



Inventering av fisk vid Gåsefjärden i Karlskrona skärgård med nätprovfiske och eDNA

AquaBiota Rapport 2019:15

Författare: Johan Näslund, Tomas Didrikas, Pähr Hellström &
Micaela Hellström

STOCKHOLM, NOVEMBER 2019

Beställare:

Undersökningen är utförd av AquaBiota Water Research för Länsstyrelsen i Blekinge Län

Författare:

Johan Näslund(johan.naslund@aquabiota.se), Tomas Didrikas (tomas.didrikas@gmail.com), Pähr Hellström (pah.hellstrom@aquabiota.se) & Micaela Hellström (micaela.hellstrom@aquabiota.se)

Omslagsbild: Yttre Gåsefjärden (Micaela Hellström).

Kvalitetsgranskad av:

Tom Staveley (tom.staveley@aquabiota.se)

Kontaktinformation:

AquaBiota Water Research AB
Adress: Löjtnantsgatan 25, 115 50 Stockholm
Tel: +46 8 522 302 40
www.aquabiota.se

Tomas Didrikas
AERC Aquatic Environment Research & Consulting
Adress: Vega allé 142, 136 48 Handen
Tel: +46 739 231 331

Citera som:

Näslund J., Didrikas T., Hellström P, Hellström M., Inventering av fisk vid Gåsefjärden i Karlskrona skärgård med nätprovfiske och eDNA. AquaBiota Rapport 2019:15.

Ämnesord: eDNA, Fiskfauna, nätprovfiske, Blekinge, Östersjön

AquaBiota Rapport 2019:15

ISBN: 978-91-89085-02-2

ISSN: 1654-7225

© AquaBiota Water Research 2019



INNEHÅLL

Innehåll.....	3
Sammanfattning.....	4
Inledning	5
1. Material och Metoder.....	6
2.1 Nätprovfiske	6
2.2 eDNA	8
2. Resultat och diskussion	11
3.1. Nätprovfiske	11
3.2. eDNA	18
3.3. Vattentemperatur och siktdjup.....	21
3.4. Jämförelse mellan resultat av nätprovfiske och eDNA	22
Referenser	28
Bilaga 1. Kvalitetssäkring av eDNA och rådata.....	30
Bilaga 2. Provtagningsstationer, nätfiske	35

SAMMANFATTNING

På uppdrag av Länsstyrelsen i Blekinge län har AquaBiota Water Research tillsammans med AERC genomfört nätprovfiske med kustöversiktsnät samt provtagning och analys av eDNA med syfte att kartlägga fisksamhället i området kring Gåsefjärden i Karlskrona skärgård.

Totalt inventerades 45 stationer med nätprovfiske och 17 med eDNA, varav 16 stationer var gemensamma för båda metodikerna. Sammantaget visar inventeringarna att fisksamhället i området karaktäriseras av ett högt inslag av sötvattensfiskar, framförallt abborre och mört men i de yttre delarna är det marina inslaget tydligare med förekomst av arter som sill, skarpsill och torsk. Andel av rovfisk var relativt låg för båda metoderna. Det kan indikera både dålig återväxt av rovfiskar och högt fisketryck. Totalt identifierades 30 fiskarter i det provtagna området, varav 21 arter och 3336 individer fångades med nätprovfiske. Vid de 16 stationerna där båda metodikerna användes tillsammans detekterades 16 arter med nätprovfiske och 24 arter med eDNA (samt ytterligare två artpar, ett artkomplex och två arter som saknar referenssekvens). Totalt identifierades 3 rödlistade fiskarter i hela området: ål (akut hotad), torsk (sårbar) och vimma (nära hotad).

De arter som enbart detekterades med eDNA är arter som mera sällan fångas vid nätprovfisken såsom storspigg, gädda, ål och simpor. Enbart en tånglakeindivid fångades i provfisket, arten detekterades även med eDNA. Information om längd och åldersanalys från nätprovfisket visade att inga årsyngel av abborre förekom i området, vilket kan tyda på en sämre lokal reproduktionsframgång 2019.

Nätprovfiske och eDNA kompletterar varandra på ett bra sätt där metoderna bidrar med olika information. Resultaten för relativ förekomst av de vanligaste medelstora arterna (mört och abborre) har en god överensstämmelse mellan metoderna. eDNA är att föredra då fiskarters förekomst i ett område är av intresse då det är fördelaktigare ur kostnadssynpunkt samt bevarandeetiska skäl. Nätprovfiske är att föredra då information om arternas fångst per nät och natt i abundans och biomassa samt längdfördelning och tillväxt är av intresse.

INLEDNING

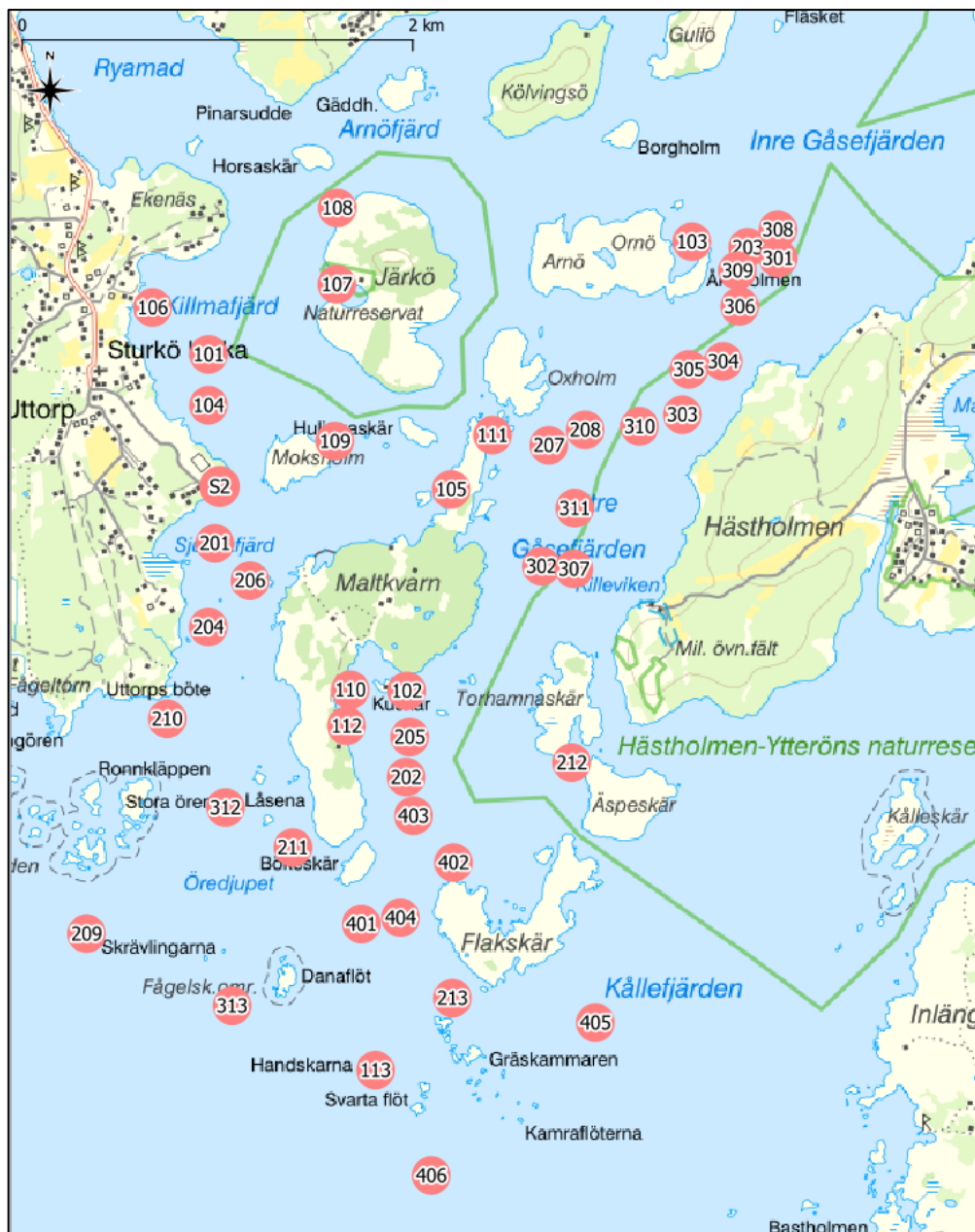
Länsstyrelsen i Blekinge avser att etablera ett nätverk av marina miljöer som är värdefulla och representativa ur naturvärdessynpunkt och behöver ett fungerande skydd. I samband med arbetet för att identifiera potentiella platser för marint områdesskydd har Länsstyrelsen önskat att kartlägga fisksamhället kring Järkö, Ornö, Flakskär och Kållefjärden, vilket omfattar inre och yttre Gåsefjärden i Karlskrona skärgård.

Vidare var syftet med inventeringen att jämföra traditionella standardiserade nätprovfisken med den icke påverkande) undersökningsmetoden eDNA. eDNA eller miljö-DNA innebär att några liter vatten samlas in på varje undersökningslokal. Vattnet filtreras och filtren analyseras för DNA-spår som växter och djur lämnar efter sig i sin omgivning. eDNA analyserna kan identifiera de olika arterna och ge en uppfattning om fiskars närvaro. Denna undersökning är den första i Sverige där provtagning med nät och eDNA utförs samtidigt för att direkt jämföra resultaten mellan provfiske och eDNA.

AquaBiota tillsammans med AERC har på uppdrag av Länsstyrelsen i Blekinge län genomfört nätprovfiske samt eDNA provtagning och analys med syfte att kartlägga fisksamhället i området.

1. MATERIAL OCH METODER

En översiktlig karta över stationerna som använts vid undersökningarna med nätprovfiske och eDNA visas i Figur 1. Totalt 45 stationer inventerades med nätprovfiske och 17 med eDNA.



Figur 1. Översiktlig karta över stationerna som använts vid fiskinventeringarna i området.

2.1 Nätprovfiske

Provfisket genomfördes på totalt 45 stationer (nätlägningsplatser, se Figur 2; för detaljerad stationsinformation se Bilaga 2) mellan 12-17 augusti 2019 enligt standardiserad metodik, vilken beskrivs i Havs- och Vattenmyndighetens undersökningstyp: Provfiske i Östersjöns kustområden – djupstratifierat provfiske med nordiska kustöversiktsnät, version 1:3, 2015-07-07 (Karlsson 2015). Nätprovfisket utfördes i djupintervallen 0–3, 3–6, 6–10 och 10–20 m. Stationerna valdes slumpmässigt i varje djupintervall med hjälp av digitala sjökort. För att få en så representativ bild av

fisksamhället som möjligt användes Nordiska kustöversiktsnät (redskapskod K064) bestående av 9 paneler med olika maskstorlekar. Detta möjliggjorde fångst av de flesta kustlevande fiskarterna i ett brett storleksintervall. Varje station fiskades med ett Nordiskt kustöversiktsnät under en natt (totalt 6 nätter). Omgivningsfaktorer i form av siktdjup, vindriktning och vindstyrka på en centralt belägen punkt mättes vid upptagning av näten. Likaså mättes vattentemperatur vid ytan och botten vid varje station vid nätläggning och vittjning.

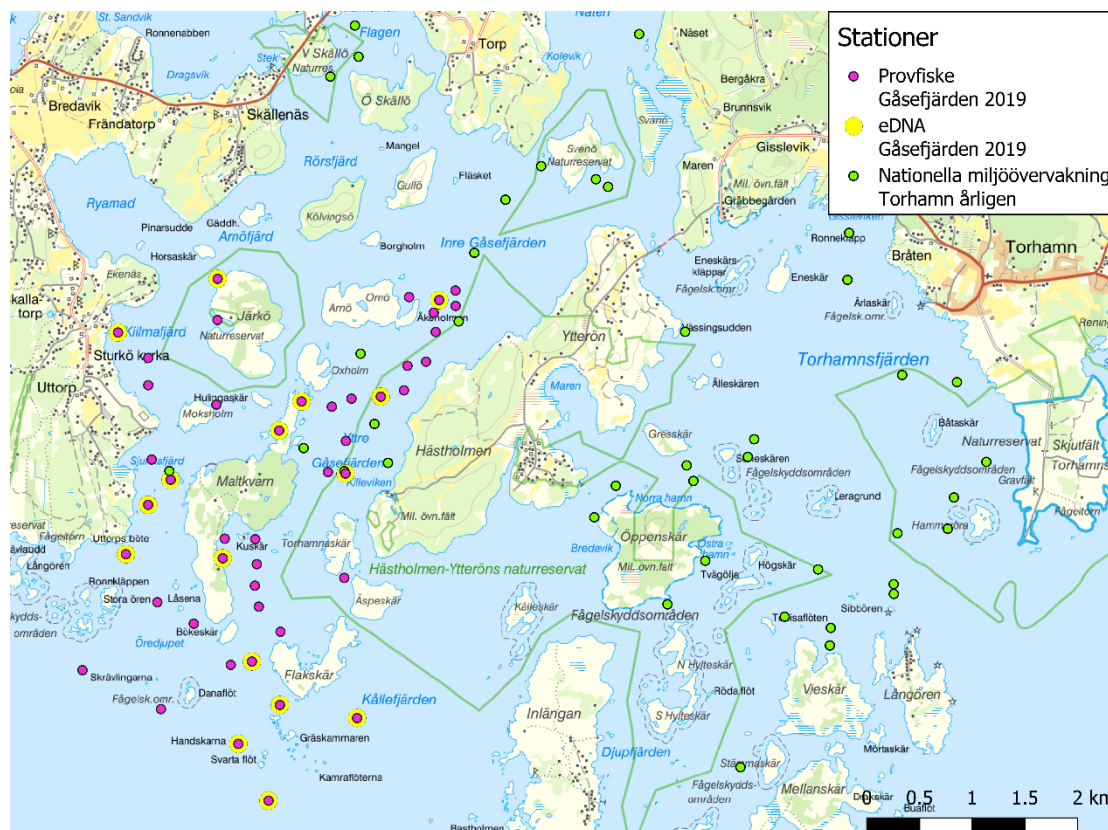
Efter vittjning, plockades all fisk ur näten och sorterades per station, maskstorlek och art. För varje station och maskstorlek registrerades antalet individer per längdgrupp för alla förekommande arter. Fiskens längd mättes från nospets till stjärtfenans yttersta kant med stjärtfenans flikar sammanförda och avrundades nedåt till hela cm (t.ex. längdgrupp 15 avser längdintervallet 15,0–15,9 cm). Vikt (i kg med tre decimaler) registrerades artvis per maskstorlek.

