

eDNA-analys av vandrarmussla (*Dreissena polymorpha*), Skåne län

Viktor Birgersson, Patrick Hernvall, Rasmus Emanuelsson &
Micaela Hellström



MIX Research
Sweden

eDNA-analys av vandrarmussla (*Dreissena polymorpha*), Skåne län

Utgiven av:	MIX Research Sweden AB
Datum:	2022-10-31
Uppdragsgivare:	Länsstyrelsen i Skåne län
Författare:	Viktor Birgersson, Patrick Hernvall, Rasmus Emanuelsson, Micaela Hellström
Granskare:	Författarna samt uppdragsgivarna
Omslagsbild	Saxtorpssjöarna (Patrick Hernvall)
Foton:	MIX Research Sweden AB
Fältarbete	Patrick Hernvall, Viktor Birgersson
Uppdraget utfördes av:	MIX Research Sweden AB Adress: Uppsala Science Park, Dag Hammarskjölds väg 34A, 75237 Uppsala E-post: info@mixresearch.se Telefon: 070-782 03 10
Rapporten citeras som:	Birgersson V., Hernvall, P., Emanuelsson, R., Hellström, M. 2022. eDNA-analys av vandrarmussla (<i>Dreissena polymorpha</i>), Skåne län. MIX Research SE. Rapport 2022:12



MIX Research
Sweden

SAMMANFATTNING

Miljö-DNA, eller eDNA (från engelskans environmental DNA), är samlingsnamnet på de genetiska avtryck som alla levande organismer lämnar efter sig i miljön i form av bland annat fotsår, svett, slem och fingeravtryck. Eftersom genetiska analyser utvecklats mycket under de senaste decennierna är det fullt möjligt att fånga upp dessa avtryck för att identifiera arter som finns i en given miljö. eDNA kan utvinnas från en liten mängd vatten och med hög precision ange vilka arter som är närvarande i till exempel sjöar, dammar, floder och hav. Detta verktyg är välutvecklat i vattenmiljöer som dessa och har visat sig vara användbart inom miljöövervakning. eDNA är vidare relativt kortlivat i vattenmassan och ger därför en bild av arters förekomst i nutid.

Den 7–9 september 2022 utförde MIX Research Sweden AB, på uppdrag av Länsstyrelsen i Skåne län, en eDNA-provtagning för att inventera förekomst av vandrarmussla (*Dreissena polymorpha*). Förekomst av arten har sedan tidigare bekräftats i Saxtorpssjöarna och provtagningen syftar till att undersöka om arten spridit sig till andra vattenförekomster i länet. Kontrollprov togs i Saxtorpssjöarna för att bekräfta förekomsten här, samt för att validera resultaten.

Vandrarmussla detekterades på tre av 17 lokaler. Samtliga detektioner gjordes i kontrollproverna tillhörande Saxtorpssjöarna där förekomst är bekräftad sedan tidigare. Eftersom de molekylära analyserna utfördes i sex replikat per prov, samt att alla kontrollprov från Saxtorpssjöarna gav utslag, bekräftas att metoden är tillförlitlig och avsaknaden av målarten på övriga lokaler därmed kan ses som pålitlig.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning.....	3
Innehållsförteckning.....	5
1 Inledning.....	6
2 Metoder.....	7
2.1 Fältarbete	7
2.2 Laboratoriearbete	8
3 Resultat.....	9
4 Tack.....	10
5 Referenser	11
Bilaga 1. Vad menas med enarts- och flerartsanalyser?	12
Bilaga 2. Laboratoriearbete	13
Bilaga 3. Kvalitetssäkring av DNA - kontroller	14
Bilaga 4: Kvalitetskontroller som redovisas	15
Bilaga 5: qPCR Resultat och kontroller	16

