waterCIRCLE

Flerartsanalys av fisk i Vänerns sydöstra tillflöden

med hjälp av eDNA - 2025

EDNASOLUTIONS

Dokumenttitel: Flerartsanalys av fisk i
Vänerns sydöstra tillflöden 2025
Version: 2
Datum 2025-10-20
Företag: WaterCircle AB och eDNA solutions
Postadress: Kärrbogata 22 441 96 Alingsås
E-post: johan@watercircle.se
Beställare: Vattenrådet - Vänerns Sydöstra Tillflöden
Författare: Eivind Stensrud, Oskar Hansson och Johan Andersson
Analys: Eivind Stensrud
Provtagare: Matilda Ahvenainen och Eivind Stensrud
Foton: Matilda Ahvenainen

Inledning

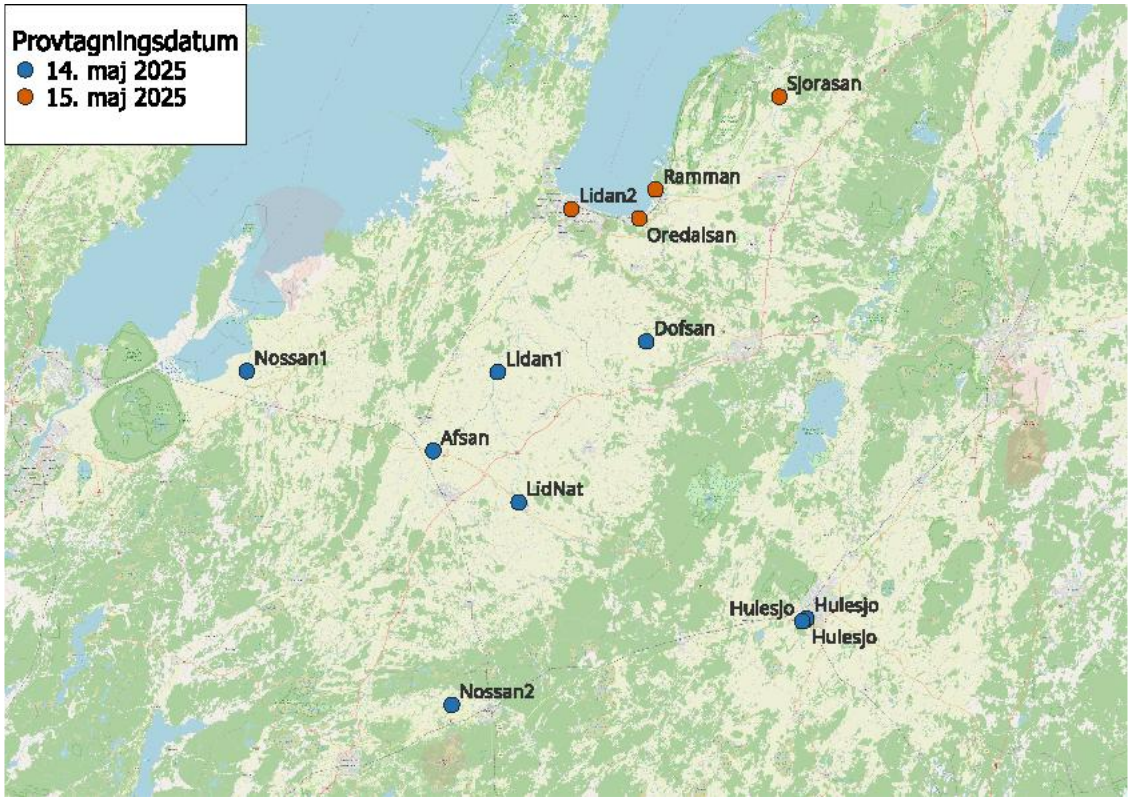
Miljö-DNA (eDNA) är en ny och spännande metod som gör det möjligt att undersöka vilka djurarter som finns i naturen – bara genom att analysera vattenprover. Alla djur lämnar nämligen spår efter sig i miljön, till exempel genom hudceller, fjäll eller avföring, som innehåller deras DNA. Genom att samla in vattenprover och analysera dem i ett laboratorium kan forskare se vilka arter som finns i ett område, utan att behöva fånga djuren.

