

# eDNA-inventering av fisk och stormusslor i Nyköpingsån

Viktor Birgersson, Patrick Hernvall & Micaela Hellström



MIX Research  
Sweden



# eDNA-inventering av fisk och stormusslor i Nyköpingsån

<b>Utgiven av:</b>	MIX Research Sweden AB
<b>Datum:</b>	2022-11-25
<b>Uppdragsgivare:</b>	Nyköpingsåarnas vattenvårdsförbund
<b>Författare:</b>	Viktor Birgersson, Patrick Hernvall & Micaela Hellström
<b>Kartor:</b>	Rasmus Emanuelsson
<b>Granskare:</b>	Författarna samt uppdragsgivarna
<b>Omslagsbild</b>	Patrick Hernvall
<b>Fältarbete</b>	Patrick Hernvall, Viktor Birgersson, Micaela Hellström, Liselott Rasmussen
<b>Uppdraget utfördes av:</b>	MIX Research Sweden AB Adress: Uppsala Science Park, Dag Hammarskjölds väg 34A, 75237 Uppsala E-post: info@mixresearch.se Telefon: 070-782 03 10
<b>Rapporten citeras som:</b>	Birgersson, V., Hernvall, P., Hellström, M. 2022. eDNA-inventering av fisk och stormusslor i Nyköpingsån. MIX Research Sweden. Rapport 2022:16.



MIX Research  
Sweden

## SAMMANFATTNING

---

Inventeringar av sjöar och vattendrag görs för att följa upp förändringar i artkompositionen i vattenmiljöer som en del av miljöövervakningen. Informationen används som kunskapsbaserat dataunderlag för skyddsåtgärder, infrastrukturbeslut och miljötillstånd.

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 till exempel fotspår, 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 och har visat sig vara användbart för miljöövervakningen. eDNA är vidare relativt kortlivat i vattenmassan och ger därför en bild av arters förekomst i nutid.

Den 29–31 augusti 2022 utförde MIX Research Sweden AB, på uppdrag av Nyköpingsåarnas vattenvårdsförbund, en eDNA-undersökning med flerartsanalys av fisk och musslor. Sammanlagt inventerades 23 lokaler i Nyköpingsån samt biflöden. Provtagningslokalerna som bestämdes av uppdragsgivaren placerades primärt uppströms vandringshinder, och på ett par lokaler även nedströms.

Totalt detekterades 22 fiskarter och sex musselarter i undersökningen. Tre rödlistade fiskarter; ål, lake och mal registrerades samt tre rödlistade stormusselarter; tjockskalig målarmussla, flat dammussla och äkta målarmussla. Resultatet från de prover som togs både ovan och nedan dämmen indikerade att dessa kan utgöra vandringshinder för ett antal arter. Bland annat detekterades arter som öring, nejonöga och gädda enbart nedströms dämmena vid dessa lokaler. För att genomföra en detaljerad påverkansanalys av vandringshinderns påverkan på arter föreslår vi att underlaget kompletteras med prover även just nedan barriärer (i stället för enbart ovan).

Syftet med detta uppdrag var dels att kartlägga artförekomst av fisk och musslor, dels att erhålla data som kan utgöra ett underlag för analys av påverkan av vandringshinder på dessa artgrupper. Resultaten i rapporten kan även utgöra underlag för framtida skydds- och åtgärdsprogram för att uppnå miljömålen inom "Levande sjöar och vattendrag" och "Biologisk mångfald". Rapporten delges fiskevårdsföreningar, länsstyrelsen och andra konsulter.

## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

---

Sammanfattning.....	4
Innehållsförteckning.....	5
1 Inledning.....	6
2 Metoder.....	7
2.1 Fältarbete .....	7
2.2 Laboratoriearbete .....	8
2.3 Analyser DNA.....	8
3 Resultat.....	9
3.1 Sekvenseringsresultat.....	9
3.2 Fiskarternas förekomst på lokalerna.....	9
3.3 Musselarternas förekomst på lokalerna .....	11
4 Diskussion.....	13
5 TACK .....	13
6 Referenser .....	14
Bilaga 1. Vad menas med enarts- och flerartsanalyser? .....	15
Bilaga 2. Laboratoriearbete .....	16
Bilaga 3. Kvalitetssäkring av DNA - kontroller .....	18
Bilaga 4: Kvalitetskontroller som redovisas .....	19
Bilaga 5: Resultat av kvalitetskontroller för flerartsanalyser .....	20
Bilaga 6 - Rådata för fiskar och musslor, Antal verifierade läsningar.....	21

# 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 fotspår, 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 miljöövervakningen (Harper m.fl. 2015; 2018, 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).

Artinventeringar i svenska vatten dateras tillbaka till 1500 talet, och information om arters förekomst, levnadsvillkor och biologi är grundläggande som underlag för myndigheter då beslut skall fattas om artskydd, åtgärder eller tillståndsprövningar etc. Traditionella artinventeringar kan vara både tids- och resurskrävande vilket gör storskaliga undersökningar av arters utbredning och förekomster ogenomförbara. Destruktiva inventeringsmetoder påverkar dessutom sällsynta eller hotade arter negativt. Eftersom eDNA-metoden är en icke-dödande metod är den idealisk för kartläggning av biologisk mångfald. Informationen kan användas för att lokalisera områden som kräver traditionella metoder för vidare undersökningar av arter gällande ålder, storleksfördelning, och reproduktionsframgång. En korrekt analys och tolkning av eDNA-resultat kräver kontinuerlig uppdatering av traditionell och genetisk taxonomi, molekylära metoder och arters ekologi.

I slutet på augusti 2022 utförde MIX Research Sweden AB, på uppdrag av Nyköpingsåarnas Vattenvårdsförbund, en eDNA-undersökning med flerartsanalys för att inventera förekomsten av fiskarter och stormusslor i Nyköpingsån. Totalt 23 lokaler i Nyköpingsån inkluderades i undersökningen. Provtagningslokalerna som bestämdes av uppdragsgivaren placerades primärt uppströms vandringshinder, och på ett par lokaler även nedströms.

Syftet med detta uppdrag var dels att kartlägga artförekomst av fisk och musslor, dels att erhålla data som kan utgöra underlag för analys av påverkan av vandringshinder på dessa artgrupper. Resultaten i rapporten kan även utgöra underlag för framtida skydds- och åtgärdsprogram för att uppnå miljömålen inom ”Levande sjöar och vattendrag” och ”Biologisk mångfald”. Rapporten delges fiskevårdsföreningar, länsstyrelsen och andra konsulter.

