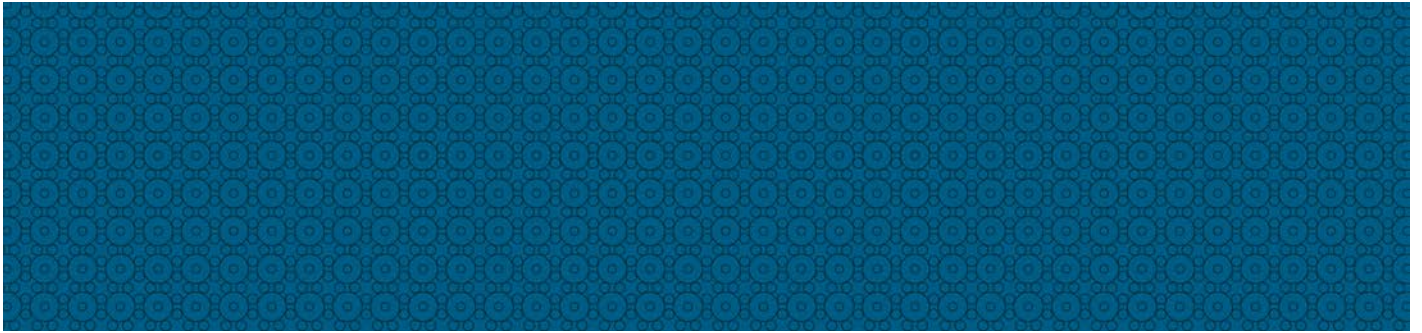


Inventering av fiskförekomst med eDNA i Svartån, Östergötlands län



Inventering av fiskförekomst med eDNA i Svartån, Östergötlands län

Rapportnummer: 2019:11

Författare	Micaela Hellström & Johan Spens, AquaBiota Solutions
Kontaktperson	Lars Gezelius, Länsstyrelsen Östergötland, Telefon, direkt: 010-223 53 94 E-post: lars.gezelius@lansstyrelsen.se Webbplats: www.lansstyrelsen.se/ostergotland
Fotografier	Omslagsbild: Micaela Hellström. Bilder på målarter är tagna från Wikimedia Commons med tillstånd för spridning även i kommersiellt syfte. Övriga foton: Micaela Hellström och Johan Spens.
ISBN	978-91-985269-6-7

INNEHÅLL

Innehåll.....	3
Sammanfattning.....	4
1. Inledning	5
2. Material och Metoder	6
2.1. Fältarbete.....	6
2.2. Laboratoriearbete.....	7
2.3. Analys, jämförelser och artsammansättning	9
3. Resultat och diskussion	11
3.1. Sekvenseringsresultat.....	11
3.2. Arternas förekomst över lokalerna.....	11
3.3. Fiskarternas förekomst inom lokalerna.....	12
3.4. Fiskartsförekomst – eDNA vs. befintliga utfisken.....	13
3.5. Jämförelse – eDNA vs. FVO artlistor	15
3.6 Fiskarter.....	16
4. Slutsatser	20
5. Rekommendationer för fortsatta undersökningar.....	21
Tack	21
Referenser	22
BILAGA 1.....	23
BILAGA 2.....	24
BILAGA 3.....	25

SAMMANFATTNING

Akvatiskt miljö-DNA eller eDNA (från engelskans environmental DNA) har under det senaste decenniet visat sig vara ett lovande verktyg för inventering av vattenorganismer för miljöövervakning. 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, respiration, svett och döda celler. Dessa genetiska spår kallas eDNA. Akvatiskt eDNA är spåren som organismer avger i vattenmiljön. Detta genetiska material kan utvinnas ur en halv liter vatten och genom molekylära analyser ange vilka arter som befinner sig inom ett område utan att man varken ser eller fångar organismen. Eftersom eDNA i vattenmassan är kortlivat ger analyserna en bild av artförekomst i nutid.

AquaBiota har på uppdrag av Länsstyrelsen i Östergötland utfört en pilotundersökning av fiskarternas förekomst i Svartån med hjälp av akvatiskt eDNA genom metabarkodning (flerartsstudie). Arbetet utgör också en del av vår utvärdering för att bedöma precision av eDNA att fastställa fisksamhällen och bedöma inbördes relativa mängder som verktyg för vidare miljöövervakning. Resultaten från eDNA-undersökningen jämfördes med befintligt elfiskedata och därutöver med artlistor från sju fiskevårdsområden, samt vatten inom Boxholms skogar AB, i Svartån.

Fältarbetet utfördes i maj 2017 och de genetiska proverna analyserades senare under året genom att i huvudsak använda genetisk markör 1 för alla provpunkter samt markör 2 för tre av provpunkterna. Sammanlagt 21 fiskarter detekterades på tio lokaler och tolv provpunkter. Jämfört med sammanslagna elfisken över flera år gav eDNA träffar på 21 arter och elfiske-/nätfiske-rapporterna 15 fiskarter. Resultaten jämfördes med data från de olika fiskevårdsområdena i Svartån.

Öring detekterades endast nära sjön Sommens utlopp uppströms om kraftverken i Boxholm och det visar att arten har problem att återkolonisera vattnen nedströms vandringshindren.

Asp detekterades i två av lokalerna.

Ett intressant fynd var unika sekvenser som matchade silverkarp/marmorkarp på två av lokalerna i Lillåns biflöde. Denna karpfisk kan möjligtvis ha släppts ut från en damm eller ett akvarium och överlever troligtvis inte kallt vatten under vintern.

eDNA-analys har en hög potential att användas som effektivt icke-destruktivt verktyg för inventering av fiskartsammansättning över stora geografiska områden över kortast möjliga tidsintervall. Vidare är metoden mycket känslig och kan upptäcka arter som är nyetablerade, sällsynta eller som undgår traditionella provfisken. eDNA svarar på frågan; Vilka arter förekommer i ett givet område, vilka arter uppvisar högst dominans i biomassa. eDNA ger inte svar på frågan om antalet individer, könsfördelning eller ålder på fiskar.

1. INLEDNING

Undersökningar av förekomst och biologisk mångfald på artnivå av växter och djur i akvatiska ekosystem har historiskt i huvudsak skett genom traditionella fysiska, akustiska och visuella metoder. Exempel på dessa är nätfiske, elfiske, telemetri, snorkling, fällor, undervattenssonar och vattenkikare. Dessa metoder har begränsningar eftersom de är selektiva och ingen enskild metod beskriver hela mångfalden av fisk. Vidare är vissa konventionella metoder destruktiva eftersom de kräver att utföraren av studierna rör eller skadar sitt studieobjekt vilket är ett potentiellt problem i bevarandekologiska undersökningar (Wheeler *et al.* 2010). En annan begränsning av konventionella metoder är att sällsynta, invasiva och svårfångade arter inte upptäcks, och deras förekomst underrapporteras vilket ger felmarginaler i det insamlade datat (Price *et al.* 2015; Trigal & Degerman 2015, Wiley *et al.* 2015).

Det molekylära inventeringsverktyget miljö-DNA eller eDNA (environmental DNA) baserar sig på 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 molekylära analyser ange vilka arter som befinner sig inom ett område, utan att man varken ser eller fångar organismen. Eftersom eDNA i vattenmassan är kortlivat (ca. 1-2 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). Vidare har flera studier visat att eDNA i sjöar och rinnande vatten detekterar flera arter än vad provfisken gör (Hänfling m.fl. 2016, Hellström & Spens 2017 a, b, c, Hellström m.fl. 2018)

AquaBiota har på uppdrag av Länsstyrelsen i Östergötlands län utfört en undersökning av fisksamansättningen i Svartån, Östergötland, med hjälp av eDNA. Detta är en flerartsstudie som utfördes genom s.k. metabarkodning för att studera fisksamhällen istället för att inrikta sig på enskilda arter. Arbetet är en del av en utvärdering i länet för att bedöma precision av eDNA för att fastställa förekomst av fiskarter på tio lokaler (12 provpunkter) i ån. På tre lokaler jämfördes två olika markörer. Arternas förekomst jämfördes med hjälp av sammanslaget data från existerande rapporter, provfisken och artlistor från de sju fiskevårdsområdena (FVO) samt Boxholms skogar AB:s vatten i Svartån.

