

Miljø-DNA: muligheter og utfordringer

Sebastian Wacker

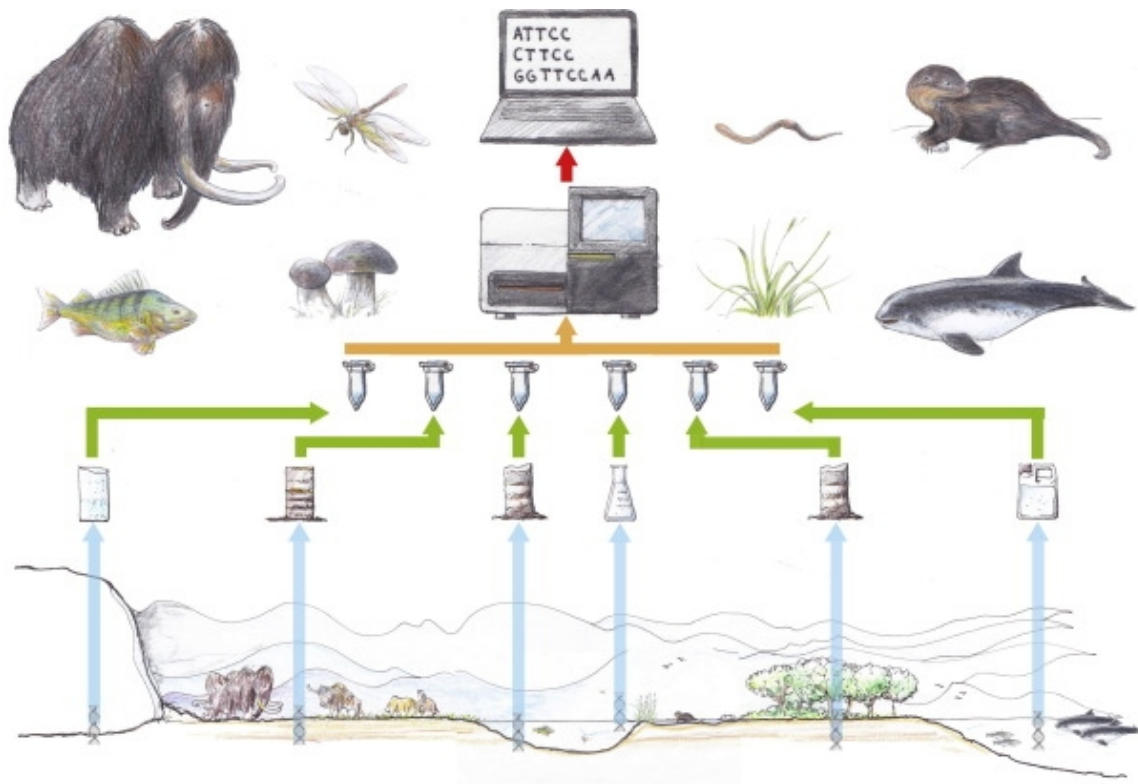
Sten Karlsson

Bjørn Mejdell Larsen

Frode Fossøy



Hva er miljø-DNA?



Thomsen & Willerslev 2015

Hva kan miljø-DNA brukes til?

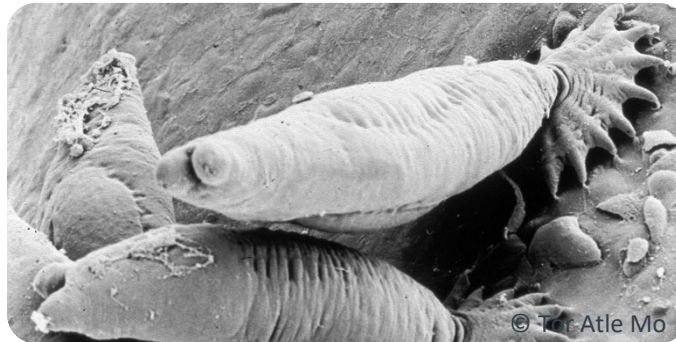
- Forekomst av truede/fremmede arter
- Estimering av biodiversitet
- Geografisk utbredelse av spesifikke arter
- Estimering av bestandsstørrelser

Miljø-DNA på NINA

Elvemusling



Gyrodactylus salaris



Gjedde



Bier og pollinering



Rein og skrantesjue



Salamandere



Insekter



Utfordringer

Sammenheng mellom tetthet og miljø-DNA konsentrasjon:

