

# Utformning av miljöövervakningsprogram för Gotland via eDNA



Foto: Ireå, Martin Andersson-Li

Rapport av: Martin Andersson-Li & Kajsa Weslien

STOCKHOLM, 06-2021

**Beställare:**

Länsstyrelsen Gotland 2021 utförd av AquaBiota Water Research.

**Kontaktinformation:**

AquaBiota Water Research

Adress: Sveavägen 159, 113 46 Stockholm

Tel: +46 8 522 302 40

Mail: [info@aquabiota.se](mailto:info@aquabiota.se)

[www.aquabiota.se](http://www.aquabiota.se)

**Distribution: Fri**

**Internetversion:**

Nedladdningsbar hos [www.aquabiota.se](http://www.aquabiota.se)

**Citera som:**

Ämnesord: kräftpest, qPRC, probe, primer, eDNA.

AquaBiota Report 2021:03

Projektnummer: 2020006

ISBN: 978-91-89085-18-3

ISSN: 1654-7225

© AquaBiota Water Research 2021



## Innehåll

Sammanfattning.....	5
1. Bakgrund.....	6
1.1. Flodkräfta historik.....	6
1.2. Flodkräfta nuläge .....	6
1.3. eDNA .....	7
2. Metodik och resultat.....	8
2.1. eDNA-lokaler .....	8
2.2. eDNA-lokaler för nyanlagda vattenytor.....	10
3. Diskussion och riktlinjer .....	13
3.1. Riktlinjer för provtagning av kräftor via eDNA.....	13
3.2. Riktlinjer och kostnader för MÖ via eDNA.....	14
3.3. Överblick.....	15

## SAMMANFATTNING

eDNA (environmental DNA) har under det senaste decenniet visat sig vara ett lovande verktyg för inventering av vattenorganismer inom miljöövervakning och andra miljöundersökningar. Undersökningsmetoden baserar sig på det faktum att alla levande organismer, både växter och djur, kontinuerligt avger genetiska avtryck i miljön i form av slem, avföring, svett och döda celler. Dessa genetiska spår kallas eDNA. Akvatiskt eDNA är spåren som organismer avger i vattenmiljön. eDNA kan utvinnas ur små mängder vatten och genom molekylära analyser ange vilka arter som befinner sig inom ett område utan att man vare sig ser eller fångar organismen. Eftersom eDNA i vattenmassan är kortlivat ger analyserna en bild av artförekomst i nutid.

AquaBiota har på uppdrag av Länsstyrelsen Gotland utformat ett miljöövervakningsprogram (MÖ-program) för Gotland via eDNA, med fokus på inventeringen av flodkräfta (*Astacus astacus*) signalkräfta (*Pacifastacus leniusculus*) och kräftpest (*Aphanomyces astaci*).

Flertal faktorer har sammanvägts i utformning av MÖ-programmet, så som storlek på vattennätverk, vattenareal, skydd av livskraftiga kräftbestånd, risk för introduktion av kräftpest, förekomst av skyddade områden, förekomst av skyddsvärda arter, geografisk representation av öns avrinningsområden, vandringshinder samt tid- och resurseffektivitet. Dessa inkluderar

Maximal täckning av Gotlands vattennätverk har haft en särskild tyngd i programmets utformning, vilket gör provpunkterna lämpliga för inventering av en stor räckvidd av akvatiska och terrestra organismer. Utöver dessa provtagningspunkter rekommenderas även en särskild inventering av nyanlagda vattenytor i syfte att få en överblick av nyetablerade flodkräftbestånd samt upptäckt av tidiga introduktioner av signalkräfta.

# 1. BAKGRUND

## 1.1. Flodkräfta historik

I denna rapport sammanställs riktlinjer för ett miljöövervakningsprogram åt Länsstyrelsen Gotland via eDNA. Programmet utvecklades primärt för övervakning av kräftor och kräftpest.