Denna metod användes för att undersöka fiskbeståndet i Vänerna sydöstra tillflöden. Vattenprover togs från tretton olika platser i Nossan, Lidan, Afsån, Dofsån, Öredalsån, Rammån, Sjöråsån, och Hulesjön. Vattenproverna skickades sedan till ett laboratorium för analys. Resultatet visade att DNA från 23 olika fiskarter kunde påvisas, vilket ger en god bild av den biologiska mångfalden under ytan. I nätprovfisket som genomfördes 2016 och 2017 fångades sju fiskarter, med i genomsnitt tre arter per plats, medan miljö-DNA upptäckte i genomsnitt 9,8 arter.

eDNA är ett skonsamt och effektivt sätt att övervaka naturen, och det kan hjälpa till att upptäcka både vanliga och ovanliga arter – ibland till och med sådana man inte visste fanns där.

Material och metod

Vattenprover samlades in den 14 och 15 maj 2025 av Matilda Ahvenainen (WaterCircle AB) och Eivind Stensrud (eDNA solutions AB) vid 13 olika provlokaler (Figur 1).



Figur 1: Översikt över provlokalerna som besöktes för miljö-DNA-analys av fiskesamhälle. Kartan är skapad i QGIS.

Vid provtagningen användes en hink och en teleskopisk vattenhämtare för att hämta vatten från både ytan och – där djupet tillät – nära botten. All utrustning desinficerades noggrant med 10 % klorin och sköljdes därefter tre gånger med lokalt vatten före varje provtagningstillfälle. Vatten samlades från både (om tillgängligt) rinnande och stillastående vatten. Vattnet från varje provpunkt samlades i den steriliserade hinken. Därefter användes nya engångshandskar och en steril spruta (60 ml) vid varje plats för att filtrera mellan 600 och 1440 ml vatten genom ett PureFlo-diskfilter (GF/PES 5.0/0.8 µm, Saint-Gobain Filter, USA) för att fånga upp det miljö DNA (eDNA) som finns i vattnet.

Figur 2: Provtagning i Dofsan.

Efter filtreringen avlägsnades allt vatten från filtret, som sedan omedelbart frystes ned i en så kallad Dry Shipper, kyld med flytande kväve (-196 °C). Filtret förvarades därefter i -20 °C fram till dess att det transporterades till laboratoriet för DNA-extraktion. Ett fältblankprov inkluderades från provtagningen den 15 maj, där 400 ml mQ-vatten filtrerades och behandlades identiskt med fältproverna för att kontrollera eventuell kontaminering.

Figur 3:Filtret som användes för att samla upp DNA, PureFlo-diskfilter (GF/PES 5.0/0.8 µm)

Tabell 1: Översikt över när och var proverna togs och hur mycket vatten som filtrerades.

Vattendrag / Sjö	Åtgärds-område	N Sweref	E Sweref	Provnamn	Volym (mL)	Datum	Tid
Nossan	Nossan	6471769	361856	Nossan1	1200	250514	1300
Nossan	Nossan	6439760	380109	Nossan2	900	250514	0920
Lidan	Lidan	6485941	392661	Lidan2	1080	250515	1020
Lidan	Lidan	6470915	385361	Lidan1	600	250514	1340
Lidan	Lidan	6458640	386978	LidNät	1200	250514	1125
Afsån	Lidan	6463704	379089	Afsån	1200	250514	1300
Dofsan	Lidan	6473400	399343	Dofsan	900	250514	1440
Öredalsån	Öredalsån	6484918	398968	Öredalsån	1260	250515	1110
Råmmån	Öredalsån	6487563	400563	Råmmån	1440	250515	1200
Sjöråsån	Öredalsån	6495941	412314	Sjöråsån	1320	250515	1250
Hulesjön	Lidan	6446858	413571	Hulesjön	900	250514	1040
Hulesjön	Lidan	6447041	413777	Hulesjön	900	250514	1040
Hulesjön	Lidan	6446777	413364	Hulesjön	900	250514	1040

Provpunkter

Nossan1:

Provtagningspunkten Nossan1 ligger i åtgärdsområde Nossan och provtogs den 14. maj kl. 13.00. Vattendraget är relativt brett och djupt och har nära koppling till Vänern. Provtagningspunkten ligger strax nedanför bron på Länsväg 2560 som korsar Nossan. Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6471769 361856. Vid provpunktet har det inte bedrivits nätprovfiske tidigare.

