



E-DNA Groddjur Kolbotten, Haninge kommun

2022-09-29

Frida Sjöborg och Eduardo Ottimofiore, AFRY

Kund: Haninge kommun

Projekt: Kolbotten, Haninge kommun

Rapport

Författare
Frida Sjöborg
Tel
+46 10 505 51 04
Mobil
+46 72 200 36 32
E-mail
Frida.sjoborg@afry.com

Datum
29/09/2022
Projekt ID
0065892

Kund
Haninge kommun

E-DNA Groddjur, Kolbotten

Beställare: Haninge kommun
Uppdragsledare: Frida Sjöborg
Kartor, GIS: Anders Alahäivälä
Fältarbete & rapport: Frida Sjöborg, Eduardo Ottimofiore
Kvalitetsgranskning: Karin Sandqvist

Innehållsförteckning

1	Inledning.....	3
1.1	Bakgrund.....	3
1.2	Syfte.....	3
1.3	Områdesbeskrivning.....	3
2	Metod.....	5
2.1	E-DNA.....	5
2.2	Osäkerheter.....	5
3	Utförande.....	5
4	Resultat.....	6
4.1	Damm 1.....	6
4.2	Damm 2.....	8
5	Referenser.....	10

1 Inledning

1.1 Bakgrund

Haninge kommun vill undersöka möjligheten att tillskapa en byggrätt på vad som idag är naturmark i södra delen av planområdet inför att detaljplanen går ut på granskning. Byggrätten omfattar en huvudbyggnad om max 180 kvm byggnadsarea samt tre friliggande komplementbyggnader med största sammanlagda byggnadsarea om 70 kvm.

Inventeringsområdet gäller de idag obebyggda fastigheterna Kolbotten 6:59, Kolbotten 6:60 och Kolbotten 6:61 som idag omfattas av områdesbestämmelser O14. Dessa områdesbestämmelser reglerar byggrätten per fastighet till max 70 kvm byggnadsarea per huvudbyggnad samt två uthus om sammanlagt max 40 kvm byggnadsarea. I detaljplaneförslaget för dessa tre fastigheter ges per fastighet en byggrätt för en huvudbyggnad om 180 kvm byggnadsarea samt tre friliggande komplementbyggnader med största sammanlagda byggnadsarea om 70 kvm.

På uppdrag av Haninge kommun har AFRY genomfört E-DNA provtagning av groddjur i två småvatten i området.

1.2 Syfte

I förarbetet för en naturvärdesinventering i området uppmärksammades det att det finns småvatten precis vid gränsen för inventeringsområdet, vilka skulle kunna vara potentiella groddjurslokaler. Då inventeringssäsongen för groddjur var över beslutades det om att göra E-DNA provtagning i dammarna för att få en indikation över om och vilka groddjursarter som kan tänkas uppehålla sig i området.

1.3 Områdesbeskrivning

Dammarna ligger nära naturvärdesinventeringens *inventeringsområde 2* (ca. 0,7 ha), se figur 2, som består av öppen skogsmark med inslag av sten i dess centrala del, och en tätare blandskog med buskage i dess nordvästra sida. Den norra sidan av inventeringsområde 2 är präglad av våtmark, med ett dike och en del av en damm som fortsätter utanför inventeringsområdet.

Dammarnas placering är i en öppen glänta omgivna av frisk- och våtängar. Det växer några sälgar och björkar i området och ängarna bedöms vara artrika med kråkvicker, smörblomma, vitsippa, kärringtand, gökblomster och sjöfräken.



Figur 1 Orienteringskarta



Figur 2. Inventeringsområde

2 Metod

2.1 E-DNA

Environmental dna, e-DNA eller på svenska miljö-DNA, är de rester organismer lämnar efter sig i en miljö; hud, sporer, saliv, avföring och blod. Vid provtagning av avföring eller vatten kan man använda sig av DNA-barcoding för att läsa av vilka organismer som vistas i miljön. E-DNA är en provtagningsmetod som i minsta möjliga mån inkräktar på naturen och dess individer. Till exempel kan ett vattenprov tas istället för att fånga in fisk i nät eller en fälla, vilket kan skada dem. E-DNA är en bra metod utanför inventeringssäsong, lämplig för en förstudie eller för arter som är mycket svåra att inventera.

Om provtagningen innebär en positiv detektion betyder det att organismen har uppehållit sig i miljön i närtid och inte, exempelvis för ett år sedan. På ungefär tre veckor bryts DNA ner i miljön men nedbrytningstiden beror på årstid och art. Med hjälp av e-DNA-provtagning och analys kan man främst få fram ett underlag kring artförekomst i ett område. Provtagning svarar på om det finns en artförekomst, men inte hur stor den förekomsten är. För groddjur är tiden för inventering begränsad till tidig vår, mars och april, och i de fall där det hade behövts en överblick av artförekomst kan e-dna användas som ett standardiserat komplement utanför fältsäsong. I Sverige finns idag endast två laboratorier som har den sterila miljö och utrustning som krävs för att analysera E-DNA-vattenprover. Afry har i denna undersökning använt sig av Naturhistoriska riksmuseet och deras avdelning Centrum för genetisk identifiering, CGI.