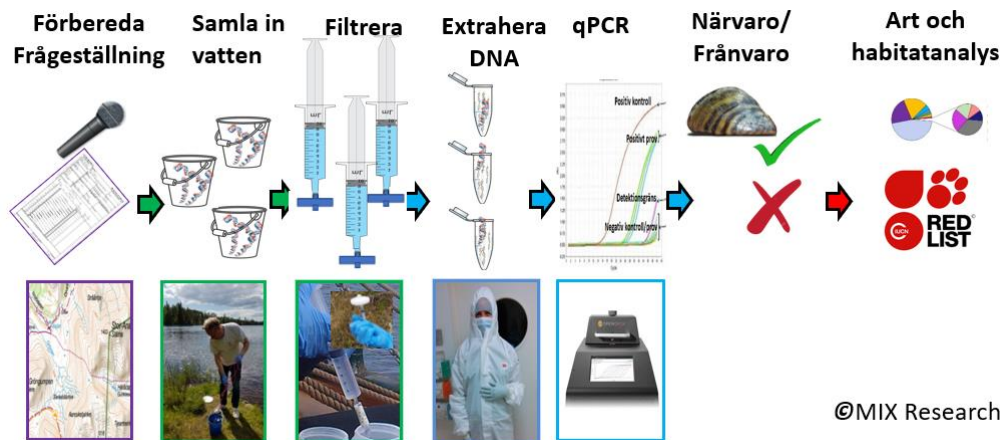
1 INLEDNING

Miljö-DNA eller eDNA (från engelskans environmental DNA) är samlingsnamnet på de genetiska avtryck som alla levande organismer lämnar efter sig i miljön i form av bland annat fotsår, svett, slem och fingeravtryck (Pedersen m.fl. 2015). Taberlet m.fl. (2012) definierar eDNA som ”det DNA som kan studeras från efterlämnade spår i miljön utan att målorganismen är närvarande i provet”. Då genetiska analyser har utvecklats mycket under de senaste decennierna är det fullt möjligt att genom vatten- eller jordprov fånga upp dessa avtryck och med precisa metoder identifiera de arter som finns i en given miljö. eDNA kan utvinnas från en liten mängd vatten och med hög precision ange vilka arter som är närvarande. Detta verktyg är välutvecklat i vattenmiljöer och har visat sig vara användbart inom miljöövervakning (Harper m.fl. 2018 a,b, Lawson Handley 2015, Leese m.fl. 2016, Olds m.fl. 2016, Deiner m.fl. 2017, Bruce m. fl. 2021). eDNA är vidare relativt kortlivat i vattenmassan (maximalt cirka två veckor beroende på yttre faktorer) och ger därför en bild av arters förekomst i nutid (Brys m. fl. 2021). Metoden är vidare icke-dödande vilket gör den idealisk för undersökningar av biologisk mångfald.

Den 7–9 september 2022 utförde MIX Research Sweden AB, på uppdrag av Länsstyrelsen i Skåne län, en eDNA-provtagning för att inventera förekomst av vandrarmussla (*Dreissena polymorpha*). Arten är invasiv och har spridits till Sverige via båttrafik där den effektivt har etablerat sig i flertalet vatten. En etablering kan resultera i förändrad vattenkvalitet och bottenstruktur samt missgynna inhemska arter. Vidare kan arten orsaka skador då den etablerar sig i vattenledningar som den täpper till. Förekomst har sedan tidigare bekräftats i Saxtorpssjöarna och provtagningen syftar till att undersöka om arten spridit sig till andra vattenförekomster i länet. Kontrollprovet togs även i Saxtorpssjöarna för att bekräfta förekomsten här, samt för att validera resultaten.

