

eDNA –

Fiskförekomst i 10
kustmynnande vattendrag,
Norrbottens län.



STOCKHOLM, DECEMBER 2017

Beställare:

Rapporten är framtagen av AquaBiota Solutions på uppdrag av Länsstyrelsen i Norrbottens län. Beställare på länsstyrelsen är Anna Engdahl (handläggare inom marint områdesskydd). Pilotprojektet har utförts och finansierats inom ramen för arbetet med grön infrastruktur.

Författare:

Micaela Hellström (micaela.hellstrom@aquabiota.se)

Johan Spens (johan.spens@aquabiota.se)

Bilder:

Omslagsbild: Micaela Hellström. Bilder på målarter är tagna från Wikimedia Commons med tillstånd för spridning även i kommersiellt syfte.

Kontaktinformation:

AquaBiota Solutions AB

Adress: Löjtnantsgatan 25, 115 50 Stockholm

Tel: +46 8 522 302 40

www.aquabiota.se

Kvalitetsgranskad av:

Martin Isaeus (martin.isaeus@aquabiota.se), Micaela Hellström

(micaela.hellstrom@aquabiota.se), Johan Näslund (johan.naslund@aquabiota.se)

Distribution:

Fri

Internetversion:

Nedladdningsbar hos www.aquabiota.se

Citera som:

Hellström, M & Spens, J. 2017. eDNA - Fiskförekomst i 10 kustmynnande vattendrag, Norrbottens län AquaBiota Rapport 2017:10. 30 sid.

Ämnesord: eDNA, fiskförekomst, metabarkodning, kustmynnande vattendrag, Norrbotten

AquaBiota Report 2017:10

Projektnummer:

ISBN: 978-91-85975-67-9

ISSN: 1654-7225

© AquaBiota Solutions 2017



AquaBiota
SOLUTIONS

INNEHÅLL

Innehåll.....	4
Sammanfattning.....	5
1. Inledning	6
2. Material och Metoder	7
2.1. Fältarbete.....	7
2.2. Laboratoriearbete.....	8
2.3. Analys, jämförelser och artsammansättningsmodell	9
3. Resultat och diskussion	10
3.1. Sekvenseringsresultat.....	10
3.2. Arternas förekomst – sammanlagd översikt.....	10
3.3. Fiskarternas förekomst – rumslig översikt	12
3.4. Fiskartsförekomst – eDNA vs. befintliga elfisken	13
3.5. Fiskarter.....	15
3.6. Antal fiskarter i förhållande till avrinningsområdets yta	17
3.7. Lokala fisksamhällen	18
4. Slutsatser	25
5. Rekommendationer och fortsatta undersökningar.....	26
Tack	25
Referenser	27
Bilaga 1. Metastreckkodning genom NGS	29
Bilaga 2. Fiskarter relativ biomassa per lokal	30

SAMMANFATTNING

Akvatiskt miljö-DNA eller eDNA (från engelskans environmental DNA) har under det senaste decenniet visat sig vara ett lovande verktyg för inventering av vattenorganismer för miljöövervakning. Undersökningsmetoden baserar sig på det faktum att alla levande organismer, både växter och djur, kontinuerligt avger genetiska avtryck i miljön i form av slem, avföring, svett och döda celler. Dessa genetiska spår kallas eDNA. Akvatiskt eDNA är spåren som organismer avger i vattenmiljön. Detta genetiska material kan utvinnas ur en halv liter vatten och genom molekylära analyser ange vilka arter som befinner sig inom ett område utan att man varken ser eller fångar organismen. Eftersom eDNA i vattenmassan är kortlivat ger analyserna en bild av artförekomst i nutid.

AquaBiota har på uppdrag av Länsstyrelsen i Norrbottens län utfört en pilotundersökning av fisksammansättningen i 10 kustmynnande vattendrag med hjälp av akvatiskt eDNA genom metabarkodning (flerartstudie). Arbetet är en del av en utvärdering för att bedöma precision av eDNA för att fastställa fisksamhällen i länet samt bedömning av relativ biomassa som verktyg för vidare miljöövervakning. Resultaten från eDNA undersökningen jämfördes med befintliga elfisken.

Fälтарbetet utfördes i januari 2017 och de genetiska proverna analyserades under året. Vi detekterade 86 fiskpopulationer ifrån sammanlagda provfisken och eDNA. I de 10 vattendragen detekterades sammanlagt 17 fiskarter och 84/86* fiskpopulationer med eDNA (98 % detektionsgrad). Fyra av lokalerna saknade elfiskedata och ingick inte i någon jämförelse. En jämförelse mellan eDNA som utfördes på en dag i denna studie och sammanslagna elfisken som genomförts över flera år i 6 av vattendragen visade på fördelar med eDNA-metoden. eDNA gav träffar på 17 arter och 55/57 populationer (96 % detektionsgrad), medan 21 elfisken som genomförts över flera år detekterade totalt 15 fiskarter men endast 27/57 populationer (47 % detektionsgrad). Detta betyder att 53 % av arterna i närheten av varje enskild provlokal förblev odetekterade i de traditionella elfiskena.

Antalet fiskarter som mätts utifrån eDNA testades även utifrån avrinningsområdets storlek och visade en stark korrelation mellan antalet fiskarter och vattendragets storlek. Det betyder att ju större vattendrag desto fler fiskarter. En liknande korrelation kunde inte uppnås med hjälp av elfisken.

eDNA-analys har en hög potential att användas som effektivt icke-destruktivt verktyg för inventering av fiskartsammansättning över stora geografiska områden över kortast möjliga tidsintervall. Vidare är metoden den känsligaste att kunna upptäcka arter som är nyetablerade, sällsynta eller som undgår traditionella provfisken. eDNA kan i vissa fall ersätta, eller i andra fall utgöra ett bra komplement till traditionella provfisken.

***En fiskpopulation** är en grupp av individer av en fiskart som finns inom ett avgränsat område under en viss tid. I denna undersökning gör vi antagandet att varje fiskart i det kustmynnande vattendraget har "älvegna" populationer.

1. INLEDNING

Undersökningar av artrikedom, relativ förekomst och mångfald av växter och djur i akvatiska ekosystem har historiskt i huvudsak skett genom traditionella fysiska, akustiska och visuella metoder. Exempel på dessa är nätfiske, elfiske, telemetri, snorkling, fällor, undervattenssonar och vattenkikare. Dessa metoder har begränsningar eftersom de är selektiva och ingen enskild metod beskriver hela mångfalden av fisk. Vidare är vissa konventionella metoder destruktiva eftersom de kräver att utföraren av studierna rör eller skadar sitt studieobjekt vilket är ett potentiellt problem i bevarandeeekologiska undersökningar (Wheeler *et al.* 2010). Elfisken har visats ge betydande skelettskador hos fisk (50% ryggradsskador i Sharber och Carotes 1988). En annan begränsning av konventionella metoder är att sällsynta, invasiva och svår fångade arter inte upptäcks, och deras förekomst underrapporteras vilket ger felmarginaler i det insamlade datat (Price *et al.* 2015; Trigel & Degerman 2015, Wiley *et al.* 2015).

Undersökningsmetoden miljö-DNA eller eDNA (environmental DNA) baserar sig på det faktum att alla levande organismer, -både växter och djur, -kontinuerligt avger genetiska fotavtryck i miljön i form av slem, avföring, respiration, svett och döda celler (Pedersen *et al.* 2015). Definitionen på eDNA är 'det DNA som kan studeras från dessa spår i miljön utan att målorganismen är närvarande i provet' (Taberlet *et al.* 2014). Akvatiskt eDNA är genetiska spår som organismer avger till vattenmiljön. Detta genetiska material kan utvinnas ur en halv till några liter vatten och genom molekyllära analyser ange vilka arter som befinner sig inom ett område utan att man varken ser eller fångar organismen. Eftersom eDNA i vattenmassan är kortlivat (ca. 1-2 veckor) ger analyserna en bild av artförekomst i nutid. DNA-signalerna försvinner snabbt från vattenpelaren och sjunker ner till botten och bryts ner till korta DNA-bitar som bevaras i sedimenten (Pedersen *et al.* 2015). Under de senaste 10 åren har metoden utvecklats (Spens *et al.* 2017) och visat sig ha en stor potential som verktyg för inventering av vattenorganismer för ekologiska undersökningar, bevarandeeekologi, uppföljning av invasiva arter och miljöövervakning (Bohmann *et al.* 2015, Thomsen och Willerslev 2015, Leese *et al.* 2016, Deiner *et al.* 2017).

AquaBiota har på uppdrag av Länsstyrelsen i Norrbottens län utfört en undersökning av fisk sammansättningen i 10 kustmynnande vattendrag med hjälp av eDNA. Detta är en flerartstudie som utförs genom så kallad metabarkodning för att studera hela fisk samhällen inklusive enskilda arter. För att studera mångfald av arter är denna metod bättre än att analysera en art i sänder. Arbetet är även en utvärdering för att bedöma precisionen i eDNA-metoden för att fastställa sammansättningen av fiskarter i de utvalda vattendragen i länet. Arternas förekomst verifierades med hjälp av sammanslaget data från existerande rapporter, elprovfisken och distributionsmodeller.