2. MATERIAL OCH METODER



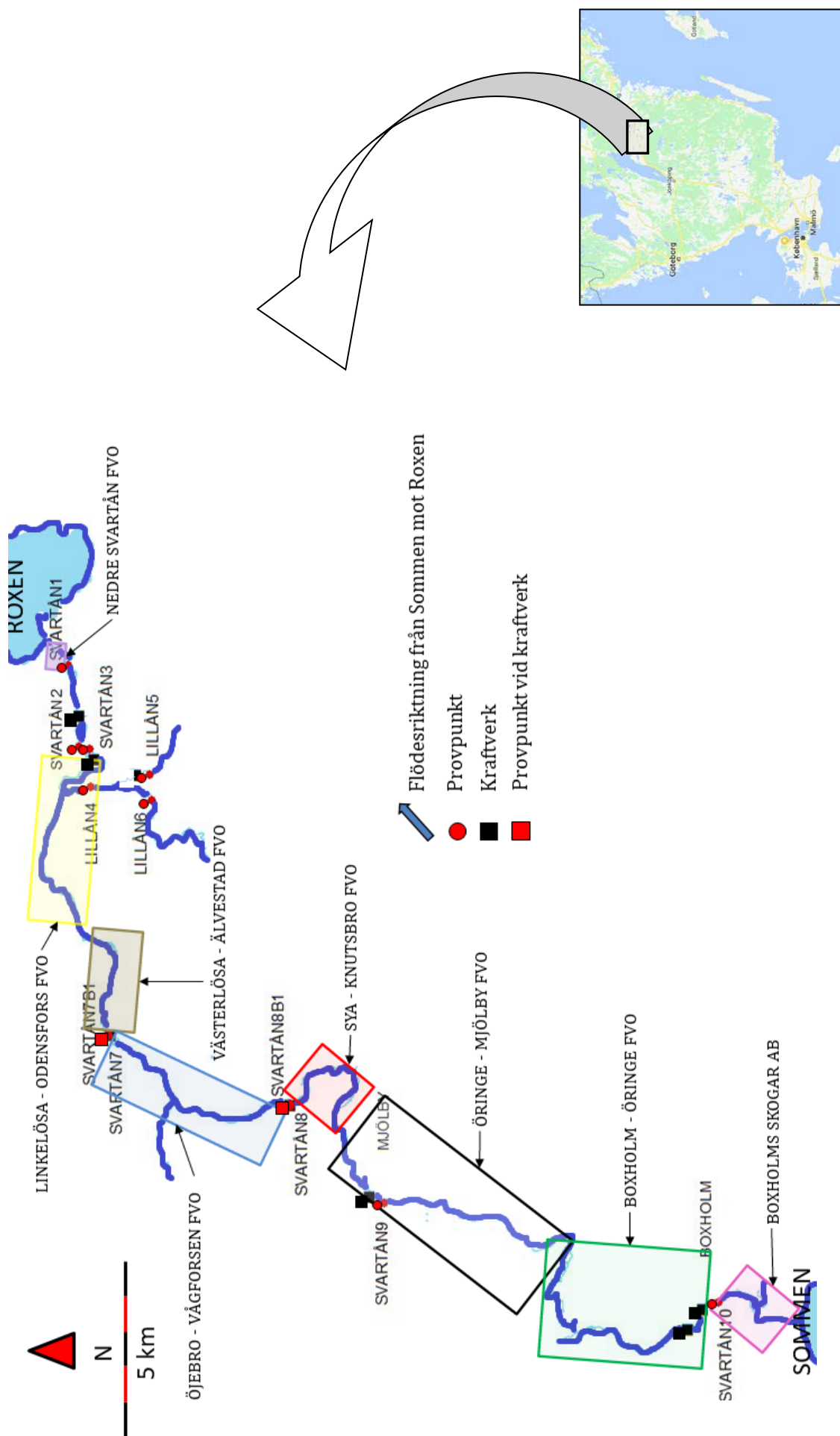
Provpunkt 1. Nedre Svartån – Kaga.

2.1. Fältarbete

I denna undersökning togs eDNA-prover från tio lokaler och två underlokaler (för att skilja på bestånd ovanför och nedanför hinder) i Svartån mellan sjöarna Sommen och Roxen i Östergötlands län. Svartån förser fiskarter med många varierande fiskhabitat, och är ett populärt sportfiskeområde. I ån har 20-21 olika fiskarter rapporterats. Samtidigt finns flera kraftverk i ån som utgör vandringshinder för fisk. Flödesriktningen i Svartån går från sjön Sommen norrut mot sjön Roxen. I området finns sju fiskevårdsområden (iFiske.se) samt Boxholms skogar AB:s vatten som uppdaterar artförekomster genom rapporter från sportfiskare. Fältarbetet utfördes 21 och 22 maj 2017. De 12 provtagningspunkterna anges i figur 2 och tabell 1. Koordinaterna anges i WGS84.

Tabell 1. Provpunkter. Tabellen anger position (latitud longitud enligt WGS84) Tidpunkt vid provtagningen, antal filter (replik) per provpunkt, volym filtrerat vatten. kv = kraftverk, us= uppströms, ns = nedströms, S= Svartån, L = Lillån, S-1 =lokal Svartån 1 o.s.v.

Provpunkt namn	Å	Latitud (N)	Longitud (Ö)	Tid	Antal replik	Volym H ₂ O (mL)
Nedre Svartån Kaga	S-1	58,45524	15,53003	18:21	2	540
Mjölörp, Kränge	S-2	58,45524	15,46830	19:02	2	540
Odenfors kv. us. Lindå	S-3	58,45066	15,46645	19:30	2	570
Kapellån	L-4	58,44646	15,43807	20_06	2	560
Forsa	L-5	58,44852	15,44771	20:30	2	650
Forsa	L-6	58,42059	15,42834	20:50	2	570
Vågforsen kv. ns	S-7A	58,43825	15,250606	10:00	2	500
Vågforsen kv us	S-7B	58,43747	15,25023	21:55	2	540
Knutsbro kv. ns	S-8A	58,36238	15,19950	11:44	2	450
Knutsbro kv. us	S-8B	58,36201	15,19826	11:27	2	300
Mjölby kv. us	S-9	58,32346	15,12580	13:04	2	360
Bruksfallet kv. Boxholm	S-10	58,18483	15,05347	14:06	2	400



Figur 2. Karta över provlokaler i Svartån. Inramade områden anger Fiskevårdsområden FVO:n som anges enligt färgkartan i figuren. Koordinaterna för FVO:n är tagna från områdenas hemsida.



Provpunkt 2. Svartån – Mjölorp-Krånge.

För vidare jämförelser av fiskarter som detekterades genom DNA och genom elfisken och sportfiske har de olika fiskevårdsområden (FVO) markerats på en karta (figur 2). Varje provpunkter förekom inom en rektangel för ett FVO jämfördes med tidigare artrapporter samt intervjuer som gjordes efter DNA undersökningen. Jämförelser mellan eDNA och elfisken gjordes på basen av data från SERS (Svenskt elfiskeregister, SLU). Datat från FVO:n och SERS baserar sig på många år av sportfiskedata och elfisken.

Insamlingsarbetet i fält utfördes den 20-21 augusti 2017. Vid varje lokal samlades tre liter vatten in i form av flera underprover som blandades. Detta utfördes av fältpersonal som tränats att bibehålla ultrarena (ett mått på renhet) förhållanden vid insamling, filtrering och fixering. Negativa fältkontroller utfördes för att utesluta kontaminering mellan prover, dvs. att DNA förts över mellan olika prover eller från provtagare. För att undersöka detta användes sterilt vatten (som är helt fritt från DNA), som filtrerades och fixerades i fält på precis samma sätt som de riktiga proverna. Om de negativa kontrollerna efter laboratorieanalyserna visar sig vara negativa, dvs. inte innehåller något DNA, så vet man att ingen kontaminering har skett och att resultaten är pålitliga. Insamling och fixering följde Spens *et al.* (2017).