Figur 4: Provtagningsstationen i Nossan1 ligger strax nedanför där Länsväg 2560 korsar Nossan. SWEREFF 6471769 361856.

Figur 5: Provtagningsstationen i Nossan1 ligger strax nedanför där Länsväg 2560 korsar Nossan. SWEREFF 6471769 361856.

Nossan2:

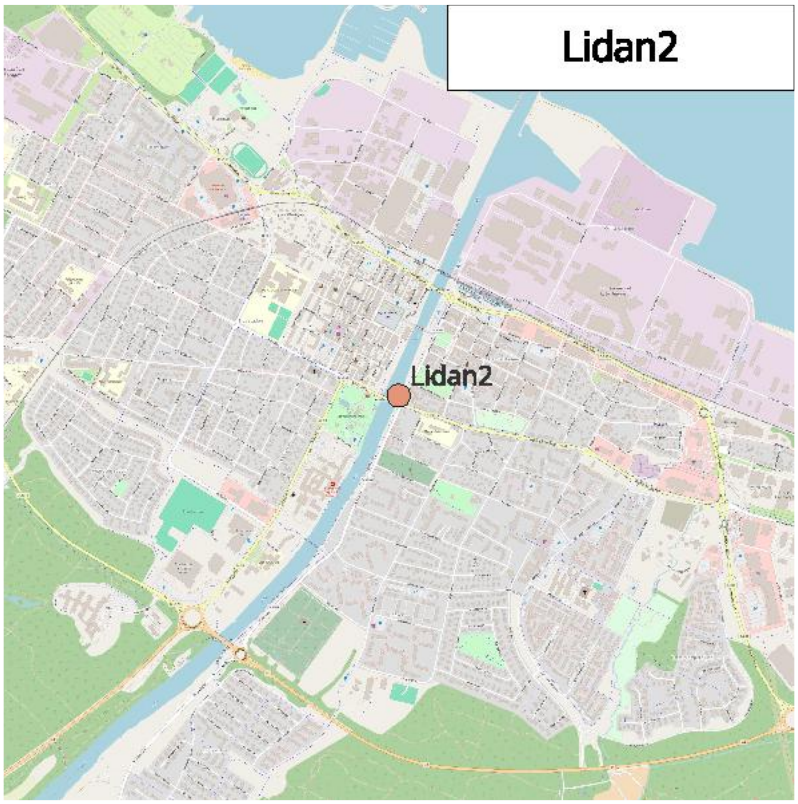
Provtagningspunkten Nossan2 ligger i åtgärdsområde Nossan och provtogs den 14. maj kl. 09.20. Vattendraget är smalt och lugnflytande. Provtagningspunkten ligger ca 60 meter uppströms bron på Länsväg 1920 som korsar Nossan. Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6439760 380109. Vid provpunkten har det nätprovfiskats våren 2017.

Figur 6: Provtagningsstationen i Nossan2 ligger ca 60 uppströms där Länsväg 1920 korsar Nossan. SWEREFF 6439760 380109.

Figur 7: Provtagningsstationen i Nossan2 ligger ca 60 uppströms där Länsväg 1920 korsar Nossan. SWEREFF 6439760 380109.

Lidan2:

Provtagningspunkten Lidan2 ligger i åtgärdsområde Lidan och provtogs den 15. maj kl. 10.20. Vattendraget är brett och provpunkten ligger nära utloppet till Vänern. Provtagningspunkten ligger ca 50 meter nedströms Wennerbergsbron i Lidköping. Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6485941 392661. Vid provpunkten har det inte bedrivits nätprovfiske tidigare.



Figur 8: Provtagningspunkten ligger ca 50 meter nedströms Wennerbergsbron i Lidköping. Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6485941 392661.

