

UNDERLAGSRAPPORT

Järnvägsplan Hallsberg - Stenkumla

Hallsbergs, Askersunds och Kumla kommun, Örebro län

Naturmiljö bilaga, 2020-03-31

Projektnummer: 132909

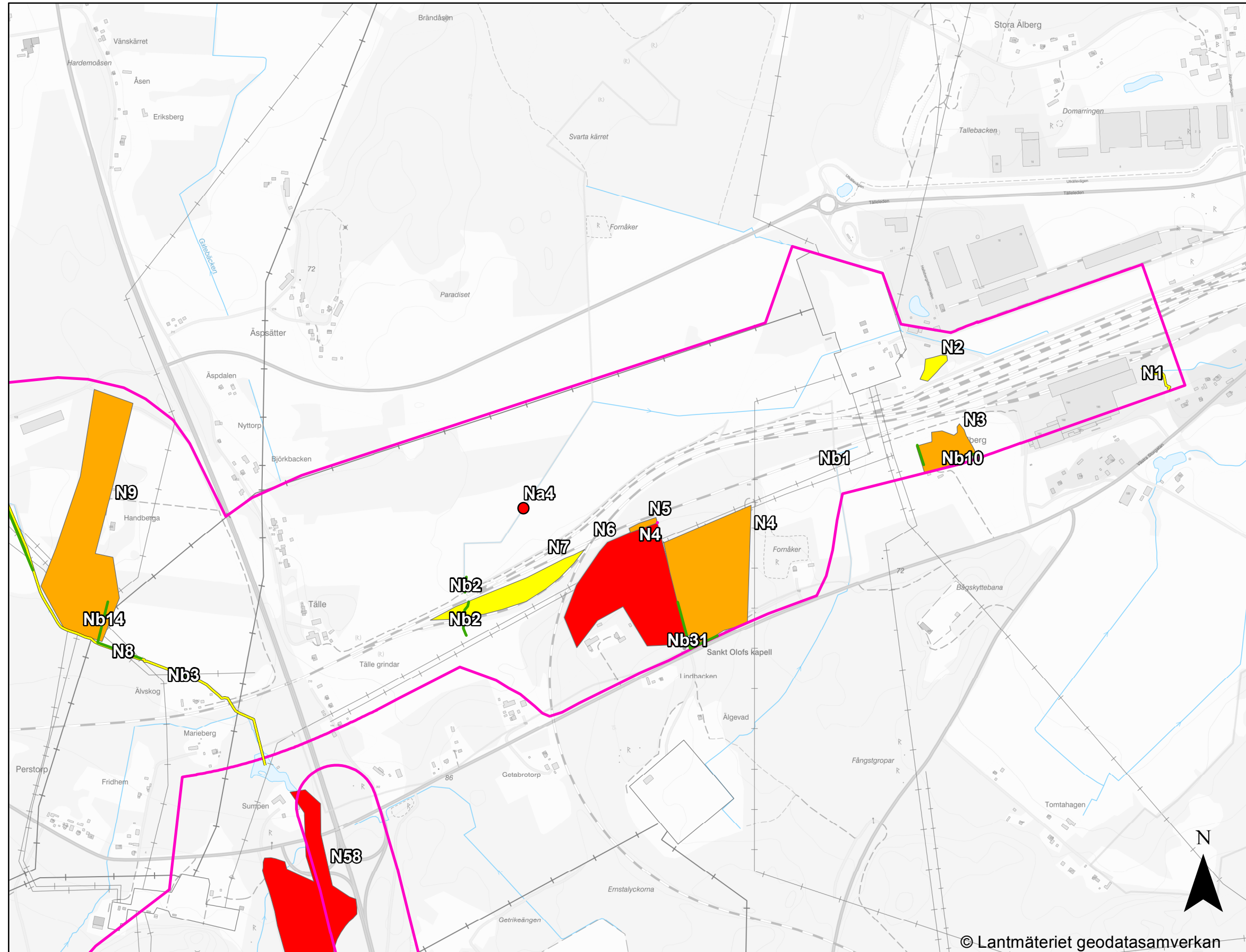


E-post: trafikverket@trafikverket.se
Telefon: 0771-921 921

Dokumenttitel: Naturmiljö bilaga
Författare: WSP Sverige
Dokumentdatum: 2020-03-31
Ärendenummer: TRV 2015/54804
Version: 1.0
Kontaktperson: Gunnar Berglund

Naturvärdesinventering Hallsberg-Stenkumla

Bilaga 1 - Kartblad 1



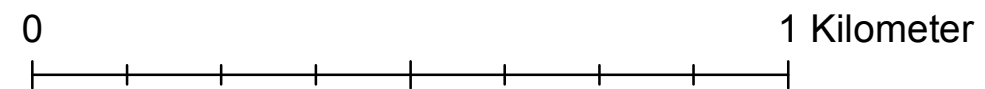
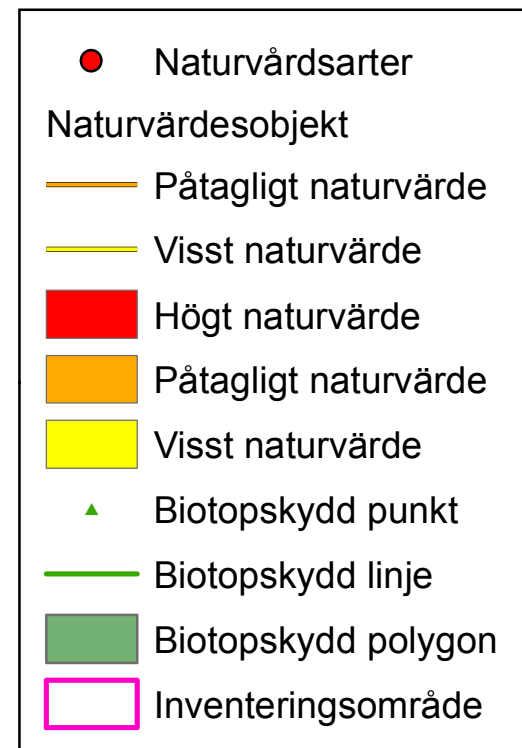
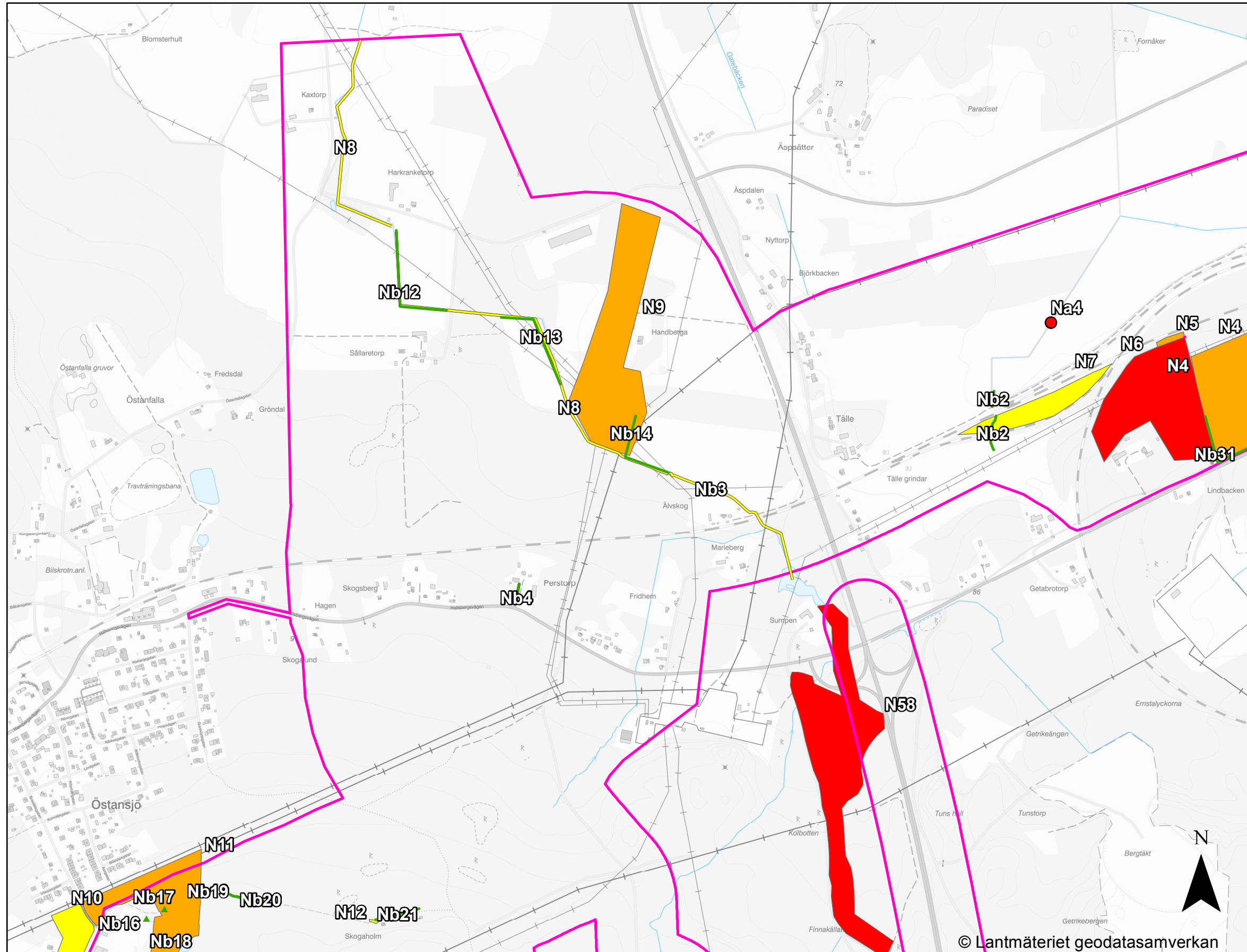
- Naturvårdsarter
- Naturvärdesobjekt
 - Påtagligt naturvärde
 - Visst naturvärde
 - Högt naturvärde
 - Påtagligt naturvärde
 - Vist naturvärde
- ▲ Biotopskydd punkt
- Biotopskydd linje
- Biotopskydd polygon
- Inventeringsområde

