

# Overvågning af arter i havvand og ferskvand

[VE]LEDNING TIL INDSAMLING AF miljøDNA]



Miljø- og  
Fødevareministeriet  
Miljøstyrelsen

DNA PÅ  
FORKANT

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 alt 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-sporingsystemer til.

**DELTA** Du og dine elever deltager ved at indsamle miljøDNA fra et vandmiljø nær dig. Prøven skal analyseres vha. real time PCR for miljøDNA fra udvalgte arter af gymnasieelever – enten i museets undervisningslaboratorium, DNAlab i København eller på et af de helt nye satellitlaboratorier på Herning Gymnasium og Hjørring Gymnasium.

I kittet med materialer til indsamling af miljøDNA-prøver er der tre filtre. To af filtrene skal beholdes af indsamleren selv, og medbringes til videre bearbejdning og analyse på enten Herning eller Hjørring Gymnasium. Det tredje filter skal sendes tilbage til Statens Naturhistoriske Museum i kittets medfølgende returkuvert.

**Hvis I ikke ønsker at analyserer jeres to egne filtre på Herning eller Hjørring Gymnasium skal alle tre filtre vedlægges i returkuverten.**

Hvis I ønsker at analysere jeres prøve i DNA & liv på Statens Naturhistoriske Museum, 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 med ethanol for at bevare DNA'et, lukkes propper, og data registreres for bl.a. indsamlingssted, dato og volumen vand filtreret.

## 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
- 3 stk sterivex-filterenhed som hver har en farvet og en ufarvet ende
- 3 sæt propper til sterivex-filterenhederne
- 3 stk rør med 96 % ethanol
- 2 stk engangshandsker
- 1 stk 3 mL-sprøjte
- 3 lynlåsposer med hvert sit prøvenr. og mærkat til indsamlingsdata. Bemærk at prøvenr. i posen skal blive i, og følge med filtret indtil senere ekstraktion.
- Frankeret svarkuvert til forsendelse af én af de indsamlede miljøDNA-prøver (eller til forsendelse af alle tre prøver, hvis I ikke ønsker at analysere de to resterende prøver selv på Herning eller Hjørring Gymnasium)
- 2 stk pH-strips samt aflæsningsskema
- 2 stk strips til salinitetsmåling

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:



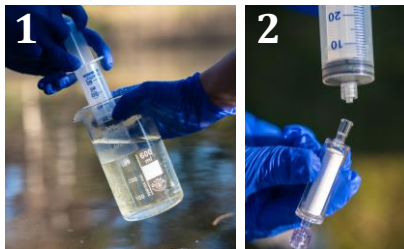
## UDSTYR DU SKAL HAVE MED:



## 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. Sørg for, at der ikke kommer større partikler som for eksempel alger med, da det kan blokere filteret. Brug handsker ved opsamling og senere filtering af vand



3. Fra beholderen suges 50 mL vand op i den store 50 mL sprøjte (**foto 1**).
4. Skru sprøjten fast på filterenhedens ufarvede ende (**foto 2 og 3**). Vær omhyggelig med at skru den helt fast. Sprøjt de opsamlede 50 mL vand gennem filteret. Vandet skal ikke gemmes (**foto 4**).
5. Skru sprøjten af filterenheden (**foto 5**). Sug på ny 50 mL vand op i sprøjten (**foto 1**) og sprøjt det på samme måde ud gennem filterenheden (**foto 2-4**). 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 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 (**foto 6**).



