



Edelkrepsundersøkelser i Nitelva 2020

Skrevet av Elin Kollerud og David Strand



Innhold

Innledning.....	3
Metoder.....	3
Prøvefiske.....	
Burforsøk.....	
Vannprøver.....	
Miljø-DNA.....	
Resultater.....	8
Prøvefiske.....	
Burforsøk.....	
Vannprøver.....	
Miljø-DNA.....	
Diskusjon.....	11
Oppsummering.....	13
Referanser.....	14
Vedlegg 1: Svarbrev fra Veterinærinstituttet om miljø-DNA.....	15
Vedlegg 2: Metodebeskrivelse av vannkjemisk analyse.....	18

Innledning

Utmarksforvaltningen AS har gjort undersøkelser av edelkreps (*Astacus astacus*) i Nitelva i 2020 på oppdrag fra Nittedal kommune, som er en oppfølging av tidligere undersøkelser utført i 2017-2019.

Utmarksforvaltningen takker for oppdraget og håper at resultatene fra årets edelkrepsundersøkelser vil være til hjelp i det videre arbeidet med forvaltning av krepser og tiltak for styrke krepsebestanden i Nitelva. Feltarbeidet ble utført i perioden august-september og prosjektet ble ferdigstilt i oktober. Oppdraget er utført av Elin Kollerud og Johan Bergerud. Vi har hatt stor hjelp av David Strand ved Veterinærinstituttet til prøvetaking og analyse av miljø-DNA, samt til skriftlig framstilling i denne rapporten.

Problemstillinger

Nittedal kommune har gjennomført flere kartlegginger av edelkreps i Nitelva gjennom flere år og det er funnet krepser i øvre deler av Hakadalselva og i Nitelva ned til Rulse (Åneby). Harestuvannet bidrar trolig med en jevnlig tilførsel av edelkreps nedover i Nitelva, men bestanden er blitt svekket de senere årene. Det er behov for mer kunnskap om krepsebestanden i Nitelva og årsaker til at bestanden reduseres. Økt kunnskap gir bedre grunnlag for å sette inn gode tiltak på de rette stedene.

NIVA gjennomførte to utredninger i Nitelva i 2019 (ref). Utredningene konkluderer med en anbefaling om å overvåke krepsebestanden og å undersøke tilstedeværelse av krepsepest, gjennom kombinasjon av burforsøk og bruk av miljø-DNA. Fra Sagdammen til Rulse er det funnet krepser, men det er en klar reduksjon i bestanden sammenlignet med bestanden oppstrøms Sagdammen.

På bakgrunn av dette ønsket Nittedal kommune en vurdering av bestanden på de ulike strekningene i elva og hvilke tiltak som kan gjennomføres for å forbedre tilstanden av edelkreps. I dialog med oppdragsgiver ble Sagdammen mot Hakadal ungdomsskole, og fra Tøyenfossen til vandringshinderet ved Åneby prioritert i denne omgangen. Strekningen ved Hakadal ungdomsskole anses som tilstrekkelig kartlagt i NIVAs utredning fra 2019.

Resultatene er sammenstilt i denne rapporten med fotodokumentasjon og kart over tiltaksområdet med prøvetakingsstasjoner. På bakgrunn av årets resultater foreslås videre tiltak i form av flere undersøkelser for å utelukke tilstedeværelsen av krepsepest og signalkrepser i Nitelva.

Metoder

Utmarksforvaltningen har prioritert to elvestrekninger i denne undersøkelsen, nemlig strekningen Sagdammen-Hakadal ungdomsskole og Gamle Glitre vei- Rulse bru. Metodene vi har brukt omfatter en kombinasjon av prøvemetoder med teiner, burforsøk, miljø-DNA og vannprøver.

Prøvefiske

Til prøvefiske har vi brukt teiner av spiraltypen med maskevidde 15mm. Teinene er satt i liner med 5 teiner på hver line. Teinene ble satt fra land. Utmarksforvaltningen er opptatt av å ikke bidra til smitte av krepsepest. Alt utstyr brukt i oppdraget var ikke brukt på andre lokaliteter denne sesongen og var derfor 100 % tørt. Mattilsynet anbefaler tørking i minst 2 dager for å sikre at eventuelle krepsepestsporer dør (www.mattilsynet.no). Teinene sto en teinenatt fra 10.-11. august og kyllingvinger ble brukt som åte. Strekningen nedstrøms Sagdammen-Hakadal ungdomsskole ble prioritert for teinefiske, da det er i dette området det er funnet enkelte krepser i årene 2012-2019.