## 2 METODER

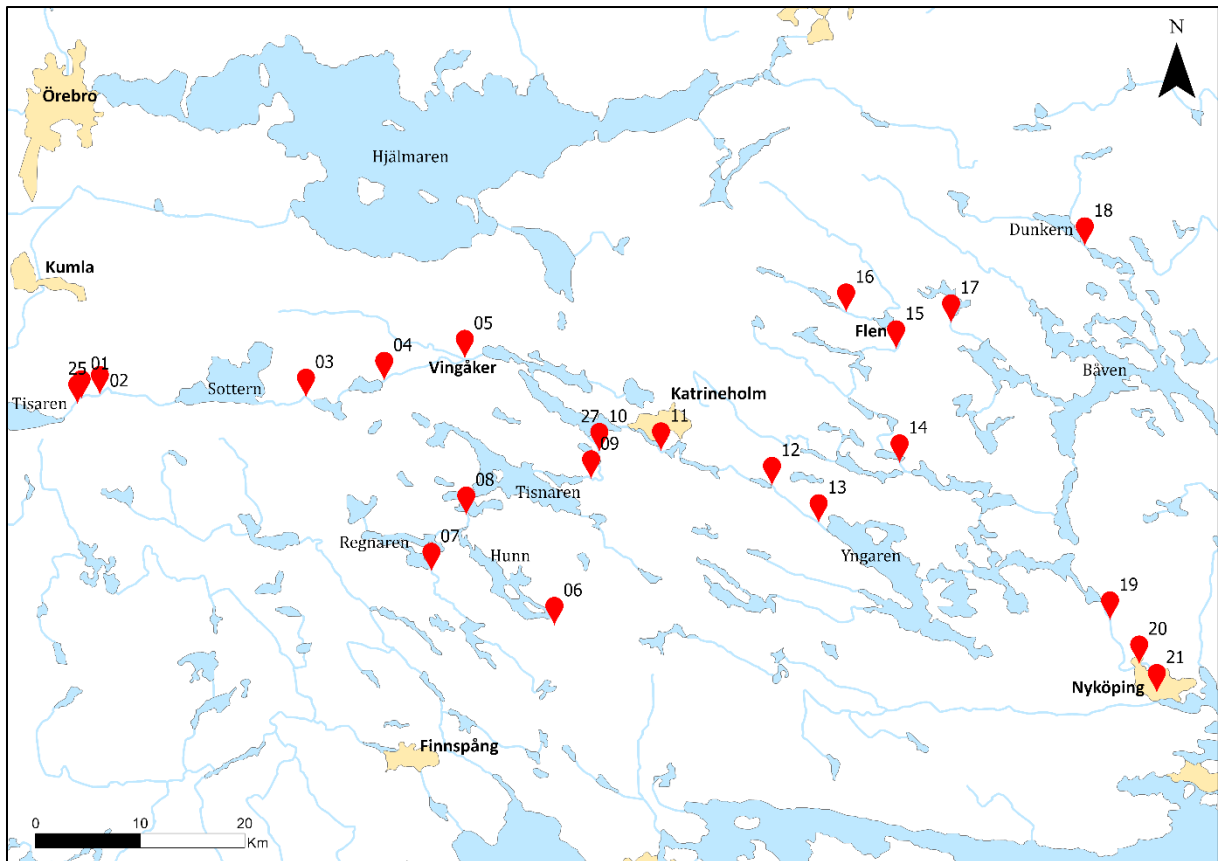
Flödesschema för fält- och laboratoriearbete beskrivs i detalj i bilagorna 1 – 4.

### 2.1 FÄLTARBETE

Fältarbetet utfördes den 29 – 31 augusti 2022 (Tabell 1, Figur 2). 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). Omkring 1–5 liter vatten 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 Sweden ABs laboratorier i Uppsala för vidare analyser. Provtagningsutrustning steriliserades mellan lokalerna.

**Tabell 1.** Information om insamlingslokalerna; Provnummer, lokalnamn, Position ovan – O , nedan – N dämmen, INL – inlopp, UTL - utlopp, fältdatum, tidpunkt, total volym filtrerat vatten angivet i ml, vattentemperatur och koordinater (SWEREF 99 TM). Notera att proverna är listade från högst uppströms till utloppet.

Provnr	Lokalnamn	O/N	Datum	V ml	T °C H <sub>2</sub> O	Djup (m)	Tid	Koordinat SWEREF 99 TM	
								Nord	Öst
NYK_25	Tisarens utl, masugnsfallet	UTL	2022-08-30	1600	16	0–2	17:51	6541561	513084
NYK_01	Pumpstation Hallsberg	O	2022-08-30	2600	19	0–2	17:51	6542053	513483
NYK_02	Skogasjön i Svennevadsån	O	2022-08-30	2300	16	0–2	16:30	6542453	515235
NYK_03	Brevensån, Biskopskvarn		2022-08-30	4800	19	0–2	15:59	6542193	534953
NYK_04	Vingåkersån, Ålödammen	O	2022-08-30	5000	20	0–2	15:41	6543807	542436
NYK_05	Vingåkersån Åbrogården	N	2022-08-30	2800	18	0–2	15:26	6545911	550144
NYK_06	Magnehulteån, O dämme	O	2022-08-30	900	16	0–2	12:56	6520358	558716
NYK_07	Gäddån		2022-08-30	2500	17	0–2	19:12	6525535	546956
NYK_08	Svartån, ovan hävla krv	O	2022-08-30	2000	19	0–2	20:22	6530920	550284
NYK_09	Tisnarens utlopp	O	2022-08-30	4000	17	0–2	12:10	6534386	562220
NYK_27	Bokvarnsån, dämme	O	2022-08-30	1800	16	0–2	10:50	6536978	563013
NYK_10	Bokvarnsån, dämme	N	2022-08-30	1500	17	0–2	11:55	6537006	563011
NYK_11	Utlopp Duveholmssjön	UTL	2022-08-29	900	19	0–2	20:53	6537057	568909
NYK_12	Åkforsån, Eriksberg	O	2022-08-29	2500	19	0–2	20:14	6533758	579527
NYK_13	Åkforsån,	N	2022-08-29	3500	19	0–2	19:55	6530186	583986
NYK_14	Ekenäs, ovan dämme	O	2022-08-31	4000	20	0–2	12:28	6535904	591734
NYK_15	Flensån, inl Gårdsjön	INL	2022-08-31	2000	16	0–2	10:58	6546822	591398
NYK_16	Utl Harpsundssjön,	O	2022-08-31	1000	16	0–2	10:38	6550348	586618
NYK_17	Utl Nedingen,	O	2022-08-31	2500	16	0–2	20:22	6549312	596657
NYK_18	Järnaån, utl Dunkern	UTL	2022-08-29	3500	19	0–2	16:45	6556680	609448
NYK_19	Nyköpingsån, Kristineholm	O	2022-08-29	1300	19	0–2	17:55	6520886	611859
NYK_20	Nyköpingsån, Harg	O	2022-08-29	1900	19	0–2	18:56	6516659	614652
NYK_21	Nyköpingsån utl Slottet	UTL	2022-08-29	2000	19	0–2	19:00	6513939	616335



**Figur 1.** Översikt av provtagningslokalerna.

Provlokalerna bestämdes av Nyköpingsåarnas Vattenvårdsförbund som primärt placerade stationerna ovanför vandringshinder. MIX Research Sweden adderade två lokaler **NYK\_25** och **NYK\_27**. På några lokaler togs prover även nedanför dämmena; Vingåkersån (**NYK\_4** och **NYK\_5**), Åkforsån (**NYK\_12** och **NYK\_13**) samt Bokvarnsån (**NYK\_27** och **NYK\_10**). Listan på lokaler i tabell 1 går från längst uppströms i Nyköpingsån till Nyköpingsåns utlopp vid slottet.