2. MATERIAL OCH METODER

2.1. Fältarbete



Figur 2. Karta över provlokalerna.

Fältarbetet utfördes i Norrbottens län den 13 januari 2017. De 10 vattendragen som provtogs samt provtagningspunkter anges i figur 2 och i tabell 1. Koordinaterna anges som decimalgrader i WGS84. Lufttemperaturen mätte -4 °C. Vattnet i vattendragen var bitvis öppet och mätte nära 0 °C vid samtliga punkter.

Tabell 1. Provpunkter. Position, tidpunkt vid provtagningen, vattentemperatur, antal filter (replikat) per provpunkt och total volym filtrerat vatten.

Provpunkt namn	Latitud (N) WGS84	Longitud (Ö) WGS84	Tid	H ₂ O °C
Jävreån	65,15311	021,48843	08.48	0
Svensbyån	65,30541	021,25774	09.30	0
Rokån	65,34490	021,14529	10.39	0,7
Lillpiteälven	65,37161	021,15689	11.06	0,6
Alterälven	65,41951	021,48537	12.22	0
Rosån	65,43522	021,69142	12.55	0,5
Alån	65,55847	021,77581	14.59	0,9
Lakabäcken	65,77136	022,28440	18.30	0
Vitån	65,85557	022,49217	17.32	0
Pålångån	65,82813	022,83986	16.30	0,2

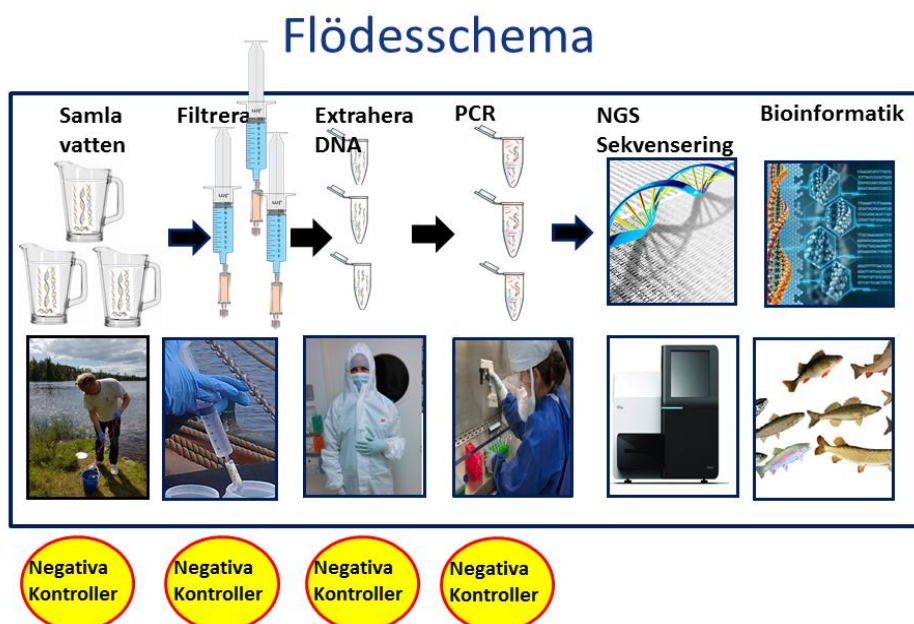
Innan provtagningen genomfördes i fält, steriliserades all provtagningsutrustning. Vid varje lokal samlades 3 liter vatten in av tränade fältarbetare som klarade att upprätthålla sterila insamlingsförhållanden samt filtrering och fixering. Negativa fältkontroller utgjorde sterilt vatten som kördes genom filtren på plats för att utesluta kontaminering av DNA mellan prover eller från provtagare. Insamling och fixering följde Spens *et al.* (2017).

2.2. Laboratoriearbete

2.2.1. Extraktion, PCR och sekvensering

Flödesschemat i figur 3 beskriver eDNAprocessen från insamling till analys.

eDNA utvanns (extraherades) enligt protokoll i Spens *et al.* (2017) i sterila laboratorier speciellt byggda för analyser av akvatiskt eDNA. Detta kunde ske genom ett exklusivt samarbete med MoRe Research i Örnsköldsvik. Extraktionerna utfördes av molekylärbiologiska tekniker som är tränade i att extrahera eDNA. Proverna analyserades för förekomst av fisk, där en analys anger alla arter istället för en art i gången med hjälp av metabarkodning och Next Generation Sequencing (NGS). Principerna för metabarkodning förklaras mer utförligt i Bilaga 1. Vidare användes DNA från den tropiska sötvattenfisken *Rhamphochromis esox* som positiv kontroll.



Figur 3. Flödesschema. En översikt av eDNA provtagning från insamling till analys. Notera att negativa kontroller tas vid varje steg för att kontrollera för kontaminering.

2.2.2. Bioinformatik och verifiering

Varje enskild art har en unik streckkod (Se bilaga 1) eller sekvens. Varje unik sekvens fick en molekylär identitet. De olika sekvenserna kördes mot en internationell databas (tillgänglig för allmänheten, som grundar sig på GenBank och upprätthålls av National Center for Biotechnology Information, NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)) där sekvenser på mer än 370 000 kända arter finns tillgängliga (Benson *et al.* 2017, bilaga 1) med 0,6 miljarder sekvenser och 2,6 biljoner baspar enligt NCBI:s hemsida. De olika sekvenserna matchades mot databasen och fick på så sätt en fiskidentitet. Tack vare nya framsteg inom metabarkodning för fisk är det möjligt att få träffar på artnivå istället för enbart familje- eller genus- nivå.

Antalet läsningar per art gav en relativ uppskattning av hur mycket eller litet arten förekom i ett prov. Vidare noterades även däggdjur och groddjur som registrerades i analysen.

2.3. Analys, jämförelser och artsammansättningsmodell

Resultaten och artlistorna från eDNA kördes mot elfiskedatabasen SERS. En beräkning av möjliga artförekomster baserades även på en spridningsmodell som beskrivs av Spens (2008). För varje lokal jämfördes artförekomster som anges av sammanslagna historiska elfiskedata med förekomster i eDNA-data.

Data angående de lokala fisksamhällena vad gäller lithofila arter (fiskarter som kräver rena bottenar och strömmande vatten), känsliga, tåliga och neutrala arter i förhållande till eutrofa förhållanden registrerades.

Fiskpopulation definieras som en grupp av individer av en art som finns inom ett avgränsat område under en viss tid. I denna undersökning gjordes antagandet att varje fiskart i det kustmynnande vattendraget har "älvegna" populationer som särskiljs mellan vattendragen. Populationer mellan eDNA resultat och elfiske resultat jämfördes.

Vidare indikeras näringsnivån med kvoten av relativ biomassa (eDNA läsningar) mellan abborrfiskar och karpfiskar (*Percidae/Cyprinidae*). Låga värden tyder på högre näringsgrad. Notera även att abborre ofta är överrepresenterad i nätfisken vilket betyder att kvoten ger ett lägre värde då eDNA används.

Sjöprocent anger andelen sjöyta i förhållande till avrinningsområdet. En hög sjöprocent dämpar flödesfluktuationer, och kan inverka på närvaro/frånvaro av olika fiskarter på flera sätt.

Antalet arter jämfördes med avrinningsområdets yta för att undersöka om antal arter i ett vattendrag kan förklaras av vattendragets storlek. Sambandet undersöktes med hjälp av linjär regression och korrelation.

