

Analyser av miljø-DNA fra 1000-rivers prosjektet for påvisning av elvemusling

På oppdrag fra Miljødirektoratet

Frode Fossøy, Bjørn Mejdell Larsen, Jon H. Magerøy, Hege Brandsegg,
Rolf Sivertsgård

Trondheim 30.01.2020

UPUBLISERT

TILGJENGELIGHET
Åpen

PROSJEKTLEDER
Frode Fossøy

ANSVARLIG FORSKNINGSSJEF
Ingeborg Palm Helland

OPPDRAGSGIVER(E)/BIDRAGSYTER(E)
Miljødirektoratet

OPPDRAGSGIVERS REFERANSE

KONTAKTPERSON(ER) HOS OPPDRAGSGIVER/BIDRAGSYTER
Jarl Koksvik

Innhold

1 Innledning.....	3
1.1 Bakgrunn.....	3
1.2 Formål.....	3
2 Material og metode.....	4
2.1 Prøvetaking.....	4
2.2 Labanalyser	5
3 Resultater og diskusjon.....	6
4 Litteratur	10

1 Innledning

1.1 Bakgrunn

Analysen av miljø-DNA er en ny metode for overvåking av arter og økosystemer der innsamling av prøver ikke er avhengig av langvarig innsats eller taksonomisk ekspertise i felt (Thomsen & Willerslev 2015, Valentini et al. 2016). Denne metoden har vist seg å være svært effektiv med tanke på overvåking av truede arter samtidig som den muliggjør innsamling av prøver ved hjelp av publikum (Biggs et al. 2015, Thomsen et al. 2012). Analyser av miljø-DNA vil heller ikke være til skade for miljøet eller lokale arter.

Metoden drar nytte av at alle organismer frigir DNA til omgivelsene sine og som dermed kan samles inn ved filtrering av vannprøver. Med arts-spesifikke genetiske markører er det mulig å påvise tilstedeværelsen av en enkelt art eller hele taksonomiske grupper. Da DNA brytes ned raskt i naturen, vil en påvisning av en eller flere arter indikere en stor sannsynlighet for at denne eller disse finnes på den undersøkte lokaliteten eller har vært i området innenfor en relativ kort periode. Metoden er svært sensitiv og det trengs i prinsippet kun en enkelt DNA-kopi for arten som ønskes undersøkt, for å kunne påvise tilstedeværelsen av denne. Derfor har metoden frem til nå primært vært brukt til å finne sjeldne arter (Thomsen et al. 2012) og/eller uønskete fremmede arter (Balasingham et al. 2017). Sammenligning med konvensjonelle metoder har vist at miljø-DNA-metoden er mer sensitiv og finner flere arter (Thomsen et al. 2012).

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 et al. 2019, Fossøy et al. 2017, Fossøy et al. 2018, Magerøy et al. 2020, Taugbøl et al. 2017, Taugbøl et al. 2018, Wacker et al. 2019).

Som del av det internasjonale folkeforskningsprosjektet 1000 river (www.1000rivers.net) har det blitt samlet inn miljø-DNA prøver fra en rekke elver i Norge ved hjelp av folkeforskning (citizen science). Hovedformålet med denne innsamlingen har vært å spore spredning av pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*). Men DNA-prøvene ekstrahert fra disse miljø-prøvene kan også brukes til å påvise andre arter. NINA har i flere år jobbet med overvåking av elvemusling, både med konvensjonelle undersøkelser og med miljø-DNA (Larsen & Magerøy 2019, Magerøy et al. 2020). Ettersom elvemusling er en art som kan være vanskelig å oppdage med konvensjonelle metoder, vil en miljø-DNA undersøkelse være til stor hjelp for å undersøke mange lokaliteter på en rask og effektiv måte.

1.2 Formål

NINA har på bestilling Miljødirektoratet undersøkt tilstedeværelse av elvemusling (*Margaritifera margaritifera*) i alle elver der det har vært samlet inn miljø-DNA prøver som del av 1000 rivers prosjektet.