## 2.2 LABORATORIEARBETE

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

## 2.3 ANALYSER DNA

På en kort region av 12S-genen (Miya m.fl. 2015) respektive 16S-genen (Prié m.fl. 2021) har fisk- och musselarter unika artspecifika variationer som kan liknas vid streckkoder som identifierar olika varor i butiker, där varje enskild art alltså innehar en unik DNA-streckkod. Varje gång en sekvens detekteras i sekvenseringsmaskinen, registreras den vilket resulterar i ett specifikt antal detektioner per art. Antal detektioner ger en indikation på arternas relativa biomassa. En art med hög förekomst ger därmed upphov till fler detektioner än en art med låg förekomst (bilaga 2). Detta ger en indikation på arternas relativa biomassa. I studier där eDNA-provtagning genomförts några dagar efter att en bestämd biomassa av fisk har planterats ut i en tidigare tom damm påvisades en stark korrelation mellan fiskbiomassa och antalet eDNA-detektioner av respektive art (Li m.fl. 2019). Bioinformatiken beskrivs i bilaga 2 (anger relativ biomassa från mest till minst dominerande art). Kvalitetskontroller anges i bilaga 4.



## 3 RESULTAT

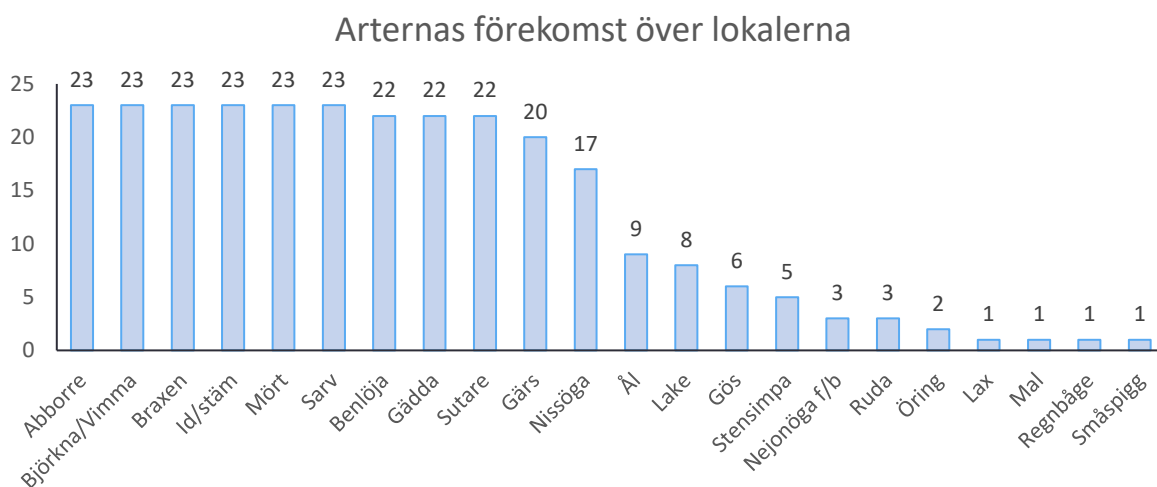
### 3.1 SEKVENSERINGSRESULTAT

I undersökningen registrerades 28 unika artsekvenser, av vilka 22 tillhörde fisk och sex tillhörde musslor (fullständiga artlistor se bilaga 6). Rödlistade arter som detekterades i denna undersökning var; ål, lake och mal samt tjockskalig målarmussla, flat dammussla och äkta målarmussla.

### 3.2 FISKARTERNAS FÖREKOMST PÅ LOKALERNA

Totalt detekterades 22 unika fisksekvenser i undersökningen. Den genomsnittliga artdiversiteten var 12,2 och varierade från 10 arter i Bokvarnsån ovan dämnet (**NYK\_27**) till 16 arter i Vingåkersån (**NYK\_05**). Det totala antalet detekterade arts specifika sekvenser för fiskmarkören i undersökningen var 1 124 402 och varierade mellan 28 033 – 96 930 per prov, vilket är höga värden och en indikation på högkvalitativ analys samt provtagning (se bilaga 5).

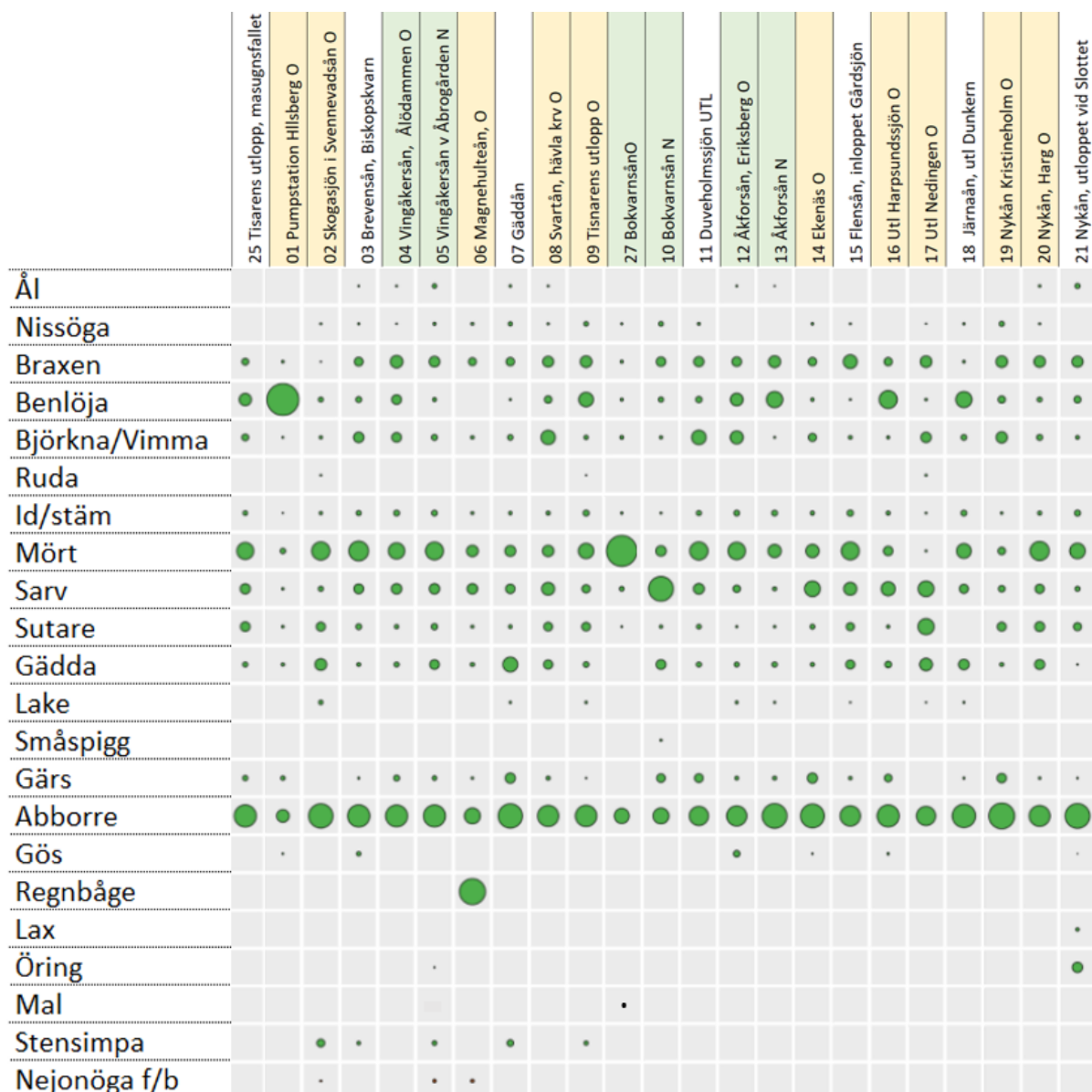
Mest frekvent detekterade arter var abborre, mört (*Rutilus rutilus*), sarv (*Scardinius erythrophthalmus*), braxen (*Abramis brama*), id (*Leuciscus idus*) /stäm (*Leuciscus leuciscus*) och björkna (*Blicca bjoerkna*) /vimma (*Vimba vimba*, nära hotad) som detekterades i samtliga 23 prover. Arternas förekomst på lokalerna visas i figur 2.



