

Projekt eDNA i Fiskodling

Metoden att använda eDNA för att avsöka ett vattendrag efter en känd markör som överensstämmer med exempelvis signalkräfta, flodkräfta eller kräftpest har visat sig fungera alldeles utmärkt. I princip kan en hel sjö kontrolleras för förekomst (vetinst.no). Den eftersökta organismen lämnar spår till vattnet i form av slem, fekalier, urin etc allt med en specifikt DNA kod. Det räcker med vattenprov på några liter som filtreras genom ett fint filterpapper där spåren fastnar. Filtratet kan sedan skickas på analys eller analyseras direkt om utrustning finns på plats. Provet kan också torkas och arkiveras i form av frimärksstora pappersbitar för senare analys. Arkiveras prov regelbundet kan både förekomst och relativ mängd beskrivas över tid. Utvärdering av detta ger möjlighet att utveckla en metod för tidig varning i fiskodlingsvatten samt att utvärdera hur olika åtgärder har haft effekt på patogenen.

Ett framtida eDNA verktyg kan utgöra en viktig del i det förebyggande smittskyddsarbete på vattenbruksanläggningar och därmed höja både hälsan och välfärden hos vattenbruksdjuren.

Syftet med detta projekt är att samla in och sammanställa kompetens och forskning inom området för att se om detta är något Sverige ska satsa vidare på.

1. eDNA – hur funkar det?
2. eDNA – vad kan man upptäcka?
3. eDNA – vilka jobbar med detta?
4. eDNA – nytta i fiskodling
5. eDNA – efter projektet

Projektet utfördes hösten 2019 och är finansierat ur livsmedelsstrategin genom Jordbruksverket

1. eDNA – hur funkar det?

Varje varelse har en unik DNA-kod. Denna går att beskriva med en streckkod. Detta görs nu för många organismer som det finns intresse att följa. Alla lämnar spår till omgivningen.

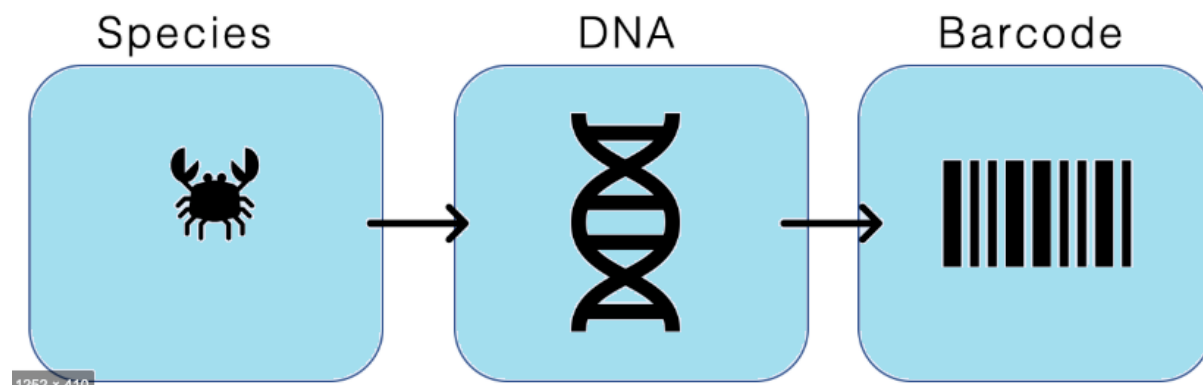


Fig 1, DNA från en organism kan översättas till en streckkod.

I korta drag så består metoden av att samla in spår och jämföra de DNA-streckkoder som hittats med ett bibliotek av redan streckkodade DNA för den organism man söker.