- Variasjon i mengde miljø-DNA individer avgir
 - Miljøet (temperatur, pH, ...)
 - Aktivitet (metabolisme)
 - Reproduksjon (gameter, larver)
- Variasjon i nedbryting og sedimentering av miljø-DNA
 - Miljøet (temperatur, pH, ...)
- Variasjon
 - Mellom arter
 - Innenfor arter
 - Mellom populasjoner og lokaliteter
 - Over sesongen

Utfordringer

Sammenheng mellom tetthet og miljø-DNA konsentrasjon:

- Variasjon i mengde miljø-DNA individer avgir
 - Miljøet (temperatur, pH, ...)
 - Aktivitet (metabolisme)
 - Reproduksjon (gameter, larver)
- Variasjon i nedbryting og sedimentering av miljø-DNA
 - Miljøet (temperatur, pH, ...)
- Variasjon
 - Mellom arter
 - Innenfor arter
 - Mellom populasjoner og lokaliteter
 - Over sesongen
- **Påvirker sannsynlighet for å oppdage miljø-DNA**
- **Påvirker estimering av bestandsstørrelse med miljø-DNA**

Nedstrøm transport

- I elver blir miljø-DNA transportert nedstrøms
- Konsentrasjon avtar under transport pga. nedbryting og sedimentering
- Muligheter
 - ▶ Organismer kan bli påvist over større distanser
 - ▶ Bestander i sideelver kan bli påvist
- utfordringer
 - ▶ miljø-DNA i hver vannprøve er en blanding av DNA fra individer i kort og lang avstand oppstrøms
 - ▶ Kompliserer sannsynlig for påvisning og estimering av bestandsstørrelser

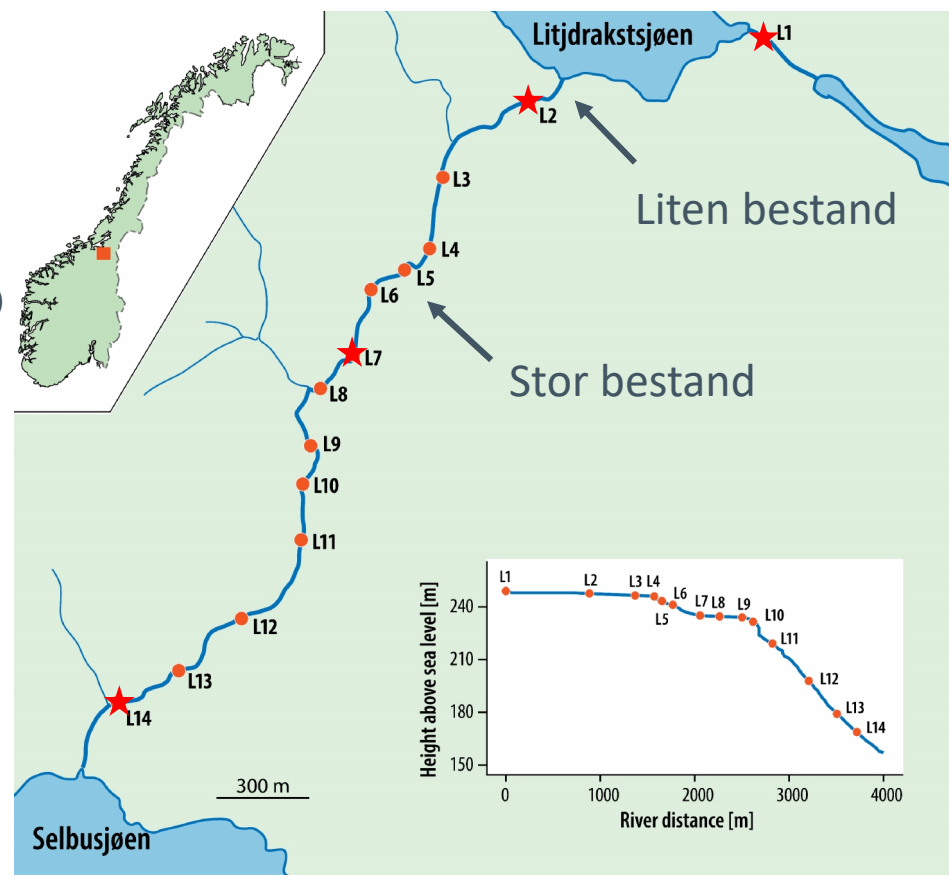


Formål

- Påvisning av elvemusling med miljø-DNA
- Sammenheng mellom fordeling av muslinger i elva og miljø-DNA konsentrasjoner
- Nedstrøm transport av miljø-DNA
- Variasjon i miljø-DNA over sesongen