**Figur 2.** Arternas förekomst över lokalerna. Notera att 6 arter förekom på alla 23 lokaler.

Totalt detekterades 22 unika fisksekvenser i undersökningen. Sett till sekvensantal var abborre (*Perca fluviatilis*) den vanligast förekommande arten och stod för 34,8 % av det totala sekvensantalet. Arternas inbördes dominans inom varje prov (relativa biomassa/antalet läsningar) visas i figur 3.

Tre rödlistade arter detekterades i inventeringen – ål (*Anguilla anguilla*, akut hotad), som detekterades på nio lokaler, lake (*Lota lota*, sårbar) som detekterades på åtta lokaler och mal (*Silurus glanis*, nära hotad) som detekterades på en av lokalerna.



**Figur 3.** Fiskarternas dominans inom de olika provtagningslokalerna. Lokalnamnen anges både som provnummer samt provnamn. Lokalnamn i gult anger position ovan dämnen, grönt prov som hör ihop ovan och nedan dämnen samt vitt övrigt (inlopp utlopp mm). Den relativa biomassan anger hur många gånger en sekvens av en art blivit läst (kolumner). Varje kolumn visar hur många procent en art är läst av totalt 100 %.

Öring (*Salmo trutta*) och lax (*Salmo salar*) detekterades båda vid Nyköpingsåns utlopp (**NYK\_21**), nedströms kraftverket Storhusfallet i centrala Nyköping. Detta var den enda lokalen där lax detekterades och öring detekterades endast på en annan lokal i Vingåkersån (**NYK\_05**). Här detekterades även röding (*Salvelinus alpinus*), en art som inte observerats i regionen tidigare. Detektionen utgör sannolikt en naturlig kontamination då det i direkt anslutning till provtagningslokalen finns en restaurang med röding på menyn. Arten exkluderades därför från resultatet. Vidare detekterades även regnbåge (*Oncorhynchus mykiss*) på en lokal vid Magnehulteån (**NYK\_6**), vilket är att förvänta då det förekommer utplantering av arten här.

På lokal (**NYK\_01**) vid Tisarens utlopp identifierades nio arter som påträffats i tidigare provfiskeri under 90-talet (Tisaren sjöfaktablad, 2017). Vidare detekterades även gös (*Zander luciperca*) och id. Lokala sportfiskare verifierade vidare att de fångat gös vid provtagningslokalen. Lokal **NYK\_25** var på samma sida om dämnet som **NYK\_01**. Artfynden

var identiska förutom att gös inte detekterades på lokal **NYK\_25**. Tidigare studier i Moälven har visat att eDNA med hög sannolikhet detekterar cirka 90 % av arter i rinnande vatten om ett prov tas medan två replikat höjer sannolikheten till 97 % (Hellström m. fl. opublicerat data).

De tre lokalerna där prover togs ovan och nedan dämmen (figur 3) var Vingåkersån (**NYK\_04** och **NYK\_05**), Åkforsån (**NYK\_12** och **NYK\_13**) samt Bokvarnsån (**NYK\_27** och **NYK\_10**). Vid Vingåker registrerades öring, stensimpa (*Cottus gobio*) och nejonöga (*Lampetra sp.*) enbart nedan dämmet. Vid Åkforsån detekterades gös ovan men inte nedan dämmet. I Bokvarnsån detekterades gädda (*Esox lucius*), gärs (*Gymnocephalus cernua*), sutare (*Tinca tinca*) och småspigg (*Pungitius pungitius*) enbart nedan dämmet, medan ett fåtal sekvenser av mal enbart detekterades ovan dämmet.

Med de genetiska markörer som användes vid tillfället för analys var det inte möjligt att skilja mellan björkna/vimma och id/stäm. Dessa artkomplex går inte att särskilja på den DNA-region som analyserades. Artkomplex i detta sammanhang innebär att två arter markeras som en eftersom de har identiska gensekvenser inom den del av DNA-regionen som analyseras (i detta fall en liten del av 12S genen).