Algsvampen som orsakar kräftpest, *Aphanomyces astaci*, är ursprungligen från Nordamerika där den lever som obligat parasit på sötvattenskräftor (Söderhäll & Cerenius, 1999). 1859 spreds kräftpesten till Italien och därefter vidare i Europa. De europiska kräftpopulationerna saknade de immunologiska försvarsmekanismer som nordamerikanska kräftor utvecklat i deras evolutionära kapprustning mot kräftpesten, vilket lede till att Europas kräftpopulationerna kraftigt decimerades. Kräftpest upptäcktes första gången i Sverige 1907, då den orsakade utrotningen av flodkräftpopulationerna i Mälaren och Hjälmaren. Nedgången för flodkräftan i södra Sverige fortsatte under den första halvan av 1900-talet till följd av kräftpesten samt ökad förurning och vattenreglering. Nedgången påverkade även det kulturellt och ekonomiskt viktiga kräftfisket, vilket föranledde beslutet att introducera signalkräftan i Sverige 1960.

Signalkräftan var känd som en resistent art mot kräftpesten och först efter dess introduktion upptäcktes det att signalkräftan asymtomatiskt var en bärare av kräftpesten. Kräftpesten som tidigare svept genom populationer för att sedan upphöra (till följd av lokal utrotning av flodkräftan) blev ett permanent inslag som omintetgjorde möjligheten för flodkräfta att återkolonisera. Detta bidrog till att antalet lokaler för flodkräfta i Sverige sjönk med 97% under 1900-talet från över 30.000 till cirka 1.000 (Åtgärdsprogram för flodkräfta 2008-2013).

## 1.2. Flodkräfta nuläge

Flodkräftan är akut hotad inom samtliga län enligt den svenska rödlistan 2020 och återfinns bara i 300 isolerade lokaler i söder om Dalälven. I södra Sverige återfinns flodkräftan endast långt upp i vattennätverken där vandringshinder förhindrat spridningen av kräftpest (Riskanalys för signalkräfta, 2017). Vidare har flodkräftan ofta fördrivits till sämre kräftvatten, då risken för naturlig spridning och medveten inplantering av signalkräfta är lägre i dessa lokaler.

I norra Sverige dominerar fortsatt flodkräftan över signalkräftan. Dels för ingen utsättning av signalkräfta beviljats norr om Gästrikland och Dalarna, dels för att den har svårt att etablera sig i klimatet. Flertal illegala utplanteringar har dock påträffats betydligt längre norrut i Sverige (Riskanalys för signalkräfta, 2017).

I södra delen av Sverige är Gotland det enda länet som helt saknar signalkräfta och där flodkräftan förekommer allmänt. Större vatten där flodkräftan förekommer rikligt är exempelvis Ireå och Bästeträsk. Förutom i större vattenobjekt ska enligt utsago lokala populationer av flodkräfta förekomma i majoriteten av Gotlands dammar, vilket skulle innefatta hundratals lokaler (Rolf Gydemo muntl.).

Gotlands län är också skyddsområden för flodkräfta, vilket ger Länsstyrelsen långtgående befogenhet att skydda arten. Olaglig inplantering av signalkräfta har förekommit vid flera tillfällen på Gotland, men har då framgångsrikt utrotats med bekämpningsmedlet deltamethrin, senast 2011. Denna typ av åtgärd förutsätter dock att förekomst av signalkräfta och kräftpest endast förekommer inom mindre välavgränsade områden, vilket pekar på vikten av tidig upptäckt. Då screening av arter via eDNA i större geografiska områden är mycket tids- och kostnadseffektivt, lämpar sig tekniken särskilt väl i spårning av såväl skyddsvärda som invasiva arter. Således bedömer vi att miljöövervakning via eDNA kan komma att bli ett viktigt komplement till det fortsatta skyddet av flodkräftan.

### 1.3. eDNA

Undersökningsmetoden miljö-DNA eller eDNA baserar sig på det faktum att alla levande organismer, både växter och djur, kontinuerligt avger genetiska fotavtryck i miljön i form av slem, avföring, respiration, svett och döda celler (Pedersen m.fl. 2015). Definitionen på eDNA anges som; "det DNA som kan studeras från dessa spår i miljön utan att målorganismen är närvarande i provet" (Taberlet m.fl. 2012). I akvatiska miljöer kan detta material utvinnas ur små mängder vatten och genom molekyllära analyser påvisa vilka arter som befinner sig inom ett område, utan att man vare sig ser eller fångar organismen. Eftersom eDNA i vattenmassan är kortlivat (ca. 2 dagar till 2 veckor) ger analyserna en bild av artförekomst i nutid. eDNA har visat sig ha en stor potential som verktyg för inventering av vattenorganismer (Bohmann m.fl. 2014, Leese m.fl. 2016, Olds m.fl. 2016, Deiner m.fl. 2017) och har en stor fördel vid inventering av skyddsvärda arter så som flodkräftan.

