

# Overvågning af arter i havvand og ferskvand

[VEJLEDNING TIL INDSAMLING AF miljøDNA]



Miljø- og  
Fødevareministeriet  
Miljøstyrelsen

novo  
nordisk  
fonden

STATENS  
NATURHISTORISKE  
MUSEUM

KØBENHAVNS  
UNIVERSITET





**ARTERS DNA-SPOR** Anvendelsen af miljøDNA (også kaldet *environmental-DNA*, eller *eDNA*) fra vandmiljøer er et forskningsfelt i rivende udvikling. På Statens Naturhistoriske Museum arbejder forskerne med miljøDNA fra fisk i danske farvande, havpattedyr i Grønland og krebs fra vandløb.

Museets forskere vil, sammen med en række andre institutioner, bruge artsspecifikke sporings-systemer til at finde miljøDNA fra en række udvalgte arter der har særlig biologisk interesse. Vi ønsker at teste disse systemer på prøver fra vandmiljøer, og sammenligne med data fra traditionelle opfisknings- og dykkerundersøgelser. Som reference for begge metoder bruger vi information om helt almindelige danske arter, vi allerede har miljøDNA-sporingssystemer til.

**DELTAG** Du og dine elever deltager ved at indsamle miljøDNA fra et hav- eller ferskvandsmiljø nær dig og sende miljøDNA-prøven ind til museet.

Prøven bliver analyseret for miljøDNA fra udvalgte 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 MILJØDNA** Indsamling af miljøDNA-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 klarest. 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 med dataark til at registrere data om miljøDNA-prøven
- 1 stk 50 mL sprøjte
- 2 stk sterivex-filterenhed som hver har en farvet og en ufarvet ende
- 2 sæt propper til sterivex-filterenhederne
- 2 stk engangshandsker
- 2 stk rør med 96 % ethanol
- 1 stk 3 mL-sprøjte
- Lynlåposer med mærkat til indsamlingsdata
- Frankeret svarkuvert til forsendelse af den indsamlede prøve
- 2 stk pH-strips samt aflæsningskema

Medbring selv et termometer, en spand eller lignende til at opsamle vand i og evt. ekstra engangshandsker. Medbring også udstyr til at måle vanddybde (målestok, secchi-skive, målebånd, snor med lod eller lignende).

## UDSTYR DER ER I KITTET:



## UDSTYR DU SKAL HAVE MED:



## VEJLEDNING TIL INDSAMLING AF MILJØDNA:

Læs hele vejledningen igennem inden du begynder indsamlingen.

1. Find et indsamlingssted, hvor vandet forekommer klarest. Jo bedre sigtbarhed, jo mere vand kan der filtreres, og jo større chancen for at kunne spore miljøDNA. Pålandsvind kan hurtigt forplumre vandet, og gøre det vanskeligt at indsamle en klar vandprøve. Vindstille eller fralandsvind er mest optimalt vejr for indsamling.



2. 1500 mL havvand eller 500 mL ferskvand opsamles i en beholder (f.eks. en spand eller bægerglas) for hvert filter. **Se foto 1.** Sørg for, at der ikke kommer større partikler som for eksempel alger med, da det kan blokere filteret. Brug handsker ved opsamling og senere filtrering af vand



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** eller **10x50mL ferskvand** 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 (filtreringsvolumen), der blev presset gennem filteret.



6. Fyld nu 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 lille ende med den tilhørende lille, flade 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 svarkuerten.
11. Gentag punkt 2-10 med filter nummer 2.
12. Udfyld dataark for miljøDNA-prøven (se bagerst).
- Mål vandets pH-værdi og temperatur på indsamlingsstedet.
  - Mål vanddybde for indsamlingsstedet og for vandprøven.
  - Notér GPS-koordinaterne. De skal være i formatet decimalgrader og ligne disse: 55.687363, 12.577092. Koordinaterne findes via Google Maps ved at zoome ind på kortet, højre-klikke på det præcise indsamlingssted og vælge "What's here?" ("Hvad er der her?"), hvormed der fremkommer et lille vindue med et sæt geografiske koordinater.
  - Notér bundforhold/sediment og evt. observerede levende organismer.
13. Læg **kun dataark** og **filtre med miljøDNA** i svarkuerten og afsend den så hurtigt som muligt. Opbevar kuerten i fryseren (alternativ på køl), indtil du kan sende den. Kuerten skal afleveres i en almindelig PostNord-postkasse.
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 med [#dnaogliv](https://twitter.com/dnaogliv).

**TID OG STED** Prøverne fra skal indsamles i perioden april-maj 2022. Indsamlingen kan ikke foretages under store algeopblomstringer, hvor der høje koncentrationer af alger i vandet.

