



Tykskallet malermusling

eDNA baseret effektmonitering af UC Life Danmark –
LIFE15 NAT/DK 000948

Næstved, Odense og Faaborg-Midtfyn Kommune

Dato: 21. november 2023



Ansvarsfraskrivelse

Indværende rapport er udarbejdet som led i LIFE-projektet LIFE15 NAT/DK 000948, som støttes økonomisk af EU-Kommissionen. I henhold til artikel II.7.2 i General Conditions kan de holdninger og den viden, der kommer til udtryk i rapporten under ingen omstændigheder bliver betragtet som EU-Kommissionens officielle holdning, og EU-Kommissionen er ikke ansvarlig for den videre brug af oplysningerne i rapporten.

Disclaimer

This report has been prepared as part of the LIFE project LIFE15 NAT/DK/000948, which is supported economically by the EU Commission. According to article II.7.2 of the General Conditions, the positions and knowledge expressed in the report cannot under any circumstances be considered as the EU official position, and the EU Commission is not responsible for the further use of the information contained in the report.

| Rev.nr. | Dato | Beskrivelse | Udarbejdet af | Kontrolleret af | Godkendt af |
|---------|------------|-------------|---------------|-----------------|-------------|
| 11.2 | 01.12.2023 | rapport | SUAG og MIKE | SUAG, CAB | CAB |

Indhold

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1. | Summary | 4 |
| 2. | Baggrund | 4 |
| 3. | Metode..... | 4 |
| 3.1 | eDNA prøvetagning | 4 |
| 3.2 | Konventionel eftersøgning | 5 |
| 3.3 | DNA-analyse og databehandling..... | 5 |
| 3.3.1 | Forbehold for DNA-resultaterne..... | 5 |
| 3.4 | Lokaliteter..... | 6 |
| 3.4.1 | Suså..... | 6 |
| 3.4.2 | Odense Å | 9 |
| 3.4.3 | Sallinge Å..... | 11 |
| 4. | Resultater | 13 |
| 4.1 | Konventionel undersøgelse..... | 14 |
| 4.2 | Tekniske resultater eDNA analyse | 14 |
| 4.3 | Suså..... | 14 |
| 4.4 | Odense Å | 16 |
| 4.5 | Sallinge Å..... | 17 |
| 5. | Konklusion | 19 |
| 6. | Referencer..... | 20 |

1. Summary

Næstved, Odense and Faaborg-Midtfyn Kommune is in the process of improving the habitat and population of the thick shelled river mussel (*Unio crassus*) in the river Suså, Odense Å and Sallinge Å as a part of the EU LIFE project UD Lice Denmark. Mussel larvae are introduced through infection of the fish species common minnow (*Phoxinus phoxinus*) and further the European bullhead (*Cottus gobio*) has been introduced to Suså.

Due to the mussels' slow growth it is expected to take several years before the mussel larvae can be found and identified using conventional methods. These Kommunes has therefore opted to investigate if eDNA analyses, which are able to detect freshwater fauna based on small traces of DNA shed by organisms living in the analyzed ecosystem, can be an alternative to detect the mussels at an earlier stage of life.

Twenty-five eDNA samples were collected from three different streams (Suså, Odense Å and Sallinge Å). The different streams represent different characteristics in fauna and habitats. Specially Odense Å, is known to have a large population of *U. crassus*.

2. Baggrund

De tre kommuner, Næstved, Faaborg-Midtfyn og Odense Kommune deltager i projektet UC Life Denmark (LIFE15 NAT/DK 000948), hvor der pt. arbejdes på at ophjælpe bestandene af tykskallet malermusling (*Unio crassus*) i henholdsvis Suså, Sallinge Å og Odense Å. Dette er sket bl.a. ved at udsætte muslingelarver i de to vandløb, ved hjælp af inficerede elritser (*Phoxinus phoxinus*). Desuden er hvidfinnede ferskvandsulke (*Cottus gobio*), udsat i Suså. Grundet larvernes størrelse og langsomme vækst er konventionel overvågning af udsætningerne meget vanskelig, og de tre kommuner vil derfor gerne undersøge mulighederne for at bruge eDNA undersøgelser som et alternativ.

De traditionelle overvågningsmetoder for *U. crassus* kan registrere muslinger med en størrelse af ca. 3 cm eller større, hvilket betyder at udsætningsprogrammet ikke vil kunne overvåges i de første år, da muslingelarverne udsat i 2020 ikke forventes til at være større end få cm på nuværende tidspunkt. Det forventes at eDNA base-rede undersøgelser vil kunne detektere *U. crassus* larverne allerede nu og dermed give bedre indblik i fremgang og succes af udsætningsprogrammet. eDNA undersøgelser kan dog ikke give et præcist svar på hvor mange muslinger der befinner sig på en given lokalitet, men kun et semikvantitativt bud ud fra hvor meget eDNA der findes i prøverne.

Denne undersøgelse i Suså, Odense Å og Sallinge Å er baseret på de anbefalinger som blev givet på baggrund af det gennemførte pilotprojekt i Suså i 2021, hvor der blev taget prøver på 4 stationer og testet både analyse- og indsamlingsmetoder. Resultaterne herfra er afrapporteret i efteråret 2022 (NIRAS, 2022).