Två metoder dominerar eDNA-undersökningar, qPCR och metabarcoding (Strand et al. 2014, Shaw et al. 2016). Provtagningen, lagring och DNA-extraktionen är motsvarande för de två metoderna, vilket möjliggör en växling mellan metoderna vid behov. För undersökning av kräftpopulationer rekommenderar vi qPCR metodiken, främst för att den tenderar att vara billigare vid inventeringen av ett fåtal antal arter (se vidare under riktlinjer för genomförande).



## 2. METODIK OCH RESULTAT

Vid framtagning av lokaler för eDNA-provtagningen delades lokalerna in i två primära kategorier, eDNA-lokaler i öppna vattensystem och eDNA-lokaler för nyanlagda vattenytor. Orsaken till separeringen är att de två skiljer sig tydligt vad gäller både karaktär, möjligheter och risker.

De förekomster av signalkräfta som påträffats på Gotland visar att dammar utgör högriskobjekt och att etableringen där skett via människor (Rolf Gydemo muntl., Kräftdatabasen 2021). Således är det av stor vikt att dessa provtas, särskilt nyanlagda vattenytor där sannolikheten är hög för nyinplanterade bestånd. Risken för spridning från lokalen tenderar dock vara förhållandevis låg, vilket gör förekomsten av kräftpest eller signalkräfta i dessa lokaler mindre akut.

Undersökning av Gotlands öppna vattensystem ger oss information om tillståndet för öns naturliga flodkräftbestånd och ger även en möjlighet att screena Gotland för förekomst av kräftpest. Sannolikheten för förekomst är förvisso låg, men samtidigt vore konsekvenserna av kräftpest synnerligen allvarliga, och möjligheten att begränsa spridningen är vidare avhängd på tidig detektion. Genom att årligen samla in prover i de större vattensystemen skapas också en möjlighet för Länsstyrelsen Gotland att flexibelt och reaktivt kunna förändra sin miljöövervakning vid behov. Exempelvis kan de välja att överblicka öns vertebratpopulationer eller titta efter en rödlistad art som rapporterats i ett avrinningsområde.

### 2.1. eDNA-lokaler

eDNA-punkter togs fram via en kombination av analyser och manuella avvägningar. Totalt selekterades 60 lokaler för eDNA-provtagning (figur 1). Inledningsvis gjordes en nätverksanalys för alla större vattendrag och sjöar som var inkluderade i Svenskt vattenarkiv 2016 (SVAR). Vattendrag och sjöar sammanlänkades för att sedan splittras utifrån förekomster av vattenhinder som hämtades från biotopkarteringsdatabasen samt det svenska dammregistret. De 20 största vattennätverken i fråga om arealvattenyta och vattendragens längd valdes därefter ut. När det fanns flera vattennätverk av motsvarande omfattning prioriterades vattennätverk i områden med mindre geografisk täckning.

Därefter vägdes parametrar så som täthet av flodkräftbestånd, förekomst av skyddad natur, frekvens av sportfiske (introduktionsrisk för kräftpest) och framkomlighet från vägnätet. Slutligen prioriterades lokaler från områden som lyfts fram av den tidigare länsfiskekonsulenten Rolf Gydemo. Lokalerna placerades därefter ut med syfte att ge maximal geografisk täckning per insamlat prov.

## Rekommenderade eDNA-lokaler för miljöövervakning



**Figur 1.** Lokaler för generell eDNA-provtagning. Lokalerna valdes primärt med syftet att inventera och övervaka kräfter och kräftpest. Insamlade eDNA-prover från lokalerna kan vid behov även nyttjas för inventering av en bred räckvidd av organismgrupper.



