

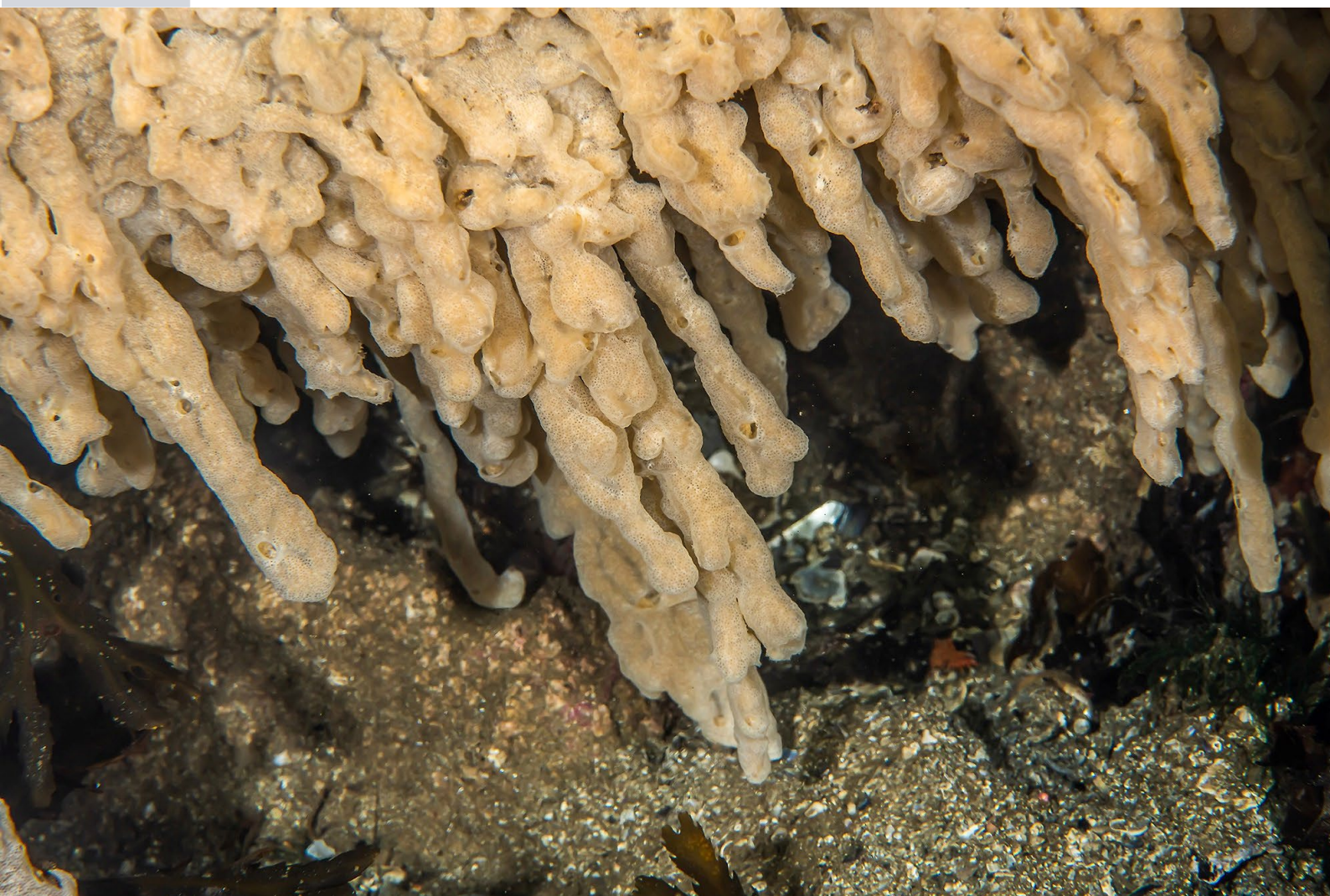
2278

NINA Rapport

Kartlegging av den fremmede marine arten havnespy *Didemnum vexillum* ved hjelp av miljø-DNA og visuell inspeksjon

Oppfølgende undersøkelser i 2022-23

Frode Fossøy, Vivian Husa, Ida Pernille Øystese Andersskog, Hege Brandsegg, Rolf Sivertsgård, Erwann Legrand, Øyvind Svensen, Lars Dahle Øverby, Even Husby



NINAs publikasjoner

NINA Rapport

Dette er NINAs ordinære rapportering til oppdragsgiver etter gjennomført forsknings-, overvåkings- eller utredningsarbeid. I tillegg vil serien favne mye av instituttets øvrige rapportering, for eksempel fra seminarer og konferanser, resultater av eget forsknings- og utredningsarbeid og litteraturstudier. NINA Rapport kan også utgis på engelsk, som NINA Report.

NINA Temahefte

Heftene utarbeides etter behov og serien favner svært vidt; fra systematiske bestemmelsesnøkler til informasjon om viktige problemstillinger i samfunnet. Heftene har vanligvis en populærvitenskapelig form med vekt på illustrasjoner. NINA Temahefte kan også utgis på engelsk, som NINA Special Report.

NINA Fakta

Faktaarkene har som mål å gjøre NINAs forskningsresultater raskt og enkelt tilgjengelig for et større publikum. Faktaarkene gir en kort framstilling av noen av våre viktigste forskningstema.

Annen publisering

I tillegg til rapporteringen i NINAs egne serier publiserer instituttets ansatte en stor del av sine forskningsresultater i internasjonale vitenskapelige journaler og i populærfaglige bøker og tidsskrifter.

Kartlegging av den fremmede marine arten *Didemnum vexillum* havnespy ved hjelp av miljø-DNA og visuell inspeksjon

Oppfølgende undersøkelser i 2022-23

Frode Fossøy
Vivian Husa
Ida Pernille Øystese Andersskog
Hege Brandsegg
Rolf Sivertsgård
Erwann Legrand
Øyvind Svensen
Lars Dahle Øverby
Even Husby



HAVFORSKNINGSINSTITUTTET

Fossøy, F., Husa, V, Andersskog, I.P.Ø., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., Legrand E., Svensen, Ø., Dahle Øverby, L., Husby, E. 2023. Kartlegging av den fremmede marine arten havnespy *Didemnum vexillum* ved hjelp av miljø-DNA og visuell inspeksjon Oppfølgende undersøkelser i 2022-23. NINA Rapport 2278. Norsk institutt for naturforskning.

Trondheim, Mars 2023

ISSN: 1504-3312

ISBN: 978-82-426-5075-7

RETTIGHETSHAVER

© Norsk institutt for naturforskning

Publikasjonen kan siteres fritt med kildeangivelse

TILGJENGELIGHET

Åpen

PUBLISERINGSTYPE

Digitalt dokument (pdf)

KVALITETSSIKRET AV

Sebastian Wacker

ANSVARLIG SIGNATUR

Forskningsjef Ingeborg Palm Helland (sign.)

OPPDRAUGSGIVER(E)/BIDRAGSYTER(E)

Miljødirektoratet

OPPDRAUGSGIVERS REFERANSE

M-2522 I 2023

KONTAKTPERSON(ER) HOS OPPDRAGSGIVER/BIDRAGSYTER

Ida Marie Evensen

FORSIDEBILDE

Havnespy © Erling Svensen /HI

NØKKEWORD

- Norge
- Miljø-DNA
- Havnespy
- Japansk sjøpung
- *Didemnum vexillum*
- Kartlegging
- Overvåking
- Fremmed art

KONTAKTOPPLYSNINGER

NINA hovedkontor

Postboks 5685 Torgarden
7485 Trondheim
Tlf: 73 80 14 00

NINA Oslo

Sognsveien 68
0855 Oslo
Tlf: 73 80 14 00

NINA Tromsø

Postboks 6606 Langnes
9296 Tromsø
Tlf: 77 75 04 00

NINA Lillehammer

Vormstuguvegen 40
2624 Lillehammer
Tlf: 73 80 14 00

NINA Bergen

Thormøhlens gate 55
5006 Bergen
Tlf: 73 80 14 00

www.nina.no

Sammendrag

Fossøy, F., Husa, V., Andersskog, I.P.Ø., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., Legrand, E., Svensen, Ø., Dahle Øverby, L., Husby E. 2023. Kartlegging av den fremmede marine arten havnespy *Didemnum vexillum* ved hjelp av miljø-DNA og visuell inspeksjon. Oppfølgende undersøkelser i 2022-23. NINA Rapport 2278. Norsk institutt for naturforskning.

Havnespy, også kjent som japansk sjøpung (*Didemnum vexillum*), er karakterisert som en fremmed art med svært høy risiko (SE). Arten stammer opprinnelig fra Japan, men har blitt spredt over store deler av verden som blindpassasjer med skipstrafikk og finnes nå i mange tempererte kystområder i Europa. Havnespy ble påvist i Engøysundet i Stavanger i november 2020 for aller første gang i Norge, og har deretter blitt påvist i Haugesund, Egersund, Askøy og Gulen.

I denne rapporten presenterer vi den andre regionale kartleggingen av denne arten i Norge ved hjelp av miljø-DNA, med fokus på havner med stor internasjonal skipstrafikk. Totalt ble 251 vannprøver samlet inn fra Hvaler i Oslofjorden i sør til Verdal i Trondheimsfjorden i nord analysert for påvisning av havnespy.

Havnespy-DNA ble ikke påvist i andre fylker enn der den allerede var kjent. Men i denne undersøkelsen fikk vi positive miljø-DNA signaler fra nye lokaliteter i Vestland. Dette gjelder Eldøyane på Stord, Bergen havn, Sotra, Florø og Måløy. Arten har tidligere ikke blitt registrert nord for Sognefjorden, men er trolig godt etablert i Florø og i Måløy da flere prøver var positive.

Rapporten inneholder også data fra visuell kartlegging ved hjelp av fjernstyrte undervannsfarkoster (ROV), videorigg og vannkikkert i Rogaland og Vestland. Visuelle undersøkelser av stasjoner med positive miljø-DNA signaler i den første kartleggingen bekreftet at havnespy også var etablert i Skipavika i Gulen kommune. Dette viser at miljø-DNA undersøkelser i forkant av visuelle undersøkelser er veldig nyttig og tidsbesparende. Resultater fra både miljø-DNA og visuelle undersøkelser er tilgjengelige i en kartløsning og kan utforskes nærmere på følgende webside: www.nina.no/Naturmangfold/Fremmede-arter/Havnespy

En positiv miljø-DNA prøve gir som oftest en god pekepinn på hvor man bør foreta nærmere undersøkelser. Men et positivt signal kan også stamme fra et fartøy som ligger til kai, og trenger derfor ikke bety at havnespy er etablert i havnen. Visuelle undersøkelser vil derfor kunne bekrefte og vise omfanget av arten i en lokalitet. Negative miljø-DNA prøver er ingen garanti for at arten ikke finnes i et område, og jevnlig overvåking er derfor anbefalt.

Generelt kan de spredte funnene så langt i Norge tyde på flere ulike spredningstilfeller gjennom skipstrafikk, og at lokal spredning fra etablerte kolonier har skjedd innenfor relativt små områder.

Frode Fossøy, NINA, Trondheim, frode.fossoy@nina.no
 Vivan Husa, Havforskningsinstituttet (HI), Bergen, vivian.husa@hi.no
 Ida Pernille Øystese Andersskog, NINA, Trondheim, ida.andersskog@nina.no
 Hege Brandsegg, NINA, Trondheim, hege.brandsegg@nina.no
 Rolf Sivertsgård, NINA, Trondheim, rolf.sivertsgard@nina.no
 Erwann Legrand, Havforskningsinstituttet (HI), Bergen, erwann.legrand@hi.no
 Øyvind Svensen, Havforskningsinstituttet (HI), oyvindsvensen1@gmail.com
 Lars Dahle Øverby, Stavanger kommune, lars.dahle.overby@stavanger.kommune.no
 Even Husby, Bergen Havn, Even.Husby@bergenhavn.no

Innhold

1 Innledning	6
2 Material og metode	8
2.1 Vannprøver til miljø-DNA	8
2.2 Visuell inspeksjon	8
2.3 Labanalyser	8
3 Resultater	10
3.1 Miljø-DNA	10
3.1.1 Resultater fra Miljø-DNA kartlegging	10
3.1.2 Test av vannvolum og dybde for påvisning ved miljø-DNA	15
3.2 Resultater fra visuell kartlegging	17
3.2.1 Rogaland: undersøkelser med vannkikkert og videorigg	17
3.2.2 Vestland: undersøkelser med ROV	19
4 Diskusjon	21
5 Referanser	23
6 Vedlegg	25

Forord

Spredning av fremmede arter er en stor trussel for mange naturmiljøer. Skipstrafikk er en viktig spredningsvei for mange marine fremmede arter og båthavner med stor internasjonal trafikk utgjør derfor ofte det første stedet for etablering av uønskete arter. Havnespy er en slik fremmed art med svært høy risiko som kan medføre store økologiske og økonomiske konsekvenser. Havnespy ble påvist for første gang i Norge i november 2020, og overvåking av utbredelsen og videre spredning er svært viktig for å kunne se på mulige konsekvenser og eventuelle tiltak som kan begrense de negative konsekvensene av denne arten.

I denne rapporten presenterer vi resultater fra oppfølgende undersøkelser av norske havner med stor internasjonal trafikk mellom svenskegrensen og Trondheimsfjorden ved hjelp av miljø-DNA. Dette viser noe av potensialet for hvordan ny teknologi som miljø-DNA kan bidra til å effektivisere overvåking og forvaltning av fremmede arter.

Dette prosjektet er et samarbeidsprosjekt mellom NINA og Havforskningsinstituttet. Vi ønsker å takke Miljødirektoratet og våre kontaktpersoner Ida Marie Evensen og Egil Postmyr for tilrettelegging og oppfølging av prosjektet. Visuell kartlegging, samt ekstra stasjoner for miljø-DNA, i Rogaland og Vestland er delvis finansiert av Statsforvalteren i Vestland og Stavanger kommune. Bergen havn har også bidratt med båttid og personell til visuell inspeksjon med ROV i Vestland.