3. Metode

3.1 eDNA prøvetagning

Der blev foretaget undersøgelser på udvalgte stationer i tre vandløbssystemer, nærmere bestemt Suså, Odense Å og Sallinge Å. På hver station blev der udtaget vandprøver, som blev indsamlet efter standardiseret eDNA

metodik. Vandet blev filtreret gennem en "filtersandwich", ved hjælp af en peristaltisk pumpe. Der blev filtreret det maksimale volumen, som filtret kunne klare, dog maksimalt 5000 ml (Figur 3.1). Filtrene blev efterfølgende foldet og konserveret i en konserveringsbuffer. Filtersandwichen har en anden form og en øget filter-overflade sammenlignet med sterivex-fiteret, hvilket betyder at der kan filtres et større vandvolumen og dermed tilbageholdes mere DNA. Prøverne analyseres efterfølgende for muslinger og fisk med DNA-metabarcoding, med fokus på arterne tykskallet malermusling (*Unio crassus*), elritse (*Phoxinus phoxinus*) og hvidfinnet ferskvandsulk (*Cottus gobio*).



Figur 3.1: Tv.: filtrerings set-up, hvor den peristaltiske pumpe suger vand op fra beholder og presser det igennem filtersandwichen, hvor efter det opsamles i en målekande. Th.: en åben filtersandwich efter filtrering, filteret foldes før konservering i buffer.

3.2 Konventionel eftersøgning

I Suså blev der på to stationer udtaget en sparkeprøve som supplerende undersøgelsesmetode. Baggrunden for valg af denne undersøgelsesmetode på de to stationer var visuelt at undersøge tilstedeværelsen af mindre individer af *U. crassus*. Den ene station var kendt levested for vokse individer af *U. crassus*, mens den anden lå umiddelbart nedstrøms udsættelsesområde af fisk inficeret med muslingelarver. Sparkeprøven blev ikke udtaget som en standardiseret sparkeprøve, men med tilfældige spark på varierende bundforhold og dybde i vandløbet. Sparkeprøven blev herefter udsorteret, hvor alle muslinger blev taget fra og bestemt.

På hver station blev der endvidere udført korte eftersøgninger af voksne individer med brug af vandkikkert.

3.3 DNA-analyse og databehandling

DNA-ekstraktion og efterfølgende DNA-metabarcoding og dataanalyse blev foretaget af Aalborg Universitet. DNA blev ekstraheret ved hjælp af Qiagen PowerWater kit, og DNA-ekstrakterne blev efterfølgende kvalitetstjekket og DNA-koncentrationen estimeret. To DNA-barcodes til henholdsvis fisk, og muslingefamilien Unionidae blev opformeret med PCR, og efterfølgende oparbejdet til Nanopore DNA-sekventering. Sekventeringsdata blev kvalitetstjekket, grupperet i Operational Taxonomic Units (OTUs) med en sekvenslighed på 97% eller højere og efterfølgende sammenlignet med en database med kendte reference DNA-sekvenser til identifikation.

3.3.1 Forbehold for DNA-resultaterne

Negative resultater kan ikke tages som et sikkert udtryk for målartens fravær på lokaliteten. Mange forhold kan påvirke forekomsten af eDNA, fx sampling tidspunkt, inhibering fra sedimentindhold, opbevaring af prøven mm.

Ved analyse af DNA-resultater kan en for konservativ evaluering af svage DNA-signaler øge risikoen for falske negative "detektioner". Dette er en uundgåelig konsekvens af at reducere risikoen for falske positive resultater.