7. Luk filterenhedens største ende med den tilhørende lille, flade prop og fjern den store sprøjte (**foto 7**).
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 (**foto 8**).
9. Sæt den store prop (**foto 9a**) eller den hvide prop (**foto 9b**) (afhængig af hvilken prop der er i kittet) godt fast på den ufarvede ende af filterenheden og kassér ethanolrøret og sprøjte. DNA'et er nu fikseret i filteret og konserveret i ethanol.
10. Læg filterenheden i lynlåsposen, og skriv data på label.
11. Læg lynlåsposen med filterenheden i svarkuerten.
12. Gentag punkt 2-10 med filter nr. 2 og 3, og læg disse på frost.
13. Udfyld data for miljøDNA-prøven (se bagerst) via QR-koden.
  - a. Mål vandets pH-værdi, salinitet og temperatur på indsamlingsstedet.
  - b. Mål vanddybde for indsamlingsstedet og for vandprøven.
  - c. Notér GPS-koordinaterne. De skal være i formatet decimalgrader og lign 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.
  - d. Notér bundforhold/sediment og evt. observerede levende organismer.
14. Læg **kun dataark** og **ét filter med miljøDNA** i svarkuerten og afsend så hurtigt som muligt. Opbevar kuerten i fryseren (alternativ på køl), indtil du kan sende den. Kuerten skal afleveres i en almindelig PostNord-postkasse. De resterende to filtre skal I selv beholde på frys og medbringes til videre bearbejdning og analyse på satellitlaboratorierne (Herning eller Hjørring Gymnasium). **Hvis I ikke ønsker at analyserer jeres to egne filtre på et satellitlaboratorium, men derimod vil analysere dem i DNA & liv på Statens Naturhistoriske Museum, skal alle tre filtre vedlægges i returkuerten.**
15. 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.
16. 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 skal indsamles i marts-maj 2024. Indsamlingen kan ikke foretages under store algeopblomstringer, hvor der høje koncentrationer af alger i vandet.

Vintersæsonen er spændene at undersøge fordi der stadig er liv i vandet. Her finder man arter der ikke ville kunne spores i de andre sæsoner. Det er ligeledes spændene at undersøge, hvorvidt det er muligt stadig at finde miljøDNA fra almindelige arter, som er mindre hyppige om vinteren.

**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 og sortmundet kutling
- Toksiske arter: Furealger og stilkalger
- Almindelige arter: Aborre og Tre-pigget hundestejle
- Sjældne arter: Europæisk ål
- ... og andre akvatiske arter

De skal bruge resultaterne:

**DNA og liv** vil i samarbejde med artsportalen Arter udbygge kendskabet af udbredelsen for bestemte udvalgte arter, på baggrund af monitorering med miljøDNA.

**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.

**REGISTRERING AF ARTER** Brug tiden i felten på at finde arter i området.

Forskerne på København Universitet vil gerne vide hvad I finder når I er ude i felten. Tag billeder af alle de forskellige arter I finder - både planter, dyr, svampe, alger osv. Indberet jeres fund på hjemmesiden Arter.dk, som er Danmarks nationale artsdatabase og et nationalt fællesskab af naturinteresserede.

**ARTER** samler viden om Danmarks cirka 35.000 arter af dyr, planter og svampe og data er tilgængelige for forskere, naturforvaltere og andre naturinteresserede. Opret en profil på hjemmesiden og indmeld dine fund af arter. Herved hjælper du forskere og naturforvaltere med at holde styr på, hvilke vilde arter der findes i din have, altan eller i den lokale park eller skov. Opret en bruger via dette [www.arter.dk](http://www.arter.dk) og følg instruktionerne på hjemmesiden.



**ARTER AF SÆRLIG INTERESSE** alle observationer af arter er interessante og er med til at give viden om arters udbredelse på Arter. Dog er der nogle arter I gerne må holde øje med:

**SKARVEN** er naturligt hjemmehørende i Danmark. Den store sorte fugl har med sikkerhed været i landet allerede for 7000 år siden, og den er fredet i henhold til EU's fuglebeskyttelsesdirektiv. Alligevel er den upopulær blandt fiskere, bl.a. fordi den gør indhug i fangsten. Lovgivningen åbner dog allerede nu en række muligheder for at regulere den konfliktskabende fugl, der hvor den generer fiskeriet eller skader bestanden af sårbare eller truede fiskearter. Udbredelsen i Danmark af denne fugl er derfor særlig interessant.

**ODDEREN** var i slutningen af 1950'erne udbredt i det meste af Danmark. En undersøgelse fra 1980 viste, at den danske bestand var gået drastisk tilbage, og at der ikke længere levede oddere på Sjælland. Herefter blev der iværksat en række forvaltningsmæssige tiltag for at genetablere bestandene. Bestandsudviklingen har siden været positiv og odderen lever nu i store dele af Jylland. I 2007 fastslog DNA-analyser af prøver fra odderekskrementer, at der også stadig findes odder i Vestsjælland. Derfor er udbredelsen af odder særlig interessant at undersøge.



**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.

Knudsen, S. W., Hesselsøe, M., Rytter, M., Lillemark, M. R., Tøttrup, A. P., Rahbek, C., Sheard, J. K., Thomsen, P. F., Agersnap, S., Mortensen, P. B., & Møller, P. R. (2023). Detection of environmental DNA from amphibians in Northern Europe applied in citizen science. *Environmental DNA*, 00, 1–20.