3. RESULTAT OCH DISKUSSION

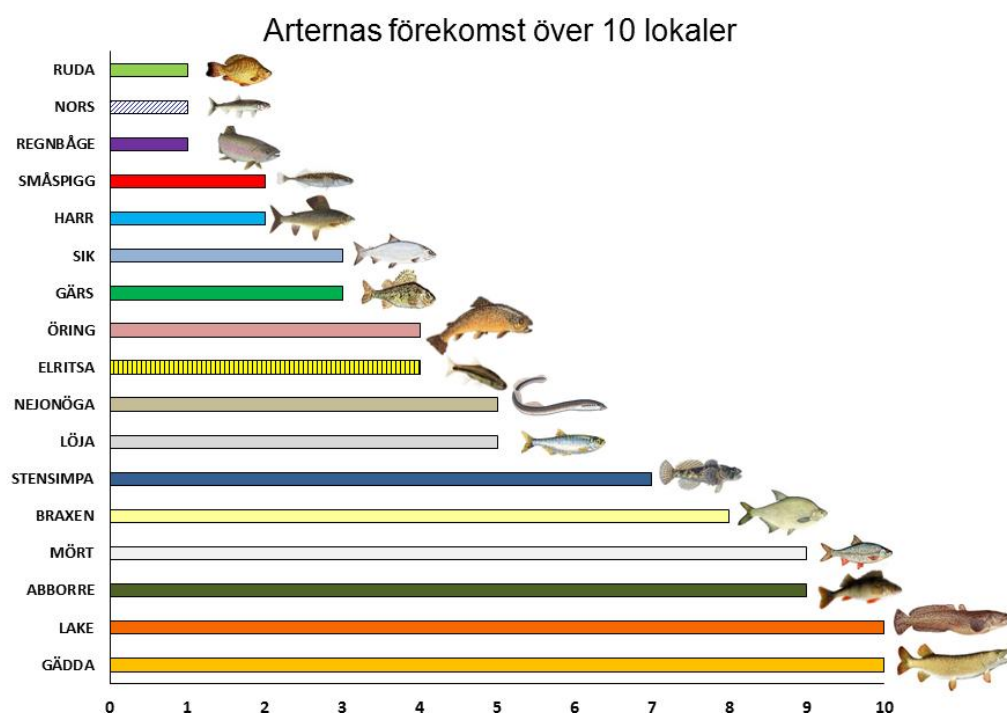
3.1. Sekvenseringsresultat

Av sekvenserna för metabarkodning brukar en bråkdel (ofta mellan 1 % och 40 %) resultera i sekvenser för målarter och en mycket stor del av läsningarna kan inte läsas alls. Vidare har problemet varit att DNA från människa täcker 20-40 % av läsningarna. I denna studie matchade hela 75 % av läsningarna målarterna fiskar, groddjur och däggdjur. Andelen av de totala läsningarna utgjorde för människa 16 %, bakterier 2 %, medan endast 6 % var utan match. Den höga frekvensen av målarternas sekvenser gör att resultaten är mer tillförlitliga för vidare ekologiska analyser och slutsatser.

Alla negativa fältkontroller var negativa och fria från fisk och däggdjur. Fältkontrollerna visade ett lågt antal läsningar för människa och bakterier. De negativa laboratoriekontrollerna var helt negativa. Den positiva kontrollen kom upp som positiv.

3.2. Arternas förekomst – sammanlagd översikt

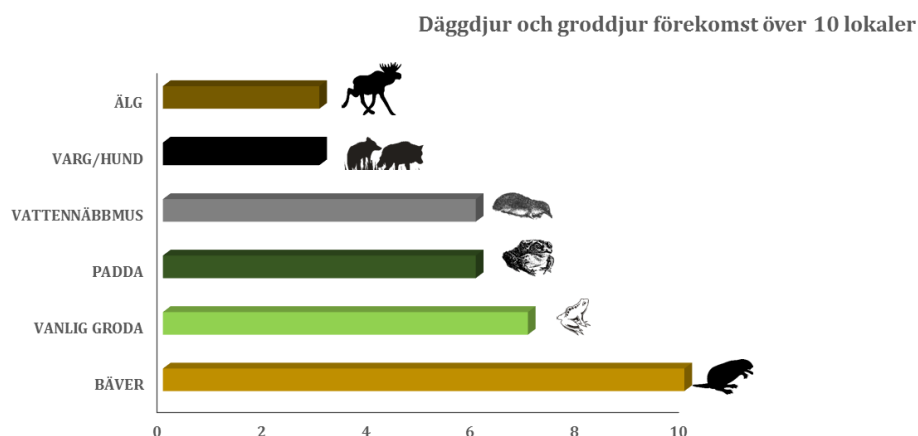
Sammanlagt 17 fiskarter påträffades i eDNA analyserna. Figur 4 anger arternas förekomst över lokalerna. Ruda, regnbåge och nors påträffades i en lokal medan gädda och lake fanns i alla 10 lokaler.



Figur 4. Antal lokaler där de enskilda fiskarterna påträffades (ruda, regnbåge och nors förekom i en lokal, gädda och lake i alla 10 lokaler).

Markörerna för denna studie var anpassade för fisk, men detekterade även arter så som vattennäbbmus (*Neomys fodynes*), varg/hund (*Canis lupus*), älg (*Alces alces*), bäver

(*Castor fiber*), samt padda (*Bufo bufo*) och vanlig groda (*Rana temporaria*). Arternas förekomst över lokalerna anges i figur 5.

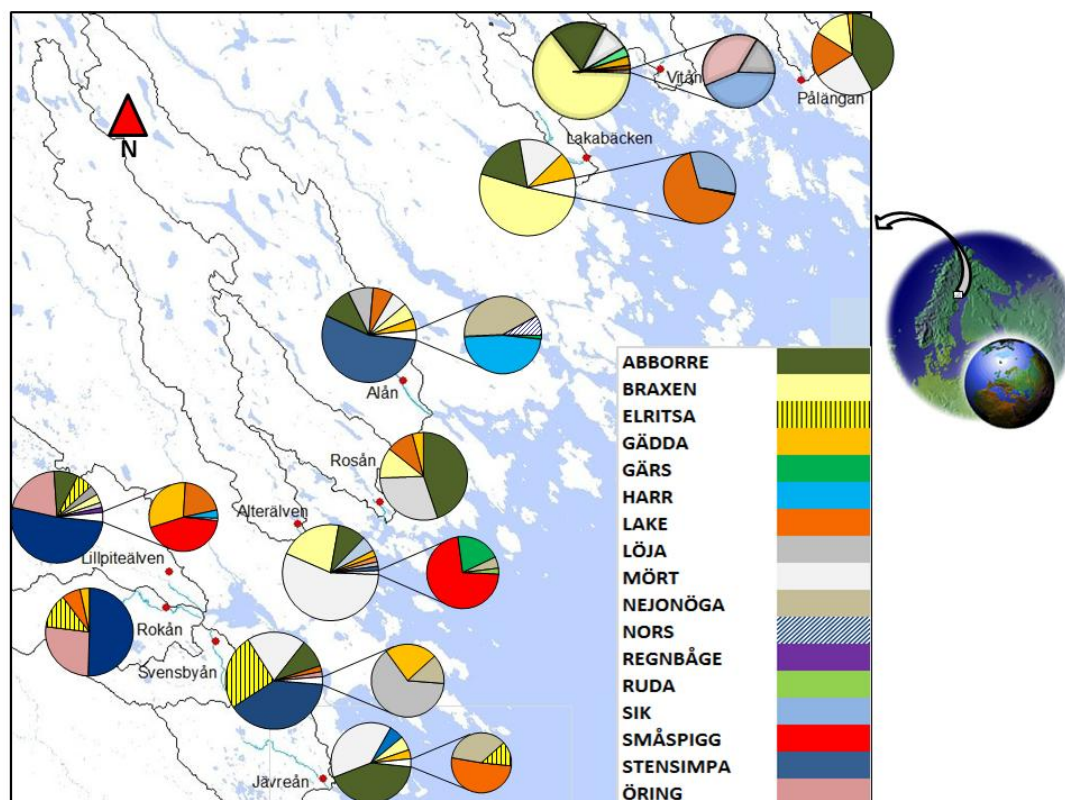


Figur 5. Antal lokaler där vertebrater förutom fiskar påträffades.

Nors och småspigg har inte påträffats i någon av de 10 lokalerna baserat på elfiske eftersom dessa arter för det mesta undgår denna fiskemetod.

3.3. Fiskarternas förekomst – rumslig översikt

Fiskarternas förekomst och dominansförhållanden inom de olika lokalerna beskrivs översiktligt i figur 6 samt bilaga 2. Antalet arter per lokal varierade mellan 5 och 13



arter.

Figur 6. Arternas fördelning inom de 10 lokalerna. Cirklarna anger arternas dominans genom antalet lästa sekvenser per art. Infällda cirklar visar fördelningen bland arter med lägre antal

lästa sekvenser. Dessa små infällda pajdiagrammen anger således arter som är fåtaliga och svåra att urskilja i ett enkelt pajdiagram

3.4. Jämförelse mellan eDNA och befintliga elfisken

Antal av detekterade fiskarter på varje lokal genom eDNA respektive elfiske anges i tabell 2. Venn-diagrammet i figur 7 visar arter som registrerats vid provtagningstillfällen för eDNA i närheten av de 10 lokalerna. De arter som registrerats vid 6 lokaler under 21 historiska elfisken inom 10 km vattendragslängd i huvudfåran från provpunkterna jämförs med antalet arter upptäckta med eDNA. Detta gäller för alla lokaler förutom Vitån - där 6 elfisken 20 km uppströms jämfördes med eDNA provpunkten.

Där elfiskedata fanns tillgängligt detekterade eDNA 55/57 populationer* (96 % detektionsgrad) medan motsvarande siffra för 21 sammanlagda historiska elfisken detekterade 27/57 populationer (47 % detektionsgrad).