3.4 Lokaliteter

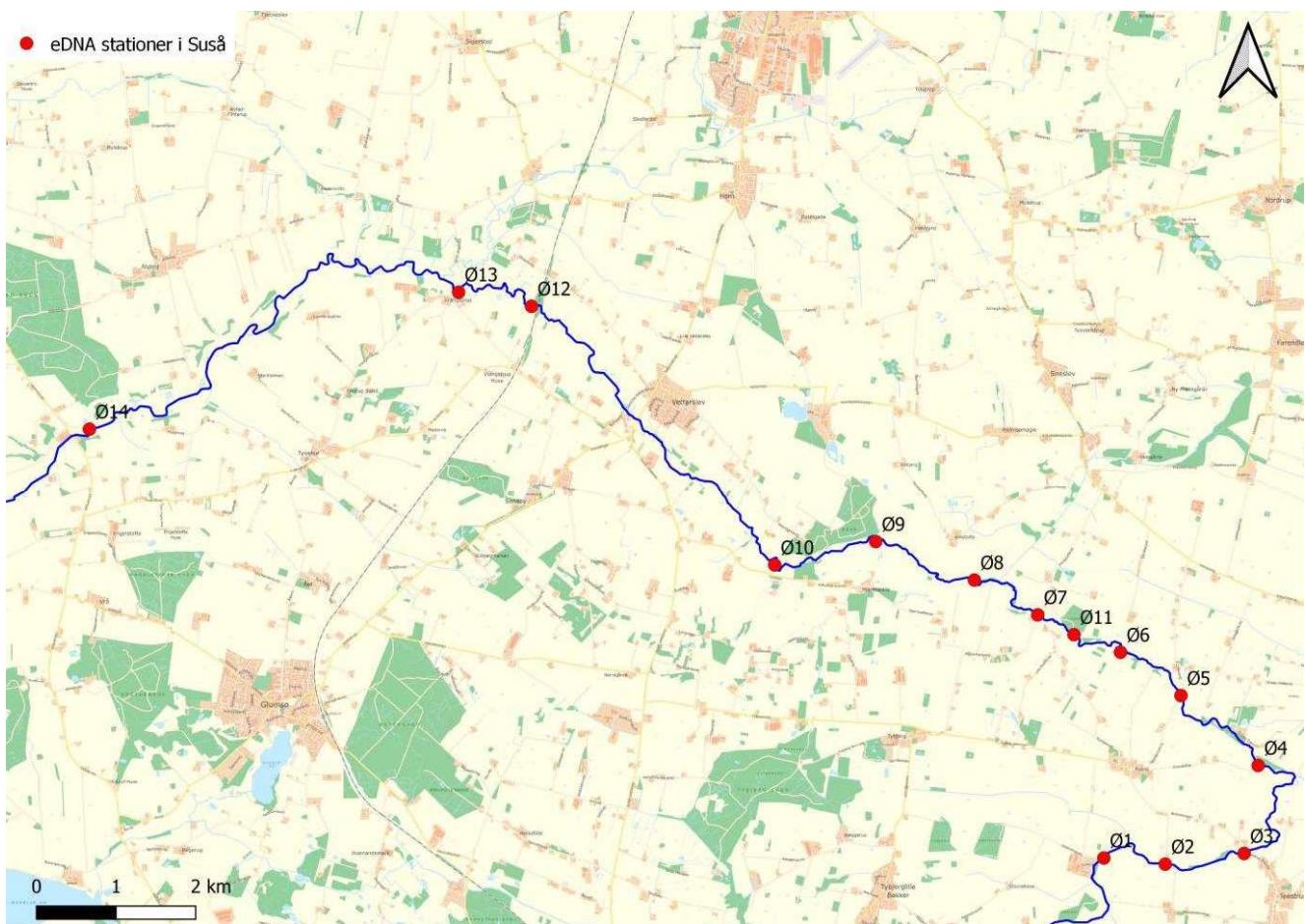
3.4.1 Suså

Undersøgelserne i Suså blev foretaget d. 31. august 2023. Der blev indsamlet 15 eDNA-prøver og lavet undersøgelser på 14 stationer beliggende fra Assendrup til Næsby bro (se Figur 3.2). Der blev endvidere foretaget sparkeprøver på station Ø1 og Ø14. Station Ø1 (Assendrup) er kendt levested for voksne *U. crassus*, og der blev på denne lokalitet indsamlet to eDNA-prøver, for at øge sandsynligheden for detektion. Der blev i Susåen filtreret mellem 640 og 3700 ml per station.

De fysiske forhold på stationerne var noget forskellige, varierende fra små til store vandløb, mens bunden varierede fra sandet til gruset.

Tabel 3.1. Oversigt over prøvetagningslokaliteter i Susåen og filteret volumen.

| Nummer | Lokalitet | Bemærkninger | Filtreret volumen (ml) |
|--------|---|---|------------------------|
| Ø1 | Suså, Assendrup | Sparkeprøve på stationen. Store muslinger og muslingeskaller observeret. (filter 1,1) | 900 |
| Ø1 | Suså, Assendrup | Anden prøve fra station Ø1 (filter 1,2) | 1020 |
| Ø2 | Suså, Henriettelund OS 1183 | Store muslinger og muslingeskaller observeret | 2900 |
| Ø3 | Suså, Teestrup Bro | Store muslinger og muslingeskaller observeret | 3700 |
| Ø4 | Suså, Granskiftegård | | 2300 |
| Ø5 | Suså, Møllebro | Signalkrebs observeret | 1000 |
| Ø6 | Øvre Suså, NØ for lille Aversi | | 1060 |
| Ø7 | Suså, Ny Møllebro | | 680 |
| Ø8 | Suså, Almtofte | | 2740 |
| Ø9 | Suså, Råen | | 1290 |
| Ø10 | Suså, S for Egebjerg - ns Kv 1226 | | 1220 |
| Ø11 | Øvre Suså, syd for Lunden (Se rapport fra Lea, UC6) | | 1900 |
| Ø12 | v. jernbanen øst for Vrangstrup | Signalkrebs observeret | 2870 |
| Ø13 | Vrangstrup | | 640 |
| Ø14 | Næsbybro | Grundling observeret på lokaliteten | 840 |



Figur 3.2: Prøvetagningslokaliteter i Susåen.



Figur 3.3: Lokaliteter i Suså.

3.4.2 Odense Å

Undersøgelserne i Odense Å blev foretaget d. 21. august 2023. Der blev foretaget undersøgelser på 5 stationer beliggende fra Brogårdsvej til Skovsøen.

Tabel 3.2. Oversigt over prøvetagningslokaliteter i Odense Å og filteret volumen.

| Nummer | Lokalitet | Bemærkninger | Filtreret volumen (ml) |
|--------|-----------|--|------------------------|
| 1 | Odense Å | | 5000 |
| 2 | Odense Å | ved E20 Grundling eller elritse set ved prøvetagning. | 5000 |
| 3 | Odense Å | Stryg ved Dalum papir fabrik. | 4000 |
| 4 | Odense Å | Skaller (fisk) og andre små fiskearter observeret. | 4850 |
| 5 | Odense Å | | 4000 |



Figur 3.4: Prøvetagningslokalisiteter i Odense Å.



