

# Overvågning af invasive arterer i havvand

[VEJLEDNING TIL INDSAMLING AF *e*DNA]



**Miljø- og  
Fødevareministeriet**  
Miljøstyrelsen

**STATENS  
NATURHISTORISKE  
MUSEUM**

KØBENHAVNS  
UNIVERSITET





**MILJØ-DNA OG INVASIVE ARTER** Anvendelsen af miljø-DNA (også kaldet *environmental*-DNA, eller *eDNA*) fra vandmiljøer er et forskningsfelt i rivende udvikling. På Statens Naturhistoriske Museum har vi for eksempel forskere, der arbejder med *eDNA* fra hvalhajer i Qatar, havpattedyr i Grønland og krebs fra vandløb. Samtidig ser vi et stigende antal invasive arter såsom stillehavsosters, sortmundet kutling og signalkrebs, der bliver direkte transporteret til vore vandmiljøer som følge af menneskelig aktivitet, f.eks. ballastvand eller udsætning.

Derfor har museets forskere sammen med en række andre institutioner sat sig for at udvikle artsspecifikke spring-systemer til at finde *eDNA* fra en række invasive arter, som potentielt kan blive en trussel imod natur eller erhverv. Vi ønsker at teste disse systemer på prøver fra udvalgte vandmiljøer, og sammenligne med data fra traditionelle opfisknings- og dykkerundersøgelser. Som reference for begge metoder kan vi bruge information om helt almindelige danske arter, f.eks. torsk, sild og makrel der allerede findes *eDNA*-sporingssystemer til.

**DELTA** Du og dine elever deltager ved at indsamle *eDNA* fra et havvandmiljø nær dig og sende *eDNA*-prøven ind til museet.

Prøven vil blive analyseret for *eDNA* fra almindelige og invasive arter af gymnasieelever i museets undervisningslaboratorium, DNAlab.

Hvis I selv ønsker at analysere jeres prøve, skal I booke et undervisningsforløb på [www.dnaogliv.dk](http://www.dnaogliv.dk), når vi åbner for tilmeldingen.

**INDSAMLING AF MILJØ-DNA** Indsamling af *eDNA*-prøven foretages ved at suge vand op i en stor sprøjte og presse vandet igennem et finmasket filter, som tilbageholder DNA. Vandet indsamles fra en enkelt lokalitet, hvor vandet er klart. Filteret dækkes efterfølgende med ethanol for at bevare DNA'et, lukkes med de tilhørende propper, og sendes straks til museet sammen med data om bl.a. indsamlingssted, dato og volumen vand filtreret. Proceduren gentages med endnu et filter, således at vi opnår to i princippet identiske prøver.

## UDSTYRSLISTE Alt hvad du skal bruge, finder du i kuverten:

- Denne vejledning til indsamling af *e*DNA med dataark for *e*DNA-prøven
- 50 mL sprøjte
- 2 stk. sterivex-filterenhed med en farvet og en ufarvet ende samt tilhørende propper
- 2 stk engangshandsker
- 2 stk 5 mL centrifugerør med 96 % ethanol
- 3 mL sprøjte
- Lynlåposer med mærkat til indsamlingsdata
- Frankeret svarkuvert til forsendelse af den indsamlede prøve

Medbring selv et termometer og en spand eller lignende til at opsamle vand i.

## VEJLEDNING TIL INDSAMLING AF MILJØ-DNA:

1. Find et indsamlingssted hvor vandet forekommer klarest. Jo bedre sigtbarhed, jo mere vand kan der filtreres, og jo større er odds for at kunne spore *e*DNA. Pålandsvind kan hurtigt forplumre vandet, og gøre det vanskeligt at indsamle en nogenlunde klar vandprøve. Giver vejrudsigten forvarsel om vindstille eller fralandsvind inden for den nærmeste fremtid, anbefales det kraftigt at vente til vejret er mest optimalt for indsamling.
2. For hver filtrering skal i alt 1500 mL havvand opsamles fra overfladen i en beholder, f.eks. en spand eller bægerglas, og filtreres. **Se foto 1.** Sørg for, at der ikke kommer større partikler som for eksempel alger med, da det kan blokere filteret. Sørg for at hænder og lignende ikke har kontakt med vandet.
3. Fra beholderen suges 50 mL vand op i den store 50 ml sprøjte.
4. Skru sprøjten fast på filterenhedens ufarvede ende. **Se foto 2.** Vær omhyggelig med at skrue den helt fast. Sprøjt de opsamlede 50 mL vand gennem filteret. Vandet skal ikke gemmes. **Se foto 3.**
5. Skru sprøjten af filterenheden. Sug på ny 50 mL vand op i sprøjten og sprøjt det på samme måde ud gennem filterenheden. Gentag dette, så der i alt sprøjtes **30x50mL havvand** gennem filteret. Filteret kan hurtigt