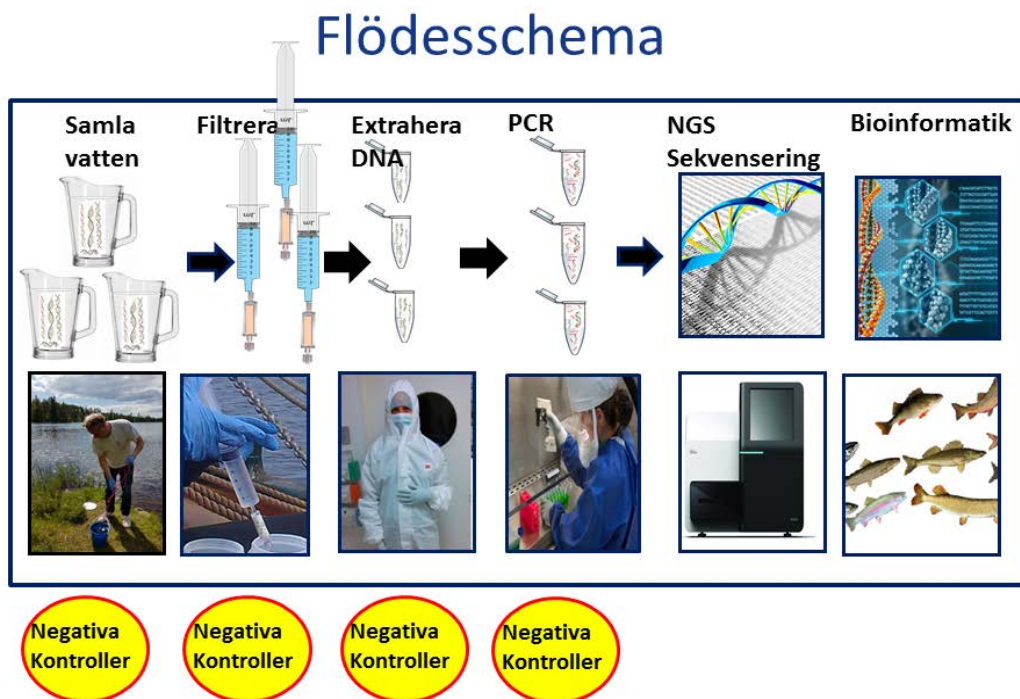
2.2. Laboratoriearbete

2.2.1. Extraktion, PCR och sekvensering



Provpunkt 3. Svartån – Odenfors uppströms.

Flödesschemat i figur 3 beskriver eDNA-processen från insamling till analys. eDNA utvanns (extraherades) enligt protokoll från Spens m.fl. (2017) i ultrarena (ett mått på renhet) laboratorier speciellt byggda för analyser av akvatiskt eDNA. Extraktionerna utfördes av molekylärbiologiska tekniker som är tränade i att extrahera eDNA. Proverna analyserades med flerartsanalyser för förekomst av fisk (bilaga 2) samt andra vertebrater. Varje PCR prov utfördes i 12 replikat som sammanslogs under bioinformatiken. En markör som är vanlig vid eDNA metabarkodning för fisk användes för samtliga prover (Kelly m.fl. 2014, markör 1). Vidare användes en annan markör för (Miya m.fl 2015, markör 2) på 3 lokaler för att testa en eventuellt högre resolution på artnivå. Principerna för metabarkodning förklaras mer utförligt i bilaga 1.



Figur 3. Flödesschema. En översikt av eDNA-provtagning från insamling till analys. Notera att negativa kontroller tas vid varje steg för att kontrollera för kontaminering.



Provpunkt 5. Lillån – Kapellån.

2.2.2. Bioinformatik och verifiering av sekvenser

Varje enskild art har en unik streckkod (Se bilaga 1) eller sekvens. Varje unik sekvens fick en molekylär identitet. De olika sekvenserna kördes mot en internationell databas (tillgänglig för allmänheten, som grundar sig på GenBank och upprätthålls av National Center for Biotechnology Information, NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) där sekvenser på mer än 370 000 kända arter finns tillgängliga (Benson m.fl. 2017, bilaga 1) med 0,6 miljarder sekvenser och 2,6 biljoner baspar enligt NCBI:s hemsida. De olika sekvenserna matchades mot databasen och fick på så sätt fisk, däggdjurs och groddjurs identitet. Tack vare nya framsteg inom metabarkodning för fisk är det möjligt att få träffar på artnivå istället för enbart familje- eller genusnivå. Vidare jämfördes datat med kurerade databaser som upprätthålls av NatureMetrics Ltd, UK.

Eftersom Asp och Vimma inte fanns tillgängliga i referensdatabasen erhöles 4 prover av vardera arten från SLU. Dessa prover extraherades från vävnad, sekvenserades och lades till databasen. Sekvensernas GenBank referens finns på NCBI och i bilaga 3.

Antalet läsningar per art (dvs. hur många gånger varje arts unika sekvens förekom) gav en relativ uppskattning av hur mycket eller litet arten förekom i ett prov. Vidare noterades även däggdjur och groddjur som registrerades i analysen, dessa var dock inte målarter i studien och resultaten ger därför inte en fullständig bild av dessa arter.

2.3. Analys, jämförelser och artsammansättning

Resultaten och artlistorna från eDNA kördes mot SERS (elfisken fram till och med hösten 2017), samt intervjuer. Vidare jämfördes resultaten över arternas förekomst från eDNA med data från de olika FVO (figur 2). Antalet lokaler som varje art förekom på angavs. För varje lokal jämfördes artförekomster som anges av sammanslagna historiska elfiskedata (sammanslaget över 24 år) med förekomster i eDNA-datat. Artförekomst från eDNA jämfördes med artlistor från de sju FVO:n samt Boxholms Skogar AB:s vatten i området.

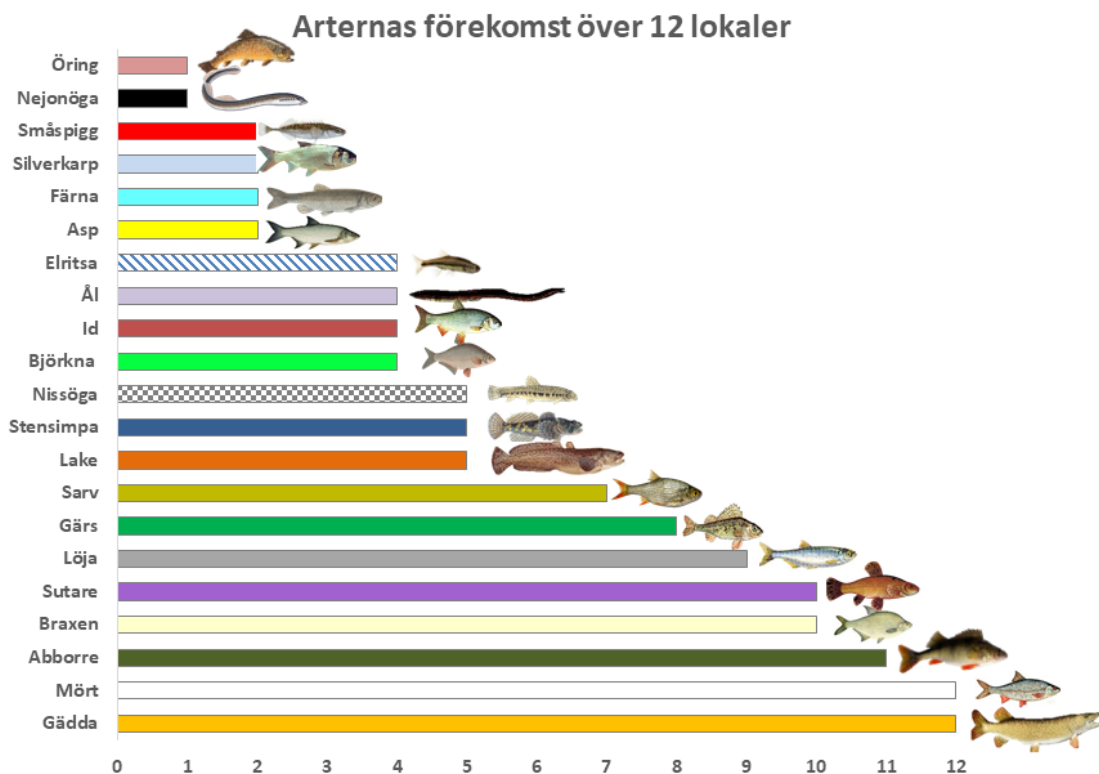
3. RESULTAT OCH DISKUSSION

3.1. Sekvenseringsresultat

Av sekvenserna för metabarkodning brukar en bråkdel (ofta mellan 1 % och 40 %) resultera i sekvenser för målarter - och en mycket stor del av läsningarna kan inte läsas alls. Vidare har problemet varit att DNA från människa täcker 15–40 % av läsningarna. I denna studie matchade 85,2 % av läsningarna målarterna huvudsakligen fiskar, och några procent groddjur, däggdjur och fågel (familj, genus och artnivå sammanslaget). Av de totala läsningarna utgjorde människans andel 6,7 % och bakterier 0,7 % medan 7,4 % saknade matchning. Den höga frekvensen av målarternas sekvenser gör resultaten tillförlitliga för vidare ekologiska analyser. Resultaten visade även att av de två markörer som användes detekterade markör 2 flera arter (se bilaga 2).