0 1 Kilometer

1:10 000

Naturvärdesinventering Hallsberg-Stenkumla

Bilaga 1 - Kartblad 2

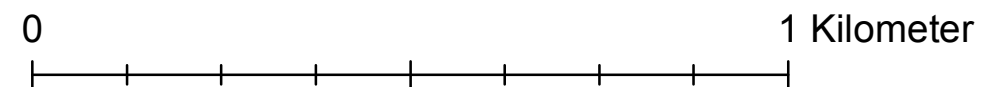
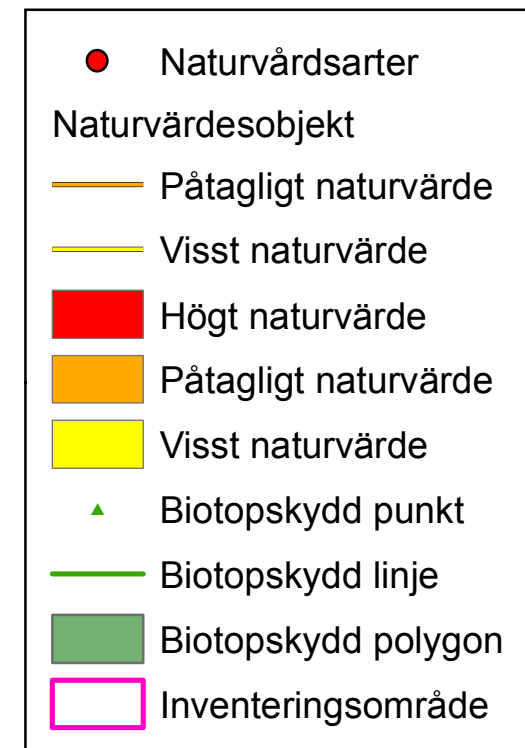
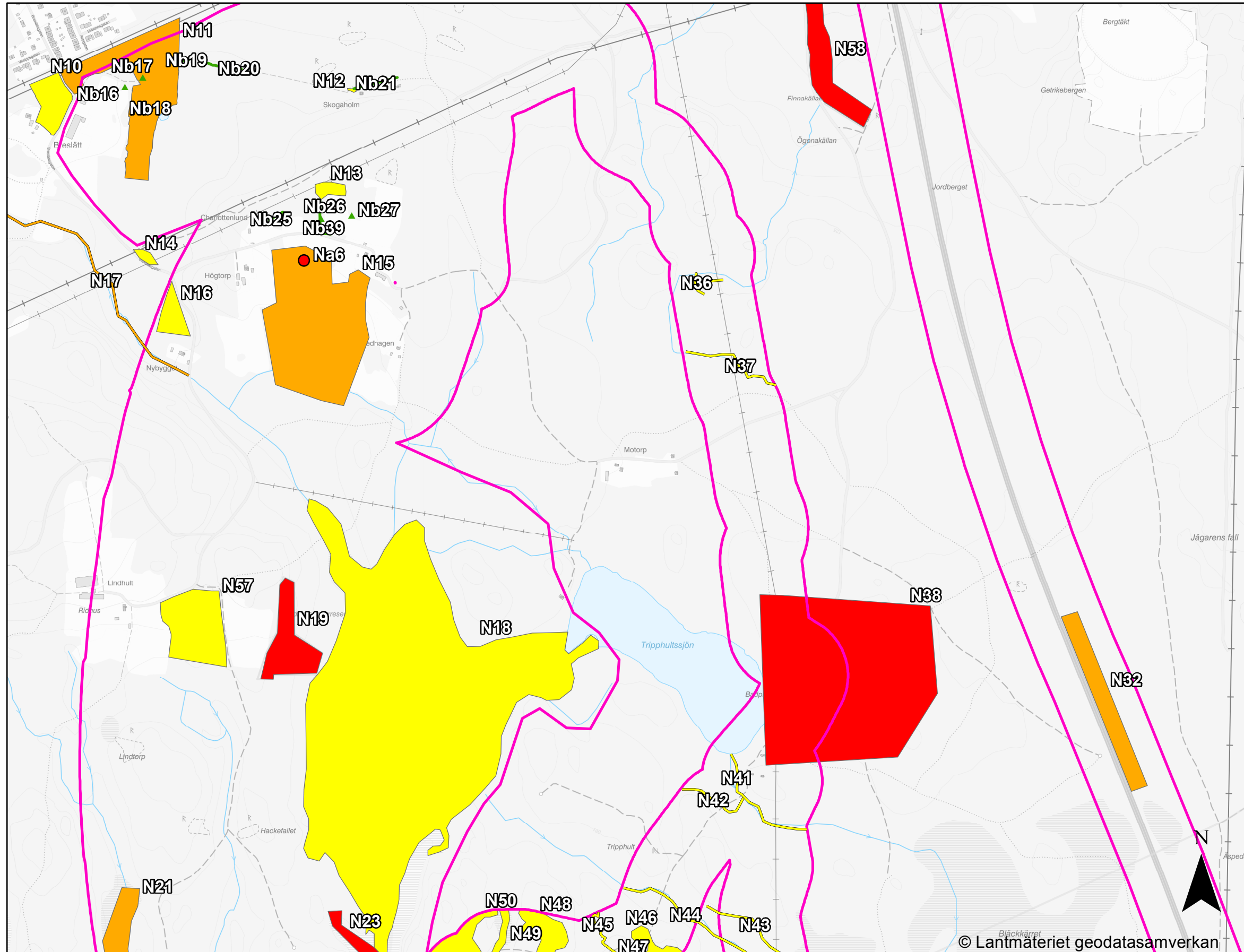