31. mars 2023, Trondheim/Bergen

Frode Fossøy/Vivian Husa
Prosjektledere

1 Innledning

Havnespy, eller Japansk sjøpung (*Didemnum vexillum*), er karakterisert som en fremmed art med svært høy risiko i Norge (SE, Invasjonspotensiale 4AB, Økologisk effekt 4E, (Artsdatabanken 2018)). Vitenskapskomitéen for mat og miljø har også gjort en risikovurdering av arten og anser risikoen for effekter på hardbunnssamfunn, grunn korallrev, tareskog, ruglbunn, ålegressenger, grus og sandbunn med østers og o-skjell, som høy (VKM 2023). Arten har trolig sin naturlige opprinnelse i Japan, men har blitt spredd som blindpassasjer med internasjonal skipstrafikk over store deler av verden (Stefaniak mfl. 2009, Ordóñez mfl. 2015). Forekomst av havnespy er tidligere kjent fra både Nederland og kysten av Sør-England, og i 2022 ble arten også funnet på Kosterøyene i Sverige (**Figur 1**). Det er nærliggende å tro at havnespy er mer utbredt i Norge enn det som er påvist så langt. En videre kartlegging av utbredelsen er derfor høyst nødvendig for å øke kunnskapen rundt denne invaderende arten.

Havnespy ble påvist for aller første gang i Norge i november 2020, i Engøysundet i Stavanger. I etterkant har arten også blitt funnet i Karmsundet i Haugesund, i Egersund og ved Hanøytangen på Askøy utenfor Bergen. I en første regional kartlegging av havnespy ved hjelp av miljø-DNA ble det gjennomført en prøvetaking av 106 vannprøver mellom Stavanger i Rogaland og Gulen i Vestland (Fossøy 2022). Resultatene viste at miljø-DNA analyser av vannprøver innsamlet i overflaten påviste havnespy både i Haugesund og Stavanger samt Hanøytangen på Askøy, der arten var bekreftet gjennom tidligere funn. Dette bekreftet at miljø-DNA er en egnet metode for påvisning av havnespy.

I den første kartleggingen ble det også funnet positive miljø-DNA signaler i Skipavika i Fensfjorden i Gulen kommune (**Figur 1**). Oppfølgende visuelle undersøkelser bekreftet miljø-DNA funnene og viste at arten også hadde etablert seg i Skipavika.



Figur 1. Registrerte funn av havnespy i Norge og Sverige. Kart fra GBIF.

Havnespy er et kolonidannende sekkedyr (Ascidacea) som vokser som ett overtrekk på hardbunn og sand/steinbunn, men den blir ofte også funnet på kunstige substrater som for eksempel i båthavner og akvakulturanlegg (McKenzie mfl. 2017). Havnespy kan vokse over andre arter og fortrenge de fleste andre naturlig forekommende filtrerende former (hydroider, blåskjell, østers, sekkedyr og tare) der den etablerer seg. Arten tåler temperaturer mellom -2 og 24°C, så den har potensiale til å spre seg langs hele norskekysten inkludert Svalbard. Arten er dog begrenset av lav saltholdighet, den trives best over 25 psu og dør under 20 psu, så den vil trolig holde seg under brakkvannslaget i norske fjorder. I Canada er den registrert helt ned til 65 meters dyp.

Havnespy har to måter å formere seg på. Arten produserer larver i sommerhalvåret (trolig ved temperaturer over 14 °C). Som de fleste andre sekkedyr har larvene begrenset spredningspotensiale da de slår seg ned på bunnen i løpet av 1 til 24 timer. Havnespy sprer seg også ved at små deler av kolonien avsnøres og danner en ny koloni som vokser raskt. Spesielt for denne arten av sekkedyr er de dryppende koloniene som henger på stein, båter eller annet substrat og drypper ned nye små kolonier som sprer seg utover bunnen (McKenzie mfl. 2017 og referanser i denne). Siden arten har begrenset egenspredning vil den trolig spres til nye områder i Norge med skipstrafikk, flytting av flytebrygger, fendere, fiskeredskap etc.

Analyser av miljø-DNA er en ny metode for overvåking av arter og økosystemer, og flere nye studier viser at miljø-DNA kan være en effektiv metode også for kartlegging av havnespy (Gargan mfl. 2021, Matejusova mfl. 2021, Fossøy 2022). Innsamling forgår ved filtrering av enkle vannprøver, og man bruker deretter genetiske verktøy for å lete etter spor av DNA i vannet. Denne metoden har vist seg å være svært effektiv med tanke på overvåking av sjeldne arter, samtidig som den muliggjør innsamling av prøver ved hjelp av publikum (Thomsen mfl. 2012, Biggs mfl. 2015, Balasingham mfl. 2017). NINA har i løpet av de siste årene utviklet både prøvetakingsutstyr og molekylære verktøy for analyser av miljø-DNA og har verifisert protokoller for mange akvatiske organismer (Fossøy mfl. 2018, Fossøy mfl. 2019, Wacker mfl. 2019, Bui mfl. 2021, Taugbøl mfl. 2021).

I denne rapporten presenterer vi den andre regionale kartleggingen av havnespy i Norge ved hjelp av miljø-DNA, med fokus på havner med stor internasjonal skipstrafikk, innsamlet fra Hvaler i Oslofjorden i sør til Verdal i Trondheimsfjorden i nord.

2 Material og metode

2.1 Vannprøver til miljø-DNA

Da det ser ut som spredning av havnespy i hovedsak skjer gjennom skipstrafikk, ble havner definert som høy eller svært høy risiko (Husa mfl. 2022) mellom Oslofjorden og Trondheimsfjorden valgt ut for prøvetaking i 2022. I tillegg ble populære gjestehavner på Sørlandet med moderat risiko og en del verft i Vestland undersøkt. To båthavner på Sotra ble undersøkt på bakgrunn av tips fra publikum. Den første prøvetakingsrunden ble foretatt i juni 2022, men dessverre ble det filtrert noe mindre vannvolumer (2-4 liter) i denne runden slik at resultatene er noe usikre. Vi utførte derfor en test i september for å se om mengden vann (5 og 10 liter) og/eller prøvetakingsdyp (overflate/bunn) påvirket sannsynligheten for å påvise havnespy.

De fleste havnene ble prøvetatt på nytt høsten 2022 og vinteren 2023, med unntak av havner på Sørlandet. Her ble kun Kristiansand som har høy risiko inkludert for ny prøvetaking. Etter funnet av havnespy på Koster i Sverige ble det også lagt inn ekstra stasjoner på Hvalerøyene, som ligger svært nær dette funnet. I den nye prøvetakingsrunden ble det filtrert 7-10 liter vann. I tillegg ble prøver som allerede var innsamlet i Oslofjorden i 2021 for miljø-DNA undersøkelser av dørstokkartan svartmunnet kutling (*Neogobius melanostomus*) reanalysert for påvisning av havnespy.

Vannprøver ble samlet inn og filtrert med hjelp av NINAs miljø-DNA kit (www.nina.no/miljo-DNA/miljo-DNA-i-vann). Samtlige prøver ble innsamlet fra land, og vannet ble filtrert gjennom et lukket kapselfilter (NatureMetrics, GF 5.0/PES 0.8 µm), ved hjelp av en batteridrevet peristaltisk pumpe (Bürkle Vampire). Etter fullført filtrering ble kapselfiltrene tilsatt ATL-buffer (Qiagen) for konservering frem til videre analyser i lab.

2.2 Visuell inspeksjon

For å kunne overvåke spredningen av arten ut fra kjente forekomster og bekrefte miljø-DNA prøver med positivt signal ble det i løpet av 2021 og 2022 foretatt en visuell inspeksjon av stasjoner i Rogaland og Vestland fylke. I Rogaland ble det gjennomført lange transekter langs land med vannkikkert og/eller videorigg. Mistenkelige funn i vannkikkert transekter ble sjekket opp med videorigg. I Vestland ble det gjennomført kortere transekter med en fjernstyrt undervannsfarkost (ROV) på 0-30 meters dyp. ROV med gripeklo gjorde det også mulig å ta prøver for sikker identifikasjon.

2.3 Labanalyser

Labanalysene ble gjennomført av Senter for biodiversitetsgenetikk (NINAGEN) i Trondheim. Ekstraksjon av DNA ble startet med å tilsette 130 µl 1:10 fortynnet Proteinase-K (Qiagen) direkte i kapselfiltrene som deretter ble inkubert ved 56°C over natt. DNA fra væsken i filteret ble videre ekstrahert ved hjelp av NucleoSpin Plant II (Machery-Nagel) spin kolonner i kombinasjon med buffere fra Blood & Tissue kit (Qiagen). DNA ble eluert i 200 µl forvarmet AE-buffer (Qiagen) og deretter reeluert på samme kolonne for å maksimere utbyttet av DNA.

En arts-spesifikk genetisk markør for havnespy (Gargan mfl. 2021) ble analysert ved bruk av qPCR (quantitative Polymerase Chain Reaction). En qPCR-analyse oppformerer en liten bit av DNA, bestemt av den genetiske markøren man bruker ved hjelp av et varmesensitivt enzym og en PCR-maskin som justerer temperaturen opp og ned i ca. 45 sykluser. Etter en test av de publiserte PCR-betingelsene, økte vi annealing temperaturen fra 55°C til 60°C for å øke effektiviteten i PCR-reaksjonen. Hver reaksjon ble utført i totalt 30 µL og bestod av 15 µL TaqMan Fast Advanced Master Mix (ThermoFisher Scientific), 0.9 µM av forward og revers primer, 0.25 µM probe, 4.5 µL dH₂O og 5 µL DNA-templat. PCR-programmet ble startet med 50°C i 2 min og 95°C

i 10 min, etterfulgt av 45 sykluser med 95°C i 15 sekunder og 60°C i 90 sekunder. Alle analysene ble kjørt på en QuantStudio 5 qPCR-maskin (ThermoFisher Scientific).

En qPCR-prøve regnes som positiv dersom man ser en klar økning av DNA-konsentrasjonen, målt ved hjelp av fluorescens under PCR-analysen. C_T -verdien viser hvor mange PCR-sykluser det tar før DNA-mengden gir et klart fluorescens signal. Sammen med en standardkurve basert på en vevsprøve med kjent konsentrasjon av DNA, brukes dette til å angi konsentrasjonen av DNA i prøvene. En lavere C_T betyr derfor høyere konsentrasjoner av DNA. Forekomst av prøver med kun ett positivt replikat tolker vi som usikre, og disse kan tyde på behov for nærmere undersøkelser. Vi har likevel vist prøver med bare ett positivt replikat, med fargen oransje i kartene som «usikker» da disse prøvene kan ligge rett under deteksjonsnivået vårt som følge av lav DNA-konsentrasjon i vannprøvene, og som vi foreslår bør undersøkes på nytt med miljø-DNA eller ved hjelp av visuelle undersøkelser.

Falske positive resultater kan forekomme i miljø-DNA analyser, men vi prøver å unngå disse ved å sette strenge kriterier. Vi kan likevel ikke helt utelukke at noen av de positive prøvene kan være falske positive. Usikkerheten rundt en negativ prøve er ikke kjent. At en art *ikke* blir påvist kan skyldes flere årsaker, som for eksempel vannkvalitet i lokaliteten, temperatur, tetthet av- og avstand til arten, prøvevolumet som ble innsamlet samt behandling og analysering av prøven på laboratoriet. En negativ miljø-DNA-prøve bør derfor ikke sees på som et endelig bevis for at arten ikke finnes i lokaliteten.

Alle ekstraksjonskontroller og PCR-kontroller var negative og viste ingen tegn til krysskontaminering på lab. Positive kontroller amplifiserte som forventet og produserte en tilfredsstillende standardkurve.