Metoder

- Drakstelva: kjent forekomst og fordeling av elvemusling
- Konvensjonell telling (14 stasjoner)
- miljø-DNA (4 stasjoner)
 1. oppstrøms av kjent forekomst
 2. nedstrøms liten bestand (100 individer)
 3. nedstrøms stor bestand (>10,000 individer)
 4. 1200 m nedstrøms av stor bestand
- Prøver tatt i
 - ▶ mai (kaldt vann)
 - ▶ juni (varmere vann)
 - ▶ August (larveslipp)
- Ørret miljø-DNA som kontroll



Felt metoder

- Filter pore-størrelser: 0.45 μm (alle prøver), 0.22 – 2.0 μm filtre i tillegg
- 3 vannprøver per filter og prøvetaking (90 totalt)
- Negativ felt kontroll: filtrert destillert vann

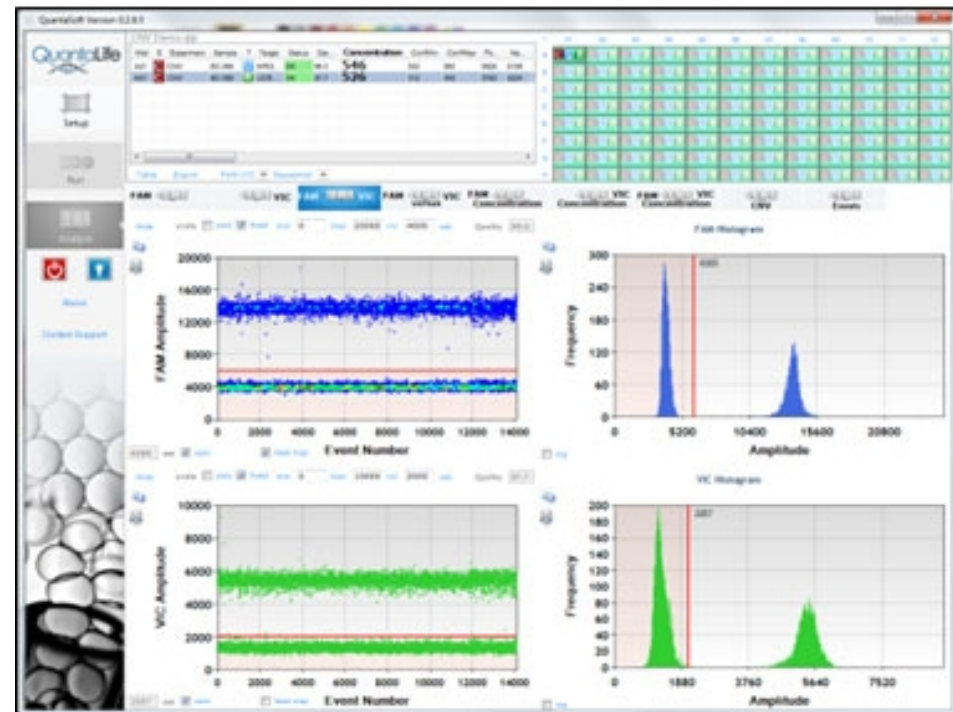


Foto. B. M. Larsen



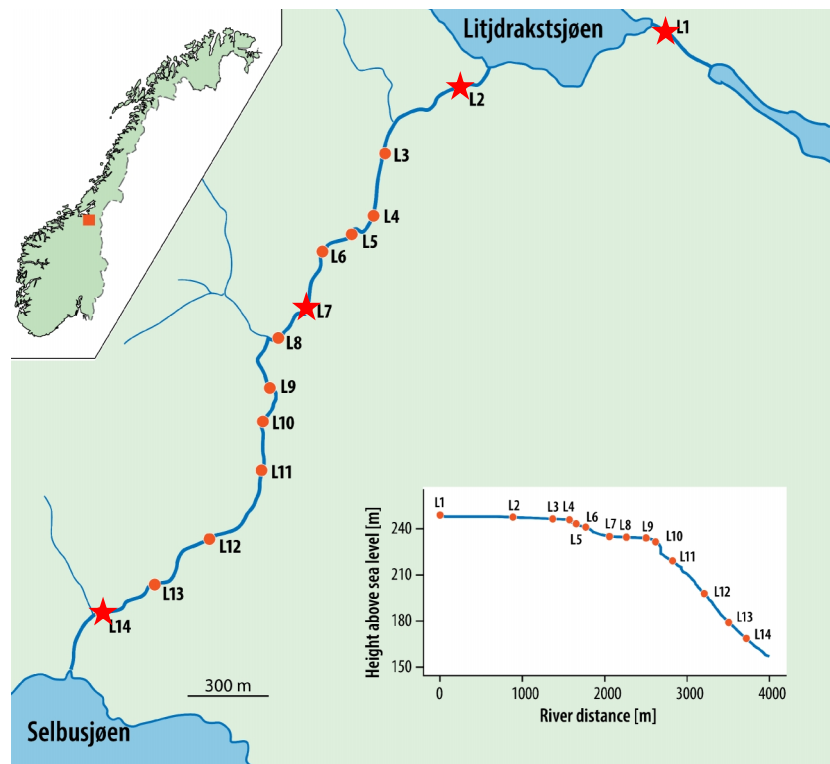
Lab metoder

- ddPCR
- 1-2 PCRs per filtrering (150 totalt)
- Negativ lab kontroll (destillert vann)
- Positiv lab kontroll (vevsprøver)
- Konsentrasjon (kopier per liter vann)



Påvisning

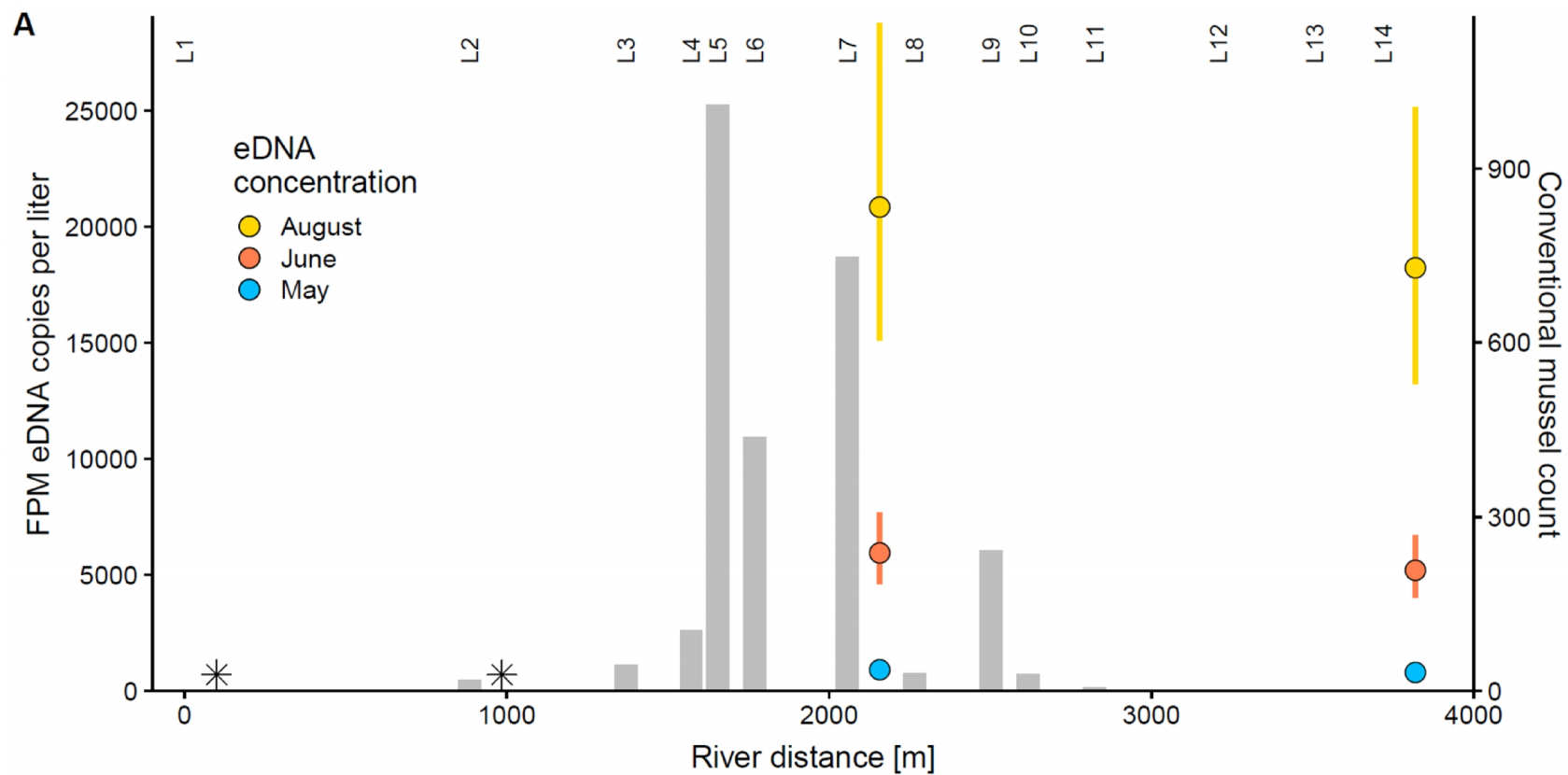
- Oppstrøms av forekomst (L1): **0% av prøvene** (N=21); 0% av PCR's (N=36)
- Stor bestand (L7 & L14): **100% av prøvene** (N=48); 100% av PCR's (N=78)
- Liten bestand (L2): **14% av prøvene** (N=21); 8% av PCR's (N=36)



