



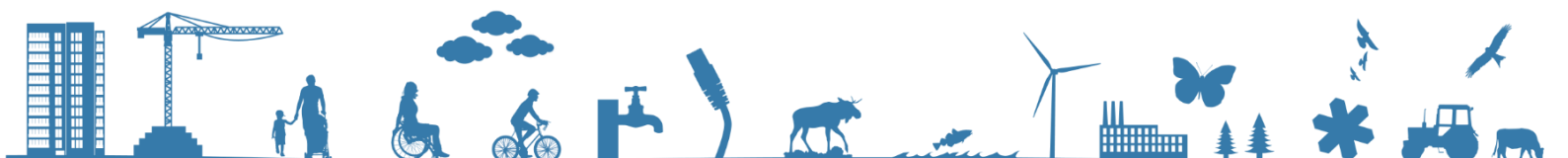
LÄNSSTYRELSEN
HALLANDS LÄN



Uppföljande inventering av den invasiva arten solabborre

Frida Sundqvist, Länsstyrelsen i Hallands län

Per Sundberg, Lili Cluzal-Burgalat, Marty Breidenbach & Marina Panova, SEAnalytics AB



Titel: Uppföljande inventering av den invasiva arten solabborre

Rapportnummer: 2023:01

: 1101 108

:

Diarienummer: 2976-2022

Författare: Frida Sundqvist, Per Sundberg, Lili Cluzal-Burgalat, Marty Breidenbach,

0DULQD3DØQRØ

Inledning

För att följa upp förekomsten av den invasiva främmande arten solabborre (*Lepomis gibbosus*) i en damm och nedströms i vattensystemet i Anneberg, Kungsbacka kommun, genomfördes flera inventeringar med eDNA i kombination med elfiske under sommaren 2022. Undersökningarna bekräftade förekomst av arten i dammen och i bäcken precis nedströms dammen, men det fanns inga indikationer på att den spridit sig längre nedströms i vattensystemet.

Solabborre (*Lepomis gibbosus*) är en sötvattensfisk i ordningen abborrlika fiskar (Percoidei) som ursprungligen kommer från Nordamerika, men som avsiktligt importerats till Europa. Solabborre är en art som sedan 2019 är upptagen på EU:s förteckning över invasiva främmande arter av unionsbetydelse. Det innebär att det enligt EU:s förordning nr 1143/2014 är förbjudet att sälja, importera, föda upp, transportera, släppa ut i naturen eller hålla levande exemplar av arten. Konstaterade förekomster av arten i Sverige ska bekämpas med målet att utrota arten. I Sverige betraktas arten enligt Strand et al. 2018 som en "dörrknackare" eller en art med tillfällig förekomst som ännu inte spridits allmänt och dess invasionspotential bedöms som medelhög, och med en måttlig risk för stor påverkan på biologisk mångfald.

År 2018 upptäcktes solabborre i en grävd damm i närheten av Kungsbacka, Hallands län. Populationen i dammen uppskattades då till cirka 1000 individer mellan 2–8 cm och bör med tanke på antal och storlek ha funnits där ett tag (Bohman et al. 2018). Försök att utrota arten har, efter upptäckten 2018, genomförts genom att tömma dammen och genom denna åtgärd ansåg man att arten troligtvis var utrotad från lokalen. Under sommaren 2022 genomfördes en uppföljande undersökning baserad på en kombination av eDNA och elfiske i dammen och närliggande vattendrag för att följa upp effekten av tidigare utrotnings åtgärder.



Figur 1. Damm i Anneberg där population av solabborre upptäcktes 2018. Foto: Per Sundberg.

Inom miljöövervakningen ökar användningen av DNA-baserade metoder för att bestämma och upptäcka arter. Det kan gälla artbestämning utifrån DNA-sekvenser (DNA barcoding) eller att påvisa förekomsten av arter inom ett område utifrån de genetiska spår organismer lämnar efter sig i naturen på olika sätt och i olika omfattning. Det senare benämns miljö-DNA, eller vanligare eDNA (från engelskans environmental DNA). Fördelen med eDNA är att det är en icke-destruktiv undersökningsmetod eftersom inga djur/organismer behöver fångas (som till exempel i provfiske), eller att man faktiskt behöver observera *in situ* den art som ska övervakas. Det finns många studier som visar att eDNA är ett kraftfullt och väl fungerande verktyg, speciellt har det använts framgångsrikt för undersökningar av fisksamhällen där det för vissa frågeställningar kan ersätta provfiske. eDNA har tidigare använts för inventering av solabborre i Kungsbacka (Bohman et al. 2018).

Den inledande undersökningen baserad på elfiske kunde inte påvisa förekomsten av arten på någon av de 10 lokalerna som undersöktes, men det fanns DNA spår i en hölja alldeles utanför dammen. Detta ledde till ett upprepat elfiske och en upprepad eDNA provtagning på två lokaler som bekräftade förekomsten av arten i dammen och i höljan precis nedströms dammen. Efter det att förekomst av solabborre kunde konstateras så genomfördes ytterligare en provtagning under tidig höst för att undersöka hur stor spridning som skett nedströms i bäcken. Denna undersökning skedde genom elfiske på 4 lokaler och eDNA provtagning på 6 lokaler längst med bäcken.