3 Resultater

Resultater fra både miljø-DNA og visuelle undersøkelser er tilgjengelige i en kartløsning og kan utforskes nærmere på følgende webside:

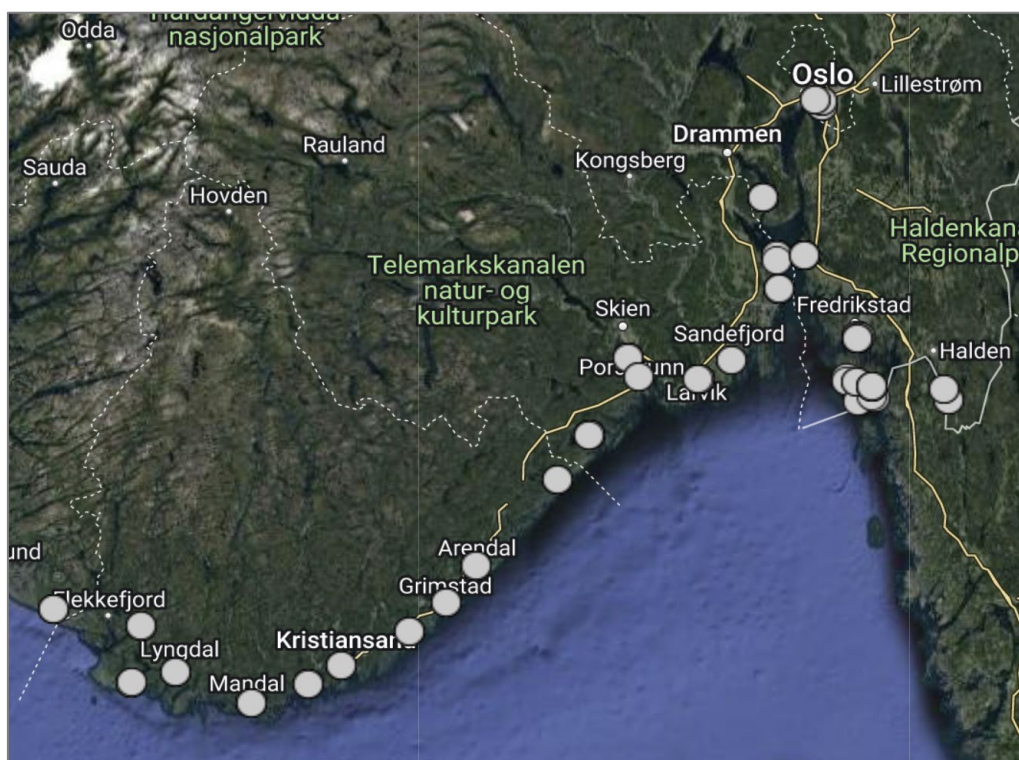
www.nina.no/Naturmangfold/Fremmede-arter/Havnespy

3.1 Miljø-DNA

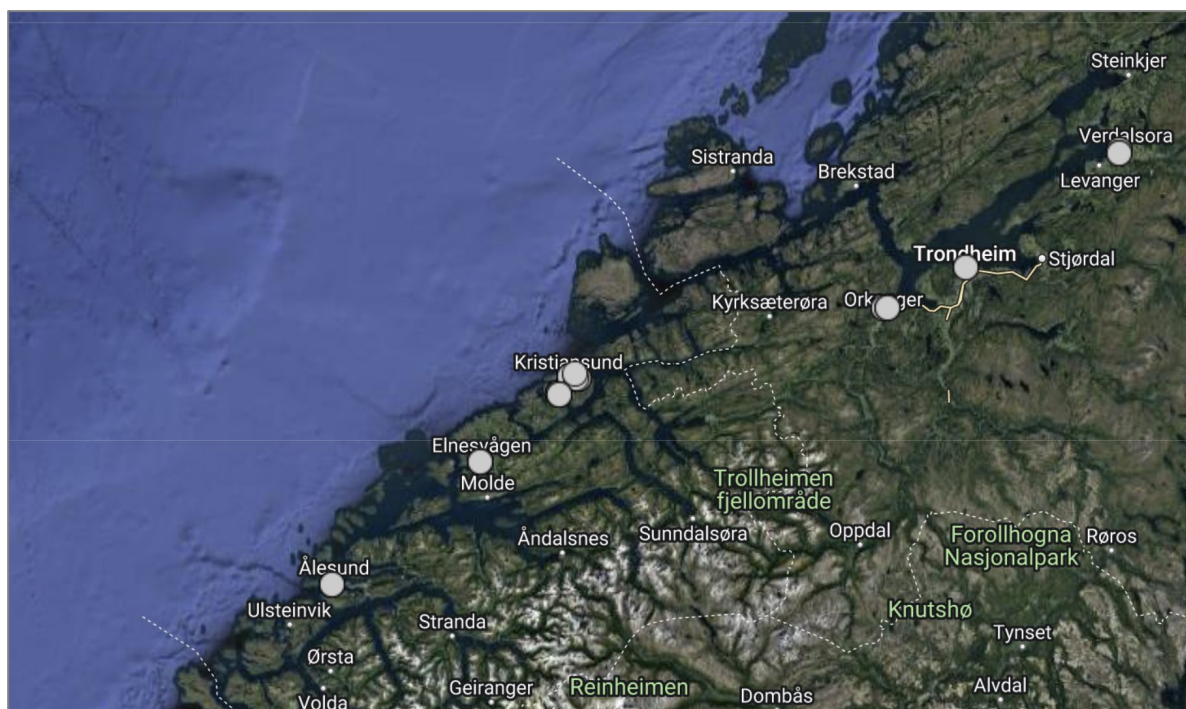
3.1.1 Resultater fra Miljø-DNA kartlegging

Totalt ble 251 vannfilter analysert for påvisning av havnespy. Ingen av prøvene fra den første prøvetakingsrunden var positive, selv i områder der havnespy er kjent. En revurdering av metoden viste at de filtrerte vannvolumene var noe lave sammenlignet med prøvetaking i 2021. Vi vil derfor presisere at resultatet fra disse prøvene er noe usikre, og vi besluttet derfor å gjenta prøvetaking på de fleste stasjonene. Detaljer rundt prøvetaking og resultater for enkeltprøver er listet i **Vedlegg Tabell 2**.

De nye prøvene med 7-10 liter vann filtrert viser likevel kun negative resultater fra Hvaler og resten av Oslofjorden, samt Kristiansand (**Figur 2**). De andre stasjonene mellom Tvedestrand og Hauge er noe usikre da de ble tatt i den første runden. Det ble heller ikke funnet noen positive prøver nord for Stadt (**Figur 3**). Prøver fra fire oljeterminaler i Vestland og Rogaland var også negative.

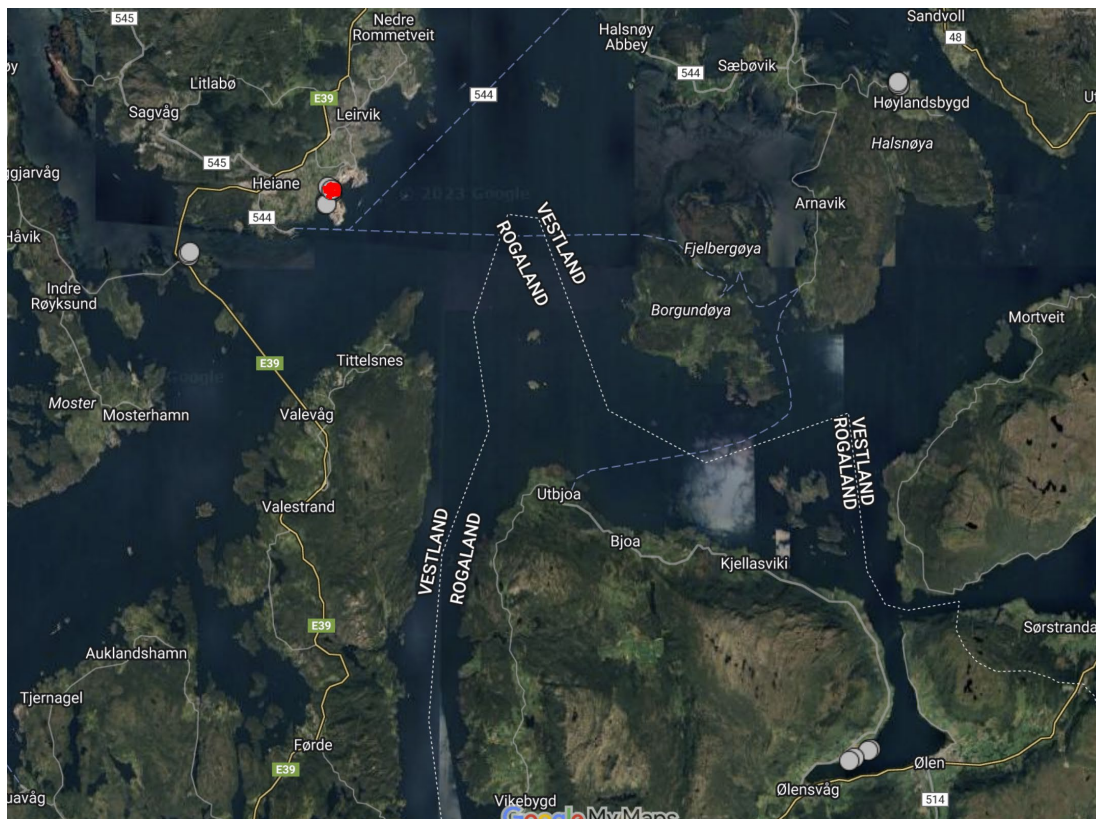


Figur 2. Negative prøver for havnespy fra Hvaler til Hauge vist med grå sirkler.



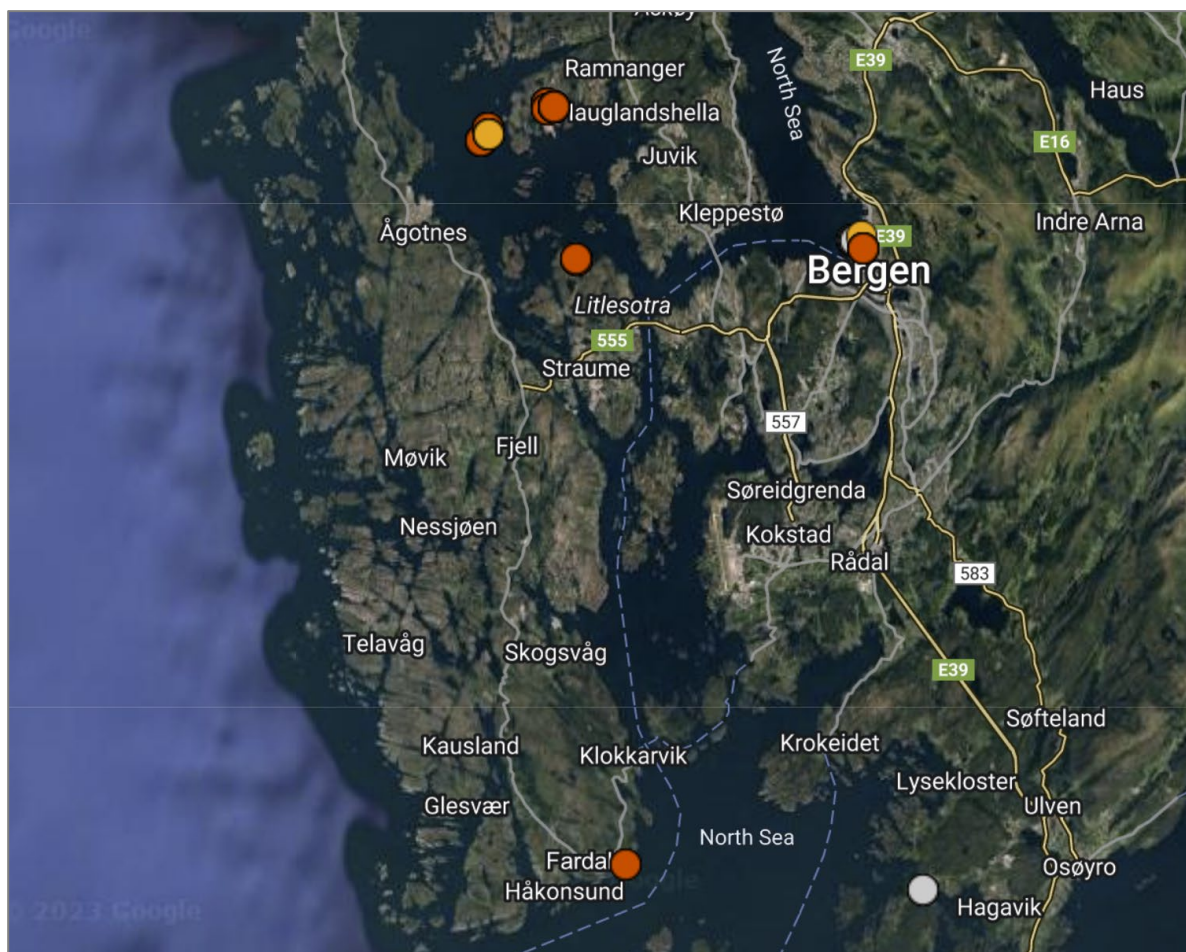
Figur 3. Negative prøver i havner nord for Stadt vist med grå sirkler.

Undersøkelsen av tre verft i Sunnhordland viser negative prøver fra Ølen og Høylandsbygd, men en positiv prøve på verftet på Eldøyane på Stord (**Figur 4**).



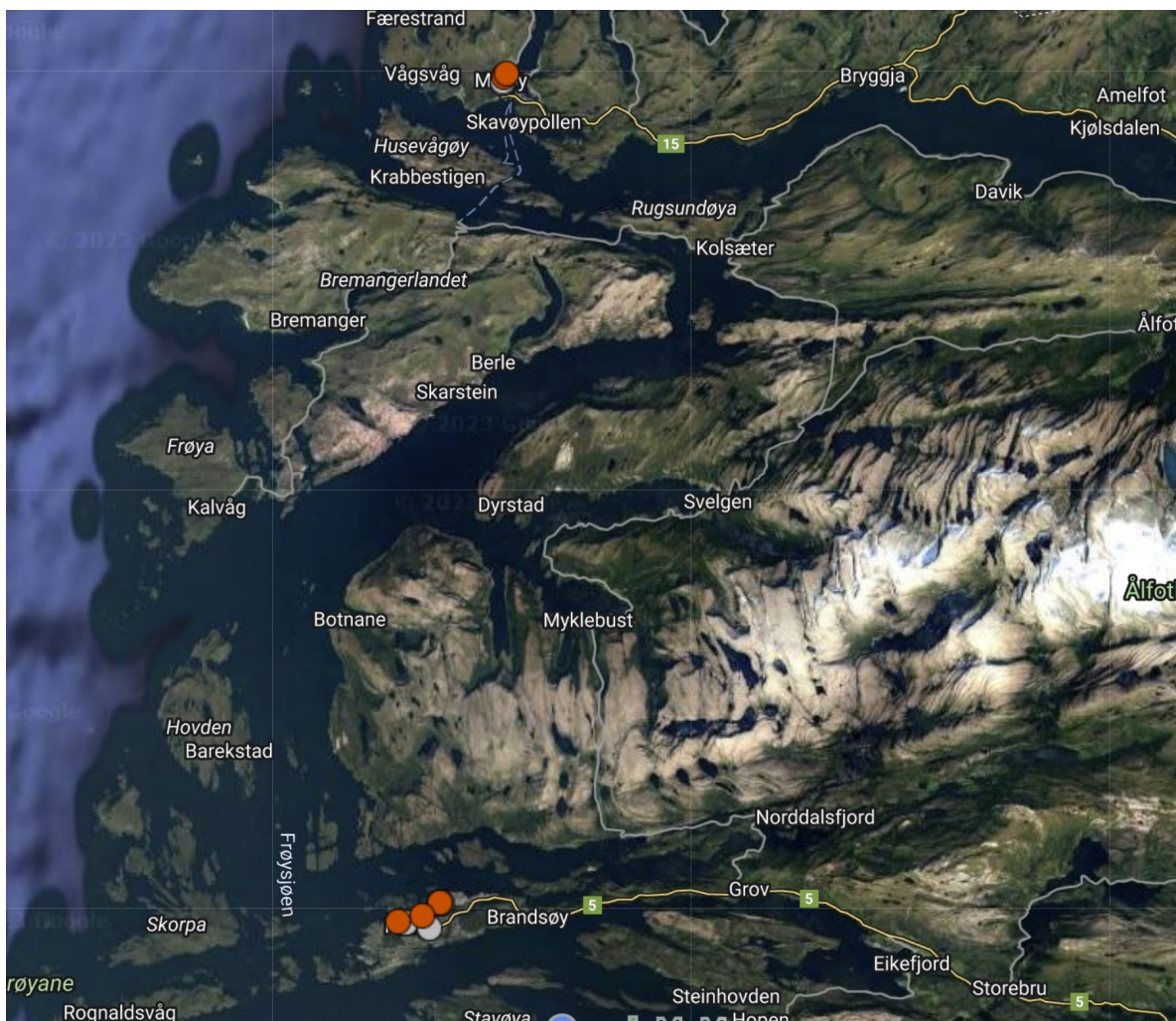
Figur 4. Negative prøver i Ølen og Høylandsbygd, men en positiv prøve fra verftet på Eldøyane, Stord. Røde sirkler angir påvisning av havnespy-DNA, mens grå sirkler angir negative funn.