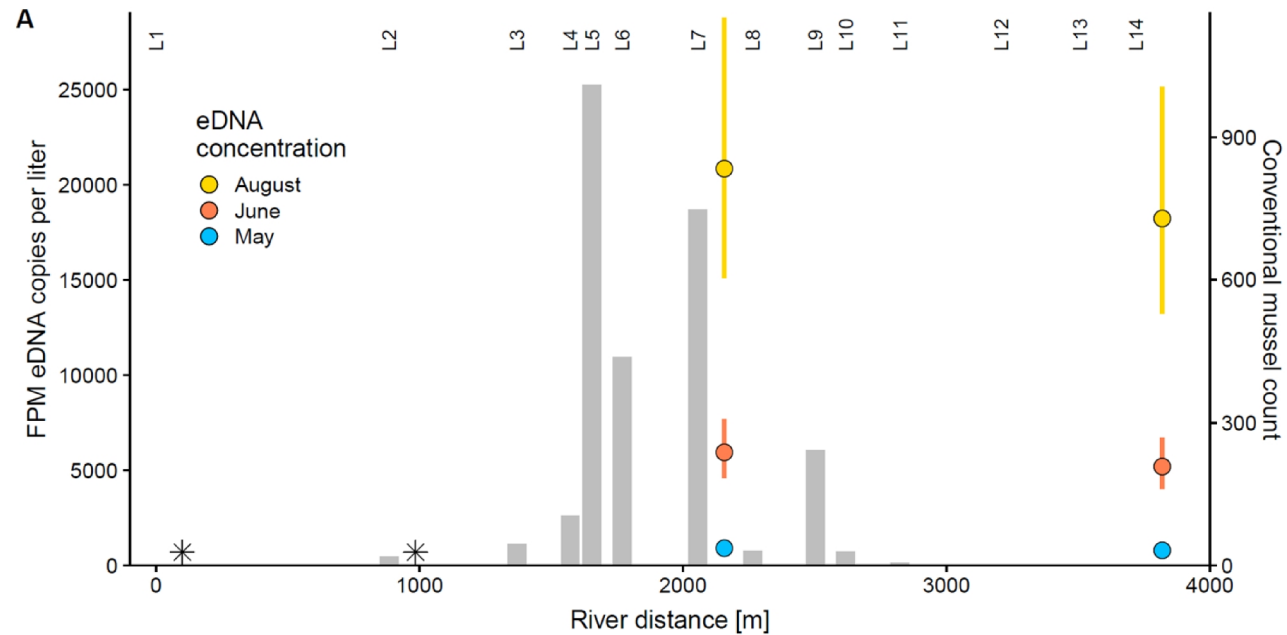
Påvisning

- Oppstrøms av forekomst (L1): **0% av prøvene** (N=21)
- Stor bestand (L7 & L14): **100% av prøvene** (N=48); 100% av PCR's (N=78)
- Liten bestand (L2): **14% av prøvene** (N=21); 8% av PCR's (N=36)
- Høy sannsynlig for å oppdage stor bestand
- Ingen positive prøver oppstrøms av kjent forekomst: ingen ukjent forekomst eller kontaminasjon
- Lav sannsynlighet for å oppdage liten bestand (100 individer)