2 METODER

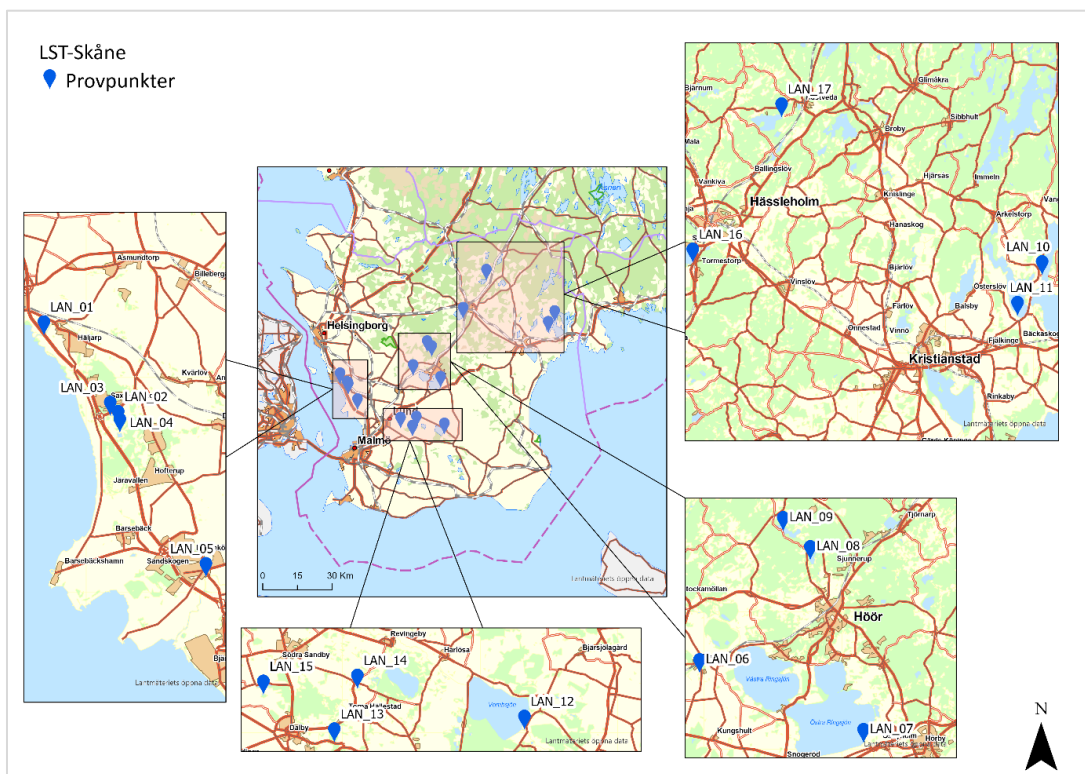
Flödesschema för fält- och laboratoriearbete visas i figur 1 och beskrivs i detalj i bilagorna 1 - 4.



Figur 1. Flödesdiagram som visar de olika stegen för enartsanalyser från fältplanering till beslut (laboratoriearbeten beskrivs i Bilaga 2).

2.1 FÄLTARBETE

Fältarbetet utfördes den 7–9 september 2022 (tabell 1, figur 2). Provtagning på hösten har visat sig ge mer tillförlitliga resultat för att detektera vandarmusslan jämfört med provtagning på våren (Gingera m. fl. 2017). Innan eDNA-provtagningen genomfördes steriliserades all provtagningsutrustning. Filtreringsutrustning köptes in som sterila och DNA-fria produkter. För varje lokal samlades fem liter vatten in i form av delprover som slogs ihop till ett samlingsprov för ett representativt resultat (Harper m.fl. 2018, Kačergytė m. fl. 2021, Bruce m.fl. 2021). För att öka detektionsgraden samlades delproverna in med 20 meters mellanrum runt hela lokalen.



Figur 2. Karta som visar provlokalerans positioner.

Tabell 1. Information om lokalen; datum, tidpunkt, total volym filtrerat vatten (ml), vattentemperatur och koordinater (SWEREF 99 TM).

Lokal	Prov	Datum	V ml	T °C H ₂ O	Djup (m)	Tid	Koordinat SWEREF 99 TM	
							Nord	Öst
Saxån	LAN_01	2022-09-07	3400	18	0-2	15:00	6191951	368041
Saxtorpssjöarna	LAN_02	2022-09-07	4700	19	0-2	16:30	6187782	371491
Saxtorpssjöarna	LAN_03	2022-09-07	4700	19	0-2	16:45	6188213	371122
Saxtorpssjöarna	LAN_04	2022-09-07	4700	19	0-2	17:00	6187433	371569
Lödde å	LAN_05	2022-09-07	4700	18	0-2	18:00	6180723	375573
Råvatten (Sydvatten)	LAN_06	2022-09-08	4700	18	0-2	09:30	6195533	399672
Ringsjön	LAN_07	2022-09-08	4500	18	0-2	10:15	6190465	411587
Vaxsjön	LAN_08	2022-09-08	3300	18	0-2	11:00	6203738	407716
Dagtorpsjön	LAN_09	2022-09-08	2400	17	0-2	11:30	6205842	405749
Ivösjön färjeläge	LAN_10	2022-09-08	4300	17	0-2	13:00	6218867	460975
Ivösjön badplats	LAN_11	2022-09-08	3200	17	0-2	13:15	6214245	458176
Vombsjön	LAN_12	2022-09-08	4700	17	0-2	14:35	6170220	413216
Knivsåsens stenbrott	LAN_13	2022-09-08	4700	17	0-2	15:15	6169301	399405
Tvedöra	LAN_14	2022-09-08	4700	18	0-2	15:45	6173194	401079
Billebjer	LAN_15	2022-09-08	4400	18	0-2	16:30	6172766	394253
Finjasjön	LAN_16	2022-09-09	4000	17	0-2	09:55	6220287	421318
Luhrajön	LAN_17	2022-09-09	3000	17	0-2	10:55	6236761	431400