3.2. Arternas förekomst över lokalerna

Sammanlagt 21 arter påträffades i eDNA-analyserna. Arternas förekomst över lokalerna anges i figur 3. Öring och nejonöga påträffades på en lokal och mört och gädda på alla tio, och i alla tolv provpunkter. Markörerna för denna studie var anpassade för fisk, men detekterade även padda (*Bufo bufo*) och vanlig groda (*Rana temporaria*) samt vildsvin/tamgris/tamgris-vildsvin hybrider.



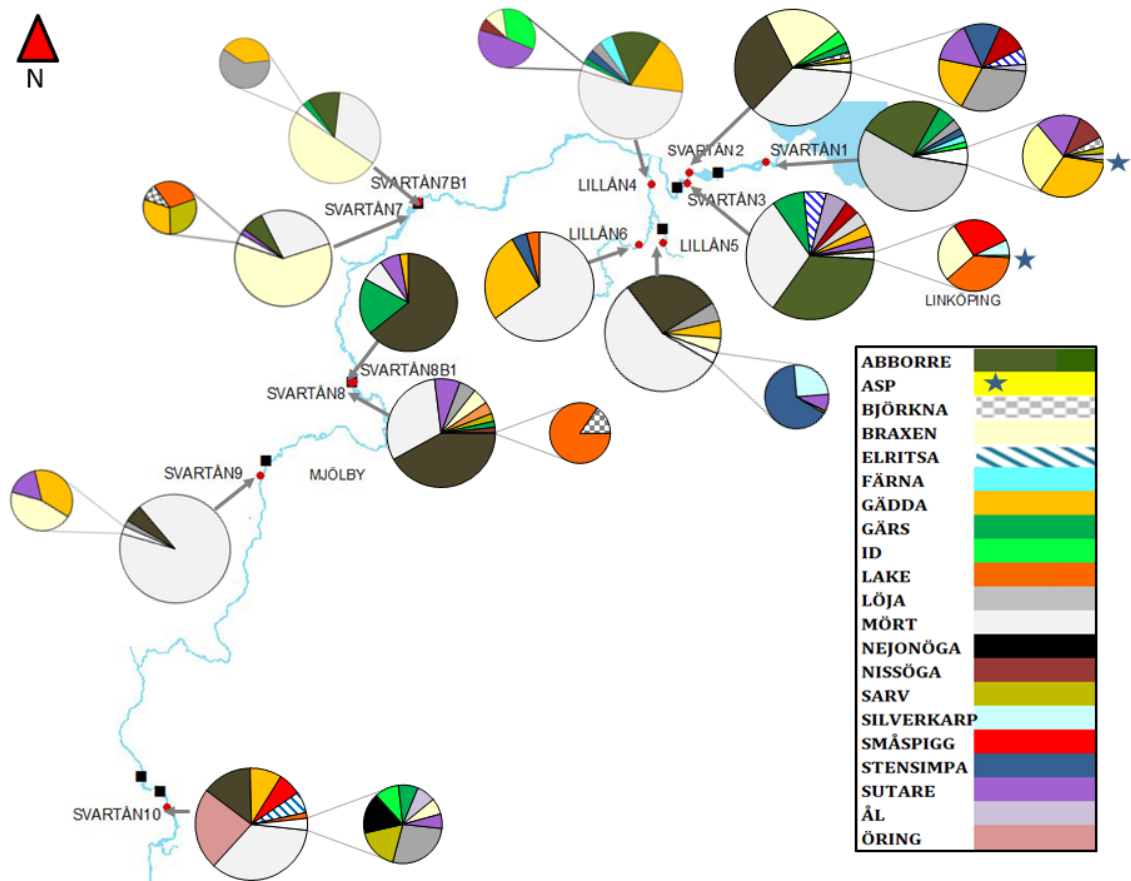
Figur 3. Antal lokaler där de enskilda fiskarterna påträffades (öring och nejonöga förekom på en provpunkt, gädda och mört i alla tolv provpunkter)

3.3. Fiskarternas förekomst inom lokalerna



Provpunkt 6. Lillån – Forsa

Fiskarternas förekomst baserat på eDNA inom de olika lokalerna beskrivs översiktligt i figur 4 samt anges i bilaga 2. Antalet arter per lokal varierade mellan fem och 15 arter.



Figur 4. Karta över arternas fördelning inom de 12 provpunkterna. Cirklarna anger arternas dominans, dvs. antalet lästa sekvenser per art (se även bilaga 2)

3.4. Fiskartsförekomst – eDNA vs. befintliga utfisken

Fiskarternas antal inom varje lokal genom eDNA vs. elfisken anges i tabell 2. Elfisken baserar sig på 36 utfisken över 24 år. Detektion av arter jämfördes. Elfisken ger ofta ett mycket begränsat antal arter, men kan ange storlek, vikt och könsfördelning. eDNA baserar sig på en eller två provpunkter per lokal på tio lokaler tagna samma dag.

Tabell 2. Antal fiskarter per lokal som upptäcktes med eDNA och med historiska utfisken från de olika provpunkterna i Svartån.

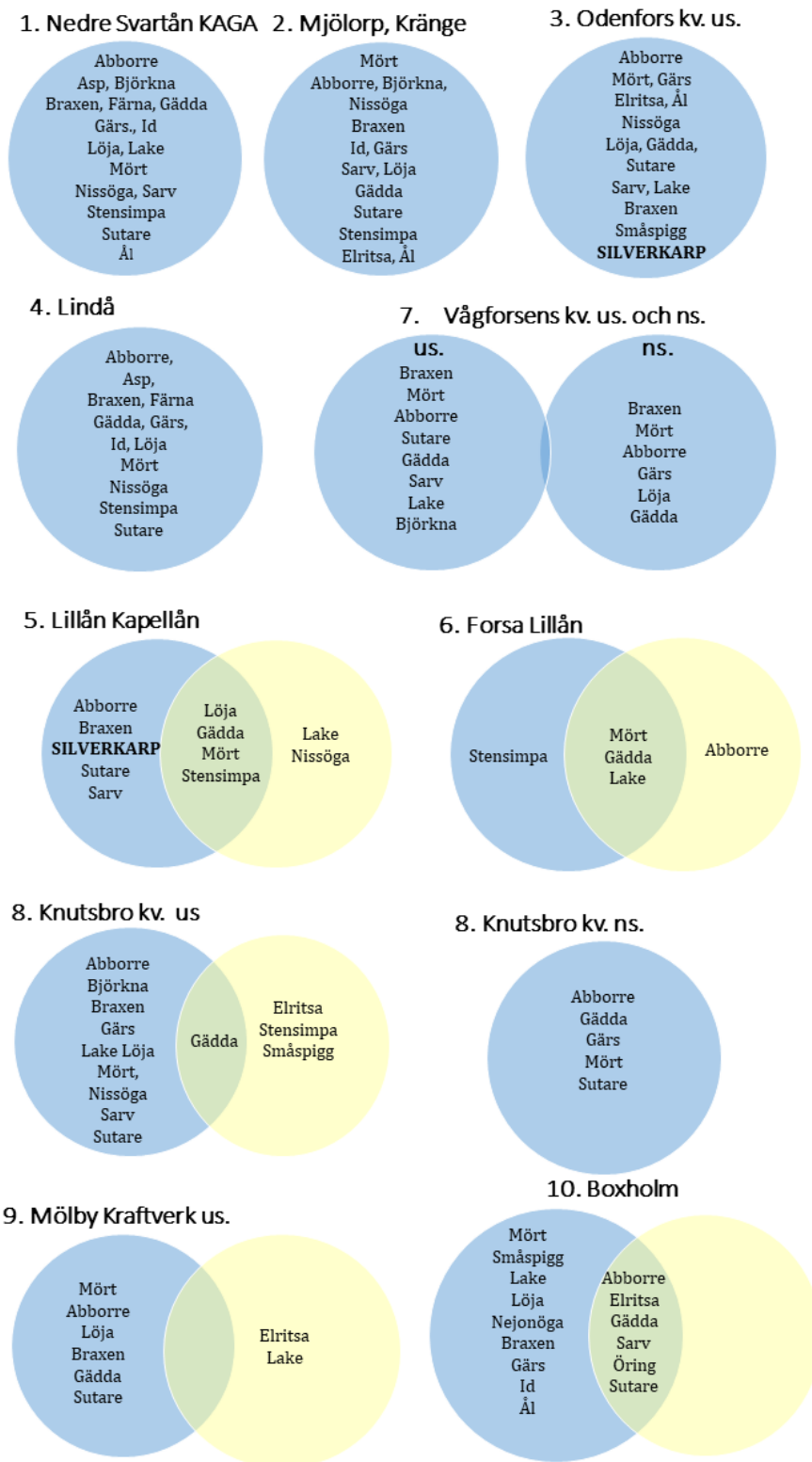
Provtagningsspunkt	Antal arter	Antal arter	Historiska elfisken
	eDNA	elfiske	
1. Nedre Svartån Kaga	14	saknas	
2. Mjölörp Kränge	12	saknas	
3. Odenfors kv., us	14	saknas	
4. Lindå	11	saknas	
5. Kapellån	9	6	9 el, 5 lokaler -95, -99, -07,-10,-12,-16
6. Forsa	4	4	2 el, 2 lokaler 1995
7A. Vågforsens kv. ns	6	saknas	
7B. Vågforsens kv. us.	8	saknas	
8A & 8B. Knutsbro kv. ns/ us	11 (12)	4	2 el, 1 lokal -95, -99
9. Mjölby kv.	6	2	1 el, 1 lokal -08
10. Bruksfallet kv. ns Boxholm	15	7	21 el, 5 lokaler -93, 2003-17