Det ble funnet en positiv og en usikker prøve i Bergen havn og positive prøver i to småbåthavner på Sotra, vest for Bergen, noe som kan indikere en pågående spredning av havnespy i områdene rundt Bergen (**Figur 5**).



Figur 5. Positive signaler fra Bergen havn og to småbåthavner på Sotra. Røde sirkler angir påvisning av havnespy-DNA, oransje sirkler angir usikre resultater som må undersøkes nærmere, mens grå sirkler angir negative funn.

Havnespy har ikke tidligere vært registrert nord for Sognefjorden, men nå ble det funnet positive prøver på tre stasjoner ved Florø og to i Måløy, noe som indikerer at havnespy allerede er etablert i disse havnene (**Figur 6**).



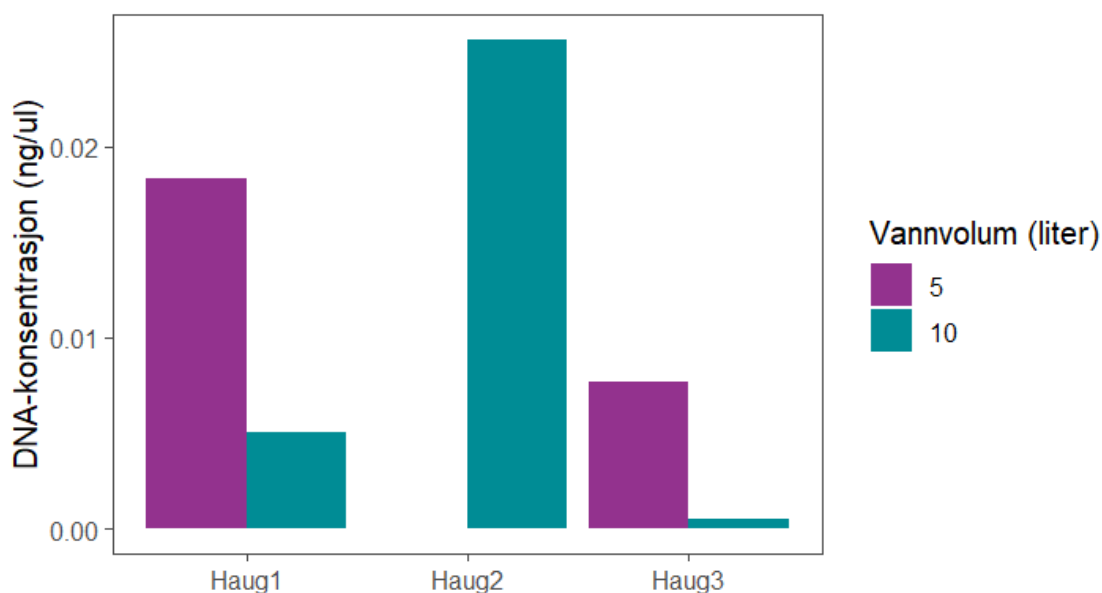
Figur 6. Det ble funnet tre positive prøver i Florø og to i Måløy. Røde sirkler angir påvisning av havnespy-DNA, mens grå sirkler angir negative funn.

På strekningen Egersund- Stord ble det ikke funnet positive prøver i områder der havnespy ikke allerede er kjent.

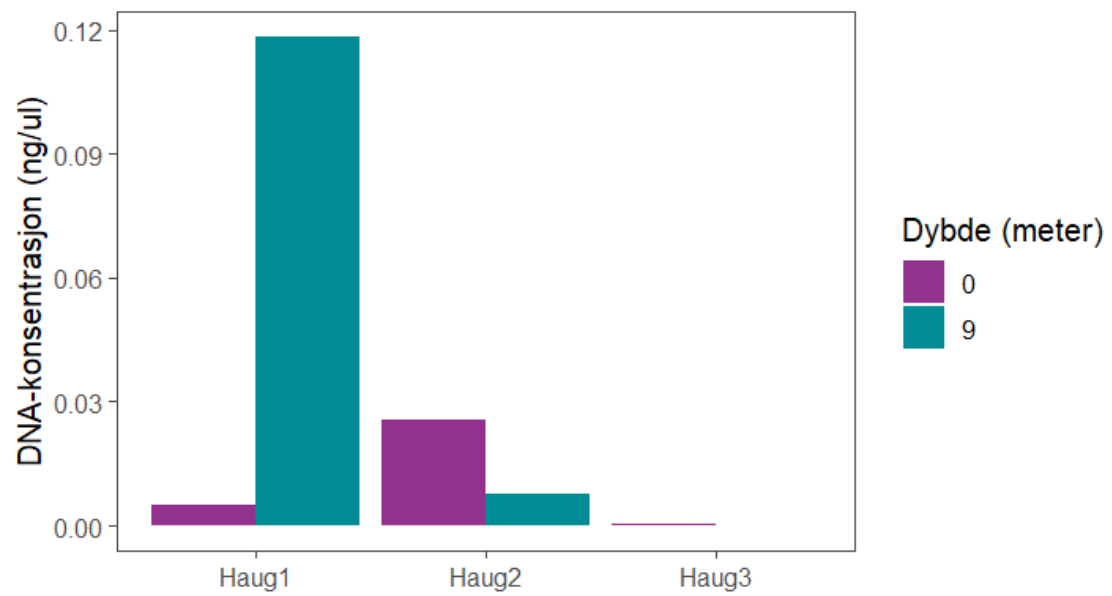
3.1.2 Test av vannvolum og dybde for påvisning ved miljø-DNA

Ettersom den første runden med prøvetaking i juni ikke viste noen funn av havnespy, gjorde vi en revurdering av metoden som ble brukt. Vi oppdaget da at vannvolumet som ble filtrert per prøve var gjennomgående mindre i denne prøverunden sammenlignet med prøvene innsamlet i 2021. I tillegg ønsket vi å gjøre en test av innsamlingsdybde for å se om vår standard protokoll med innsamling av vannprøver i overflaten var tilstrekkelig for påvisning av havnespy. Vi gjennomførte derfor en test av både vannvolum og innsamlingsdybde basert på tre stasjoner langs Garpaskjærskaien i Haugesund, der visuell observasjon kunne bekrefte forekomst av havnespy. Vi samlet inn to prøver fra overflaten, der vi filtrerte enten 5 eller 10 liter vann fra hver stasjon. I tillegg filtrerte vi også 10 liter vann fra bunnen, på ca. 9 meters dyp, fra hver stasjon. På stasjonen Haug 1 hadde dykkere observert rikelig med havnespy langs fjellsiden på 9 meters dyp og nedover, mens på Haug 2 var det noe mindre forekomst og på Haug 3 var det kun observert noen spredte kolonier.

Testen gav noe sprikende resultat (**Figur 7**). DNA-konsentrasjonen var sterkest i 5 liters prøvene på Haug 1 og 3, men gav ikke noe signal på Haug 2. Derimot gav 10 liters prøver signal på alle stasjonene, om enn lavt på Haug 3. Prøvene som ble tatt i overflatevannet viste positivt signal på alle stasjonene (**Figur 8**). Det sterkeste signalet ble funnet i bunnvannet på Haug 1, som var den stasjonen med tettest dekke av havnespy. Det ble ikke funnet noe positivt signal i bunnvannet på Haug 3, men et svakt signal i overflatevannet.



Figur 7. Resultater fra test av vannvolum (5 eller 10 liter, alle prøver fra overflaten (0m)) for målt konsentrasjon av miljø-DNA.

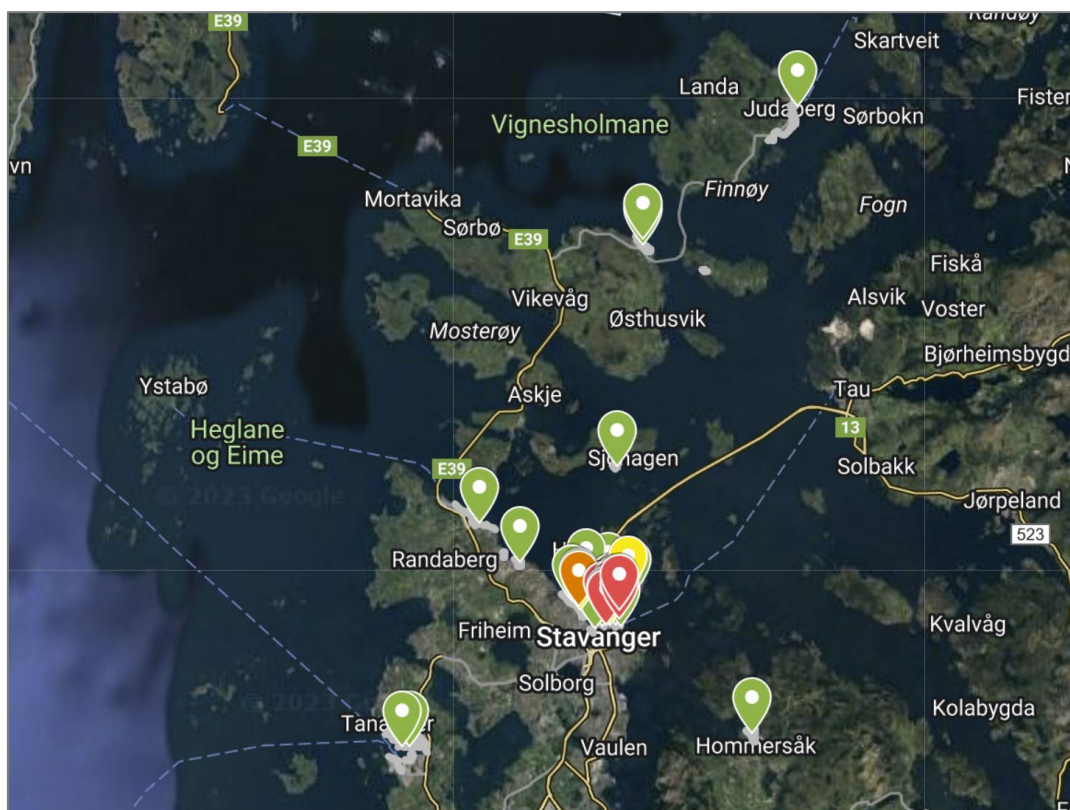


Figur 8. Resultater fra test av dybde (0 eller 9 meter, alle prøver inkluderer 10 liter vann) for målt konsentrasjon av miljø-DNA.