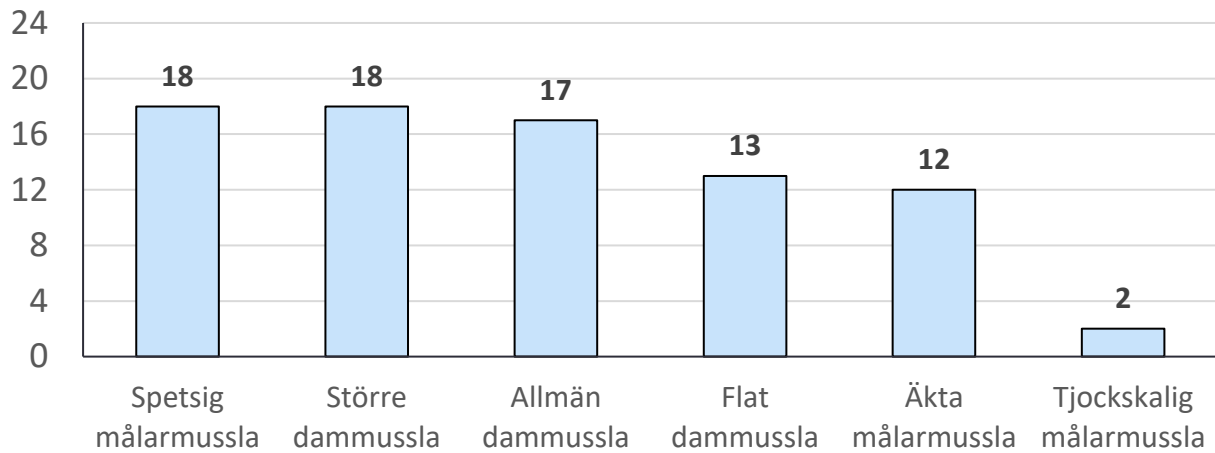
Sekvenserna för bäck- och flodnejonöga är identiska. Enligt vissa forskare kan dessa två reproducera sig med varandra och diskussioner pågår om dessa är en och samma art eller inte (Beamish 1980, De Cahsan m.fl. 2020). Arten annoteras som nejonöga i denna analys. Havsnejonöga däremot har sekvenser som skiljer sig markant från flod/bäck nejonöga.

### 3.3 MUSSELARTERNAS FÖREKOMST PÅ LOKALERNA

Totalt detekterades sex arter i undersökningen, varav tre är rödlistade – tjockskalig målarmussla (*Unio crassus*, starkt hotad) som detekterades på två lokaler, flat dammussla (*Pseudanodonta complanata*, nära hotad) som detekterades på 13 lokaler, och äkta målarmussla (*Unio pictorum*, nära hotad) som detekterades på 12 av lokalerna. Vidare detekterades vanlig dammussla (*Anodonta anatina*), större dammussla (*Anodonta cygnea*) och spetsig målarmussla (*Unio tumidus*).

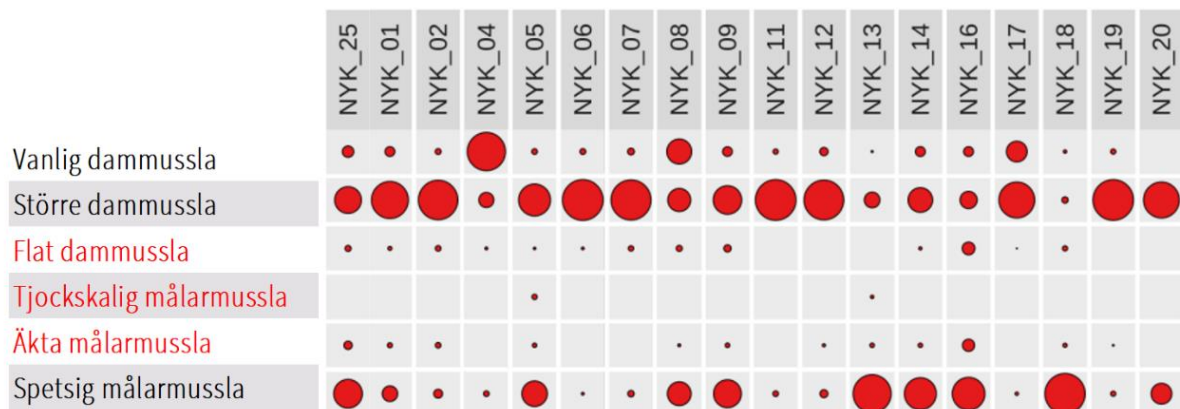
Den genomsnittliga artdiversiteten var 4,38 och varierade från två arter i **NYK\_20** till sex arter i **NYK\_05**. Det totala antalet detekterade arts specifika sekvenser i undersökningen var 1 274 596 med ett genomsnittligt sekvensantal på 70 811 sekvenser per prov (se bilaga 5). Stormusslor detekterades på 18 av 23 lokaler. Musslor detekterades inte vid utloppet till havet (**NYK\_21**), i Brevensån (**NYK\_03**), vid inloppet till Gårdsjön (**NYK\_15**) och inte heller vid Bokvarnsån ovan och nedan dämmet (**NYK\_27** och **NYK\_10**). Arternas förekomst över lokalerna visas i figur 4.

### Musselarternas förekomst över lokalerna



**Figur 4.** Musselarternas förekomst över de undersökta lokalerna.

Sett till sekvensantal var större dammussla (*Anodonta cygnea*) den vanligast förekommande arten och stod för 56,5 % av det totala sekvensantalet. Mest frekvent detekterade arter var större dammussla, spetsig målarmussla och vanlig dammussla vilka detekterades i 18, 18 och 17 prov, respektive. Arternas relativa abundans inom varje lokal ses i figur 5.



**Figur 5.** Musselarternas dominans inom de olika provtagningslokalerna. Den relativa biomassan anger hur många gånger en sekvens av en art blivit läst (kolumner). Varje kolumn visar hur många procent en art är läst av totalt 100 %. Röd text indikerar en rödlistad art.

## 4 DISKUSSION

---

Resultaten i denna rapport visar att eDNA-metabarkoding som inventeringsmetod har stora fördelar vid inventering av diversitet eftersom ett stort antal arter kan detekteras på en gång. Fördelen med eDNA är att provtagning kan ske i svårtillgängliga områden, och eftersom vatteninsamling kräver mindre tid i fält jämfört med inventeringar på traditionellt sätt, kan undersökningar ske över stor geografisk skala. På detta sätt kan metoden generera stora dataset på ett sätt som tidigare inte varit möjligt. eDNA är ett användbart verktyg i miljöövervakningen och är till nytta för att inventera arter före och efter åtgärder, som vid exempelvis utrivningar av kraftverksdammar. eDNA används redan som inventeringsmetod i Sverige och andra delar av Europa för att exempelvis undersöka förekomsten av hotade arter innan uppstarten av större infrastrukturprojekt.

Resultatet från de prover som togs både ovan och nedan dämmen indikerade att dessa kan utgöra vandringshinder för ett antal arter. Bland annat detekterades arter som öring, nejonöga och gädda enbart nedströms dämmena vid dessa lokaler. För att genomföra en detaljerad påverkansanalys av vandringshinderns påverkan på arter föreslår vi att underlaget kompletteras med prover även just nedan barriärer (i stället för enbart ovan). Den föreslagna provtagningsstrategin ger en tydligare bild av hur barriärer påverkar konnektiviteten inom större vattensystem. Orsaken att prover behöver tas både uppströms och nedströms hinder är att kunna avgöra vilka arter som inte kan ta sig uppströms på grund av hinder. Vidare föreslår vi att fler än ett prov per lokal samlas in eftersom replikat ökar sannolikheten för att detektera sällsynta arter, särskilt i artrika vatten som detta. Detta bekräftades vidare av prov **NYK\_01** och **NYK\_25** som är från samma plats men där endast ena provet visade förekomst av gös.