I figur 4 presenteras arterna som registrerades genom eDNA under en session på tolv punkter och anger sammanlagt 115 artfynd. I medeltal detekterades 9,6 arter per prov.

Jämförelser mellan eDNA och elfiske anges i tabell 2 och i figur 5. Sammanlagt fem provlokaler och sex provpunkter jämfördes med 36 elfisken (SERS till och med hösten 2017, 24 år) över 14 lokaler nära provpunkterna (figur 5). Vidare anges arter som registrerades genom eDNA, genom elfisken eller genom både eDNA och elfisken (figur 5).

På de fem lokaler där provfiskedata fanns tillgängligt rapporterade eDNA 45/54 artfynd (83%). Motsvarande siffra för 36 historiska elfisken över 24 år rapporterar sammanlagt 22/54 (41%) artfynd. Medeltalet av arter detekterade genom eDNA per provpunkt var 9,6. Av 36 utförda provfisken detekterades i medeltal tre arter per ansträngning.

Jämförelsen mellan eDNA och provfisken i denna pilotstudie stämmer väl överens med publicerade studier (ex Hänfling et al. 2016, Olds et al. 2016, Shaw et al. 2016, Valentini et al. 2016) där det framgår att eDNA ger säkrare utslag på antal arter och även anger relativ biomassa. Beroende på typ av provfiske och förhållanden kan eDNA och traditionella metoder komplettera varandra.



Figur 5. Venndiagram som visar förekomsten av fiskarter i Svartån inom varje enskild lokal. Arter registrerade genom 1) enbart eDNA (blå cirkel), 2) enbart elfisken (gul cirkel (se tabell 2)), 3) både eDNA och elfisken (delad grön yta). Fiskarterna listas från mest till minst förekommande. Notera att lokal 1, 2, 3, 4 och 7 inte hade korresponderande elfisken och enbart eDNA -data presenteras.

3.5. Jämförelse– eDNA vs. FVO artlistor



Provpunkt 7. Svartån – Vågforsens kraftverk

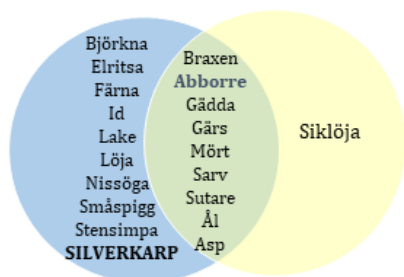
I tabell 3 och figur 6 presenteras jämförelser av artförekomst utifrån eDNA-metoden med artlistorna från fiskevårdsområden (FVO) i Svartån. Sistnämnda data baserar sig på historiskt sportfiske samt elfisken. Antalet arter funna genom eDNA jämförs med antalet arter listade för respektive FVO (tabell 2 och figur 1). Här bör noteras att ett FVO generellt sett är stort och flera provpunkter kan ingå inom ett FVO. Eftersom denna studie är en pilotstudie togs enbart ett fåtal prover i låga volymer i Svartån. Artlistorna inom ett FVO baserar sig på data över flera olika säsonger och flera år, med data både från prov- och sportfisken över flera decennier. Denna eDNA-studie däremot baserar sig på ett provtagningstillfälle under våren 2017.

I de fall där eDNA och FVO-datat kunde jämföras detekterade eDNA med en markör på åtta lokaler och två markörer på 4 lokaler 76 av totalt 90 artfynd d.v.s. 84% av arterna, FVO artlistorna räknade 61 av 90 artfynd d.v.s. 68%. I de fall där eDNA, FVO listor och elfiskedata kunde jämföras detekterade eDNA 82% av arterna, FVO listorna 68% av arterna samt sammanslagna elfisken 32% av arterna.

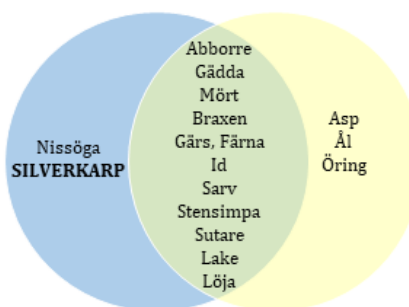
Tabell 3. Antal fiskarter inom FVO. Antal fiskarter per lokal som upptäcktes med eDNA och samt sportfiske (FVO). Kolumnen 'eDNA (FVO)/totalt' anger antal fiskarter funna genom eDNA (fet stil), inom FVO (), samt det sammanlagda artantalet. Kolumnen 'Antal arter eDNA' anger antalet arter funna med eDNA i lokalerna inom respektive FVO.

FVO	Provtagningspunkt	eDNA (FVO)/totalt	Antal arter eDNA
Nedre Svartån FVO	1. Nedre Svartån Kaga	19 (11)/20	15
	2. Mjölorp Kränge		14
	3. Odenfors kv., us.		14
Linkelösa-Odenfors FVO	4. Lindå	15 (15)/17	11
	5. Kapellån		9
	6. Forsa		4
Örjebro Vågforsens FVO	7A. Vågforsens kv. ns.	10 (13)/14	6
	7B. Vågforsens kv. us.		8
Sya-Knutsbro FVO	8A. Knutsbro kv. ns.	11 (5)/13	5
	8B. Knutsbro kv. us.		11
Öringe Mjölby FVO	9. Mjölby kv.	6 (5)/8	6
Boxholms Skogar AB	10. Bruksfallet kv. ns. Boxholm	15 (10) /18	15

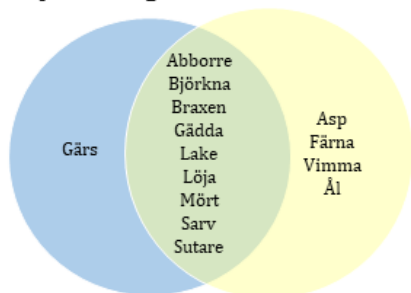
Nedre Svartån FVO – lokal 1,2,3



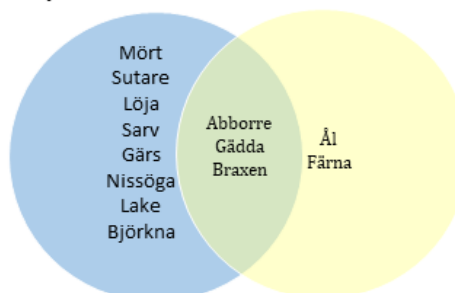
Linkelösa-Odenfors FVO – lokal 4,5,6



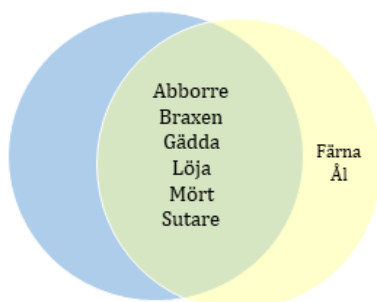
Örjebro-Vågforsen FVO – lokal 7A, 7B



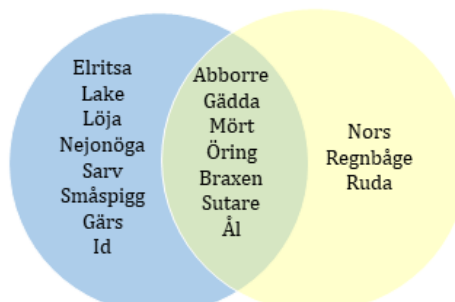
Sya-Knutsbro FVO – lokal 8A, 8B



Öringe Mjölby FVO – lokal 9



Boxholms Skogar AB – lokal 10



Figur 6. Venn diagram som visar förekomsten av fiskarter i Svartån inom olika FVO där både FVO-listor och eDNA-resultat fanns tillgängliga. Arter registrerade genom 1) enbart eDNA (blå cirkel), 2) enbart elfisken (gul cirkel (se tabell 3)), 3) både eDNA och elfisken (delad grön yta). Fiskarterna listas uppifrån från mest till minst förekommande.