1:10 000

© Lantmäteriet geodatasamverkan

Naturvärdesinventering Hallsberg-Stenkumla

Bilaga 1 - Kartblad 3

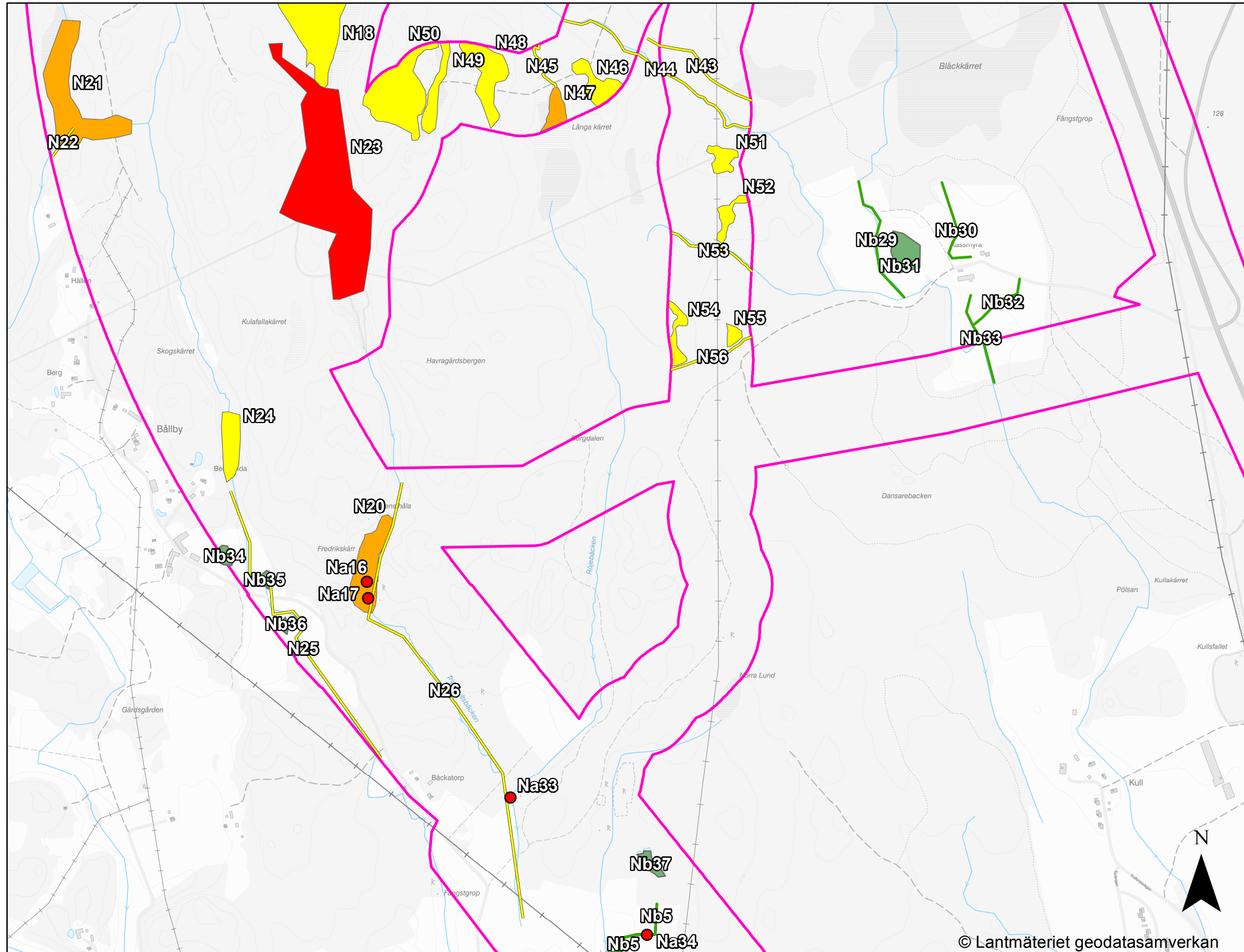


1:10 000

© Lantmäteriet geodatasamverkan

Naturvärdesinventering Hallsberg-Stenkumla

Bilaga 1 - Kartblad 4



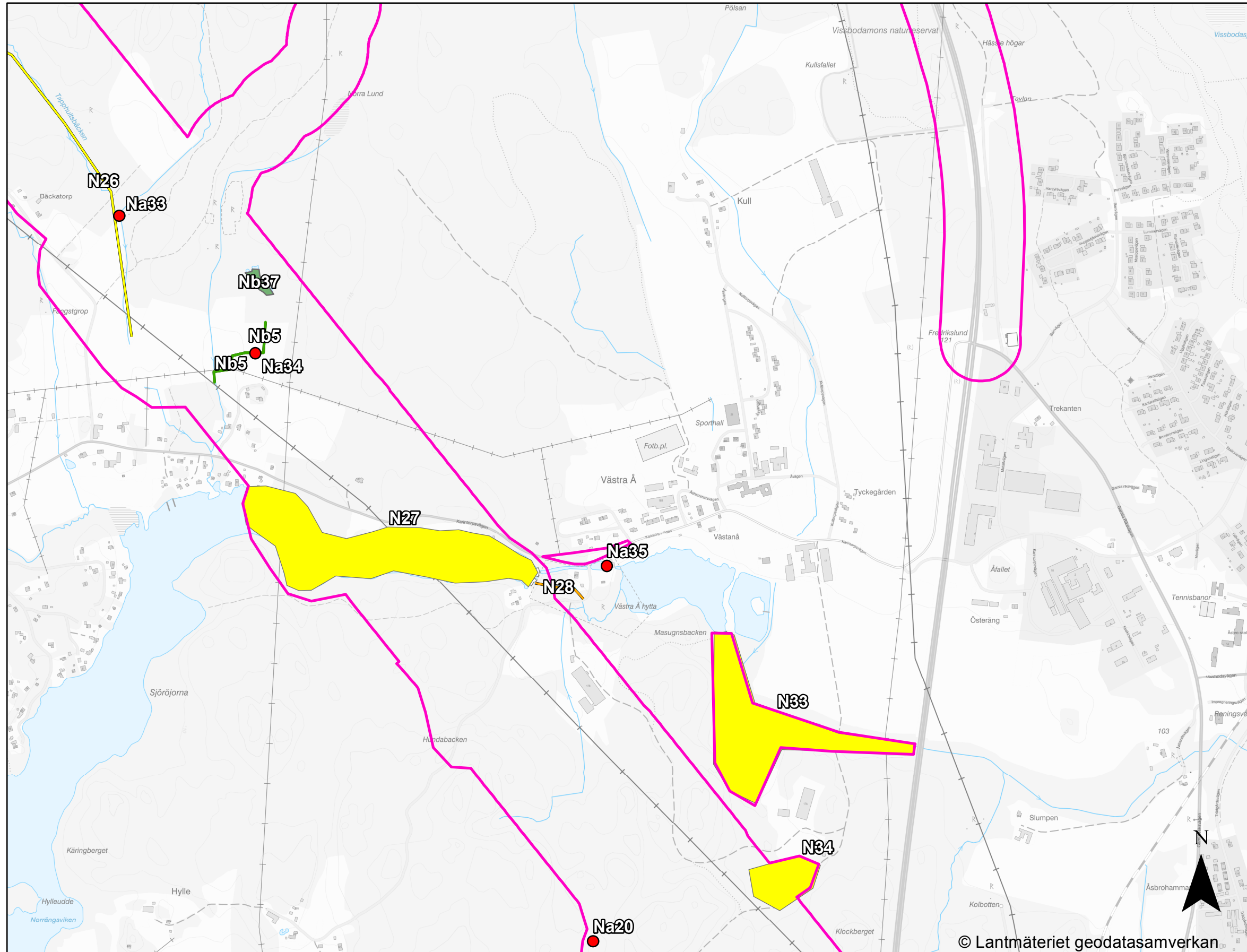
- Naturvårdsarter
- Naturvärdesobjekt
- Påtagligt naturvärde
- Visst naturvärde
- Høgt naturvärde
- Påtagligt naturvärde
- Visst naturvärde
- ▲ Biotopskydd punkt
- Biotopskydd linje
- Biotopskydd polygon
- Inventeringsområde

0 1 Kilometer

1:10 000

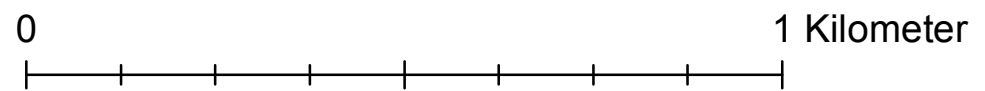
Naturvärdesinventering Hallsberg-Stenkumla

Bilaga 1 - Kartblad 5



	Naturvårdsarter
Naturvärdesobjekt	
	Påtagligt naturvärde
	Visst naturvärde
	Högt naturvärde
	Påtagligt naturvärde
	Visst naturvärde
	Biotopskydd punkt
	Biotopskydd linje
	Biotopskydd polygon
	Inventeringsområde

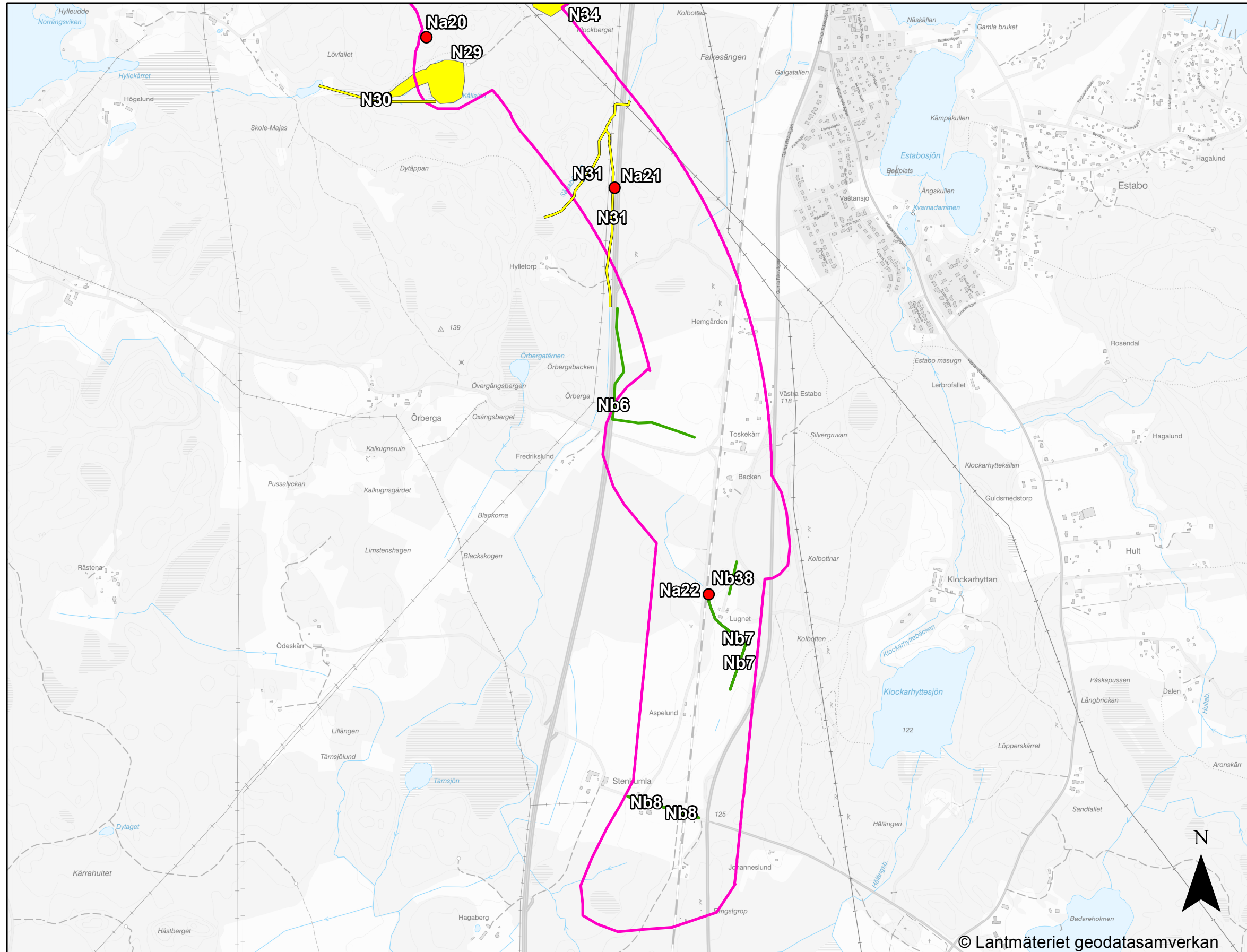
© Lantmäteriet geodatasamverkan



1:10 000

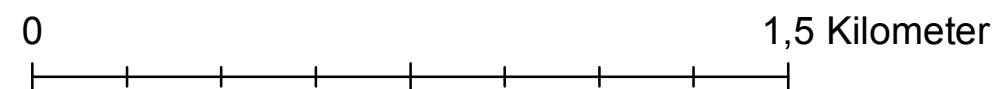
Naturvärdesinventering Hallsberg-Stenkumla