Konsentrasjon

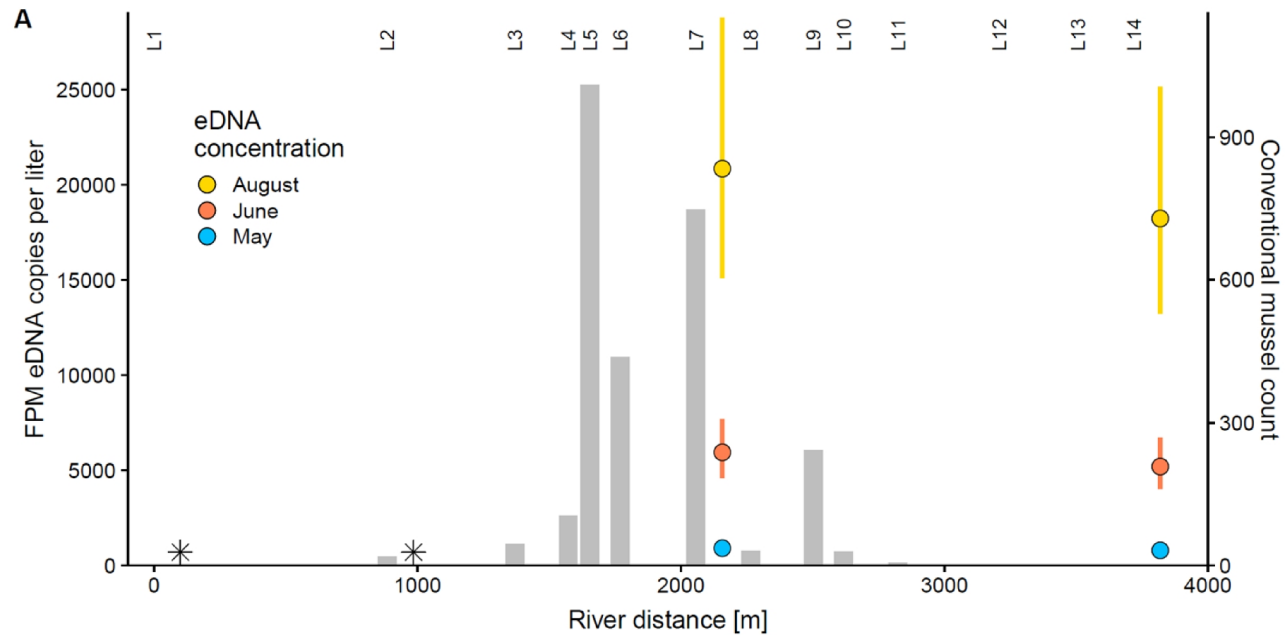


Konsentrasjon



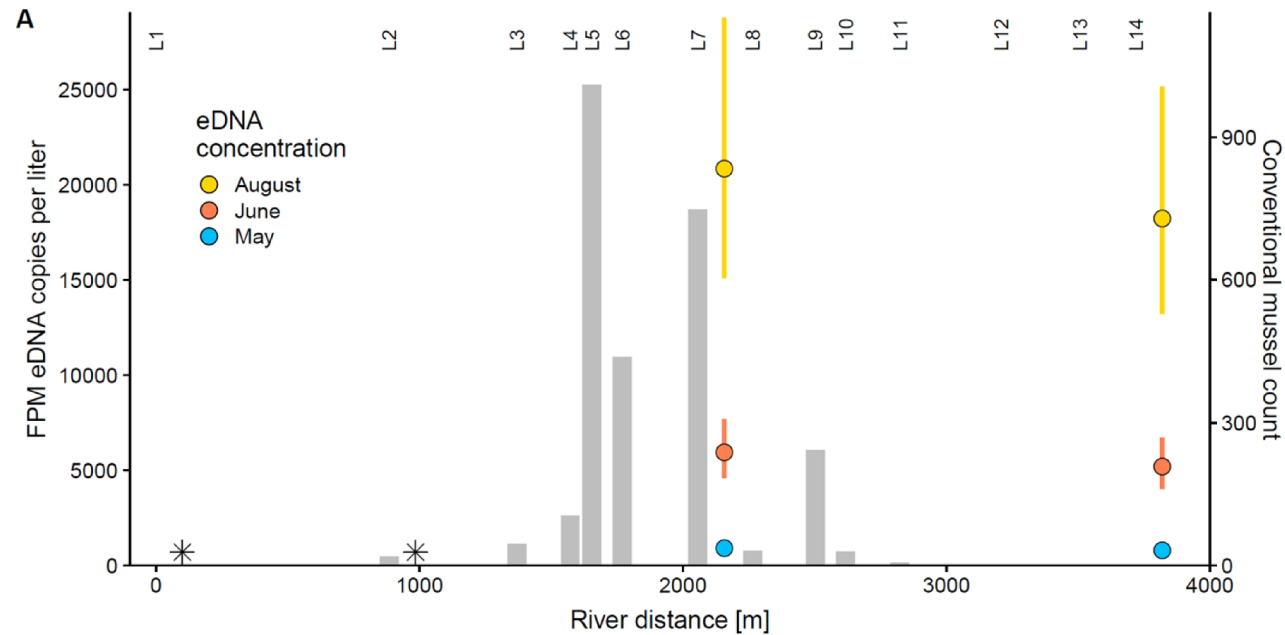
- Stor variasjon i løpet av året
- Høyere konsentrasjon i juni enn i mai: høyere vanntemperatur og aktivitet