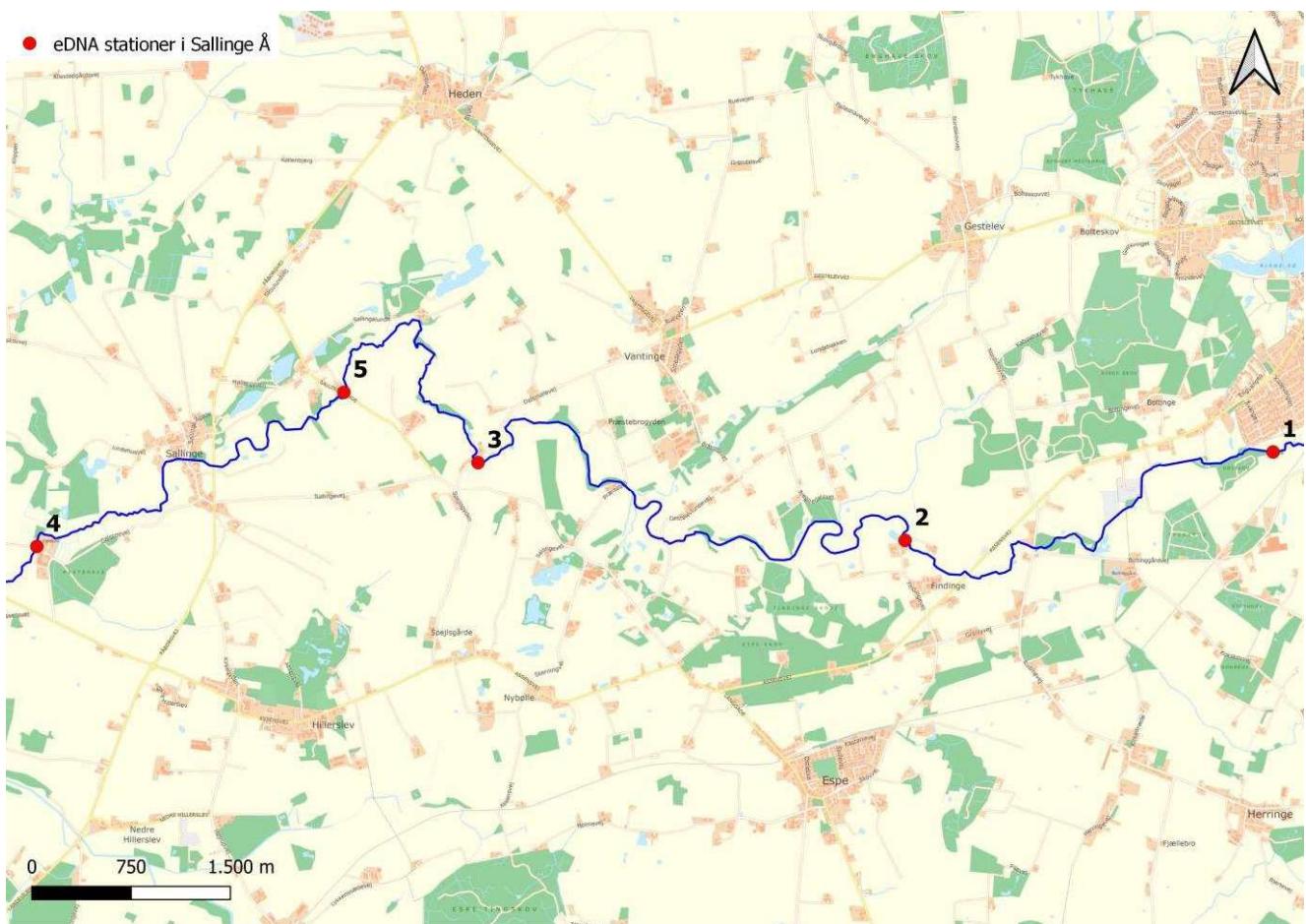
Figur 3.5: Lokaliteter i Odense Å

3.4.3 Sallinge Å

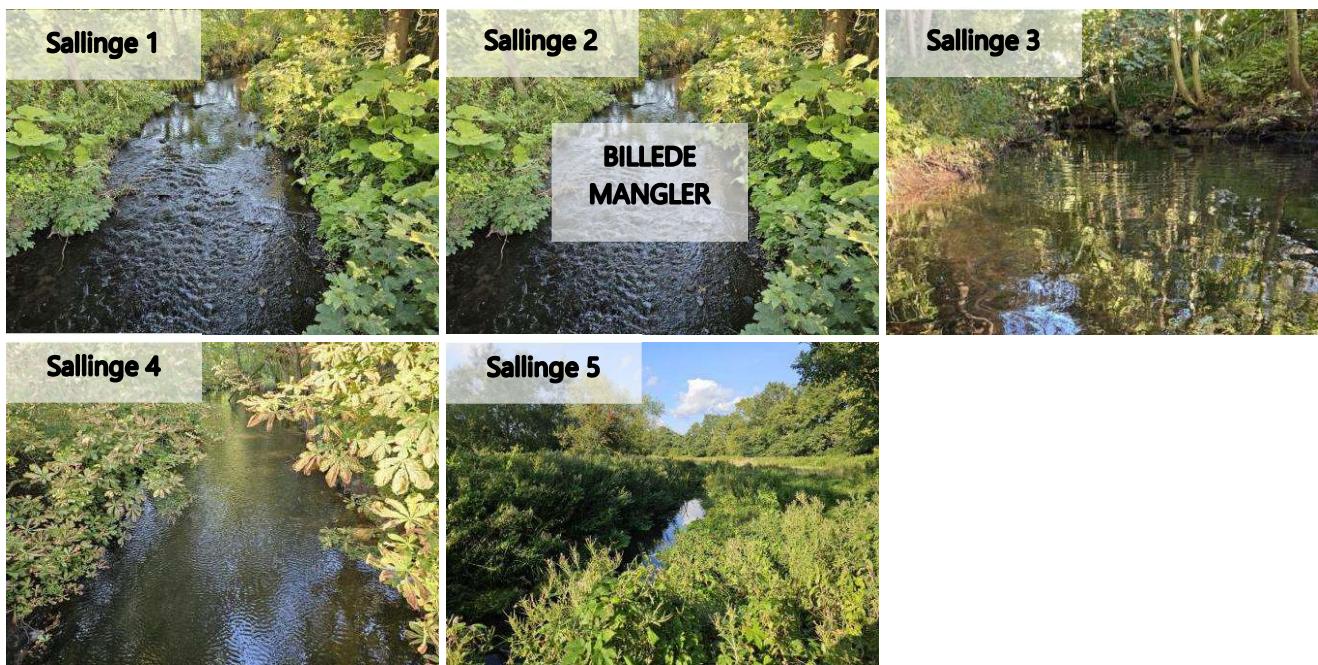
Undersøgelserne i Sallinge Å blev foretaget d. 21. august 2023. Der blev foretaget undersøgelser på 5 stationer beliggende fra Ringe til Gelskov Gods.