2 Material og metode

2.1 Prøvetaking

Miljø-DNA-prøver ble samlet inn fra totalt 47 elver ved hjelp av frivillige i august og september 2019 (**Tabell 1**). De aller fleste prøvene ble samlet inn ved å filtrere vann gjennom et NatureMetrics filter (<https://www.naturemetrics.co.uk/>) ved hjelp av en manuell sprøyte. Sterilt pakket utstyr ble levert separat for hver prøve med mål om å ta tre parallelle prøver per elv.

Tabell 1. Oversikt over prøver innsamling for påvisning av elvemusling i dette studiet. I enkelte vassdrag ble det tatt prøver fra to prøvetakingsstasjoner.

Fylke	Kommune	Elv	Breddegrad	Lengdegrad	Sampling date
Svalbard	Svalbard	Adventelva	78.2186638	15.7382887	04.09.2019
Svalbard	Svalbard	Longyearelva	78.2258946	15.6481994	05.09.2019
Troms og Finnmark	Alta	Botnelva	69.9143002	22.9995308	09.09.2019
Troms og Finnmark	Alta	Eibyelva	69.8941751	23.2433288	05.09.2019
Troms og Finnmark	Balsfjord	Nordkjoselva	69.209732	19.61306	
Troms og Finnmark	Berlevåg	Stuorrajohka	70.7877385	28.6692371	29.09.2019
Troms og Finnmark	Berlevåg	Øster-Risfjordelva	70.7264702	29.2620842	25.08.2019
Troms og Finnmark	Båtsfjord	Storelva	60.4208333	5.46333333	31.08.2019
Troms og Finnmark	Karasjok	Karasjohka	69.3978 69.4698	25.14493 25.50542	13.08.2019
Troms og Finnmark	Lebesby	Kjæselva	70.6020241	25.9792402	
Troms og Finnmark	Lebesby	Lille porsangerelva	70.63895	26.2588431	
Troms og Finnmark	Lebesby	Veidneselva	70.6557291	26.5917087	
Troms og Finnmark	Måsøy	Lillefjordelva	70.6939365	24.675904	15.09.2019
Troms og Finnmark	Storfjord	Kitdalselva	69.2643036	19.963591	16.09.2019
Troms og Finnmark	Storfjord	Signaldalselva	69.2600658 69.2214391	19.897291 19.978598	14.09.2019
Troms og Finnmark	Storfjord	Skibotnelva	69.3658222	20.2739031	14.09.2019
Troms og Finnmark	Storfjord	Sommarsetelva	69.2583578	19.8818545	
Troms og Finnmark	Sør-Varanger	Langfjordelva	69.5879493	29.9473536	
Troms og Finnmark	Sør-Varanger	Nuovusjohka	69.7297511	29.8667627	13.10.2019
Troms og Finnmark	Tana	Julelva	70.4540348	28.3300186	24.08.2019
Troms og Finnmark	Vadsø	Tomaselv	70.0825591	29.6791756	04.09.2019
Troms og Finnmark	Vardø	Komagelva	70.2420684	30.5165888	16.08.2019
Troms og Finnmark	Vardø	Vesterelva	70.4259435	30.7190924	08.09.2019
Nordland	Evenes	Tårstadvassdraget	68.469631	16.648493	08.09.2019
Nordland	Narvik	Lakselva	68.370375	17.608036	22.08.2019
Nordland	Sørfold	Bonnåelva	67.5736835	15.7338635	28.08.2019
Nordland	Sørfold	Kobbrelva	67.5927823	15.8832264	28.08.2019
Nordland	Sørfold	Lakselva	67.35591	15.57465	30.08.2019
Nordland	Sørfold	Straumsvatnvassdraget	67.34839	15.59197	30.08.2019