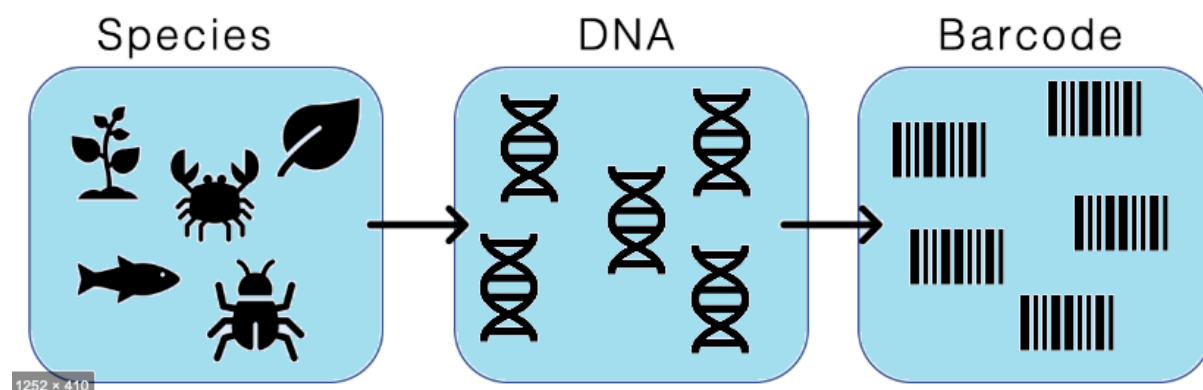


Fig 2, Ett vattenprov innehåller DNA från de organismer som finns i vattnet.

Ett vattenprov kan filtreras genom ett pappersfilter och sedan analyseras på de olika DNA som finns. Om dessa DNA överensstämmer med streckkoder som redan är framtagna så visar det på närvaro av den speciella organismen.

2. eDNA – vad kan man upptäcka?

Man kan även identifiera högre varelser och göra det genom ett vattenprov, här finns en länk som exemplifierar detta