De provfiskade abborrarna analyserades individuellt. Totallängd mättes och kön bestämdes. Könsfördelningen registrerades tills antalet honor per längdgrupp uppnått minst 20st. Honorernas totala och somatiska vikt vägdes (enlig kustlaboratoriets riktlinjer (Karlsson, 2015), d.v.s. fiskens vikt då gonad, mag- och tarmsystem avlägsnas; lever ingår). Somatiska vikten registrerades på 100 honor inom längdgrupp 15–25 cm.

I längdgrupper 12–20 cm, togs åldersprover enbart på honor och då för 15 honor per längdgrupp. För honor i längdgrupper 21 cm och större togs åldersprov på 20 individer per nät (eller alla tillgängliga om det fanns färre än 20). För åldersanalyserna plockades otoliter ut för senare analys på ackrediterat laboratorium. Sammanlagt åldersbestämdes 215 individer.

All provfiske- och omgivningsdata kvalitetssäkrades och lagrades i Kustfiskdatabasen – KUL (<http://www.slu.se/kul>), som är offentligt tillgänglig.

Provfiskets resultat vid Gåsefjärden jämfördes med referensområdet utanför Torhamn som provfiskas årligen inom den nationella miljöövervakningen. De flesta av referensområdets stationer var placerade 2–5 km öster om denna undersöknings provfiskelokaler, medan några stationer låg närmare årets provtagning (se Figur 2). Jämförelsen mot referensområde gjordes med senaste tillgängliga data (Förlin m fl 2017; Tobiasson m fl 2018; Kustfiskdatabasen – KUL <http://www.slu.se/kul>).



Figur 2. Provfiskets nätlägningsplatser och eDNA-provtagningsstationer vid Gåsefjärden augusti 2019 samt nationella miljöövervakningsstationer vid Torhamn som provfiskas årligen.

2.2 eDNA

Undersökningsmetoden miljö-DNA eller eDNA (environmental DNA) baserar sig på det faktum att alla levande organismer kontinuerligt avger genetiska fotavtryck i miljön i form av slem, avföring, respiration, svett och döda celler (Pedersen m.fl. 2015). Definitionen på eDNA anges som; "det DNA som kan studeras från dessa spår i miljön utan att målorganismen är närvarande i provet" (Taberlet m.fl. 2012). I akvatiska miljöer kan detta material utvinnas ur små mängder vatten och genom molekylära analyser ange vilka arter som befinner sig inom ett område, utan att man vare sig ser eller fångar organismen. Eftersom eDNA i vattenmassan är kortlivat (ca. 1-2 veckor) ger analyserna en bild av artförekomst i nutid. eDNA har visat sig ha en stor potential som verktyg för inventering av vattenorganismer (Bohmann m.fl. 2014, Leese m.fl. 2016, Olds m.fl. 2016, Deiner m.fl. 2017). Vidare har flera studier visat att eDNA i sjöar och rinnande vatten detekterar betydligt fler arter än vad provfisket gör (Hänfling m.fl. 2016, Hellström & Spens 2017 a, b, Hellström m.fl. 2018).

Fältarbetet för eDNA-provtagning i denna jämförande undersökning utfördes på 16 stationer i samband med provfisket mellan 12 och 15 augusti 2019. I mån av möjlighet togs provet precis innan det korresponderande nätet lades ut. Provtagningspunkter anges i Figur 2 och i Tabell 1. Koordinaterna anges som decimalgrader i WGS84. Innan provtagningen genomfördes i fält, steriliserades all provtagningsutrustning. Filtreringsutrustning köptes in som sterila och DNA-fria engångsförpackningar. På varje lokal samlades fem underprover vilka blandades till ett samlingsprov och filtrerades av

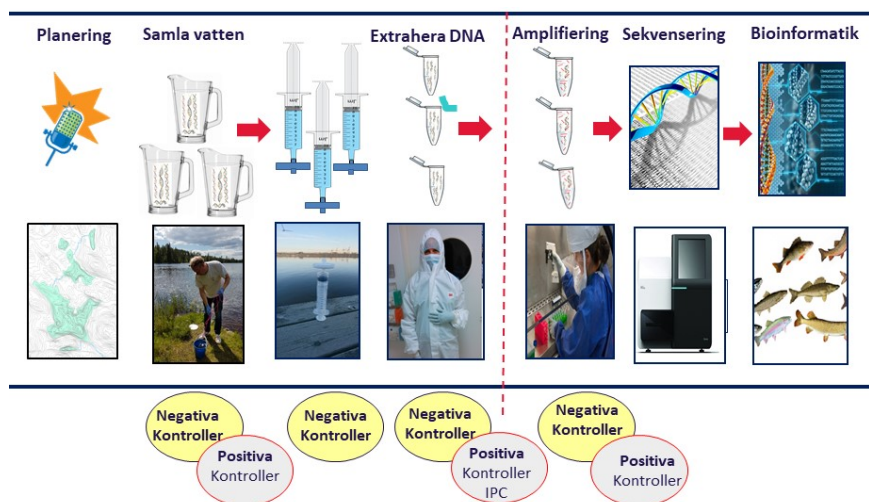
personal utbildad i hantering av eDNA-prover. För en lokal (S2) som inte inkluderades i den jämförande studien togs tre replikat (a,b,c) av vattenprov för att bedöma replikerbarheten mellan prover. Vattnet filtrerades med inkapslade (slutna) engångsfilter NatureMetrics 5/0,8 µm för att minska risken för kontaminering. Negativa fältkontroller utgjordes av rent vatten som hanterades med samma provtagningsutrustning och filtrerades på plats för att utesluta kontaminering av DNA mellan prover eller från provtagare. Insamling och fixering följde Spens m.fl. (2017). Data från eDNA-analyser för arter som kunde identifieras med fullständig säkerhet på artnivå rapporterades in till Artportalen.

Tabell 1. Provpunkter för eDNA. Positioner samt volym filtrerat vatten (mL) per filter.

Provpunkt	Latitud	Longitud	Volym (mL)
105	56.08285	15.7248	3000
106	56.09135	15.7004	3000
108	56.09585	15.71567	3000
111	56.08532	15.72825	3000
112	56.07202	15.716	3000
113	56.05617	15.71808	3500
203	56.09383	15.7494	3000
204	56.07663	15.70472	3500
206	56.07875	15.70818	3500
210	56.07243	15.70125	3000
213	56.05945	15.72447	5000
307	56.07913	15.73483	4000
310	56.08565	15.74035	4500
404	56.06317	15.72027	4500
405	56.05825	15.7362	4500
406	56.0513	15.72258	4500
S2 a,b,c	56.08309	15.70577	4500

2.2.1 Extraktion, PCR och sekvensering

Flödesschemat i Figur 3 beskriver eDNA-processen från insamling till analys. eDNA extraherades enligt protokoll från Spens m.fl. (2017) i ultrarena laboratorier speciellt byggda för analyser av akvatiskt eDNA. Extraktionerna utfördes av molekylärbiologiska tekniker som är tränade i att extrahera eDNA. Proverna analyserades med flerartsanalyser för förekomst av fisk med markörer som amplifierar 12S mtDNA regionen (Miya mfl, 2015). Varje PCR prov utfördes i 12 replikat som poolades under bioinformatiken. Vidare användes en positiv DNA-kontroll med känd artsammansättning som standard för jämförelse, samt negativa kontroller (Bilaga 1). Som en kvalitetskontroll och för att visa på eventuell varians mellan prover orsakad av analysmetodiken togs även tre replikat vid en lokal.



Figur 3 Flödesschema som visar de olika stegen för eDNA undersökningar av fiskesamhällen.

2.2.2. Bioinformatik och verifiering

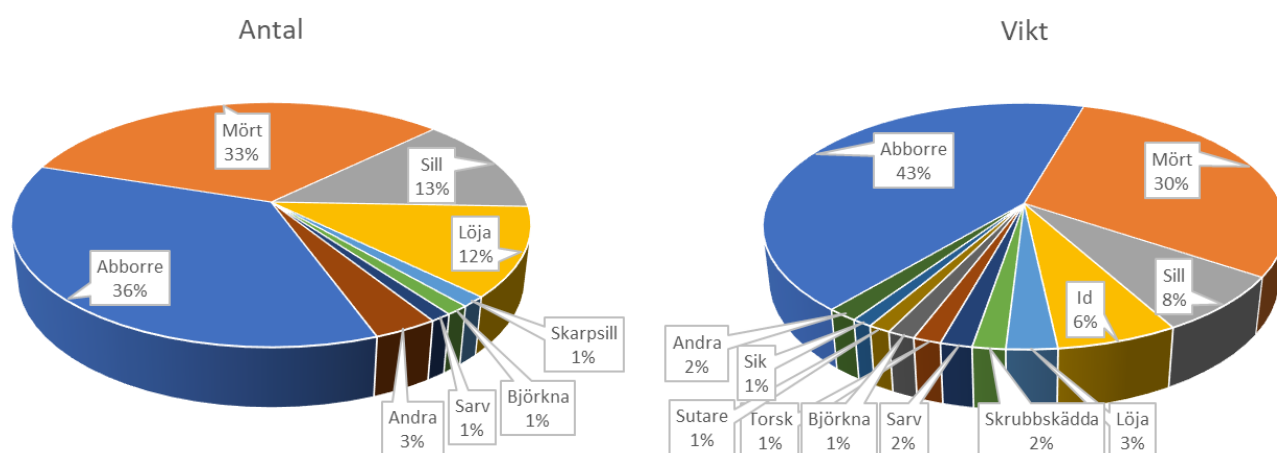
Varje enskild art har en unik streckkod eller sekvens. Varje unik sekvens fick en molekylär identitet. De olika sekvenserna kördes mot en internationell databas (tillgänglig för allmänheten, som grundar sig på GenBank och upprätthålls av National Center for Biotechnology Information, NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)) där sekvenser på mer än 370 000 kända arter finns tillgängliga med 0,6 miljarder sekvenser och 2,6 biljoner baspar enligt NCBI:s hemsida. De olika sekvenserna matchades mot databasen och på så sätt bestämdes identiteten av sekvenserna från fiskar, däggdjur och groddjur. Tack vare nya framsteg inom metabarkodning är det nu möjligt att i de allra flesta fall identifiera ryggradsdjur på artnivå istället för enbart familje- eller genusnivå. Antalet läsningar per art gav en relativ uppskattning av hur mycket eller litet arten förekom i ett prov.

2. RESULTAT OCH DISKUSSION

3.1. Nätprovfiske

Artsammansättning

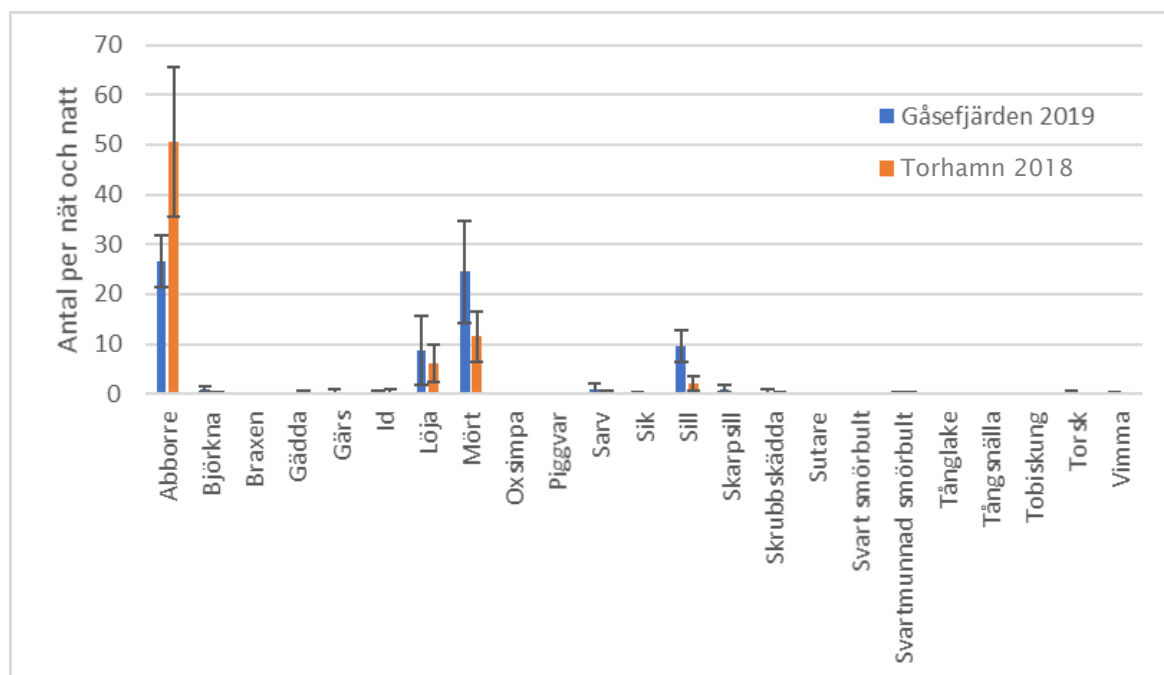
Totalt 3366 individer från 21 fiskarter fångades i nätprovfisket. (Tabell 2). Den totala fångstvikten var 208 kg. Fisksamhället (i biomassa) dominerades av sötvattensarter, framförallt abborre med 36 % av totalantalet och 43 % av totalvikten (Figur 4). Näst vanligast var mört med 33 % av totalantalet och 30 % av totalvikten. Samma mönster observerades även med fångster uttryckt i medelantal fiskar per nät och natt där abborre och mört var vanligast och sill och löja påträffades relativt ofta (Figur 4, Tabell 2). Medelantalet fiskar av alla arter var $74,1 \pm 15,6$ individer per nät och natt och medelvikt av totalfångsten $4,6 \pm 0,8$ kg per nät och natt (± 95 % konfidensintervall). Gåsefjärden var mest artrik jämfört med alla andra nyligen provfiskade kustområden i Blekinges län (Tabell 3). Mört och sill fångades oftare vid Gåsefjärden 2019 jämfört med provfisket vid Torhamn 2018, medan antal fångade abborrar var ca två gånger högre vid Torhamn 2018 (Figur 5).



Figur 4. Arternas procentuella andel av den totala fångsten (antal respektive vikt) vid Gåsefjärden augusti 2019. Abborre dominerade fångsterna.

Tabell 2. Samtliga arter, antal individer och deras vikt i provfiske vid Gåsefjärden augusti 2019. Tabellen visar även artens biogeografiska ursprung, d.v.s. om den arten har utvecklats i havet, d.v.s. marin, eller i sötvatten. Sötvattensarter dominerade. Två rödlistade arter samt en invasiv främmande art fångades.