Nordland	Sørfold	Nordfjordelva	67.4416056	15.7393006	28.08.2019
Trøndelag	Malvik	Homla	63.4139812	10.8038099	16.09.2019
Trøndelag	Malvik	Sandvikbekken	63.4306182	10.7159584	16.09.2019
Trøndelag	Nærøy	Kvistaelva	64.8671913	11.8135129	
Møre og Romsdal	Gjemnes	Stokkelva	62.9583	7.6606833	24.08.2019
Møre og Romsdal	Hustadvika	Strandaelva	62.9109333	7.5380333	24.08.2019
Møre og Romsdal	Hustadvika	Einsetelva	62.9005333	7.4472667	24.08.2019
Vestland	Bergen	Apeltunelva	60.3105839	5.32684765	12.09.2019
Vestland	Bergen	Sjøbøelva	60.2202207	5.38882504	15.10.2019
Vestland	Bergen	Arnaelva	60.4208333	5.46333333	31.08.2019
Vestland	Førde	Anga	61.4590695	5.8829861	09.09.2019
Vestland	Luster	Jostedøla	61.4020342	7.2879959	28.08.2019
Vestland	Luster	Mørkriselvi	61.4918096	7.6001662	28.08.2019
Vestland	Osterøy	Loneelva	60.5113889	5.5194444	31.08.2019
Vestland	Sogndal	Sogndalselvi	61.2287277	7.0994967	28.08.2019
Oslo	Oslo	Hoffselva	59.9195556	10.6788333	04.09.2019
Oslo	Oslo	Lysakerelva	59.9146667	10.6365	02.09.2019
Viken	Halden	Enningdalselva	58.97034	11.48141	25.08.2019

2.2 Labanalyser

DNA ble isolert fra filterprøvene ved hjelp av en NucleoSpin Plant II (Machery-Nagel) protokoll. En arts-spesifikk markør for elvemusling (Carlsson et al. 2017) ble analysert ved bruk av qPCR. En qPCR-analyse oppformerer en liten bit av DNA bestemt av den genetiske markøren man bruker ved hjelp av et varmesensitivt enzym og en maskin som justerer temperaturen opp og ned i mange repeterte syklener. En prøve regnes som positiv dersom man ser en klar økning av DNA-konsentrasjonen målt ved hjelp av fluorescens under PCR-analysen. Alle prøver ble kjørt i triplikater, sammen med en positiv kontroll av elvemusling-DNA og negative kontrollprøver. For å kunne karakterisere en prøve som positiv i en qPCR-analyse forventer vi at minst to av tre replikater skal være positive.

3 Resultater og diskusjon

Totalt ble det påvist elvemusling i 7 av den 47 elvene, **Tabell 2** viser resultatet per elv.

Tabell 2. Resultater fra qPCR-analyser av vannprøvene. Alle prøvene ble kjørt i triplikater, og en prøve ble karakterisert som positiv når minst to av triplikatene var positive.

