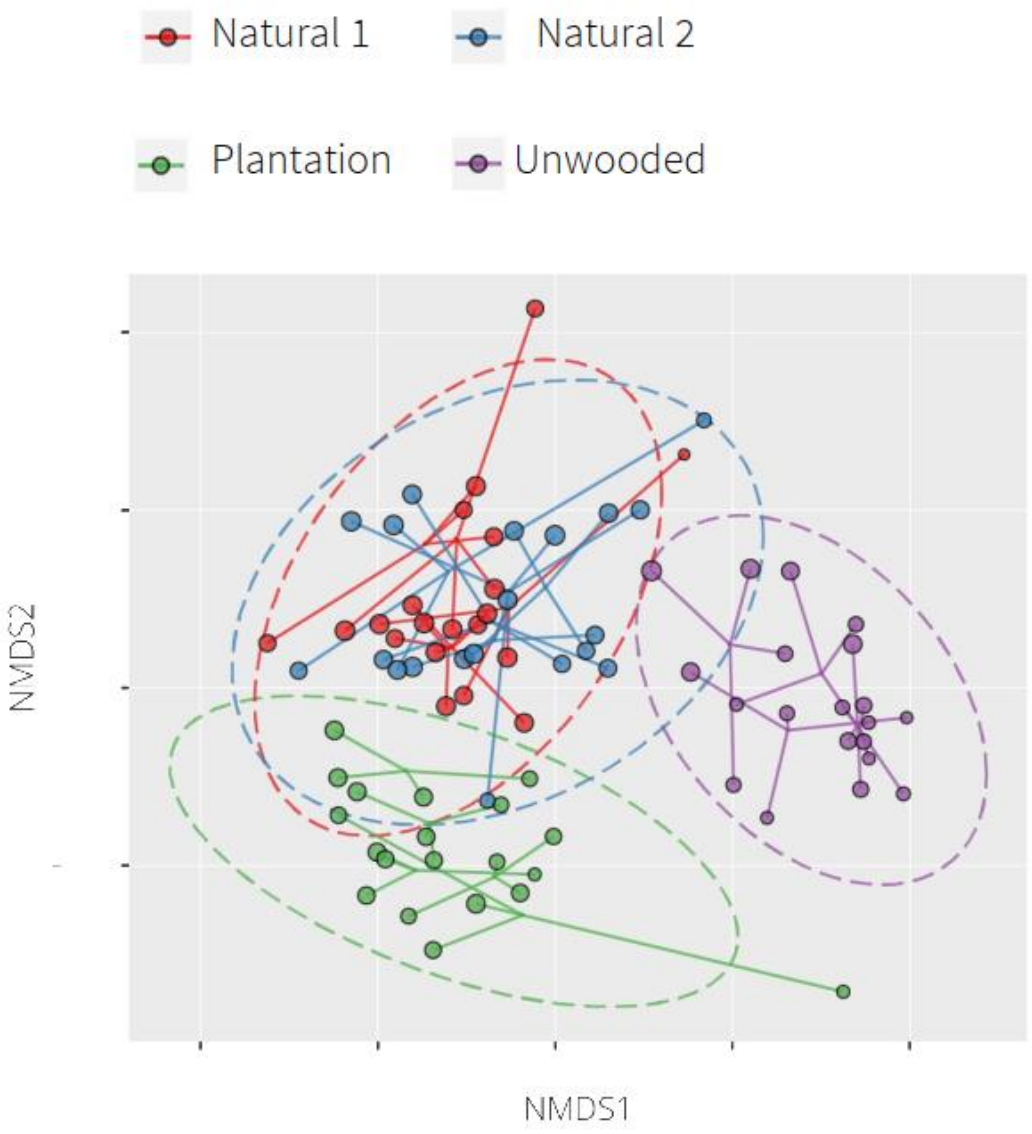
Soil fauna



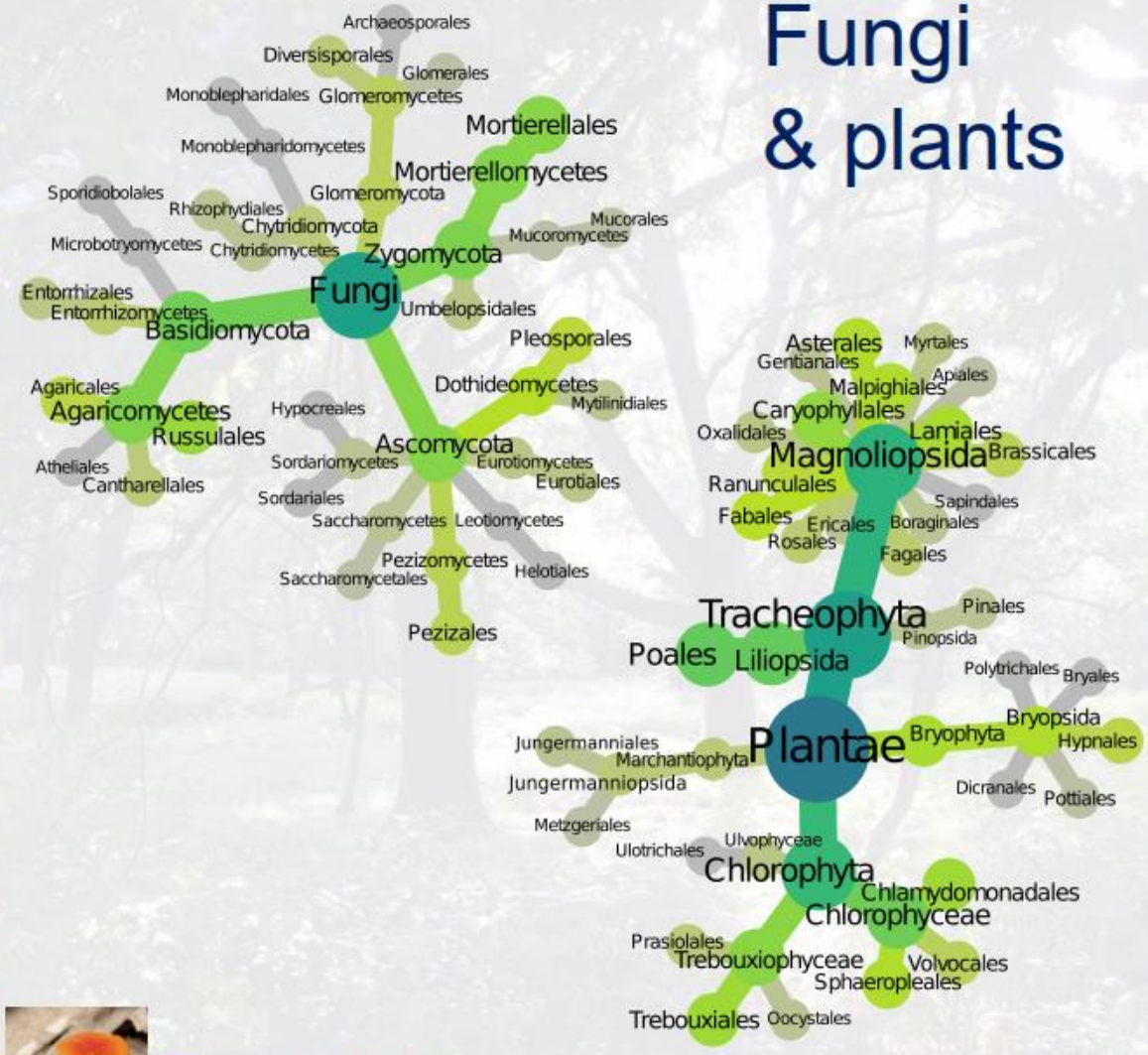
1209 taxa

Jacobs Challenging today. Reinventing tomorrow.