Art	Vetenskapligt namn	Ursprung	Rödlistning	Antal	Vikt (kg)
Abborre	<i>Perca fluviatilis</i>	Sötvatten		1199	90,117
Björkna	<i>Blicca bjoerkna</i>	Sötvatten		42	3,004
Braxen	<i>Abramis brama</i>	Sötvatten		1	0,008
Gärs	<i>Gymnocephalus cernuus</i>	Sötvatten		22	0,894
Id	<i>Leuciscus idus</i>	Sötvatten		18	13,208
Löja	<i>Alburnus alburnus</i>	Sötvatten		395	5,510
Mört	<i>Rutilus rutilus</i>	Sötvatten		1100	62,442
Oxsimpa	<i>Taurulus bubalis</i>	Marin		1	0,019
Sarv	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	Sötvatten		38	3,466
Sik	<i>Coregonus lavarentus</i>	Migrerande		7	2,220
Sill	<i>Clupea harengus</i>	Marin		432	15,656
Skarpsill	<i>Sprattus sprattus</i>	Marin		46	0,625
Skrubbskädda	<i>Platichthys flesus</i>	Marin		23	3,575
Sutare	<i>Tinca tinca</i>	Marin		1	2,447
Svart smörbult	<i>Gobius niger</i>	Marin		5	0,060
Svartmunnad smörbult	<i>Neogobius melanostomus</i>	Marin	(Invasiv främmande art)	8	0,207
Tånglake	<i>Zoarces viviparus</i>	Marin		3	0,104
Tångsnälla	<i>Syngnathus typhle</i>	Marin		1	0,002
Tobiskung	<i>Hyperoplus lanceolatus</i>	Marin		4	0,164
Torsk	<i>Gadus morhua</i>	Marin	Sårbar	13	3,045
Vimma	<i>Vimba vimba</i>	Marin	Nära hotad	7	1,353



Figur 5. Medelfångst per nät och natt av alla fiskarter vid Gåsefjärden augusti 2019 samt vid Torhamn augusti 2018. Felstaplar visar 95 % konfidensintervall.

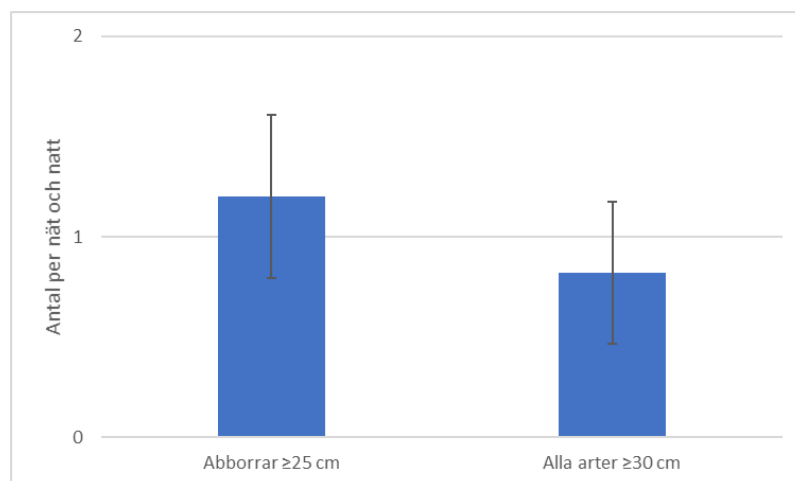
Andel marina arter

Fördelningen mellan marina och limniska arter beskriver provfiskeområdes koppling mellan marin och limnisk miljö (t.ex. Tobiasson m fl 2018). Andel av marina arter vid Gåsefjärden 2019 var 13,1 % och representerar ett område som mestadels ligger inomskärs men med viss förbindelse med marin miljö. Andelen marina arter i Gåsefjärden fångade i provfisken låg i nivå med de andra nyligen provfiskade kustområdena i Blekinge (Tabell 3).

Stor fisk

Stora individer är särskilt viktiga för både reproduktion och predation, och de utgör ofta en målgrupp för fiske. Minskad förekomst av stora individer kan indikera sämre förutsättningar för tillväxt, högre fisketryck eller högre naturlig dödlighet från t.ex. säl, skarv (Karlsson och Ericson, 2016) och rovfisk som gädda. Medelantalet av stora individer (definieras generellt som större än 30 cm för samtliga arter; t.ex. Ericson, 2014) var $0,8 \pm 0,4$ fiskar per nät och natt (Figur 6). Andelen stor fisk var låg i jämförelse med de andra nyligen provfiskade kustområdena i Blekinge (Tabell 3).

För abborre definieras vanligen "stor fisk" som individer större än 25 cm (t.ex. Ericson, 2014), d.v.s. något mindre storleksklasser inkluderas också i begreppet. Medelantalet av stora abborrar var $1,2 \pm 0,4$ fiskar per nät och natt (Figur 6). Andelen stora abborrar var låg i jämförelse med de andra nyligen provfiskade kustområdena i Blekinge (Tabell 3).



Figur 6. Antal stora abborrar (>25 cm) respektive stora fiskar generellt sett, d.v.s. alla arter (>30 cm), per nät och natt vid Gåsefjärden augusti 2019. Definitioner av "stor fisk" enligt Ericson, 2014. Felstaplar visar 95 % konfidensintervall.

Rovfisk

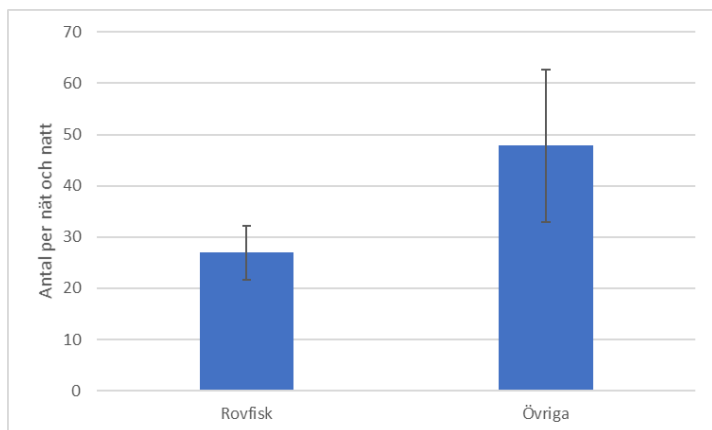
Rovfiskar, d.v.s. fisk som i vuxen ålder huvudsakligen äter annan fisk (t.ex. gädda, abborre och torsk) har en viktig funktion i födoväven eftersom de håller bestånden av småfisk under kontroll och påverkar därmed hela ekosystemet. Många rovfiskarter är attraktiva byten för sport och kommersiellt fiske vilket lätt påverkar populationerna. Liten eller minskande förekomst av rovfisk kan därför indikera ett högt fisketryck. På grund av rovfiskarnas betydelse och utsatthet är det viktigt att följa beståndens utveckling över flera säsonger.

I denna studie var andelen icke rovfisk i nätprovfisket nästan två gånger högre än antalet rovfiskar. Medelantal av rovfisk per nät och natt var 26,9 kg och icke rovfisk 47,9 kg (Figur 7). I fångsterna var abborre dominerande och den vanligaste rovfisken. Andra rovfiskar som exempelvis torsk representerades av enstaka individer. Nätprovfisket detekterade inte gädda i denna studie medan eDNA detekterade arten. I Gåsefjärden var andelen rovfisk (% biomassa) låg i jämförelse med de andra nyligen provfiskade kustområdena i Blekinge (Tabell 3).

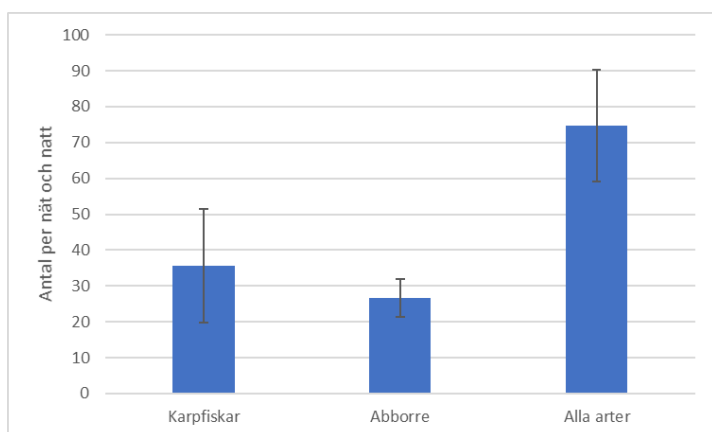
Karpfisk

En ökad mängd karpfiskar (familjen *Cyprinidae*) kan indikera förhöjd näringsbelastning och stigande vattentemperatur eftersom dessa fiskar anses gynnas av näringsrikt och varmt vatten. De kan också gynnas av färre stora rovfiskar (ex. Karlsson och Ericson 2016).

En stor del av stationerna var i skyddade, mer varma grundområden med låg vågexponering (miljö som föredras av karpfiskar) vilket troligen ledde till i stort antal av karpfiskar i nätprovfisket. Medelantal karpfiskar per nät och natt var 35,6 (Figur 8). Abborre/karp-kvoten var den lägsta i jämförelse med de andra nyligen provfiskade kustområdena i Blekinge på grund av hög andel av mört och löja (karpfiskar) i Gåsefjärden (Tabell 3).



Figur 7. Antal rovfisk respektive icke rovfisk per nät och natt (antal per nät och natt) vid Gåsefjärden augusti 2019. Felstaplar visar 95 % konfidensintervall.



Figur 8. Antal karpfisk, abborre och alla fiskarter nät och natt (antal per nät och natt) vid Gåsefjärden augusti 2019. Felstaplar visar 95 % konfidensintervall.

Trofisk nivå och diversitet

Trofisk medelnivå är ett index som speglar förhållandet mellan fiskar med olika födoval i fisksamhället. Varje art har tilldelats ett värde som speglar dess nivå i näringskedjan. Rovfiskar har höga värden, medan växtätande fisk som flera karpfiskar har låga värden. De enskilda arternas trofiska värden (Froese och Pauly, 2004; Karlsson, 2015) samt andelar i fångsten sammanvägs till ett trofiskt index för hela fångsten. En låg medeltrofinitivå betyder obalans och relativt brist på rovfisk i fisksamhället.

Den trofiska medelnivån av fiskesamhällena i provfiskad område var 3,6. Det är något lägre jämfört med andra nyligen provfiskade kustområden i Blekinge och det beror framförallt på relativt låg fångst av rovfisk i området (Tabell 3; t.ex. jämförelse med Förlin m fl 2017) eftersom fångsten av abborre var relativt normal i jämförelse med andra områden.

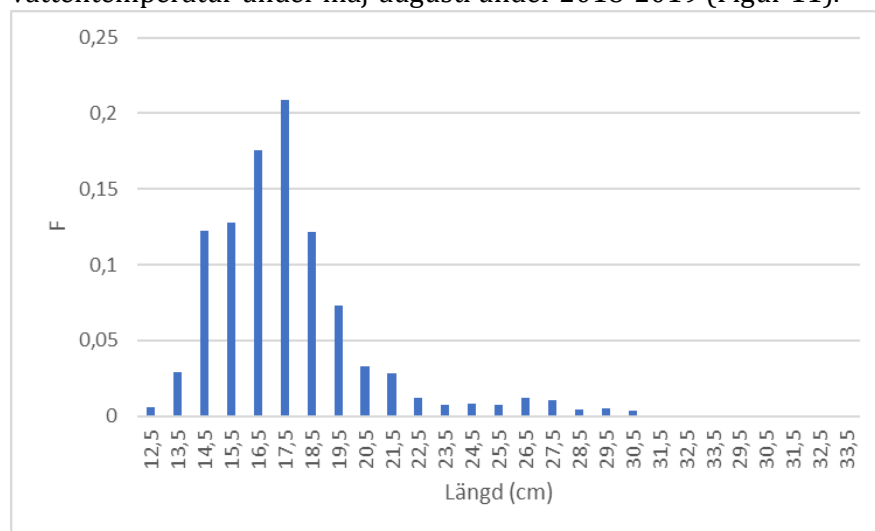
Shannons diversitetsindex beskriver mångfalden i fisksamhället och baseras på antalet arter samt hur antalet fiskar fördelar sig mellan arterna. Indexet är högt i artrika områden och där fördelningen i förekomst är jämn mellan arter. Däremot är det lågt i områden med

ett fåtal arter eller med stark dominans av enstaka arter (Tobiasson m fl 2018). Vid Gåsefjärden var diversitetsindex 1,6 vid provfisket 2019. Värde ligger i nivå med andra nyligen provfiskade kustområden i Blekinge samt Sveriges östkust (t.ex. Förlin m fl 2017).

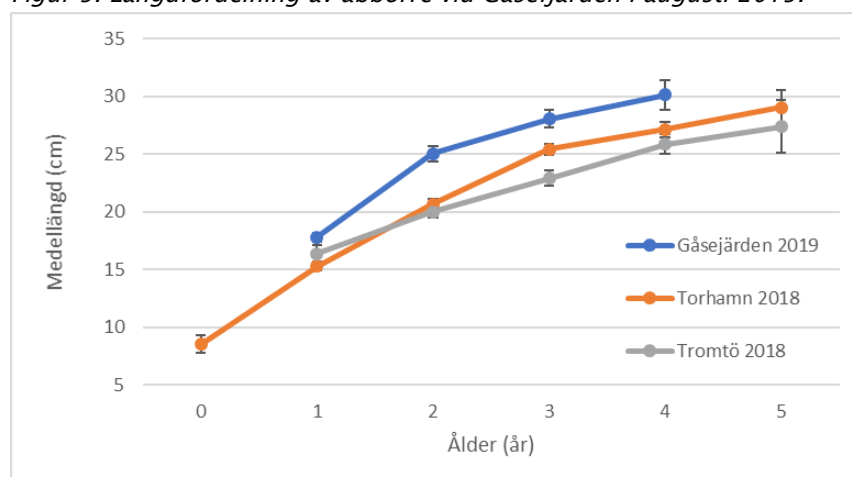
Abborrens åldersfördelning och tillväxt

Totalt 1199 abborrar inom längdintervallet 12,5–34,2 cm fångades. Individer inom längdgrupperna mellan 14,5 och 19,5 cm dominerade fångsterna (Figur 9). Ett år gamla individer med en medellängd av $17,8 \pm 0,4$ cm dominerade fångsten (± 95 % konfidensintervall; Figur 9). Medellängden för två-, tre och fyraåringar var 25,0, 28,1 och 30,1 cm. Abborrar mindre än 12,5 cm och yngre än 1 år saknades, vilket kan tyda på låg reproduktionsframgång 2019 (Figur 9 och 10).