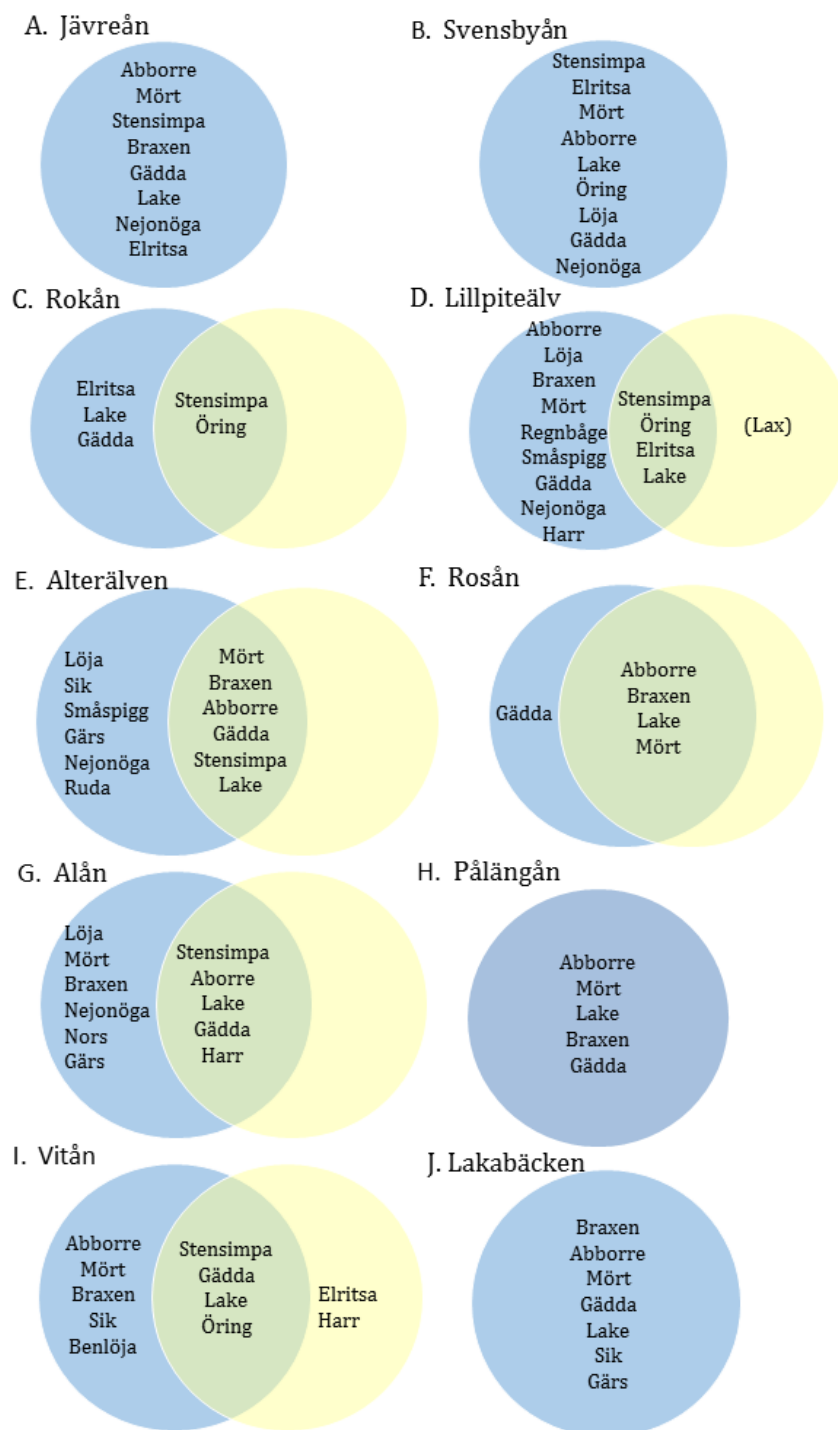
En av de arter som inte detekterades genom eDNA var lax som kom upp i Lillpiteälvens elprovfiske 1992 men inte 2014. Provtagningen för eDNA studien skedde i januari och det är möjligt att lax inte fanns närvarande i älven under provtagningstillfället. Under sammanlagt 3 utfisken 2014 i Lillpiteälven detekterades 31 % av fiskarterna som erhöles från eDNA 2017.

Detta överensstämmer med publicerade eDNA-studier som jämför eDNA och provfisken (ex Hänfling *et al.* 2016, Olds *et al.* 2016, Shaw *et al.* 2016, Valentini *et al.* 2016, Wilcox *et al.* 2016) där det framgick att eDNA ger säkrare utslag på antal arter och även på relativ biomassa. Beroende på typ av provfiske och förhållanden kan eDNA och traditionella metoder komplettera varandra, alternativt kan eDNA ersätta andra metoder, särskilt om syftet är att beskriva mångfalden av fiskarter.

Tabell 2. Antal fiskarter per lokal som upptäcktes med eDNA och med historiska elfiskedata från de olika vattendragen.

VATTENDRAG	eDNA UPPTÄCKTA	ELFISKADE	HISTORISKA ELFISKEDATA
	ARTER	ARTER	
Jävreån	8	saknas	saknas
Svensbyån	9	saknas	saknas
Rokån	5	2	1 utfiske 1993 (nedströms 0,50km)
Lillpiteälven	13	4 (5)	5 utfisken varav 3st 2014 & 2 st 1992(7 km uppströms)
Alterälven	12	6	6 utfisken varav 5 stycken 2017 (10 km uppströms) och ett utfisken 1991 (1 km nedströms).
Rosån	5	4	1 utfiske 2017 (2,5 km nedströms)
Alån	11	5	2 utfisken 1992 (6 och 8 km uppströms)
Lakabäcken	7	saknas	saknas
Vitån	9	6	6 utfisken varav 2 st 1988, 4 st 1991(20 km uppströms)
Pålängån	5	saknas	saknas

*Fiskpopulation = här med antagandet att varje fiskart i det kustmynnande vattendraget har "älvegna" populationer.



Figur 7. Venndiagram. Fiskarter i Norrbotten inom varje enskild lokal som anger arter som registrerades genom 1) enbart eDNA (blå cirkel), 2) enbart elfisken (gul cirkel (se tabell 2)), 3) både eDNA och provfisken (delad grön yta). Fiskarterna listas från mest till minst förekommande. Jävreaån (A), Svensbyån (B), Pålängån (H), Vitån (I) och Lakabäcken (J) saknar elfiskedata inom 1 mil från eDNA-provlokalen. Notera: Elfiske i Vitån hade gjorts 2 mil uppströms där fiskmiljön inte är särskilt jämförbar med miljön vid eDNA-provpunkten.

3.5. Fiskarter

Abborre detekterades med eDNA i 9 av 10 lokaler. Abborre detekterades inte i Rokån med eDNA men har historiskt påträffats uppströms. Denna å har lägsta sjöprocenten (1%, tabell 3) vilket skapar förutsättningar för stora flödesfluktuationer (11-faldig skillnad, 11 100%) mellan låg och högvattenföring. Rokån har även hög lutning en bit uppströms provlokalen och strax nedströms provlokalen, vilket motverkar abborrars etablering. Abborre är en s.k. lugnvattenfisk och är sämre anpassad för höga vattenhastigheter.

Braxen (*Abramis brama*) förekom inte i de tre åar som visade lägst sjöprocent, dvs. Rokån (1 %), Svensbyån (2 %) och Lakabäcken (3 %), vilket speglar att braxen gynnas/sprids mer med större sjöandel. Braxen är en lugnvattenart. Vintertid samlar sig braxarna i passiva täta anhopningar vilket leder till överdominans på vissa lokaler.

Elritsa (*Phoxinus phoxinus*) är en liten strömlevande karpfisk som kräver syrerika vatten. Fynd av Elritsa genom eDNA gjordes i fyra av de 10 lokalerna.

Gädda (*Esox lucius*) har etablerats naturligt vid samtliga provlokaler vilket nu sannolikt utgör den huvudsakliga begränsande faktorn för fisket efter laxartad fisk, t ex öring (*Salmo trutta*) i vattendragen med låg lutning och/eller provpunkt med sjönära läge.

Harr (*Thymallus thymallus*) detekterades i Alån och Lillpiteälv med eDNA och med elfiske >2 mil uppströms eDNA-provpunkten i Vitån. Dessa vattendrag utgör de tre största åarna/älvarna (avrinningsområdena >500 km²) i denna aktuella undersökning. Det är dock inte uteslutet att harrlek förekommer i de övriga 7 mindre vattendragen under vårflod, där yngel sedan emigrerar ut i havet redan på försommaren. För att detektera dessa föreslås försommarprovtagning med eDNA eftersom harr är svår-detekterad med elfiske.

Notera även att **Lake** (*Lota lota*) detekterades i alla lokaler. Under januari vandrar lake upp i kuståar för att reproducera sig och den 100 %-iga närvaron av lake bekräftar möjligen detta. Kallvattenarten lake var tidigare rödlistad p g av oro för varmare klimat.

Mört (*Rutilus rutilus*) är en försurningskänslig art som förekom i betydande mängder (antal DNA-träffar) vid varje provlokal. Riklig förekomst tyder på att lokalerna inte är försurningsdrabbade.

Nejonöga (*Lampetra fluviatilis* eller *L. planeri*) De olika formerna av nejonöga (havs-, flod- eller bäck-) är omöjliga att skilja på genetiskt (på samma sätt som öring-former) men den mest sannolika formen som detekterats med eDNA är det icke-parasitiska bäcknejonögat, som är den vanligaste formen och vida utbredd, ända högt upp i vattensystemen. Alla former kräver både tillgång till sand- eller grusbotten för lek samt mjukbotten som uppväxtområden.