Frida Sundqvist & Per Sundberg

Innehållsförteckning

Inledning	3
Innehållsförteckning	5
Bakgrund.....	6
Material och metoder	6
eDNA.....	6
<i>Insamling.....</i>	6
<i>DNA extraktion och dPCR analys.....</i>	8
<i>Dataanalys</i>	8
Elfiske.....	9
Resultat.....	11
Provtagning juni 2022	11
Provtagning augusti 2022	12
Provtagning september 2022	12
Diskussion	14
Referenser	14
Bilaga 1.....	15
Bilaga 2.....	17

Bakgrund

Under sommaren 2018 upptäcktes en förekomst av den invasiva främmande arten solabborre, *Lepomis gibbosus*, i en damm i Anneberg, Kungsbacka kommun. Förekomst av solabborre konstaterades då i dammen och i bäcken nedströms dammen. Information om den första upptäckten av solabborre finns att läsa i rapporten "Jakten på solabborren" av Bohman et al. 2018. Sedan dess har bekämpning av solabborre skett i dammen genom att dammen har tömts på vatten och det vatten som inte gått att tömma ut har pumpats genom en skärande pump. Under hösten 2021 genomförde Länsstyrelsen i Hallands län ett elfiske i dammen utan att fånga någon solabborre vilket resulterade i att man rapporterade bekämpningen som lyckad och att solabborren med största sannolikhet var utrotad från platsen.

Under 2022 planerades en uppföljande undersökning med en kombination av elfiske och eDNA för att följa upp utrotningsförsöket, både i dammen och nedströms i vattensystemet. Den första planerade undersökning fick sedan kompletteras vid ytterligare två tillfällen för att säkerställa resultat och följa upp spridning. Denna rapport innehåller en beskrivning av hur dessa provtagningar genomfördes och dess resultat.

Material och metoder

eDNA

Insamling

Vattenprover togs på de lokaler som anges i tabell 1. På varje lokal togs om möjligt flera subprover på olika djup med hjälp av sterila 1-litersburkar. På några lokaler användes en teleskop-båtshake som gjorde det möjligt att nå ut längre från kanten utan att behöva gå ner i vattnet (figur 2). Subproverna samlades i en steril 2-litersburk från vilket sedan två prover togs och filtrerades. All insamling gjordes med engångsutrustning för att förhindra kontamination, i fallet med båtshaken så steriliserades den med 10 % klorinlösning mellan provlokalerna.

Vattenproverna filtrerades och fixerades i anslutning till insamlingen (max 4 timmar efter provtagning). Detta är viktigt eftersom flera studier visar att DNA:t ganska snabbt bryts ner efter det lämnat källan. Proverna filtrerades i sterila och inkapslade Sterivex® filter (0,45 µm porstorlek) vilka sedan fixerades i 95 % etanol och förslöts med proppar. Varje filter placerades därefter i 50ml Falcon-rör för att förhindra korskontamination mellan filter. Filtren placerades i -20°C frysa fram till extraktion av DNA. Som negativa "fältkontroll" filtrerades 0,5 liter DNA/RNA-fritt vatten.



Figur 2. För att kunna nå ut på vissa lokaler användes en teleskop-båtshake i vars ände det går att fästa en burk. Foto: Per Sundberg.

Tabell 1. Lokaler för eDNA prover och elfiske, samt datum för respektive provtagning 2022.

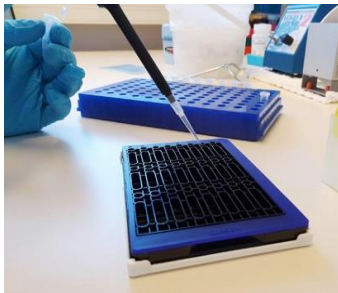
Lokal	Position (WGS84) Latitud (N)/ Longitud (O)	Datum för eDNA provtagning	Datum för elfiske
1	N 57.5108 / O 12.0791	20/6	20/6
2	N 57.5456 / O 12.0987	20/6	20/6
3	N 57.5255 / O 12.1080	20/6	20/6
4	N 57.5345 / O 12.1185	20/6	20/6
5	N 57.5418 / O 12.1485	21/6	20/6
6	N 57.5429 / O 12.1192	21/6; 19/9	21/6; 8/9
7	N 57.5492 / O 12.1149	21/6; 19/9	21/6; 8/9
8	N 57.5527 / O 12.1130	21/6; 19/9	21/6; 8/9
9	N 57.5551 / O 12.1126	21/6; 29/8; 19/9	21/6; 29/8; 8/9
10 (dammen)	N 57.5553 / O 12.1126	21/6; 29/8	21/6; 29/8; 8/9
11	N 57.5441 / O 12.1191	19/9	
12	N 57.5529 / O 12.1131	19/9	
13	N 57.5545 / O 12.1130	19/9	

DNA extraktion och dPCR analys

DNA extraherades från filtren med Nucleospin eDNA water kit (Macherey-Nagel) med den teknik och standard som utvecklats i laboratoriet. Koncentration av DNA i extrakten mättes med Qubit® fluorometer. Notera att detta mäter koncentrationen av all DNA i provet och inte specifikt DNA från målarten.

För att påvisa förekomsten av DNA från målarten solaborre användes en applikation av kvantitativ PCR: digital PCR (dPCR). Metoden beskrivs i Bilaga 1 och på QiaGens webbplats:

<https://www.qiagen.com/us/applications/digital-pcr/beginners>



Figur 3. QiAcuity One systemet och den typ av 24-plattor vi använt. Foto: Yannic Wocken.

Proverna preparerades inför analysen med QIAcuity One med Probe MM kit (QIAGEN). Varje prov, inklusive positiva och negativa prover, analyserades i duplikat för att öka tillförlitligheten och öka sannolikheten att hitta målarten. DNA extraherat från vävnad av solaborre användes som positiv kontroll i analysen, och DNA/RNA fritt vatten som negativ kontroll.