Figur 9: Provtagningspunkten ligger ca 50 meter nedströms Wennerbergsbron i Lidköping. Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6485941 392661.

Lidan1:

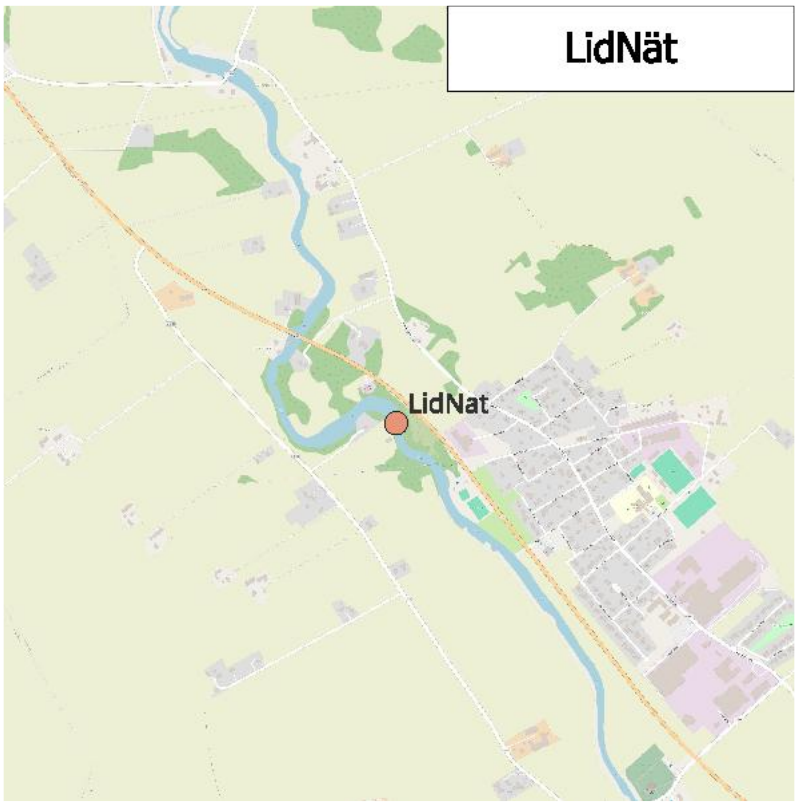
Provtagningspunkten Lidan1 ligger i åtgärdsområde Lidan och provtogs den 14 maj kl. 13.40. Vattendraget är brett och provpunkten ligget en bit från Vänern. Provtagningspunkten ligger ca 100 meter uppströms dammen vid Närefors. Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6470915 385361. Vid provpunkten var det nätprovfiske i våren 2016.

Figur 10: Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6470915 385361. Vid provpunkten var det nätprovfiske i våren 2016.

Figur 11: Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6470915 385361. Vid provpunkten var det nätprovfiske i våren 2016. Foto ifrån Google Street View.

LidNät:

Provtagningspunkten LidNät ligger i åtgärdsområde Lidan och provtogs den 14 maj kl. 11.25. Vattendraget är relativt brett och lugnflytande. Provtagningspunkten ligger strax nedströms Tråvad. Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6458640 386978. Vid provpunkten har det tidigare nätprovfiskats våren 2017.