Tabel 3.3. Oversigt over prøvetagningslokaliteter i Sallinge Å og filteret volumen.

| Nummer | Lokalitet | Kommentar | Filtreret volumen (ml) |
|--------|------------|--------------|------------------------|
| 1 | Sallinge Å | Ringe | 1400 |
| 2 | Sallinge Å | Findingevej | 1000 |
| 3 | Sallinge Å | Dalsmøllevej | 1000 |
| 4 | Sallinge Å | Gelskov gods | 1380 |
| 5 | Sallinge Å | | 1500 |



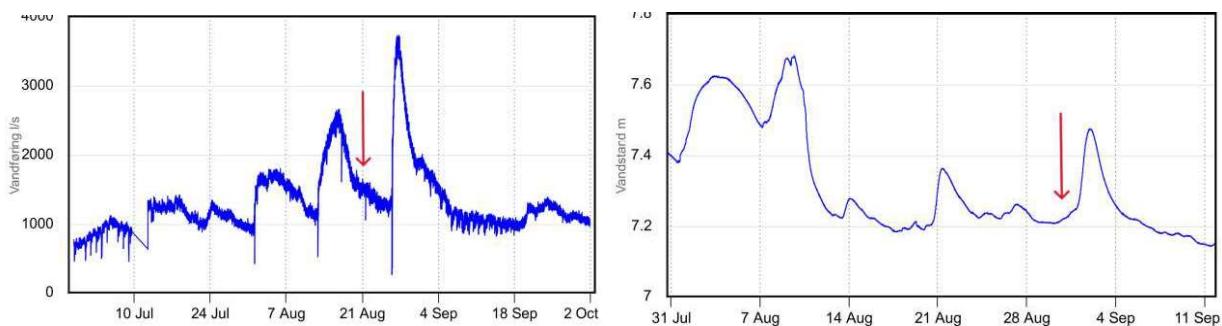
Figur 3.6: Prøvetagningslokaliteter i Sallinge Å



Figur 3.7: Lokaliteter i Sallinge Å.

4. Resultater

Prøveindsamlingen foregik som planlagt, og det lykkedes at finde en periode med relativ lav vandføring, på trods af det våde vejr i august. Dette bakkes op af tilgængelige vandførings – og vandstandsdata fra de respektive vandløbssystemer, der viser at prøvetagningen foregik på et tidspunkt hvor vandføringen eller vandstanden var på et acceptabelt niveau indenfor nedbørsintervallerne. Det var kun muligt at indhente vandførings – eller vandstandsoplysninger for Odense Å og Suså. Da Sallinge Å rent geografisk ligger relativt tæt på Odense Å, formodes vandføringsmønsteret dog at være nogenlunde det samme.



Figur 4.1: Vandførings – og vandstands data de tre undersøgte vandløb. Tv: vandføring i Odense Å, Brogårdsvej. Th: Vandstandsdata fra Suså, Næsby bro. Røde pile angiver tidspunktet for undersøgelse. Data stammer fra vandportalen.dk.

Det filtrerede volumen fra vandprøver i de tre vandløbssystemer varierede fra 600-5000 ml, hvilket formodes at skyldes forskelle i organisk og uorganisk materiale i vandet.

4.1 Konventionel undersøgelse

Muslinger fra sparkeprøverne blev undersøgt under stereolup i laboratoriet. På de to undersøgte lokaliteter blev der i sparkeprøverne kun fundet individer fra slægten *Pisidium* og der blev ikke fundet andre muslinger. Der blev ved vandkikkert undersøgelser observerede malermuslinger på lokalitet Ø1, der formodes at være tilspidset eller ægte malermusling (Figur 4.2)



Figur 4.2: Malermuslinger fra Suså ved lokalitet Ø1.

4.2 Tekniske resultater eDNA analyse

DNA-ekstraktion har givet gode resultater for alle 25 prøver, som havde en DNA-koncentration på 5-125 ng/uL, hvilket er tilfredsstillende. Kvaliteten af det ekstraherede DNA blev vurderet som højt. Alle prøver kunne med succes oparbejdes til DNA-sekventering. Der blev dannet et minimum af 100.000 sekvenser per prøve.