blokere, når der er mange partikler i vandet. Hvis det bliver meget hårdt at trykke stemplet ned kan du nøjes med færre gentagelser for ikke at ødelægge filteret. Notér den samlede mængde vand, der blev presset igennem filteret.

6. Efter endt vandfiltrering fyldes sprøjten med luft. Skru den tomme, luftfyldte sprøjte på igen, og tryk luft gennem filteret, så det sidste vand bliver presset ud og filteret tørrer. **Se foto 4.**
7. Luk filterenhedens ene, lille ende med den tilhørende, lille prop og fjern den store sprøjte.
8. Fyld den lille 3 ml sprøjte med 96% ethanol og sprøjt dette ind i filterenheden til filteret er dækket. Ethanolen skal blive i filteret. **Se foto 5.**
9. Sæt den store prop på den ufarvede ende af filterenheden og kassér ethanolrøret og den lille sprøjte. Det indsamlede DNA er nu fikseret på filteret og konserveret i ethanol. **Se foto 6.**
10. Læg filterenheden i lynlåsposen, og skriv data på label. Læg lynlåsposen med filterenhed i svarkuverten.
11. Gentag punkt 2-10 med filter nummer 2.
12. Udfyld dataark for *e*DNA-prøven (se bagerst). GPS-koordinaterne skal være i formatet decimalgrader og ligne disse: 55.687363, 12.577092. Koordinaterne findes via Google Maps ved at zoome ind på kortet, højreklikke på det præcise indsamlingssted og vælge ”What’s here?”(”Hvad er der her?”), hvormed der fremkommer der et lille vindue med et sæt geografiske koordinater.
13. Læg dataark og *e*DNA-prøver i svarkuverten og afsend den så hurtigt som muligt. Opbevar den i køleskab, indtil du kan sende den.
14. Send på forsendelsesdagen en mail til [dnalab@snm.ku.dk](mailto:dnalab@snm.ku.dk) med navn samt besked om, at prøven er på vej. Vedhæft meget gerne **fotos** fra indsamlingen.
15. Har du spørgsmål i forbindelse med prøvetagningen, så skriv til [dnalab@snm.ku.dk](mailto:dnalab@snm.ku.dk). Del gerne fotos på INSTAGRAM med [#dnaogliv](https://www.instagram.com/dnaogliv).

**TID OG STED** Prøverne fra havvand skal indsamles i sensommeren og det tidligere efterår. Indsamlingen kan ikke foretages under store algeopblomstringer, hvor der høje koncentrationer af alger i vandet.

Nedbrydningshastigheden for *eDNA* i vand er eksponentielt aftagende og er meget hurtig. Forsøg på SNM har vist at halveringstiden for indsamlet *eDNA* ved stuetemperatur kan være mindre end 8 timer.

**ANALYSE AF MILJØ-DNA** Udover at de indsamlede filtervandprøver bliver undersøgt for *eDNA*-forekomst fra udvalgte invasive arter vil vi også undersøge af en række almindelige arter fra ferskvand og havvand. Sporing af DNA fra de almindelige danske arter, vil nemlig give muligheden for, på et relativt simpelt plan, at sammenholde hyppigheden af *eDNA* forekomster fra hjemmehørende arter med ikkehjemmehørende, invasive arter.