Bilaga 1 - Kartblad 6



- Naturvårdsarter
- Naturvärdesobjekt
- Påtagligt naturvärde
- Visst naturvärde
- Högt naturvärde
- Påtagligt naturvärde
- Visst naturvärde
- ▲ Biotopskydd punkt
- Biotopskydd linje
- Biotopskydd polygon
- Inventeringsområde

© Lantmäteriet geodatasamverkan



1:15 000

Bilaga 2

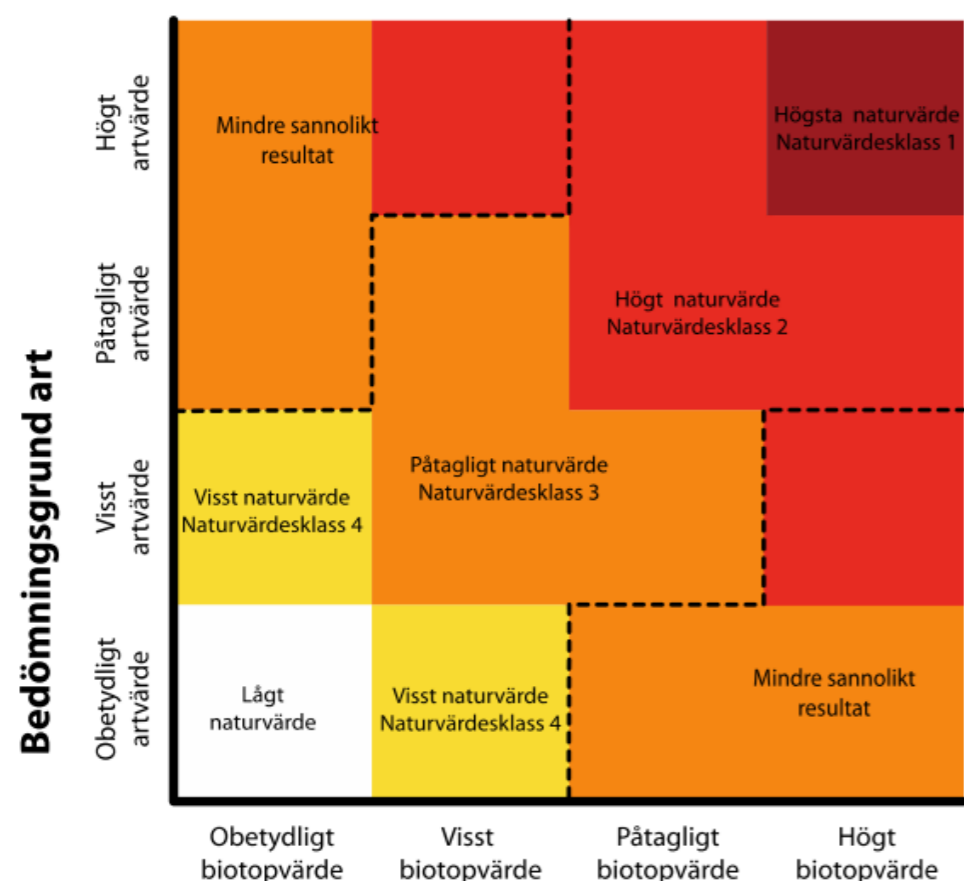
Metodik använd vid naturvärdesinventeringen

Undersökningen omfattar en allmän inventering av bakgrundsinformation, ett fältbesök och en systematisk bedömning av naturvärden enligt standardiserad metod.¹

I den allmänna inventeringen av bakgrundsinformation ingår inventering av befintliga data som beskriver området, bakgrundsmaterial ifrån berörda myndigheter, och informationssök i öppna databaser. Aktuellt område inventeras översiktligt i fält med avseende på förekommande naturtyper och markanvändning.

Den systematiska naturvärdesbedömningen syftar till att uppskatta underlaget för biologisk mångfald. Rödlisterade arter, signalarter eller andra värdearter noteras. Naturvärdesbedömningen baseras på att kartlägga de egenskaper i naturen – strukturer, åldersfördelning, avdöende, topografi, bördighet, kulturpåverkan, m.m. – som är av betydelse för mängden kärlväxter, mossor, lavar, vedlevande svampar, fåglar, insekter och övriga djur, det vill säga biologisk mångfald.

Naturvärdesbedömning innebär att ett geografiskt områdes betydelse för biologisk mångfald bedöms med hjälp av bedömningsgrunderna art och biotop, se Figur 1. Naturvärdesbedömning avser den biologiska mångfaldens nuvarande tillstånd. Bedömningsgrunderna är inte kvantitativa utan ska sättas i relation till vad som kan förväntas i den aktuella biotopen och regionen.



Figur 1. Naturvärdesbedömning vid NVI. Utfall för bedömningsgrund art respektive bedömningsgrund biotop leder till en viss naturvärdesklass. Figuren är från SIS Standard Genomförande, naturvärdesbedömning och redovisning.

Naturvärdesklasser

Inom området förekommande naturtyper klassas på en gemensam skala utifrån naturvärde. Ett naturvärdesobjekts betydelse för biologisk mångfald, det vill säga graden av naturvärde bedöms enligt en fastställd skala i olika naturvärdesklasser, där klasserna är:

HÖGSTA NATURVÄRDE – (NATURVÄRDESKLASS 1) STÖRST POSITIV BETYDELSE FÖR BIOLOGISK MÅNGFALD.

Varje enskilt område med denna naturvärdesklass bedöms vara av särskild betydelse för att upprätthålla biologisk mångfald på nationell eller global nivå.

HÖGT NATURVÄRDE – (NATURVÄRDESKLASS 2) STOR POSITIV BETYDELSE FÖR BIOLOGISK MÅNGFALD.

Varje enskilt område med denna naturvärdesklass bedöms vara av särskild betydelse för att upprätthålla biologisk mångfald på regional eller nationell nivå.

Naturvärdesklass 2 motsvarar ungefär Skogsstyrelsens nyckelbiotoper, lövskogsinventeringens klass 1 och 2, ängs- och betesmarksinventeringens klass aktivt objekt, ängs- och hagmarksinventeringens klass 1–3, ädellövskogsinventeringens klass 1 och 2, skyddsvärda träd enligt åtgärdsprogrammet, våtmarksinventeringens klass 1 och 2, rikkärrsinventeringens klass 1–3, limniska nyckelbiotoper, skogsbrukets klass *urvatten*, värdekärnor i naturreservat samt fullgoda Natura 2000-naturtyper. Detta förutsatt att de inte uppfyller högsta naturvärde.

PÅTAGLIGT NATURVÄRDE – (NATURVÄRDESKLASS 3) PÅTAGLIG POSITIV BETYDELSE FÖR BIOLOGISK MÅNGFALD.

Varje enskilt område av en viss naturtyp med denna naturvärdesklass behöver inte vara av särskild betydelse för att upprätthålla biologisk mångfald på regional, nationell eller global nivå, men det bedöms vara av särskild betydelse att den totala arealen av dessa områden bibehålls eller blir större samt att deras ekologiska kvalitet upprätthålls eller förbättras.

Naturvärdesklass 3 motsvarar ungefär ängs- och betesmarksinventeringens klass *restaurerbar ängs- och betesmark*, Skogsstyrelsens *objekt med naturvärde*, lövskogsinventeringens klass 3, ädellövskogsinventeringens klass 3, våtmarksinventeringens klass 3 och 4 samt skogsbrukets klass *naturvatten*.

VISST NATURVÄRDE – (NATURVÄRDESKLASS 4) VISS POSITIV BETYDELSE FÖR BIOLOGISK MÅNGFALD.

Varje enskilt område av en viss naturtyp med denna naturvärdesklass behöver inte vara av betydelse för att upprätthålla biologisk mångfald på regional, nationell eller global nivå, men det är av betydelse att den totala arealen av dessa områden bibehålls eller blir större samt att deras ekologiska kvalitet upprätthålls eller förbättras.

Naturvärdesklass 4 motsvarar inte någon klass i de större nationella inventeringar som gjorts. Naturvärdesklass 4 motsvarar ungefär områden som omfattas av generellt biotopskydd men som inte uppfyller kriterier för högre naturvärdesklass.

Naturvärdesklass 4 är användbar för områden som tydligt påverkats av mänsklig aktivitet men där det trots allt finns biotopkvaliteter eller arter av viss positiv betydelse för biologisk mångfald, till exempel äldre produktionskog med flerskiktat trädbestånd men där andra värdestrukturer och värdeelement saknas.

Naturvärdesbedömning innebär att ett geografiskt områdes betydelse för biologisk mångfald bedöms med hjälp av bedömningsgrunderna art och biotop. Naturvärdesbedömning avser den biologiska mångfaldens nuvarande tillstånd. Bedömningsgrunderna är inte kvantitativa utan ska sättas i relation till vad som kan förväntas i den aktuella biotopen och regionen.

Naturvårdsarter

Naturvårdsart är ett samlingsbegrepp för skyddade arter, fridlysta arter, rödlistade arter, typiska arter, ansvarsarter och signalarter. Förekomst av en eller flera naturvårdsarter kan indikera att ett område har högt naturvärde eller så kan förekomsten av en naturvårdsart i sig indikera en särskild betydelse för biologisk mångfald. Naturvårdsarter har lanserats av ArtDatabanken som ett verktyg vid naturvärdesbedömning och vid revidering av rödlistan kommer listor på användbara naturvårdsarter tas fram för olika biotoper.