## 2.2. eDNA-lokaler för nyanlagda vattenytor

Nyanlagda vattenytor (figur 2) identifierades via granskning av ortofoton över Gotland mellan 2009 och 2018. När en ny vattenyta upptäcktes validerades den i första hand genom jämförelse mot den nya Nationella Marktäckedata (NMD), och sekundärt mot kartor från Google Earth Satellite och OpenStreetMap. Om en vattenkropp bedömdes som permanent och av en rimlig storlek för att hysa kräfter markerades den för eDNA-provtagning. Totalt detekterades 48 nya vattenytor där vi rekommenderar eDNA-provtagning. En relativt stor andel av dessa nya vattenytor utgjordes av (till synes) bevattningsdammar och vattenfyllningar vid kalkbrott. Vi övervägde att göra ett urval av vattenytor utifrån deras bedömda användningsområde, men efter diskussioner med Rolf Gydemo tog vi beslutet att det är svårt att säkerställa en lokal som "orimlig" för kräftbestånd. Således tog vi beslutet att inkludera alla nya permanenta vattenytor.

## eDNA-screening för kräftor i nyanlagda vattenytor (2009-2019)



**Figur 2.** Lokaler för screening av nyanlagda vattenytor. Syftet med urvalet var primärt att identifiera områden med hög sannolikhet för nyinplantering av signalkräfter.

Slutligen selekterades även lokaler som lämpades sig för provtagning av flodnejonöga, utifrån vattendrag med känd förekomst och inrapporterade data till artfakta. Provpunkter för flodnejonöga är ett urval från övriga eDNA-lokaler, och kan därför inkluderas som en del av den löpande provtagningen.



**Figur 3.** Rekommenderade provtagningslokaler för Nejonöga.

Kustnära provpunkter inkluderas inte utredningen, då dessa generellt sett förutsätter en annan logistik än landprovtagning. Om intresse finns för undersökningar av svartmunnad smörbult kan prover sannolikt tas relativt slumpmässigt längs med Gotlandskusten. Under snorkling vid norra Gotland 2021 såg AquaBiotas inventerare (Nicklas Wijkmark) Svartmunnad smörbult vid flera tillfällen, och arten har tidigare rapporterats runt Gotland vid flera tillfällen (Havet.nu, 2021). Vid eDNA-inventeringar av det öppna havsområdet väster och norr om Gotland har däremot Svartmunnad smörbult saknats (AquaBiota 2020, opublicerad), då arten tenderar att uppehålla sig vid kustområden. Andra alternativ är att inventera för Svartmunnad smörbult i vattendrag som är öppna

mot havet, då svartmunnad smörbult även förekommer i sötvattensmiljöer (Havet.nu, 2021).

## 3. DISKUSSION OCH RIKTLINJER

### 3.1. Riktlinjer för provtagning av kräftor via eDNA

För analys av kräftor och kräftpest rekommenderar vi qPCR, då tekniken har högre detektionsförmåga och är ett billigare alternativ för målgruppen. Detta då det är relativt få arter som undersöks samt att det finns flera färdigutvecklade primers (genetisk-markör) och prober (fluorescerande sekvens som ökar metodens artspecifitet och möjliggör kvantitativ bedömning) för nämnda arter (Tabell 1).

**Tabell 1.** qPCR-primer och probe för flod- och signalkräfta (Agersnap et al. 2017) samt kräftpest (Vrålstad et al. 2009). Målområdet för kräftor är den mitokondriella genen cytochrome oxidase 1 (COI) och för kräftpest är det kärn-DNA regionen "internal transcribed spacer" (ITS).

Art	<i>Astacus astacus</i>	<i>Pacifastacus leniusculus</i>	<i>Aphanomyces astaci</i>
Gen	COI	COI	ITS
Amplicon	65 bp	65 bp	58 bp
Forward-primer (5'-3')	GATTAGAGGAATAGTAGAGAG	AACTAGAGGAATAGTTGAAAG	AAGGCTTGCTGGGATGTT
Reverse-primer (3'-5')	CTGATGCTAAAGGGGGATAA	FAM-GGAGTGGGTACTGGATGAACTBHQ1	CTTCTTGCGAAACCTTCTGCTA
Probe (5'-3')	FAM-AGGAGTAGGGACAGGATGAACTBHQ1	CCGCTGCTAGAGGAGGATAA	FAM-TTCGGGACGACCC-MGBNFQ