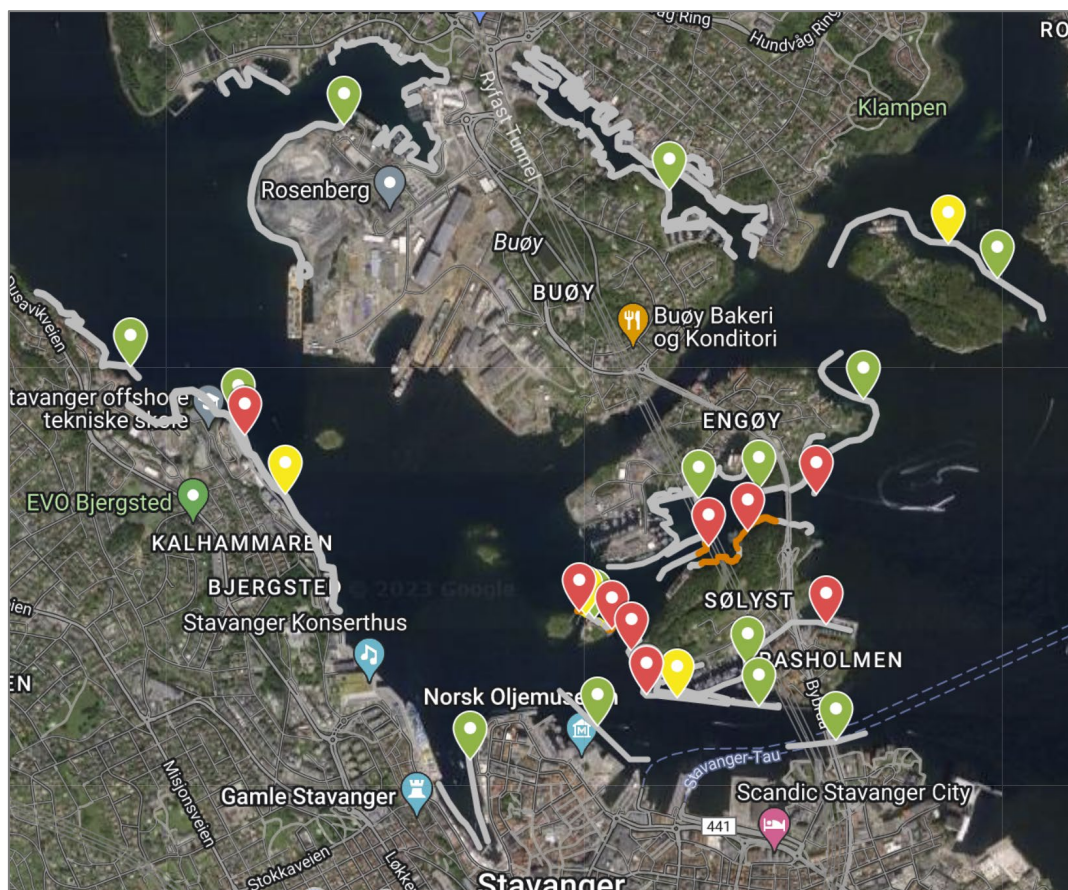
3.2 Resultater fra visuell kartlegging

3.2.1 Rogaland: undersøkelser med vannkikkert og videorigg

I Stavangerområdet hadde arten en begrenset utbredelse, men den viser en lokal spredning i nærheten av Engøysundet der den først ble oppdaget. Arten ble også funnet nord for Stavanger ved Kalhamaren. Havnespy ble ikke funnet i Tananger (som er en travel havn), ved Mekjarvik (verft), Finnøy, Rennesøy, Åmøy eller Hommersåk. Men det ble gjort en usikker observasjon på Steinsøy, der det finnes en opplagsplass for lektere (**Figur 9, Figur 10**).



Figur 9. Oversikt over transekter som er gjennomført med vannkikkert og videorigg i Stavanger området i 2021-2022. Grønt = ingen funn, rødt = funn av havnespy (*Didemnum vexillum*), gult = usikre funn av havnespy.

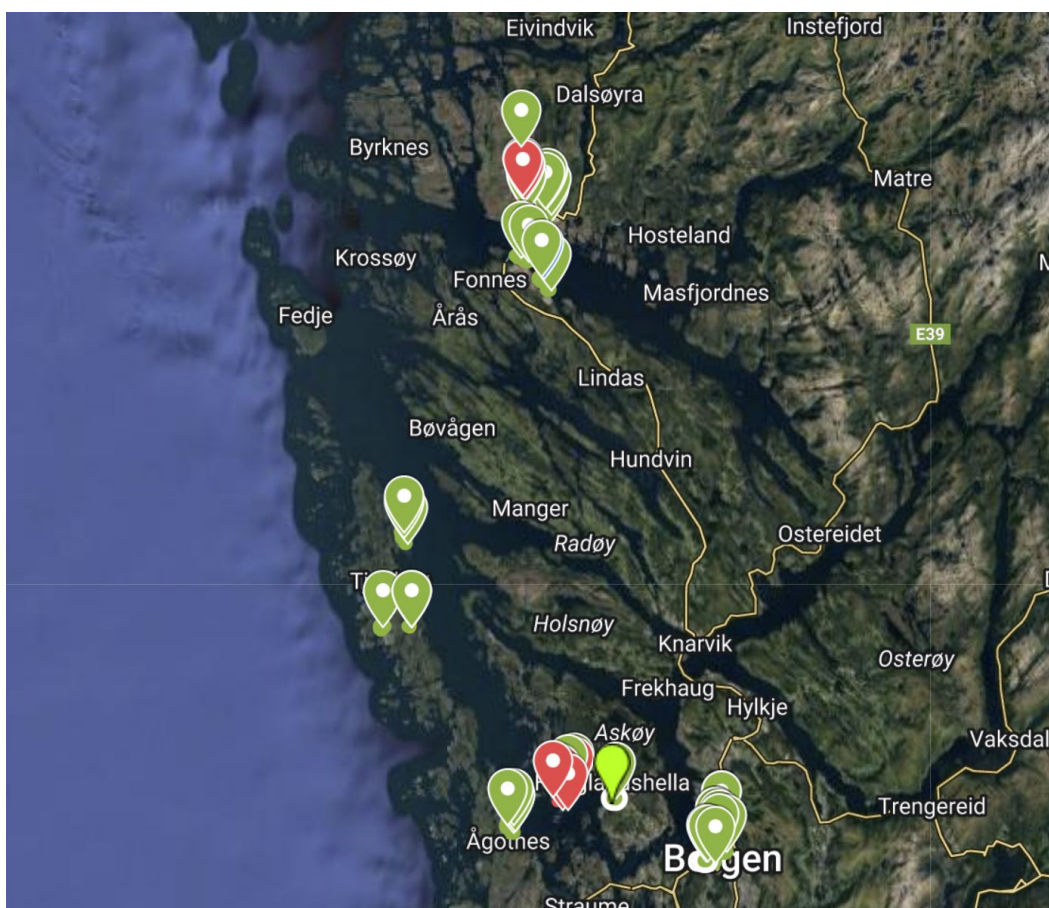


Figur 10. Transekter som er gjennomført med vannkikkert og videorigg i Stavanger området i 2021-2022. Grå linjer = transekter, Grønt = ingen funn, rødt = funn av havnespy (*Didemnum vexillum*), gult = usikre funn av havnespy.

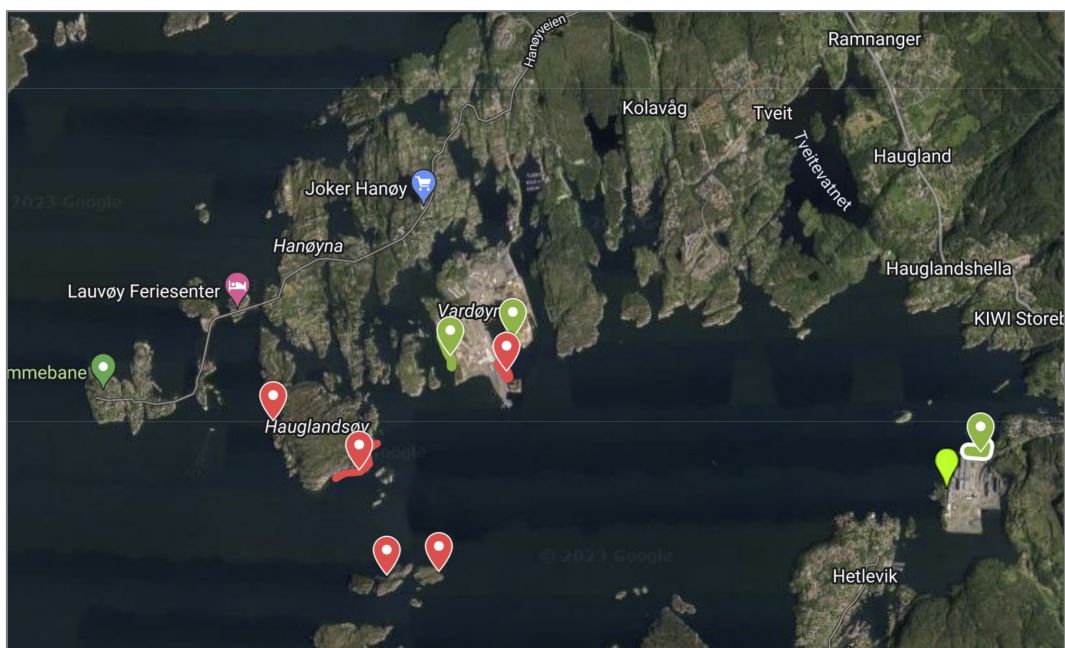
3.2.2 Vestland: undersøkelser med ROV

I Bergen havn ble 10 stasjoner undersøkt uten funn av havnespy. Tilsvarende ble oljeterminalene Sture, Kollsnes og Mongstad, samt Ågotnes Base og Horsøy industrikai undersøkt uten funn. Tidligere miljø-DNA analyser (Fossøy 2022) viste et usikkert signal i Osundet i Øygarden. Dette ble fulgt opp med ROV undersøkelser som også ledet til en usikker visuell observasjon av havnespy. Undersøkelser på Hanøytangen der arten ble oppdaget for første gang i Vestland høsten 2021, viste spredning til tareskog på øyene rundt Hanøytangen (**Figur 11, Figur 12**).

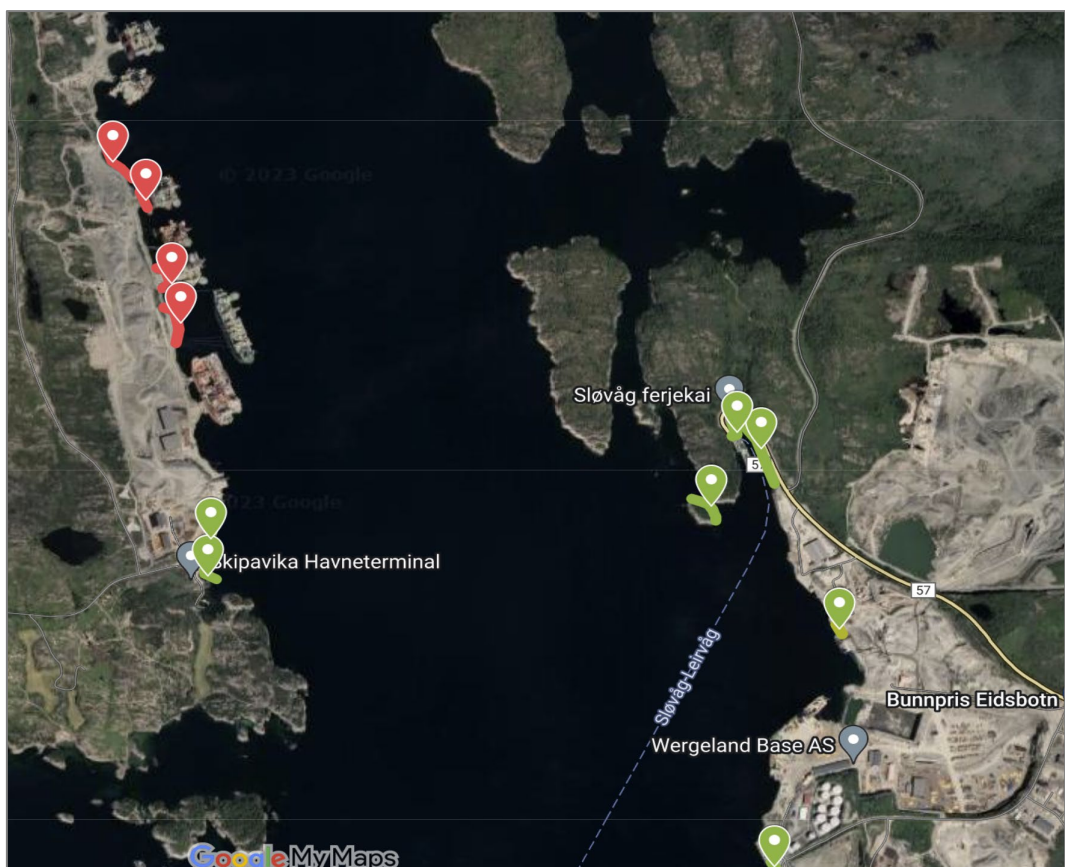
Fossøy mfl. (2022) fant sterke positive miljø-DNA signaler fra havnespy i Sløvåg og Skipavika i Gulen kommune. Dette ble fulgt opp med visuelle undersøkelser. På tross av sterke signaler fra Sløvåg kunne vi ikke påvise havnespy her. I Skipavika, som er terminal for oljeinstallasjoner, ble det funnet rikelige mengder av havnespy, særlig under kaiene, men også spredt utover på bratte fjellvegger. Det var også et positivt signal ved Brandangersundbrua, som ble fulgt opp uten funn av havnespy (**Figur 13**).



Figur 11. Oversikt over transekter som er gjennomført med ROV i Vestland fylke 2021-2022. Grønt = ingen funn, rødt = funn av havnespy (*Didemnum vexillum*), gult = usikre funn av havnespy.



Figur 12. ROV undersøkelser av havnespy (*Didemnum vexillum*) ved Askøy, Vestland. Grønt = ingen funn, rødt = sikre funn.



Figur 13. ROV undersøkelser av havnespy (*Didemnum vexillum*) ved i Gulen, Vestland. Grønt = ingen funn, rødt = sikre funn.

4 Diskusjon

I denne rapporten presenterer vi den andre regionale kartleggingen av den fremmede arten havnespy i Norge, der vi har benyttet miljø-DNA for å undersøke utvalgte båthavner med stor internasjonal skipstrafikk. Havnespy spres som blindpassasjer på båter, og arten kan derfor etablere seg langt fra tidligere forekomster. Arten stammer opprinnelig fra Japan, men finnes nå i mange tempererte kystområder i Europa. Havnespy ble påvist i Engøysundet i Stavanger i november 2020 for aller første gang i Norge, og har senere blitt funnet i Karmsundet ved Haugesund, i Egersund og på Askøy utenfor Bergen. Vi antar at havnespy kan ha etablert seg flere steder i landet.

Denne undersøkelsen dekket de fleste store havnene fra Hvaler i Oslofjorden til Verdal i Trondheimsfjorden, og totalt ble 251 miljø-DNA prøver analysert. Det ble ikke funnet positive prøver i noen andre fylker enn i Rogaland og Vestland. I Rogaland ble det heller ikke funnet nye positive prøver utenom der havnespy allerede er kjent. Men vi presiserer at fravær av positive miljø-DNA signaler ikke er en garanti for at arten ikke finnes i en lokalitet. Det er usikkert hvor langt signalet fra koloniene kan fanges opp, og faktorer som strømretning, hastighet, vannkvalitet og mengden havnespy/antall kolonier vil påvirke sannsynligheten for at arten påvises med miljø-DNA.