<https://youtu.be/TQdTV1rAlWY>

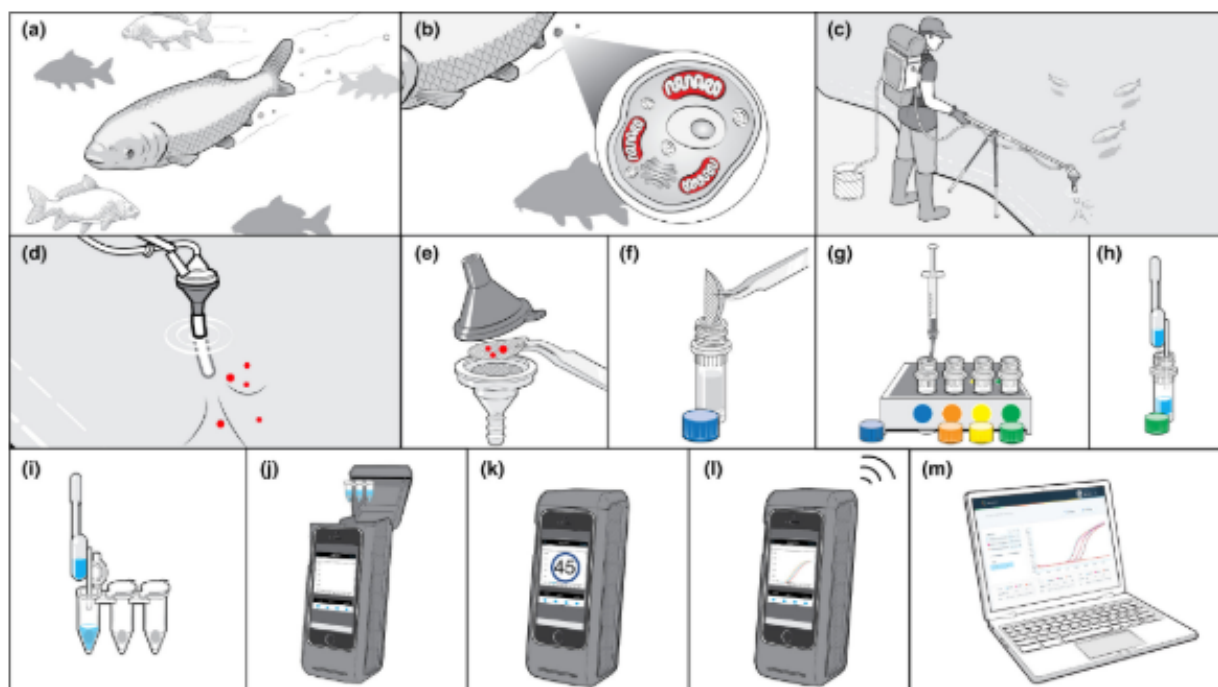


Fig 3, Thomas et al 2019

En översikt av metoden. (a) en fisk släpper lite slem, (b) slemmet innehåller DNA, (c) en provtagare doppas i vattnet, (d) vatten sugas upp genom ett filter, (e) filterpappret plockas ut med pincett, (f-i) provet förbereds för analysutrusningen, (j-l) analys utföres, (m) resultat tolkas på dator.

När det gäller fiskodling så är det i första hand parasiter, bakterier och virus som är intressant att följa. Mikrobiologer använt tekniken i vattenprov sedan 80-talet, där man undersökt

- Giftiga alger
- E-coli som indikator på förorenat vatten
- Patogena bakterier i miljön
- Karakterisera mikrobiomet

Nu har utrustningen utvecklats från större maskiner för inomhuslaboratorier till små handhållna enheter drivna av processorn från en mobiltelefon, kostnad 1-2000 \$.

Detta ger helt nya möjligheter att använda tekniken operationellt.