Extraherat DNA från varje lokal/prov applicerades på en 24-provplatta. 40 µl reaktionsvolym innehållande 10 µl Qiagen mix x4 för analys med prober, 2 µl primer-probe assay 20x (Bio-Rad), 10 µl DNA från prov och 18 µl vatten (figur 3). Vi använde en assay (primers + prob) utvecklade i vårt laboratorium baserat på 16S-genen och som är artspecifik för solaborre.

Tabell 2 anger invärden för PCR-analysen (cykler och temperatur)

Tabell 2. PCR/thermocykling enligt följande schema

Cykler	Temperatur	tid
1x	95°C	2 min
40x	95°C 58°C	30 sek 1 min

Dataanalys

Förekomst av DNA från solaborre indikerar att arten finns i omgivningen. Analysen baseras på digital PCR, en variant av kvantitativ PCR. En PCR assay är baserad på artspecifika primers (korta nukleotid-sekvenser) som amplifierar DNA från målarten (om närvarande), och det är denna process som kan övervakas och observeras. Finns inget DNA

från mål-arten sker heller ingen amplifiering. Tekniken bygger alltså inte på sekvensering och kräver heller ingen bioinformatisk analys som till exempel fallet med metabarcoding. Men, man får heller inte reda på vilka andra arter som finns i området, utan tekniken förutsätter att frågan är om arten XX finns i sjön.

Om målarten saknas så blir det uppenbarligen inte heller någon amplifiering -> negativt resultat. dPCR är en kvantitativ analysmetod så ju fler molekyler som påträffas, desto "starkare" signal/resultat. Eftersom mängden filtrerat vatten varierar mycket, och därmed uppfångat DNA, är det svårt att kvantitativt jämföra prover. Därför rapporteras resultaten här i en kvalitativ skala där "-" = inget målarts-DNA, "+" = lite, "++" = måttliga mängder, och "+++" = stor mängd målarts-DNA. dPCR ger absoluta mått men i det här fallet varierar den mängd vatten som har kunnat filtreras så kraftigt att vi valt denna kvalitativa bedömning som ändå svarar på den grundläggande frågan om förekomst eller inte av solabborre. Rådata har också genomgått manuell kontroll för att kontrollera att till exempel dammkorn har registrerats som en positiv signal.

