

# MiljøDNA: På jagt efter spor af liv

Af Marie Rathcke Lillemark

Tilstanden i dansk natur, sammensætningen og dynamikkerne i økosystemerne og overblikket over hvilke naturområder og arter vi skal beskytte i fremtiden er vigtige spørgsmål, som først og fremmest kræver viden og data for at blive besvaret. Analyse af miljø-DNA er et nyt redskab i forskning, naturovervågning og -bevarelse, som i løbet af de seneste fem år, har udviklet sig til en lovende teknologi, der potentielt kan give hurtige, præcise og billige svar på hvilke arter, der lever i et område. Metoden indeholder både store perspektiver, men også faldgruber, udfordringer og helt nye og endnu ikke udforskede muligheder.

Hvad kan en flagermuslort fortælle os om skadedyr i afgrøder? Kan vi tælle antallet af hvalhajer i 1.5L vand? Og kan helt almindelige gymnasieelever skaffe ny viden om miljøfølsomme arter af frøer og andre padder? Vi har talt med to førende forskere indenfor miljø-DNA-feltet, og giver her et indblik i, hvor langt forskning og anvendelse af miljø-DNA er i dag.

## Miljø-DNA er spor af liv

Miljø-DNA eller *e*DNA (environmental DNA) er DNA som organismer afgiver til deres miljø. En *e*DNA-prøve kan være fra et hvilket som helst miljø, fx jord, sediment, vand, is, sne og luft. Den kan også stamme fra fordøjet føde, fx lort fra insektspisende flagermus eller blod fra iglemaver. Det er altså ikke DNA, som er hentet fra væv eller andet materiale direkte fra en organisme, men derimod udskilt med urin, fæces, hudceller, blade, skæl, fjer, hår, slim, kønsceller eller fra døde individer. Alt dette materiale efterlader DNA-spor i miljøet; spor der kan afsløre hvilke organis-

mer, der lever eller har levet i området. Det kan lade sig gøre fordi livets kode står skrevet DNA'et, nemlig de 4 bogstaver A, C, T og G der udgør opskriften for hver enkelt art og hvert enkelt individ. Mængden af udskilt miljø-DNA er afhængig af organismens alder, levevis, aktivitetsniveau og livscyklus.

Når DNA'et er udskilt fra den levende organisme, er det ikke længere beskyttet af fysisk/kemiske barrierer og reparationsprocesser i cellen. Frit DNA i miljøet vil med tiden blive nedbrudt af fx UV-stråling og mikrobiel omsætning. Alt efter hvilke forhold DNA'et befinder sig under, bliver det bevaret lige fra få dage eller uger til titusindvis af år, måske endda endnu længere. Analyser af *e*DNA kan derfor bruges til at give alt fra et øjebliksbillede af et nuværende naturområde til information om forhistoriske økosystemer og uddøde arter, som vi end ikke finder fossiler af.

## En revolution indenfor mikrobiologi

Selvom *e*DNA for alvor har udviklet sig indenfor de seneste fem år, er udnyttelsen af

information fra DNA i miljøprøver faktisk noget, man har arbejdet med indenfor mikrobiologi helt tilbage til 1980'erne og '90'erne. Dengang brugte man dog ikke begrebet *eDNA*, men kaldte det *soilsamples* og *environmental microbiology*. Forskerne havde på det tidspunkt en fornemmelse af, at der var langt flere bakterier i for eksempel jordprøver, end man kunne dyrke på vækstmedier i en petriskål. Da man fik sekvenseringsteknologien, blev det muligt at undersøge det ved at sekvensere DNA fra jordprøver og senere også vandprøver. Det viste sig ganske rigtigt, at de traditionelle dyrkningsteknikker havde underestimeret diversiteten, og at de nye metoder afslørede, at der var væsentlig flere former for bakterier, end man havde kendt tidligere. I dag regner man med, at det kun er 5% af mikroorganismene vi kan fremdyrke.

### Oldgammelt DNA

Nogle af de første undersøgelser af miljø-DNA fra større organismer fokuserede på gammelt DNA eller *ancient DNA* (*aDNA*). Allerede i 2003 lykkedes det således Eske Willerslev og hans forskerhold at analysere velbevaret DNA-fragmenter i 10.000-400.000 år gamle permafrostkerne fra Sibirien og på den måde beskrive hele biologiske samfund fra den tid. Dette gjaldt flere arter af store dyr, såsom mammut, hest og bison, som stemte overens med tidligere fund af fossiler. Mere overraskende fandt man også DNA fra planter som mosser, græsser og urter, der ikke var kendt fra fossile vidnesbyrd. Siden har Willerslev og hans kolleger fundet DNA-beviser i iskerneboringer, at der har været frodige skove med birk og fyr i det sydlige Grønland, hvor der i dag er et 2 km tykt islag

I de følgende år fulgte studier, som undersøgte *eDNA* i vand for blandt andet at påvise fæcesforurening og monitorere den invasive art Amerikansk oksefrø i Frankrig. I 2012 kom et gennembrud for *eDNA*-feltet, da Philip Francis Thomsen og hans kolleger på Sta-

tens Naturhistoriske Museum viste, hvordan der i et lille glas søvand gemte sig DNA, der potentielt kunne beskrive alle tilstedeværende arter i søen. Samme år tilpassede de metoden til undersøgelser af *eDNA* fra havvand, som siden da er udviklet i mange retninger til at man i dag undersøger fx populationssammensætninger af hvalhajer verden over ved hjælp af *eDNA*.

