

En svartvit streckkod på labbet

– en hjälp för fältbiologen att artbestämma

DNA har under några årtionden använts som hjälpmedel för att ta reda på t.ex. vilka fågelarter som är närmast släkt med varandra. DNA innehåller också arts specifika "streckkoder" som kan användas som verktyg för artbestämning. Tekniken med streckkoder öppnar upp möjligheter inom flera områden – t.ex. inventering, miljöövervakning, tullgods och kommersiellt fiske.

MALIN STRAND

Redan idag kan biologer i många fall ta reda på vilken art de har funnit i sjön, havet eller på land genom att låta ett laboratorium analysera en liten del av organismens vävnad med avseende på dess unika genuppsättning, dess DNA. En fantasieggande möjlighet i framtiden är att på plats ta reda på vilken art man har framför sig. Låt mig ta ett exempel. Tänk dig att du står på en strandäng i Falsterbo i Skåne där en obestämd vadarsvala uppehållit sig några dagar. Det är en yngre fågel som ruggar, och artbestämningen har vållat huvudbry hos den församlade expertisen. Tre olika arter av vadarsvala har föreslagits. Då ser skådarna att vadarsvalan tappar

en fjäder. Någon springer snabbt fram och plockar upp den. Flera av de moderna skådarna har med sig ett fältanpassat minilaboratorium, och i ett av dem processas den värdefulla fjädern. Snart trillar en bokstavskod ut: ...ACCGGTTAA..., en unik gensekvens som matchas mot data i en fjärran server. Och vips, så tickar svaret ut framför den andäktiga församlingen: det visar sig vara en orientvadarsvala *Glareola maldivarum*, en ny art för Sverige!

Vi vet att det finns delar i arvsmassan som är i princip identiska mellan t.ex. alla ryggradsdjur, eller mellan organismer som befinner sig ännu längre från varandra i släkträdet, medan det finns andra delar som varierar så att vi kan skilja individer åt och t.ex. genomföra 100 %-iga faderskapstest. Vi kan själva bestämma vilken del av arvsmassan vi vill sekvensera, och vi kan alltså ställa olika frågor till olika delar av arvsmassan. Med utgångspunkt i de senaste 20 årens enorma mängder av framtagna DNA-sekvenser har de delar av arvsmassan som i stor utsträckning åter speglar arttillhörighet identifierats. Dessa avsnitt kallas



Den här orientvadarsvalan Glareola maldivarum uppehöll sig vid Falsterbo i Skåne från 2 juli till 6 oktober 2001. Det var bl.a. tack vare en insamlad fjäder som man så småningom kunde bekräfta att det rörde sig om just den arten. Foto: Felix Heintzenberg

”streckkodsgener” eftersom de i stort sett fungerar som en streckkod för arttillhörighet. Bokstavskombinationen som nämndes tidigare kan översättas till en renodlad streckkod.



Med enkla medel och relativt billiga tekniker kan vi idag ta en bit vävnad från en organism och på någon dag få fram så kallade DNA-sekvenser. I dagsläget är kostnaden omkring 500 kr för en individ från vävnad till sekvens, men priset sjunker kontinuerligt i och med att teknikerna blir mer och mer standardiserade. Denna sekvens skickas digitalt och matchas mot en omfattande databas med sekvenser. Om en snarlik sekvens finns sedan tidigare i databasen kommer svaret omgående, t.ex.: den här matchar till 99 % med arten X.

Varför vill man bestämma en art med DNA och vad är vitsen med streckkoder? Vi vet inte riktigt hur många olika arter det finns i Sverige. En uppskattning ligger runt 50 000 arter av flercelliga organismer (djur, växter, svampar). Det finns varken litteratur eller ”experter” så det räcker, och för flera organismgrupper är artbestämning ett mycket svårt och tidskrävande arbete som endast ett fåtal personer, om ens någon, kan utföra med säkert slutresultat. För att bestämma något till art krävs också oftast att man har ett särskilt stadium av en organism, och det kan t.ex. vara omöjligt att artbestämma olika stadier som larver, frön, sporer eller mykorrhiza.

Vad betyder DNA-sekvensen?

DNA-sekvenserna levereras som en unik bokstavskombination, t.ex. ..ACCGGTAATACGG.. vilken symboliserar den ordning i vilken olika s.k. baspar följer. Det finns fyra baspar i en DNA-molekyl: adenin (A), cytosin (C), guanin (G) och tymin (T). I en RNA-molekyl finns också fyra baspar, men här ersätts tymin av uracil (U).