3.6 Fiskarter

Abborre (*Perca fluviatilis*) är en art vars förekomst överskattas vid provfisken med översiktsnät eftersom de lättare fastnar i dessa. Abborre är sämre anpassad för höga vattenhastigheter, och är en s.k. lugnvattenfisk. Abborre förekom i elva av tolv provpunkter.

Asp (*Leusiscus aspius*) är en hotad art och kategoriseras som sårbar (VU) enligt IUCN:s rödlista. Aspen detekterades i små mängder i Svartån där den är en pelagiskt levande karpfisk som vandrar upp i strömmande vatten under leken. Aspen kräver rent, rinnande vatten samt rena sand och grusbottnar eller områden med växter som har rent rinnande

vatten. De många kraftverken med vandringshinder och korttidsregleringar samt föroreningar från odlingslandskapen i Svartån hotar arten. Asp har inte förekommit i provfisken men däremot påträffats i Svartån under lektiden i Roxen och Svartåns nedre utlopp.



Provpunkt 8. Svartån – Knutsbro kraftverk

Braxen (*Abramis brama*) är likt abborre en lugnvattenart. Under vintern samlar sig braxen i relativt täta och passiva aggregationer, vilket leder till en säsongrelaterad överdominans på lokaler där ansamlingarna finns.

Elritsa (*Phoxinus phoxinus*) är en liten strömlevande karpfisk som kräver syrerika vatten. Fynd av elritsa genom eDNA gjordes på tre av de tio lokalerna: ett fynd i Lillån och två fynd i Svartån.

Färna (*Leuciscus cephalus*) är en till strömlevande karpfisk. Färnan påträffas ofta bakom stenar eller grenar när de förekommer i strömmande vatten. Färnan påträffades genom eDNA vid Svartåns nedre del nära Roxen samt vid Lillån – Lindå. I Östergötland förekommer färnan troligtvis enbart vid Svartåns avrinningsområde (Delling m. fl. 2000). Från Svartån finns verifierade fynd av färna i huvudfåran.

Gädda (*Esox lucius*) har etablerats naturligt vid samtliga provlokaler vilket nu, tillsammans med barriärer, sannolikt utgör den huvudsakliga begränsande faktorn för laxartad fisk, t ex öring (*Salmo trutta*) i dessa vattendrag.

Lake (*Lota lota*) vandrar under vintern upp i åar för att reproducera sig. Kallvattenarten lake är uppsatt på den svenska rödlistan som nära hotad (NT), pga. sannolik minskning i antalet populationer och utbredningsområde i Sverige.

Mört (*Rutilus rutilus*) är en försurningskänslig art som förekom i betydande mängder (antal DNA-träffar) vid varje provlokal. Riklig förekomst tyder på att lokalerna inte är försurningspåverkade.

Nejonöga (*Lampetra fluviatilis* eller *L. planeri*). De olika formerna av nejonöga (havs-, flod- eller bäcknejonöga) är på samma sätt som de olika öringformerna (havs-, sjö- och bäcköring) omöjliga att skilja åt genetiskt. Den form som detekterades med eDNA är mest sannolikt den mer vanligt förekommande icke-parasitiska bäcknejonögat, som rör sig högt upp i många vattensystem. Nejonögon kräver tillgång till både sand- eller grusbotten för lek, samt tillgång till mjukbotten som uppväxtområden.



Provpunkt 9. Svartån – Uppströms Mjölby kraftverk

Nissöga (*Cobitis taenia*) är den enda arten i familjen nissögefiskar som påträffas i Sverige. Arten påträffas på grunt vatten i sjöar och vattendrag. Nissöga är nattaktiv och svårfiskad eftersom den lever nedgrävd i sand eller lera. Undersökningar av artens utbredning i Östergötland visar att arten är vanligare än man tidigare känt till och att den lever i mycket skiftande miljöer (Delling m. fl. 2000). Från Svartåsystemet är nissöga känd från sju lokaler. Nissöga var tidigare rödlistad i Sverige men är nu klassad som livskraftig. Nissöga är listad i EU:s Annex II lista till EU:s habitatdirektiv.

Regnbåge (*Oncorhynchus mykiss*) förekommer inte naturligt i Svartån. Sja Knutsbro Fiskevårdsområde har utfört s.k. ”put and take” utsättningar av arten för sportfiskare. Provtagningen skedde mellan två utsättningar och arten var troligtvis bortfiskad eller hade simmat bort från platsen vid provtagningstillfället enligt uppgifter från FVO.

Silverkarp/Marmorkarp

DNA sekvenser från silverkarp (*Hypophthalmichthys molitrix*) eller marmorkarp (*Hypophthalmichthys nobilis*) upptäcktes på två av lokalerna. Sekvenserna kontrollerades extra noga mot andra karparter i GenBank och gav 100% match på silverkarp och marmorkarp men inte på andra nära besläktade karparter. Fyndet är överraskande men inte förvånande. Andra exempel i närheten på främmande arter framkom under sommaren 2017 då sportfiskare fångade ett par stora exemplar av en pirayasläkting i Motala ström. Enligt länsstyrelsens fiskekonsulent i Östergötland var pirayan troligtvis utsläppt från ett akvarium. Experter är osäkra på om fisken som drogs upp var den enda eller om det finns flera exemplar i Motala ström (SVT, 2017).

Både marmorkarp och silverkarp härstammar från Asien. De är talrika som främmande arter och mycket skadliga i nordamerikanska vattensystem. Arterna har även spridit sig från odlingar i Europa. Enligt Artdatabankens uppgifter är silverkarpen mycket sällsynt i Sverige. Marmorkarp har däremot påträffats i Skåne. Marmorkarp köps in till fiskdammar och släpps ut eller rymmer och hamnar i svenska vatten, enligt länsstyrelsen i Skåne. Arterna är filtrerande planktonätare och karporna hotar att konkurrera ut lokala arter samt att förändra dynamiken i födoväven (Farrington et al. 2015). Dessa förändringar kan ha stor negativ betydelse för ekosystemet.



Provpunkt 10. Svartån – Uppströms Bruksfallet Kraftverk, Boxholm

Stensimpa (*Cottus gobio*) kräver syrerika hårbottenar och klart vatten för att trivas. Arten är en god indikator för vattenkvalitet. Stensimpan är nattaktiv och svårfiskad eftersom den lever gömd bland stenar och grus. Stensimpa har påträffats på sammanlagt två lokaler i nedre Svartån och i Lillån med hjälp av elfiske. eDNA-metoden detekterade arten på sammanlagt fem provpunkter i nedre Svartån och Lillån. Stensimpan är listad i EU:s Annex II lista till EU:s habitatdirektiv. Arten är svårinventerad (annat än i bäckar och små åar) med nu använda standardmetoder såsom nät- och elfiske och eDNA-metoden kan avhjälpa detta med avsevärt förbättrade detektioner i både storälvar och sjöar, vilket även möjliggör mer adekvat uppföljning av genomförda åtgärder.

Ål (*Anguilla anguilla*) Ålens status i Sverige är klassad som akut hotad (CR) (Artdatabanken 2015). Ålfiske är tillåtet i utbyggda vattensystem där arten anses ha minimal möjlighet att vandra. Detta gäller för Svartån. Ålen i Svartån antas ha hög dödlighet p.g.a. att de dödas i vattenturbiner. I Sommen har stora utsättningar av glasål bedrivits och ålen antas vandra från Sommen till Svartån. Ål hittades vid 4 lokaler; nära Sommen uppströms Bruksfallet kraftverk, nära Roxen samt vid Odenfors uppströms.

Öring (*Salmo trutta*) förekommer i Svartåsystemet som både insjööring och bäcköring, vilket är olika former av samma art. Varje vattens bestånd av öring har unika egenskaper och anpassningar, likt laxen. Sjölevande öring vandrar normalt uppströms, men ibland även nedströms, till lek- och uppväxtområden efter några säsongers tillväxt i sjön. Bäcköringen stannar hela livet i rinnande vatten och är stationär. Öringen leker på rena grusbottenar i rent strömmande vatten.