NATURE METRICS DNA-BASED MONITORING



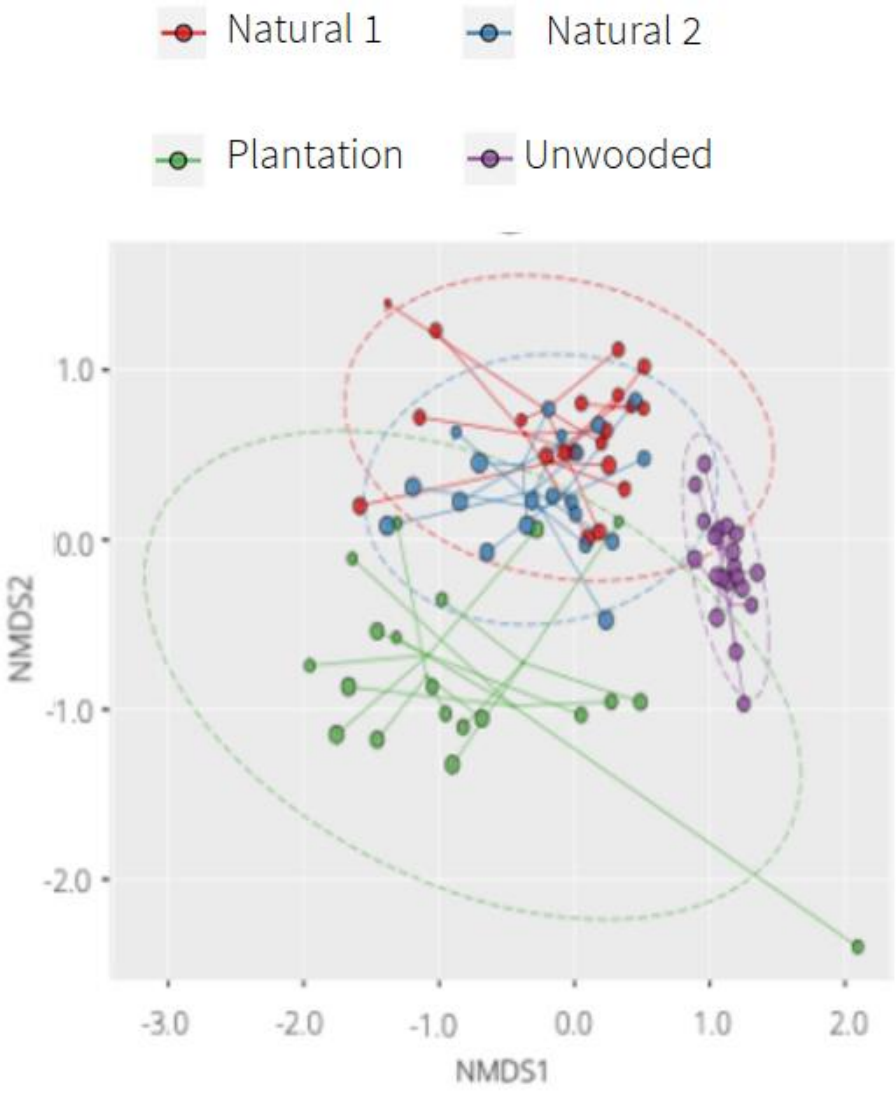
Fungi & plants



896 taxa

Jacobs Challenging today. Reinventing tomorrow.

NATURE METRICS DNA-BASED MONITORING



Invasiva arter i norr kan öka med nytt klimat

UPPDATERAD 5 FEBRUARI 2020 PUBLICERAD 31 JANUARI 2020

I dagsläget har Norrbotten sju invasiva arter. Men i och med klimatförändringarna räknar Norrbottens länsstyrelse med att det kommer komma dyka upp fler – och bli värre.

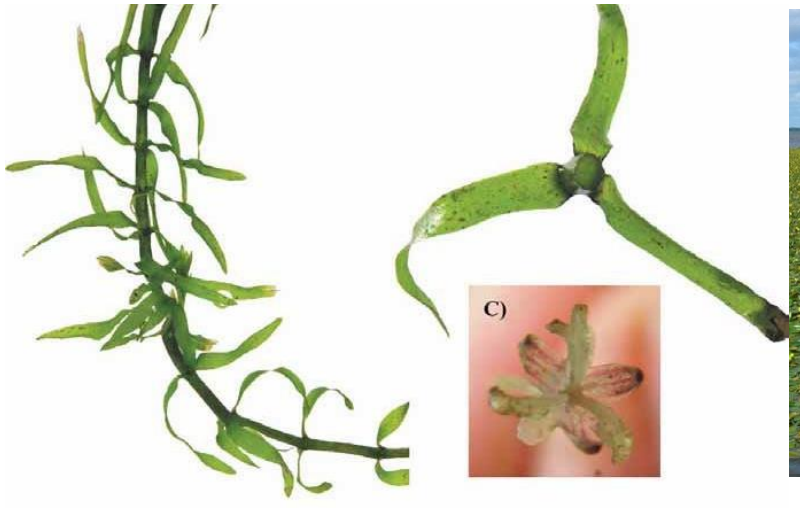
Invasiva och främmande arter är ett av de största hoten mot biologisk mångfald. Arterna orsakar även stora problem för jord- och skogsbruk samt människors och djurs hälsa. I Norrbotten har vi sju olika arter: mårdhund, bisam, kinesisk ullhandskrabba, jätteloka, tromsöloka, jättebalsamin och smalbladig vattenpest. I klippet ovan kan du se hur arterna ser ut och få veta lite mer om dem.

Länsstyrelsen vill motarbeta invasiva arter

Då norra Sverige – än så länge – har ett klimat som många invasiva och främmande arter inte trivs så bra i har Norrbotten berörts mindre än södra Sverige. Men i och med klimatförändringarna räknar länsstyrelsen med att man nu kommer få jobba hårdare för att få bukt med problemen.

Invasiva makrofyter

Vattenpest - *Elodea canadensis*



Smal vattenpest - *Elodea nuttalii*

Sjögull- *Nymphoides peltata*
Södra Sverige

Havs och Vatten myndigheten

NATUR VÅRDS VERKET

Life-DNAquatic

Closing the gap between molecular research and management

Testing robustness of methods

FOMA projekt
Grönfläckig padda *Bufotes viridis*
SLU: Mart Seymour

eDNA på Öland vatten
Populationsanalyser hos Grönfläckig padda

Bild: SLU Ardatabanken

SLU

inbo

NORDENS ARK

Länsstyrelsen
Kalmar län

MIX RESEARCH

eDNA i Jämtland, vatten och sediment
Populationsanalyser hos FPM

Flera projekt på zoonoser, jord, snö och sediment

Kvalitetsstämpel på projekt

- **Biologisk mångfald** – flest arter
- **Före** varje fiskpassage-bygge
- **Inverkan** hinder (ned minus u
- **Åtgärdsprogram** effektkontro

eDNA- sammanfattning

- Suveränt för att upptäcka arter
- Icke-dödlig icke-destruktiv metod
- Billigare och känsligare än traditionella metoder
- Semi kvanitativt
- Identifiering och taxonomi
- Kosteffektiv för storskaliga studier

- Ger INTE information om storlek eller ålder
- Komplement eller ersättning m konventionella metoder, beroende på frågeställningen
- Referensdatabaser är nödvändiga