Fylke	Kommune	Elv	Vannvolum (L)	Antall prøver	Antall positive prøver	Antall PCR-replikater	Antall positive PCR-replikater	Resultat
Svalbard	Svalbard	Adventelva	3	3	0	9	1	Negativ
Svalbard	Svalbard	Longyearelva	3	3	0	9	0	Negativ
Troms og Finnmark	Alta	Botnelva	3	1	0	3	0	Negativ
Troms og Finnmark	Alta	Eibyelva	2.1	2	0	6	0	Negativ
Troms og Finnmark	Balsfjord	Nordkjoselva	3	3	0	9	0	Negativ
Troms og Finnmark	Berlevåg	Stuorrajohka		3	0	9	0	Negativ
Troms og Finnmark	Berlevåg	Øster-Risfjordelva	2	3	0	9	0	Negativ
Troms og Finnmark	Båtsfjord	Storelva	2	3	0	9	0	Negativ
Troms og Finnmark	Karasjok	Karasjohka	5	4	4	12	12	Positiv
Troms og Finnmark	Lebesby	Kjæselva		1	0	3	1	Negativ
Troms og Finnmark	Lebesby	Lille Porsangerelva		1	0	3	0	Negativ
Troms og Finnmark	Lebesby	Veidneselva		1	0	3	0	Negativ
Troms og Finnmark	Måsøy	Lillefjordelva		2	0	6	0	Negativ
Troms og Finnmark	Storfjord	Kitdalselva	5	2	0	6	0	Negativ
Troms og Finnmark	Storfjord	Signaldalselva	3	4	0	12	0	Negativ
Troms og Finnmark	Storfjord	Skibotnelva	3	3	0	9	0	Negativ
Troms og Finnmark	Storfjord	Sommarsetelva	3	3	0	9	0	Negativ
Troms og Finnmark	Sør-Varanger	Langfjordelva		3	0	9	0	Negativ
Troms og Finnmark	Sør-Varanger	Nuovusjohka		1	0	3	0	Negativ
Troms og Finnmark	Tana	Julelva	2	3	0	9	0	Negativ
Troms og Finnmark	Vadsø	Tomaselv	0.66	3	0	9	0	Negativ
Troms og Finnmark	Vardø	Komagelva	5	4	0	12	0	Negativ
Troms og Finnmark	Vardø	Vesterelva		3	0	9	0	Negativ
Nordland	Evenes	Tårstadvassdraget	0.25	3	2	9	6	Positiv
Nordland	Narvik	Lakselva	0.2	3	3	9	9	Positiv
Nordland	Sørfold	Bonnåelva	0.36	3	0	9	0	Negativ
Nordland	Sørfold	Kobbrelva	0.36	3	0	9	0	Negativ
Nordland	Sørfold	Lakselva	0.36	3	3	9	9	Positiv
Nordland	Sørfold	Straumsvatnvassdraget	0.42	3	0	9	0	Negativ
Nordland	Sørfold	Nordfjordelva	0.36	3	0	9	0	Negativ
Trøndelag	Malvik	Homla		3	0	9	0	Negativ
Trøndelag	Malvik	Sandvikbekken		3	0	9	0	Negativ
Trøndelag	Nærøy	Kvistaelva	0.5	1	0	3	0	Negativ
Møre og Romsdal	Gjemnes	Stokkelva	2	3	0	9	0	Negativ

Møre og Romsdal	Hustadvika	Strandaelva	2	3	1	9	5	Positiv
Møre og Romsdal	Hustadvika	Einsetelva	1	3	3	9	9	Positiv
Vestland	Bergen	Apeltunelva	1.25	3	0	9	0	Negativ
Vestland	Bergen	Sjøbøelva	1.3	3	0	9	0	Negativ
Vestland	Bergen	Arnaelva	1.2	3	0	9	0	Negativ
Vestland	Førde	Anga	2	3	0	9	0	Negativ
Vestland	Luster	Jostedøla	1.14	3	0	9	0	Negativ
Vestland	Luster	Mørkriselvi	0.94	3	0	9	0	Negativ
Vestland	Osterøy	Loneelva	1.5	3	0	9	1	Negativ
Vestland	Sogndal	Sogndalselvi	1.2	3	0	9	0	Negativ
Oslo	Oslo	Hoffselva	0.06	3	0	9	0	Negativ
Oslo	Oslo	Lysakerelva	0.06	2	0	6	0	Negativ
Viken	Halden	Enningdalselva	2.1	3	3	9	9	Positiv

Miljø-DNA-analysene i de undersøkte vassdragene førte både til positive signal i vassdrag med kjente bestander av elvemusling, positive signal i vassdrag uten kjente bestander av musling, negative signal i vassdrag med kjente bestander av musling og negative signal i vassdrag uten kjente bestander av musling. Dermed var resultatene delvis som forventet og delvis ikke som forventet, men spennende i flere tilfeller.

Blant vassdragene som ble undersøkt i 1000 Rivers prosjektet er det kjente nåværende bestander av elvemusling i sju av lokalitetene: Karasjohka i Karasjok i Troms og Finnmark, Lakselva i Sørfold i Nordland, Homla i Malvik i Trøndelag, Einsetelva i Hustadvika i Møre og Romsdal, Loneelva i Osterøy i Vestland, Lysakerelva i Oslo og Enningdalselva i Halden i Viken (Larsen & Magerøy 2019, Ski und. arb.) (H.M. Berger, TOFA, pers. med. 2019). I tillegg er Apeltunelva i Bergen i Vestland en kjent historisk lokalitet, der det har blitt satt ut kultivert juvenil musling (Larsen & Magerøy 2019).