Vatten (2,4–4,7 liter) filtrerades med hjälp av en peristaltisk fältpump (Burkle GMBH) genom 5 µm GF/0,8 µm PES inkapslade filterenheter (NatureMetrics, UK). Filtren tömdes på vatten och placerades i -20°C fältfrys innan de transporterades till MIX Research Swedens AB laboratorier för vidare analyser. Provtagningsutrustning steriliserades mellan lokalerna.

2.2 LABORATORIEARBETE

Laboratorieanalyserna beskrivs i bilaga 1. Se bilaga 2, 3 och 4 för kontroller och skallkrav.

3 RESULTAT

Vandrarmussla detekterades på tre av 17 lokaler, samtliga tillhörande Saxtorpssjöarna, vilka utgjorde positiva kontroller då förekomst av arten har bekräftats här sedan tidigare (tabell 2; figur 3).

Tabell 2. Prover analyserade med avseende på vandrarmussla. Notera att förekomst bekräftades på lokal LAN_02, LAN_03 och LAN_04 vilka fungerade som positiva fältkontroller. Artens frånvaro i de övriga proverna visar verkliga negativa resultat.

Lokal	Prov	Detektion av vandrarmussla	Koordinat SWEREF 99 TM	
			Nord	Öst
Saxån	LAN_01	NEJ	6191951	368041
Saxtorpssjöarna	LAN_02	JA	6187782	371491
Saxtorpssjöarna	LAN_03	JA	6188213	371122
Saxtorpssjöarna	LAN_04	JA	6187433	371569
Lödde å	LAN_05	NEJ	6180723	375573
Råvatten (Sydvatten)	LAN_06	NEJ	6195533	399672
Ringsjön	LAN_07	NEJ	6190465	411587
Vaxsjön	LAN_08	NEJ	6203738	407716
Dagtorpsjön	LAN_09	NEJ	6205842	405749
Ivösjön färjeläge	LAN_10	NEJ	6218867	460975
Ivösjön badplats	LAN_11	NEJ	6214245	458176
Vombsjön	LAN_12	NEJ	6170220	413216
Knivsåsens stenbrott	LAN_13	NEJ	6169301	399405
Tvedöra	LAN_14	NEJ	6173194	401079
Billebjer	LAN_15	NEJ	6172766	394253
Finjasjön	LAN_16	NEJ	6220287	421318
Luhrajön	LAN_17	NEJ	6236761	431400



Figur 3. Provpunkter på lokalen Saxtorpssjöarna.

Analyserna utfördes i sex replikat per prov genom TaqMan qPCR (bilaga 2). I kontrollproverna visade alla replikat positiva utslag och stora mängder DNA (bilaga 5). Resultatet bekräftar förekomsten av vandrarmussla i Saxtorpssjöarna samt att arten vid tidpunkten för provtagningen inte spridit sig till övriga lokaler.

4 TACK

Tack till Nils Carlsson på Länsstyrelsen i Skåne för intressanta diskussioner angående vandrarmusslan. Tack till Sara Peixoto som hjälpte med laboratorieanalyserna och Dr. Lori Handley samt Dr. Graham Sellers vid Hulls universitet för diskussioner om optimala analyser av vandrarmusslor.