Rödlistan

Den svenska Rödlistan³ innehåller en bedömning av olika arters risk att dö ut i Sverige. De arter som uppfyller kriterierna för någon av kategorierna Nationellt utdöd (RE), Akut hotad (CR), Starkt hotad (EN), Sårbar (VU), Nära hotad (NT) eller Kunskapsbrist (DD) benämns rödlistade. De arter som kategoriseras som CR, EN eller VU benämns hotade. Kategorin kunskapsbrist omfattar arter där kunskapen är så bristfällig att de inte kan placeras i någon kategori, men där tillgängliga data ändå tyder på att de borde vara rödlistade. Rödlistan baseras på internationellt vedertagna kriterier från Internationella Naturvårdsunionen (IUCN).

Litteratur

¹ SIS, 2014. Naturvärdesinventering avseende biologisk mångfald (NVI) - Genomförande, naturvärdesbedömning och redovisning. SVENSK STANDARD SS 199000:2014.

² Indikatorarter – metodutveckling för nationell övervakning av biologisk mångfald i ängs- och betesmarker. Rapport 2003:1, Jordbruksverket.

³ ArtDatabanken 2015. Rödlistade arter i Sverige 2015. ArtDatabanken SLU, Uppsala.

Bilaga 3

Rödlistade arter

Id	Validering	Rödlistek	Artnamn	Enhet	Kön	Aktivitet	Huvudlokal	Lokalnamn	Ostkoordin	Nordkoordin	Noggrannh	Kommun
49124276	Ovaliderad	NT	Mindre hackspett		1	spel/sång	Atlasruta 09F7b (Lerbäck)	Klockarhyttesjön	1457070	6538300	320	Askersund
49124278	Ovaliderad	NT	Gröngöling		1	spel/sång	Atlasruta 09F7b (Lerbäck)	Klockarhyttesjön	1457070	6538300	320	Askersund
49199652	Ovaliderad	NT	Spillkråka		1	lockläte	Östansjö	Tripphult	1454060	6545410	766	Hallsberg
49410689	Ovaliderad	NT	Spillkråka		1	spel/sång	Atlasruta 09F7b (Lerbäck)	Klockarhyttesjön	1457070	6538300	320	Askersund
49743015	Ovaliderad	NT	Mindre hackspett		1	permanent revir	Atlasruta 09F7b (Lerbäck)	Klockarhyttesjön	1457070	6538300	320	Askersund
49743614	Ovaliderad	NT	Spillkråka		1	permanent revir	Atlasruta 09F7b (Lerbäck)	Klockarhyttesjön	1457070	6538300	320	Askersund
50931294	Ovaliderad	NT	Spillkråka		1	lockläte	Östansjö	Tripphult	1454060	6545410	766	Hallsberg
50252098	Ovaliderad	VU	Tornseglare		3	besöker bebott bo	Lerbäck	Lerbrofallet	1457260	6539710	320	Askersund
51560094	Ovaliderad	VU	Kungsfågel		1	födosökande	Östansjö	Tripphult	1454060	6545410	766	Hallsberg
50932408	Ovaliderad	NT	Mindre hackspett		1	födosökande	Östansjö	Tripphult	1454060	6545410	766	Hallsberg
52336974	Ovaliderad	NT	Spillkråka		2	permanent revir		Östansjö	1452843	6547227	3594	Hallsberg
52785389	Ovaliderad	VU	Stare		10	rastande		Östansjö	1452843	6547227	3594	Hallsberg
54111349	Ovaliderad	NT	Buskskvätta		2 adult	pulli/nyligen flygga ungar	Åsbro	Västra Å hytta	1455150	6541920	410	Askersund
54111351	Ovaliderad	NT	Buskskvätta		1 1K	pulli/nyligen flygga ungar	Åsbro	Västra Å hytta	1455150	6541920	410	Askersund
54111360	Ovaliderad	VU	Gulspurv		1 adult	permanent revir	Åsbro	Västra Å hytta	1455150	6541920	410	Askersund
54111363	Ovaliderad	VU	Kungsfågel		1 adult	permanent revir	Åsbro	Västra Å hytta	1455150	6541920	410	Askersund
53945549	Ovaliderad	VU	Hussvala		2	besöker bebott bo	Hallsberg	Bergmansvägen	1457193	6549241	100	Hallsberg
55229406	Ovaliderad	NT	Nötkråka		2	förflygande		Östansjö	1452843	6547227	3594	Hallsberg
54651998	Ovaliderad	NT	Bivråk		1	sträckande S		Handberga	1454250	6548050	100	Kumla
54652008	Ovaliderad	NT	Duvhök		1	förflygande		Slumpen	1456150	6541250	100	Askersund
55513237	Ovaliderad	NT	Nötkråka	noterad		stationär		Tomta hagar	1457350	6547950	100	Hallsberg
55513243	Ovaliderad	NT	Fjällvråk		1	stationär		Tomta hagar	1457350	6547950	100	Hallsberg
57827257	Ovaliderad	NT	Sädgås		150	rastande		Östansjö	1452843	6547227	3594	Hallsberg
58067385	Ovaliderad	NT	Nötkråka		2 adult	par i lämplig häckbiotop		Tomta hagar	1457350	6547950	100	Hallsberg
58067448	Ovaliderad	VU	Kungsfågel		2	spel/sång		Tomta hagar	1457350	6547950	100	Hallsberg
58067491	Godkänd baserat på observatörens uppgifter	VU	Gulspurv		1	spel/sång		Tomta hagar	1457350	6547950	100	Hallsberg
58067508	Ovaliderad	VU	Stare		4	spel/sång		Tomta hagar	1457350	6547950	100	Hallsberg
59093689	Ovaliderad	NT	Nötkråka		2	stationär		Tomta	1457250	6547870	1000	Hallsberg
59438367	Godkänd baserat på observatörens uppgifter	VU	Hussvala		3	bobygge		Östansjö	1452843	6547227	3594	Hallsberg
59453715	Godkänd baserat på observatörens uppgifter	NT	Ängspiplärka	noterad				Slumpen	1456150	6541250	100	Askersund
59468522	Godkänd baserat på observatörens uppgifter	NT	Buskskvätta		1	spel/sång		Hults naturreservat	1455750	6548210	320	Kumla
62234817	Ovaliderad	NT	Nötkråka		1	spel/sång		Tripphult	1454107	6544918	25	Hallsberg
64357841	Ovaliderad	NT	Nötkråka		1	lockläte	Östansjö	Nybygget	1453150	6546110	320	Hallsberg
64357847	Ovaliderad	NT	Mindre hackspett		1	spel/sång	Östansjö	Nybygget	1453150	6546110	320	Hallsberg
62753832	Ovaliderad	VU	Kungsfågel		1	födosökande	Hallsberg	Tälle	1454930	6548020	257	Kumla
64932849	Ovaliderad	NT	Ängspiplärka		2		Åsbrohammar	Estabo	1456850	6540850	100	Askersund
65694327	Ovaliderad	NT	Spillkråka		1		Östansjö	Motorp	1454270	6545830	320	Hallsberg
65694454	Ovaliderad	VU	Gulspurv		1	spel/sång	Östansjö	Motorp	1454270	6545830	320	Hallsberg
65898891	Ovaliderad	NT	Bivråk		1			Trippult moosen	1453640	6544790	320	Hallsberg
65948558	Godkänd baserat på observatörens uppgifter	EN	Brun glada		1			Hylletorp	1455750	6540050	100	Askersund
66016087	Ovaliderad	VU	Hussvala		2		Hallsberg	Bergmansvägen	1457193	6549241	100	Hallsberg
66026147	Ovaliderad	VU	Tornseglare		10	födosökande		Tomta	1456250	6547550	100	Hallsberg
66727769	Ovaliderad	VU	Gulspurv		3	rastande		Östansjö	1452843	6547227	3594	Hallsberg
67210415	Godkänd baserat på observatörens uppgifter	NT	Fjällvråk		1 adult	födosökande		Tomta	1456650	6548250	100	Hallsberg
67245598	Ovaliderad	NT	Bivråk		1	obs i häcktid		Lerbäck	1455350	6537350	100	Askersund
68470618	Ovaliderad	NT	Havsörn	noterad		födosökande		Estabo	1456359	6540422	25	Askersund
68863521	Ovaliderad	VU	Kungsfågel	noterad		födosökande		Vångerud	1453450	6546350	100	Hallsberg
69070114	Ovaliderad	NT	Kungsörn		1	förflygande		Hemgården	1456464	6539936	25	Askersund
69106838	Ovaliderad	NT	Kungsörn		1	födosökande		Hemgården	1456464	6539936	25	Askersund

Bilaga 3

Rödlistade arter

69121552 Ovaliderad	NT	Kungsörn	1	förflygande		Hemgården	1456464	6539936	25 Askersund
69121566 Ovaliderad	VU	Gulspurv	25	födosökande		Hemgården	1456464	6539936	25 Askersund
69334535 Godkänd baserat på observatörens uppgifter	NT	Svart rödstjärt	1	spel/sång	Hallsberg	Bergmansvägen	1457193	6549241	100 Hallsberg
69691767 Ovaliderad	NT	Pilgrimsfalk	1	förflygande		Rösätter	1457350	6548750	100 Hallsberg
69335300 Ovaliderad	VU	Gulspurv	19	födosökande		Hemgården	1456464	6539936	25 Askersund
69460808 Ovaliderad	VU	Gulspurv	10	födosökande		Hemgården	1456464	6539936	25 Askersund