Positive signal i vassdrag med kjente bestander av elvemusling

Det ble funnet positivt miljø-DNA-signal for elvemusling i fire av de åtte lokalitetene med kjente nåværende bestander av elvemusling, nemlig Karasjohka, Lakselva, Einsetelva, og Enningdalselva. I Karasjohka ble prøvene tatt ved to stasjoner. Den øverste av disse er flere mil nedstrøms det kjente utbredelsesområdet i elven (Svala 2012). Dermed tyder det på at det finnes elvemusling lenger nedover i vassdraget enn tidligere kjent. I Lakselva ble prøven tatt i nedre del av utbredelsesområdet som har relativt høy tetthet av musling (Jørgensen & Halvorsen 2009), i Einsetelva ble prøven tatt rett nedenfor det kjente utbredelsesområdet for muslingen og rett nedenfor en stasjon med relativt høy tetthet av musling, og i Enningdalselva ble prøven tatt innenfor det kjente utbredelsesområdet for muslingen og rett nedenfor en stasjon med høy tetthet av musling (Larsen & Karlsen 2010). Dermed er det ikke overraskende at det ble funnet positive signal for elvemusling i disse vassdragene.

Negative signal i vassdrag med kjente bestander av elvemusling

Det ble ikke funnet positive miljø-DNA-signaler i Homla, Loneelva, Lysakerelva og Apeltunelva. I Homla ble prøven tatt ca. 1,1 km nedstrøms det kjente utbredelsesområdet for elvemusling, der bare 15 individer er påvist (Ski und. arb.) (H.M. Berger, TOFA, pers. med.). Dette bidrar nok til å forklare hvorfor det ikke ble funnet miljø-DNA-signal i vassdraget. I tillegg var prøven som ble tatt i Homla full av sand og inneholdt lite vann. Det reduserer sannsynligheten for å påvise et signal.

I Loneelva ble miljø-DNA-prøven tatt ovenfor det kjente utbredelsesområdet til elvemusling i hovedelven (Kålås 2012, Kålås 2019), men nedenfor en sidebekk der det ble funnet én musling (Kålås 2012) ca. 2 km oppstrøms prøvetakingsstasjonen. I tillegg finnes det en bestand på ca. 150 musling ovenfor et vann lenger oppe i dette sidevassdraget (Kålås 2012, Kålås 2019). Det er også satt ut kultivert juvenil elvemusling ved flere stasjoner ovenfor prøvetakingsstasjonen, inkludert en stasjon rett ovenfor denne (Magerøy et al. 2019). Avstanden er nok for stor til at man skal forvente å oppdage miljø-DNA-signal fra muslingene i sidevassdraget, men det er noe overraskende at det ikke ble funnet signal fra de kultiverte muslingene. Stasjonen rett oppstrøms prøvetakingsstasjonen ligger på andre siden av elven og dermed forsvinner kanskje signalet herfra forbi prøvetakingsstasjonen. En mulig forklaring på manglende signal fra stasjonene med kultivert musling, er at disse muslingene er små og lever nedgravd i grusen. Dermed er det sannsynlig at de gir fra seg lite miljø-DNA til vannmassene. Vannvolumet prøvetatt i Loneelva var 1.5 L, så det må sies å være bra, men kun 1 av 9 PCR-replikater var positiv.

I Lysakerelva ble prøven tatt rett nedstrøms det kjente utbredelsesområdet med elvemusling. Selv om tettheten er lav på anadrom strekning i elven (Sandaas & Enerud 2013, Sandaas & Enerud 2014, Sandaas & Enerud 2016), er det dermed overraskende at det ikke ble funnet positive miljø-DNA-signal i elven. Prøvene ble tatt på et egnet tidspunkt (se Wacker et al. (2019)), så dette forklarer ikke mangelen på signal. Men prøvevolumet var svært lavt (0.06 L), og dette er nok den mest sannsynlige forklaringen på hvorfor det ikke ble påvist elvemusling i denne studien.