5 REFERENSER

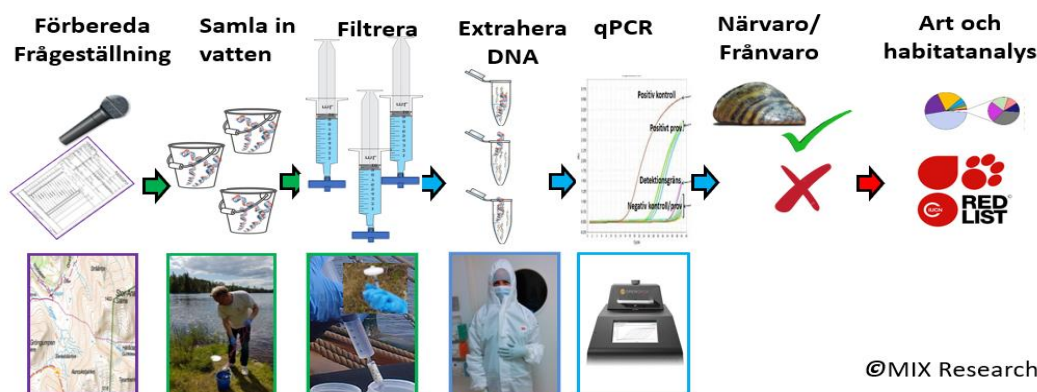
- Bruce, K. Bourlat, S. Blackmann, R., **Hellström, M.**, m.fl. & Deiner, K. (2021). A practical guide to DNA-based methods for biodiversity assessment". PenSoft Publishers Bulgaria 2021. ISBN 978-619-248-052-3 (paperback), ISBN 978-619-248-053-0 (e-book) DOI: 10.3897/ab.e68634
- Brys, R., Haegeman, A., Halfmaerten, D., Neyrinck, S., Staelens, A., Auwerx, J., & Ruttink, T. (2021). Monitoring of spatiotemporal occupancy patterns of fish and amphibian species in a lentic aquatic system using environmental DNA. *Molecular ecology*, 30(13), 3097-3110.
- 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.
- Gingera, T. D., Bajno, R., Docker, M. F., & Reist, J. D. (2017). Environmental DNA as a detection tool for zebra mussels *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) at the forefront of an invasion event in Lake Winnipeg, Manitoba, Canada. *Management of Biological Invasions*, 8(3), 287.
- Harper, L. R., Buxton, A. S., Rees, H. C., Bruce, K., Brys, R., Halfmaerten, D., ... & Priestley, V. 2018 a. Prospects and challenges of environmental DNA (eDNA) monitoring in freshwater ponds. *Hydrobiologia*, 1-17.
- Harper, L. R., Lawson Handley, L., Hahn, C., Boonham, N., Rees, H. C., Gough, K. C., ... & Hänfling, B. 2018 b. Needle in a haystack? A comparison of eDNA metabarcoding and targeted qPCR for detection of the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Ecology and evolution*, 8(12), 6330-6341.
- Kačergytė, I., Petersson, E., Arlt, D., **Hellström, M.**, Knappe, J., Spens, J., Žmihorski, M. & Pärt, T. (2021). Environmental DNA metabarcoding elucidates patterns of fish colonisation and co-occurrences with amphibians in temperate wetlands created for biodiversity. *Freshwater Biol.* 66, 1915–1929.
- Lawson-Handley, L., (2015). How will the "molecular revolution" contribute to biological recording? *Biological Journal of the Linnean Society* 115: 750–766.
- 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.
- 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, ... **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

BILAGA 1. VAD MENAS MED ENARTS- OCH FLERARTSANALYSER?

Enartsstudier - qPCR eller ddPCR

Inventering av förekomst av en enstaka art med eDNA görs med så kallad qPCR eller ddPCR. Frågeställningen för dessa studier är: Finns art X här? Varje art analyseras med en markör som är specifik för precis den arten. Provsvaren anger närvaro/frånvaro av den specifika arten (Figur B1-1).

Om flera arter undersöks med enartsanalyser kan data över relativa abundansen mellan art A och art B inte jämföras med varandra eftersom markörerna för varje art skiljer sig markant från varandra. Analystiden för enartsanalyser är kortare än analystiden för flerartsanalyser.