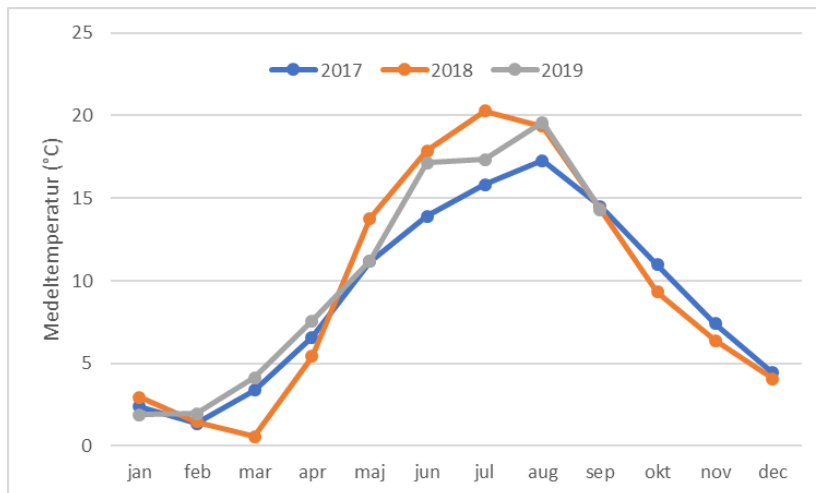
Medellängd per åldersklass var högst vid Gåsefjärden 2019 jämfört med Torhamn och Tromtö 2018 (Figur 10). Det indikerar en god abborrtillväxt vid Gåsefjärden. Det kan också bero på de varmare tillväxtsäsongerna under 2018–2019 vilket återspeglas i högre vattentemperatur under maj-augusti under 2018-2019 (Figur 11).



Figur 9. Längdfördelning av abborre vid Gåsefjärden i augusti 2019.



Figur 10. Genomsnittlig längd per åldersklass av abborre vid Gåsefjärden augusti 2019, Torhamn och Tromtö augusti 2018. Felstaplar visar 95 % konfidensintervall.



Figur 11. Medelvattentemperatur på 1 m djup vid Kungsholmsfort SMHI:s station under 2017-2019 som ligger ca 7-10 km väster om Gåsefjärden (<https://www.smhi.se/data/oceanografi/ladda-ner-oceanografiska-observationer#param=seatemperature,stations=all,stationid=2088>).

Tabell 3. Sammanställning av olika indikatorer från fångsten i olika kustområden i Blekinge vid: Gåsefjärden (GF), Listershuvud - Hanö (LH), Tromtö och Listerby skärgård (TL), Möllefjorden (M), Sölvesborgsviken (S), Karlshamn (KH), Ronneby (R), Karlskrona (KK), Torhamn (TH) och Tromtö (TR) 2019, 2018 samt 2017. Tabelldata är beräknad på fångsten i djupintervallet 0-10 m. 2017 data från Tobiasson m.fl. (2018). 2018 data från Didrikas (opublicerad, data finns i KUL).

Indikator	2019	2018		2017					
	GF	LH	TL	M	S	KH	R	KK	TH
Antal arter	21	17	17	17	15	17	19	15	16
Abborre/karpfisk-kvot (biomassa)	0,9	13,1	2,6	2,5	1,3	14,9	3,1	3,8	1,4
Andel marina arter (% biomassa)	13,1	86	7	17	15	41	9	6	5
Trofisk nivå	3,6	3,6	4	3,9	3,6	4,1	4	4,1	3,8
Shannon index	1,6	1,8	1,5	1,4	1,7	1,5	1,2	1,2	1,3
Andel fiskätande fisk (% biomassa)	45	31	60	60	43	75	72	75	57
Andel stor fisk (>30cm) (%)	1,1	5,0	1,8	4,7	2,7	2,4	1,5	1,8	0,7
Andel stor fisk (>25cm) (%)	4,2	10,6	5,7	13,8	8,5	10	7,8	10	3,8
Medelvikt per individ av abborre (g)	75	35	60	226	149	112	79	98	92
Andel stor abborre (% av abborrfångst)	5	8	7	38	12	14	10	14	7
Andel stor abborre (% av totalfångst)	1,6	1,3	4,1	10,0	2,9	5,3	6,0	8,0	2,6
Antal stora abborrar per nät & natt	1,2	0,3	2,6	2,1	0,4	1,0	2,4	4,4	1,7

Sammanfattning och slutsatser nätprovfiske

Sammanfattningsvis konstateras att fångsterna vid Gåsefjärden var relativt stora och fisksamhällena karaktäriseras av ett högt inslag av sötvattensfiskar, framförallt abborre och mört.

Provfiskets resultat vid Gåsefjärden har huvudsakligen jämförts med referensområdet utanför Torhamn som provfiskas årligen inom den nationella miljöövervakningen. Referensområdet karakteriseras som *Inre kustvatten i Blekinge skärgård och Kalmarsund*,

medan i Gåsefjärden var en del av stationerna ganska vågexponerade med mer marina inslag i miljön. Vid Torhamn saknas också djupare stationer (med djupintervall 10–20 m). Det återspeglas i fångster med mer marina och kallvattenarter vid Gåsefjärden.

Andel av rovfisk som dominerades av abborre var relativt låg och gädda som ligger högst i fisksamhällets trofiska nivå i liknande referensområden påträffades inte alls vid Gåsefjärden. Det kan indikera exempelvis dålig reproduktion av gädda, högt fisketryck eller predation från säl och skarv. Detta skulle också kunna relateras till hög förekomst av karpfisk (framförallt mört) som kan vara resultatet av en låg förekomst av rovfisk, eller en indikation på en högre nivå av övergödning. En låg andel rovfisk innebär inte bara konsekvenser för arten utan för hela ekosystemet genom effekter i näringskedjan. När rovfisken försvinner ökar mängden småfisk som äter smådjur (exempelvis tånggråsugga) eller djurplankton beroende på art. När dessa smådjur och djurplankton minskar i antal ökar mängden fintrådiga alger och växtplankton. Sammantaget påverkas hela ekosystemet av en förändrad andel rovfisk (Eriksson mfl, 2009&2011; Donadi mfl, 2017). Rovfisken kan genom sin indirekta påverkan därmed även begränsa effekter av övergödning (algbloomning och påväxt av alger).

Den låga andelen av stora abborrar jämfört med andra liknande områdena i Blekinge kan tyda på effekter av högt fisketryck och högre naturlig dödlighet från t.ex. säl och skarv då dessa predatorer selektivt kan välja stora individer vid födosök.

Den relativt stora längden per respektive åldersklass av abborre vid Gåsefjärden kan indikera god tillväxt i området, men kan också bero på storskaliga klimateffekter och ska även jämföras med samma års data från andra referensområden (ännu inte tillgängliga), eftersom bra tillväxt kan vara kopplad till högre temperatur under tillväxtperioden i 2018-2019 på större skala. Abborrarnas årsyngel fångades inte alls vid Gåsefjärden. Detta kan tyda på dålig lokal reproduktion under 2019 eller på att reproduktion förekommer någon annanstans i mer gynnsamma områden och att rekrytering i Gåsefjärden sker genom invandring.

3.2. eDNA

I denna studie matchade 1 139 158 sekvenser (99,8%) av läsningarna målarterna fiskar. Resultaten för kvalitetskontrollerna anges i Bilaga 1.

Arternas förekomst

Sammanlagt 24 fiskarter samt två artpar, ett artkomplex samt två arter som saknar referenssekvens påträffades i eDNA analyserna. Figur 12 och Tabell 4 anger arternas förekomst över lokalerna som detekterades med eDNA. De vanligaste arterna enligt eDNA-analysen var mört, storspigg och abborre.

Fiskarternas förekomst och andel läsningar anges i Tabell 4 samt Figur 12. Antal läsningar anges i Bilaga 1, Tabell B2, och identifierade sekvenser anges i Tabell B3. Antalet identifierade fiskarter per lokal med eDNA varierade mellan 7 och 18.

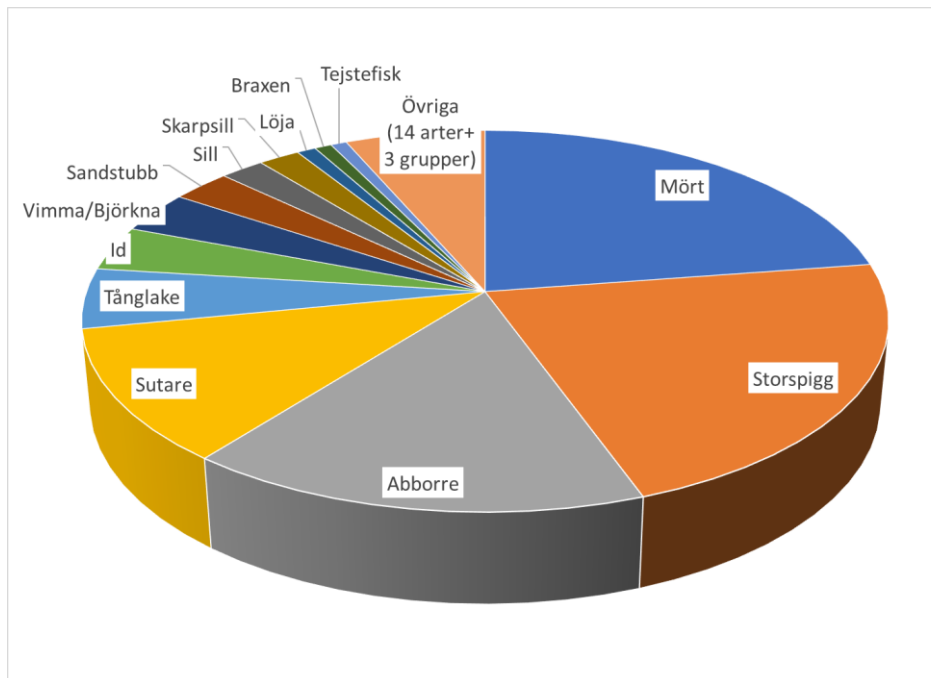
Genom uteslutningsmetoden kunde en del fiskar artbestämmas även om de inte direkt gick att identifieras till artnivå med den genetiska markör och det genetiska referensbibliotek som använts. Tånglake identifierades genetiskt till genusnivå (*Zoarces*) men tånglake (*Zoarces viviparus*) är den enda arten i släktet som förekommer i Östersjön. Id och stäm är så närbesläktade att de inte kunde inte skiljas åt genetiskt med den markör

som använts men id är den enda som förekommer i området. Hornsimpä och rötsimpä är så närbesläktade att de inte kunde skiljas åt genetiskt med den markör som använts. Vimma och björkna är så närbesläktade att de inte kunde skiljas åt genetiskt med den markör som använts och hybrider mellan arterna är också vanliga. Därför anges sekvensen som björkna/vimma vilket betyder att någondera eller båda arterna identifierades. En alternativ markör och tillgång till referenssekvenser behövs för att särskilja dessa. I provfisket fångades dock enbart vimma. Kust- och havstobis identifierades endast till släkte (Tobis), vilket även är det normala vid morfologisk bestämning som sker vid provfiske med kustöversiktsnät. Arterna är närbesläktade och huvudsakligen kusttobis förekommer i Östersjön men referenssekvenser saknas också för dessa arter. För sekvensen som bedömts tillhöra skarpsill var den närmaste matchningen Stillahavssill (*Clupea pallasii*), vilken är mycket nära släkting till skarpsill (Lavoué mfl, 2007) men för att vara helt säker på denna bedömning behövs referenssekvenser för skarpsill från Östersjön. Detektioner av denna sekvens fanns på stationerna där arten fångats i nätprovfisket.

En stubbart kunde identifieras till släkte (*Pomatoschistus* sp.) och skulle möjligtvis kunna klassas som lerstubb då denna saknar referenssekvens och är allmänt förekommande i området. En sekvens kunde identifieras till familjenivån karpfiskar men saknar referenssekvens. Bristen på referenssekvenser medför att ett par fiskarter som det potentiellt finns eDNA-spår av i tagna prover inte hade möjlighet att kunna detekteras. Detta gäller tobiskung (*Hyperoplus lanceolatus*) som 4 individer fångades vid nätfisket i området samt mindre havsnål (*Nerophis ophidion*) som är känd att förekomma i vegetationen i det undersökta området. I en av de negativa fältkontrollerna förekom små mängder av mört vilket kan ha haft en viss påverkan på antalet läsningar av mört för stationerna 203, 310, 307, 111, 105, 108, 106, 206, 204 och 210 vilket var proverna som togs samma dag. På alla dessa stationer förutom 105 fångades mört vid nätprovfisket.

Tabell 4. Andel eDNA läsningar per art inom de olika provlokalerna samt det totala antalet läsningar per station. * Se text för förklaringar gällande identifiering.