**ANALYSE AF MILJØDNA** De indsamlede filtervandprøver bliver undersøgt for miljøDNA-forekomst fra udvalgte arter fra ferskvand, brakvand og havvand. Analyserne udføres af gymnasielever. Sporing af miljøDNA vil give muligheden for at undersøge udbredelsen og sameksistens af bestemte arter som kan bruges i kortlægning af biodiversiteten.

Nogle af de arter, hvis miljøDNA vi analyserer for i vandprøver, er:

- Invasive arter: Amerikansk ribbegoble, signalkrebs eller karpe
- Toksiske arter: Furealger og Kiselalger
- Almindelige arter: Aborre, spættet sæl og almindelig sandmusling
- Sjældne arter: Flodkreb, lille- og stor vandsalamander
- ... og andre akvatiske arter

Analyserne skal bruges i følgende projekter:

**DNA og liv** vil i samarbejde med Miljøstyrelsen detektere udbredelsen af miljøDNA fra udvalgte invasive arter.

**DNA på FORKANT** vil i samarbejde med museets og KUs forskere Nina Lundholm, Morten Tange Olsen, Peter Rask Møller, Jørgen Olesen og Anders Tøttrup undersøge biodiversiteten i bl.a. danske fjorde. De vil bruge resultaterne til ny information om de enkelte arters udbredelse, samspillet imellem dem, og sammenhængene med klimaforandringer, næringsudledning, fiskeri og andre menneskelige påvirkninger.

**LITTERATUR** Hvis du ønsker at læse mere om miljøDNA, kan følgende bruges som inspiration:

Knudsen, S. W. et al., 2019. Species-specific detection and quantification of environmental DNA from marine fishes in the Baltic Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 510, 31-45.

Tøttrup, AP, Svenningsen, L, Rytter, M, Lillemark, MR, Møller, P, Knudsen, SW. 2021. Citizens in the Lab: Performance and Validation of eDNA Results. *Citizen Science: Theory and Practice*, 6(1): 35, pp. 1–12.

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.

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.

Thomsen, P.F. et al., 2012. Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples. *PLOS ONE* 7, 1–9.

### **WEBLINKS:**

(find denne vejledning og links på [www.dnaogliv.dk](http://www.dnaogliv.dk))

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

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

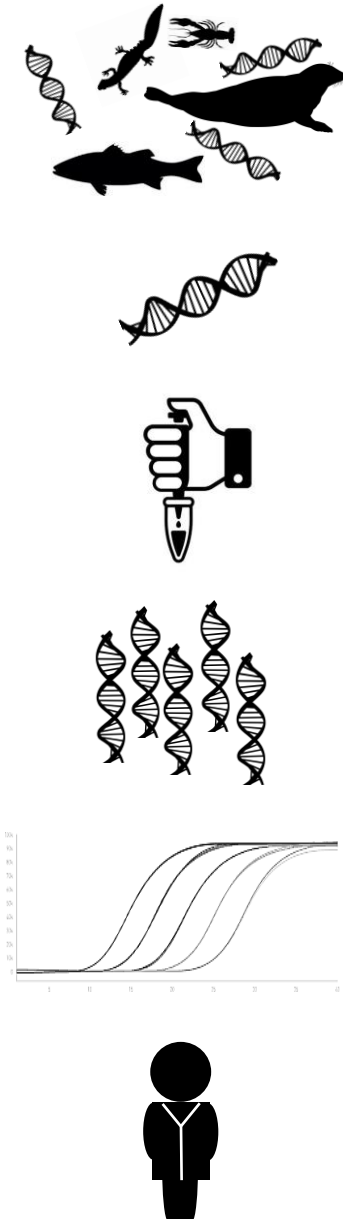
[Forskere hiver DNA ud af vandløb - og nu er de på sporet af nye insektarter i Danmark](#)

[Dødslistede krebs kan nu lettere overvåges](#)

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



## Videre forløb for jeres vandprøve:



Indsamling af miljøDNA



Ekstraktion af DNA  
fra filter



Laboratoriearbejde  
til real time PCR



Real time PCR



Dataanalyse



Resultater til forskerne





## DATAARK

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

Koordinater skal ligne disse 55.687363, 12.577092

<b>Vandmiljø</b> (ydermole, industrihavn, strand, navn på sø m.v.)
<b>Filtreringsvolumen</b> (mL)
<b>Vanddybde ved indsamlingssted</b> (cm)
<b>Indsamlingsdybde</b> (antal cm under vandoverflade, hvor prøven er indsamlet)
<b>Vandtemperatur</b>
<b>pH-værdi</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 til sommer/efteråret?</b>
<b>Evt. bemærkninger</b>