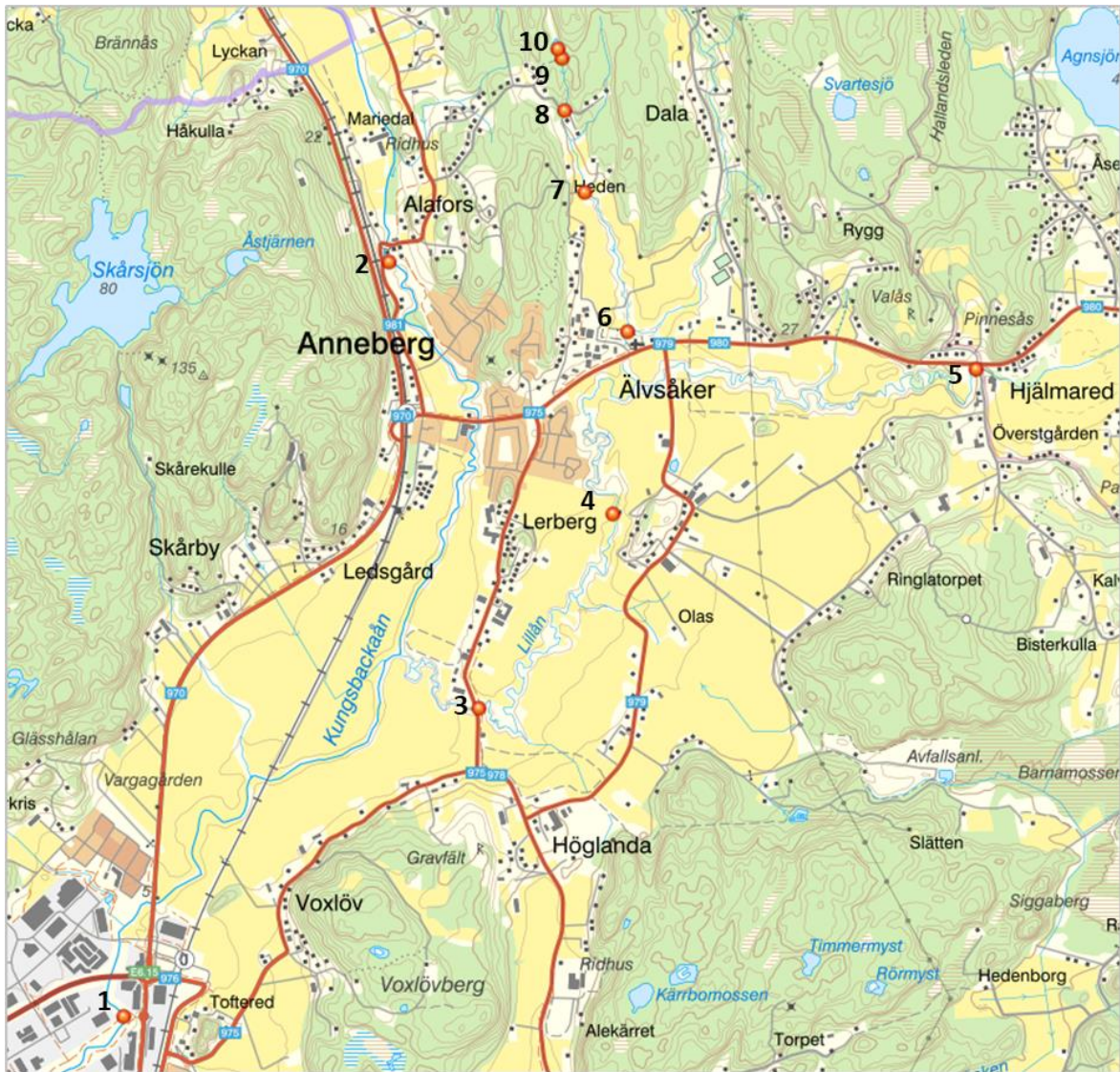
Elfiske

Elfisket genomfördes med standardiserad metodik för kvalitativt elfiske för inventering av fiskfaunan (Degerman och Sers 2017). Elfisket genomfördes vid tre olika tillfällen. Vid det första elfisketillfället, som var den inplanerade uppföljningen, genomfördes elfiske på 10 olika lokaler under den 20–21 juni 2022 (tabell 1). Av dessa lokaler var 2 lokaliserade i Kungsbacka ån, 3 stycken i Lillån, 4 stycken i bäcken nedströms dammen och ytterligare en station var lokaliserad i dammen (figur 5, bilaga 2). Lokalerna var utplacerade nedströms dammen i vattensystemet för att kunna se eventuell spridning av solabborre.

Elfiske genomfördes, efter eDNA analys av första provtagningen, vid ytterligare två tillfällen vid vissa lokaler i bäcken och i dammen (tabell 1). Vid det första tillfället, den 29 augusti, genomfördes elfiske vid två lokaler för att säkerställa resultat av eDNA provtagningen som genomfördes i juni. Vid det andra tillfället, 8 september, genomfördes elfiske vid 5 lokaler för att undersöka eventuell förekomst och spridning av solabborre i dammen och bäcken nedströms. Samtliga parametrar som noterades vid respektive lokal presenteras i bilaga 2.



Figur 4. Pågående elfiske på lokal 2. Foto: Frida Sundqvist.



Figur 5. Karta över provtagningsområdet med de tio provtagningslokalerna, för både elfiske och eDNA, ut markerade. Provtagningslokal nummer tio är i dammen, lokal 6–9 i bäcken nedströms dammen, lokal 4–5 är i Lillån och lokal 1–2 i Kungsbackaån.

Resultat

Provtagning juni 2022

Syftet med provtagningen var att följa upp förekomsten av solabborre i dammen och nedströms i vattensystemet efter utförda bekämpningsinsatser med hjälp av eDNA och elfiske. Elfisket utfördes till stor del för att verifiera eDNA tekniken men även för att dessa två metoder kompletterar varandra väl.

Provtagning för eDNA resulterade i en svag signal av målarten på lokal 9, en hölja alldeles nedanför dammen där bäcken börjar. Provet analyserades två gånger (med samma resultat) för att utesluta slumpmässigt fel. Resultatet tolkades som säker indikation på förekomst av arten, förmodligen i dammen.

Elfisket som utfördes i juni resulterade inte i någon fångst av solabborre på någon av de tio lokalerna. Elfisket resulterade på flera lokaler i fångst av andra arter och dessa presenteras i bilaga 2.

Tabell 3. Resultat av dPCR analys och elfiske. Notera att DNA koncentration är totalmängd och inte specifikt från solabborre. Kolumnen dPCR och elfiske visar om det förekom fångst av solabborre (+) eller inte (-). Vid varje lokal togs två eDNA prover och det genomfördes ett elfiske. Grått fält indikerar att ingen provtagning skett. Se tabell 1 och bilaga 2 för beskrivning av lokal.

Lokal	eDNA prov	Filtrerad volym (ml)	DNA koncent. (ng/ μ L)	dPCR +/-	Elfiske
1	1:1	250	0.723	-	-
	1:2	260	1.08	-	
2	2:1	650	2.09	-	-
	2:2	650	1.95	-	
3	3:1	200	0.801	-	-
	3:2	160	0.532	-	
4	4:1	400	1.87	-	-
	4:2	400	1.97	-	
5	5:1	300	1.74	-	-
	5:2	300	2.30	-	
6	6:1	100	1.22	-	-
	6:2	150 (5 μ m f-filter)	1.24	-	
7	7:1	300	1.62	-	-
	7:2	300	1.88	-	
8	8:1	150	1.44	-	-
	8:2	200	1.78	-	
9	9:1	80	1.81	+	-
	9:2	80	2.08	+	
10	10:1	180	1.83	-	-
	10:2	140	2.00	-	
Kontroll	blank	400	ej mätbart	-	

Provtagning augusti 2022

I ljuset av resultatet av eDNA analysen från juni beslöt Länsstyrelsen att genomföra ytterligare elfiske på lokal 9 och i dammen (lokal 10). Elfisket genomfördes under eftermiddagen den 29 augusti. Inför detta fiske togs samma dag på förmiddagen nya prover för eDNA på olika ställen i dammen och på lokal 9. Tabell 4 visar tydliga signaler på förekomst av arten i både dammen och lokal 9 och detta konfirmerades under eftermiddagen med elfiske. Extraktionen har gått bättre den här gången jämfört med provtagningen i juni, och måltartssignalen är också starkare. Tydligast signal kommer från norra delen av dammen (D3:1 och D3:2 i Tabell 4). I dammen togs prover på tre lokaler (D1, D2 och D3) och på samtliga lokaler togs 2 prover.