Regnbåge (*Oncorhynchus mykiss*) som detekterades i Lillpiteälven bedöms inte utgöra någon risk (om fullt friska) för de naturliga fiskbestånden då vattendraget är för kallt för att kunna etablera en naturligt förökande population. Dessutom förekommer gädda som utgör ett nära nog oöverkomligt predationstryck för regnbåge att kunna etableras i älven.

Ruda (*Carassius carassius*) anses vara Sveriges mest tåliga fisk då de tål syrebrist och övergödda förhållanden. Små rudor är dock mycket predationskänsliga. Arten klarar t ex av att frysas in och tinas upp.

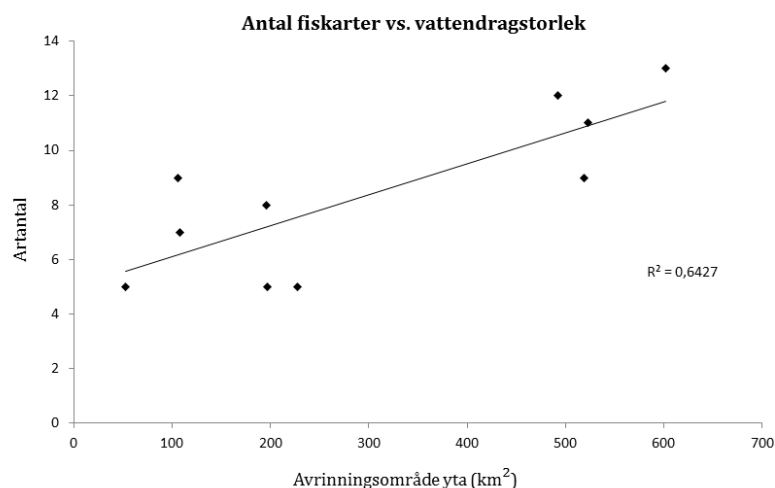
Stensimpan (*Cottus gobio*) kräver syrerika hårbottenar och klart vatten för att trivas. Arten är en god indikator för vattenkvalitet. Stensimpan är nattaktiv och svåriskad eftersom den lever gömd under stenar och grus. Stensimpan är listad i EU:s Annex II lista till EU:s habitatdirektiv. Det är den sötvattenfisk som det satsats mest på i EU:s LIFE-restaureringsprojekt. eDNA-metoden kan tillföra förbättrade detektioner i både storälvar och sjöar, vilka är synnerligen svårinventerade med nu använda standardmetoder.

Öring (*Salmo trutta*) förekommer i Norrbotten som havsöring, insjööring och bäcköring, vilket är olika former av samma art. Varje vattens bestånd av öring har unika egenskaper och anpassningar, likt laxen. Sjölevande öring vandrar normalt uppströms, men ibland även nedströms, till lek- och uppväxtområden efter någon eller några säsongers tillväxt i sjön. Bäcköringen stannar hela livet i rinnande vatten och är stationär. Öringen leker på rena grusbottenar i rent strömmande vatten. I denna undersökning förekom öring i 4 lokaler; Rokån, Lillpiteälv, Svensbyån och Vitån som har en hög lutningsgrad, vilket ger bra förutsättningar för öring. I Vitån finns ett känt bestånd av flodpärlmussla. För att fullborda sin livscykel är flodpärlmusslan beroende av öring som mellanvärd.

3.6. Antal fiskarter i förhållande till avrinningsområdets yta

Avrinningsområde är det avgränsade geografiska området inom vilket nederbördsvattnet via olika vattendrag och sjöar uppströms mynnar ut i samma utloppspunkt. Ytan av detta område omfattar både mark- och vattenytorna av det begränsade området uppströms denna utloppspunkt (definition SMHI). Ytan utgör en begränsande faktor för antalet fiskarter som kan leva inom ett visst område. Detta kallas Art-Yt-Förhållande eller SAR (Species Area Relationship; Ahrrenius 1921, Rosenzweig 1995, Davis *et al.* 2017). Både ytan och arternas villkor, anpassningsförmåga, konkurrenskraft och ekologiska funktion avgör hur många arter ett avrinningsområde kan inhysa.

I detta uppdrag mättes avrinningsområdets storlek med hjälp av information från Limnordic AB. Förhållandet mellan avrinningsområdets storlek och antalet arter (baserat på eDNA) i varje vattendrag testades. Den linjära regressionen visar en ökning av fiskarter med ökad avrinningsområdesstorlek ($p < 0,01$; $R^2 = 0,64$). Förhållandet indikerar att antalet prover som behövs inom ett område är kopplat till storleken på avrinningsområdet. Svensbyån provtogs 80 m nedanför en sjö och reflekterar därför den sjöns fauna. Svensbyåns artantal är således inte jämförbar med de andra provpunkterna i denna undersökning utom möjligen Alterälven som även den provtogs nära en sjö (288 m nedströms). I analyser inklusive Svensbyån erhöles Pearson's korrelation 0,8 mellan avrinningsområdesstorlek och artantal - exklusive Svensbyån ökade korrelationen till 0,88.



Figur 5. Linjär regression. Antal fiskarter i förhållande till vattendragens yta.

$p < 0,01$; $R^2 = 0,64$, korrelation = 0,8. korrelation (= 0,88 om sjönära provpunkten Svensbyån exkluderas).

3.7. Lokala fisksamhällen

Lokala fisksamhällen gällande lithofila arter (fiskarter som kräver rena bottnar och strömmande vatten) samt känsliga, tåliga och neutrala arter i förhållande till

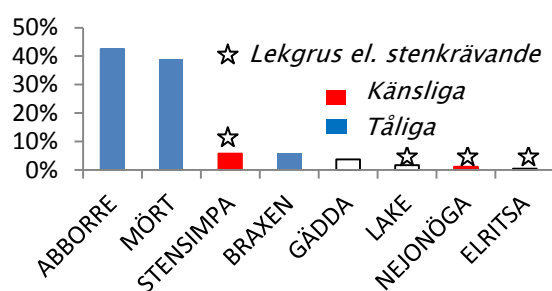
övergödning anges i tabell 3. Vidare indikeras näringsgrad av förhållandet av relativ biomassa (eDNA-läsningar) mellan abborrfiskar och karpfiskar (*Percidae/Cyprinidae*). Låga värden indikerar högre näringsnivå, eventuellt också övergödning.

Tabell 3. Sjöprocent samt eDNA baserade naturligt förekommande arter, andelen lithofila (rena bottenar, rinnande vatten), tåliga och känsliga arter samt abborr/karpfisk kvot.

Lokal	Sjö %	Naturliga	Lithofila %	Tåliga %	Känsliga %	Tåliga % relativ mängd	Känsliga % relativ mängd	eDNA abborrfisk/karpfisk
Jävreaån	7	8/8	50	38	25	87	7	0,75
Svensbyån	2	9/9	56	33	33	31	42	0,2
Rokån	1	5/5	80	0	40	0	77	-
Lillpiteälven	5	12/13	54	46	31	18	72	0,7
Alterälven	4	12/12	33	50	25	89	7	0,7
Rosån	4	5/5	20	60	0	86	0	0,4
Alån	6	11/11	36	36	27	31	58	0,3
Pålångån	10	5/5	20	60	0	80	0	1,1
Vitån	6	9/9	44	44	33	91	4	0,38
Lakabäcken	3	7/7	29	43	14	84	2	0,27

3.7.1. Jävreaån

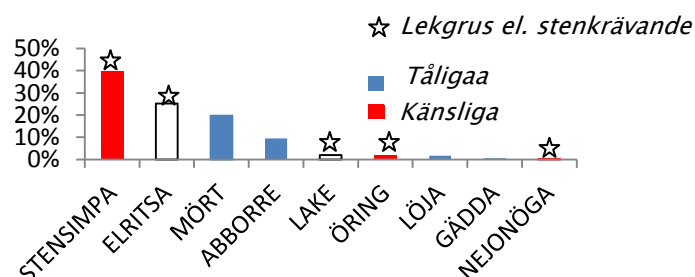
Samtliga 8 fiskarter är naturligt förekommande. Laxfiskar saknades. Andel fiskarter som leker på grus och sten (lithofila) var 4/8 (stjärna i diagrammet nedan) vilket kräver rena strömmande bottenförhållanden. Andelen känsliga arter var 2/8 medan det relativa antalet DNA träffar av känsliga endast utgjorde 7 % av alla DNA-träffar. Andelen tåliga arter var 3/8 medan det relativa antalet tåliga utgjorde 87 % av alla DNA-träffar. Andelen eDNA-träffar abborre/karpfisk var 0,75.



A Jävreaån.

3.7.2. Svensbyån

Laxfiskar förekom. Andel fiskarter som leker på grus och sten (lithofila) var 5/9 vilket kräver rena strömmande bottenförhållanden. Andelen känsliga arter var 3/9 medan det relativa antalet känsliga utgjorde 42 % av alla DNA-träffar. Andelen tåliga arter var 3/9 medan det relativa antalet tåliga utgjorde 31 % av alla DNA-träffar. Andelen träffar abborre/karpfiskar var 0,2.

