

# Realtids monitoring af kommercielle arter via et automatiseret undervandslaboratorie

Brian Klitgaard Hansen

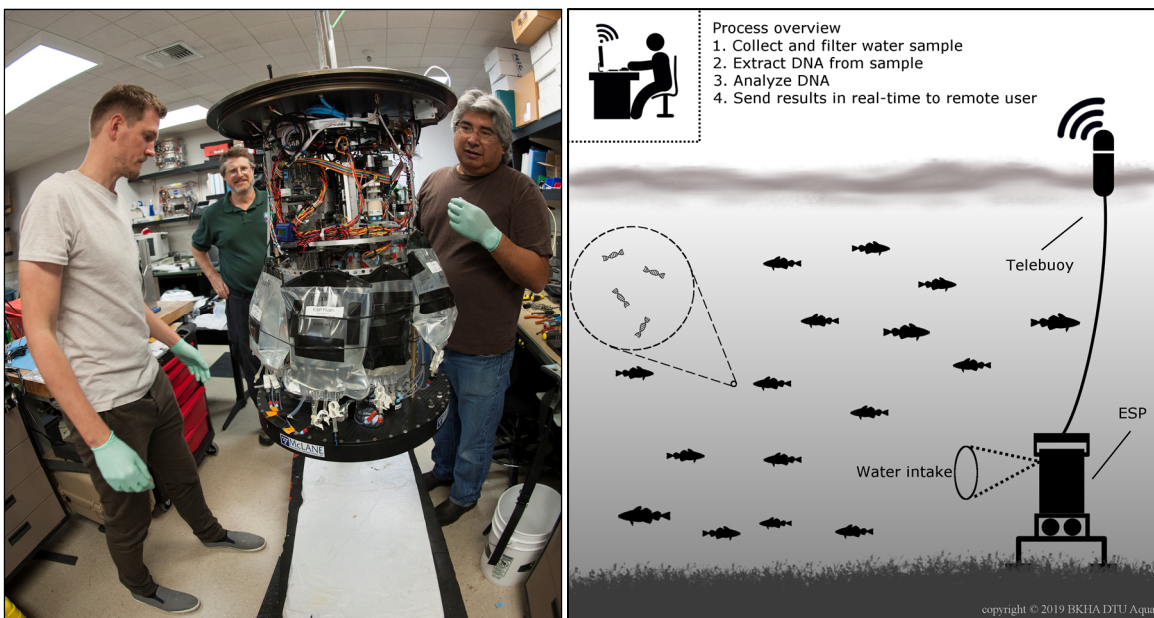
De marine fiskebestande spiller en vigtig rolle for den globale fødevarerikthed og økonomi, og deres fortsatte produktivitet nødvendiggør en passende fiskeriforvaltning. En god forvaltning afhænger blandt andet af vores evner til at bestemme hvor, og hvor mange individer, der er af en given art, og hvor mange det er bæredygtigt at fange. Desværre er den nuværende monitoring af marine fisk meget bekostelig og begrænset til årlige eller halvårlige undersøgelser med fokus på kun de vigtigste kommercielle fiskearter. Jeg har derfor undersøgt om man ved hjælp af en innovativ DNA metode og en avanceret undervandsrobot, kan forbedre hvordan vi finder ud af hvilke og hvor mange fisk der er i havet.

I de seneste år har miljø DNA (mDNA) revolutioneret vores tilgang til, hvordan vi kan indsamle data om fisk uden direkte at observere dem. Metoden gør brug af, at alle levende organismer konstant afgiver DNA til det omgivende miljø. For fisk er dette eksempelvis via skæl, fæces og blod som bliver afgivet i vandet. Man er derfor interesseret i at udvikle metoder til at opsamle og analysere dette DNA fra vandprøver, der så giver et øjebliksbillede af hvilke organismer, der har været til stede i området. mDNA har en række fordele i forhold til den etablerede monitoring som er baseret på fiskefangster. 1) mDNA metoden er meget sensitiv og detekterer ofte flere arter, samt sjældne arter som etablerede metoder ofte overser. 2) Den kræver ikke specialiseret artkendskab hos de personer der indsamler prøverne. 3) Den er ikke destruktiv og gør derfor ingen skade, hverken på de arter man vil undersøge, andre arter eller miljøet. 4) Den er omkostningseffektiv i forhold til etablerede monitoringsmetoder. Hertil er metoden ikke alene kvalitativ, men også kvantitativ da den er i stand til at estimere antallet af DNA kopier i en given vandvolumen, som kan give forskere viden om f.eks. timing af gydning, fiskenes døgnrytmer, og med tiden formentlig antal eller biomasse af en given fiskeart.

Selvom mDNA har vist sig at være et billigt alternativ eller supplement til etablerede monitoringsmetoder er prøveudtagning i marine miljøer stadig en begrænsning på grund af havenes enorme størrelse. Indtil nu er vandprøverne blevet udtaget manuelt på stedet og derfor er indsamlingen begrænset af tilgængelig skibstid, skibslogistik omkring den øvrige prøveindsamling og de massive omkostninger associeret til skibsbrug. Disse forhold er ikke kun begrænsende for udtagelse af vandprøver, men også en begrænsning for de etablerede monitoringsmetoder. Dette har forhindret muligheden for erhvervelse af prøver der viser variationer i fiskenes forekomster fra dag til dag eller fra måned til måned, der ellers potentielt set ville kunne vise vigtige tidsmæssige og rumlige ændringer i arters forekomst og antal. Endvidere tager det lang tid, ofte dage til måneder, fra vandprøverne bliver udtaget på lokaliteten til de bliver analyseret. Dette medfører at eventuelle forvaltningstiltag baseret på monitoringen vil være suboptimale eller direkte ineffektive, da tiltagene implementeres for sent. På trods af det umiddelbare behov for at forbedre vores etablerede monitoringsmetoder, har det indtil nu ikke været muligt at monitorere makro-organismer, såsom fisk, i realtid og fuldt automatisk.