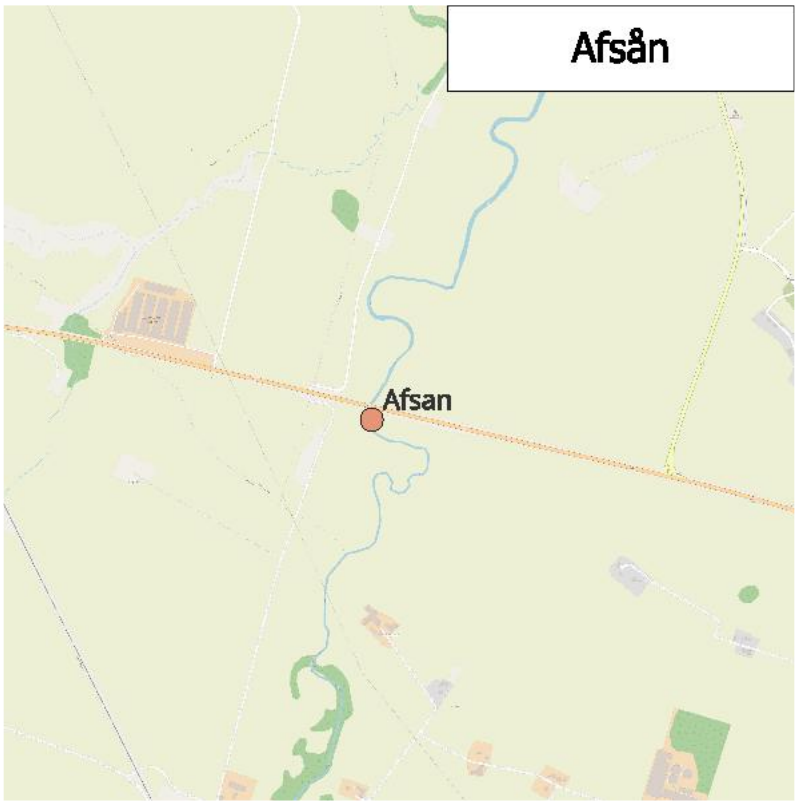


Figur 12: Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6458640 386978. Vid provpunkten var det nätprovfiske i våren 2017.

Figur 13: Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6458640 386978. Vid provpunkten var det nätprovfiske i våren 2017.

Afsån:

Provtagningspunkten Afsån ligger i åtgärdsområde Lidan och provtogs den 14 maj kl. 13.00. Vattendraget är smalt och lugnflytande. Provtagningspunkten ligger strax uppströms där Riksväg 47 korsar Afsån. Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6463704 379089. Vid provpunkten har det nätprovfiskats våren 2017.



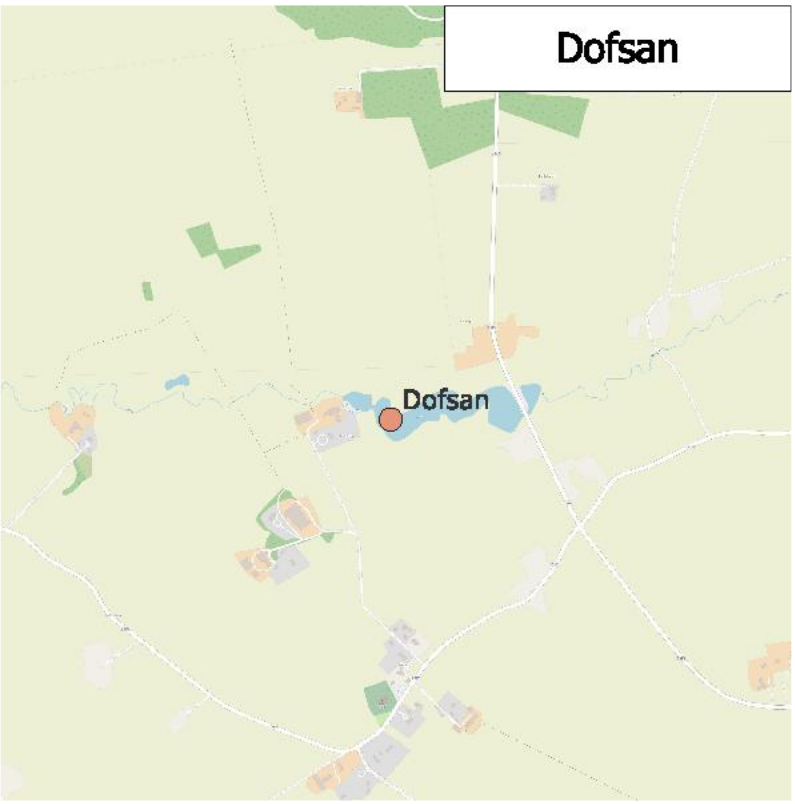
Figur 14: Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6463704 379089. Vid provpunkten var det nätprovfiske i våren 2017.

Figur 15: Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6463704 379089. Vid provpunkten var det nätprovfiske i våren 2017.