I Apeltunelva ble prøven tatt ca. 1 km lengre ned enn der den nederste boksen med fem kultiverte juvenile elvemusling er plassert. De andre to boksene ble satt ut ovenfor Apeltunvatnet (Ulrich Pulg, NORCE, pers. med. 2020). Siden disse muslingene er små og lever nedgravd i grusen, er det sannsynlig at de gir fra seg lite miljø-DNA til vannmassene. Dermed er det ikke overraskende at det ikke ble funnet positivt signal så langt nedenfor den nederste utsettingsstasjonen. Manglende signal tyder på at den opprinnelige bestanden av elvemusling (Kålås 2008, Kålås 2012) ikke har overlevd i nedre del av vassdraget.

Positive signal i vassdrag uten kjente bestander av elvemusling

Blant vassdragene uten nåværende kjente bestander av elvemusling, ble det funnet positive miljø-DNA-signal i tre lokaliteter; Tårstadvassdraget i Evenes i Nordland, Lakselva i Narvik i Nordland og i Strandaelva i Hustadvika i Møre og Romsdal.

I Tårstadvassdraget var elvemusling ikke kjent og vassdraget har tidligere blitt sjekket uten funn av musling (Jørgensen & Halvorsen 2009). Funnet av et positivt miljø-DNA-signal var kanskje overraskende, men viser samtidig at tilfeldige søk med vannkikkert lett kan overse tilstedeværelse av muslinger, spesielt i tynne bestander. Det har for øvrig blitt funnet musling i Laksåga (Jørgensen & Halvorsen 2009) som ikke ligger langt unna.

I Lakselva var det ikke kjent at det kunne forekomme elvemusling, men det finnes musling i et par vassdrag i nærområdet (Larsen & Magerøy 2019). Dette øker sannsynligheten for at det kunne være elvemusling også i Lakselva, og funnet av et positivt miljø-DNA-signal var derfor ikke så overraskende.

I Strandaelva var forekomsten av elvemusling kjent lokalt (B. G. Stokke, pers. med.), men vassdraget er ikke registrert i den nasjonale oversikten over muslinglokaliteter (Larsen & Magerøy 2019). At det finnes elvemusling i elven er ikke så overraskende, siden det finnes musling i flere av vassdragene i nærområdet (Thomsen et al. 2012).

Negative signal i vassdrag uten kjente bestander av elvemusling

Blant de resterende vassdragene der det ikke ble funnet positive miljø-DNA-signal, er det både vassdrag med kjente historiske bestander av elvemusling, vassdrag som har blitt undersøkt uten

at det er blitt funnet musling, vassdrag som ikke har blitt undersøkt, vassdrag i områder med kjente nåværende bestander av musling og vassdrag som ligger langt fra nærmeste muslingbestand.

I Arnaelva i Bergen i Vestland er det sikre historiske kilder på at det fantes elvemusling (Kålås 2012, Kålås 2019), i Hoffselva i Oslo er det en usikker historisk kilde på at elvemusling fantes i sidebekken Makrellbekken (Sandaas & Enerud 2014), og i Eibyelva i Alta og Komagelva i Vardø i Finnmark og Troms er det svært usikre historiske kilder på at det fantes musling tidligere (Aspholm 2013). Blant disse er Komagelva sjekket uten funn av elvemusling (elvemuslingbasen: <https://kart.gislink.no>). Storraajohka i Berlevåg, Lille Porsangerelva og Veidneselva i Lebesby, og Nuovusjohka i Sør-Varanger i Finnmark og Troms, og Kvistaelva i Nærøy i Trøndelag er også sjekket uten funn av musling (elvemuslingbasen). I tillegg er Korselva nedstrøms Juleelva i Tana i Finnmark og Troms sjekket uten funn av musling (elvemuslingbasen). De resterende vassdragene har ikke blitt sjekket for elvemusling.