- Høy konsentrasjon i august: slipp av larver

Konsentrasjon

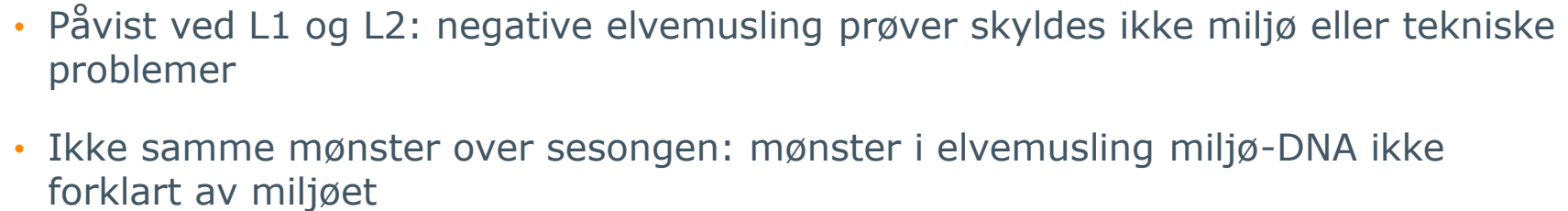


- Effektiv nedstrøm transport over 1200 m
- Ingen signifikant reduksjon i miljø-DNA konsentrasjon