I Vestland fylke ble det funnet ett positivt signal på verftet på Eldøyane på Stord i 2023. Prøvene fra 2021 fra denne havnen var negative. Verftene i Ølen og på Høylandsbygd ble også undersøkt, men uten positive funn. Det ble funnet en positiv og en usikker prøve fra Bergen havn. Etter tips fra publikum ble to småbåthavner på Sotra undersøkt og viste klart positive signaler.

Havnespy har tidligere ikke blitt funnet nord for Sognefjorden, men denne undersøkelsen viser tre positive prøver fra Florø og to fra Måløy. Dette er en sterk indikasjon på at arten nå også er etablert i disse havnene. Disse havnene bør undersøkes visuelt for å bekrefte disse funnene. En positiv prøve fra en havn trenger ikke nødvendigvis bety at havnespy er etablert i havnen, men kan også stamme fra et fartøy som ligger ved kai når vannprøven tas.

Rapporten inneholder også resultater fra visuell kartlegging i Rogaland (Stavanger) og i Vestland. Tidligere miljø-DNA prøver (Fossøy mfl. 2022) viste sterke signaler fra Sløvåg og Skipavika terminal i Gulen. Visuell undersøkelse med ROV kunne ikke påvise havnespy i Sløvåg, men store forekomster i Skipavika. Dette viser at det er nyttig med miljø-DNA undersøkelser for å vite hvor man skal lete etter arten.

De spredte funnene på vestkysten viser tydelig at havnespy sprer seg med skipstrafikk mellom travle havner, men at lokal spredning fra etablerte kolonier skjer innenfor relativt små områder foreløpig.

Vi testet også ut betydningen av filtrert vannvolum og om prøver fra overflatevann var like effektivt som bunnvannsprøver. Vi fant at det er sikrest å filtrere 10 liter vann dersom det er mulig, selv om noen av prøvene også var positive på fem liters prøvene. Det er ikke alltid det er mulig å filtrere så mye som 10 liter gjennom et filter dersom det er mye partikler i vannet. Om vinteren når det er lite planktonalger i vannet i områder som ikke har mye avrenning fra land er det lett å oppnå dette volumet. Vi anbefaler at man filtrerer så mye vann som mulig for å sikre best mulig resultat.

To av prøvene viste sterkest signal i overflatevannet, mens den ene kun hadde signal i bunnvannet. Det viser at man som regel vil få et bra signal i overflaten, men at det særlig på dype kaier kan være nødvendig å ta prøver fra dypere vann med vannhenter. Bruk av vannhenter gjør at man bruker lengre tid på hver stasjon, da man gjerne må ta 7-8 hal for å få nok vann. Vannhenteren må dessuten desinfiseres i klor og skylles godt mellom hver stasjon. Dersom man kun bruker 10 liters bøtter i overflaten, og tar en ny helt ren bøtte for hver stasjon, er man sikker på at man ikke får kontaminering mellom stasjoner. Vi valgte derfor å kun bruke overflatevann i denne studien. De varierende resultatene i denne testen skyldes trolig at dette er en strømrisk kai

som også er bølgeutsatt på grunn av vind og båttrafikk, slik at DNA'et vil kunne ha svært varierende konsentrasjoner i vannet.

Prøvene i denne studien ble samlet inn gjennom sommer, høst, vinter og tidlig vår. De tidligere undersøkelsene var gjennomført i desember 2021. På vestkysten av Norge er havnespy til stede gjennom hele året, selv om koloniene kan være noe reduserte i de kaldeste månedene (pers. kom. Rudolf Svensen, Stavanger Museum). Om sommeren vokser arten mer og slipper også ut larver i vannet slik at en burde kunne forvente høyere konsentrasjoner av DNA i vannet. Men om sommeren er det vanskeligere å få filtrert nok vann gjennom filteret på grunn mye partikler i vannet. Matejusova mfl. (2021) fant DNA fra havnespy i vannet i alle måneder mellom februar og november (desember og januar ble ikke undersøkt) med noe varierende konsentrasjoner mellom ulike stasjoner og anbefaler prøvetaking om sommeren eller høsten (pers. kom. Iveta Matejusova). Basert på våre resultater med klart positive prøver i desember og januar ser det ut til at også prøvetaking vinterstid kan anbefales. En mer systematisk undersøkelse gjennom året er nødvendig for å kunne gi svar på om en bestemt årstid bør velges for slike undersøkelser.

5 Referanser

- Artsdatabanken. 2018. Fremmedartslista 2018.
<https://www.artsdatabanken.no/fremmedartslista2018>.
- Balasingham, KD, Walter, RP, Mandrak, NE & Heath, Daniel D. 2017. Environmental DNA detection of rare and invasive fish species in two Great Lakes tributaries. *Molecular Ecology* 27(1): 112-127.
- Biggs, J, Ewald, N, Valentini, A, Gaboriaud, C, Dejean, T, Griffiths, RA, Foster, J, Wilkinson, JW, Arnell, A, Brotherton, P, Williams, P & Dunn, F. 2015. Using eDNA to develop a national citizen science-based monitoring programme for the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Biological Conservation* 183(0): 19-28.
- Bui, S, Dalvin, S, Vagseth, T, Oppedal, F, Fossoy, F, Brandsegg, H, Jacobsen, A, Nordi, GA, Fordyce, MJ, Michelsen, HK, Finstad, B & Skern-Mauritzen, R. 2021. Finding the needle in the haystack: Comparison of methods for salmon louse enumeration in plankton samples. *Aquaculture Research* 10.1111/are.15202.
- Fossøy, F, Brandsegg, H, Sivertsgård, R, Pettersen, O, Sandercock, BK, Solem, Ø, Hindar, K & Mo, TA. 2019. Monitoring presence and abundance of two gyrodactylid ectoparasites and their salmonid hosts using environmental DNA. *Environmental DNA* 2(1): 53-62.
- Fossøy, F, Sivertsgård, R., Ambjørndalen, V.M., Brandsegg, H., Andersskog, I.P.Ø., Husa, V. & Forsgren, E. 2022. Kartlegging av den fremmede marine arten havnespy *Didemnum vexillum* ved hjelp av miljø-DNA. En rask respons undersøkelse. NINA Rapport 2092. Norsk institutt for naturforskning.
- Fossøy, F, Thaulow, J, Anglès d'Auriac, M, Brandsegg, H, Sivertsgård, R, Mo, TA, Sandlund, OT & T., H. 2018. Bruk av miljø-DNA som supplerende verktøy for overvåkning og kartlegging av fremmed ferskvannsfisk. NINA Rapport 1586. Norsk institutt for naturforskning.
- Gargan, LM, Brooks, PR, Vye, SR, Ironside, JE, Jenkins, SR, Crowe, TP & Carlsson, J. 2021. The use of environmental DNA metabarcoding and quantitative PCR for molecular detection of marine invasive non-native species associated with artificial structures. *Biological Invasions*.
- Husa, V, Agnalt, A-L, Berntsen, H, Falkenhaug, T, Fossøy, F, Forsgren, E, Grefsrud, ES, Hjelset, AM, Hansen, F, Husby, E, Jelmert, A, Mortensen, S, Olsen, SA & Sandvik, H. 2022. Alien marine species in Norway: mapping, monitoring and assessment of vectors for introductions. Rapport fra Havforskningen 2022-08.
- Matejusova, I, Graham, J, Bland, F, Lacaze, J-P, Herman, G, Brown, L, Dalgarno, E, Bishop, JD, Kakkonen, JE, Smith, KF & Douglas, A. 2021. Environmental DNA Based Surveillance for the Highly Invasive Carpet Sea Squirt *Didemnum vexillum*: A Targeted Single-Species Approach. *Frontiers in Marine Science* 8: 1158.
- McKenzie, C, Reid, V, Lambert, G, Matheson, K, Minchin, D, Pederson, J, Brown, L, Curd, A, Gollasch, S, Gouletquer, P, Occhipinti-Ambrogi, A, Simard, N & Therriault, T. 2017. Alien species alert: *Didemnum vexillum* Kott, 2002: Invasion, impact, and control. ICES Cooperative Research Report, (335), p.33.
- Ordóñez, V, Pascual, M, Fernández-Tejedor, M, Pineda, MC, Tagliapietra, D & Turon, X. 2015. Ongoing expansion of the worldwide invader *Didemnum vexillum* (Ascidiacea) in the Mediterranean Sea: high plasticity of its biological cycle promotes establishment in warm waters. *Biological Invasions* 17(7): 2075-2085.

- Stefaniak, L, Lambert, G, Gittenberger, A, Zhang, H, Lin, S & Whitlatch, RB. 2009. Genetic conspecificity of the worldwide populations of *Didemnum vexillum* Kott, 2002. *Aquatic Invasions*(1): 29-44.
- Taugbøl, A, Bærum, KM, Dervo, BK & Fossøy, F. 2021. The first detection of the fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* in Norway with no evidence of population declines for great crested and smooth newts based on modeling on traditional trapping data. *Environmental DNA* 10.1002/edn3.180.
- Thomsen, PF, Kielgast, JOS, Iversen, LL, Wiuf, C, Rasmussen, M, Gilbert, MTP, Orlando, L & Willerslev, E. 2012. Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Molecular Ecology* 21(11): 2565-2573.
- VKM, JJ, Bjørn Gulliksen, Vivian Husa, Martin Malmstrøm, Eivind Oug, Paul Ragnar Berg, Anders Bryn, Sonya R. Geange, Kjetil Hindar, Lars Robert Hole, Kyrre Kausrud, Lawrence Kirkendall, Anders Nielsen, Brett K. Sandercock, Eva Thorstad, Gaute Velle 2023. Assessment of risk and risk-reducing measures related to the introduction and dispersal of the invasive alien carpet tunicate *Didemnum vexillum* in Norway. Scientific Opinion of the Panel on Biodiversity of the Norwegian Scientific Committee for Food and Environment. VKM report 2020:01, ISBN: 978-82-8259-334-2, ISSN: 2535-4019. . Norwegian Scientific Committee for Food and Environment (VKM), Oslo, Norway.
- Wacker, S, Fossøy, F, Larsen, BM, Brandsegg, H, Sivertsgård, R & Karlsson, S. 2019. Downstream transport and seasonal variation in freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) eDNA concentration. *Environmental DNA* 10.1002/edn3.10.

6 Vedlegg

Vedlegg Tabell 1. Oversikt over lokaliteter og resultat for miljø-DNA prøver innsamlet som del av en regional kartlegging i 2022. Alle prøvene ble kjørt i PCR-triplikater, og en prøve ble karakterisert som positiv når minst to av triplikatene var positive. Kolonnen «qPCR» viser andel positive replikater. For 132 prøver samlet inn i juli ble det samlet inn relativt små vannvolumer, og disse resultatene må derfor tolkes med forsiktighet.

Lokalitet	Prøvenr.	Dato	Tid	Breddegrad	Lengdegrad	Vann-volum (L)	Vann-temperatur (°C)	qPCR	Resultat
Moss	L1P1	16.07.22	13:40	59.429337	10.647096	2.3	18	0/3	Negativ
Moss	L1P2	16.07.22	13:55	59.429573	10.647895	2.9	18	0/3	Negativ
Moss	L1P3	16.07.22	14:10	59.429708	10.648854	2.7	18	0/3	Negativ
Horten	L2P1	16.07.22	16:10	59.431969	10.489652	1	19.4	0/3	Negativ
Horten	L2P2	16.07.22	16:20	59.432145	10.489579	1	19.4	0/3	Negativ
Horten	L2P3	16.07.22	16:30	59.432303	10.489545	1	19.4	0/3	Negativ
Horten	L3P1	16.07.22	17:00	59.325252	10.503704	1.6	20.8	0/3	Negativ
Horten	L3P2	16.07.22	17:15	59.325825	10.503881	1.6	20.8	0/3	Negativ
Horten	L3P3	16.07.22	17:25	59.326050	10.503185	1.7	20.8	0/3	Negativ
Larvik	L4P1	16.07.22	19:10	59.043616	10.046460	4	18.6	0/3	Negativ
Larvik	L4P2	16.07.22	19:30	59.043912	10.045830	4	18.6	0/3	Negativ
Larvik	L4P3	16.07.22	19:45	59.044186	10.045284	3.4	18.6	0/3	Negativ
Porsgrunn	L5P1	16.07.22	20:35	59.111978	9.637316	2.4	17.8	0/3	Negativ
Porsgrunn	L5P2	16.07.22	20:45	59.111706	9.637551	3	17.8	0/3	Negativ
Porsgrunn	L5P3	16.07.22	20:55	59.111392	9.637997	2.4	17.8	0/3	Negativ
Kragerø	L6P1	17.07.22	10:50	58.869954	9.417072	2.4	17.1	0/3	Negativ
Kragerø	L6P2	17.07.22	11:00	58.870015	9.416817	1.6	17.1	0/3	Negativ
Kragerø	L6P3	17.07.22	11:15	58.870022	9.416457	2.3	17.1	0/3	Negativ
Risør	L7P1	17.07.22	12:55	58.728174	9.232224	2.5	16.6	0/3	Negativ
Risør	L7P2	17.07.22	13:00	58.728311	9.232098	2	16.6	0/3	Negativ
Risør	L7P3	17.07.22	13:10	58.728371	9.231975	2.5	16.6	0/3	Negativ
Arendal	L8P1	17.07.22	14:10	58.457092	8.764544	2.5	17.2	0/3	Negativ
Arendal	L8P2	17.07.22	14:20	58.457150	8.764841	2.2	17.2	0/3	Negativ
Arendal	L8P3	17.07.22	14:30	58.457263	8.765397	2.4	17.2	0/3	Negativ
Grimstad	L9P1	17.07.22	16:30	58.338992	8.596045	2	16.5	0/3	Negativ
Grimstad	L9P2	17.07.22	16:40	58.338929	8.595613	2	16.5	0/3	Negativ
Grimstad	L9P3	17.07.22	16:50	58.338832	8.595487	2	16.5	0/3	Negativ
Lillesand	L10P1	17.07.22	17:35	58.246712	8.383863	1.9	15.8	0/3	Negativ
Lillesand	L10P2	17.07.22	17:50	58.246950	8.383417	3.4	15.8	0/3	Negativ
Lillesand	L10P3	17.07.22	18:00	58.247204	8.382909	2.7	15.8	0/3	Negativ
Kristiansand	L11P1	17.07.22	18:40	58.138720	7.995348	2	15.4	0/3	Negativ