Taxa\Station	203	310	307	111	105	108	106	206	204	210	406	112	404	213	113	405	S2a	S2b	S2c	
Äl															0.3%					
Sill	1.6%	1.8%	1.7%	2.1%	0.5%	0.7%	0.2%	2.0%	2.5%	1.0%	8.5%		5.5%	4.2%	2.7%	5.1%				
Skarpsill*		0.1%	0.2%					1.1%	1.8%	1.7%	13.8%		1.2%	0.8%	1.5%	2.7%				
Braxen	4.3%	0.2%	0.3%		0.2%															
Löja						0.5%	3.0%	1.2%	0.6%	0.1%	0.9%	3.2%	0.5%	2.0%	0.7%	0.7%	18.9%	21.1%	18.7%	
Karpfisk*							0.9%					0.4%		1.6%	0.6%	1.1%	5.0%	5.3%	4.9%	
Id*	2.5%	1.8%	2.0%	3.2%	1.6%	0.8%	3.2%	1.1%	0.6%	1.1%			1.1%	0.3%	11.9%	14.1%	32.5%	11.5%	10.9%	11.1%
Mört*	49.7%	48.9%	46.6%	54.6%	24.1%	26.3%	20.4%	45.5%	38.6%	5.7%	9.5%	12.4%	53.2%	23.5%	27.9%	10.8%	21.8%	18.9%	22.4%	
Sarv	0.4%	0.8%	0.6%	0.6%	0.3%	0.4%	0.4%		0.2%	2.1%			1.2%		2.4%	0.3%	0.8%			
Sutare												43.1%	0.6%			0.2%				
Vimma/Björkna*	3.0%	7.3%	3.1%	3.1%	2.1%		1.6%	0.7%	0.7%	32.8%		0.2%	0.3%		0.3%					
Gädda					0.9%	0.4%				0.2%							0.5%	0.4%	0.3%	
Torsk											0.3%									
Storspigg	3.4%	0.4%	3.8%	1.1%	58.8%	55.3%	49.5%	25.5%	18.5%	48.3%	17.8%	35.9%	6.1%	18.5%	37.8%	17.1%	26.0%	26.3%	26.1%	
Småspigg					1.2%	0.6%			0.3%	1.5%	2.6%	0.3%	0.4%	0.5%	1.0%		0.1%	0.2%	0.1%	
Tångspigg											0.2%									
Svartmunnad smörbult	0.2%								0.6%	0.1%	0.2%		0.3%		0.5%		0.5%	0.4%	0.5%	
Sandstubb	0.2%									0.4%	8.2%		8.8%	0.3%						
Stubbart*	1.1%	0.1%	0.2%		0.5%		0.8%	0.3%	1.0%	0.5%		0.3%	0.4%				0.7%	0.5%	0.6%	
Abborre	33.7%	38.5%	41.3%	35.3%	9.8%	15.0%	20.0%	22.5%	34.7%	4.1%	0.8%	2.0%	15.8%	34.3%	9.5%	27.0%	15.0%	16.2%	15.2%	
Tejstefisk											1.0%									
Tånglake*		0.2%								0.1%	31.6%		5.1%		1.3%	1.3%				
Skrubbskädda			0.1%								1.8%		0.8%							
Piggvar											0.1%									
Sik													0.2%							
Öring															0.2%					
Horsimpa/Rötsimpa*											0.4%									
Oxsimpa											0.2%				0.2%					
Kust/Havstobis*			0.1%							0.2%	1.8%		0.6%		1.3%	0.6%				
Summa läsningar	70307	66546	60074	65838	50602	31702	47272	42504	44386	66633	45973	55413	58953	42440	64471	52924	91565	70400	62556	



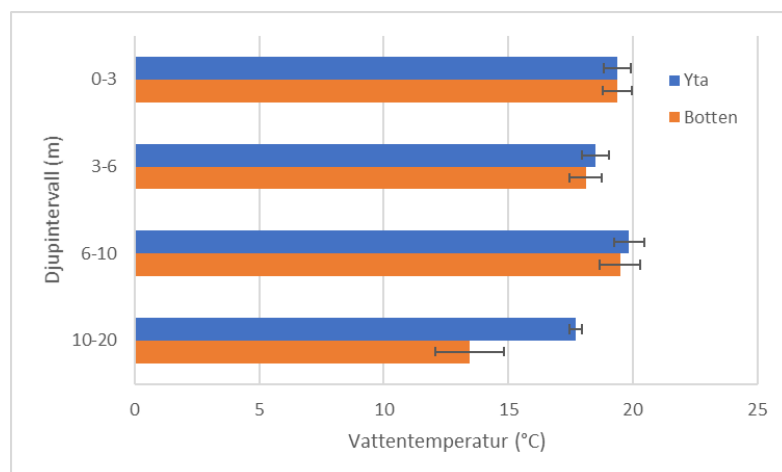
Figur 12. Fiskars genomsnittliga andel av läsningarna för prover tagna vid Gåsefjärden augusti 2019 (normaliserat genom att ta medel av andelen läsningar per prov). Mört, storspigg och abborre dominerade identifierade eDNA-sekvenser.

De tre replikaten på station S2 visade väldigt liknande resultat (se Tabell 4) med en låg varians, vilket indikerar att metodiken är tillförlitlig och att repeterbarheten är mycket god. Kvalitetskontrollerna följer direktiven i bilaga 1 och redovisas där. De positiva och negativa kontrollerna visade förväntade resultat förutom en av de negativa fältkontrollerna som visade en viss kontaminering av mört.

Beräknat på det totala antalet läsningar för de 17 eDNA-stationerna (jmf Tabell 3 för nätprovfiskets 45 stationer i området) var Shannon index 1,9; abborr/karp-kvoten 0,5; andel rovfisk per station 21 % och andelen marina arter 34%.

3.3. Vattentemperatur och siktdjup

I samband med fisket varierade medelvattentemperatur vid botten mellan 13,5 och 19,4 grader och på ytan mellan 17,7 och 19,4 grader. Den lägsta bottentemperaturen registrerades vid de djupa stationerna på grund av vertikal vattenstratifiering som inträffar under sommarmånaderna (Figur 13). De stationer som ligger mer utomskärs är mer vågexponerade och visade lägre yt- och bottentemperatur på grund av en mer aktiv vattenblandning. Siktdjup i undersökningsområdet varierade mellan 3,5 och 6,0 m.



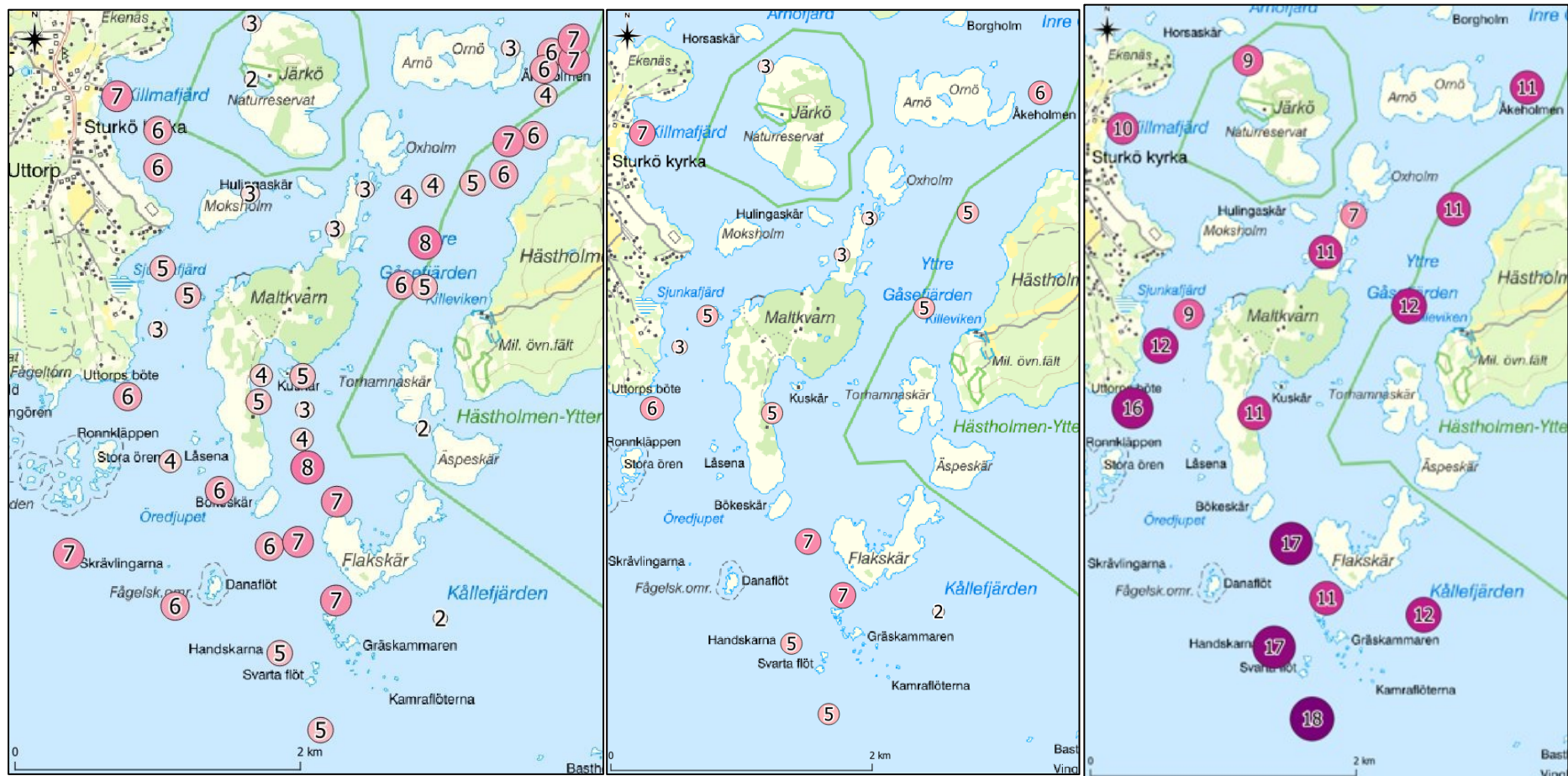
Figur 13. Medelvattentemperatur (yta respektive botten) vid stationer med olika djupintervall vid Gäsefjärden augusti 2019. Felstaplar visar 95 % konfidensintervall.

3.4. Jämförelse mellan resultat av nätprovfiske och eDNA

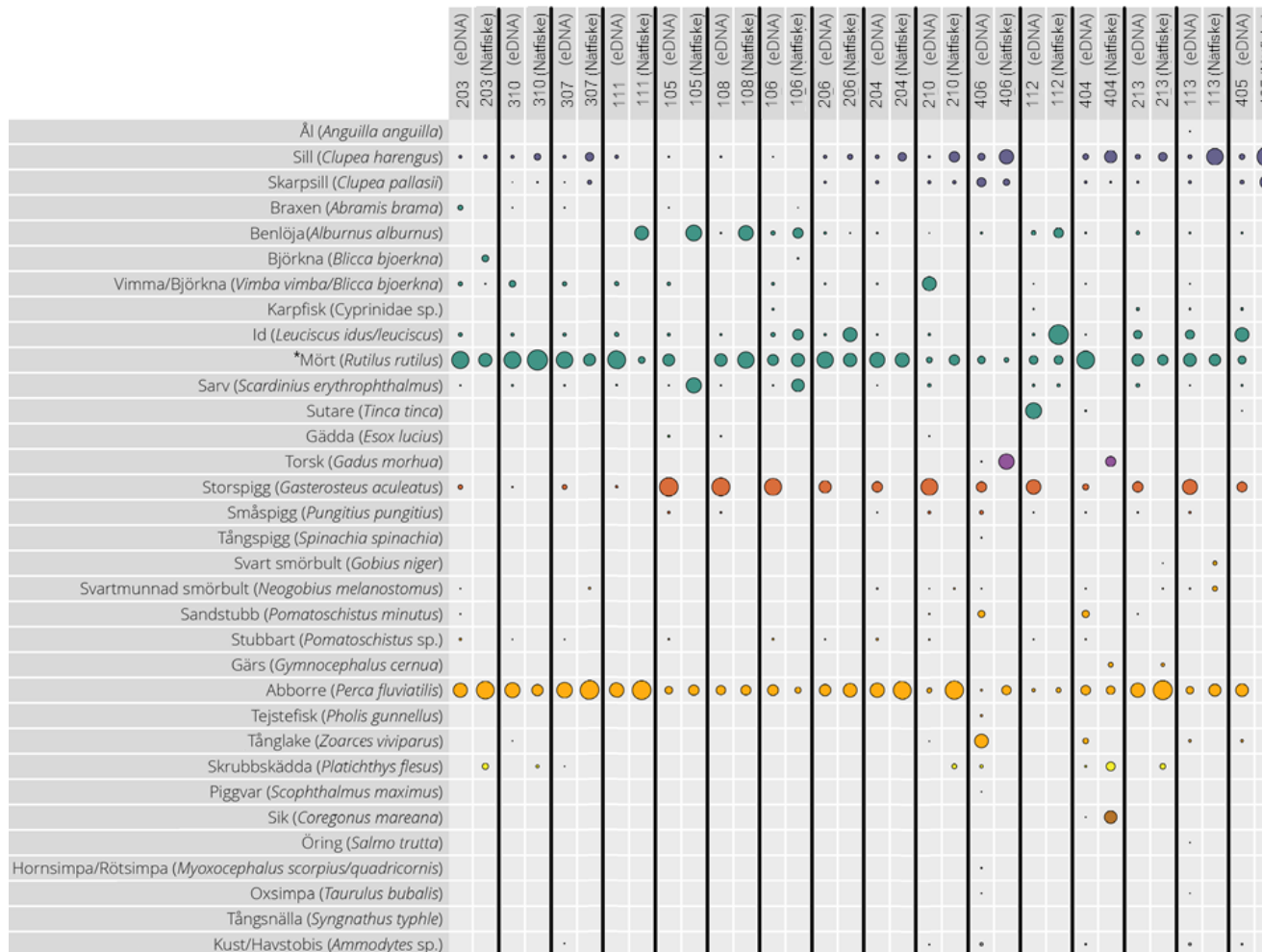
Överensstämmelsen var generellt god mellan de fiskar som fångades i nätprovfiske och detekterades med eDNA på samma plats i nära anslutning i tid till fisket, speciellt för de fiskar som vanligtvis fångas i nät exempelvis mört, abborre och sill (se Figur 14). Flera arter som detekterades med eDNA fångas inte alls med nätprovfiske av olika anledningar. Små arter som sandstubb, storspigg och småspigg fångas inte i nät. Dessa arter kan vara väldigt viktiga ur ett ekosystemsperspektiv och mycket svensk forskning har utförts på senare tid kring spiggens roll i Östersjöns ekosystem. Antalet arter som detekterades på samma platser med de olika inventeringsmetoderna skiljde sig kraftigt åt (Figur 14 och 15, Tabell 5), med i medeltal 12 arter per station för eDNA och 6 arter per station för nätprovfiske. Att andelen marina arter var högre för eDNA beror framförallt på att spigg inte fångades med nätprovfisket.