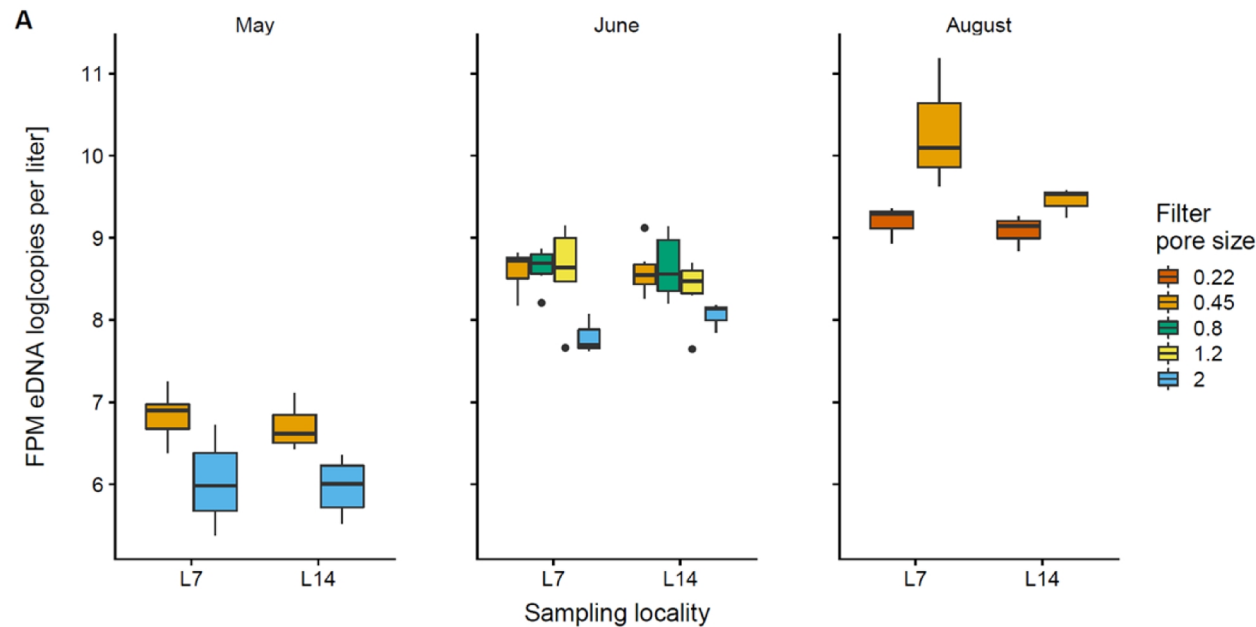
Konsentrasjon



- Forventet konsentrasjon ved L2 er under grensen for deteksjon (~ 200 kopier l^{-1})
- Bestand ca. 100 ganger større (100 vs. 10,000 individer)
- Forventet konsentrasjon: 10 (mai), 60 (juni) og 210 (august) kopier l^{-1}



Filterstørrelse



- Filterstørrelse påvirker miljø-DNA konsentrasjoner
 - ▶ Som forventet $2.0 \mu\text{m} < 0.45 \mu\text{m}$
 - ▶ Ingen effekt $0.45 - 1.2 \mu\text{m}$
 - ▶ Uforventet $0.22 \mu\text{m} < 0.45 \mu\text{m}$
- Filterstørrelse påvirker ikke konklusjoner (sesong & nedstrøms transport)

Konklusjoner

- Større bestander blir påvist med høy sannsynlighet
- Små bestander (100 individer) blir påvist med lav sannsynlighet
- Tidspunkt av prøvetaking har stor betydning for miljø-DNA konsentrasjon
- miljø-DNA blir effektivt transportert nedstrøms
- Filterstørrelse påvirker miljø-DNA konsentrasjon, men i mindre grad en bestandsstørrelse og sesong

Muligheter og utfordringer

- Stor potensial for påvisning av store bestander
 - ▶ Nedstrøms transport betyr at prøvene kan bli tatt med større mellomrom
 - ▶ ... og at bestander sprett over store arealer kan bli påvist (akkumulering)

Muligheter og utfordringer

- Stor potensial for påvisning av store bestander
 - ▶ Nedstrøms transport betyr at prøvene kan bli tatt med større mellomrom
 - ▶ ... og at bestander sprett over store arealer kan bli påvist (akkumulering)
- Utfordringer i påvisning av mindre bestander
 - ▶ Prøvetaking når forventet miljø-DNA konsentrasjon er høyest
 - ▶ Forbedret metodikk kan gi høyere sensitivitet
 - ▶ Modellere sannsynlighet for å oppdage en bestand av xx individer innenfor distance xx oppstrøms

Muligheter og utfordringer

- Stor potensial for påvisning av store bestander
 - ▶ Nedstrøms transport betyr at prøvene kan bli tatt med større mellomrom
 - ▶ ... og at bestander sprett over store arealer kan bli påvist (akkumulering)
- Utfordringer i påvisning av mindre bestander
 - ▶ Prøvetaking når forventet miljø-DNA konsentrasjon er høyest
 - ▶ Forbedret metodikk kan gi høyere sensitivitet
 - ▶ Modellere sannsynlighet for å oppdage en bestand av xx individer innenfor distance xx oppstrøms
- Estimering av bestandsstørrelse
 - ▶ miljø-DNA konsentrasjon er påvirket av mange faktorer
 - ▶ Samme miljø-DNA konsentrasjon kan indikere få individer i nærheten eller mange individer langt oppstrøms
 - ▶ Modellering av sammenheng mellom bestandsstørrelse, fordeling og miljø-DNA konsentrasjon

Samarbeid og kunnskap for framtidens miljøløsninger



Foto. A. Staverløkk