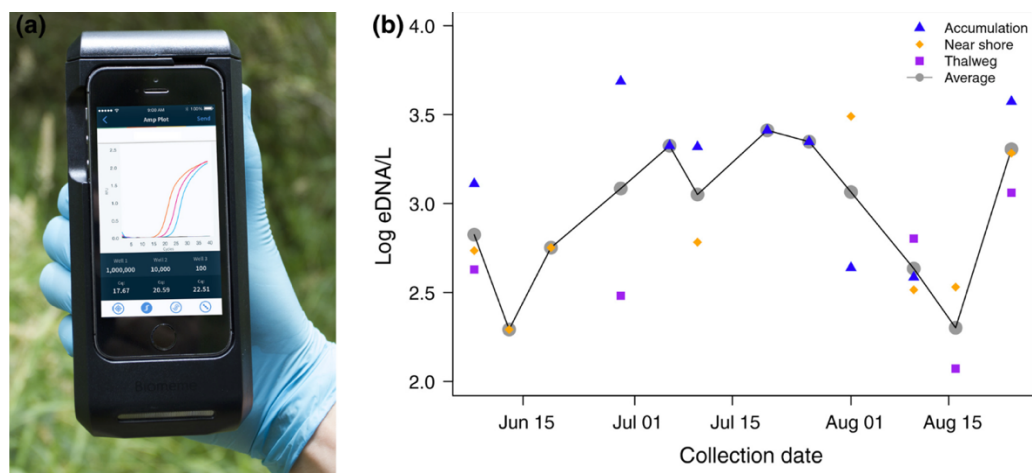


Fig 4, Thomas et al 2019

Handhållen enhet och analysdata som visar en lersnäckas närvaro i ett vattendrag

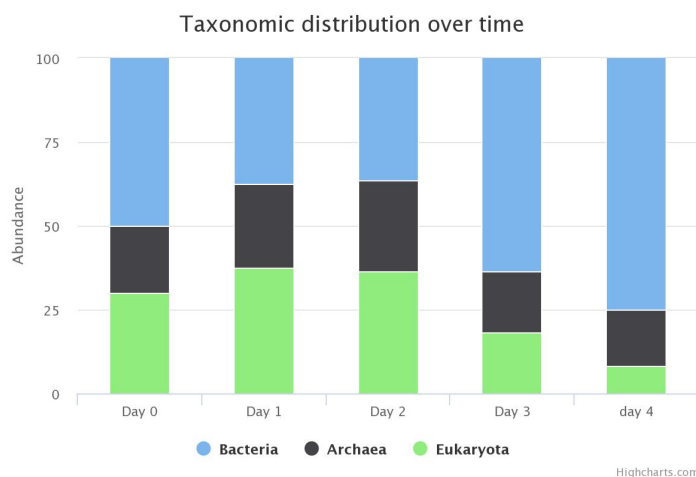


Fig 5, På sin hemsida ednasolutions.se visar företaget att det är möjligt att ge en bild av bakteriepopulation över tid

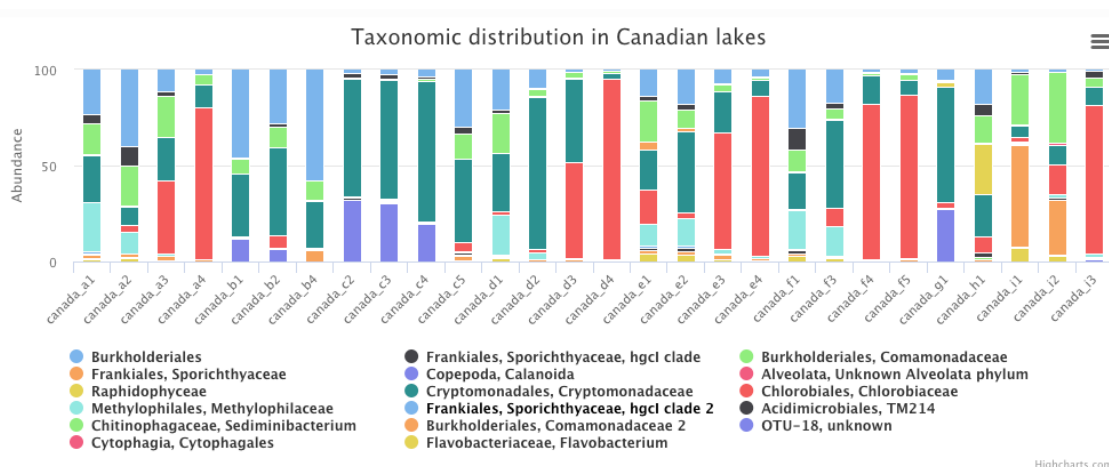


Fig 6, ednasolutions.se visar också en bakteriekartläggning i att antal Kanadensiska sjöar. Speciellt intressant för fiskodling är att förändringar i andelen flavobakterier är möjligt att följa.

3. eDNA – vilka jobbar med detta?

I Sverige pågår projekt med eDNA på flera ställen. Flera av aktiviteterna i Sverige är knutna till ett Europeiska expertnätverk, dnaqua.net, som är finansierat genom COST. I november 2019 hölls en workshop på SLU i Uppsala. En lista på föredragen ger en överblick på aktuella aktiviteter i Sverige:

1. Identification of macroinvertebrates Professor Tomas Roslin,
2. Monitoring of biodiversity in Swedish forest soils Professor Björn Lindahl, SLU
3. ePIKE - Testing the applicability of eDNA for monitoring pike (*Esox lucius* L) abundance Erik Karlsson and Patrik Bohman, SLU
4. DNA-barcoding of marine phytoplankton Agneta Andersson, Umeå University
5. Integrating metabarcoding data into the Swedish Biodiversity Data Infrastructure (SBDI) Anders Andersson, KTH / SciLifeLab
6. The SLU Metabarcoding Laboratory - UMBLA Åke Olson, SLU
7. eDNA service at the Swedish Museum of Natural History Niclas Gyllenstrand, Swedish Museum of Natural History (NRM)
8. DNA-sequencing capabilities at SciLifeLab genomics Olga Vinnere Pettersson, NGI-Uppsala, SciLifeLab A new service for amplicon library preparation at NGI Stockholm Franziska Bonath, NGI- Solna, SciLifeLab
9. Barcoding of freshwater taxa for improved assessment of biodiversity (FRESHBAR) Maria Kahlert, SLU
10. Establishing DNA-barcode libraries of Swedish clitellate worms (Annelida) Christer Erséus, Gothenburg University
11. NEMOte BARCODing: Advancing monitoring of Baltic benthic ecosystems Francisco Nascimento, Stockholm University
12. Life-DNAquatic Micaela Hellström, AquaBiota Water Research (ABWR AB)
13. eDNA – promises and challenges Helena Wiklund, Gothenburg University
14. Microbial communities as indicators of environmental change Professor Sara Hallin, SLU
15. Untargeted barcoding: Exploring shotgun metagenomics for microbial systems assessment Stefan Bertilsson, SLU
16. Target capture probe design for green plants; a novel tool for environmental DNA sequencing Kevin Nota, Uppsala University
17. Vegetation shapes fungal spore arrival within a forest–agricultural mosaic landscape Miguel-Angel Redondo
18. Tracking marine and freshwater threatened invertebrates Sonja Leidenberger, University of Skövde
19. DOs and DON'Ts of switching from bulk samples to eDNA for environmental monitoring: a case-study with terrestrial insects Daniel Marquina, Swedish Museum of Natural History (NRM)
20. Exploring microbial eukaryotic diversity with long-read metabarcoding Mahwash Jamy, Uppsala University
21. Optimized metabarcoding protocol using Pacific Biosciences sequencing of the ITS2 region allows semiquantitative analysis of fungal communities Carles Castaño Soler, SLU
22. Detecting bioimmigrants – metabarcoding of plant pathogenic oomycetes in soil from the rhizosphere of imported woody plants Simeon Rossman

4. eDNA – nytta i fiskodling

I fiskodling så är det mycket viktigt med en jämn vattenkvalitet. Ändringar i vattnets fysikaliska eller kemiska parametrar kräver att fisken måste anpassa sig därefter. Fisken är duktig på detta och fiskar återfinns i vattendrag över hela jordklotet med stora skillnader i vattenkvalitet. Det kostar dock energi för fisken att anpassa sig, därför vill en fiskodlare inte ha kraftiga svängningar i vattenkvalitet, det påverkar fiskvälfärden negativt och med det följer förlust i produktionen. Alla förändringar skall ske långsamt.

Det som sagts om de fysikaliska och kemiska parametrarna gäller också de biologiska. Fisken har sitt slemskikt som yttre skydd mot omgivningen. Slemskiktet är anpassat till de omgivande vattnets egenskaper. Förändringar i vattnets microbiome gör att fisken måste anpassa sig efter detta. Vissa mikroorganismer, patogenerna ger extra stor stress på fisken och har om de får fortsätta angripa en stressad fisk möjlighet att döda fisken.

Att som fiskodlare försöka stoppa en patogen i tid är mycket viktigt. Det finns idag ganska bra metoder att övervaka kemiska och fysikaliska parametrar som stressar fisken, här kan motåtgärder sättas in snabbt för att stabilisera odlingsvattnet till ett för fisken bra läge. När det gäller patogenerna ser man inte dessa förrän fisken visar symptom och åtgärder kan alltså först sättas in då man redan förlorat i fiskvälfärd och produktion. Att kunna använda eDNA för övervakning av patogener vore mycket bra då åtgärder kan sättas in tidigare och även avslutas tidigare då man kan följa koncentrationen av patogener ner till en ofarlig nivå. När det gäller det normala microbiomet i vattnet och att med eDNA kunna följa avvikelser från normalläget skulle göra att även den mikrobiologiska stress som förändringar ger på fisken kan minskas.