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.

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](#)

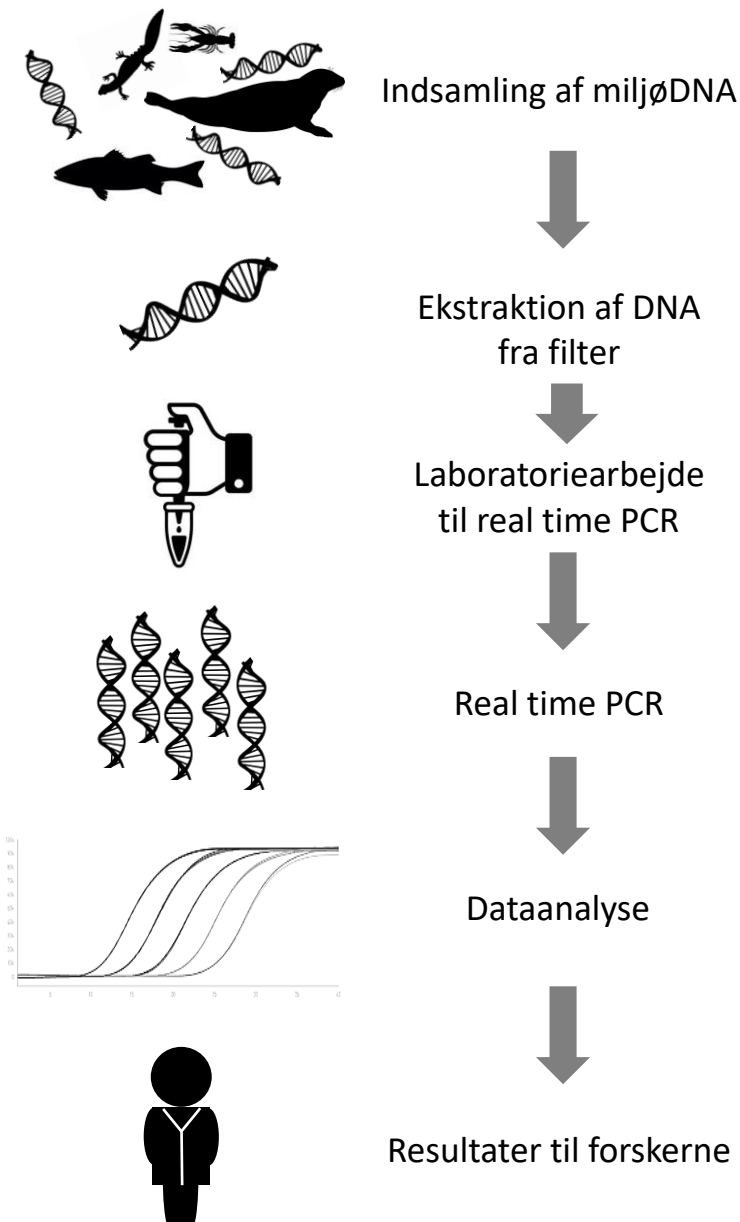
[Handlingsplan mod invasive arter, juni 2017, Miljøstyrelsen](#)

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

[Dødslistede krebs kan nu lettere overvåges](#)

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

## Videre forløb for jeres vandprøve:



**OBS!** Data skal registreres på dette ark **OG** digitalt via QR-koden. Arket vedlægges ét af filtrene som sendes til museet i returkuverten.



## Dataark



**Prøvenr. for de tre filtre** (Skal være i formatet DL2024...)

**Lokalitet**

**Indsamlingsdato**

**Koordinater for indsamlingssted**

Koordinater skal ligne disse: 55.687363, 12.577092

**Vandmiljø** (ydermole, industrihavn, strand, navn på sø m.v.)

**Filtreringsvolumen** (mL)

**Vanddybde ved indsamlingssted** (cm)

**Indsamlingsdybde** (antal cm under vandoverflade, hvor prøven er indsamlet)

**Vandtemperatur**

**pH-værdi**

**Salinitet** (mg/L):

**Bundforhold/sediment** (sand, grus, mudder, blød/hård m.v.)

**Evt. observerede levende organismer**

**Institution** (skole)

**Navn** (lærer)

**Forventer I at analysere prøven selv?** Hvis ja, sæt ring for sted:  
Hjørring Gymnasium / Herning Gymnasium / DNA & liv i København

**Evt. bemærkninger**