Tabell 5. Statistik för provfiskade nät beräknat på *relativa* fångster i vikt eller antal läsningar per station. För värden beräknade på den totala fångsten/ läsningar för hela området sammantaget, se Tabell 3 och avsnitt 3.2 ovan. Nätfiskestationer där kvoter inte kunde beräknats har exkluderats. ± avser 95 % konfidensintervall.

	eDNA, 16 stationer	Fiske, 16 stationer	Fiske, 45 stationer
Medelantal arter detekterade per station	12,1±1,5	5,8±0,8	5,1±0,5
Totalt antal detekterade arter	24	16	21
Maximalt antal detekterade arter per station	18	8	8
Minimiantal detekterade arter per station	7	3	2
Medel av Shannon index per station	1,4±0,1	1,1±0,1	1,0±0,1
Medel av Abborre/karp-kvot per station	0,5±0,1	1,5±0,6	2,4±1,0
Medel av Andel rovfisk per station	22±6%	35±11%	45±7%
Medel av Andel marina arter per station	34±11 %	24±15%	8±3%

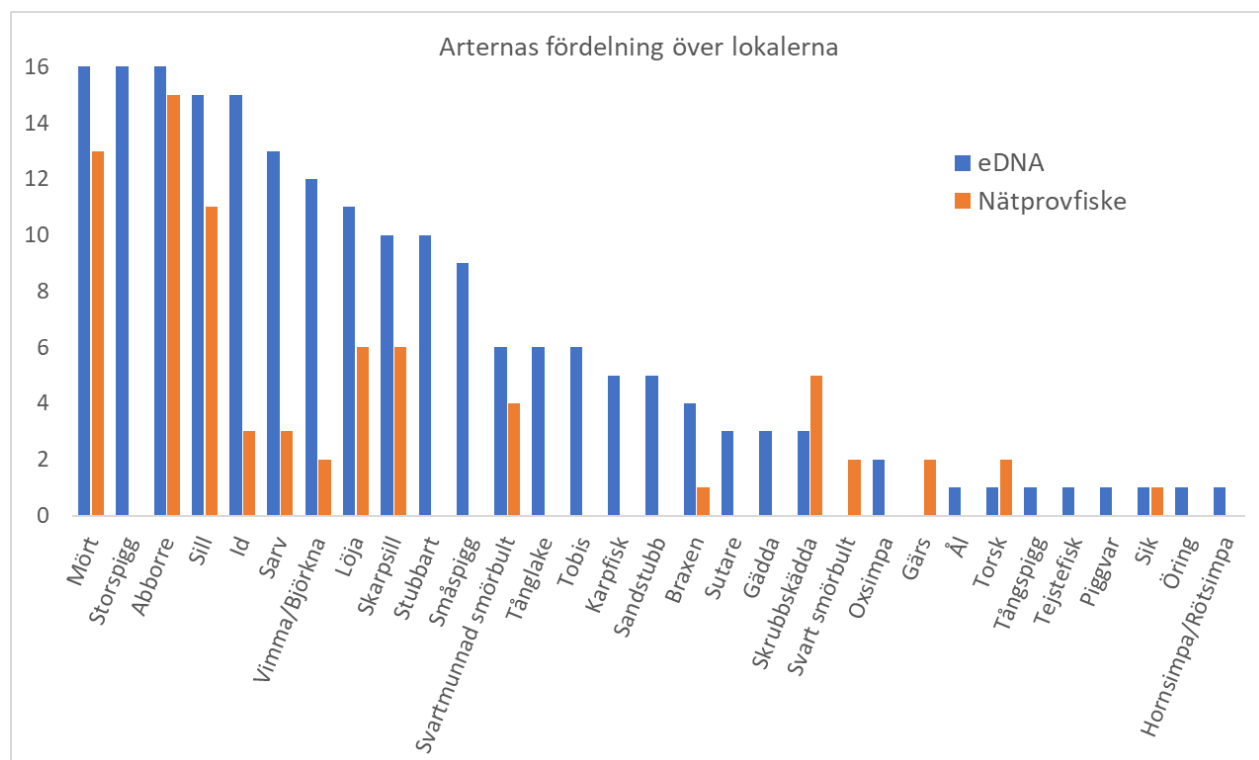


Figur 14. Kartor över inventeringsområdet som visar antal fiskarter detekterade per station med 45 provfiskestationer (vänster) 16 provfiskestationer (mitten) och 16 eDNA-stationer (höger), där storleken och toningen på cirklarna är skalad efter antalet arter. Bakgrundskarta från Lantmäteriet, CC0.

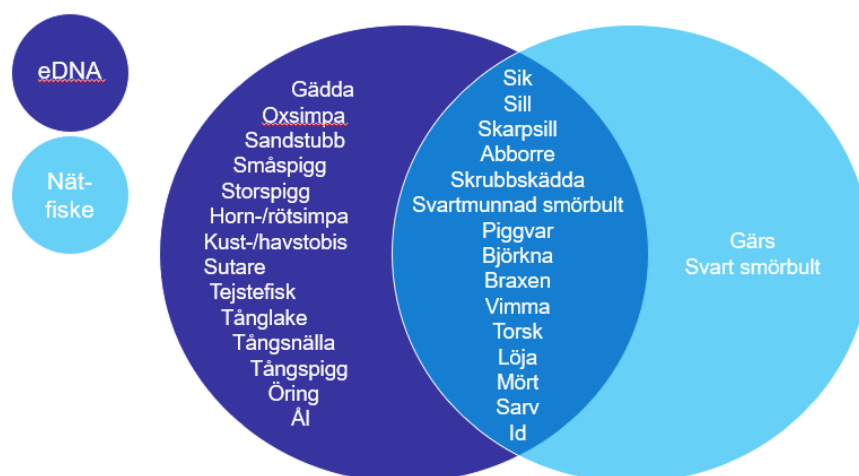


Figur 15. Fiskarnas relativa förekomst över de 16 gemensamma lokalerna med eDNA respektive nätprovfiske. Storleken på cirklarna relaterar till andelen läsningar/relativ biomassa och olika fiskfamiljer är markerade med olika färger. *För mört har eDNA-resultaten en lägre tillförlitlighet för 10 av stationerna pga möjlig influens från provkontaminering.

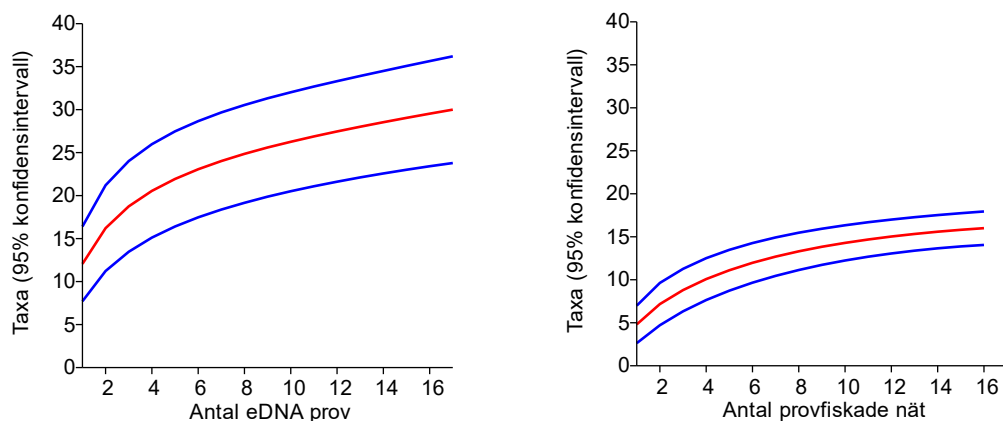
Det totala antalet detekterade förekomster av respektive fisk vid stationerna som provtagits med de båda metoderna visas i Figur 16. Mört, abborre och sill detekterades vid majoriteten av stationerna med både eDNA och provfiske. Artackumulationskurvor som visar det förväntade antalet taxa som kan identifieras med ett specifikt antal prov visas i Figur 18 och visar att antalet förväntade arter börjat plana ut för nätprovfisket redan vid 16 nät till skillnad från eDNA-provtagning.



Figur 16. Antal förekomster av olika fiskar vid de 16 gemensamma lokalerna med eDNA (blå staplar) och nätprovfiske (orange staplar).

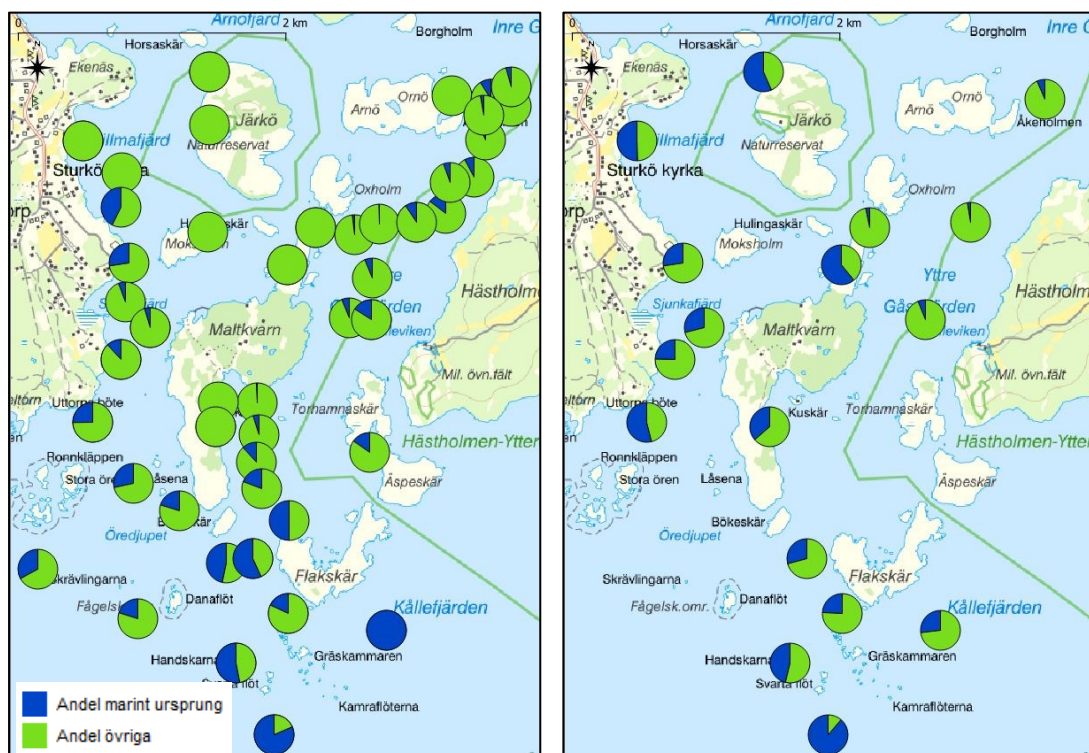


Figur 17. Venndiagram som visar vilka arter som detekterats i området med eDNA (mörkblå, vänster) nätprovfiske (turkos, höger), samt båda metodikerna (blå, mitten).



Figur 18. Artackumulationskurvor som visar det förväntade antalet taxa som kan detekteras vid ett specifikt antal prov (röd linje) med 95%-konfidensintervall (blå linje) för eDNA-prover respektive nätprovfiske.

Sambandet mellan biomassa av fisk och antalet läsningar från eDNA-prover finns beskrivet i Hänfling mfl, 2016, Evans mfl 2016 och Ushio mfl 2018. Osäkerheterna är fortfarande stora, precis som för nätprovfiske, och det är svårt att dra tydliga slutsatser med det kunskapsläge vi har idag. I denna undersökning stämmer den relativa biomassan av fångad mört och abborre relativt väl mot andelen läsningar för dessa arter vid de undersökta stationerna. Ytterligare en fråga som kvarstår för båda metoderna är vilken yta som provtagningen faktiskt representerar då den påverkas kraftigt av flera omvärldsfaktorer som vattentemperatur, strömmar och vindar samt aktivitetsgraden av individuella fiskar. Både nätprovfisket och eDNA-provtagningen visar dock på tydliga lokala mönster i fisksammanställningen och att fler fiskar med marint ursprung förekommer i de yttre delarna av provtagningsområdet (Fig 19).



Figur 19. Kartor med andel av fiskar som har marint ursprung samt övrigt ursprung (sötvatten eller migrerande) per station för nätprovfiskedata (vänster) och eDNA-prover (höger).

Gers och svart smörbult detekterades inte med eDNA men ett fåtal individer fångades med nätfiske (22 respektive 5 individer av totalt 3366 fiskar). En möjlig orsak till att dessa två arter inte detekterades med eDNA kan vara att dessa fiskindivider har simmat vid provtagningsplatserna efter att näten lagts i. Vattenproven togs före näten lades i och fiskar kan simma in i näten många timmar efter proven tagits. Det skulle ha varit intressant att samla in eDNA-prov även direkt innan nätupptag, men eftersom fiskarna släpper stora mängder DNA genom att fastna i näten skulle det datat vara starkt påverkat av den faktiska fångsten (bias/metodfel). Antalet individer av gärs och svart smörbult var lågt och fiskarterna är relativt små så de eventuella förväntade signalerna av dessa arter är små. Om man extrapolerar lutningen i artackumulationskurvan för eDNA proverna (vänster del av Figur 18) så är det uppenbart att fler tagna eDNA-prov med mycket stor sannolikhet skulle ha detekterat ytterligare arter. Det är svårt att utifrån det befintliga datat bedöma när en plåtå skulle nås där väldigt få ytterligare arter detekteras men 10 ytterligare prov bör ha resulterat i detektion av ca 5-10 arter till och det är väldigt troligt att dessa gärs samt svart smörbult då skulle detekteras med eDNA.

Nätprovfiske och eDNA kompletterar varandra som metodiker eftersom de bidrar med olika typer av information och detaljgrad. Kostnader för nätprovfisket i denna undersökning utgjorde ca 2/3 av de totala kostnaderna och eDNA den resterande 1/3. Detta medför att för att inventera fiskars förekomst är eDNA att föredra ur kostnadssynpunkt genom att detektera fler arter till en lägre kostnad. Nätprovfiske kan däremot bidra med information om fångst per nätnatt i abundans och biomassa samt information om längdfördelning och tillväxt för exempelvis abborre.

Antalet fiskar som fångats i svenska provfisken var totalt 6 411 934 individer under 2016 enligt Jordbruksverket (Ljung&Bornestaf, 2018), vilket ger ett betydande antal fiskar som avlivas med främsta syfte att samla in information om biologisk mångfald. Dessutom förekommer ibland bifångster i form av sjöfåglar och däggdjur. Dessa bifångster är dock relativt sällsynta men risken för bifångster varierar kraftigt mellan olika områden. Vid eDNA-inventeringar är risken för bifångster av exempelvis hotade fågel- och däggdjursarter obefintlig, samtidigt som inga fiskar behöver skadas, plågas eller dödas till skillnad från nätprovfisken vilket är en stor fördel ur ett bevarandeetiskt perspektiv (vi behöver inte skada eller störa den biologiska mångfald vi vill skydda). Inom denna undersökning fångades totalt 3366 fiskar och inga bifångster av sjöfåglar eller däggdjur förekom.