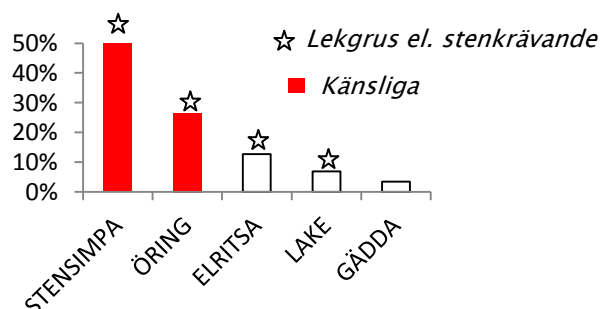


B. Svensbyån.

3.7.3. Rokån



Laxfiskar förekom. Andel fiskarter som leker på grus och sten (lithofila) var 4/5 vilket kräver rena strömmande bottenförhållanden. Andelen känsliga arter var 2/5 medan det relativa antalet känsliga utgjorde 76 % av alla DNA-träffar. Avsaknaden av tåliga arter och relativt stor dominans av känsliga arter indikerar möjligen att miljön är näringsfattig. Inga abborrfiskar registrerades.

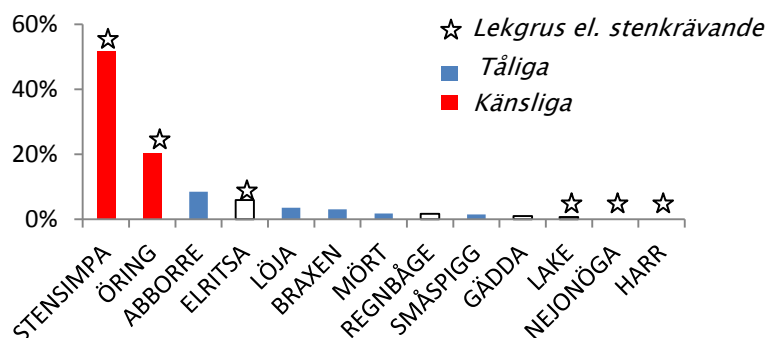


C. Rokån.

3.7.4. Lillpiteälven



Regnbåge är utsatt medan samtliga övriga 12 fiskarter är naturligt förekommande. Laxfiskar förekom. Andel fiskarter som leker på grus och sten (lithofila) var 6/13 vilket indikerar rena strömmande bottenförhållanden. Andelen känsliga arter utgjorde 4/13 och det relativa antalet känsliga utgjorde 72 % av alla DNA-träffar. Andelen tåliga arter var 5/13 medan det relativa antalet tåliga utgjorde 18 % av alla DNA-träffar. Andelen träffar abborre/karpfiskar var 0,7. eDNA visar att lax inte återetablerats vid denna provpunkt.

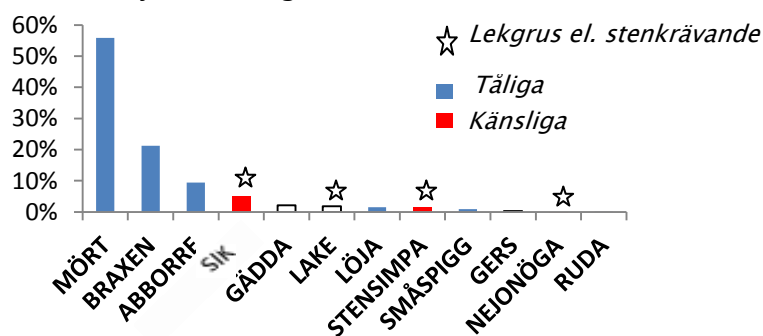


D. Lillpiteälven.

3.7.5. Alterälven



Laxfiskar förutom sik saknades här. Andel fiskarter som leker på grus och sten (lithofila) var 4/12 vilket kräver rena strömmade bottenförhållanden. Andelen känsliga arter var 3/12 medan det relativa antalet känsliga utgjorde 7 % av alla DNA-träffar. Andelen tåliga arter var 6/12 medan det relativa antalet tåliga utgjorde 89 % av alla DNA-träffar. De tåliga fiskarternas dominans kan tyda på en viss gödning. Hör förekom även den syrebristtåliga arten ruda förekom. Andelen träffar abborre/karpfiskar var 0,7.

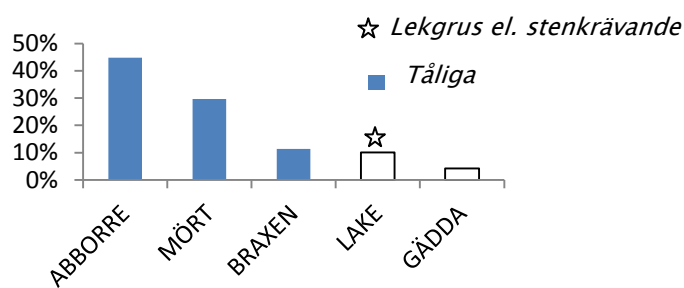


E. Alterälven.

3.7.6. Rosån



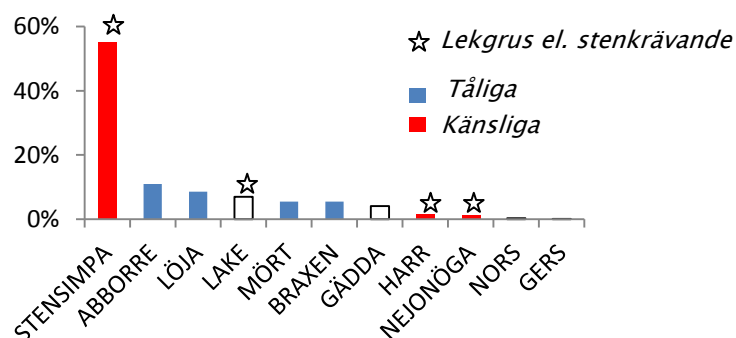
Laxfiskar saknades här. Andel fiskarter som leker på grus och sten (lithofila) var 1/5 vilket mest indikerar relativt lugnflytande bottenförhållanden. Känsliga arter saknades. Andel tåliga arter var 3/5 och det relativa antalet tåliga utgjorde 86 % av alla DNA-träffar. Andelen DNA-träffar abborre/karpfiskar var 0,4.



F. Rosån.

3.7.7. Alån

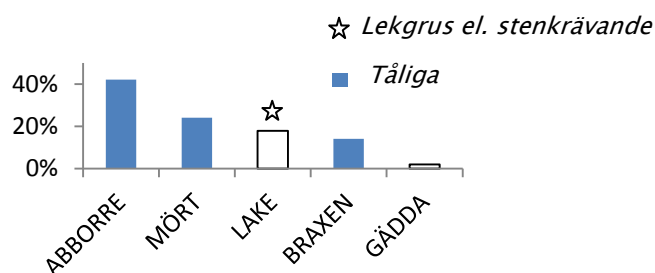
Laxfiskar (harr) förekom. Andel fiskarter som leker på grus och sten (lithofila) var 4/11 vilket kräver rena strömmande bottenförhållanden. Andel känsliga arter var 3/11 medan relativa antalet känsliga utgjorde 58 % av alla DNA-träffar. Andel tåliga arter var 4/11 medan det relativa antalet tåliga utgjorde 31 % av alla DNA-träffar. Andelen träffar abborre/karpfiskar var 0,3



G. Alån

3.7.8. Pålångån

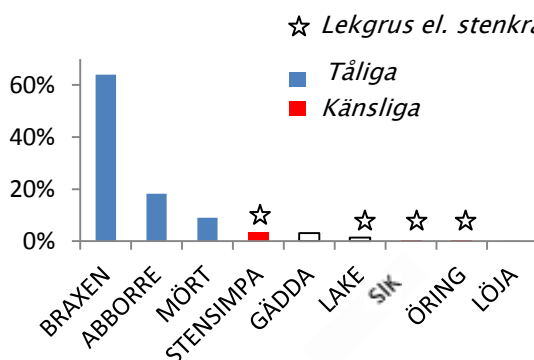
Laxfiskar saknades. Andel fiskarter som leker på grus och sten (lithofila) var 1/5 vilket mest tyder på lugnflytande förhållanden. Känsliga arter saknades. Andel tåliga arter var 3/5 medan det relativa antalet tåliga utgjorde 80 % av alla DNA-träffar. Andelen träffar abborre/karpfiskar var 1,1.



H. Pålångån.

3.7.9. Vitån

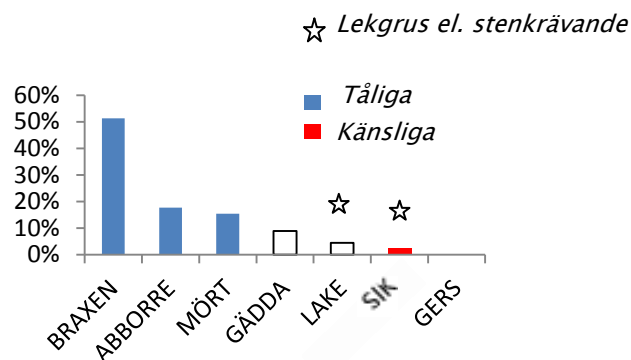
Braxens dominans på denna lokal är sannolikt ett säsongsmässigt vinterfenomen då den samlas på vissa ställen i passiva täta anhopningar. Laxfiskar förekom. Andelen fiskarter som leker på grus och sten (lithofila) var 4/9 vilket kräver rena strömmande bottenar. Andelen känsliga arter var 3/9 medan det relativa antalet känsliga utgjorde endast 4 % av alla DNA-träffar. Andelen tåliga arter var 4/9 medan det relativa antalet tåliga utgjorde 91 % av alla DNA-träffar. Andelen träffar abborre/karpfiskar var 0,38. I Vitån finns ett känt bestånd av flodpärlmussla. För att fullborda sin livscykel är flodpärlmusslan beroende av öring som mellanvärd.