I denna studie påträffades öring uppströms Bruksfallet i Boxholm. Detta stämmer överens med förekomsten av nedströmslekande Sommenöringen, som är regionalt rödlistad i Svartån (RR) och inte kunnat vandra fritt förbi Bruksfallet som utgör ett vandringshinder.

Bevarande och förbättring av öringens levnadsvillkor i Svartån är av stor betydelse. Öringen har stor betydelse för sportfisket. Sommenöringen är genetiskt unik och lokala former av denna är värda att bevara. Vidare är öringen av stor betydelse för den rödlistade flodpärlmusslans livscykel.

4. SLUTSATSER

eDNA med hjälp av metabarkodning ger en snabb överblick av vilka arter som är närvarande i ett vattendrag och skapar en solid bas för grundkartering av fiskesamhällen. Detta är bl. a. av stor vikt för att kunna utforma åtgärds- och kontrollprogram optimalt. eDNA detekterar betydligt flera arter än traditionella metoder, även då resultaten från de senare sammanslås över tid. eDNA detekterar inte nödvändigtvis alla närvarande arter eftersom både antal provpunkter samt användning av markörer har en inverkan på resultaten. Denna studie visade att markör 2 detekterade fler arter än markör 1, vilket betyder att de lokaler som enbart testades med markör 1 inte detekterade alla arter, trots att artfynden med DNA var flera än de som detekterades genom elfisken. Senare undersökningar har visat att markör 2 detekterar fler arter och en kombination av markörerna är att föredra i mycket artrika områden.

Metoden gör det möjligt att undersöka stora geografiska områden på kort tid och detekterar fiskarter som är närvarande några dagar till några veckor före provtagningen.

För att få en uppfattning om arters närvaro vid olika årstider är det av vikt att göra eDNA inventeringar vid olika tider för att erhålla information om säsongsbetonad variation. Det är viktigt att identifiera vilka aspekter av ett vattenekosystem man vill undersöka med hjälp av eDNA. Analyser från prov som samlats in under reproduktionsperioden ger de reproducerande arterna en större relativ abundans eftersom både könsceller, yngel, småfisk och lekfisk detekteras.

eDNA är ett bra komplement till el- och nätfisken och ger en snabb översikt av närvarande arter som motsvarar 50–70 års provfisken (både nät och elfisken), vilket visats i stora studier i sjöar (Hänfling et al. 2016, Hellström et al. 2018). Denna studie utfördes i rinnande vatten där nätfiske inte är en användbar metod. Därför jämfördes eDNA resultaten enbart med tidigare utförda elfisken. Allt fler studier har jämfört elfisken och nätfisken samtidigt. Trots att eDNA detekterar många arter med högre precision än andra metoder visar denna studie att arter endera inte var närvarande eller att en del var odetekterade. Detta kan bero på att undersökningen i huvudsak utfördes med markör 1.

Mängden filtrerat vatten och filtertypen i denna pilotstudie gav goda resultat, men kunde förbättras med flera prover eller dubbla filter. Två olika markörer gav en högre detektionsfrekvens av arter. Vidare har antalet PCR replikat sedan denna studie utförts utökats i antal, vilket ökar arternas detektionsnivå.

eDNA genom metabarkodning med mitokondriellt DNA anger inte fiskens ålder, individstorlek eller kön. Problemet med eDNA har tidigare varit att markörerna som använts inte klarat av att skilja på närbesläktade arter. Denna studie använde markörer inom konserverade regioner av DNA som skiljer dessa arter åt.

Denna pilotstudie analyserade vatten vid enbart en provpunkt per lokal och trots det gav studien goda resultat. Vattnet var insamlat med hjälp av en teknik som gör att även små mängder DNA ger utslag.

eDNA-studier utförda under de rigorösa förhållanden som krävs för både fält- och laboratoriearbete är en effektiv metod för fiskinventering. Viktiga faktorer som leder till pålitliga resultat förutsätter:

- optimal design av eDNA-fältarbetet och val av provtagningspunkter och metod för provtagningen
- tränad fältpersonal som arbetar under strikt sterila förhållanden,
- laboratorier avsedda för eDNA,
- tränad laboratoriepersonal med god kunskap om molekylär-genetiskt arbete,
- en fungerande bioinformatik, som gör det möjligt att omvandla miljontals sekvenser till listor på artförekomst och antal läsningar per art.

5. REKOMMENDATIONER FÖR FORTSATTA UNDER-SÖKNINGAR

Vi föreslår att fler provpunkter i Svartån analyseras eftersom ån är mycket artrik. Vidare visade denna pilotstudie att markör 2 detekterar flera arter än markör 1. Provtagningspunkter väljs utifrån vattendragets lutning, vandringshinder och avstånd till närmaste sjö för att erhålla representativa resultat.

Den främmande arten silverkarp/marmorkarp gav positivt utslag i två lokaler i nedre Svartån. Dessa arter härstammar från Asien och är främmande och riskerar bli de mest skadliga arterna för USA:s stora sjöar. Vi föreslår att arten verifieras tidigt 2018 och en ny inventering under våren/försommaren 2018 som konfirmerar artens närvaro eller att arten inte klarat vintern.

I Svartåsystemet kommer eDNA behövas för att utvärdera fiskfaunan efter genomförda och planerade åtgärder: eDNA är särskilt lämpligt för övervakning av biologisk mångfald, design av åtgärdsprogram/ effektkontroll, före och efter fiskpassage-byggen, rivande av dammar och restaureringar.

Vi föreslår även en full inventering av musslor i Svartån eftersom en markör som med säkerhet tar fram alla musselarter togs fram tidigt under 2018.

TACK

Ett stort tack till: Teknikerna vid MoRe Research som extraherade eDNA i exklusivt samarbete. Lars Gezelius vid länsstyrelsen i Östergötland för stort engagemang och intressanta diskussioner om Svartån. Lars Björsner kontaktperson för Forshaga-Forsa FVO samt för Sya Knutsbro FVO för information om regnbågsutsättning i Svartån under 2017. Joe Li och Hayley Watson för metabarkodning och bioinformatikassistans. NatureMetrics UK för testning av markör 2. SLU Aqua i Drottningholm för vävnadsprov av asp, vilket möjliggjorde referensdata för artidentifiering.

REFERENSER

- Arrhenius A. 1921. Species and area. *J Ecol.* **9**:95–99
- Bohmann, K., A. Evans, M. T. P. Gilbert, G. R. Carvalho, S. Creer, M. Knapp, D. W. Yu, and M. de Bruyn. 2014. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology & Evolution* **29**:358 – 367.
- Bolger, A.M., Lohse, M. och Usadel, B., 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, **30** (15), 2114-2120.
- 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, and L. Bernatchez. 2017. Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities. *Molecular Ecology* **26**:5872-5895.
- Farrington, H. L., Edwards, C. E., Guan, X., Carr, M. R., Baerwaldt, K., & Lance, R. F. 2015. Mitochondrial genome sequencing and development of genetic markers for the detection of DNA of invasive bighead and silver carp (*Hypophthalmichthys nobilis* and *H. molitrix*) in environmental water samples from the United States. *PloS one*, **10**(2), e0117803.
- FVO, <https://www.ifiske.se/info-svartan.htm>
- Hänfling, B., L. Lawson Handley, D. S. Read, C. Hahn, J. Li, P. Nichols, R. C. Blackman, A. Oliver, and I. J. Winfield. 2016. Environmental DNA metabarcoding of lake fish communities reflects long-term data from established survey methods. *Molecular Ecology*
- Kelly, R.P., Port, J.A., Yamahara, K.M. and L.B. Crowder. 2014. Using environmental DNA to census marine fishes in a large mesocosm. *PloS One* **9** (1): e86175
- 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.
- Magoc, T. and Salzberg, S.L., 2011. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, **27** (21), 2957-2963.
- 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**, P. F. Thomsen, K. Bohmann, E. Cappellini, I. B. Schnell, N. A. Wales, C. Caroe, P. F. Campos, A. M. Z. Schmidt, M. T. P. Gilbert, A. J. Hansen, L. Orlando, and E. Willerslev. 2015. Ancient and modern environmental DNA. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **370**:20130383
- Ridderborg, S. and M. Appelberg. 1997. Riksfiskinventering - 96 En nationell inventering av den svenska fiskfaunan 1996. Naturvårdsverket & Fiskeriverket, Drottningholm.
- Rosenzweig M.,L. 1995. Species diversity in space and time. Cambridge Univ. Press. New York
- SERS <https://www.slu.se/institutioner/akvatiska-resurser/databaser/elfiskeregistret/>
- Shaw, J. L., 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.
- Spens, J.** 2008. Using GIS to predict landscape-scale establishment and extinctions of lacustrine salmonids: impact from keystone species, exotics, chemical & physical factors. Swedish University of Agricultural Sciences, Umeå. ISSN 1652-6880 ISBN 978-91-86195-04-5
- Spens, J.**, A. R. Evans, D. Halfmaerten, S. W. Knudsen, M. E. Sengupta, S. S. T. Mak, E. E. Sigsgaard, and **M. Hellström**. 2017. Comparison of capture and storage methods for aqueous microbial eDNA using an optimized extraction protocol: advantage of enclosed filter. *Methods in Ecology and Evolution*, **8**(5), 635-645
- SVT. 2017. <https://www.svt.se/nyheter/lokalt/ost/jonathan-fick-en-pirayaslakting-pa-kroken-i-motala-strom> 22 Augusti
- Trigal, C.**, & Degerman, E. (2015). Multiple factors and thresholds explaining fish species distributions in lowland streams. *Global Ecology and Conservation*, **4**, 589-601.