### Citizen science – borgerinddragelse

Metoderne til at undersøge DNA bliver konstant bedre, billigere, hurtigere og mere sikre og effektive. Forskere som Kristine Bohmann har specialiseret sig i netop at udvikle, forbedre og dele DNA-metoder til gavn for hele forskningsfeltet. En undersøgelse af *eDNA* består af flere trin, som hver for sig kan tilpasses og optimeres alt efter målet for det enkelte studie. Undersøgelsen vil typisk omfatte indsamling, ekstraktion, opformering og dataanalyse.

Indsamlingen af *eDNA* foregår naturligvis i felten på det sted, man ønsker at undersøge. Det er afgørende med en solid grundviden om biologien for den eller de relevante organismer. Herved kan sæson, tidspunkt, geografi og placering for indsamlingen nemlig tilrettelægges, så der er størst mulig sandsynlighed for at finde DNA fra arten eller arterne og undgå falsk-negative resultater. Selve indsamlingen kan derimod standardiseres og gøres så enkel, at helt almindelige borgere kan foretage den på egen hånd. Indsamlingen af *eDNA* kræver nemlig hverken artskenndskab, dyrt udstyr eller avancerede metoder. Ved hjælp af en sprøjte, et lille filter og en gåtur kan man fx indsamle *eDNA* fra en sø. Derfor er *eDNA* oplagt til såkaldte citizen science-projekter, hvor dele af det arbejde, der traditionelt ligger hos forskere og myndigheder lægges ud til borgerne. I England har man arbejdet med sådanne projekter i flere år, og benyttet borgere til fx at overvåge udbredelsen af stor vandsalamander. Statens Naturhistoriske Museum har taget

skridtet videre og undersøger i samarbejde med landets gymnasieelever de eDNA for en række forskellige ferskvandsorganismer, som fisk, insekter og padder.

### **Fremtiden går også i gummistøvler**

Efter prøven er indsamlet, skal den opbevares under forhold der sikrer, at nedbrydning af DNA stoppes. Det kan være ved nedfrysning eller opbevaring i konserverende væske, for eksempel ethanol. DNA skal herefter ekstraheres fra den indsamlede prøve og opformeres ved hjælp af PCR. Det kan gøres på forskellig vis alt efter formålet med undersøgelsen, og giver forskellige mængder og typer af data, som herefter sammenlignes med DNA fra kendte arter. Kendskabet til intraspecifik variation og dermed artsafgrænsning varierer meget arterne imellem, og der er et stort krav til kvaliteten og troværdigheden af en DNA-referencedatabase, som forskerne kan sammenligne deres resultater med. Det er et af de områder, man arbejder på at forbedre for bedre at kunne forstå, udnytte og tolke analyser af eDNA i fremtiden. en afsluttende dataanalyse stiller i alle tilfælde krav til oversættelsen af sekvenser til arter og efterfølgende til en sidstebehandling af data hos trænedede taksonomer og økologer, så undersøgelsen kan munde ud i meningsfulde, handlingsorienterede anbefalinger. Den klassiske gummistøvlebiolog er derfor uundværlig i arbejdet med eDNA.

### **[Referencer]**

- Biggs, J., Ewald, N., Valentini, A., Gaboriaud, C., Dejean, T., Griffiths, R. A., Foster, J., Wilkinson, J. W., Arnell, A., Brotherton, P., Williams, P., and Dunn, F. 2015. Using eDNA to develop a national citizen science-based monitoring programme for the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Biological Conservation* **183**: 19-28.
- Bohmann, K., Evans, A., Gilbert, M. T. P., Carvalho, G. R., Creer, S., Knapp, M., Yu, D. W., and de Bruyn, M. 2014. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology & Evolution* **29**: 358-367.
- Deiner K, Renshaw MA, Li Y, Olds BP, Lodge DM, Pfrender ME. 2017. Long-range PCR allows sequencing of mitochondrial genomes from environmental DNA. *Methods Ecol Evol.***00**:1–11.
- Dejean, T., Valentini, A., Duparc, A., Pellier-Cuit, S., Pompanon, F., Taberlet, P., and Miaud, C. 2011. Persistence of Environmental DNA in Freshwater Ecosystems. *Plos One* **6**: Article No.: e23398.
- Ficetola, G. F., Miaud, C., Pompanon, F., and Taberlet, P. 2008. Species detection using environmental DNA from water samples. *Biol Lett* **4**: 423-425.
- Thomsen, P. F., Kielgast, J., Iversen, L. L., Moller, P. R., Rasmussen, M., and Willerslev, E. 2012a. Detection of a Diverse Marine Fish Fauna Using Environmental DNA from Seawater Samples. *Plos One* **7**: Article No.: e41732.
- Thomsen, P. F., Kielgast, J., Iversen, L. L., Wiuf, C., Rasmussen, M., Gilbert, M. T. P., Orlando, L., and Willerslev, E. 2012b. Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Molecular Ecology* **21**: 2565-2573.
- Thomsen, P. F., and Willerslev, E. 2015. Environmental DNA - An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation* **183**: 4-18.
- Willerslev, E., Hansen, A. J., Binladen, J., Brand, T. B., Gilbert, M. T. P., Shapiro, B., Bunce, M., Wiuf, C., Gilichinsky, D. A., and Cooper, A. 2003. Diverse plant and animal genetic records from Holocene and pleistocene sediments. *Science (Washington D C)* **300**: 791-795.