Dofsan:

Provtagningspunkten Dofsan ligger i åtgärdsområde Lidan och provtogs den 14 maj kl. 14.40. Här liknar vattendraget en sjö, är brett och har relativt stillastående vatten.

Provtagningspunkten ligger strax nedströms Törestorp. Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6473400 399343. Vid provpunkten har det nätprovfiskats våren 2017.



Figur 16: Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6473400 399343. Vid provpunkten var det nätprovfiske i våren 2017.

Figur 17: Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6473400 399343. Vid provpunkten var det nätprovfiske i våren 2017.

Öredalsån:

Provtagningspunkten Öredalsån ligger i åtgärdsområde Lidan och provtogs den 15 maj kl. 11.10. Vattendraget är smalt och lugnflytande. Provtagningspunkten ligger ca 100 meter ifrån utloppet till Vänern, strax norr om Riksväg 2706. Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6484918 398968. Vid provpunkten har det inte bedrivits nätprovfiske tidigare.

Figur 18: Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6484918 398968. Vid provpunktet har det inte bedrivits nätprovfiske tidigare.

Figur 19: Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6484918 398968. Vid provpunktet har det inte bedrivits nätprovfiske tidigare.

Råmmån:

Provtagningspunkten Råmmån ligger i åtgärdsområde Öredalsån och provtogs den 15 maj kl. 12.00. Vattendraget är smalt och lugnflytande. Provtagningspunkten ligger ca 100 meter ifrån Vänern, uppströms Källby båthamn. Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6487563 400563. Vid provpunkten har det inte bedrivits nätprovfiske tidigare.

Figur 20: Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6487563 400563. Vid provpunktet har det inte bedrivits nätprovfiske tidigare.

Figur 21: Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6487563 400563. Vid provpunktet har det inte bedrivits nätprovfiske tidigare.

Sjöråsån:

Provtagningspunkten Sjöråsån ligger i åtgärdsområde Öredalsån och provtogs den 15 maj kl. 12.50. Vattendraget är medelsmalt och lugnflytande, liknande en sjö. Provtagningspunkten ligger strax uppströms Fullösa damm. Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6495941 412314. Vid provpunkten har det nätprovfiskats våren 2017.

Figur 22: Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6495941 412314. Vid provpunkten var det nätprovfiske i våren 2017.

Figur 23: Provtagningsplatsens koordinater är SWEREFF 6495941 412314. Vid provpunkten var det nätprovfiske i våren 2017.

Hulesjön:

Provtagningspunkten Hulesjön ligger i åtgärdsområde Lidan och är ett samlingsprov av tre platser. Lokalen provtogs den 14 maj kl. 10.40. Provtagningspunkten ligger strax utanför Falköping. En av provtagningsplatsens punkter är SWEREFF 6446858 413571. Vid provpunkten har det nätprovfiskats våren 2016.

Figur 24: Provtagningspunkten ligger like vid Falköping. En av provtagningsplatsens punkter är SWEREFF 6446858 413571. Vid provpunkten var det nätprovfiske i våren 2016.

Figur 25: Provtagningspunkten ligger like vid Falköping. En av provtagningsplatsens punkter är SWEREFF 6446858 413571. Vid provpunkten var det nätprovfiske i våren 2016.

Arbete i laboratorium

All utrustning inklusive arbetsplatsen steriliserades med 10% klor och 70% etanol före laboratoriearbete. DNA-extraktionen, Pre-PCR och Post-PCR utfördes i tre separata rum enligt en strikt envägs-procedur, där ingen utrustning såsom pipetter och labbrockar flyttades mellan rummen för att förhindra korskontaminering.

DNA-extraktion

Vattenproverna extraherades med DNeasy PowerWater Sterivex kit (Qiagen, Tyskland), vilket avlägsnar potentiella inhibitorer såsom humussyror. Extraktionen följde tillverkarens rekommendationer med mindre avvikelser för att göra den kompatibel med PureFlo- diskfilter (Solution ST1B och MBL tillsattes i två omgångar, på grund av den mindre filtervolymen jämfört med Sterivex-filtret). Blankprov för DNA-extraktion inkluderades under extraktionen och behandlades identiskt med fältproverna.