Förutom valet av lokaler och eDNA-teknik är det viktigt att ta i beaktande när och hur proverna samlas in. I fråga om kontamineringsrisk är problematiken mindre när det kommer till provtagning av kräftor och kräftpest, då primern och proben troligen har en begränsad möjlighet att binda till mänskligt DNA. Den största risken är sannolikt om provtagaren varit i närheten av kräftor (även kokta), kräftfiskeutrustning, ätit kräftor eller om detta har förekommit i fordonet för provtagning. Vidare är det viktigt att provtagaren genomför provtagningen sterilt för att inte orsaka en kors-kontaminering mellan lokaler, vilket skulle resultera i falska fyndförekomster. Den större utmaningen är dock att maximera sannolikheten för fynd. Under majoriteten av året släpper kräftor ifrån sig mycket begränsade mängder DNA-partiklar, med undantag för leksäsong och skalömsning. För kräftpest finns ett snarlikt problem då primers för kräftpest riktas mot en region i deras kärn-DNA, vilket förekommer i betydligt lägre koncentration jämfört med mitokondriellt-DNA.

Utifrån diskussioner med Centrum för genetisk identifiering (CGI) som tidigare har analyserat kräftor och kräftpest via qPCR så framkom det att "förekomst" hade en hög säkerhet medan "frånvaro" hade en relativt låg säkerhet. Detta är en följd av ovan nämnda faktorer och innebär att kräftbestånd lätt kan missas.

Det finns dock ett antal steg för att maximera sannolikheten för fynd. Exempelvis rekommenderas inventering under sommaren, då den ökade tillväxttakten leder till flera eDNA-partiklar i vattenmassa från kräftor och kräftpest. Vidare kan provtagningen tajmas så att den äger rum samtidigt, alternativt strax efter, skalömsning. När första skalömsningen sker varierar beroende på temperatur, men sker oftast i juni för hanar i södra Sverige (Nyström et al. 2018). Detta matchar också relativt väl tiden då kräftynglen kläcks (Nyström et al. 2018) vilket kommer innebära en större mängd partiklar i vattnet till följd av ökad biomassa, ynglens frekventa skalömsning och det starka predationstrycket mot dem. För att kunna tajma provtagningen optimalt i dessa avseenden rekommenderar vi en dialog med kräftodlare på Gotland inför provtagningssäsongen. I övrigt bör hänsyn tas till att provet tas i samma vattenskikt som kräftorna och att provtagningsmetoden maximerar mängden filtrerat vatten, vilket uppnås via optimering av filtreringsteknik och filtertyp. Vid diskussion med CGI rekommenderades även återkommande provtagning av samma lokal under en säsong. Detta är förstås optimalt, men förutsätter en markant ökning i tid och resursförbrukning per lokal som undersöks.

### 3.2. Riktlinjer och kostnader för MÖ via eDNA

Tillvägagångssätt för hur ett miljöövervakningsprogram med eDNA bedrivs beror förstås på en mängd olika faktorer, men framför allt budget och målsättning. Då detta kommer ändras över tid ger vi här bara generella riktlinjer i fråga om möjligheter och kostnader.

Inom denna utredning föreslogs totalt 108 lokaler, av vilka 48 gäller screening av nya vattenytor. Efter att det första provet analyserat för signal- och flodkräfta bland "nya" vattenytorna bedömer vi att vidare provtagning bara behöver ske undantagsvis. De 60 återstående lokalerna representerar majoriteten av öns avrinningsområden och naturskydd, vilket förstås öppnar för en mängd möjliga appliceringar. Varje lokal har också en kortare kommentar som motiverar lokalens inkludering och som då kan bedömas vid ett mindre urval.

En grov skattning av kostnader för provtagning av 50 lokaler för en extern utförare är cirka 100 000 SEK. CGI som stödjer svenska myndigheter har ingen fast kostnad för qPCR-analys, men utifrån tidigare analyser uppskattar de ett pris av 750 SEK per qPCR för analys av en art. Inom detta pris ingår även DNA-extraktion, vilket gör att kostnaden för analys av ytterligare arter blir lägre (ca 250 SEK). Utöver dessa kostnader finns även en uppstartskostnad för implementering av qPCR-primer och probe på ca 3 000 SEK.