Artbestämning är som nämnts ovan ofta ett tidskrävande och omfattande arbete som få personer bemästrar till fullo. Här kommer taxonomerna in i bilden. För att kunna upprätta en databas med streckkoder krävs att dessa personer gör omsorgsfulla insatser – **och det är ett gigantiskt arbete som återstår!** De arter som är vanliga är de som är lättast att bestämma eftersom de ofta studeras. För dessa är kanske behovet av streckkoder inte så stort, men de är ändå lätta att ta fram. För ovanligare arter gäller det omvända. Vissa arter har endast identifierats vid beskrivningstillfället och sedan aldrig mer påträffats. Det blir då svårare och svårare att påträffa dem, eftersom ingen ytterligare dokumentation finns att tillgå. Här kommer muséerna in i bilden! Om typmaterial från beskrivningstillfället deponerats på ett museum kan det finnas möjlighet att skapa en streckkod utifrån detta, även om materialet är kraftigt nedbrutet. Ibland kan därför hundra år gammalt typmaterial få nytt liv i form av en streckkod, och streckkoden i sin tur blir ett verktyg för att hitta arten igen och säkert identifiera den. Plötsligt återfinns arten och ny kunskap om före-

Höga krav för godkänd DNA-streckkod

För att skapa en godkänd och giltig streckkod för en art ställs följande kriterier: flera säkert bestämda individer ska användas för sekvensering, alla individer ska fotograferas, insamlingslokal och datum ska anges, och streckkodssekvensen ska vara framtagen. När detta är uppfyllt görs informationen tillgänglig i databasen BOLD (Barcode of Life Database) som enbart ägnar sig åt DNA som verktyg för artbestämning. Inom BOLD finns möjlighet att ha nationella referenssystem för varje land eller region vilket är mycket värdefullt, eftersom arter kan variera mycket eller lite beroende på hur populationer avgränsas och på arters utbredningsområden.

komst och utbredning kan läggas till dokumentationen! Det är heller inte ovanligt att en artbeskrivning av äldre modell inte innehåller den information som vi behöver för att kunna artbestämma. Om typmaterial finns och kan sekvenseras kan man med hjälp av detta revidera beskrivningen och lägga till den information som saknas. Som ett exempel kan nämnas att det för 100 år sedan beskrevs en slemmask som ”lång” och ”röd” och med utbredningsområdet ”Nordsjön”. Den fick namnet *Lineus ruber* och därmed var en ny art beskriven. Under 1930-talet sattes rekommendationer för vad artbeskrivningar skulle innehålla, men ett stort antal arter hade ju beskrivits långt innan dessa riktlinjer togs fram. Nu visar det sig att Nordsjön är ett ganska stort område, att väldigt många slemmaskar lever där, och att många av dem är långa och röda. Det är uppenbart att alla inte tillhör arten *Lineus ruber*, så hur ska vi veta vilken av dem namnet var avsett för? Om nu masken som var ursprunget till beskrivningen finns sparad på ett museum finns chansen att få svaret på frågan genom att jämföra DNA från de djur vi hittar idag med DNA från det ursprungliga djuret. Om vi hittar en perfekt matchning kan vi fylla på beskriv-



Röd ålgräsmask *Lineus ruber*. Från *Nationalnyckel-volymen Stjärnmaskar–slemmaskar*.
Illustration: Helena Samuelsson

ningen med detaljer om utbredningsområde, kanske ”Norska havet” eller något ännu mer specifikt; kanske information om färgvariation, antal ögon, fåror på huvudet, hur juveniler (ungdomsstadier) ser ut o.s.v. – och plötsligt blir artbeskrivningen användbar till sist.

När det väl finns referenssekvenser i en databas öppnas oerhörda möjligheter. Fisket kan kontrolleras på ett helt nytt sätt, eftersom det räcker med en fena eller ett fjäll för att få reda på arttillhörighet. Därmed kan man t.ex. kontrollera om hotade arter har fiskats upp. Inom tullen kan man artbestämma t.ex. skinn-detaljer, medan ekologer i ett vanligt jordprov kan artbestämma allt ifrån rötter och ägg till maskar och mykorrhizatrådar. Sällsynta däggdjur kan spåras med hjälp av blodsugande parasiter (t.ex. myggor, iglar och fästingar) eftersom det går att bestämma vilka arter blodet kommer från.

Det referensmaterial som finns i museisamlingar är extremt viktigt. Här finns vävnader kvar t.ex. av ”utdöda” djur, vilka sedan ”återuppstår” i blodet från en igel. Vid en studie i Saola Nature Reserve i Vietnam har man bl.a. utvärderat metoden att spåra däggdjur i oländig terräng och otillgängliga områden med hjälp av blodet från landblodiglar i familjen Haemadipsidae. Resultaten överträffade förväntningarna och ritade om utbredningskartan för flera däggdjursarter som sällan eller aldrig påträffats. Man hittade t.ex. blod av mårddjur i släktet *Melogale* (solgrävlingar) och kunde konstatera att den sällsynta kinesiska solgrävlingen *Melogale moschata* fanns i området. Det fanns också blod av tre andra mycket sällsynta däggdjursarter (en muntjak, en serov och en kanin) i iglarna.