Figur B1-1. Flödesdiagram som visar de olika stegen för enartsanalyser från fältplanering till beslut och åtgärder

Flerartsstudier - Metastreckkodning genom NGS (Next Generation Sequencing)

Frågeställningen för flerartsstudier är: Vilka arter finns här och hur hög är deras förekomst? Med andra ord behöver man inte på förhand veta vad man letar efter. Invasiva och skygga arter kan identifieras och antalet arter som detekteras i en analys är obegränsat. Om man inventerar tre eller fler arter är denna metod att föredra och blir snabbt mer kostnadseffektiv än enartsanalyser. Analystiden för flerartsanalyser är längre än analystiden för enartsanalyser men mängden av data och information är så pass stor att inventeringarna kan producera "stort data" som inte har varit möjligt före eDNA- metastreckkodning (Figur B1-2)

Jämförelser mellan data som erhålls genom enarts- och flerartsanalyser visas i figur B1-2.

Enartsanalys - Barkodning		CGCCGCGTTATACGAGA	Ja/Nej	
				<u>Artlista</u> <u>Dominans</u>
		CGCCGCGTTATACGAGA	OTU 1	Match →  10 %
Flerartsanalys - Metabarkodning		CACCGCGTTATACGAGA	OTU 2	Match →  65 %
		CGCCGCGTTACACCACT	OTU 3	Match →  5 %
		CGCCGCGCTACACCGTG	OTU 4	Match →  20 %

Figur B1-2. Typ av data som erhålls genom enartsanalyser och flerartsanalyser. Enartsanalyserna anger om en art är närvarande eller inte, medan flerartsanalyser resulterar i en artlista samt arternas dominans i förhållande till varandra inom ett prov.

BILAGA 2. LABORATORIEARBETE

Extraktion

eDNA utvanns (extraherades) enligt protokoll från Spens m.fl. (2017) i MIX Research Sweden AB:s sterila laboratorier speciellt byggda för analyser av akvatiskt eDNA.

Enartsanalys qPCR

Enartsanalyserna utfördes med qPCR. Proverna analyserades med TaqMan qPCR med artspecifika primers and prober som kodar för en kort del som kodar för 114 baspar på CytB genen. För varje replikat analyserades 2 µL eDNA i 15 µL PCR reaktion i 45 cyklar.

Markörerna och protokollen beskrivs i Gingera m.fl. (2017). För varje prov, inklusive positiva och negativa kontroller, utfördes sex stycken replikat som analyserades separat för sig. En standardkurva som baserades på spädningsserier med känd koncentration av DNA från vandrarmusslor kördes parallellt med proverna.

- Gingera, T. D., Bajno, R., Docker, M. F., & Reist, J. D. (2017). Environmental DNA as a detection tool for zebra mussels *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) at the forefront of an invasion event in Lake Winnipeg, Manitoba, Canada. *Management of Biological Invasions*, 8(3), 287.
- Spens, J., A. R. Evans, ... 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.

BILAGA 3. KVALITETSSÄKRING AV DNA - KONTROLLER

Positiva och negativa kontrollprov

För tillförlitliga resultat vid eDNA-provtagning är positiva och negativa kontroller nödvändiga för att utesluta kontamineringar eller andra felkällor. Detta gäller 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 (Goldberg, m.fl. 2016, Griffiths, m.fl. 2016) finns speciella regelverk för kriminaltekniska (Hedman, m.fl. 2017) och medicinska (SFMG, 2011) undersökningar. Strikta riktlinjer för ett standardiserat utövande av eDNA-undersökningar tas just nu fram inom EU under COST aktionen DNAquaNet.

Negativ kontroll: Ett prov med kommersiellt DNA fritt vatten (nukleas fritt vatten renat för molekylära undersökningar ex. Nuclease Free Water från Fishing Scientific) eller kolsyrat mineralvatten som ingår i fältmaterialet vid inventerade lokaler med samma provtagningsmetodik som vattenproverna. Detta prov kallas för negativ kontroll. Under hela undersökningen från fält till slutsekvensering bör negativa kontroller införas i varje steg av analyserna. De DNA-fria proverna analyseras så att kontaminering kan uteslutas och falska positiva provsvar inte uppkommer. Om DNA-signaler av mållartsgrupperna hittas i en negativ kontroll innebär det att undersökningen måste göras om ifall källan inte kan identifieras och konsekvenserna av kontamineringen fastställas.