Denna undersökning gav utslag på 22 fiskarter och sex musselarter. Flertalet av dessa är idag rödlistade och resultaten kan därför bidra till eventuella åtgärdsbeslut eller inducera mer detaljerade inventeringar för att skydda dessa. Kombinerade inventeringsmetoder med eDNA (förekomst av flera arter) och påföljande traditionella inventeringar på utvalda platser (ålder, storlek, kön) blir ett kraftfullt verktyg som ger betydligt större resolution och bättre dataunderlag för åtgärder och beslut i miljöövervakningen. eDNA som metod har utvecklats mycket under de senaste 10 åren och olika faser av metodens användning standardiseras i nuläget inom CEN och SIS. Forskning pågår för att särskilja populationer inom arter och användningen av dessa analyser i framtiden stärker eDNA som inventeringsverktyg och komplement till andra inventeringsmetoder.

## 5 TACK

---

Ett stort tack till Jerry Persson och Anneli Carlén vid Nyköpingåarnas Vattenvårdsförbund för intressanta diskussioner och stort engagemang. Tack till Liselott Rasmussen för medverkan vid fältprovtagningen och för fältförberedelser. Vi vill även rikta ett varmt tack till lokalbefolkningen som ställde frågor, engagerade sig och delade med sig om sina erfarenheter av stormusslor och fiskar i ån.

## 6 REFERENSER

---

- Beamish, R. J. (1980). Adult biology of the river lamprey (*Lampetra ayresi*) and the Pacific lamprey (*Lampetra tridentate*) from the Pacific coast of Canada. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(11), 1906-1923.
- 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.
- De Cahsan, B., Nagel, R., Schedina, I. M., King, J. J., Bianco, P. G., Tiedemann, R., & Ketmaier, V. (2020). Phylogeography of the European brook lamprey (*Lampetra planeri*) and the European river lamprey (*Lampetra fluviatilis*) species pair based on mitochondrial data. Journal of fish biology, 96(4), 905-912.
- 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.
- Harper, L. R., Buxton, A. S., Rees, H. C., Bruce, K., Brys, R., Halfmaerten, D., ... & Priestley, V. 2018. 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). 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.**, Knape, 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.
- 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.
- 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.
- Li, J., Lawson Handley, L. J., Harper, L. R., Brys, R., Watson, H. V., Di Muri, C., & Hänfling, B. (2019). Limited dispersion and quick degradation of environmental DNA in fish ponds inferred by metabarcoding. Environmental DNA 1 (3): 238–250.
- 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
- Prié, V., Valentini, A., Lopes-Lima, M., Froufe, E., Rocle, M., Poulet, N., ... & Dejean, T. (2021). Environmental DNA metabarcoding for freshwater bivalves biodiversity assessment: methods and results for the Western Palearctic (European sub-region). Hydrobiologia, 848(12), 2931-2950.
- 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
- Tisaren sjöbladsfakta.  
<https://www.lansstyrelsen.se/download/18.3da1c377162bd90d9eef04f/1526068898519/Tisaren.pdf>

## 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.

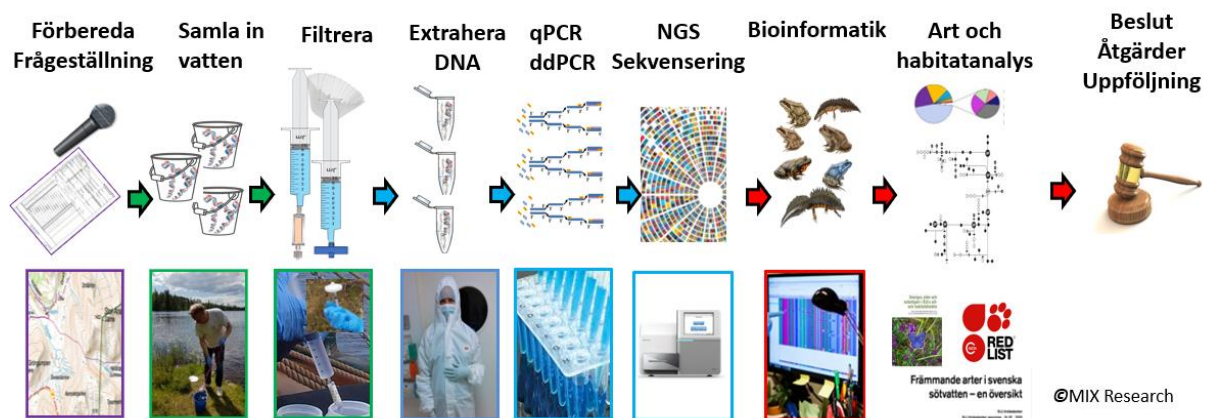
Om flera arter undersöks med enartsanalyser kan data över relativa abundansen mellan art A och art B inte jämföras med varandra eftersom markörerna för varje art skiljer sig markant från varandra. Analystiden för enartsanalyser är kortare än analystiden för flerartsanalyser.

### 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 B1-1).

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



**Figur B1-1.** Flödesdiagram som visar de olika stegen för flerartsanalyser från fältplanering till beslut och åtgärder (laboratoriearbete och bioinformatik beskrivs i Bilaga 2).

Enartsanalys - Barkodning		CGCCGCGTTATACGAGA	Ja/Nej		
Flerartsanalys - Metabarkodning					

**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.

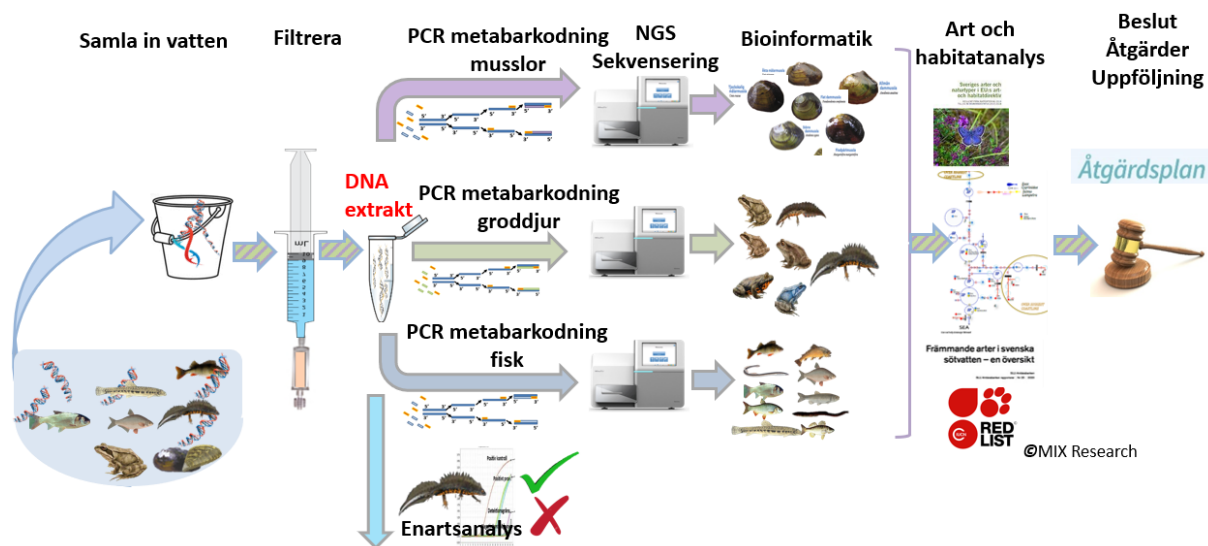
## BILAGA 2. LABORATORIEARBETE

### B.2.1 EXTRAKTION

eDNA utvanns (extraherades) enligt protokoll för slutna filter i etanol från Spens m.fl. (2017) i MIX Research Swedens sterila laboratorier speciellt byggda för analyser av akvatiskt eDNA.