De seneste årtiers fremskridt inden for marine overvågningsinstrumenter har gjort automatiseret indsamling af avancerede marine data mulig for en bred vifte af fysiske, kemiske, og biologiske parametre. Et af disse instrumenter er en såkaldt Environmental Sample Processor (ESP) (Figur 1). ESP'en er et fuldt automatiseret undervands DNA laboratorium som kan sættes i havet og opsamle, filtrere, ekstrahere og udføre DNA analyser på det omgivende vand. Udover "på stedet"

DNA analyser, kan ESPen arkivere prøver ombord ved at filtrere og kemisk konservere DNAen fra vandet, således at man kan analysere prøverne i et traditionelt laboratorium efter endt forsøg. ESPen har to-vejs kommunikation hvilket muliggør fjernstyring og tillader at resultaterne er tilgængelige i realtid (Figur 1). Udviklingen af ESPen startede i år 2000 af Monterrey Bay Aquarium Research Institute i USA. Incitamentet til udviklingen var, at man havde brug for at monitorere giftige algeopblomstringer på de amerikanske kyster. Desværre er mDNA fra fisk meget mere sjældent end DNA fra alger i havet. Derfor tilpassede og optimerede jeg ESPen til at finde DNA fra en række specifikke fiskearter. ESPen blev herefter sat til at måle DNA fra 4 arter i Nordsøen Oceanariums store 4,5 millioner liter ocean-tank i Hirtshals. Over en 51 dages lang forsøgsperiode gennemførte ESPen automatisk sine vandprøveudtagelser og mDNA analyser. Efter blot 3,5 timer fra start af prøveudtagning blev de første resultater tilgængelige online og jeg kunne således følge med i DNA-niveauerne mere end 200 kilometer fra hvor ESPen var opstillet. Mine resultater demonstrerede tydeligt at ESPen var i stand til at detektere og kvantificere DNA molekyler fra makrel, den mest talrige af målarterne i tanken. Derimod var detektion af mindre talrige arter udfordret af både biologiske aspekter koblet til DNA molekylerne og tekniske udfordringer med ESPen. Under forsøget udtog ESPen også vandprøver, som blev arkiveret ombord på ESPen og, efter den 51 dages forsøgsperiode, efterfølgende analyseret i et traditionelt laboratorium. Disse arkivprøver viste stort potentiale, da ESPen var i stand til at konservere DNAen fra vandprøverne. I modsætning til "på stedet" analyserne, hvor man skal indstille ESPen til hvilke arter den specifikt skal søge efter DNA fra, giver arkivprøverne fleksibilitet til efterfølgende at analysere for alt fra virusser til hvaler. Mit arbejde er nyskabende som det første "proof-of-concept" ift. at bruge et instrument som tillader automatisk mDNA prøveudtagning og "på stedet" mDNA analyser. Min forsøgsopsætning af ESPen illustrerer at metoden er teknisk mulig, men også at den vil drage fordel af yderligere optimering. Min forskning er dermed et vigtigt skridt på vejen til at muliggøre indsamling af data om aktuell tilstedeværelse og antal af marine makroorganismer.



Figur 1: Til venstre: ESPen uden dykkerhus. Til højre: Skematisk illustration af en ESP udsat i havet.

Forskningen i min Ph.d. har vist, at det er muligt, fjernstyret og fuldt automatisk, at indsamle data om fisk ud fra fiske-DNA, efterladt i vandet, ved at kombinere avancerede instrumenter udstyret med ny DNA-teknologi. Denne forskning vil muliggøre at fremtidig forvaltning kan få en realtids DNA baseret overvågning, der giver forvaltningen et direkte indblik i her-og-nu status over hvilke, arter der findes i et givent akvatisk økosystem. Dette begrænser sig ikke kun til kommercielt vigtige fiskearter, men kan også bruges til at monitorere forekomsten af sjældne, truede, invasive og nøglearter, der er vigtige for økosystemets funktion. Endvidere giver metoden potentielt mulighed for, at vi kan opnå indsigt i ændringer og distributionen af fisk over kort tidsskala, hvilket i dag er umuligt, særligt på grund af omkostningerne ved skibstid. Et sådant værktøj vil være til stor gavn for forvaltere af levende marine ressourcer, da man således kan tilpasse forvaltningen til den aktuelle status i det marine miljø, i stedet for at være begrænset af årlige øjebliksbilleder, som karakteriserer den nuværende monitoring.

Min forskning har været grundlagsskabende for en række store projekter, såsom AtlantOS, ISMOtools og "Anden generation eDNA analyser" ved Aage V. Jensen naturfond, hvorfor videreudviklingen af dette instrument fortsætter. Denne nye teknologi vil bidrage til at opnå større viden om fiskebestande og hjælpe til at bevare vores vigtige marine ressourcer.