Metabarcoding analyse af fiske- og muslingepopulationer i samlet 25 prøver fra Suså, Odense Å og Sallinge Å, blev udført i overensstemmelse med AAU's protokoller for metabarcoding af miljø-prøver. Hver art er for hver prøve blevet scoret i forhold til mængden af dens DNA som er blevet fundet. Her fremstår (+) som en tvivlsom identifikation, mens +, ++ og +++ indikerer en sikker identifikation og antallet af pluss'er i forhold til hinanden indikerer at DNA koncentrationen er højere for den pågældende art i prøven

4.3 Suså

Der blev ikke konstateret positive signaler af *U. crassus* i eDNA-prøverne fra Suså, på trods af 14 undersøgte stationer. Der blev ligeledes ikke fundet mindre individer i sparkeprøverne foretaget på st. Ø1 og Ø14, eller observeret individer med vandkikkert.

Der blev på fem lokaliteter fundet positivt signal fra hvidfinnet ferskvandsulk og på tre lokaliteter et svagt, men positivt, signal for elritse (se **Error! Reference source not found.**).

Fiskearterne skalle, gedde og aborre blev fundet på samtlige prøvetagningsstationer i Susåen.

Der blev samlet på de undersøgte lokalitet i Susåen fundet 16 fiskearter og 5 muslingearter **Error! Reference source not found..** Af muslingearter blev der fundet stor ærtemusling, stor bønnemusling, tilspidset malermusling, stor dammusling og ægte malermusling. De mest arter som blev fundet på flest lokaliteter var tilspidset malermusling og ægte malermusling som blev på fundet alle undtagen lokalitet 11, og stor dammusling som blev fundet på alle lokaliteter.

Tabel 4.1. Oversigt over identificerede fiskearter i Susåen fundet ved eDNA, lokalitetsnummeret korresponderer med Figur 3.2 og Tabel 3.1. Detektionen er inddelt i fire kategorier: (+) er meget lav identifikation, + er lav identifikation, ++ er moderat identifikation og +++ er høj identifikation.

| Lokalitet/Art | Hvidfinnet ferskvandsulk | Erlitsse | Skalle | Ørred | Nipiget hundestejle | Hork | Trepigget hundestejle | Ål | Gedde | Grundling | Aborre | Løje/Fitre | Brasen | Suder | Rudskalle | Piggsmørting |
|---------------|--------------------------|----------|--------|-------|---------------------|------|-----------------------|-----|-------|-----------|--------|------------|--------|-------|-----------|--------------|
| Su 1,1 | | | ++ | | ++ | | | | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ | | |
| Su 1,2 | | | ++ | + | | | ++ | ++ | +++ | ++ | +++ | +++ | ++ | ++ | | ++ |
| Su 2 | | | ++ | | | | | | +++ | ++ | ++ | +++ | ++ | ++ | | |
| Su 3 | | | ++ | | ++ | | | ++ | +++ | ++ | +++ | +++ | + | ++ | | |
| Su 4 | | | +++ | | +++ | | + | | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | +++ | ++ | + |
| Su 5 | | | ++ | | +++ | | | | +++ | ++ | +++ | ++ | | | | + |
| Su 6 | | | +++ | | +++ | | ++ | | +++ | +++ | +++ | +++ | | +++ | | + |
| Su 7 | | | + | | ++ | | + | + | ++ | + | ++ | ++ | | | ++ | |
| Su 8 | ++ | | +++ | +++ | +++ | ++ | + | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | +++ | | + |
| Su 9 | +++ | (+) | +++ | ++ | +++ | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | +++ | | + |
| Su 10 | ++ | | +++ | | +++ | | | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | +++ | | + |
| Su 11 | ++ | | +++ | | +++ | ++ | + | | +++ | ++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | |
| Su 12 | ++ | (+) | +++ | | + | + | + | ++ | +++ | | +++ | | ++ | ++ | | |
| Su 13 | | (+) | +++ | | | | | ++ | +++ | | +++ | + | | | | |
| Su 14 | | | ++ | | | | ++ | ++ | ++ | ++ | +++ | | | | | |

Tabel 4.2. Oversigt over identificerede muslingearter i Susåen fundet ved eDNA, lokalitetsnummeret korresponderer med Figur 3.2 og Tabel 3.1. Detektionen er inddelt i fire kategorier: (+) er meget lav identifikation, + er lav identifikation, ++ er moderat identifikation og +++ er høj identifikation.

| Lokalitet/Art | Tykskallet malermusling | Stor Ærtémusling | Stor Bønnemusling | Tilspidsæt malermusling | Stor Dammusling | Ægte Malermusling |
|---------------|-------------------------|------------------|-------------------|-------------------------|-----------------|-------------------|
| Su 1,1 | | | | +++ | +++ | ++ |
| Su 1,2 | | + | | ++ | +++ | +++ |
| Su 2 | | | + | +++ | +++ | ++ |
| Su 3 | | + | + | +++ | +++ | +++ |
| Su 4 | | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ |
| Su 5 | | ++ | ++ | +++ | +++ | ++ |
| Su 6 | | ++ | ++ | ++ | +++ | +++ |
| Su 7 | | + | + | +++ | +++ | +++ |
| Su 8 | | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Su 9 | | ++ | ++ | ++ | +++ | +++ |
| Su 10 | | ++ | ++ | ++ | +++ | +++ |
| Su 11 | | + | | | +++ | |
| Su 12 | | + | | + | +++ | +++ |
| Su 13 | | | | ++ | ++ | ++ |
| Su 14 | | | | + | +++ | ++ |