Streckkodsmetoden kan också användas på maginnehåll. Vi kan sekvensera innehållet i tarmar och mage och få reda på vad ett djur äter. Vi kan också ta ett jordprov som helt saknar bestämningsbara organismer, sekvensera innehållet i detta och få en lång innehållslista på rundmaskar, svampar, växter och insekter, utan att kunna se dem. De finns i jordprovet som svamphyfer, ägg, sporer eller frön och låter sig gärna sekvenseras.

En annan möjlighet för tekniken finns inom miljöövervakningen. För att följa miljöförändringar över

Strekkodsprojekt

Sveriges alla arter av ryggradsdjur har genom ett initiativ från Naturhistoriska riksmuseet (NRM) fått streckkoder med hjälp av finansiering från FORMAS. Av ca 650 arter har drygt 500 streckkodats framgångsrikt hittills. Samtliga svenska häckfågelarters streckkoder har levererats till databasen BOLD med märkningen "SWEBI" och går alltså att söka upp för vem som helst. Däggdjur, fiskar och reptiler är under bearbetning.

Svenska artprojektets marina inventering 2006–2009 resulterade i mycket artbestämt material som deponerats på svenska museer. Artbestämningen skedde främst genom att experter deltog aktivt i inventeringen och redan ombord på båtarna kunde börja sortera materialet. Att få med experter för 30 olika djurgrupper som lever i havet är dock praktiskt omöjligt varför en pilotstudie med streckkodsteknik genomfördes. Gruppen slemmaskar lades i sprit ombord på båten och artbestämdes senare med DNA. Trots att referensdatabasen inte var heltäckande kunde 30 av de 50 individerna få sitt korrekta artnamn med hjälp av DNA-koden.

Havs- och vattenmyndigheten (HaV) har tillsammans med NRM ett pågående projekt för att kunna artbestämma en grupp inom limniska fjädermyggor (Chironomidae) med hjälp av streckkoder. Detta för att kvantitativt i framtiden kunna uppskatta antalet arter i bottenprover från sjöar och vattendrag.

tid kan artsammansättning vid olika tillfällen vara ett bra mått. Ett exempel kan vara bottenprover i insjöar. Men det är svårt att bestämma alla små organismer i ett bottenprov. Att sortera och artbestämma allt i en deciliter av en sjöbotten kan ta veckor, och då återstår troligen en hel del material som inte låter sig artbestämmas alls. Med streckkodsmetoden kan man få ett mer absolut mått på antalet arter oavsett om de låter sig identifieras eller inte. I Sverige utvärderar Naturvårdsverket möjligheterna att använda streckkoder i miljöövervakningssammanhang. Man kan t.o.m. tänka sig att man bara beräknar antalet arter utan att veta namnen på dem. Det blir då en numerär uppskattning av biodiversitet utan direkt artbestämning.

Inom ramen för Svenska artprojektet läggs mycket tid och pengar på att göra säkra artbestämningar och hålla bra koll på vilka arter som finns i den svenska floran och faunan. Trots att detta arbete genomförs så skapar inte det idag referenser för några streckkoder. Det dyraste arbetet, dvs. insamling och artbestämning, bekostas och förutsättningarna för att skapa referensmaterial är de allra bästa! Streckkoderna kan vara det mest användbara artbestämningsverktyget över tid för omvärlden, och ändå gör vi dem inte. Idag finns inga uttalade krav på att forskare/projekt som stötts av

Svenska artprojektet ska generera streckkodssekvenser, trots att finansiering riktas direkt och tydligt mot dåligt kända organismgrupper, där användningsområdet för streckkoder är som allra störst. Det minsta vi inom Artprojektet kan göra är att säkra vävnad från väl identifierade organismer – då finns möjlighet att skapa streckkoder. Om streckkoderna till sist genereras förbättrar vi förutsättningarna avsevärt för ny dokumentation och ökad kunskap om våra arter, och det är ju själva idén med Artprojektet. ■

Malin Strand

Nationalnyckeln, Svenska artprojektet.

E-post: malin.strand@slu.se

Litteratur

- Lyrholm, T. 2009. DNA-baserade metoder för taxonomisk bestämning ('DNA barcoding'): Potentiella tillämpningar för effektivare miljöövervakning. – Naturhistoriska riksmuseets småskriftserie 2009: 2.
- Bærholm Schnell, I., Thomsen P.F., Wilkinson, N., Rasmussen, M., Jensen L.R.D., Willerslev, E., Bertelsen, M.F., Gilbert, M.T.P. 2012. Screening mammal biodiversity using DNA from leeches. – *Current Biology* 22(8): 262–263.
- <http://www.barcodeoflife.org/>