REFERENSER

- 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.
- 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.
- Donadi, S., Austin, Å.N., Bergström, U., Eriksson, B.K., Hansen, J.P., Jacobson, P., Sundblad, G., van Regteren, M. and Eklöf, J.S., 2017. A cross-scale trophic cascade from large predatory fish to algae in coastal ecosystems. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1859), p.20170045.
- Ericson, Y. 2014. Faktablad från regional kustfiskövervakning i Egentliga Östersjön. Asköfjärden 2005-2014. SLU: Kustlaboratoriet.
- Eriksson, B.K., Ljunggren, L., Sandström, A., Johansson, G., Mattila, J., Rubach, A., Råberg, S. and Snickars, M., 2009. Declines in predatory fish promote bloom-forming macroalgae. *Ecological Applications*, 19(8), pp.1975-1988.
- Eriksson, B.K., Sieben, K., Eklöf, J., Ljunggren, L., Olsson, J., Casini, M. and Bergström, U., 2011. Effects of altered offshore food webs on coastal ecosystems emphasize the need for cross-ecosystem management. *Ambio*, 40(7), p.786.
- Evans, N. T., B. P. Olds, M. A. Renshaw, C. R. Turner, Y. Li, C. L. Jerde, A. R. Mahon, M. E. Pfrender, G. A. Lamberti & D. M. Lodge, 2016. Quantification of mesocosm fish and amphibian species diversity via environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology Resources* 16: 29–41.
- Froese, R. och D. Pauly. 2004. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org 2016-11-15
- Förlin, L., Larsson, Å., Parkkonen, J., Ericson, Y., Ek, C., Faxneld, S., Danielsson, S., Nyberg, E., Olsson, J., Franzén, F. 2017. Faktablad från Integrerad kustfiskövervakning 2017:4. Torhamn (södra Egentliga Östersjön) 2002-2016.
- Hellström, M & Spens, J. 2017 a. eDNA - Fiskförekomst i 10 kustmynnande vattendrag, Norrbottens län AquaBiota Rapport 2017:10. 30 sid. ISBN: 978-91-85975-67-9
- Hellström, M & Spens J. 2017 b. eDNA - Fiskinventering vid Spjutmo kraftverk. AquaBiota Rapport 2017:12. 29 sid. ISBN: 978-91-85975-69-3
- Hellström, M., Wijkmark N & Spens, J. 2018. Fiskinventering med hjälp eDNA i Ore Älv, Dalarnas län. AquaBiota Rapport 2018:11. 23 sid. ISBN: 978-91-85975-80-8
- 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*
- Karlsson, E. och Y. Ericsson. 2016. Faktablad – Resultat från övervakning av kustfisk 2016:1. Lagnö (Egentliga Östersjön) 2002-2015. SLU: Kustlaboratoriet.
- Karlsson, M. 2015. Provfiske i Östersjöns kustområden – Djupstratifierat provfiske med Nordiska kustöversiksnät. Version 1:3 2015-07-07. SLU: Kustlaboratoriet.
- 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
- Lavoué, S., Miya, M., Saitoh, K., Ishiguro, N.B. and Nishida, M., 2007. Phylogenetic relationships among anchovies, sardines, herrings and their relatives (Clupeiformes), inferred from whole mitogenome sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43(3), pp.1096-1105.
- 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.

- Ljung, Per E & Cecilia Bornestaf. Användning av försöksdjur i Sverige under 2016. Jordbruksverket 2018-03-07, Dnr: 5.2.17-12670/17.
- Miya, M., Sato, Y., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J. Y., Sato, K., ... & Kondoh, M. (2015). MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society open science*, 2(7), 150088.
- 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, m.fl. 2015. Ancient and modern environmental DNA. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 370:20130383
- 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
- Taberlet, P., Coissac, E., Hajibabaei, M., & Rieseberg, L. H. 2012. Environmental DNA. *Molecular Ecology* 21, 1789-1793
- Tobiasson, S., Fredriksson, S., Olsson, P., Sjölin, A., Lundgren, F. och Förlin, L. 2018. Blekinge Kustvatten och Luftvårdsförbund Vattenvårdsförbundet för västra Hanöbukten. Hanöbukstens kustvattenmiljö 2017. Linnéuniversitetet Kalmar, ALS Toxicon, Göteborgs Universitet.
- Ushio M, Murakami H, Masuda R, Sado T, Miya M, Sakurai S, Yamanaka H, Minamoto T, Kondoh M (2018) Quantitative monitoring of multispecies fish environmental DNA using high-throughput sequencing. *Metabarcoding and Metagenomics* 2: e23297.

Bilaga 1. Kvalitetssäkring av eDNA och rådata

Därför är kontrollprover nödvändiga vid eDNA-provtagning

En undersökning med hjälp av eDNA som saknar positiva och negativa kontroller kan inte ge tillförlitliga resultat. Detta gäller egentligen för alla DNA-undersökningar och innefattar alla utövare. **Om en utförare avviker från denna praxis är resultaten inte tillförlitliga och därmed oanvändbara.**

Utöver generella huvudprinciper för DNA-undersökningar (Griffiths m.fl. 2016) finns speciella regelverk för kriminaltekniska (Hedmanm.m.fl. 2017) och medicinska (SFMG, 2011) undersökningar. Strikta riktlinjer för ett standardiserat utövande av eDNA-undersökningar tas just nu fram inom EU med utgångspunkt från Goldberg m.fl. (2016). Dessa regler kommer att kräva negativa och positiva kontroller som ett grundläggande krav.

Negativ kontroll; Ett prov med vatten som inte innehåller DNA filtreras vid inventerade lokaler med samma provtagningsmetodik. Detta prov kallas för negativ kontroll. Vidare analyseras DNA-fria prover i olika steg av undersökningen så att man kan försäkra sig om att kontaminering inte förekommer i fält eller laboratorium och orsakar falska positiva provsvar. Om DNA-signaler hittas i en negativ kontroll innebär det att undersökningen måste göras om ifall kontaminationen inte kan identifieras och konsekvenserna bedömas.

Konsekvenserna av en kontaminerad negativ kontroll kan i praktiken innebära att:

- a) en frisk person får en cancerdiagnos
- b) fel person binds till ett brott
- c) faderskapstest anger fel far till ett barn
- d) **arter som inte finns i ett område detekteras (falsk positiv)**

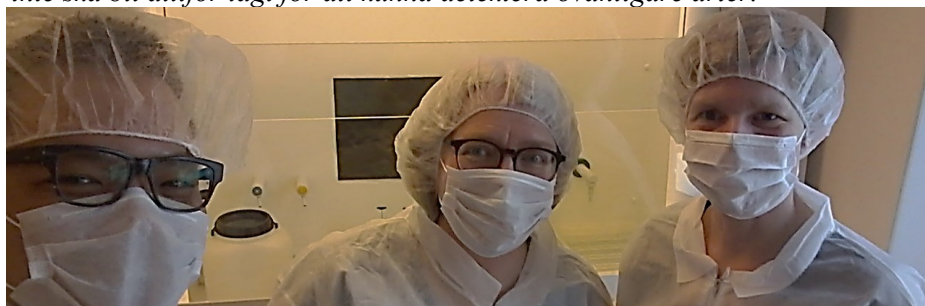
Positiv kontroll; En positiv kontroll innebär att ett prov som innehåller ett känt DNA testas för att verifiera att den använda metodiken fungerar som den skall. Om DNA-signaler inte hittas i en positiv kontroll innebär det att metodiken måste justeras och analysen eller undersökningen måste göras om.

Konsekvenserna av en positiv kontroll utan DNA-signal kan i praktiken innebära att:

- a) en cancersjuk person blir inte diagnostiserad och dör
- b) en skyldig person kan inte bindas till brottet
- c) ett faderskapstest kan inte knyta rätt far till barnet
- d) **arter som finns i ett område detekteras inte (falsk negativ)**

Kvalitetskontroller som redovisas vid flerartsanalyser

1. Mängden insamlat/filtrerat vatten dokumenteras för att kunna avgöra hur mycket prov som samlats in totalt. *Alla eDNA-mätningar ställs i relation till hur mycket vatten som samlats in.*
2. Total eDNA koncentration för samtliga prov (inkl. negativa) anges. *Koncentrationen varierar avsevärt naturligt men ger ändå en första indikation om hur eDNA extraktionen lyckats.*
3. Inhibitionskontroll dokumenteras och redovisas. Inhibition betyder risk för att arter som finns i proverna inte detekteras därför att DNA inhiberas av humus etc. Detta går att åtgärda så länge inhibitionstest utförs. *Resultatet av antiinhibering före och efter utförandet redovisas så att resultatens tillförlitlighet kan bedömas.*
4. Band på gel efter målinriktad PCR dokumenteras (närvaro/frånvaro) inklusive negativa kontroller. *Detta visar att PCR har fungerat och kontroll av vilka prover som har spår av målarter, eller riskerar vara kontaminerade, kan utföras.*
5. Negativa kontroller indelade i a) fält-negativa (filter-negativa) b) extraktions-negativa samt c) PCR-negativa utförs och utfallet redovisas. *Detta möjliggör en kontroll av vilka prover som riskerar vara kontaminerade och vid vilket steg detta i så fall skett.*
6. Prov från ett artificiellt sammansatt samhälle ("mock community") används som positiv kontroll vid PCR och sekvensering. Falska positiva prover redovisas. *De positiva proverna försäkrar att PCR och bioinformatiken fungerar som avsett.*
7. Det totala antalet sekvenseringsläsningar, samt andel (%) av målarterna i läsningarna redovisas. *Detta ger en bild av hur väl sekvenseringen av målarterna lyckats.*
8. Andel sekvenser (%) av människa, ko, och gris (vildsvin) och bakterier som förekommer som bakgrundssekvenser redovisas. *Detta möjliggör en kontroll av att tillräckligt många läsningar täcker målarterna.*
9. Minst 12 PCR replikat per art/artgrupp och eDNA prov utförs. *Färre replikat minskar analyssäkerheten avsevärt.*
10. Antal prover för en specifik MiSeq-körning (sekvensering) överstiger inte 100 stycken exklusive sekvenseringskontroller. *Detta säkerställer att antalet läsningar per prov inte ska bli alltför lågt för att kunna detektera ovanligare arter.*



Referenser:

- Goldberg, Caren S., m.fl.. 2016. Critical considerations for the application of environmental DNA methods to detect aquatic species. *Methods in Ecology and Evolution*, 7.11: 1299-1307.
- Anthony et al. 2016. *An Introduction to Genetic Analysis*. 11th edition. WH Freeman. New York. ISBN-13: 978-1464109485.
- Hedman, Johannes m.fl.. 2017. Pre-PCR processing-projektet, P4 Stärkt beredskapskapacitet via rationell laboratoriediagnostik samt förenklad provberedning. -*Nationellt Forensiskt Centrum, NFC 2017-05-07. NFC Rapport Avdelningskansliet 2017:04*
- SFMG, Svensk Förening för Medicinsk Genetik. 2011. Riktlinjer för kvalitetssäkring i klinisk genetisk verksamhet http://sfmg.se/download/riktlinjer/Kvalitetsriktlinjer/sfmg_riktlinjer-for-kvalitetssakring_rev101228.pdf

Resultat av kvalitetskontroller

Bakgrunden till kvalitetskontrollerna anges i Bilaga 2-3. Värden för kontrollerna anges i tabell B4_1. DNA var rent och visade hög kvalitet. Kontaminering av icke-målarter var mycket låg i alla prover. Alla negativa kontroller var negativa för målarter förutom en av de negativa fältkontrollerna som visade sig vara kontaminerad med en låg andel eDNA av mört (1 band av 12 möjliga på PCR). Anledningen till att fält negativ kontroll 2 hade en hög andel (%) av icke-målarter var på grund av att endast dessa förekom genom kontaminant-DNA tillhörande ko, gris och människa, som är vanliga i reagenser. De positiva kontrollerna var positiva och visade förväntade resultat.

MiSeq parvis sekvensering för markörens 230 baspar gav 1 139 158 sekvenser som godkändes genom alla kvalitetsfilter. Detta är en indikation på hög kvalitet på eDNA och slutgiltigt data. Sekvenseringsdata för marköreren analyserades genom en pipeline som är specialdesignad av NatureMetrics Ltd. Datat testades mot både NCBI och NatureMetrics kurerade referensdatabaser.

Tabell B1. Kvalitetsgranskning av eDNA och kontroller. eDNA koncentrationen uppmättes med Qubit Fluorometric Quantitation (Fisher Scientific). Inhiberingskontroll utfördes med qPCR och antiinhibition ifall åtgärd var nödvändig. Band på gel av målarter efter PCR visar antal labreplikat som visade att provet innehöll målarter före sekvenseringen. Kont. icke målart % anger % av sekvenser från ko, gris och människa som togs bort som naturlig kontaminering.

Prov	eDNA (ng/uL)	Inhibering	Anti-inhibition	Band Gel PCR	# PCR	Kont. icke målart%
203	12	Nej	Nej	12	12	0,1%
310	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
307	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
111	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
105	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
108	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
106	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
206	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
204	>20	Nej	Nej	12	12	0,2%
210	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
406	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
112	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
404	>20	Nej	Nej	12	12	0,2%
213	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
113	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
405	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
S2a	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
S2b	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
S2c	>20	Nej	Nej	12	12	0,0%
Fält negativ 1	0,147	Nej	Nej	1	12	0,2%
Fält negativ 2	<0,02	Nej	Nej	0	12	100%
Lab negativ 1	<0,02	Nej	Nej	0	12	0%

Antal läsningar och identifierade sekvenser

Tabell B2. Identifierade arter samt antal läsningar. * Se text för förklaringar gällande identifiering.

Taxa\Station	203	310	307	111	105	108	106	206	204	210	406	112	404	213	113	405	S2a	S2b	S2c
Ål															178				
Sill	1092	1192	1002	1406	244	212	105	845	1103	668	3920		3259	1768	1721	2721			
Skarpsill*		51	128					478	787	1144	6367		720	355	935	1449			
Braxen	2993	120	178		110														
Löja						145	1417	521	269	56	411	1784	301	864	423	345	17299	14847	11681
Karpfisk*							430					230		681	361	596	4538	3703	3054
Id*	1774	1208	1199	2117	825	264	1509	480	256	744		622	170	5047	9084	17225	10563	7681	6964
Mört*	34922	32511	28017	35938	12197	8351	9654	19330	17138	3794	4377	6894	31341	9968	17967	5723	19916	13291	14043
Sarv	253	525	364	366	159	115	201		94	1402		643		1026	196	402			
Sutare												23880	356			109			
Vimma/Björkna*	2116	4851	1845	2062	1059		737	298	291	21864		107	182		168				
Gädda					447	124				139							445	263	200
Torsk											160								
Storspigg	2406	284	2281	738	29739	17522	23418	10850	8223	32155	8191	19869	3610	7838	24385	9038	23832	18503	16306
Småspigg					592	202			123	1027	1181	157	227	212	659		134	127	93
Tängspigg											111								
Svartmunnad smörbult	147								254	95	107		186		318		490	295	296
Sandstubb	172									288	3758		5161	113					
Stubbart*	752	91	112		267		355	134	465	304		139	214				644	317	380
Abborre	23680	25613	24816	23211	4963	4767	9446	9568	15383	2718	374	1088	9313	14568	6145	14301	13704	11373	9539
Tejstefisk											442								
Tånglake*		100								87	14549		3034		843	685			
Skrubbskädda			65								826		456						
Piggvar											63								
Sik													98						
Öring															123				
Hornsimpa/Rötsimpa*											194								
Oxsimpa											108				110				
Kust/Havstobis*			67							148	834		325		855	330			

Tabell B3. Identifierade taxa samt sekvenser.