2.2 Osäkerheter

E-DNA provtagning är enbart till för att få en indikation över artförekomst när tiden för en regelrätt fältinventeringen inte kan genomföras. Resultatet kommer visa på vilka av Sveriges vanligaste groddjur som befinner sig kring dammarna i närtid. Resultatet kommer inte visa något på hur stor populationen och för en mer säker bedömning behövs det göras en fältinventering under lämplig säsong.

3 Utförande

E-DNA provtagningen utfördes den 7 juli 2022. Vädret var delvis soligt med någon regnskur. I fält beskrivs och mäts dammarna upp vilket antecknas i en kartbaserad GIS-applikation, ArcGIS (ESRI).

Provtagningsutrustningen hålls ren och steril för att inte kontaminera provtagningen, minska spridning av sjukdomar mellan groddjur samt för att inte blanda ihop resultaten för de båda dammarna. Vatten från dammarna tas på flera platser, blandas ihop och filtreras i fält. En buffert tillsätts och proverna ligger nerfrysta tills de skickas till CGIs laboratorie.

CGI beskriver sin analysprocess som följande; från vattenproverna extraherades DNA och en kort bit av mitokondrien framställdes utförligare med hjälp av en primer. CGI skapade tre oberoende PCR replikat för samlingsprovet. Resultatet jämfördes mot Sekvensbibliotek gjordes med "QIAseq 1-Step Amplicon Library Kit" mot alla tre prover.

Med hjälp av R-paketet dada² jämfördes sekvensdata från proverna mot biologiskt ursprung. Dada² jämför dessutom hur många gånger sekvensen hittas i vardera prov. Efter filtrering av proverna, för att minska kontaminationsrisk, jämfördes sekvenserna mot NCBI:s öppna nukleotiddatabas. För en säker bedömning anses vara en likhet som överstiger 99 %.

4 Resultat

Samtliga prov i de bägge dammarna, se figur 3, var korrekt provtagna och gick att använda för att skapa sekvenseringsbibliotek. Den totala mängden sekvenser var också av tillräckligt god kvalitet för att karakterisera proverna.



Figur 3. Damm 1 och damm 2 i närheten av inventeringsområde 2.

För varje prov har det analyserats tre replikat. Om ingen av replikaten har gett utslag är resultatet ingen förekomst, se tabell 1. Alla positiva prover innehåller DNA-spår. När ett eller två replikat är positiva kan det bero på mindre DNA-mängder i provet.

Tabell 1. Resultat från e-DNA analysen

Prov	Åkergroda	Vanlig groda	Större vattensalamander	Mindre vattensalamander	Vanlig padda
Damm 1	Negativt 0/3	Negativt 0/3	Positiv 2/3	Positiv 3/3	Negativt 0/3
Damm 2	Negativt 0/3	Negativt 0/3	Positivt 3/3	Positivt 3/3	Negativt 0/3

4.1 Damm 1

Damm 1 har en förhållandevis öppen vattenspegel med en rik växtlighet kring strandzonen. Botten består av stora stenar som är täckta av växtlighet och en björk som ligger vält över spegelytan. Dammen är ca 26 meter lång och ca 10 meter bred.

Dammen har en öppen vattenspegel, med relativt lite beskuggning. Växtligheten i och kring dammen ger goda möjligheter för groddjur att gömma sig i. Det fanns en antal faunadepåer i området som kan fungera som övervintrings- och födomöjligheter för groddjur.

E-DNA provtagningen indikerade att det fanns större och mindre vattensalamander i dammen.



Figur 4. Damm 1 men död ved



Figur 5. Död ved som kan fungera som faunadepå och övervintringslokal för groddjur.

4.2 Damm 2

Denna damm är mer igenväxt än damm 1 och främst är det strandzonen som är dominerad av vass och säv. Vattenspegeln är öppen med en viss växtlighet av bland annat vattenpilört. Dammen är ca 27 meter lång och 8 meter bred.

Dammen har en mindre öppen vattenspegel, med någon beskuggning av sälj och gran. Växtligheten i och kring dammen ger goda möjligheter för groddjur att gömma sig i. Det fanns en antal faunadepåer i området som kan fungera som övervintrings- och födomöjligheter för groddjur.

E-DNA provtagningen indikerade att det fanns större och mindre vattensalamander i dammen.



Figur 6. Damm 2



Figur 7. Död ved i närheten av damm 2.

5 Referenser

Bina, P. (red.) 2015. *Grodans år*. Faunaväktariatet uppmärksammar Sveriges groddjur Amphibia. ArtDatabanken SLU, Uppsala

Naturhistoriska riksmuseet (2021). *Centrum för genetisk identifiering DNA-analys av vattenprover*. Rapport 4.1-412-2021

SFS 2007:845. *Artskyddsförordning*.

Thomsen, P.F. et al., 2012. *Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA*. Molecular Ecology, 21(11), pp.2565–2573