4.4 Odense Å

Odense Å, er kendt for at huse en stor bestand af tykskallet malermusling (Wiberg-Larsen, 2006). På de fem stationer i Odense Å, er der samlet fundet 14 fiskearter (Tabel 4.3) og 5 muslingearter (Tabel 4.4**Error! Reference source not found.**). Der blev fundet positiv signaler af eDNA fra *U. Crassus* på fire ud af fem stationer i Odense Å. På st. 1, 2 og 3 blev der fundet klare positive signaler, mens der på st. 4 blev fundet et svagt positivt signal. På st. 3 blev der yderligere fundet et svagt positivt signal for elritse.

Tabel 4.3. Oversigt over identificerede fiskearter i Odense Å fundet ved eDNA, lokalitetsnummeret korresponderer med Figur 3.4 og Tabel 3.2. Detektionen er inddelt i fire kategorier: (+) er meget lav identifikation, + er lav identifikation, ++ er moderat identifikation og +++ er høj identifikation.

| Lokalitet/Art | Hvidfinnet ferskvandsulk | Elritse | Skalle | Ørred | Nipigget hundestejle | Hørk | Trepigget hundestejle | Ål | Gedde | Grundling | Aborre | Løje/Fire | Brasen | Suder | Rudskalle | Pigsmørting |
|---------------|--------------------------|---------|--------|-------|----------------------|------|-----------------------|-----|-------|-----------|--------|-----------|--------|-------|-----------|-------------|
| Od 1 | | | | | | | + | | | | | | | | | |
| Od 2 | | ++ | +++ | | | | +++ | +++ | ++ | +++ | ++ | +++ | | ++ | | |
| Od 3 | (+) | +++ | +++ | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | +++ | ++ | ++ | ++ | |
| Od 4 | | +++ | +++ | ++ | | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | +++ | ++ | ++ | +++ | |
| Od 5 | | ++ | +++ | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | +++ | ++ | ++ | +++ | |

Tabel 4.4. Oversigt over identificerede muslingearter i Odense Å fundet ved eDNA, lokalitetsnummeret korresponderer med Figur 3.4 og Tabel 3.2. Detektionen er inddelt i fire kategorier: (+) er meget lav identifikation, + er lav identifikation, ++ er moderat identifikation og +++ er høj identifikation.

| Lokalitet/Art | Tykskallet malermusling | Stor Ørtemusling | Stor Bønnemusling | Tilspidset malermusling | Stor Dammusling | Ægte Malermusling |
|---------------|-------------------------|------------------|-------------------|-------------------------|-----------------|-------------------|
| Od 1 | +++ | | | + | +++ | |
| Od 2 | +++ | + | + | + | +++ | |
| Od 3 | +++ | + | + | + | +++ | |
| Od 4 | + | | | ++ | +++ | |
| Od 5 | | | | | ++ | |

4.5 Sallinge Å

I Sallinge Å blev der fundet positive signaler af eDNA fra *U. crassus* på én ud af fem stationer. Signalet blev fundet på st. 5 og signalet var moderat positivt. Det var på st. 5 hvor der blevet fundet den største diversitet, af både fisk og muslinger. Der blev blandt andet fundet positive signaler fra otte fiskearter her i blandt ørred, ål, gedde og grundling. Af de fire muslingearter blev der udover tykskallet malermusling også registreret stor bønnemusling, tilspidset malermusling og stor dammusling.

Der blev i Sallinge Å fundet eDNA fra otte fiskearter (Tabel 4.5) og fire muslingearter (Tabel 4.6).

Tabel 4.5. Oversigt over identificerede muslingearter i Salling Å fundet ved eDNA, lokalitetsnummeret korresponderer med Figur 3.6 og Tabel 3.3**Error! Reference source not found.**. Detektionen er inddelt i fire kategorier: (+) er meget lav identifikation, + er lav identifikation, ++ er mellem identifikation og +++ er høj identifikation.

| Tykskallet malemusling | Stor Ærtemusling | Stor Bønnemusling | Tilspidsæt malemusling | Stor Dammusling | Ægte Malemusling |
|---------------------------|---------------------|----------------------|---------------------------|--------------------|---------------------|
| | | | | | |
| ++ | | ++ | + | +++ | |

Tabel 4.6. Oversigt over identificerede fiskearter i Sallinge Å fundet ved eDNA, lokalitetsnummeret korresponderer med Figur 3.6 og Tabel 3.3 **Error! Reference source not found.**. Detektionen er inddelt i fire kategorier: (+) er meget lav identifikation, + er lav identifikation, ++ er moderat identifikation og +++ er høj identifikation.

| Lokalitet/Art | Hvidfinnet ferskvandsulk | Elritse | Skalle | Ørred | Nipigget hundestejle | Hørk | Trepigget hundestejle | Ål | Gedde | Grundling | Aborre | Løje/Flire | Brasen | Suder | Rudskalle | Pigsmerling |
|---------------|--------------------------|---------|--------|-------|----------------------|------|-----------------------|-----|-------|-----------|--------|------------|--------|-------|-----------|-------------|
| Sal 1 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sal 2 | | | | + | | | +++ | + | | | | +++ | | | | |
| Sal 3 | | | | | | | | | +++ | | | | | | | |
| Sal 4 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sal 5 | | | ++ | +++ | ++ | | +++ | +++ | ++ | ++ | | +++ | | | | |

5. Konklusion

Denne opgave havde til formål at overvåge tykskallet malermusling i de tre vandløb Suså, Odense Å og Sallinge Å med DNA-analyse. Fokus er på den mulige anvendelse af DNA analyser i overvågning af udsættelsesprogrammet for tykskallet malermusling. Fiskesamfundet i vandløbene blev med DNA-analyser undersøgt, med fokus på elritse og hvidfinnet ferskvandsulk.