Resultatet från elfisket på station 9, i hölja precis nedanför dammen där bäcken börjar, resulterade i fångst av en solabborre på 11 cm. Även elfisket i dammen, station 10, resulterade i fångst av en solabborre, denna en mindre individ på 4,5 cm.

Tabell 4. Resultat av dPCR analys. Se tabell 1 för beskrivning av lokal.

Dammen/höljan	filtrerad volym (ml)	DNA koncent. (ng/μL)	dPCR +/-
D1:1	130	2.91	+
D1:2	130	2.61	+
D2:1	60	3.62	++
D2:2	65	3.84	+
D3:1	110	2.97	+++
D3:2	110	3.30	+++
9:1	70	6.04	++
9:3	60	6.60	+

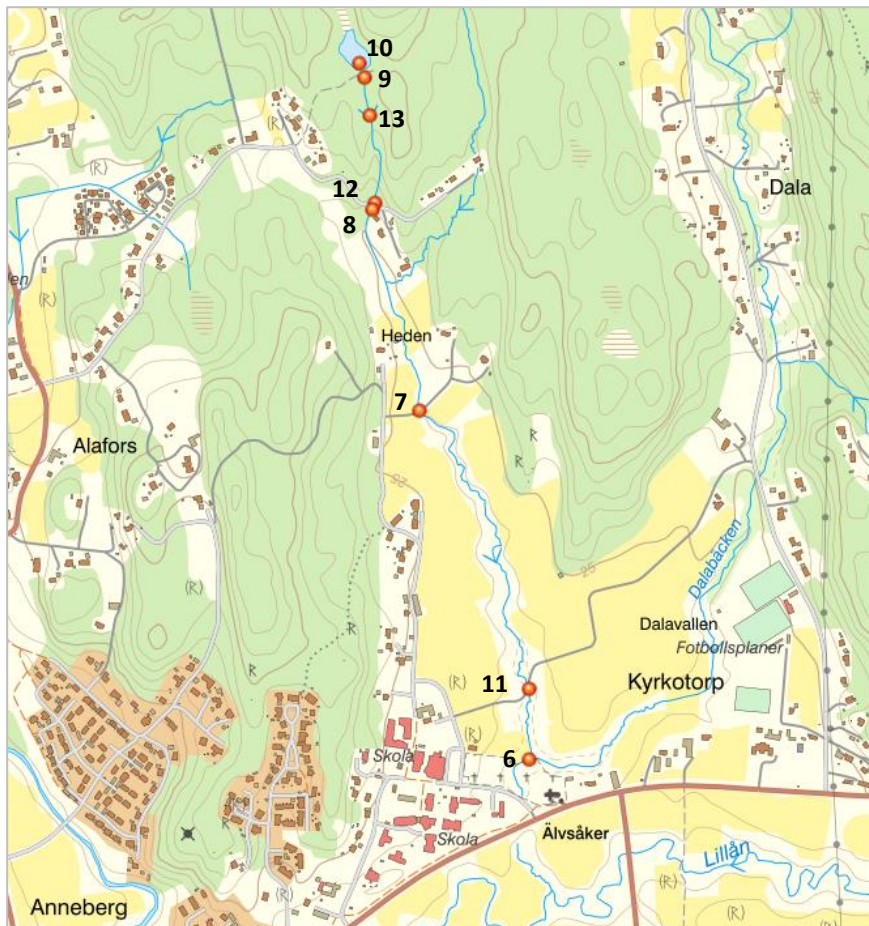
Provtagning september 2022

I ett försök att utreda hur långt ifrån dammen nedströms som solabborren spridit sig togs nya prover med fokus på lokaler utmed den bäck som leder från dammen och ner till Lillån (figur 6). Proverna togs efter en längre tids torka och det var mycket lite vatten i bäcken, men det fanns ett tydligt flöde speciellt i de övre delarna av bäcken. Resultatet från eDNA provtagningen (Tabell 5) visar att det finns signal i närheten av dammen, men inte längre ner i systemet.

Innan eDNA provtagningen genomfördes även ett elfiske i dammen (lokal 10) och på fyra lokaler nedströms i bäcken (lokal 6–9) den 8 september. Detta elfiske resulterade i en fångst av 34 stycken solabborrar i dammen med varierande storlek mellan 2,6 – 6,2 cm. I bäcken var det endast på lokal 9 som det fångades solabborre, en individ på 5 cm, och på övriga 3 lokaler fångades inte några solabborrar. På lokal 6 fångades andra arter, detta presenteras i bilaga 2.

Tabell 5. Resultat av dPCR analys. Se tabell 1 för beskrivning av lokal.

Lokal	filtrerad volym (ml)	DNA koncent. (ng/ μ L)	dPCR +/-
6:1	70	4.6	-
6:2	80	3.94	-
7:1	360	1.52	-
7:2	270	1.4	-
8:1	90	1.09	-
8:2	100	1.06	-
9:1	50	4.4	++
9:2	50	1.18	++
11:1	50	5.32	-
11:2	40	6.32	-
12:1	100	2.68	+
12:2	100	1.58	+
13:1	50	5.12	+
13:2	65	3.55	+
blank	540	ej mätbart	-



Figur 6. Karta över bäcken med de provtagningslokaler som besöktes i september för att kontrollera spridning nedströms. Elfiske skedde vid lokal 6–10 men eDNA provtagning skedde vid samtliga lokaler förutom dammen (lokal 10).