Bilaga 3

Rödlistade arter

Församling	Startdatum	Starttid	Slutdatum	Sluttid	Id	Artnamn	Kommentar
Lerbäck	2014-04-26	09:00	2014-04-26	10:30	49124276	Mindre hackspett	
Lerbäck	2014-04-26	09:00	2014-04-26	10:30	49124278	Gröngöling	
Viby	2014-04-19	15:50	2014-04-19	15:50	49199652	Spillkråka	
Lerbäck	2014-04-26	09:00	2014-04-26	10:30	49410689	Spillkråka	Norrs delen av sjön
Lerbäck	2014-05-26	10:45	2014-05-26	12:00	49743015	Mindre hackspett	
Lerbäck	2014-05-26	10:45	2014-05-26	12:00	49743614	Spillkråka	
Viby	2014-09-23	13:00	2014-09-23	14:00	50931294	Spillkråka	
Lerbäck	2014-07-18	10:45	2014-07-18	10:45	50252098	Tornseglare	
Viby	2014-12-27	13:00	2014-12-27	14:00	51560094	Kungsfågel	Hördes lite här och där
Viby	2014-09-23	13:00	2014-09-23	14:00	50932408	Mindre hackspett	
Viby	2015-03-16	12:40	2015-03-16	12:40	52336974	Spillkråka	Blommedal
Viby	2015-04-04		2015-04-04		52785389	Stare	
Lerbäck	2015-06-28		2015-06-28		54111349	Buskskvätta	Minst en unge.
Lerbäck	2015-06-28		2015-06-28		54111351	Buskskvätta	
Lerbäck	2015-06-28		2015-06-28		54111360	Gulspurv	
Lerbäck	2015-06-28		2015-06-28		54111363	Kungsfågel	
Hardemo	2015-06-15		2015-06-15		53945549	Hussvala	
Viby	2015-09-20		2015-09-20		55229406	Nötkråka	
Hardemo	2015-07-31	18:15	2015-07-31	18:15	54651998	Bivråk	
Lerbäck	2015-07-31	18:30	2015-07-31	18:30	54652008	Duvhök	
Hallsberg	2015-10-17		2015-10-17		55513237	Nötkråka	
Hallsberg	2015-10-17		2015-10-17		55513243	Fjällvråk	
Viby	2016-03-23	11:15	2016-03-23	11:25	57827257	Sädgås	
Hallsberg	2016-04-05	08:30	2016-04-05	09:00	58067385	Nötkråka	
Hallsberg	2016-04-05	08:30	2016-04-05	09:00	58067448	Kungsfågel	
Hallsberg	2016-04-05	08:30	2016-04-05	09:00	58067491	Gulspurv	
Hallsberg	2016-04-05	08:30	2016-04-05	09:00	58067508	Stare	
Hallsberg	2016-04-30		2016-04-30		59093689	Nötkråka	
Viby	2016-05-07		2016-05-07		59438367	Hussvala	
Lerbäck	2016-05-04		2016-05-04		59453715	Ängspiplärka	
Hardemo	2016-05-06	09:30	2016-05-06	09:30	59468522	Buskskvätta	
Viby	2016-11-29	10:30	2016-11-29	10:30	62234817	Nötkråka	
Viby	2017-03-09	13:00	2017-03-09	13:00	64357841	Nötkråka	Hördes flera gånger vid Nybygget
Viby	2017-03-09	14:00	2017-03-09	14:00	64357847	Mindre hackspett	
Hardemo	2017-01-07	13:15	2017-01-07	13:15	62753832	Kungsfågel	
Lerbäck	2017-04-14	14:00	2017-04-14	15:00	64932849	Ängspiplärka	
Viby	2017-05-20	09:30	2017-05-20	20:00	65694327	Spillkråka	
Viby	2017-05-20	09:30	2017-05-20	20:00	65694454	Gulspurv	
Viby	2017-05-27	06:00	2017-05-27	06:00	65898891	Bivråk	
Lerbäck	2017-05-28	11:15	2017-05-28	11:15	65948558	Brun glada	rakt över väg 50 tsm 2 ormvråkar. drog långsamt söderut.
Hardemo	2017-05-31		2017-05-31		66016087	Hussvala	
Hallsberg	2017-06-01	12:00	2017-06-01	12:00	66026147	Tornseglare	
Viby	2017-07-16		2017-07-16		66727769	Gulspurv	
Hallsberg	2017-08-19	17:00	2017-08-19	17:00	67210415	Fjällvråk	
Lerbäck	2011-06-18		2011-06-18		67245598	Bivråk	
Lerbäck	2017-11-21		2017-11-21		68470618	Havsörn	
Viby	2018-01-02	12:00	2018-01-02	12:00	68863521	Kungsfågel	
Lerbäck	2018-01-16	13:00	2018-01-16	13:00	69070114	Kungsörn	
Lerbäck	2018-01-18	12:00	2018-01-18	12:00	69106838	Kungsörn	

Bilaga 3

Rödlistade arter

Lerbäck	2018-01-19	10:00	2018-01-19	10:00	69121552 Kungsörn	
Lerbäck	2018-01-19	10:00	2018-01-19	10:00	69121566 Gulsparv	
Hardemo	2017-05-23		2017-08-21		69334535 Svart rödstjärt	
Hallsberg	2018-02-23		2018-02-23		69691767 Pilgrimsfalk	Flög längs med vägen
Lerbäck	2018-02-02	12:00	2018-02-02	12:00	69335300 Gulsparv	
Lerbäck	2018-02-12	09:30	2018-02-12	09:30	69460808 Gulsparv	

eDNA analys av fiskfauna
Diarienummer 4.1-419-2019
11 september 2019



Centrum för genetisk identifiering

Centrum för genetisk identifiering (CGI) vid Naturhistoriska riksmuseet (NRM) är en uppdragsfinansierad verksamhet som erbjuder myndigheter och organisationer hjälp med genetiska analyser av biologiskt material.

Uppdrag

Under våren 2019 samlades vattenprover in från 4 olika lokaler i syfte att med eDNA undersöka vilka fisk- och musselarter som kan finnas i vattnet.

Material och metoder

Totalt samlades prover från fyra olika lokaler (P1-P4). Proverna samlades in genom att vatten filtrerades genom 5 sterifixfilter per lokal tills det tog stopp eller tills en liter vatten filtrerats. Filtrering skedde med en peristaltisk pump och efter filtrering förvarades de kallt fram till DNA extraktion.

DNA extraktioner gjordes med "Kingfisher Cell and Tissue" DNA extraktionskit enligt beskrivning från tillverkaren. Från vardera lokal genererades det två olika sekvensbibliotek. Ett för fisk och ett för att analysera förekomst av stormusslor. I bägge fallen amplifierades en kort bit av mitokondrien. För fisk användes följande primers, MiFish-U-F: GTCGGTAAACTCGTGCCAGC, MiFish-U-R: GGGTATCTAATCCCAGTTTG (Miya et al. 2015) och för stormusslor, ITS-1-F: AGACTGGGTTGCGGAGGT och ITS-1-R CGAGTGATC-CACCGCTTAGA (Zieritz et al. 2012). För fiskarna användes en touch-down PCR från 62°C till 57°C, medan musslorna amplifierades med en touch-down PCR från 65°C till 60°C. Totalt gjordes tre oberoende PCR replikat för vardera artgrupp med "Illustra™ PureTaq Ready-To-Go™ PCR Beads" från GE healthcare. Samtliga amplifieringar visualiserades på agarosgel. Sekvensbiblioteken gjordes med "QIAseq 1-Step Amplicon Library Kit" och sekvensering från bägge riktningarna gjordes av NGI (National Genomics Infrastructure) Stockholm på en Illumina MiSeq maskin med version 3 kemikalier vilket gav en sekvenslängd på 301bp. För både fiskar och musslor kördes negativa kontroller och för musslor kördes även en positiv kontroll för att validera metoden då det inte i litteraturen finns utvärderade metoder som baseras på flerartsanalys med sekvensering. Vi testade därför ett prov där vi, baserat på andra resultat, visste vilka arter som förväntades.

Analysmetoder

Från erhållna rådata filtrerades primersekvenser bort med hjälp av cutadapt (Martin 2011) och kvarvarande data analyserades med R-paketet dada2 (Callahan et al. 2016). Dada2 använder sekvensdata från prover för identifiera unika sekvenser av biologiskt ursprung och hur många gånger dessa hittas i vardera prov. Alla erhållna sekvensvarianter spårades till art genom att jämföra sekvenserna mot NCBI:s öppna nukleotiddatabas (Nucleotide collection) och mot en kurerad databas som innehåller sötvattensarter av fisk som förväntas finnas i Sverige (https://github.com/CGI-NRM/eDNA_reference/blob/master/sotvattensarter.org) med programmet blast (Altschul et al. 1990). För att minimera problem med sekvenseringsfel filtrerades innan vidare analys alla sekvenser som fanns i färre än 0.1% av totala antalet läsningar från ett prov.

Antal sekvenser per art används som en skattning för hur mycket av en art som finns i vattenprovet för delar av analyserna, men det är viktigt att komma ihåg att det inte finns en tydlig korrelation mellan varken antal individer eller biomassa av en art och antalet sekvenser som hittas i ett prov. Man bör därför framför allt fokusera på detekterade arter från en lokal och inte lägga allt för stor vikt vid hur många sekvenser från arten som hittas.

Resultat

Tittar vi över alla prover och för bägge artgrupperna erhöles det mellan 380 000 och 910 000 sekvenser per prov och artgrupp. Sekvenskvaliteten var överlag god och 73-83% av sekvenserna från respektive bibliotek var av mycket hög kvalitet och lämplig att vidare analysera (Tabell 1 och 2).