Analyserne er vellykkede for alle 25 vandprøver, og resultatet giver et godt indblik i fiske- og muslingepopulationerne på de undersøgte lokaliteter.

Alle tre interessearter blev fundet i de 25 vandprøver:

- Tykskallet malermusling blev identificeret i 5 ud af 25 prøver. Fundene blev gjort i både Odense Å og Sallinge Å.
- Elritse blev identificeret i 4 ud af 25 prøver, dog med forbehold for meget lav DNA koncentration.
- Hvidfinnet ferskvandsulk blev identificeret i 5 ud af 25 prøver. Lokaliteterne for fund er alle placeret i Suså, hvor den også er udsat.

Samlet blev 6 forskellige muslingearter, og 16 fiskearter identificeret på tværs af de analyserede prøver.

Af bemærkelsesværdige fund er tilstedeværelsen af DNA fra tilspidset malermusling i Odense Å, på fire lokaliteter og i Sallinge Å på en lokalitet. Denne art er ikke tidligere blevet registreret på Fyn, hvilket betød at vi udførte ekstra analyser af DNA-sekvenserne for tilspidset malermusling. Koncentrationen af DNA forarten i hver prøve er høj, og fylogenetisk set er de 3 arter af malermusling (tykskallet malermusling, tilspidset malermusling og ægte malermusling), tydeligt adskilt i den genetiske barcode som vi har benyttet i denne analyse. Generelt er faunaen i vores ferske vande ringe beskrevet og årsagen til at arter, deriblandt ferskvandsmuslinger, ikke er registreret til art i et område, er ofte udtryk for manglende taxonomisk ekspertise og fokus i vandløbsundersøgelserne. Fraværet af registreringer af tilspidset malermusling på Fyn behøver således ikke være et ægte fravær af

arten. DNA-signalen af tilspidset malemusling fremstår derfor efter vores bedste overbevisning som en sikkert sporing af arten i Odense Å og Sallinge Å.

DNA-signalen fra elritse er meget lavt og fraværende på vandløbsstrækninger hvor der fremkommer store bestande. Dette problem knytter sig til de tilgængelige reference-sekvenser som er tilstede. Elritsens genetik og fylogenetiske udtryk, tyder på at det er en art med en rodet genetik, hvor der er genetiske forskelle på tværs af lande og populationer, derudover er elritsens genudsat i flere vandløb, hvor oprindelsesbestanden er ukendt. Det viser sig derfor at være vanskeligt at spore elritse på baggrund af deres DNA i en vandprøve, da danske og internationale reference biblioteker er ufuldstændige samtidig med at der indenfor arten er stor genetisk variation. Dette formodes at være grunden til at vi finder lave koncentrationer af DNA for elritse på få lokaliteter.

Der blev fundet DNA fra tykskallet malermusling i både Odense Å og Sallinge Å, der viser at vi rent faktisk kan spore artens DNA i vandløbene. Odense Å, huser allerede en stor bestand af tykskallet malermusling, mens Sallinge Å også har reintroduceret elritse inficeret med larver, og det formodes at bestanden også her lille. Der blev ikke fundet DNA fra tykskallet malermusling i Suså, hvilket kan skyldes to årsager. Re-introduktionen har ikke været en succes, og antallet af individer er fortsat ligesom i 2022 meget lavt. Eller hvis vi antager at introduktionen har været en succes, kan det skyldes at individerne stadig er for små eller for få til at blive sporet ved deres DNA. Koncentrationen af DNA som arten udskker til vandet, må derfor være for lille i forhold til den relativt store vandføring som forekommer i Suså, på trods af at vi lykkedes med at være ude, ved lav vandføring. På trods af at vi har skiftet filter og derved er lykkedes med at filtrere mere vand er sandsynligheden for at det udsatte DNA indfanges i vores prøvetagning lille.

Da vi ikke kender til succesraten af udsætningen i Suså, kan vi hverken konkludere at DNA-metoden virker eller ikke virker i forhold til at spore larvestadiet og de små unge individer der sidder i bunden. Dette var ellers hypotesen ved projektets start. Videre overvågning af tykskallet malermusling anbefales at fokusere på enkelte lokaliteter hvor den formodes at være. Således kan en øget indsats af konventionel overvågning, flere vandprøver og filtrering af et større vandvolumen til DNA-analyse, på udvalgte lokaliteter, styrke chancen for identifikation af arten i Suså.

6. Referencer

- NIRAS. (2022). *Tykskallet malermusling i Suså - eDNA baseret overvågning af udsættelsesprogrammet*.
Wiberg-Larsen, F. G. (2006). *Udbredelse og hyppighed af Tykskallet Malermusling (Unio crassus Philipson, 1788) i Odense Å-systemet*. Flora og Fauna.