Kristiansand	L11P2	17.07.22	18:50	58.138987	7.995518	3.7	15.4	0/3	Negativ
Kristiansand	L11P3	17.07.22	19:00	58.139338	7.995626	2.8	15.4	0/3	Negativ
Høllen	L12P1	18.07.22	10:15	58.079391	7.805141	1.5	17.4	0/3	Negativ
Høllen	L12P2	18.07.22	10:25	58.079393	7.804765	2.5	17.4	0/3	Negativ
Høllen	L12P3	18.07.22	10:30	58.078480	7.805095	2	17.4	0/3	Negativ
Mandal	L13P1	18.07.22	12:05	58.016888	7.477253	2.8	16	0/3	Negativ
Mandal	L13P2	18.07.22	12:15	58.017111	7.477551	3	16	0/3	Negativ
Mandal	L13P3	18.07.22	12:25	58.017431	7.477523	2.6	16	0/3	Negativ
Lyngdal	L14P1	18.07.22	13:20	58.116141	7.044649	3	17.2	0/3	Negativ
Lyngdal	L14P2	18.07.22	13:25	58.116327	7.044561	2.7	17.2	0/3	Negativ
Lyngdal	L14P3	18.07.22	13:35	58.116694	7.044331	3.3	17.2	0/3	Negativ
Farsund	L15P1	18.07.22	14:15	58.082641	6.790158	2.6	15.5	0/3	Negativ
Farsund	L15P2	18.07.22	14:25	58.083107	6.791248	2.4	15.5	0/3	Negativ
Farsund	L15P3	18.07.22	14:35	58.083853	6.792518	3.5	15.5	0/3	Negativ
Fedafjorden	L16P1	18.07.22	16:15	58.263897	6.845756	2.5	16.5	0/3	Negativ
Fedafjorden	L16P2	18.07.22	16:20	58.264248	6.845970	3.3	16.5	0/3	Negativ
Fedafjorden	L16P3	18.07.22	16:25	58.264599	6.846150	2.6	16.5	0/3	Negativ
Jøssingfjord	L17P1	18.07.22	17:40	58.317976	6.345131	3.8	13	0/3	Negativ
Jøssingfjord	L17P2	18.07.22	17:50	58.317859	6.345410	3.4	13	0/3	Negativ
Jøssingfjord	L17P3	18.07.22	18:00	58.317757	6.346078	3	13	0/3	Negativ
Stavanger	L18P1	19.07.22	10:45	58.976122	5.723168	3.5	16.5	0/3	Negativ
Stavanger	L18P2	19.07.22	10:55	58.975991	5.723416	3	16.5	0/3	Negativ
Stavanger	L18P3	19.07.22	11:00	58.975485	5.723925	3	16.5	0/3	Negativ
Kalhammaren	L19P1	19.07.22	11:50	58.983712	5.710426	2.7	16.8	0/3	Negativ
Kalhammaren	L19P2	19.07.22	12:00	58.983393	5.710745	2.5	16.8	0/3	Negativ
Kalhammaren	L19P3	19.07.22	12:10	58.983158	5.710202	2.8	16.8	0/3	Negativ
Dusavik	L20P1	19.07.22	13:00	58.999261	5.663715	2.7	17	0/3	Negativ
Dusavik	L20P2	19.07.22	13:10	58.999728	5.664121	2.5	17	0/3	Negativ
Dusavik	L20P3	19.07.22	13:20	58.999297	5.664450	2.5	17	0/3	Negativ
Mekjarvik	L21P1	19.07.22	14:20	59.023852	5.614240	2.8	17.5	0/3	Negativ
Mekjarvik	L21P2	19.07.22	14:30	59.024051	5.614662	2.9	17.5	0/3	Negativ
Mekjarvik	L21P3	19.07.22	14:35	59.023756	5.613852	1.9	17.5	0/3	Negativ
Tananger	L22P1	19.07.22	15:20	58.932657	5.575917	3	13.4	0/3	Negativ
Tananger	L22P2	19.07.22	15:30	58.932862	5.575387	3	13.4	0/3	Negativ
Tananger	L22P3	19.07.22	15:40	58.933040	5.574517	2.6	13.4	0/3	Negativ
Tau	L23P1	19.07.22	17:50	59.091673	5.910038	2	19.5	0/3	Negativ
Tau	L23P2	19.07.22	18:00	59.091858	5.909360	1.9	19.5	0/3	Negativ
Tau	L23P3	19.07.22	18:10	59.091565	5.909379	2.1	19.5	0/3	Negativ
Judaberg	L24P1	20.07.22	11:30	59.170434	5.877485	3.2	18.6	0/3	Negativ
Judaberg	L24P2	20.07.22	11:40	59.170349	5.878088	2.8	18.6	0/3	Negativ
Judaberg	L24P3	20.07.22	11:50	59.169972	5.877549	2.7	18.6	0/3	Negativ
Skudeneshavn	L25P1	20.07.22	14:10	59.145270	5.257530	3.7	16	0/3	Negativ
Skudeneshavn	L25P2	20.07.22	14:20	59.145080	5.258256	3	16	0/3	Negativ
Skudeneshavn	L25P3	20.07.22	14:30	59.144733	5.259060	3.2	16	0/3	Negativ
Husøya	L26P1	20.07.22	15:55	59.339789	5.297831	2	15.2	0/3	Negativ
Husøya	L26P2	20.07.22	16:00	59.339974	5.297949	2.5	15.2	0/3	Negativ

Husøya	L26P3	20.07.22	16:15	59.340124	5.297929	2	15.2	0/3	Negativ
Storesund	L27P1	20.07.22	16:35	59.396623	5.269503	2.7	13.7	0/3	Negativ
Storesund	L27P2	20.07.22	16:45	59.396471	5.269809	2.2	13.7	0/3	Negativ
Storesund	L27P3	20.07.22	16:55	59.396205	5.269803	3	13.7	0/3	Negativ
Haugesund	L28P1	20.07.22	17:55	59.411979	5.258506	2.5	14.3	0/3	Negativ
Haugesund	L28P2	20.07.22	18:05	59.411709	5.259009	2.5	14.3	0/3	Negativ
Haugesund	L28P3	20.07.22	18:15	59.411227	5.259892	2.3	14.3	0/3	Negativ
Haugesund	L29P1	20.07.22	18:40	59.418769	5.249903	2.2	13.3	0/3	Negativ
Haugesund	L29P2	20.07.22	18:50	59.418936	5.249317	2.5	13.3	0/3	Negativ
Haugesund	L29P3	20.07.22	19:00	59.418466	5.250388	2	13.3	0/3	Negativ
Haugesund	L30P1	20.07.22	19:10	59.416906	5.260654	3	13.3	0/3	Negativ
Haugesund	L30P2	20.07.22	19:20	59.417296	5.259903	2.2	13.3	0/3	Negativ
Haugesund	L30P3	20.07.22	19:30	59.417454	5.259378	2.1	13.3	0/3	Negativ
Ølen	L31P1	21.07.22	11:40	59.607754	5.775484	2.7	17.2	0/3	Negativ
Ølen	L31P2	21.07.22	11:50	59.607997	5.776240	2.7	17.2	0/3	Negativ
Ølen	L31P3	21.07.22	12:00	59.607668	5.775013	3.3	17.2	0/3	Negativ
Husnes	L32P1	21.07.22	15:10	59.879178	5.773248	2.3	17.3	0/3	Negativ
Husnes	L32P2	21.07.22	15:15	59.879032	5.773956	3.1	17.3	0/3	Negativ
Husnes	L32P3	21.07.22	15:25	59.879038	5.772646	2.1	17.3	0/3	Negativ
Høylandbygda	L33P1	21.07.22	16:20	59.788751	5.791161	2.1	18	0/3	Negativ
Høylandbygda	L33P2	21.07.22	16:30	59.789531	5.791032	1.8	18	0/3	Negativ
Høylandbygda	L33P3	21.07.22	16:45	59.788469	5.791862	2.2	18	0/3	Negativ
Eldøyane	L34P1	21.07.22	18:30	59.759776	5.485863	2.5	17.4	0/3	Negativ
Eldøyane	L34P2	21.07.22	18:35	59.759567	5.485986	2.2	17.4	0/3	Negativ
Eldøyane	L34P3	21.07.22	18:45	59.759984	5.485787	2.5	17.4	0/3	Negativ
Bergen	L35P1	22.07.22	11:25	60.401373	5.310150	3.2	16	0/3	Negativ
Bergen	L35P2	22.07.22	11:35	60.401222	5.311268	3	16	0/3	Negativ
Bergen	L35P3	22.07.22	11:45	60.401098	5.312285	3.2	16	0/3	Negativ
Askvoll	L36P1	22.07.22	15:40	61.344819	5.063660	2.9	15.5	0/3	Negativ
Askvoll	L36P2	22.07.22	15:50	61.345015	5.064894	2.1	15.5	0/3	Negativ
Askvoll	L36P3	22.07.22	16:00	61.345476	5.065442	2.9	15.5	0/3	Negativ
Florø	L37P1	22.07.22	18:20	61.608763	5.063285	2.5	17.6	0/3	Negativ
Florø	L37P2	22.07.22	18:30	61.608836	5.064082	2.5	17.6	0/3	Negativ
Florø	L37P3	22.07.22	18:40	61.608669	5.062311	2.4	17.6	0/3	Negativ
Florø	L38P1	22.07.22	19:00	61.600747	5.032089	3.5	16.5	0/3	Negativ
Florø	L38P2	22.07.22	19:10	61.601284	5.033099	3	16.5	0/3	Negativ
Florø	L38P3	22.07.22	19:20	61.600674	5.033769	3.3	16.5	0/3	Negativ
Måløy	L39P1	23.07.22	11:55	61.933969	5.115258	2.5	15.1	0/3	Negativ
Måløy	L39P2	23.07.22	12:00	61.934512	5.115645	2.2	15.1	0/3	Negativ
Måløy	L39P3	23.07.22	12:10	61.934775	5.114981	2.1	15.1	0/3	Negativ
Ålesund	L40P1	23.07.22	16:35	62.468743	6.135393	2	16.2	0/3	Negativ
Ålesund	L40P2	23.07.22	16:40	62.468682	6.134772	2.5	16.2	0/3	Negativ
Ålesund	L40P3	23.07.22	16:50	62.468705	6.134010	2.6	16.2	0/3	Negativ
Elneivågen	L41P1	23.07.22	19:15	62.850140	7.131058	2.8	15.7	0/3	Negativ
Elneivågen	L41P2	23.07.22	19:20	62.849804	7.131145	2.4	15.7	0/3	Negativ
Elneivågen	L41P3	23.07.22	19:25	62.849797	7.130364	2.3	15.7	0/3	Negativ