### B.2.2. PCR

För alla analyser gäller att; Varje PCR-prov utförs i 12 replikat som sammanslås under bioinformatiken. Som positiv laboratoriekontroll används ett prov med känd artsammansättning av tropiska fiskar som standard för jämförelse. Negativa kontroller analyseras för att säkerställa kvaliteten och tillförlitligheten av resultatet. Från ett och samma eDNA-prov kan flera analyser på olika taxa analyseras parallellt (figur B2\_1). Observera att proverna inte kan sekvenseras samtidigt eftersom PCR-produkterna varierar i längd mellan markörer. Sekvenseringsprotokoll och bioinformatik anges i Kačergytė m.fl. 2021.



Figur B2-1. Ett och samma eDNA-prov kan analyseras parallellt för flera olika taxa med separata analyser.

### B.2.2.1 Fisk

Flerartsanalyserna för fisk genomfördes med en markör som läser en hypervariabel 175 bp region på 12S rRNA-genen och protokoll enligt Miya m.fl. (2015). Ett undantag i protokollet var att det andra basparet på framåt-primern byttes ut för att matcha europeiska fiskar och vidare anpassades 5' delen av primern med ett överhäng för att matcha Illumina Nextera Index markörer (för full beskrivning se Kačergytė m.fl. 2021, överhäng förklaras på NGI websidan (National Genomics Infrastructure, Illumina 16S)). Strålfeniga fiskar, Actinopterygii, skiljer sig genetiskt från nejonöga som hör till Hyperoartia (Kraniedjur). För att detektera artkomplexitet innebär degenererade primers ett problem och alternativet är att följa principerna för modifierade primers enligt Miya m.fl. (2020).

### B.2.2.3 Stormusslor (Unionidae)

Stormusslor inom Unionidae analyserades med ett markörpar för Unionidae i Prié m.fl. (2021) som läser en ca 125 bp hypervariabel region på 16S genen.

### Bioinformatik och verifiering

Varje enskild art har en unik streckkod eller DNA-sekvens. De unika sekvenserna jämfördes med 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 närmare 504 000 kända arter finns tillgängliga med 2,5 miljard sekvenser och 15,3 triljoner baspar enligt GenBank och NCBI hemsida (Sayers, m.fl. 2022). De olika sekvenserna matchades i första hand mot NCBI-databasen och fick på så sätt fram arternas identitet. Vidare används en verifierad (vilket betyder att arterna som används för referens-DNA är verifierade av en auktoriserad taxonom) intern databas. Tack vare nya framsteg inom metastreckkodning för vertebrater och evertebrater är det möjligt att få träffar på artnivå istället för enbart familje- eller genusnivå.

Antalet läsningar per art ger en relativ uppskattning (relativ biomassa) av hur mycket eller litet arten förekommer i ett prov.

### Referenser

- 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.
- 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.
- Miya, M., Gotoh, R.O. & Sado, T. (2020) MiFish metabarcoding: a high-throughput approach for simultaneous detection of multiple fish species from environmental DNA and other samples. *Fish Sci* 86, 939–970 (2020).
- NCBI websida <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Prié, V., Valentini, A., Lopes-Lima, M., Froufe, E., Rocle, M., Poulet, N., ... & Dejean, T. (2021). Environmental DNA metabarcoding for freshwater bivalves biodiversity assessment: methods and results for the Western Palearctic (European sub-region). *Hydrobiologia*, 848(12), 2931-2950.
- Sayers, E. W., Cavanaugh, M., Clark, K., Pruitt, K. D., Schoch, C. L., Sherry, S. T., & Karsch-Mizrachi, I. (2022). GenBank. *Nucleic acids research*, 49(D1), D92-D96.
- 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 t.ex. Nuclease Free Water från Fisher 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 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](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. 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 att 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 att vara kontaminerade och vid vilket steg detta i så fall skett.
6. 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 målarten testas. c) Positiv flerartskontroll, där 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. 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.
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-replikater per art/artgrupp och eDNA-prov utförs. Dessa sammanslås i sekvenseringen. Färre replikater minskar analys säkerheten 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.

## BILAGA 5: RESULTAT AV KVALITETSKONTROLLER FÖR FLERARTSANALYSER

Värden för kontrollerna anges i tabell B5-1. Laboratoriekontroller var negativa för målarter. Fältkontrollerna visade visst läckage av mört vilket kunde negligeras då DNA-koncentrationerna i de negativa kontrollerna var mycket låga. De positiva kontrollerna var positiva. Kontaminations-DNA tillhörande kyckling, får eller människa (vilket är vanligt i reagenser) togs automatiskt bort från analysen.

MiSeq-parvis sekvensering för Miya 12S som huvudsakligen detekterar fisk på en 125 bp gav rena resultat. Miya-körningen resulterade i 1 032 326 sekvenser fördelade över 23 prover som genomgick kvalitetskontrollerna. Unio 16S parvis sekvensering (stormusslor: Unionidae) analyserades på alla prover. Sammanlagt 1 274 596 sekvenser passerade kvalitetskontrollerna vilket ger ett medeltal på ungefär 70 811 läsningar per prov.

**Tabell B5-1. Kvalitetsgranskning av eDNA och kontroller. eDNA-koncentrationen uppmättes med Qubit Fluorometric Quantitation (Fisher Scientific) och anges ng/μl. Inhiberingskontroll utfördes med qPCR. PCR-negativ innefattar 12 replikat. Markören som användes var 12S för fisk och 16S för musslor och tabellen visar antal läsningar per prov.**