Taxa	Sekvens
Äl	CACCGCGTTATACGAGAGCCCTAGTTGATATATTCGGCGTAAAGAGTGGTTATGAAAAACAAGCACTAAAGCCAAACACTTCCCAAGCTGTACATACGCTACCGGAACATAAACGAAGCCCTATAACGAAAGTAGCTTTAACACCTTTGAACTCACGACAGTGTAGGAA
Sill	CACCGCGTTATACGAGAGCCCTAGTTGATATATTCGGCGTAAAGAGTGGTTATGAAAAACAAGCACTAAAGCCAAAGAGCCCTCAGGCGCTTATACGCACCCGGGGCTCGAACCCTATACGAAAGTAGCTTTACCTCGCCACCAGAACCACGAGAGCTGGGACA
Skarpsill*	CACCGCGTTATACGAGAGCCCTAGTTGATATACTCGCGTAAAGAGTGGTTATGAAAAACAAGCACTAAAGCCAAAGAGCCCTCAGGCGCTTATACGCACCCGGGGCTCGAGCCACTATACGAAAGTAGCTTTACCTCGCCACCAGAACCACGAGAGCTGGGACA
Braxen	CACCGCGTTAAACGAGAGGCCAGTTAATAATACACGGCGTAAAGGGTGGTTAAGGAAAGTATTAACAATAAAGCCGAATGGCCCTTTGGCTGTACATACGCTTCTAGGTGTCCGAAGTTCACATACGAAAGTAGCTTTAATAACGCCACCTGACCCACGAAAGCTGAGAAA
Löja	CACCGCGTTAAACGAGAGGCCCTAGTTAATAATACACGGCGTAAAGGGTGGTTAAGGAAAGCATAACAATAAAGCCGAATGGCCCTTTGGCTGTACATACGCTTCTAGGTGTCCGAAGCCCAATATACGAAAGTAGCTTTAATAAAGGCCACCTGACCCACGAAAGCTGAGGAA
Karpfisk*	CACCGCGTTAAACGAGAGGCCCTAGTTAATAATACACGGCGTAAAGGGTGGTTAAGGAAAGCATAACAATAAAGCCGAATGGCCCTTTGGCTGTACATACGCTTCTAGGTGTCCGAAGCCCAATATACGAAAGTAGCTTTAATAAAGGCCACCTGACCCACGAAAGCTGAGGAA
Id*	CACCGCGTTAAACGAGAGGCCCTAGTTAATAATACACGGCGTAAAGGGTGGTTAAGGAAAGCATAACAATAAAGCCGAATGGCCCTTTGGCTGTACATACGCTTCTAGGTGTCCGAAGCCCAATATACGAAAGTAGCTTTAATAAAGGCCACCTGACCCACGAAAGCTGAGAAA
Mört*	CACCGCGTTAAACGAGAGGCCCTAGTTAATAATACACGGCGTAAAGGGTGGTTAAGGAAAGCATAACAATAAAGCCGAATGGCCCTTTGGCTGTACATACGCTTCTAGGTGTCCGAAGCCCAATATACGAAAGTAGCTTTAATAAAGGCCACCTGACCCACGAAAGCTGAGAAA
Sarv	CACCGCGTTAAACGAGAGGCCAGTTAATAATACACGGCGTAAAGGGTGGTTAAGGAAAGCATAACGATAAAGCCGAATGGCCCTTTGGCTGTACATACGCTTCTAGGTGTCCGAAGCCCAATATACGAAAGTAGCTTTAGTAAAGCCACCTGACCCACGAAAGCTGAGAAA
Sutare	CACCGCGTTAAACGAGAGGCCCTAGTTGATATATACACGGCGTAAAGGGTGGTTAAGGAAAGCATAACAATAAAGCCGAATGGCCCTTTGGCTGTACATACGCTTCTAGGTGTCCGAAGCCCAATATACGAAAGTAGCTTTAACAAGGCCACCTGACCCACGAAAGCTGAGAAA
Vimma/Björkna*	CACCGCGTTAAACGAGAGGCCAGTTAATAATACACGGCGTAAAGGGTGGTTAAGGAAAGTATAACGATAAAGCCGAATGGCCCTTTGGCTGTACATACGCTTCTAGGTGTCCGAAGTCCAATATACGAAAGTAGCTTTAATAAGGCCACCTGACCCACGAAAGCTGAGAAA
Gädda	CACCGCGTTATACGAGAGGCCCTAGTTGATAATTTGCGCGTAAAGAGTGGTTAGAAAAATAAATTAATAAAGCCGAACACCTCCTCAGTTGTTATACACATTTGAAAGATATGAAGCCCTACCGCGAAAGCAGCTTTAAGTATCCTGAACCCACGACAGCTATGGTA
Torsk	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAAATGATGAAAAACGGCGTAAAGGGTGGTTAAGGAAAGGAGAAAAATATGGCCGAACAGCTTCAAAGCAGTTATACGCATCCGAAGTACGAAAGTTCAGAAAGTTCGCTTAAACCTCCGATTCACGAAAGCATAAAA
Storspigg	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAAATGATGATAATACGGCGTAAAGAGTGGTTAAGCTAAAATTAATAAAGCCGAACACCTCCTCAGTTGTTATACACATTTGAAAGATATGAAGCCCTACCGCGAAAGCAGCTTTAAGTATCCTGAACCCACGACAGCTATGGTA
Småspigg	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAAATGATGATAATACGGCGTAAAGAGTGGTTAAGCTAAAATTAATAAAGCCGAACAGCTCCTCAGTTGTTATACGACACCCGGGGTAAAGAGTTCACCCAGGAGTGGCTTTAATAAAGCTGAACCCACGAAAGCTACGGCA
Tångspigg	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAGTTGATAGTACCGCGTAAAGGGTGGTTAAGCTAAAATTAATAAAGCCGAACAGCTCCTCAGTTGTTATACGACACCCGGGGTAAAGAGTTCACCCAGGAGTGGCTTTAATAAAGCTGAACCCACGAAAGCTACGGCA
Svartmunnad smörbult	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAAATGATGATAATACGGCGTAAAGAGTGGTTAAGCTAAAATTAATAAAGCCGAACAGCTCCTCAGTTGTTATACGACACCCGGGGTAAAGAGTTCACCCAGGAGTGGCTTTAATAAAGCTGAACCCACGAAAGCTACGGCA
Sandstubb	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAAATGATGATGCGCGTAAATGTTGTTAATTTACAGTATTACACTAAAGCCAAACACCTTCTAAGCTGTTATATGCTCTCGAAGACAGGAGGCCCTTTTACGAAAGTAGCTTTAATAAGTATGACCCACGAAAGCTAGGAAA
Stubbart*	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAAATGATGATGCGCGTAAATGTTGTTAATTTACAGTATTACACTAAAGCCGAACACCTTCTAAGCTGTTATATGCTTTGGAAGGACAGGAGGCCCTTACGAAAGTAGCTTTAATAAGTATGACCCACGAAAGCTAGGAAA
Abborre	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAAATGATGATGCGCGTAAAGAGTGGTTAAGCTAAAATTAATAAAGCCGAACAGCTCCTCAGTTGTTATACGACACCCGGGGTAAAGAGTTCACCCAGGAGTGGCTTTAATAAAGCTGAACCCACGAAAGCTACGATA
Tejstefisk	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAAATGATGATGCGCGTAAAGAGTGGTTAAGCTAAAATTAATAAAGCCGAACAGCTCCTCAGTTGTTATACGACACCCGGGGTAAAGAGTTCACCCAGGAGTGGCTTTAATAAAGCTGAACCCACGAAAGCTACGGCA
Tånglake*	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAAATGATGATAATACGGCGTAAAGAGTGGTTAAGCTAAAATTAATAAAGCCGAACAGCTCCTCAGTTGTTATACGACACCCGGGGTAAAGAGTTCACCCAGGAGTGGCTTTAATAAAGCTGAACCCACGAAAGCTACGGCA
Skrubbskädda	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAAATGATGATAATACGGCGTAAAGAGTGGTTAAGGGATTTACTAAACTAGAGCCGAACAGCTTTCAAAGCTGTTATACGACCCGAAAGTATGAAACCAATACGAAAGTAGCTTACTATCTCTGAACCCACGAAAGCTAAGGAA
Piggvar	CACCGCGTTAGACGAGAGGCCAAATGATGATGCGCGTAAAGGGTGGTTAAGGGTACACAACAACTAAAGCTCAATGCTCTCAAGACTGTTATATGCGTTCGAGACTTTGAAACCAACTACGAAAGTGGCTTTACTAGACTGAACCCACGAAAGCTAAGGAA
Sik	CACCGCGTTATACGAGAGGCCCTAGTTGATAATACCGCGTAAAGAGTGGTTAAGGAAATATAATTTAAAGCCGAACACCCCTTGGCTGTACATACGCACCTGGGGCACGAAAGCCCACTGCGAAAGCAGCTTTAATCACCACTGAACCCACGACAGCTATGATA
Öring	CACCGCGTTATACGAGAGCCCTAGTTGATAACTACGGCGTAAAGAGTGGTTACGAAAAATATTAATAAAGCCGAACACCCCTCAGCGTGTACATACGCACCTGGGGCACGAAAGTCTACTGCGAAAGCAGCTTTAATAATGCTGAACCCACGACAGCTACGACA
Homsimpa/Rötsimpa*	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAAATGATGATAACTACGGCGTAAAGGGTGGTTAAGTAAAACACTACACTAAAGCCAAACACTTCCAGGCTGTTATACGCAACCGAAGACAGGAGTTCACCCAGGAGTGGCTTTATCTAGCTGTAACCCACGAAAGCTAAGGAA
Oxsimpa	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAAATGATGATAACTACGGCGTAAAGGGTGGTTAAGGAAAACTCACACTAAAGCCAAACACTTCCAGGCTGTTATACGCAACTGAAGATAGGAAAGTTCACCCAGGAGTGGCTTTACGACAGCTGAATCCAGAAAGCTAAGGAA
Kust/Havstobis*	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAAATGATGATAACTACGGCGTAAAGGGTGGTTAAGGAAAACTCACACTAAAGCCAAACACTTCCAGGCTGTTATACGCAACCGAAGACAGGAGTTCACCCAGGAGTGGCTTTAATAAAGCTGAACCCACGAAAGCTAAGGAA

Bilaga 2. Provtagningsstationer, nätfiske

Provfiskets stationsnamn, utförd eDNA-provtagning, position (WGS-84), vittjningsdatum, djupintervall, temperatur vid ytan och botten (medel vid läggning och vittjning), vindriktning och vindhastighet vid läggning och vittjning samt siktdjup.

Station nr.	eDNA-provtagning	Longitud	Latitud	Datum vittjning	Djupintervall (m)	Temp. ytan (°C)	Temp. botten (°C)	Vindriktning, läggning (°)	Vindriktning, vittjning (°)	Vindhastighet, läggning (m/s)	Vindhastighet, vittjning (m/s)	Sikt-djup (m)
308		15,751897	56,094636	2019-08-13	6-10	20,6	20,6	225	270	9	4	3,5
301		15,751897	56,093324	2019-08-13	6-10	20,7	20,8					
203	Ja	15,749400	56,093837	2019-08-13	3-6	20,7	20,6					
309		15,748544	56,092766	2019-08-13	6-10	21,0	20,6					
103		15,744812	56,094118	2019-08-13	0-3	21,0	21,0					
306		15,748814	56,091122	2019-08-13	6-10	20,7	20,6					
304		15,747291	56,088592	2019-08-13	6-10	20,5	20,3					
305		15,744452	56,088255	2019-08-13	6-10	20,5	20,3					
303		15,743875	56,086168	2019-08-13	6-10	20,4	20,1					
310	Ja	15,740342	56,085650	2019-08-14	6-10	20,0	19,7					
208		15,735871	56,085510	2019-08-14	3-6	19,7	19,9					
207		15,732861	56,084841	2019-08-14	3-6	20,0	19,9					
111	Ja	15,728255	56,085314	2019-08-14	0-3	20,0	19,9					
105	Ja	15,724794	56,082854	2019-08-14	0-3	20,0	20,2					
109		15,715275	56,085122	2019-08-14	0-3	19,8	20,0					
311		15,734952	56,081909	2019-08-14	6-10	19,8	19,5					
307	Ja	15,734834	56,079127	2019-08-14	6-10	19,6	19,3					
302		15,732167	56,079268	2019-08-14	6-10	19,6	19,5					
108	Ja	15,715663	56,095848	2019-08-15	0-3	19,3	19,4					
107		15,715573	56,092338	2019-08-15	0-3	19,3	19,4					
106	Ja	15,700394	56,091358	2019-08-15	0-3	20,2	20,2					
101		15,704964	56,089161	2019-08-15	0-3	20,0	20,3					
104		15,704919	56,086837	2019-08-15	0-3	19,8	19,9					
206	Ja	15,708191	56,078750	2019-08-15	3-6	18,2	17,4					
201		15,705325	56,080490	2019-08-15	3-6	18,8	18,4					
204	Ja	15,704712	56,076632	2019-08-15	3-6	18,4	17,2					
210	Ja	15,701251	56,072437	2019-08-15	3-6	18,3	16,8					
213	Ja	15,724469	56,059445	2019-08-16	3-6	17,7	17,6					
405	Ja	15,736205	56,058258	2019-08-16	10-20	18,3	12,3					
113	Ja	15,718079	56,056164	2019-08-16	0-3	17,2	17,2					
406	Ja	15,722585	56,051292	2019-08-16	10-20	17,2	11,8					
313		15,706343	56,059199	2019-08-16	6-10	17,4	15,3					
209		15,694455	56,062585	2019-08-16	3-6	17,2	17,0					
312		15,705965	56,068316	2019-08-16	6-10	17,5	17,3					
211		15,711481	56,066455	2019-08-16	3-6	17,7	17,4					
401		15,717051	56,062907	2019-08-16	10-20	17,8	12,7					
212		15,734483	56,070223	2019-08-17	3-6	18,5	18,3					
402		15,724676	56,065690	2019-08-17	10-20	17,7	13,7					
404	Ja	15,720269	56,063174	2019-08-17	10-20	17,7	13,1					
403		15,721414	56,067849	2019-08-17	10-20	17,7	17,1					
202		15,720855	56,069640	2019-08-17	3-6	17,7	17,7					
205		15,721179	56,071476	2019-08-17	3-6	17,7	17,7					
102		15,720981	56,073604	2019-08-17	0-3	17,8	17,9					
110		15,716330	56,073679	2019-08-17	0-3	19,3	18,7					
112	Ja	15,715997	56,072009	2019-08-17	0-3	18,3	18,2					
								175	190	10	5	5,0

www.aquabiota.se