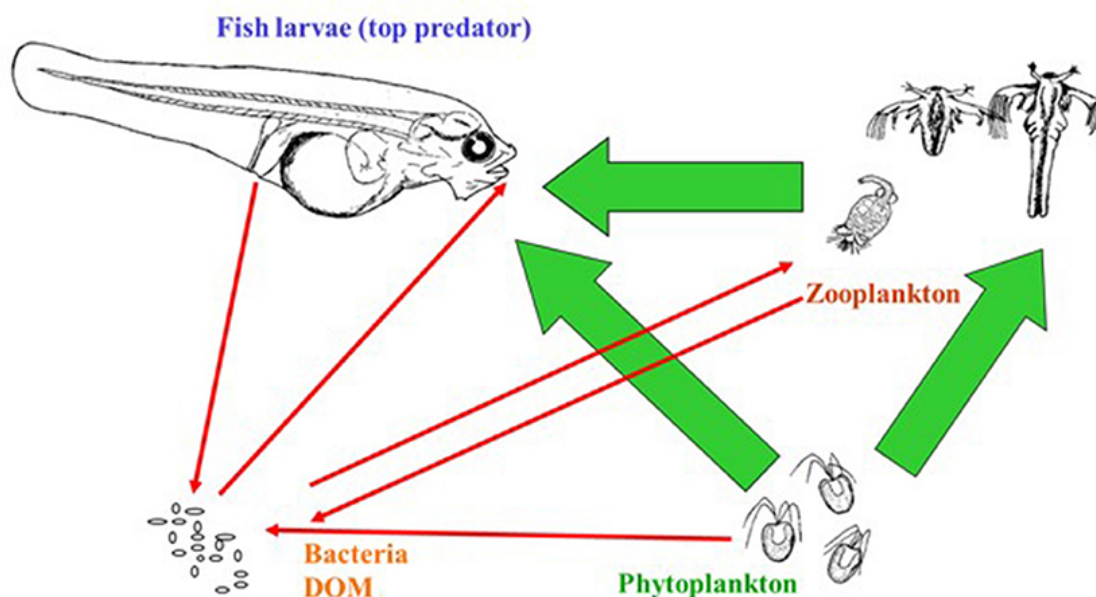


Fig 7, Vadstein et al

Normalläge för fisken med mycket biologiska ingredienser som kan påverka normalläget av microbiomet

Att direkt kunna följa det mikrobiologiska samhället och att kunna arkivera prover på ett enkelt sätt kan göra mycket nytta för förståelsen för fiskodlingen.

Några exempel

- Vatten uppströms odlingen
- Brunnsvatten
- Utgående vatten
- Hälsokontroll utgående från en RAS eller i en sjö med kasse
- Regelbunden provtagning – kartlägga normalläge

Att känna till det microbiella normalläget i sin odling ger möjligheter till kunskap om:

- Är fisken under biologisk/vattenkemisk stress?
- Indikatorarter minskar/ökar
- Tidig varning – bör åtgärd sättas in?
- Har åtgärden lyckats – är patogenen borta?
- Minimera eller undvika medicinering

Om det upptäcks en ”ny” patogen så kan man snabbt undersöka

- Finns den någon annan stans i världen?
- Finns patogenen i det vilda i Sverige?
- Har den alltid funnits där?

Eftersom mikrobiomet är unikt för varje fiskodling kan eventuellt metoder för kontroll av Ursprungsmärkning utvecklas

5. eDNA – efter projektet

Presentation av projektresultat har skett vid fiskhälsokonferens i Sundsvall dec 2019 och i fiskkonferens i Stockholm i jan 2020

Förberedelser för att lämna in ansökan om medel till att kartlägga några vanliga fiskpatogener och ge dessa en streckkod samt undersöka hur ett normalläge bäst kan stabiliseras i några svenska fiskodlingar.

Ola Öberg