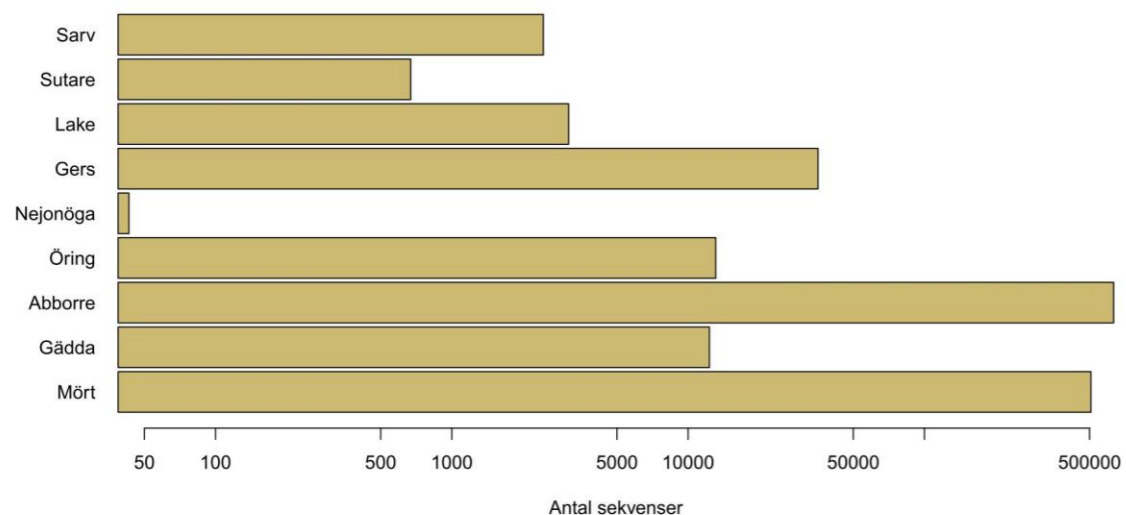
Tabell 1: Erhållna data från de olika proverna för fiskanalysen

Prov	Erhållna sekvenser	Procent med kvalitet över 30	Sekvens från fisk
P1	650000	81	376166
P2	690000	81	377212
P3	740000	81	408944
P4	850000	81	43909

Fisk

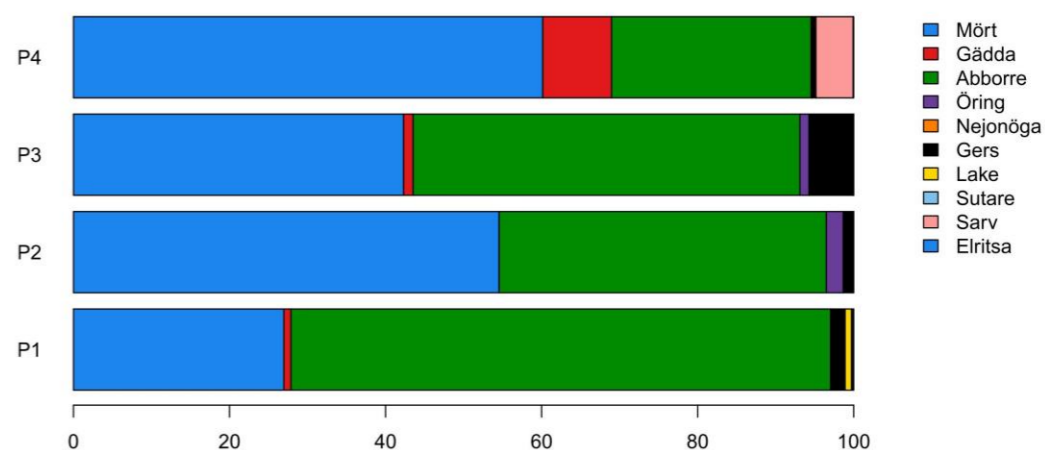
Den negativa kontrollen som kördes för fisk innehöll en mycket svag signal från mört och en relativt stor andel DNA från människa och bakterier, men inget kan anses vara ett problem för tolkning av resultaten från proverna. Alla fyra prover gav ungefär lika mycket sekvensdata, men efter att endast de sekvenser som kan spåras till fisk filtrerats fram ur data var variation mellan proverna större. Från P1, P2 och P3 var det kring 400 000 sekvenser, medan det endast var 44 000 i P4 (Tabell 1).

Sammantaget representerar dessa sekvenser 9 olika fiskarter. Arterna är dock mycket ojämnt representerade och nästan 95% av sekvenserna kommer från abborre och mört (Figur 1).

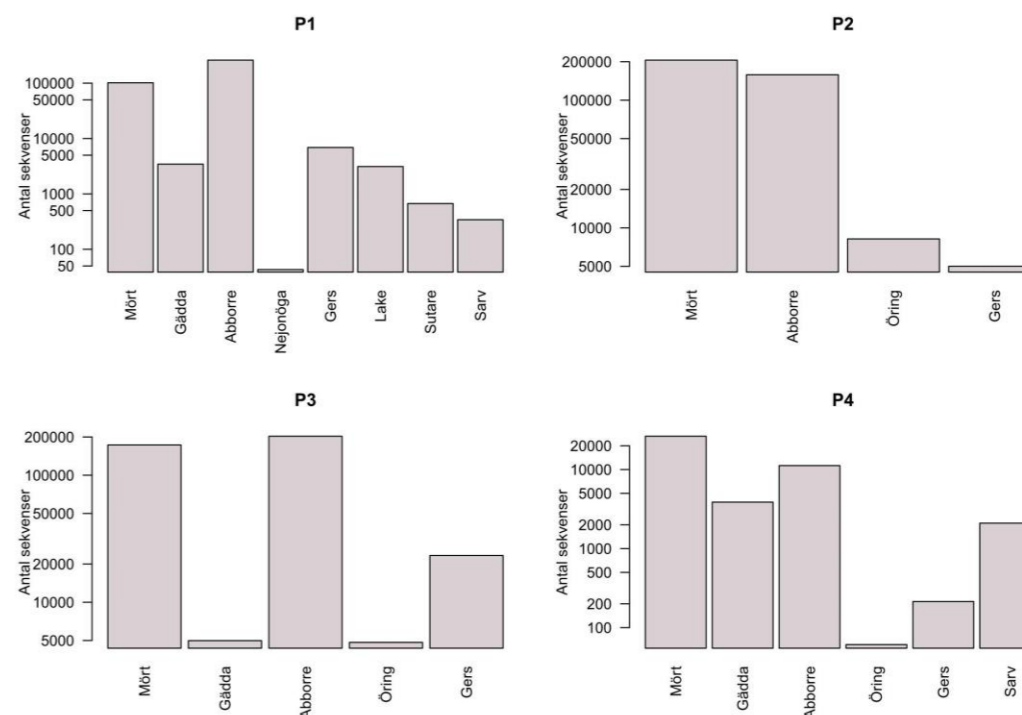


Figur 1: Detekterade fiskarter från proverna P1-P4. Notera att det är logaritmisk skala på x-axeln.

Om vi jämför proverna är det stora likheter mellan proven med abborre och mört som dominerande sekvens i alla fyra prov. Det hittas spår från 8, 4, 5 och 6 arter i prov P1-P4 (Figur 2-3). Mört, abborre och gers hittas i alla fyra prover.



Figur 2: Fördelning i procent av sekvenser från olika fiskarter från de analyserade lokalerna. Mer detaljerad information med arter per lokal finns i figur 3.



Figur 3: Antal sekvenser från olika fiskarter från P1-P4. Notera att det är olika skala på y-axeln för olika lokaler.

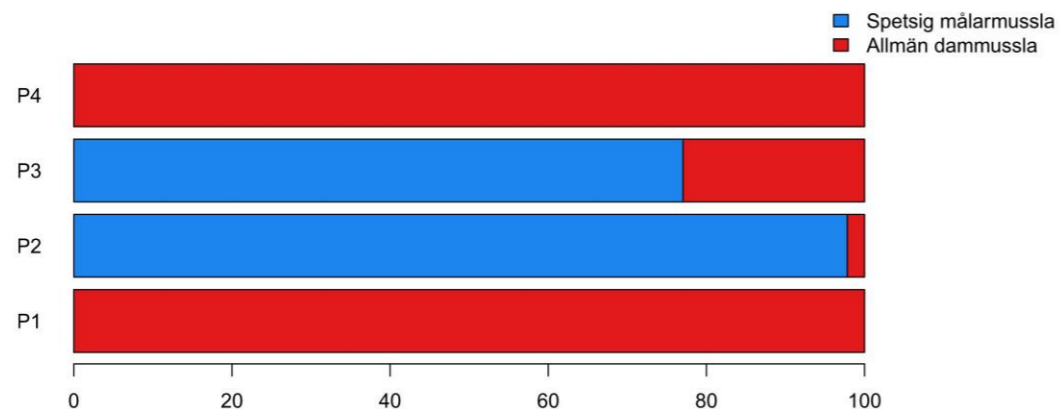
Tabell 2: Erhållna data från de olika proverna för musselanalysen

Prov	Erhållna sekvenser	Procent med kvalitet över 30	Sekvens från Musslor
P1	910000	73	18872
P2	620000	82	67757
P3	380000	83	57152
P4	600000	73	10047

Musslor

Den negativa kontrollen som kördes för musslor var tom och var därmed ej möjlig att skapa ett sekvensbibliotek från. Vår positiva kontroll från ett vattendrag vi redan analyserat med andra metoder gav resultat enligt förväntningar. Tillsammans visar detta att sekvenser från musselproverna är lämpliga att använda för att användas för att spåra DNA från musslor i vattenprover. Det var precis som för fisk en variation i hur många sekvenser från målorganismerna som erhöles för varje prov och även här var det färre sekvenser i prov P4 (Tabell 2).

Tittar man över alla prover fanns DNA spår från två stormusslor; Spetsig målarmussla (*Unio tumidus*) och Allmän dammussla (*Anodonta anatina*). Den förstnämnda hittas i prov P2 och P3, medan den andra hittades i all fyra prover (Figur 4).