I. Vitån.

3.7.10. Lakabäcken

Braxens dominans på denna lokal är troligast ett säsongsmässigt vinterfenomen då den samlas på vissa ställen i passiva täta anhopningar. Laxfiskar förutom sik saknades. Andelen fiskarter som leker på grus och sten (lithofila) var 2/7 vilket i huvudsak tyder på lugnflytande bottenförhållanden. Andelen känsliga arter var 1/7 medan det relativa antalet känsliga utgjorde 2 % av alla DNA-träffar. Andelen tåliga arter var 3/7 medan det relativa antalet tåliga utgjorde 84 % av alla DNA-träffar. Andelen träffar abborre/karpfiskar var 0,27.



I. Lakabäcken.

4. SLUTSATSER

eDNA ger en snabb överblick av vilka arter som är närvarande i ett vattendrag och skapar en solid bas för grundkartering av fisksamhället i varje enskilt ekosystem. Det är bl. a. av stor vikt för att kunna utforma åtgärds- och kontrollprogram optimalt.

Metoden gör det möjligt att undersöka stora geografiska områden på kort tid. Metoden anger fiskarterna som är närvarande några dagar till några veckor före provtagningen. För att få en uppfattning om arters närvaro vid olika årstider är det av vikt att göra eDNA inventeringar vid olika tider för att erhålla information om säsongsbetonad variation. Det är viktigt att identifiera vilka aspekter av ett vattenekosystem man vill undersöka med hjälp av eDNA. Analyser från prov som samlats in under reproduktionsperioden ger de reproducerande arterna en större relativ biomassa eftersom både könsceller, yngel, småfisk och lekfisk detekteras. Under vintern är vattendjurs metabolism i allmänhet lägre eftersom de är mindre aktiva. Detta betyder att de avger mindre mängder eDNA. I denna studie var eDNA läsningarna ändå höga eftersom DNA i vattnet inte bryts lika fort ner då vattnet är kallt och UV ljusstyrkan låg.

eDNA är ett bra komplement till el- och nätfisken och ger en snabb översikt på närvarande arter som motsvarar 50-70 års provfisken vilket visats i stora studier i sjöar (Hänfling et al. 2016, Hellström et al. opublicerat data). Studien i Norrbotten utfördes i rinnande vatten där nätfiske inte är en användbar metod. Därför jämfördes eDNA resultaten enbart med tidigare utförda elfisken.

eDNA genom metabarkodning med mitokondriellt DNA anger inte fiskens ålder, identitet, individstorlek eller kön. Problemet med eDNA har tidigare varit att markörerna som använts inte klarat av att skilja på närbesläktade arter. Denna studie använde en markör inom konserverade regioner av DNA. Idag har vi inte upptäckt huruvida någon art kan bli allvarligt under/överrepresenterad med eDNA, såsom är regel vid normalt provfiske. Kvantitativa försök behöver genomföras med kända mängder fisk i naturvatten för att få indikationer om detta.

Denna pilotstudie analyserade vatten vid enbart en provpunkt per vattendrag och trots det gav studien goda resultat. Vattnet var insamlat med hjälp av en teknik som gör att även små mängder DNA ger utslag. I framtida undersökningar är flera provtagningspunkter att rekommendera för att vara säkra på att arter inte blir odetekterade.

Huvudresultaten visade (trots de små vattenvolymer) att:

- eDNA detekterade 84 fiskpopulationer (98 %) i 10 vattendrag från 1 fältdag.
- eDNA detekterar 96 % av fiskpopulationerna i 6 vattendrag jämfört med 47 % för sammanlagda elfisken upp till 30 år tillbaka i tiden.
- eDNA detekterade 17 arter i 10 vattendrag.
- arternas dominansförhållanden genom eDNA kan fastställas.

eDNA-studier utförda under de rigorösa förhållanden som krävs för både fält- och laboratorie- arbete är en effektiv metod för fiskinventering. Viktiga faktorer som leder till pålitliga resultat förutsätter;

- optimal design av eDNA fältarbetet och val av provtagningspunkter och metod för provtagningen,
- tränad fältpersonal som arbetar under sterila förhållanden
- laboratorier avsedda uteslutande för eDNA
- tränad laboratoriepersonal med god kunskap om molekylär-genetiskt arbete
- negativa kontroller i duplikat eller triplikat från provtagning till bioinformatik för att utesluta kontaminering.
- positiva kontroller för att försäkra sig om att tillräckligt med DNA utvinns ur proverna och att alla steg fungerar som de skall
- minimikrav på DNA mängd och DNA kvalitet
- inhiberingskontroll av insamlat eDNA samt molekylära åtgärder för att avlägsna inhibering
- en fungerande bioinformatik, som gör det möjligt att på några dagar omvandla miljontals sekvenser till listor på artförekomst och antal läsningar per art.

5. REKOMMENDATIONER AVSEENDE FORTSATTA UNDERSÖKNINGAR

Vi föreslår att flera vattendrag i Norrbotten undersöks med samma metod, samt att antalet provpunkter i varje vattendrag och provtagningssäsong utökas. Provtagningspunkter väljs utifrån vattendragets lutning, vandringshinder och avstånd till närmaste sjö för att erhålla representativa resultat.

I dessa åar/älvar kan eDNA vara ett lämpligt verktyg för att utröna fiskafaunans status inför planerade åtgärder samt efter genomförda och planerade åtgärder. eDNA är särskilt lämpligt för övervakning av biologisk mångfald, design av åtgärdsprogram/effektkontroll, före och efter fiskpassage-byggen, rivande av dammar och restaureringar. Vidare är metoden lämplig för att utröna konnektivitet av olika fiskarter mellan hinder inom olika vattendrag.

Då studien genomfördes under vintern är det svårt att göra en fullständig analys av vattendragens betydelse för kustfisk. Endast lake förväntas nyttja vattendragen för lek vid provtagningstillfället, då de leker vintertid, och en stor del av dessa kan förväntas vara kustfisk. Troligen används vattendrag för övervintring och/eller uppväxtområde av ett flertal av de nu upptäckta arterna, men det är svårt att veta i vilken grad de förekommer i kustvatten sommartid. Studier bör med fördel läggas under övrig lektid (höst, vår och försommar) för att utreda betydelsen för kustfisk, och då gärna i de nedre delarna av vattendragen. Små bäckar kan också inkluderas i studien för att utröna betydelsen av ett fåtal mellanstora respektive ett stort antal småbäckar för kustfiskens rekrytering. En fördjupad studie riktad mot den hotade kusharren under våren/försommaren skulle kunna identifiera vattendrag där de fortfarande leker.

En flerartsstudie på musslor med fokus på flodpärlmusslan kunde vara av intresse eftersom fiskarter fungerar som mellanvärdar för stormusslorna vilka har höga naturvärden. Den tidigare dokumenterade stormusselpopulationen i Vitån är beroende av öring för sin fortplantning. AquaBiota har tillgång till markörer för musslor som särskiljer alla musselarter.

TACK

Tack till Ofir Svensson vid Länsstyrelsen i Norrbotten som ställde upp som chaufför under provtagningen. Ett stort tack till teknikerna vid MoRe Research för hjälp med DNA-extraktionerna i det exklusiva samarbetet med AquaBiota AB. Tack till Joe och Hayley för laboratorie-assistans och hjälp med bioinformatik.