Diskussion

Att genomföra uppföljningen av förekomst och vidare också utreda spridningen av solabborre i systemet med en kombination av både eDNA och elfiske har fungerat väl och de två metoderna har kompletterat varandra. Till skillnad mot elfiske så täcker eDNA ett större undersökningsområde, hur stort beror på strömmar och andra rörelser i vattnet. Indikationen på arten på lokal 9 under provtagningen i juni visar på potentialen i tekniken. Det är en liten hölja och elfisket där borde ha visat på förekomst av solabborre om de hade funnits där vid prov-tillfället. Den svaga, men tydliga (prover kördes om en gång för att utesluta slumpfel) signalen indikerade att arten fanns i höljan i bäcken eller uppströms, i dammen. Nytt elfiske senare konfirmerade också förekomsten både i höljan och uppströms i dammen. Utan eDNA resultaten hade förmodligen arten betraktas som utrotad efter tidigare bekämpningsinsatser då dammen tömts.

En egenskap, som i vissa fall kan vara till nackdel, är att påvisande av målarts-DNA inte behöver vara belägg för att arten finns just på den platsen där provet togs. Provtagningen i september visar på detta. Det fanns knappast något vatten alls på lokalerna 12 och 13 (Tabell 1) och hade det funnits fiskar där hade vi sett det. Men det var en viss rörelse i vattnet som har fört med sig DNA från lokalerna uppströms, lokal 9 och 10, där förekomst påvisats med elfiske.

Undersökningarna visar på förekomst av solabborre och en viss spridning från dammen till den övre delen av bäcken, fram till första vägtrumma som är lokaliserad precis uppströms lokal 8. Resultaten från denna undersökning är ett bra underlag för att påbörja nya bekämpningsinsatser med målet att utrota solabborre från dessa lokaler.

Referenser

- Bohman, P, Sundberg, P., Klinth, M., Obst, M. (2018). Jakten på solabborren (*Lepomis gibbosus*). En eDNA-studie i Kungsbackaån. Aqua reports 2018:21. Institutionen för akvatiska resurser, Sveriges lantbruksuniversitet, Drottningholm Lysekil Öregrund.
- Degerman, E. & Sers, B. (2017) Undersökningstyp – Elfiske i rinnande vatten. Version 1:8 2017-04-25 (17 s). Laddas ner:
<https://www.slu.se/globalassets/ew/org/inst/aqua/externwebb/databaser/elprovfiskedatabasen/undersokningstyp-fisk-i-rinnande-vatten-vadningselfiske.pdf>

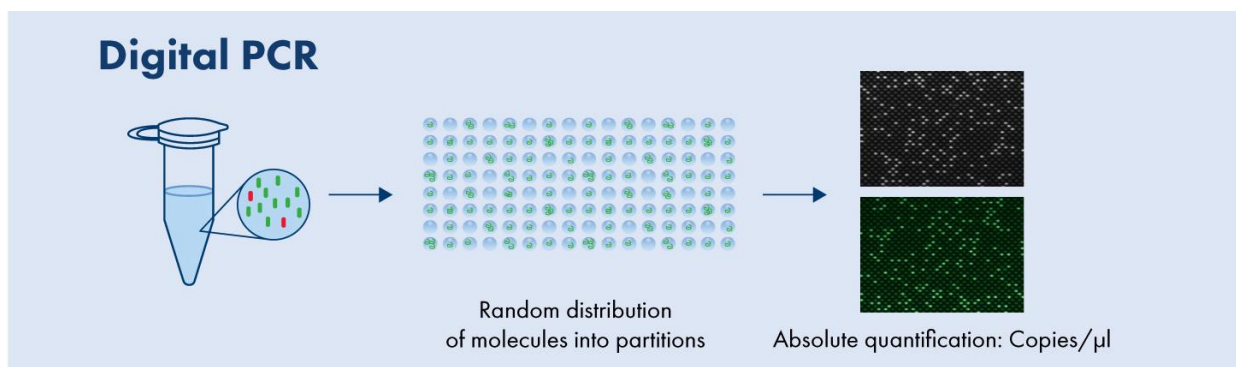
Bilaga 1

Målartsanalys med dPCR (digital PCR)

Analys med PCR (Polymeras Chain Reaction) bygger på att en kort DNA-sekvens som är unik för arten som ska inventera (mål-arten) mångfaldigas (amplifieras) i PCR-reaktionen. Det är den processen som kan detekteras på olika sätt, beroende på vilken teknik som används. Det första steget i en målartsanalys baserad på den här tekniken är att designa och testa ett primer-par som är unikt för arten så att det med säkerhet går att säga att det bara DNA från den eftersökta arten som amplifieras i PCR-reaktionen. Det här steget innefattar också test med närliggande arter, och att hitta just den molekylära markör (till exempel COI, 12S, 16S,..) som ger en unik sekvens för arten. I det här steget används vävnad (eller topsat DNA) från specimens som har identifierats till korrekt art. Många eDNA assays/protokoll avslutas med dessa steg, men tekniken bör/måste också verifieras med "skarpa" test i fält-situationer för att kunna säkerställa att de fungerar som övervakningsmetod. Med detta menas att prover tas på lokaler med bekräftad förekomst av målarten. Ett ytterligare steg är att försöka få fram en statistisk power-funktion för hur många prover som måste tas för att minimera risken för falska negativa. Falska negativa är förstås ett speciellt stort problem när det kommer till övervakning av invasiva arter, där en missad förekomst kan ställa till stora problem. Falska positiva är inte ett lika stort problem eftersom flera undersökningar tyder på ganska kort livslängd för DNA i vattnet - ett oväntat resultat kan alltså kontrolleras genom ett nytt prov någon vecka senare för att se om arten fortfarande finns kvar, eller om det exempelvis kanske rörde sig om något DNA från fågelspillningar.