Konsekvenserna av en kontaminerad negativ kontroll kan i praktiken innebära att arter som inte finns i en miljö 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.

En positiv kontroll utan DNA-signal kan i praktiken visa att arter som finns i en miljö inte detekteras (falsk negativ).

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.
- Griffiths 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 laboratediagnostik 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

BILAGA 4: KVALITETSKONTROLLER SOM REDOVISAS

1. Mängden insamlat/filtrerat vatten dokumenteras för att kunna avgöra hur mycket som samlats in totalt. Alla eDNA-mätningar ställs i relation till hur mycket vatten som filtrerats.
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. 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 att vara kontaminerade och vid vilket steg detta i så fall skett.
4. Positiva kontroller (används inte alltid): a) Fält-positiva där ett område känt för artförekomst provtas för kontroll att arten detekteras i fält. b) PCR-positiva för enartsanalyser (gäller qPCR och ddPCR) där DNA från målartern testas.
5. För enartsanalyser anges närvaro och frånvaro av arten, för flerartsanalyser anges andel (%) av målarterna i ett givet prov. Detta ger en bild av hur väl sekvenseringen av målarterna lyckats.
6. Minst 6st. PCR-replikater per art och eDNA-prov utförs.

BILAGA 5: qPCR RESULTAT OCH KONTROLLER

Alla negativa fält och laboratorieprov visade negativt utslag. Alla positiva laboratoriekontroller var positiva. Resultaten visade att på de lokaler där vandrarmusslan har hittats fanns mycket stora mängder DNA som detekterades vid 25 och 26 cyklar för lokal 2 och 3 i den stora Saxtorpssjön och vid 30 cyklar i den lilla saktorpssjön. Alla 6 replikat visade samma resultat vilket indikerar stora mängder av målarten på de olika lokalerna. Den lilla sjön visade litet lägre koncentrationer och kom upp vid 30 PCR cyklar.

Tabell B5-1. Kvalitetsgranskning av eDNA och kontroller. eDNA-koncentrationen uppmättes med NanoDrop. Inhiberingskontroll utfördes med qPCR. PCR-negativ innefattar 6 replikat. eDNA koncentration ng/ μ l, qPCR + visar hur många av de sex replikaten inom varje prov som visade positivt utslag). Detektion anger om vandrarmusslan detekterades (JA) eller inte detekterades (nej). # cyklar anger hur tidigt i reaktionen som signalen kom upp. Ju lägre cyklar desto mer DNA finns i provet.

Lokal	Provnamn	Total eDNA (ng/ μ l)	qPCR +	Detektion	# cykler
Saxån	LAN_01	105,37	0/6	nej	
Saxtorpssjöarna	LAN_02	178,45	6/6	JA	25
Saxtorpssjöarna	LAN_03	147,95	6/6	JA	26
Saxtorpssjöarna	LAN_04	111,1	6/6	JA	30
Lödde å	LAN_05	160,05	0/6	nej	
Råvatten (Sydvatten)	LAN_06	71,9	0/6	nej	
Ringsjön	LAN_07	232,75	0/6	nej	
Vaxsjön	LAN_08	118,65	0/6	nej	
Dagtorpsjön	LAN_09	363,1	0/6	nej	
Ivösjön färjeläge	LAN_10	84,1	0/6	nej	
Ivösjön badplats	LAN_11	83	0/6	nej	
Vombsjön	LAN_12	63,8	0/6	nej	
Knivsåsens stenbrott	LAN_13	238,65	0/6	nej	
Tvedöra	LAN_14	113	0/6	nej	
Billebjer	LAN_15	354,45	0/6	nej	
Finjasjön	LAN_16	231,8	0/6	nej	
Luhrajön	LAN_17	112	0/6	nej	
	LAN_NEG	0	0/6	nej	