Figur 4: Fördelning av sekvenser från olika stormusslor från de analyserade lokalerna.

Sammanfattning och slutsatser

Att använda eDNA som ett verktyg för att identifiera fiskarter från vatten är en metod som används i allt större utsträckning. Metodutvecklingen i laboratorier har under de senaste tiotal åren kvalitetssäkrat många av stegen och metoden är på många sätt redo för att användas i tillämpat miljöarbete. Det är dock fortfarande en del brister kring standardisering av metoderna och provtagningsmetodiken är fortfarande under utveckling. I denna rapport har vi använt oss av etablerade och vetenskapligt granskade metoder för fisk, medan vi för musslor använder en metod som vi utvecklat. All kod som använts för att analysera proverna finns öppet tillgängligt på <https://github.com/CGI-NRM>. Vidare är all rådata öppet och tillgängligt hos Naturhistoriska riksmuseet.

Tabell 3: Ekonomisk redovisning

Post	SEK (exklusive moms)
Material	24522
Arbete	8600
Totalkostnad	33122

Projektinformation

DNA extrakt, analysdata och resultat lagras tills vidare hos NRM. Vid eventuella framtida frågor i detta ärende kontakta NRM på antingen cgi@nrm.se eller registrator@nrm.se och ange diarienummer i maillets ämnesrad.

Thomas Källman Analytiker

Referenslista

Altschul, Stephen F, Warren Gish, Webb Miller, Eugene W Myers, and David J Lipman. 1990. "Basic Local Alignment Search Tool." *Journal of Molecular Biology* 215 (3). Elsevier: 403–10.

Callahan, Benjamin J, Paul J McMurdie, Michael J Rosen, Andrew W Han, Amy Jo A Johnson, and Susan P Holmes. 2016. "DADA2: High-Resolution Sample Inference from Illumina Amplicon Data." *Nature Methods* 13 (7). Nature Publishing Group: 581.

Martin, Marcel. 2011. "Cutadapt Removes Adapter Sequences from High-Throughput Sequencing Reads." *EMBnet. Journal* 17 (1): 10–12.

Miya, Masaki, Yukuto Sato, Tsukasa Fukunaga, Tetsuya Sado, Jan Yde Poulsen, Keiichi Sato, Toshifumi Minamoto, et al. 2015. "MiFish, a Set of Universal Pcr Primers for Metabarcoding Environmental Dna from Fishes: Detection of More Than 230 Subtropical Marine Species." *Royal Society Open Science* 2 (7). The Royal Society Publishing: 150088.

Zieritz, Alexandra, Bernhard Gum, Ralph Kuehn, and Juergen Geist. 2012. "Identifying Freshwater Mussels (Unionoida) and Parasitic Glochidia Larvae from Host Fish Gills: A Molecular Key to the North and Central European Species." *Ecology and Evolution* 2 (4). Wiley Online Library: 740–50.

Bilaga 5

Bilaga 5.1

Tabell 1. visar de grundvattenmätningar som gjorts under perioden 160527-190124 i grundvattenrör nr 1-7 längs den västra gränsen av Lindhults Natura 2000-område, se figur 7. Mätningen avser djupet i meter från markytan till grundvattenytan i jordlagret dvs. det grundvatten som är växttillgängligt. Rad två visar den beräknade grundvattensänkningen i meter vid respektive rör. Värdet inom parentes visar djupet i meter från markytan till grundvattenytan i jordlagret efter grundvattensänkningen vid respektive rör baserat på mätningarna under perioden 160527-190124 . Benämningen ”TORR” innebär att inget grundvatten funnits i röret vid mättillfället.

Tabell 1.

Rör:	1 (16NAT07A)	2 (16NAT06B)	3 (16NAT05)	4 (16NAT04B)	5 (16NAT03A)	6 (6NAT02C)	7 (16NAT01B)
Uppskattad grundvattensänkning (meter):	0,9	0,9	0,7	0,45	0,45	0,3	0,2
Datum:							
2016-05-27	0,85 (1,75)	0,68 (1,58)	1,6 (2,3)	0,96 (1,41)	4,9 (5,35)	1,13 (1,43)	1,07 (1,27)
2016-05-28	-	-	TORR	-			-
2016-06-10	2,42 (3,32)	1,41 (2,31)	-	1,19 (1,64)	5,21 (5,66)	1,27 (1,57)	1,41 (1,61)
2016-06-25	-	-	-	-	-	-	-
2016-07-13	-	-	-	-	-	-	-
2016-08-17	2,78 (3,68)	TORR	TORR	TORR	6,62 (7,07)	1,83 (2,13)	2,36 (2,56)
2016-08-18	-	-	TORR	-	-	-	-
2016-09-07	3,09 (3,99)	TORR	-	TORR	6,9 (7,35)	1,81 (2,11)	2,44 (2,64)
2016-09-19	3,23 (4,13)	TORR	TORR	TORR	7,05 (7,5)	1,88 (2,18)	2,49 (2,69)
2016-10-07	3,41 (4,31)	TORR	TORR	TORR	7,27 (7,72)	2,04 (2,34)	2,60 (2,80)
2016-11-22	3,73 (4,63)	-	TORR	TORR	7,5 (7,95)	0,97 (1,27)	2,72 (2,92)
2016-12-06	TORR	TORR	TORR	TORR	7,51 (7,96)	0,99 (1,29)	2,78 (2,98)
2017-01-18	TORR	TORR	TORR	0,88 (1,33)	7,34 (7,79)	0,94 (1,24)	0,86 (1,06)
2017-02-23	3,55 (4,45)	0,89 (1,79)	1,31 (2,01)	0,58 (1,03)	7,21 (7,66)	0,86 (1,16)	0,81 (1,01)
2017-03-15	3,33 (4,23)	0,71 (1,61)	1,31 (2,01)	0,72 (1,17)	6,9 (7,35)	0,79 (1,09)	0,79 (0,99)
2017-05-05	-	-	-	-	-	-	-
2017-06-30	3,39 (4,29)	TORR	TORR	TORR	6,53 (6,98)	1,73 (2,03)	2,09 (2,29)
2017-07-14	3,49 (4,39)	TORR	TORR	TORR	6,71 (7,16)	1,93 (2,23)	2,27 (2,47)
2017-08-28	2,01 (3,00)	TORR	TORR	TORR	TORR	2,39 (2,69)	0,52 (0,72)
2017-10-11	TORR	TORR	TORR	TORR	7,69 (8,14)	2,61 (2,91)	2,62 (2,82)
2017-11-15	TORR	TORR	TORR	0,84 (1,29)	TORR	0,84 (1,14)	0,82 (1,02)
2018-01-15	-	0,96 (1,86)	1,42 (2,12)	0,94 (1,39)	6,56 (7,01)	0,91 (1,21)	0,91 (1,11)
2018-02-12	3,13 (4,03)	TORR	1,26 (1,96)	0,76 (1,21)	6,00 (6,45)	1,72 (2,02)	0,78 (0,98)
2018-04-18	2,69 (3,59)	0,96 (1,86)	1,30 (2,00)	0,86 (1,31)	5,60 (6,05)	0,80 (1,10)	0,86 (1,06)
2018-05-22	2,8 (3,70)	1,10 (2,00)	1,6 0(2,30)	1,36 (1,81)	5,40 (5,85)	1,10 (1,40)	1,10 (1,30)
2018-06-26	-	-	-	-	-	-	-
2018-06-30	3,63 (4,53)	TORR	TORR	TORR	6,40 (6,85)	2,06 (2,36)	1,39 (1,59)
2018-07-18	3,63 (4,53)	TORR	TORR	TORR	6,70 (7,15)	2,10 (2,40)	1,51 (1,71)
2018-08-17	TORR	TORR	TORR	TORR	7,30 (7,75)	2,40 (2,70)	1,28 (1,48)
2018-08-22	TORR	TORR	TORR	TORR	-	-	-
2018-08-31	TORR	TORR	TORR	TORR	-	-	-
2018-09-25	TORR	TORR	TORR	TORR	TORR	1,35 (1,65)	1,10 (1,30)
2018-10-24	TORR	TORR	TORR	TORR	TORR	1,14 (1,44)	1,10 (1,30)
2018-11-27	TORR	TORR	TORR	TORR	TORR	1,08 (1,38)	1,06 (1,26)
2018-12-18	TORR	TORR	TORR	TORR	6,42 (6,87)	0,90 (1,20)	0,69 (0,89)
2019-01-24	0,77 (1,67)	0,76 (1,66)	1,43 (2,13)	0,92 (1,37)	TORR	1,04 (1,34)	0,98 (1,18)

Bilaga 5.2

Tabell 2 visar rödlistade, fridlysta, typiska och karaktäristiska arter kända från Lindhults Natura 2000 enligt naturvärdesinventering utförd 2018 samt från sökning utförd 28/2 2019 på www.artportalen.se.

Tabell 2.

	fridlyst	rödlistning	Typisk (T) och/eller karaktäristisk (K) art nordlig ädelövsskog	Skogsstyrelsens signalart
alm		CR	K	
ask		VU	K	
lunglav		NT		S
brödmärgsticka		NT	T	
tårkragskivling		NT		
skogsek			K	
skogslind			K	S
blåsippa	9 §		T, K	S
skogslönn			K	
hassel			K	
vitsippa			K	
svalört			K	
tandrot			T, K	S
vätteros			T	S
underviol			T	S
vårärt			T, K	S
lundgröe			K	
gullockmossa				S



Trafikverket, Örebro. Besöksadress: Järnvägsgatan 7.
Telefon: 0771-921 921, Texttelefon: 010-123 50 00

www.trafikverket.se