Averøy	L42P1	23.07.22	20:45	63.058710	7.658825	2	15	0/3	Negativ
Averøy	L42P2	23.07.22	20:55	63.058746	7.659049	2.2	15	0/3	Negativ
Averøy	L42P3	23.07.22	21:00	63.058966	7.659344	2	15	0/3	Negativ
Kristiansund	L43P1	23.07.22	22:35	63.109328	7.732611	2.8	14.3	0/3	Negativ
Kristiansund	L43P2	23.07.22	22:40	63.109755	7.733133	2.3	14.3	0/3	Negativ
Kristiansund	L43P3	23.07.22	22:50	63.110070	7.733532	2.6	14.3	0/3	Negativ
Kristiansund	L44P1	24.07.22	11:05	63.104432	7.790668	3.7	15.5	0/3	Negativ
Kristiansund	L44P2	24.07.22	11:15	63.104561	7.789381	3.3	15.5	0/3	Negativ
Kristiansund	L44P3	24.07.22	11:20	63.104419	7.787096	3.7	15.5	0/3	Negativ
Tananger	TAN2-1	30.08.22	08:36	58.930362	5.60039157	7	17.2	0/3	Negativ
Tananger	TAN2-2	30.08.22	08:43	58.9306432	5.59871332	7	17.5	0/3	Negativ
Tananger	TAN2-3	30.08.22	08:49	58.9311383	5.59857002	7	16.7	0/3	Negativ
Tananger	TAN1-1	30.08.22	09:21	58.9327081	5.5760334	8	15.4	0/3	Negativ
Tananger	TAN1-2	30.08.22	09:42	58.9328656	5.57429007	8	15.4	0/3	Negativ
Tananger	TAN1-3	30.08.22	09:46	58.9336057	5.57404322	4.7	16.4	0/3	Negativ
Tananger	TAN3-2	30.08.22	12:39	58.9131731	5.58729807	7	17.5	0/3	Negativ
Tananger	TAN3-3	30.08.22	12:56	58.9134658	5.58661054	5.5	17.5	0/3	Negativ
Tananger	TAN3-1	30.08.22	13:44	58.9219184	5.57565083	3.5	18.6	0/3	Negativ
Egersund	EG1-1	31.08.22	09:26	58.4587316	5.98025855	4.9	17.5	0/3	Negativ
Egersund	EG1-2	31.08.22	09:42	58.4602486	5.9798401	7.5	17.5	0/3	Negativ
Egersund	EG1-3	31.08.22	10:33	58.4625391	5.9774295	5	17.9	0/3	Negativ
Egersund	EG2-2	31.08.22	11:32	58.4475297	5.97896243	4	18.2	0/3	Negativ
Egersund	EG2-3	31.08.22	11:55	58.4472094	5.97857938	4.7	18.1	0/3	Negativ
Egersund	EG2-1	31.08.22	11:56	58.4480234	5.97872784	5.7	18.2	1/3	Usikker
Egersund	EG3-2	31.08.22	13:03	58.4344131	5.98550173	4	19.3	0/3	Negativ
Egersund	EG3-1	31.08.22	13:35	58.4338507	5.98363146	3.7	19.3	0/3	Negativ
Egersund	EG3-3	31.08.22	13:36	58.4346723	5.98312864	4	19.3	1/3	Usikker
Stavanger	STA1-1	01.09.22	08:23	58.9728744	5.7453497	7		0/3	Negativ
Stavanger	STA1-2	01.09.22	08:31	58.9722185	5.74498488	7		0/3	Negativ
Stavanger	STA1-3	01.09.22	09:24	58.9742488	5.73308103	7		0/3	Negativ
Stavanger	STA2-1	01.09.22	10:05	58.9757612	5.74275013	5		0/3	Negativ
Stavanger	STA2-2	01.09.22	10:19	58.97558	5.73832127	5.5		0/3	Negativ
Stavanger	STA3-1	01.09.22	12:39	58.9823706	5.71281038	6.5		0/3	Negativ
Stavanger	STA3-2	01.09.22	13:10	58.9836724	5.71032108	5		0/3	Negativ
Stavanger	STA3-3	01.09.22	08:36	58.9828421	5.71110984	5		0/3	Negativ
Stavanger	STA2-3	01.09.22	08:42	58.9769836	5.74674444	5.5		2/3	Positiv
Kristiansund	H1A	23.09.22	12:18	63.10498688	7.795446117	10	14.1	0/3	Negativ
Kristiansund	H1B	23.09.22	12:30	63.10400057	7.778919033	10	14.1	0/3	Negativ
Sterkoder	H2A	23.09.22	13:08	63.11895682	7.771609216	10	14	0/3	Negativ
Kristiansund	H3A	23.09.22	14:59	63.0545272	7.663432934	10	14	0/3	Negativ
Kristiansund	H3B	23.09.22	15:17	63.0547223	7.664516817	10	14	0/3	Negativ
Orkanger	1A	28.09.22	07:36	63.31836202	9.849745566	10	10.2	0/3	Negativ
Orkanger	1B	28.09.22	07:43	63.31873038	9.84844595	10	10.2	0/3	Negativ
Orkanger	2B	28.09.22	08:39	63.31881817	9.87516045	10	10.3	0/3	Negativ
Orkanger	2A	28.09.22	08:41	63.31855668	9.874095217	10	10.3	0/3	Negativ
Trondheim	4A	28.09.22	10:54	63.44173798	10.40186047	10	12.6	0/3	Negativ
Trondheim	4B	28.09.22	10:58	63.4411655	10.40077712	10	12.6	0/3	Negativ
Aker Verdal	5A	28.09.22	13:24	63.7924673	11.43493925	10	14.3	0/3	Negativ
Aker Verdal	5B	28.09.22	13:30	63.79315477	11.43543255	10	14.3	0/3	Negativ

Verdal	6A	28.09.22	14:07	63.78267007	11.4297387	10	13.3	0/3	Negativ
Verdal	6B	28.09.22	14:17	63.78341925	11.43287708	10	13.3	0/3	Negativ
Akerøy Øst	H1P1	18.10.22	08:46	59.05068243	10.89006111	9.4	9.9	0/3	Negativ
Akerøya Sør	H1P2	18.10.22	08:59	59.03792763	10.88913902	8.1	10.5	0/3	Negativ
Tisler Øst	H2P1	18.10.22	09:20	58.98101649	10.97130902	8.5	10.7	0/3	Negativ
Tisler Sør	H2P2	18.10.22	09:40	58.97420681	10.95430476	7.5	10.7	0/3	Negativ
Herføl Sør	H3P1	18.10.22	10:06	58.98638498	11.05082791	9.3	10.5	0/3	Negativ
Herføl Vest	H3P2	18.10.22	10:17	58.99055901	11.0346006	9	11.5	0/3	Negativ
Vikerhavn	H4P1	18.10.22	14:24	59.03628481	10.94841246	10	11.6	0/3	Negativ
Vikerhavn	H4P2	18.10.22	14:22	59.03542657	10.94876435	10	11.6	0/3	Negativ
Kragerø	H5P1	25.10.22	14:28	58.86998669	9.417017414	10	10.4	0/3	Negativ
Kragerø	H5P2	25.10.22	15:04	58.86739115	9.414115068	10	10.4	0/3	Negativ
Larvik	H6P1	25.10.22	17:12	59.04413493	10.04503794	9	8.7	0/3	Negativ
Larvik	H6P2	25.10.22	17:59	59.04519293	10.03877067	8.4	8.7	0/3	Negativ
Slagentangen	H7P1	26.10.22	16:11	59.3251006	10.50366026	7.7	9	0/3	Negativ
Slagentangen	H7P2	26.10.22	16:15	59.32606521	10.50313531	9.3	9	0/3	Negativ
Horten	H8P1	27.10.22	10:14	59.43046629	10.49030074	8.5		0/3	Negativ
Horten	H8P2	27.10.22	10:57	59.41327792	10.49024068	10	12.1	0/3	Negativ
Moss	H9P1	27.10.22	13:12	59.42909095	10.64657578	10	11.6	0/3	Negativ
Moss	H9P2	27.10.22	13:15	59.42974662	10.6494766	10	11.6	0/3	Negativ
Karmøy	Husøy 1	15.12.22		59.341096	5.296464	8		0/3	Negativ
Karmøy	Husøy2	15.12.22		59.340855	5.297022	9		0/3	Negativ
Bergen	BEG1	23.02.23		60.402838	5.316803	10		1/3	Usikker
Bergen	BEG2	23.02.23		60.398496	5.317875	9		2/3	Positiv
Ølen	ØL1	26.01.23		59.605618	5.767651	9		0/3	Negativ
Ølen	ØL2	26.01.23		59.604885	5.764893	7		0/3	Negativ
Stord	ELD1	26.01.23		59.762085	5.488948	10		3/3	Positiv
Stord	ELD2	26.01.23		59.76169	5.4875	8		0/3	Negativ
Høylandsbygd	HØY1	26.01.23		59.788965	5.790868	10		0/3	Negativ
Høylandsbygd	HØY2	26.01.23		59.789569	5.791072	8		0/3	Negativ
Sotra	RAN1	13.02.23		60.39431	5.11825	7		3/3	Positiv
Sotra	RAN2	13.02.23		60.394864	5.117499	7		3/3	Positiv
Florø	Florø1	14.02.23		61.608753	5.062627	7		3/3	Positiv
Florø	Florø2	14.02.23		61.598628	5.05357	8		0/3	Negativ
Florø	Florø3	14.02.23		61.603534	5.047692	7		3/3	Positiv
Florø	Florø4	14.02.23		61.601233	5.027479	8		3/3	Positiv
Måløy	Måløy1	14.02.23		61.93653	5.11606	7		2/3	Positiv
Måløy	Måløy2	14.02.23		61.938	5.11875	8		2/3	Positiv
Sotra	KLE	13.02.23		60.185216	5.152049	9		3/3	Positiv

Vedlegg Tabell 2. Oversikt over lokaliteter og resultat for 40 miljø-DNA prøvene innsamlet som del av en karlegging av svartmunnet kutling i 2021. Alle prøvene ble kjørt i PCR-triplikater, og en prøve ble karakterisert som positiv når minst to av triplikatene var positive. Kolonnen «qPCR» viser andel positive replikater.

Lokalitet	Prøvenr.	Dato	Tid	Breddegrad	Lengdegrad	Vann-volum (L)	Vann-temperatur (°C)	qPCR	Resultat
Svelvik	BATT1A	19.05.21	14:00	59.60744	10.41104	5.0		0/3	Negativ
Svelvik	BATT1B	19.05.21	14:20	59.60744	10.41104	5.0		0/3	Negativ
Svelvik	BATT1A	19.05.21	14:00	59.60744	10.41104	5.0		0/3	Negativ
Svelvik	BATT1B	19.05.21	14:20	59.60744	10.41104	5.0		0/3	Negativ
Kråkerøy	FSH1	19.05.21	11:15	59.17224	10.95284	4.5	9.8	0/3	Negativ
Kråkerøy	FSH2	19.05.21	11:30	59.17224	10.95284	4.0	9.8	0/3	Negativ
Kråkerøy	FSH3	19.05.21	12:10	59.17934	10.95043	4.0	10.5	0/3	Negativ
Kråkerøy	FSH4	19.05.21	12:25	59.17934	10.95043	4.0	10.5	0/3	Negativ
Kirkøy	SHH1	19.05.21	14:15	59.0208	11.03333	10.0	12.4	0/3	Negativ
Kirkøy	SHH2	19.05.21	14:45	59.02088	11.03373	10.0	12.4	0/3	Negativ
Berby	UTLØP ENNING	26.05.21	15:00	58.97989	11.47571	4.0		0/3	Negativ
Berby	UTLØP ENNING	26.05.21	15:15	58.97989	11.47571	4.0		0/3	Negativ
Iddefjorden	BAKKE	28.05.21	13:30	59.01275	11.44853	5.0		0/3	Negativ
Iddefjorden	BAKKE	28.05.21	13:45	59.01275	11.44853	5.0		0/3	Negativ
Brevik	BREVIK	01.06.21	17:30	59.05221	9.700623	10.0		0/3	Negativ
Brevik	BREVIK	01.06.21	17:50	59.05204	9.700793	10.0		0/3	Negativ
Nyhavna Dora	1	04.06.21	09:25	63.44259	10.4206	10.0		0/3	Negativ
Nidelva	2	04.06.21	10:15	63.4408	10.41339	10.0	8.8	0/3	Negativ
Nidelva	3	04.06.21	11:00	63.44446	10.41372	10.0	9.8	0/3	Negativ
Sandefjord hanvn	SFH1	21.06.21	15:00	59.1032	10.22886	10.0	17	0/3	Negativ
Sandefjord hanvn	SFH2	21.06.21	15:15	59.1031	10.2291	10.0	18	0/3	Negativ
Øra	1	12.08.21	11:00	59.17812	10.97062	10	20.5	0/3	Negativ
Øra	2	12.08.21	12:00	59.17683	10.96054	9	19.6	0/3	Negativ
Skjærhalden	3	12.08.21	15:30	59.02178	11.0328	9	20.8	0/3	Negativ
Skjærhalden	4	12.08.21	16:30	59.02288	11.03464	9	20.2	0/3	Negativ
Kråkerøy	5	12.08.21	17:45	59.17225	10.95289	8.5	19.2	0/3	Negativ
Kråkerøy	6	12.08.21	18:30	59.17233	10.95241	7	19.2	0/3	Negativ
Ormen Langes vei	1	05.09.21	12:15	63.44568	10.42054	10	10.3	0/3	Negativ
Ormen Langes vei	2	05.09.21	13:00	63.44518	10.42054	10	10.8	0/3	Negativ
Nyhavna	3	05.09.21	14:00	63.44239	10.42516	10	10.7	0/3	Negativ
Ladehammerbas- senget	4	05.09.21	14:30	63.44354	10.42281	10	11.0	0/3	Negativ
Nidelven	5	05.09.21	15:00	63.44083	10.41348	10	11.0	0/3	Negativ
Nidelven	6	05.09.21	15:30	63.44064	10.41325	10	11.0	0/3	Negativ

Kontroll	7	05.09.21	16:00			1	13	0/3	Negativ
Oslo Havn	SJURSØ YA1	29.09.21	11:45	59.88772	10.74912	10	13.6	0/3	Negativ
Oslo Havn	SJURSØ YA2	29.09.21	12:05	59.88772	10.74912	10	13.6	0/3	Negativ
Oslo Havn	SØRENG A1	29.09.21	14:15	59.90129	10.74984	10	13.6	0/3	Negativ
Oslo Havn	SØRENG A2	29.09.21	14:35	59.90129	10.74984	10	13.6	0/3	Negativ
Oslo Havn	FILIPSTA DKAIA1	29.09.21	16:00	59.90558	10.71027	10	13.6	0/3	Negativ
Oslo Havn	FILIPSTA DKAIA2	29.09.21	16:20	59.90558	10.71027	10	13.6	0/3	Negativ

Norsk institutt for naturforskning, NINA, er en uavhengig stiftelse som forsker på natur og samspillet natur–samfunn.

NINA ble etablert i 1988. Hovedkontoret er i Trondheim, med avdelingskontorer i Tromsø, Lillehammer, Bergen og Oslo. I tillegg driver NINA Sæterfjellet avlsstasjon for fjellrev på Oppdal, og forskningsstasjonen for vill laksefisk på lms i Rogaland.

NINAs virksomhet omfatter både forskning og utredning, miljøovervåking, rådgivning og evaluering. NINA har stor bredde i kompetanse og erfaring med både naturvitere og samfunnsvitere i staben. Vi har kunnskap om artene, naturtypene, samfunnets bruk av naturen og sammenhenger med de store drivkreftene i naturen.

ISSN:1504-3312
ISBN: 978-82-426-5075-7

Norsk institutt for naturforskning

NINA Hovedkontor

Postadresse: Postboks 5685 Torgarden, 7485 Trondheim

Besøks-/leveringsadresse: Høgskoleringen 9, 7034 Trondheim

Telefon: 73 80 14 00, Telefaks: 73 80 14 01

E-post: firmapost@nina.no

Organisasjonsnummer 9500 37 687

<http://www.nina.no>



Samarbeid og kunnskap for framtidens miljøløsninger