Analyskostnaden för två arter per lokal med 50 lokaler, uppskattas då till strax under 60 000 SEK. Fördelning i detta exempel blir då att 63% av kostnaden skulle utgöras av provtagning och 37% av analys. Om lokalerna skulle analyseras med metabarcoding-primer däremot skulle analyskostanden sannolikt överstiga provtagningen.

Provtagning och analys av samtliga lokaler skulle då initialt skattas till en kostnad på ca 350 000 SEK. Detta skulle exempelvis kunna sträckas ut över en 3 årsperiod, där 20

lokaler från de större vattennätverken och 15 lokaler från de nya vattenkropparna inventeras årligen. När de nya vattenkropparna screenats skulle programmet kunna övergå till att analysera ca 30 lokaler från det öppna vattennätverket och 5 lokaler från isolerade dammar årligen.

Genom att samla och lagra prover ges även flera möjligheter för ekonomisk flexibilitet till Länsstyrelsen. Exempelvis kan Länsstyrelsen välja att bara skicka en andel av proverna för analys och skicka in övriga under nästkommande år. Då arter och grupper enkelt kan tillföras eller exkluderas från analyserna finns även möjligheten att inkludera helt nya frågeställningar, vilket torde öka möjligheterna att samfinansiera provtagningen mellan projekt och avdelningar. Detta skulle även vara ett smidigt sätt för Länsstyrelsen att spendera eventuella obrukade medel framåt slutet av budgetåret och samtidigt uppnå en kostnadseffektiv miljöövervakning. I relation till detta är det värt att beakta att varje extraherat DNA-filter kan användas för upp till ca 5 qPCR-analyser eller ett flertal metabarcoding-analyser. Vidare att kostnaden för ytterligare artanalyser efter att DNA-extraktionen genomförts är marginell. Mer exakt skulle totalkostnaden för analys av en ytterligare art i 50 lokaler vara ca 16 000 SEK, att jämföra med totalkostnaden på ca 145 000 SEK (inklusive provtagning) för den första arten (11%).

Dessa möjligheter är delvis beroende på förmågan att lagra prover under en period, idealt vore om CGI vore villiga att lagra ett mindre antal prover efter DNA-extraktion under en 2–3 årsperiod. Ett annat alternativ vore lagra eDNA-filter i en vanlig kyl efter att provet fixerats med etanol, vilket gav motsvarande resultat i en metabarcoding-analys efter 2 års lagring (opublicerad AquaBiota).

### 3.3. Överblick

Slutligen är det värt att diskutera att medborgarna fortsatt är den viktigaste aspekten för miljöövervakning av kräftor. På Gotland finns en stor medvetenhet kring flodkräftans sårbarhet och vid tidigare upptäckter av signalkräftor har kommunikationen med befolkningen varit centralt (Rolf Gydemo muntl.). Hög medvetenhet kring bevarandet av flodkräftbestånden utgör ett effektivt proaktivt skydd, vilket pekar på vikten av att Länsstyrelsen fortsätter att ha en aktiv roll i att utbilda kommande generationer.

I sammanhanget är det även bra att ha i åtanke att ett flertal inplanteringar av signalkräfta har skett till följd av okunskap, där människor inte kunnat skilja mellan de två arterna eller helt enkelt inte känt till att det finns flera arter kräftor i Sverige (Riskanalys för signalkräfta i Sverige 2017).

En mer krass faktor som bidrar till skyddet av flodkräftan är att den har betydligt högre marknadsvärde än signalkräftan. En studie som jämförde marknadspriser för flod- och signalkräfta visade att flodkräftan kan kosta mer än dubbelt så mycket som den introducerade arten signalkräfta (Gren et al. 2007). Studien visar att priset på flodkräfta i förstahandsledet kan vara 400–450 kr/kg på Gotland och på vissa platser på fastlandet



till och med högre. Följaktligen kan värnande om ett balanserat flodkräftfiske vara en viktig aspekt i artens skydd.

En sista tanke gällande det långsiktiga bevarandet av flodkräfta är att flera europeiska studier påvisat en begynnande förmåga till resistens mot kräftpest hos flodkräftor (Makkonen et al. 2014, Svenska YLE 2020). Då Gotland inte drabbats av kräftpest, finns det orsaker att tro att Gotlands endemiska flodkräftor saknar den här resistensen. Att inhämta flodkräftor från populationer som påvisat resistens skulle vara ett möjligt sätt att påskynda den evolutionära motståndskraften hos Gotlands endemiska flodkräftor, förutsatt att det konstaterats att individerna inte latent bär på kräftpest. Metodiken härrör från populationsgenetik där den bland annat påvisat möjligheterna för att öka arters anpassningsförmåga till kommande klimatförändringar (Li, 2020).