Vi har använt oss av QiAcuity (QiaGen), ett system för digital PCR (dPCR) som är en form av mikrofluid teknik där varje enskild PCR-reaktion delas upp i ett stort antal (runt 24 000) partitioner. Detta gör dels att det blir lätt att kvantifiera i hur många partitioner vi kan se en PCR-reaktion (blir alltså ett direkt mått på mängden målarts-DNA). Uppdelningen innebär också att annat DNA inte stör ampliferingen som annars kan ske, och detta gör att känsligheten ökar. dPCR har en högre känslighet än qPCR och kan detektera även väldigt låga koncentrationer av DNA-molekyler i ett prov.

Nedan visas schematiskt och grafiskt de olika stegen i analysen.



(Källa: <https://www.qiagen.com/us/applications/digital-pcr/beginners>)

I första steget blandas det extraherade DNA med olika reagenser, gröna prickar DNA från målarten och rött bakgrunds-DNA. Nästa steg är att partitionera lösningen i flera tusen individuella reaktioner där en PCR-reaktion sker i varje partition. Partitioner med målarts-DNA är här markerade grönt, mängden positiva partitioner är kopplat till antalet ursprungsmolekyler.

I nästa steg görs en beräkning av medeltalet positiva partimotioner baserat på en Poisson-fördelning.

Poisson's law gives meaning to partitioning

Contrary to real-time qPCR, digital PCR does not rely on every amplification cycle to determine the relative amount of target molecule; rather, it relies on Poisson statistics to determine the absolute target quantity following an end-point amplification.

As the target molecule is distributed randomly across all available partitions, Poisson distribution estimates the average number of molecules per partition (zero, one or more) and calculates the copies of the target molecule per positive partition. Poisson statistical analysis of the number of positive and negative reactions yields precise, absolute quantitation of the target sequence.

X number of partitions will have:
● 0 target molecule ● 1 target molecule ● 2 target molecules ● 3 target molecules
Up to a maximum of 5 target molecules per partition.

(Källa: <https://www.qiagen.com/us/applications/digital-pcr/beginners>)

Utifrån det beräknas absoluta koncentrationer av målarts DNA i prover i antal DNA kopior per ul prov med konfidensintervall. Dessa koncentrationer kan vidare normaliseras mot volym av filtrerat vatten och totalmängden DNA i provet.

Bilaga 2

Data från elfiskelokalerna

I denna bilaga presenteras elfiske resultaten från samtliga lokaler. Resultatet är uppdelat på tre tillfällen. Tillfälle 1 omfattar den planerade uppföljningen den 20–21 juni. Tillfälle 2 är uppföljningen av eDNA resultaten den 28 augusti och tillfälle 3 är undersökningen av spridningen i bäcken där elfisket utfördes den 8 september.

Lokal 1: Kungsbackaån (nedströms Lillån)

Tillfälle 1: Datum: 2022-06-20
Vatten: Lugnflytande
Bottensubstrat: stenigt (troligtvis sprängsten)
Vattentemperatur: 16,0 grader
Position (WGS84): N 57°30'39''/ E 12°4'45''
Fångst: Ingen fångst och svårfiskad lokal då det var djupt och väldigt sluttande kanter.



Figur 7. Lokal 1 (Kungsbackaån). Foto: Frida Sundqvist.

Lokal 2: Kungsbackaån (Alafors)

Tillfälle 1: Datum: 2022-06-20
Vatten: Strömmande
Bottensubstrat: stenigt
Vattentemperatur: 16 grader
Position (WGS84): N 57°32'44''/ E 12°5'55''
Fångst: Gulål, 1 st ca 25 cm
Lax 1+: 5 st
Lax 0: 24 st



Figur 8. Lokal 2 (Kungsbackaån) nedströms Alafors kraftverk. Foto: Frida Sundqvist.

Lokal 3: Lillån (nedströms bäcken 1)

Tillfälle 1: Datum: 2022-06-20

Vatten: Lugnflytande

Bottensubstrat: sten, grus

Vattentemperatur: 15 grader

Position (WGS84): N 57°31'31''/ E 12°6'28''

Fångst: Öring 1+: 4 st

Öring 0: 1 st

Kommentar: Samtliga fiskar fångades vid en nacke med strömmande vatten.



Figur 9. Lokal 3 (Lillån). Foto: Frida Sundqvist.

Lokal 4: Lillån (nedströms bäcken 2)

Tillfälle 1: Datum: 2022-06-20
Vatten: Lugnflytande
Bottensubstrat: sandigt med inslag av grus och lera
Vattentemperatur: 15 grader
Position (WGS84): N 57°32'4'' / E 12°7'6''
Fångst: Ingen fångst



Figur 10. Lokal 4 (Lillån). Foto: Frida Sundqvist.