Positive miljø-DNA-signal ble altså ikke påvist i flere av elvene der det finnes nåværende kjente bestander av elvemusling. At en art *ikke* blir påvist selv om den finnes i lokaliteten kan skyldes flere årsaker, som for eksempel vannkvalitet i lokaliteten, temperatur, tetthet av arten, prøvevolumet som ble innsamlet samt behandling og analysering av prøven på lab. En negativ miljø-DNA-prøve bør derfor ikke sees på som et endelig bevis for arten ikke finnes i lokaliteten. Siden vi denne gangen har brukt folkeforskning og frivillige prøvetakere, basert på enklere kit enn vi vanligvis bruker, varierer prøvevolumet svært mye. Prøvekitet fra NatureMetrics som vi stort sett har brukt i denne studien krever at man pumper vann gjennom filteret med en manuell sprøyte. En sprøyte tar ca. 50 ml og det betyr altså at man må fylle og trykke gjennom 20 slike sprøyter for å filtrere en liter vann gjennom et filter. Dersom elva inneholder mye partikler er det utfordrende å filtrere mer enn 0.5 liter vann. I tillegg ba vi om tre replikater per elv, og da må man altså gjenta denne prosedyren tre ganger. Dette førte for eksempel til at det kun ble filtrert 0.06 liter vann per filter i Lysakerelva og Hoffselva.

Falske positive resultater kan forekomme i miljø-DNA-analyser, og vi prøver å unngå disse ved å sette strenge kriterier. Vi kan likevel ikke fullstendig utelukke at noen av de positive prøvene er falske positive. Det kan derfor fortsatt være nødvendig å bekrefte enkelte av funnene ved å gjennomføre et tradisjonelt søk på lokalitetene ved vading i elveløpet og bruk av vannkikkert.

4 Litteratur

- Aspholm, P.E. 2013. Historisk informasjon om forekomster av elvemusling *Margaritifera margaritifera* i forhold til kjente nåværende bestander i Finnmark. Bioforsk Rapport 8-115/2013
- Balasingham, K.D., Walter, R.P., Mandrak, N.E. & 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, R.A., Foster, J., Wilkinson, J.W., 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.
- Carlsson, J.E.L., Egan, D., Collins, P.C., Farrell, E.D., Igoe, F. & Carlsson, J. 2017. A qPCR MGB probe based eDNA assay for European freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 27(6): 1341-1344.
- Fossøy, F., Dahle, S., Eriksen, L.B., Spets, M.H., Karlsson, S. & Hesthagen, T. 2017. Bruk av miljø-DNA for overvåking av fremmede fiskearter - utvikling av artsspesifikke markører for gjedde, mort og ørekyt. Norsk institutt for naturforskning. NINA Rapport 1299.
- Fossøy, F., Thaulow, J., Anglès d'Auriac, M., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., Mo, T.A., Sandlund, O.T. & T., H. 2018. Bruk av miljø-DNA som supplerende verktøy for overvåking og kartlegging av fremmed ferskvannsfisk. Norsk institutt for naturforskning. NINA Rapport 1586.
- Fossøy, F., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., Pettersen, O., Sandercock, B.K., Solem, Ø., Hindar, K. & Mo, T.A. 2019. Monitoring presence and abundance of two gyrodactylid ectoparasites and their salmonid hosts using environmental DNA. *Environmental DNA* in press.
- Jørgensen, L. & Halvorsen, M. 2009. Kartlegging av elvemusling (*Margaritifera margaritifera*) i Salten, Ofoten og Vesterålen. Nordnorske Ferskvannsbioleger Rapport 2009-1
- Kålås, S. 2008. Kartlegging av elvemusling (*Margaritifera margaritifera* L.) i Hordaland. Rådgivende Biologer Rapport 1053
- Kålås, S. 2012. Status for bestandar av elvemusling i Hordaland 2010. Rådgivende Biologer Rapport 1494
- Kålås, S. 2019. Undersøkingar av elvemusling i 2018 og status for arten i Hordaland. Rådgivende Biologer Rapport 2822
- Larsen, B.M. & Karlsen, L.R. 2010. Overvåking av elvemusling i Norge. Årsrapport for 2008. Enningdalselva, Østfold. NINA Rapport 566. Norsk institutt for naturforskning.
- Larsen, B.M. & Magerøy, J.H. 2019. Elvemuslinglokalteter i Norge. En beskrivelse av status som grunnlag for arbeid med kartlegging og tiltak i handlingsplanen for 2019-2028. Norsk institutt for naturforskning. NINA Rapport 1669.
- Magerøy, J., Bækkelie, K., Mo, T., Brandsegg, H., Sivertsgård, R. & Fossøy, F. 2020. Elvemusling i Aurskog-Høland og Nes kommuner. Lokalitetsfastsetting med miljø-DNA og oppfølgende vadesøk i Mangbekken, Haretonelva og Rabillfløyta. Norsk institutt for naturforskning. NINA Rapport 1707.
- Magerøy, J.H., Kålås, S., Wathne, I., Rikstad, A. & Julien, K. 2019. Del 2. Utsetting av kultivert elvemusling. 2016-2018. S. 13-111 i: Jakobsen, P. (red.). 2019. Samlerapport om kultivering og utsetting av elvemusling. 2018. Universitetet i Bergen, Institutt for biologi, Rapport til Miljødirektoratet og Fylkesmannen i Hordaland.
- Sandaas, K. & Enerud, J. 2013. Elvemusling i Lysakerelva, Oslo og Bærum kommuner, Oslo og Akershus 2013. Naturfaglige Konsulenttenester & Fisk- og Miljøundersøkelser, Rapport.
- Sandaas, K. & Enerud, J. 2014. Elvemusling i Lysakerelva, Oslo og Bærum kommuner, Oslo og Akershus 2014. Naturfaglige Konsulenttenester & Fisk- og Miljøundersøkelser, Rapport.
- Sandaas, K. & Enerud, J. 2014. Elvemusling *Margaritifera margaritifera* i Hoffselva, Oslo kommune, 2014. Naturfaglige Konsulenttenester & Fisk- og Miljøundersøkelser, Rapport.
- Sandaas, K. & Enerud, J. 2016. Elvemusling i Sandvikselva og Lysakerelva, Oslo og Bærum kommuner, Akershus 2015. Naturfaglige Konsulenttenester & Fisk- og Miljøundersøkelser, Rapport.
- Ski, S.A. und. arb. E6 Ranheim – Værnes. Overvåkingsrapport. Akvatisk økologi. Multiconsult Rapport E6RV-MUL-RPT-CA#00-0012
- Svala, S.T. 2012. En naturperle gjenfunnet. Sagat.