PCR-amplifiering och dataanalys

PCR-amplifieringen genomfördes med ett tvåstegs PCR-protokoll med multiplexed MiFish-primers (Stensrud & Eiler, 2025), för att öka sannolikheten för upptäckt av bland annat nejonögonfiskar. Både negativa och positiva PCR kontroller inkluderades i analysen och behandlades identiskt med fältproverna. Provet sekvenserades sedan hos Novogene (UK) Company Limited på en Illumina NovaSeq-plattform tillsammans med andra amfibie- och fiskprover. Proverna bearbetades sedan bioinformatisk med hjälp av verktygen Cutadapt (Martin, 2011) och dada2 (Callahan et al., 2016) och annoterades mot en intern Skandinavisk fiskdatabas, ScandiFish v. 2.0 som består av 544 fiskarter (Stensrud, 2022). Artsträffar med mindre än 30 reads klassificerades som en negativ träff.

Resultat

Efter kontroll av kontaminering (inga upptäckta) påvisades DNA från följande 23 sötvattens-fiskarter/artkomplex: Braxen, löja, ål, ruda/karp, nissöga, stensimpa, karp/guldfisk, gädda, sandkrypare, gärs, bäcknejonöga/flodnejonöga, stäm, stäm/id, lake, abborre, elritsa, småspigg, mört, öring, gös, sarv, sutare och vimma/björkna. Vissa av arterna kan inte säkert särskiljas med hjälp av multiplexed MiFish primere, till exempel bäcknejonöga/flodnejonöga och vimma/björkna.

Jämfört med nätprovfiske som genomfördes 2016 och 2017 mot miljö-DNA provtagningen, upptäcktes fler arter vid alla punkter, i snitt 3 (n=7) vs 9,8 (n=11) arter respektive. På provpunkten Lidan1 påträffades inga färnor, men närbesläktade arter såsom mört och sarv. Inte heller på punkten LidNät påträffades färnor, men familjen *Leucidae* påträffades. Detta är ett känt problem med artidentifiering av karpfisk och särskilt färnor, eftersom det inte finns några referenssekvenser för skandinaviska fiskindivider.

Tabell 2: Resultat av nätfiske som genomfördes 2016 och 2017 på samma platser som undersöktes med hjälp av miljö-DNA.

Sweref N	Sweref E	Rapport	Lokal	Abbore	Braxen	Gädda	Färnor	Gärs	Mört	Sutare
6463704	379089	Våren 2017	Afsån	30				8	23	
6458640	386978	Våren 2017	LidNät	12			2		8	
6473400	399343	Våren 2017	Dofsan	53					131	1
6439760	380109	Våren 2017	Nossan2	1						
6495941	412314	Våren 2017	Sjöråsan	9					14	
6446858	413571	Våren 2016	Hulesjön	5		3			127	4
6470915	385361	Våren 2016	Lidan1	30	10		1	10	11	

Tabell 3: Antal reads/positiva träffar av olika fiskarter i analysen i Lidåns avrinningsområde. N: Lokal är tidigare nätprovfiskat, medföljande fet-skrift indikerar tidigare hittad av arten i nätprovfisket ved samme lokal.

Förklaring av upphöjd text: 1) Alburnus: Troligen löja, 2) Bäcknejonöga / Flodnejonöga: Omöjligt att skilja, 3) Leuciscidae: Omöjligt att skilja, 4) Rutilus: Troligen mört, 5) Vimma / Björkna: Omöjligt att skilja.