REFERENSER

- Arrhenius A. 1921. Species och area. *J Ecol.* **9**:95–99
- Benson, D. A., Cavanaugh, M., Clark, K., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D. J., Ostell, J., & Sayers, E. W. (2017). GenBank. *Nucleic acids research*, 45:D37.
- Bohmann, K., A. Evans, M. T. P. Gilbert, G. R. Carvalho, S. Creer, M. Knapp, D. W. Yu, och M. de Bruyn. 2014. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology & Evolution* **29**:358 – 367.
- Bolger, A.M., Lohse, M. och B. Usadel. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30 (15), 2114-2120.
- Davis, T. R., Harasti, D., Kelaher, B., & Smith, S. D. (2017). Defining conservation targets for fish and molluscs in the Port Stephens estuary, Australia using species-area relationships. *Ocean & Coastal Management*, 136, 156-164.
- Deiner, K., H. M. Bik, E. Mächler, M. Seymour, A. Lacoursière-Roussel, F. Altermatt, S. Creer, I. Bista, D. M. Lodge, N. de Vere, M. E. Pfrender, och L. Bernatchez. 2017. Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities. *Molecular Ecology* **26**:5872-5895.
- Hänfling, B., L. Lawson Handley, D. S. Read, C. Hahn, J. Li, P. Nichols, R. C. Blackman, A. Oliver, och I. J. Winfield. 2016. Environmental DNA metabarcoding of lake fish communities reflects long-term data from established survey methods. *Molecular Ecology*
- Kelly, R.P., Port, J.A., Yamahara, K.M. och L.B. Crowder. 2014. Using environmental DNA to census marine fishes in a large mesocosm. *PloS One* **9** (1): e86175
- Leese, F., Altermatt, F.,... **Hellström M.**,... + 103 authors & Stenke, D (2016). DNAqua-Net: Developing new genetic tools for bioassessment and monitoring of aquatic ecosystems in Europe. *Research Ideas and Outcomes (Rio)*, **2**, e11321.
- Magoc, T. och Salzberg, S.L., 2011. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, **27** (21), 2957-2963.
- Olds, B. P., Jerde, C. L., Renshaw, M. A., Li, Y., Evans, N. T., Turner, C. R., ... Shirey, P. D. (2016). Estimating species richness using environmental DNA. *Ecology and Evolution*, **6**, 4214–4226.
- Pedersen, M. W., S. Overballe-Petersen, L. Ermini, C. D. Sarkissian, J. Haile, **M. Hellstrom, J. Spens, et al.** 2015. Ancient and modern environmental DNA. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **370**:20130383
- Rosenzweig M., L. 1995. Species diversity in space and time. Cambridge Univ. Press. New York

- SERS <https://www.slu.se/institutioner/akvatiska-resurser/databaser/elfiskeregistret/>
- Sharber, N.G. & S.W. Carothers. 1988. Influence of electrofishing pulse shape on spinal injuries in adult rainbow trout. *North American Journal of Fisheries Management* 8:117-122.
- Shaw, J. L., Clarke, L. J., Wedderburn, S. D., Barnes, T. C., Weyrich, L. S., & Cooper, A. (2016). Comparison of environmental DNA metabarcoding and conventional fish survey methods in a river system. *Biological Conservation*, **197**:131–138.
- Spens, J.** 2008. Using GIS to predict landscape-scale establishment and extinctions of lacustrine salmonids: impact from keystone species, exotics, chemical & physical factors. Swedish University of Agricultural Sciences, Umeå. ISSN 1652-6880 ISBN 978-91-86195-04-5
- Spens, J.**, A. R. Evans, D. Halfmaerten, S. W. Knudsen, M. E. Sengupta, S. S. T. Mak, E. E. Sigsgaard, och **M. Hellström**. 2017. Comparison of capture and storage methods for aqueous microbial eDNA using an optimized extraction protocol: advantage of enclosed filter. *Methods in Ecology and Evolution*, **8**(5), 635-645
- Trigal, C., & Degerman, E. (2015). Multiple factors and thresholds explaining fish species distributions in lowland streams. *Global Ecology and Conservation*, **4**, 589-601.
- Wheeler, Q. D., Raven, P. H., & Wilson, E. O. (2004). Taxonomy: Impediment or expedient? *Science*, **303**, 285–285.
- Wilcox, T. M., K. S. McKelvey, M. K. Young, A. J. Sepulveda, B. B. Shepard, S. F. Jane, A. R. Whiteley, W. H. Lowe, and M. K. Schwartz. 2016. Understanding environmental DNA detection probabilities: A case study using a stream-dwelling char *Salvelinus fontinalis*. *Biological Conservation* 194:209-216.

Författarnamn i **fet stil** anger medarbetare på AquaBiota

BILAGOR

BILAGA I.

Metastrekkkodning (metabarcoding eller flerartsanalyser) genom NGS (Next Generation Sequencing)

Varje levande art utsöndrar arvsmassa eller DNA. Vissa delar av en individs DNA är helt unikt för just den individen, medan andra delar av DNA delas med just den individens art, och sedan finns det DNA som ser likadant ut hos alla organismer i en grupp.

Med hjälp av jättelika databaser som är tillgängliga för alla (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) kan forskarna välja ut en liten bit DNA som man kan kopiera industriellt. Dessa små bitar kallas primers. Eftersom primern är artspecifik fastnar den enbart på DNA för den valda arten. Resultatet, dvs. en liten bit av DNA som primern kopierar kallas barcode (streckkod), och kan liknas vid en streckkod som används för att betala för varor i affärer. Dessa primers, en droppe eDNA, ett enzym och salter blandas i ett provrör. Provröret placeras i en maskin som gör massor av DNA kopior för just den arten. Detta kallas för PCR (Polymerase Chain Reaction) och bygger på proteinsyntesen.

Metastrekkkodning eller Metabarcoding innebär att man designar en primer som är gemensam för alla arter inom en grupp – i denna rapport vertebrater med fokus på fisk. Primerna för metastreckkodning tillverkas så att de plockar upp en bit DNA som är likadana för alla arter inom en grupp, t.ex. alla fiskar, men DNAt som blir avläst varierar mellan olika arter och visar en unik kod. Eftersom man analyserar flera olika arter på en gång kallas metoden metastreckkodning.

För att veta vilka arter man har läser man av PCR produkterna i en sekvenseringsmaskin som heter MiSeq och då flera arter sekvenseras samtidigt kallas detta NGS (Next Generation Sequencing). Flera miljoner läsningar av DNA finns osorterade och färdiga efter en NGS körning.

Flerartsanalyser- bioinformatik

Då resultaten är klara har man enorma mängder data som innehåller miljontals olika sorter av DNA. För att få ordning på data och för att veta vilka arter man har i ett prov använder man olika programmerings metoder som sorterar upp data. Enorma datafiler som motsvarar upp till flera terabyte (TB) data analyseras med hjälp av program som skiljer de olika DNA koderna åt. Denna process kallas bioinformatik. Då bioinformatiken är klar och sekvenserna har sorterats skapas en lista av olika DNA-identiteter. Dessa jämförs med olika databaser och varje unik bit av DNA får en identitet. Ett flertal databaser finns tillgängliga och varje gång en genetisk artikel publiceras läggs DNA sekvensen ut på nätet. Om en art inte är beskriven genetiskt under bioinformatikens gång men kommer in på databaserna senare, kan man köra om bioinformatiken och få de tidigare oidentifierade sekvenserna identifierade.

Resulterande rådata sammanställs i en Excel fil som anger arter och hur många kopior av DNA som lästs in för varje art inom varje enskild lokal. På basen av detta kan arterna som finns i vattnet identifieras och den relativa förekomsten av arten anges.

BILAGA 2.**Antalet DNA läsningar per art inom lokalerna**

Tabell B2. Antalet eDNA läsningar per art inom de olika provlokalerna. # träff anger hur många gånger en sekvens blivit läst på artnivå och anger relativ biomassa. Varje enskild art avger eDNA olika och har därför olika gränsvärden för detektion. I tidigare eDNA studier har 100 läsningar angetts som detektionsgräns. För denna studie har vi använt artspecifika algoritmer som anger gränsvärdet för varje enskild MiSeq sekvensering. Metodiken har tagits fram med flera samarbetspartners i empiriska undersökningar 2017 (opublicerat). Resultaten har visat att denna metodik fungerar utmärkt och ger ett mer representativt resultat.

LOKAL NAMN	Jävre-ån	Svens-byån	Rokån	Lillpite älven	Alter-älven	Rosån	Alån	Pålång ån	Vitån	Laka-bäcken
ART	# träff	# träff	# träff	# träff	# träff	# träff	# träff	# träff	# träff	# träff
Gädda (<i>Esox lucius</i>)	1 003	221	463	284	1 743	659	4 255	461	3 171	8 017
Lake (<i>Lota lota</i>)	451	721	921	191	1 463	1 600	7 305	4 086	1 385	4 011
Abborre (<i>Perca fluviatilis</i>)	11 579	3 554		2 377	7 622	7 111	11 587	9 632	18 613	15 793
Mört (<i>Rutilus rutilus</i>)	10 655	7 363		506	44 970	4 697	5 773	5 523	9 184	13 726
Braxen (<i>Abramis brama</i>)	1 559			851	17 067	1 798	5 732	3 220	65 290	45 761
Stensimpa (<i>Cottus gobio</i>)	1 578	14 873	6 764	14 511	1 187		58 042		3 406	
Elritsa (<i>Phoxinus phoxinus</i>)	117	9 464	1 702	1 647						
Löja (<i>Alburnus alburnus</i>)		604		988	1 223		9 075		169	
Öring (<i>Salmo trutta</i>)		657	3 551	5 749					398	
Gärs (<i>Gymnocephalus cernua</i>)					207		53			38
Sik (<i>Coregonus</i> spp.)					4 142				433	1 901
Harr (<i>Thymallus thymallus</i>)				10			1 668			
Småspigg (<i>Pungitius pungitius</i>)				401	746					
Regnbåge (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)				476						
Nors (<i>Osmerus eperlanus</i>)							288			
Nejonöga (<i>Lampetra</i> sp.)	314	123		36	54		1 490			
Ruda (<i>Carassius carassius</i>)					27					

www.aquabiota.se