- Taugbøl, A., Dervo, B.K., Sivertsgård, R., Brandsegg, H. & Fossøy, F. 2018. Bruk av miljø-DNA til overvåkning av små- og storsalamander. Norsk institutt for naturforskning NINA-Rapport 1476.
- Taugbøl, A., Dervo, B.K., Bærum, K.M., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., Ytrehus, B., Miller, A. & Fossøy, F. 2017. Første påvisning av den patogene soppen *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) i Norge - Bruk av miljø-DNA for påvisning av fremmede arter. Norsk institutt for naturforskning NINA Rapport 1399: 25.
- Thomsen, P.F. & Willerslev, E. 2015. Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation* 183(0): 4-18.
- Thomsen, P.F., Kielgast, J., Iversen, L.L., Møller, P.R., Rasmussen, M. & Willerslev, E. 2012. Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples. *PLoS ONE* 7(8): e41732.
- Thomsen, P.F., Kielgast, J.O.S., Iversen, L.L., Wiuf, C., Rasmussen, M., Gilbert, M.T.P., Orlando, L. & Willerslev, E. 2012. Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Molecular Ecology* 21(11): 2565-2573.
- Valentini, A., Taberlet, P., Miaud, C., Civade, R., Herder, J., Thomsen, P.F., Bellemain, E., Besnard, A., Coissac, E., Boyer, F., Gaboriaud, C., Jean, P., Poulet, N., Roset, N., Copp, G.H., Geniez, P., Pont, D., Argillier, C., Baudoin, J.-M., Peroux, T., Crivelli, A.J., Olivier, A., Acqueberge, M., Le Brun, M., Møller, P.R., Willerslev, E. & Dejean, T. 2016. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology* 25(4): 929-942.
- Wacker, S., Fossøy, F., Larsen, B.M., 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).

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