Lokal 5: Lillån (uppströms bäcken)

Tillfälle 1: Datum: 2022-06-20

Vatten: Svagt strömmande

Bottensubstrat: Sten och grus, bredd på ån ca 3–4 meter

Vattentemperatur: 15 grader

Position (WGS84): N 57°32'30'' / E 12°8'54''

Fångst: Lax 1+: 6 st (2 st 100 mm, 3 st 110 mm, 1 st 120 mm)

Lax 0: 8 st (3 st 40 mm, 2 st 45 mm, 2 st 50 mm, 1 st 55 mm)

Öring 1+: 1 st (150 mm)

Öring 0: 1 st (50 mm)

Ål: 2 st (150 och 300 mm)



Figur 11. Lokal 5 (Lillån) Foto: Frida Sundqvist.

Lokal 6: Bäckan (vid kyrkan)

Tillfälle 1: Datum: 2022-06-21
Vatten: Lugnflytande (ca 1,5 meter bred bäck)
Bottensubstrat: Lera (ganska mkt växtlighet i bäcken)
Vattentemperatur: 12 grader
Position (WGS84): N 57°32'34''/ E 12°7'9''
Fångst: Nejonöga: 7 st (2 st 100 mm, 2 st 110 mm, 3 st 10 mm)
Elritsa: 5 st (2 st 40 mm, 1 st 60 mm, 2 st 70 mm)
Öring 1+: 3 st (2 st 110 mm, 1 st 130 mm)

Tillfälle 3: Datum: 2022-09-08
Vatten: Lugnflytande (ca 1,5 meter bred bäck)
Fångst: Nejonöga: 1 st (130 mm)
Elritsa: 20 st (45, 45, 50, 55, 55, 55, 60, 60, 60, 65, 70, 70, 70, 75, 75, 75, 75, 75, 85 mm)
Öring 1+: 8 st (95, 110, 110, 120, 130, 130, 140, 170 mm)



Figur 12. Lokal 6 (bäckan, vid kyrkan). Foto: Frida Sundqvist.

Lokal 7: Bäckén

Tillfälle 1: Datum: 2022-06-21
Vatten: Stillastående (i en göl)
Bottensubstrat: grus och sten
Vattentemperatur: 16 grader
Position (WGS84): N 57°32'57''/ E 12°6'53''
Fångst: Ingen fångst
Kommentar: fångade 1 st groda

Tillfälle 3: Datum: 2022-09-08
Vatten: Stillastående (i en göl)
Fångst: Ingen fångst



Figur 13. Lokal 7 (Bäckén). Foto: Frida Sundqvist.

Lokal 8: Bäck

Tillfälle 1: Datum: 2022-06-21
Vatten: Lugnflytande
Bottensubstrat: Grus och sten
Vattentemperatur: 12 grader
Position (WGS 84): N 57°33'10'' / E 12°6'47''
Fångst: Ingen fångst
Kommentar: Såg 1 st groda. Bildats en liten göl efter röret under vägen.

Tillfälle 3: Datum: 2022-09-08
Vatten: Stillastående
Fångst: Ingen fångst
Kommentar: Fiskade i två gölar som bildats efter röret under vägen.



Figur 14. Lokal 8 (Bäck). Foto: Frida Sundqvist.

Lokal 9: Bäck

Tillfälle 1: Datum: 2022-06-21
Vatten: Lugnflytande
Bottensubstrat: Grus och sten
Vattentemperatur: 16 grader
Position (WGS84): N 57°33'18''/ E 12°6'45''
Fångst: Ingen fångst
Kommentar: Bildats som en liten göl precis där vattnet från dammen rinner ut.

Tillfälle 2: Datum: 2022-08-29
Vatten: Stillastående
Vattentemperatur: 16,7 grader
Fångst: Solabborre: 1 st (110 mm)
Signalkräftor: 3 st
Kommentar: Fiskade en sträcka om ca 10 meter nedströms. Såg även flertalet grodor. Väldigt grumligt vatten med dåligt siktdjup

Tillfälle 3: Datum: 2022-09-08
Vatten: Stillastående eller väldigt lugnflytande
Fångst: Solabborre: 1 st (50 mm)



Figur 15. Lokal 9 (bäck). Foto: Frida Sundqvist.

Lokal 10: Dammen

Tillfälle 1: Datum: 2022-06-21
Vatten: Stillastående
Bottensubstrat: Lera
Vattentemperatur: 21 grader
Position (WGS84): N 57°33'19'' / E 12°6'45''
Fångst: Ingen fångst
Kommentar: Gott om grodyngel i dammen.

Tillfälle 2: Datum: 2022-08-29
Vatten: Stillastående
Vattentemperatur: 16,7 grader
Fångst: Solabborre: 1 st (45 mm)
Signalkräfta: 1 st
Kommentar: Juvenil individ av solabborre vilket indikerar att det skett förnygring i dammen under året. Väldigt grumligt vatten med dåligt siktdjup.

Tillfälle 3: Datum: 2022-09-08
Vatten: Stillastående
Fångst: Solabborre: 34 st (26, 27, 30, 30, 30, 30, 32, 40, 40, 40, 40, 40, 41, 42, 43, 45, 45, 46, 47, 47, 47, 50, 50, 50, 50, 50, 52, 52, 52, 55, 58, 60, 60, och 62 mm)
Kommentar: Fiskade på flertalet platser ute i dammen. Solabborren verkade trivas bäst under näckrosblad som fanns i de grundare delarna av dammen.



Figur 16. Lokal 10 (dammen). Foto: Frida Sundqvist.



LÄNSSTYRELSEN
HALLANDS LÄN

Länsstyrelsen i Hallands län • Postadress: 301 86 Halmstad • Besöksadress: Slottsgatan 2
010- 224 30 00 • halland@lansstyrelsen.se • www.lansstyrelsen.se/halland