## REFERENSER

- Benson, D. A., Cavanaugh, M., Clark, K., Karsch-Mizrachi, I., Ostell, J., Pruitt, K. D., & Sayers, E. W. (2018). GenBank. Nucleic acids research, 46(D1), D41-D47.
- Agersnap, S., Larsen, W. B., Knudsen, S. W., Strand, D., Thomsen, P. F., Hesselsoe, M., ... Moller, P. R. (2017). Monitoring of noble, signal and narrow-clawed crayfish using environmental DNA from freshwater samples. PLoS ONE, 12, e0179261.
- Bohmann, K., A. Evans, M. T. P. Gilbert, G. R. Carvalho, S. Creer, M. Knapp, D. W. Yu, och M. de Bruyn. 2014. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. Trends in Ecology & Evolution 29:358 – 367.
- 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.
- Gren IM, Isacs L, Carlsson M. 2009. Costs of alien invasive species in Sweden. Royal Swedish Academy of Sciences 38: 135-140
- Livet i Havet, 2021. <https://www.havet.nu/livet/art/svartmunnad-smorbult>
- 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, L. (2020) Past demography and local adaptation in forest trees: Insights from natural populations and breeding programs of Norway spruce.
- Lowe, S., Browne, M., Buoudjelas, S., & De Poorter, M. (2004). 100 of the world's worst invasive alien species a selection from the global invasive species database. Auckland, New Zealand: ISSG and SSC of IUCN.
- Makkonen, J., Kokko, H., Vainikka, A., Kortet, R., & Jussila, J. (2014). Dose-dependent mortality of the noble crayfish (*Astacus astacus*) to different strains of the crayfish plague (*Aphanomyces astaci*). Journal of Invertebrate Pathology, 115, 86-91.
- Nyström P., Jansson T., Edsman L (2018). Kräftodligens ABC: Handbok för odlare. SLU och Jordbruksverket.
- Näslund, J., Didrikas, T., Hellström P., & Hellström M. AquaBiota Rapport 2019:15 Inventering av fisk vid Gåsefjärden I Karlskrona skärgård med nätprovfiske och eDNA
- 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

Rödlistan 2020, <https://www.artdatabanken.se/globalassets/ew/subw/artd/2.-var-verksamhet/publikationer/31.-rodlista-2020/rodlista-2020>

Shaw, J. L. A., Clarke, L. J., Wedderburn, S. D., Barnes, T. C., Weyrich, L. S., & Cooper, A. (2016). Comparison of environmental DNA metabarcoding and conventional fish survey methods in a river system. *Biological Conservation*, 197, 131–138.

Strand, D. A., Jussila, J., Johnsen, S. I., Viljamaa-Dirks, S., Edsman, L., Wiik-Nielsen, J., Vrålstad, T. (2014). Detection of crayfish plague spores in large freshwater systems. *Journal of Applied Ecology*, 51, 544–553

Svenska YLE (2020). <https://svenska.yle.fi/artikel/2020/11/25/ny-forskning-flodkraftan-slar-tillbaka-mot-kraftpesten-dodligheten-har-minskat>

Söderhäll, K., & Cerenius, L. (1999). The crayfish plague fungus: History and recent advances. *Freshwater Crayfish*, 12, 11–35.

Taberlet, P., Coissac, E., Hajibabaei, M., & Rieseberg, L. H. 2012. Environmental DNA. *Molecular Ecology* 21, 1789-1793

Vrålstad, T., Knutsen, A. K., Tengs, T., & Holst-Jensen, A. (2009). A quantitative TaqMan (R) MGB real-time polymerase chain reaction based assay for detection of the causative agent of crayfish plague *Aphanomyces astaci*. *Veterinary Microbiology*, 137, 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.12.022>

Åtgärdsprogram för flodkräfta 2008-2013. Fiskeriverket och naturvårdsverket, 2009, rapport 5955.



[www.aquabiota.se](http://www.aquabiota.se)