Prøven vil blive undersøgt for *eDNA* fra følgende ikkehjemmehørende og hjemmehørende arter:

<b>Dansk navn</b>	<b>Videnskabeligt navn</b>
Amerikansk hummer	<i>Homarus americanus</i>
Amerikansk ribbegople	<i>Mnemiopsis leidyi</i>
Kamjatkakrabbe	<i>Paralithodes camtschaticus</i>
Kinesisk uldhåndskrabbe	<i>Eriocheir sinensis</i>
Nordamerikansk mudderkrabbe	<i>Rhithropanopeus harrisi</i>
Pukkellaks	<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>
Sandmusling	<i>Mya arenaria</i>
Sibirisk stør	<i>Acipenser baerii</i>
Skrubbe	<i>Platichthys flesus</i>
Sortmundet kutling	<i>Neogobius melanostomus</i>
Stillehavsøsters	<i>Crassostrea gigas</i>
Torsk	<i>Gadus morhua</i>

**LITTERATUR** Hvis du ønsker at læse mere om invasive arter og om eDNA, kan følgende bruges som inspiration:

Agersnap, S. et al., 2017. Monitoring of noble, signal and narrow-clawed crayfish using environmental DNA from freshwater samples. *PLOS ONE* 12, e0179261. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179261>

Sigsgaard, E.E. et al., 2017. Seawater environmental DNA reflects seasonality of a coastal fish community. *Marine Biology* 164, 128.

Thomsen, P.F. et al., 2012. Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples. *PLoS ONE* 7, 1–9. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0041732>.

Yamamoto, S. et al., 2016. Environmental DNA as a 'snapshot' of fish distribution: A case study of Japanese jack mackerel in Maizuru Bay, Sea of Japan. *PLoS One* 11, e0149786. Erratum in: *PLoS One* 2016 11, e0153291.

### **WEBLINKS:**

[Materialer og inspiration på DNA & livs hjemmeside](#)

[Handlingsplan mod invasive arter, juni 2017, Miljøstyrelsen](#)

[Hvalhajens genetik studeres med vandprøver](#)

[Dødslistede krebs kan nu lettere overvåges](#)

[Kasketot nr. 215, Invasive arter, maj 2017](#)

[Grønlands fisk kortlægges med dybhavs-DNA](#)

## QUICKGUIDE

1. Planlæg indsamlingssted og dag, og indsaml 1500mL havvand/500 ml ferskvand.
2. Filtrer først 50 ml vand og undgå større partikler/mudder
3. Gentag dette 30 gange for havvand eller gentag 10 gange for ferskvand, eller indtil det ikke længere er muligt at presse mere vand igennem filteret. Notér det vandvolumen, det lykkedes at presse igennem.
4. Sug luft ind i sprøjten og pres det sidste vand ud af filteret. Luk filteret i den lilla ende med tilhørende prop.
5. Sprøjt 96% ethanol ind i filteret og luk den anden ende med den sidste prop.
6. Læg filterenheden i lynlåsposen, som puttes i svarkuverten.
7. Udfyld dataark. Alle oplysninger skal udfyldes. Vedlæg dataark i svarkuverten og afsend den så hurtigt som muligt til museet
8. Giv os besked om, at prøven er på vej via [dnalab@snm.ku.dk](mailto:dnalab@snm.ku.dk)





1. Opsaml vand og sug op i 50 ml sprøjten
2. Sæt filteret på 50 mL sprøjten
3. Filtrer vand – gentag 30 gange for havvand og 10 gange for ferskvand
4. Pres det sidste vand ud af filteret
5. Skru prop på den lille ende og sprøjt ethanol i filteret
6. Skru prop på den anden ende





## DATAARK

<b>Lokalitet</b>
<b>Indsamlingsdato</b>
<b>Koordinater</b>

Koordinater skal ligne disse 55.687363, 12.577092

<b>Havvandsmiljø</b> (ydermole, industrihavn, strand m.v.)
<b>Filtreringsvolumen</b> (ml)
<b>Max dybde</b> (cm)
<b>Dybde hvor vandprøven er hentet</b> (cm)
<b>Vandtemperatur</b>
<b>Bundforhold/sediment</b> (sand, grus, mudder, blød/hård m.v.)
<b>Evt. observerede levende organismer</b>

<b>Institution</b> (skole)
<b>Navn</b> (lærer)
<b>Forventer I at analysere prøven selv</b>