Åtgärds-område	**Lidan**	**Lidan**	**Lidan**	**Lidan**	**Lidan**	**Lidan**
Prov	Afsån[N]	Dofsan[N]	Hulesjön[N]	Lidan1[N]	Lidan2	LidNät[N]
Detekterade arter	9	6	8	8	11	9
Braxen	0	0	0	**17938**	32369	0
Alburnus [1]	364	0	0	0	0	0
Löja	22477	0	0	5688	11984	13900
Gädda	49395	5564	**5377**	6073	39474	15547
Sandkrypare	0	0	343	0	0	0
Gärs	**18432**	0	0	**11803**	19840	0
Bäcknejonöga / Flodnejonöga [2]	233	0	0	0	0	754
***Leuciscidae* (Stam /Id /Färna familj) [3]**	0	0	0	0	1696	**378**
Lake	663	0	0	0	0	428
Abborre	**41888**	**30016**	**27338**	**22760**	23282	**89251**
Elritsa	4037	0	128485	0	0	0
Småspigg	0	252	965	0	0	0
Rutilus [4]	0	124	188	0	0	204
Mört	**36076**	**110982**	**160398**	**23850**	19400	**49126**
Gös	0	0	0	0	911	0
Sarv	0	0	0	1563	8835	0
Sutare	0	**1757**	**24553**	10434	10004	14717
Vimma / Björkna [5]	0	0	0	0	25945	0

Tabell 4: Antal reads/positiva träffar av olika fiskarter i analysen i Nossan och övriga avrinningsområden. N: Lokal är tidigare nätprovfiskat, medföljande fet-skrift indikerar tidigare hittad av arten i nätprovfisket ved samme lokal.

Förklaring av upphöjd text: 1) Abramis: Troligen braxen, 2) Ruda / Karp: Troligen karp, men osäkert, 3) Karp / Guldfisk: Omöjligt att skilja, 4) Bäcknejonöga / Flodnejonöga: Omöjligt att skilja, 5) Stäm / Id: Omöjligt att skilja, 6) Perca: Troligen abborre, 7) Rutilus: Troligen mört, 8) Vimma / Björkna: Omöjligt att skilja.

Åtgärdsområde	**Nossan**	**Nossan**	**Öredalsån**	**Öredalsån**	**Öredalsån**
Prov	Nossan1	Nossan2[N]	Öredalsån	Råmmån	Sjöråsån[N]
Detekterade arter	13	8	17	10	9
Abramis [1]	0	0	53	0	0
Braxen	247638	0	3792	0	0
Löja	748	673	0	0	29778
Ål	992	0	0	0	0
Ruda / Karp [2]	0	0	314	0	0
Nissöga	186	0	0	0	0
Stensimpa	0	0	24264	17494	0
Karp / Guldfisk [3]	0	0	81	0	0
Gädda	25452	10104	10515	1845	3898
Gärs	9225	0	941	0	0
Bäcknejonöga / Flodnejonöga [4]	0	25723	136591	68711	201
Stäm	0	0	78	0	0
Stäm / Id [5]	756	0	1780	0	0
Lake	0	0	1541	1050	0
Perca [6]	0	0	0	159	0
Abborre	18710	**12544**	4187	5229	**7489**
Elritsa	0	112527	20300	72431	140
Småspigg	0	419	196	1198	0
Rutilus [7]	0	0	0	0	45
Mört	8806	4350	25490	25855	**191835**
Öring	0	647	3780	6819	0
Gös	2326	0	0	0	0
Sarv	1706	0	0	0	866
Sutare	5390	0	0	0	2532
Vimma / Björkna [8]	5270	0	5734	0	0

Slutsats

Rapporten visade att fiskanalysen med hjälp av miljö-DNA i genomsnitt fann mer än tre gånger så många arter som nätprovfiske. De arter som endast upptäcktes med hjälp av miljö-DNA är vanligtvis små och smala arter som bäcknejonöga / flodnejonöga, gärs, sandkrypare, ål och stensimpa och dessa har låg fångstbarhet med nät. Detta tyder på att miljö-DNA-analyser har potential att ge en mer korrekt bild av de arter som finns i vattenmiljöer.

Referenser:

Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, *13*(7), 581–583. https://doi.org/10.1038/nmeth.3869

Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.Journal*, *17*(1), Article 1. https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200

Stensrud, E. (2022). *Seal the deal; Developing methods to shed light on food web utilisation by a top predator.*

Stensrud, E., & Eiler, A. (2025). *Illumina Dual Index Amplicon Sequencing Sample Preparation Multiplexed MiFish primer set*. https://www.protocols.io/view/illumina-dual-index-amplicon-sequencing-sample-pre-g98cbz9sx