Provnamn	eDNA (ng/ μl)	Inhibering	#PCR 12S	#PCR 16S	# målartläsningar fisk	# målartläsningar musslor	% naturlig kontaminering
NYK_01	109	Nej	12	12	28 033	53 430	0
NYK_02	17,3	Nej	11	12	28 363	70 046	0,06
NYK_03	128	Nej	12	1	40 807	-	0
NYK_04	38,4	Nej	11	12	38 245	78 493	0
NYK_05	58,8	Nej	11	12	36 187	80 403	0
NYK_06	24,2	Nej	12	12	40 140	78 647	0
NYK_07	17,8	Nej	11	12	36 238	66 378	0
NYK_08	74,8	Nej	12	9	29 752	77 207	0
NYK_09	47,3	Nej	12	12	36 488	72 210	0,554
NYK_10	47,8	Nej	9	0	43 045	-	0
NYK_11	167	Nej	12	12	36 827	82 413	0
NYK_12	111	Nej	12	12	29 195	70 459	0
NYK_13	130	Nej	12	11	29 907	68 214	0
NYK_14	126	Nej	11	12	41 773	64 236	0,189
NYK_15	64,3	Nej	12	3	35 922	-	0
NYK_16	60,2	Nej	12	12	43 699	78 212	0
NYK_17	78,8	Nej	9	12	41 710	65 836	0
NYK_18	94,9	Nej	12	12	32 238	99 193	0
NYK_19	90	Nej	12	12	82 268	79 184	0,256
NYK_20	78,9	Nej	12	5	55 953	139	0,856
NYK_21	87,1	Nej	9	1	84 638	-	0
NYK_25	134	Nej	12	12	63 968	89 896	0,522
NYK_27	82,2	Nej	12	3	96 930	-	0,217
NYK_Neg_01	< 0.01	Nej	8	8	NA	NA	20,1
NYK_Neg_02	< 0.01	Nej	4	0	NA	-NA	100

## BILAGA 6 - RÅDATA FÖR FISKAR OCH MUSSLOR, ANTAL VERIFIERADE LÄSNINGAR

**Tabell B6\_1.** Antalet eDNA-läsningar per fiskart inom de olika provlokalerna. Siffrorna anger hur många gånger en sekvens blivit läst på artnivå och anger relativ biomassa. Flera läsningar anger högre biomassa.

Art	NYK_25	NYK_01	NYK_02	NYK_03	NYK_04	NYK_05	NYK_06	NYK_07	NYK_08	NYK_09	NYK_27	NYK_10	NYK_11	NYK_12	NYK_13	NYK_14	NYK_15	NYK_16	NYK_17	NYK_18	NYK_19	NYK_20	NYK_21
Ål				52	57	441		120	51					44	23							177	1 367
Nissöga			54	91	41	184	183	360	76	451	231	563	159			136	64		36	89	1 300	116	
Braxen	2 020	106	19	2 254	4 584	3 077	1 730	1 766	2 614	3 778	512	2 789	2 763	1 932	3 207	2 049	5 267	2 058	4 244	135	8 374	5 455	7 826
Benlöja	7 417	23 212	420	889	2 623	349		77	1 149	5 941	491	714	955	3 600	6 160	277	59	11 087	139	6 529	2 973	821	2 806
Björkna/Vimma	2 063	47	163	3 267	2 584	822	273	692	4 702	410	809	243	5 959	3 813	58	1 890	288	231	3 293	659	7 807	1 264	720
Ruda			36							25									96				
Id/stäm	838	25	162	606	829	743	189	242	282	853	304	88	540	605	618	433	913	425	72	681	260	550	1 961
Mört	14 604	526	7 445	12 555	7 944	9 093	4 014	3 210	2 874	6 650	75 540	3 494	9 551	7 003	3 996	5 689	9 044	2 839	76	5 410	3 193	16 099	15 975
Sarv	4 979	89	454	2 870	3 085	2 921	3 254	2 277	3 724	1 735	1 314	21 061	3 158	1 090	286	7 977	4 620	6 666	8 012	1 901	2 382	3 378	1 265
Sutare	4 414	106	1 663	881	415	940	204	288	1 628	1 945	163	260	479	66	101	605	1 632	264	8 480		4 759	4 019	3 871
Gädda	1 049	172	2 963	360	599	2 408	402	6 181	1 777	740		3 005	588	439	518	427	2 038	1 254	5 116	2 670	790	4 118	95
Lake			332					97		123				140	75		34		39	73			
Småspigg											102												
Gärs	1 120	326		93	868	462	127	2 785	293	36		2 260	2 019	251	286	3 191	249	1 765		73	5 253	175	119
Abborre	25 130	3 385	13 393	16 109	14 616	13 967	7 915	17 102	10 582	13 195	17 356	8 466	10 656	9 376	14 579	18 974	11 714	16 989	12 052	14 018	43 974	19 302	41 457
Gös		39		470										836		46		121					45
Regnbåge							21 576																
Lax																							577
Öring						30																	6 554
Röding						30																	
Mal										155													
Stensimpa			1 192	310		484		1 041		404													
Nejonöga f/b			50			236	273																
Männiksa	334		17							202	55					79					211	479	
<b>Totalt</b>	<b>63 968</b>	<b>28 033</b>	<b>28 363</b>	<b>40 807</b>	<b>38 245</b>	<b>36 187</b>	<b>40 140</b>	<b>36 238</b>	<b>29 752</b>	<b>36 488</b>	<b>96 930</b>	<b>43 045</b>	<b>36 827</b>	<b>29 195</b>	<b>29 907</b>	<b>41 773</b>	<b>35 922</b>	<b>43 699</b>	<b>41 655</b>	<b>32 238</b>	<b>81 276</b>	<b>55 953</b>	<b>84 638</b>

**Tabell B6\_2.** Antalet eDNA-läsningar per musselart inom de olika provlokalerna. Siffrorna anger hur många gånger en sekvens blivit läst på artnivå och anger relativ biomassa. Flera läsningar anger högre biomassa.

Art	NYK_25	NYK_01	NYK_02	NYK_04	NYK_05	NYK_06	NYK_07	NYK_08	NYK_09	NYK_11	NYK_12	NYK_13	NYK_14	NYK_16	NYK_17	NYK_18	NYK_19	NYK_20
Allmän dammussla	6 111	2 607	1 080	67 425	1 132	1 214	1 412	27 540	3369	960	2 374	103	3 215	3 818	15 951	419	926	
Större dammussla	36 935	42 857	64 320	9 741	47 688	77 001	62 879	23 270	33 995	80 333	65 661	9 182	22 149	12 826	49 556	1 796	77 266	105
Flat dammussla	1 456	350	976	244	180	216	839	1 264	1 827				242	6 749	56	1132		
Tjockskalig målarmussla					968							311						
Äkta målarmussla	2 991	593	952		641			254	664		266	587	528	6 106		705	97	
Spetsig målarmussla	42 403	7 023	2 718	1 083	29 794	216	1 248	24 879	32 355	1 120	2 158	58 031	38 102	48 713	273	95 141	895	34
<b>Totalt</b>	<b>89 896</b>	<b>53 430</b>	<b>70 046</b>	<b>78 493</b>	<b>80 403</b>	<b>78 647</b>	<b>66 378</b>	<b>77 207</b>	<b>72 210</b>	<b>82 413</b>	<b>70 459</b>	<b>68 214</b>	<b>64 236</b>	<b>78 212</b>	<b>65 836</b>	<b>99 193</b>	<b>79 184</b>	<b>139</b>



MIX Research  
Sweden