Författarnamn i **fet stil** anger medarbetare på AquaBiota

BILAGA I.

Metastrekkodning (metabarcoding eller flerartsanalyser) genom NGS (Next Generation Sequencing)

Varje levande art utsöndrar arvsmassa eller DNA. Vissa delar av en individs DNA är helt unikt för just den individen, medan andra delar av DNA delas med just den individens art, och sedan finns det DNA som ser likadant ut hos alla organismer i en grupp.

Med hjälp av jättelika databaser som är tillgänglig för alla (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) kan forskarna välja ut en liten bit DNA som man kan kopiera industriellt. Dessa små bitar kallas primers. Eftersom primern är artspecifik fastnar den enbart på DNA för den valda arten. Resultatet, dvs. en liten bit av DNA som primern kopierar kallas barcode (streckkod), och kan liknas vid en streckkod som används för att betala för varor i affärer. Dessa primers, en droppe eDNA, ett enzym och salter blandas i ett provrör. Provröret placeras i en maskin som gör massor av DNA kopior för just den arten. Detta kallas för PCR (Polymerase Chain Reaction) och bygger på proteinsyntesen.

Metastrekkodning eller Metabarcoding innebär att man designar en primer som är gemensam för alla arter inom en grupp – i denna rapport vertebrater med fokus på fisk. Primerna för metastreckkodning tillverkas så att de plockar upp en bit DNA som är likadana för alla arter inom en grupp, t.ex. alla fiskar, men DNA:t som blir avläst varierar mellan olika arter och visar en unik kod. Eftersom man analyserar flera olika arter på en gång kallas metoden metastreckkodning.

För att veta vilka arter man har läser man av PCR produkterna i en sekvenseringsmaskin som heter MiSeq och då flera arter sekvenseras samtidigt kallas detta NGS (Next Generation Sequencing). Flera miljoner läsningar av DNA finns osorterade och färdiga efter en NGS körning.

Flerartsanalyser- bioinformatik

Då resultaten är klara har man enorma mängder data som innehåller miljontals olika sorter av DNA. För att få ordning på data och för att veta vilka arter man har i ett prov använder man olika programmerings metoder som sorterar upp data. Enorma datafiler som motsvarar upp till flera terabyte (TB) data analyseras med hjälp av program som skiljer de olika DNA koderna åt. Denna process kallas bioinformatik. Då bioinformatiken är klar och sekvenserna har sorterats skapas en lista av olika DNA identiteter. Dessa jämförs med olika databaser bland annat NCBI och varje unik bit av DNA får en identitet.. Ett flertal databaser finns tillgängliga och varje gång en genetisk artikel publiceras läggs DNA sekvensen ut på nätet. Om en art inte är beskriven genetisk under bioinformatikens gång men kommer in på databaserna senare, kan man köra om bioinformatiken och få de tidigare oidentifierade sekvenserna identifierade. Vidare har Naturhistoriska Riksmuseet sekvenserat alla mitokondriska genom hos svenska fiskar. Dessa förväntas bli allmänt tillgängliga på NCBI som en service för att gynna myndigheter och forskare

Slutresultatet på rådatat sammanställs i en Excel fil som anger arter och hur många kopior DNA som lästs in för varje art inom varje enskild lokal. På basen av detta kan arterna som finns i vattnet identifieras och relativa förekomsten av arten anges.

BILAGA 2.

Antalet DNA läsningar per art inom lokalerna

Tabell B2. Antalet eDNA läsningar per art inom de olika provpunkterna. Värdena anger hur många gånger en sekvens blivit läst på artnivå och anger relativ biomassa. Varje enskild art avger eDNA olika och har därför olika gränsvärden för detektion. I tidigare eDNA studier har 100 läsningar angetts som detektionsgräns. För denna studie har vi använt artspecifika algoritmer som anger gränsvärdet för varje enskild MiSeq sekvensering. Metodiken har tagits fram med flera samarbetspartners i empiriska undersökningar 2017. Resultaten har visat att denna metodik fungerar utmärkt och ger ett mer representativt resultat än tidigare.

Provpunkt	S-1	S-2	S-3	L-4	L-5	L-6	S-7B	S-7	S-8B	S-8	S-9	S-10
Art												
Abborre	29223	29270	31655	21030	10388	0	5075	9178	72044	4446	3213	13304
Asp	32		18									
Björkna	237	1463					227		53			
Braxen	1785	21176	483	313	1646		41195	39462	8303		604	213
Elritsa		160	5274									5706
Färna	2503			5539								
Gädda	1928	537	3046	24104	1898	10109	678	1091	6160	197	496	8543
Gärs	6364	2480	7596	2499				2000	3131	1296		259
Id	1960	3667		982								318
Lake			666			1421	655		290			1530
Löja	3603	837	3373	4360	2048			1711	8582		1094	876
Mört	65491	34540	28393	71553	21867	24715	18669	25613	53603	514	53096	32450
Nejonöga												536
Nissöga	646	293	3375	200					2724			
Sarv	165	1369	1081		13		675		4143			548
Silverkarp			124		280							
Småspigg			483									6150
Stensimpa	2514	362		4044	727	1737						
Sutare	1064	396	2613	1399	96		1312		13125	464	226	189
Ål	153	67	5165									249
Öring												21890
ANTAL ARTER	15	14	15	12	9	5	8	6	11	5	6	15

BILAGA 3.

Asp och Vimma (vävnadsprover erhållna från SLUaqua) 12 S sekvenser för BOLD och NCBI databaserna.

Leusiscus Aspius, partial 12 S sekvens, GenBank referens; MK574834.1

```
TGTCGGTAAAACTCGTGCCAGCCACCGCGTTAAACGAGAGGCCCCAGTTAATAATA  
CACGGCGTAAAGGGTGGTTAAGGAAAGTATAACGATAAAGCCGAATGGCCCTTTGGC  
TGTCATACGCTTCTAGGTGTCCGAAGTCCAATATACGAAAGTAGCTTTAATAGAGCC  
CACCTGACCCACGAAAGCTGAGAAACAACTGGGATTAGATACCCACATAT
```

Vimba vimba 12S sekvens. GenBank referens; MK574834.1

```
ATATGTGGGGTATCTAATCCCAGTTTGTTCCTCAGCTTTCGTGGGGTCAGGTGGGCTC  
TATTAAAGCTACTTTCGTATATTGGACTTCGGACACCTAGAAGCGTATGACAGCCAA  
AGGGCCATTCGGCTTTATCGTTATACTTTCCTTAACCACCCTTTACGCCGTGTATTAT  
TAACTGGGGCCTCTCGTTTAACCGCGGTGGCTGGCACGAGTTTACCGA
```

Länsstyrelsen Östergötland
Östgötagatan 3 581 86 Linköping
Växel: 010-223 50 00
E-post: ostergotland@lansstyrelsen.se

lansstyrelsen.se/ostergotland

Länsstyrelsen är en statlig myndighet som finns nära människorna i varje län. Vi är en viktig länk mellan människor och kommuner å ena sidan och regering, riksdag och centrala myndigheter på den andra. Landshövdingen är chef för Länsstyrelsen och har i uppdrag att följa utvecklingen och informera regeringen om länets behov.