Burforsøk

Vi har gjennomført to burforsøk i perioden 11. august til 16. oktober oppstrøms badeplassen ved Åneby og rett ut for Hakadal ungdomsskole. Mattilsynet og Fylkesmannen i Oslo og Viken ga tillatelse til burforsøket i vedtak datert henholdsvis 26. juli og 26. august. Krepser til forsøket ble fanget i Strykenvannet etter befaring med representant fra Løvenskiold og innløsning av krepsekort. Vi plasserte 20 krepser over minstemålet på 9,5 cm i de to burforsøkene. Formålet med burforsøket var å se om det kan være krepsepestsporer i vannet, slik at ikke edelkreps overlever her.

Vannprøver

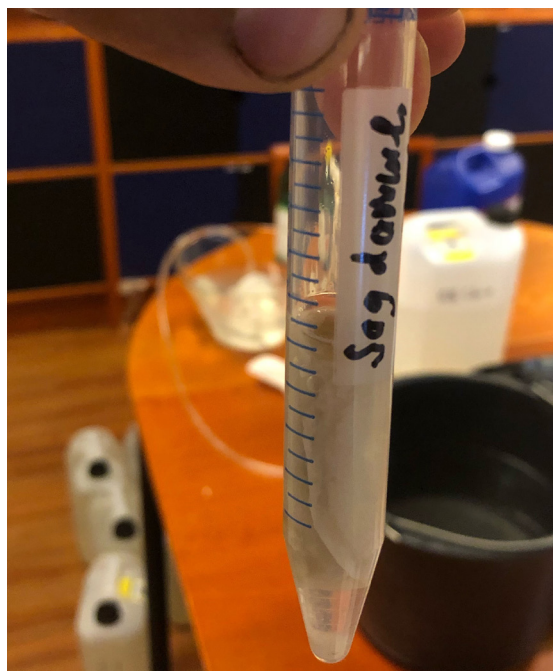
Vannprøver er tatt den 11. august på åtte prøvetakingspunkter og analysert for pH, jern, kalsium og fargetall som er parametere kreps er særlig følsom for. Analysen er levert av ALS Laboratory Group Norway AS. Detaljert metodebeskrivelse ligger vedlagt. Prøvetakingspunktene var Haug, Verkensdammen, Sagdammen, Nedstrøms Sagdammen, Åsbekken, Hakadal ungdomsskole, Tøyen, Åneby, Rotnes og Slattum. Lokalitetene fra Haug til Åneby ble valgt med tanke på å få sammenlignbare data med tidligere år. Rotnes og Slattum ble valgt fordi det også ble tatt miljø-DNA prøver, slik at vi ville få data fra flere metoder på også disse to stedene.

Miljø-DNA

Miljø-DNA overvåkning representerer en relativ ny overvåkingsmetode for å påvise mikro og makro organismer i miljøet (vann, sedimenter, jord osv.) uten å fange selve organismen, men ved å fange og påvise organismens DNA i miljøet. Ved bruk av artsspesifikke markører kan man påvise tilstedeværelse av enkeltarter og ved bruk av sekvensering kan man påvise artssamfunn. Da DNA nedbrytes relativt raskt i naturen vil vannprøver fra akvatiske system gi et øyeblikksbilde av arter som er eller har vært tilstede i prøveområdet nylig. I rennende vann kan DNA transporteres flere kilometer og kan gi en indikasjon på arter som er oppstrøms prøvepunktet. Det er utviklet artsspesifikke markører for edelkreps, signalkreps (Rusch et al. 2020) og *A. astaci* (Vrålstad et al. 2009) som forårsaker krepsepest. Disse markørene benyttes i Nasjonal overvåking av krepsepest (Strand et al. 2020) og i Nasjonal overvåking av edelkreps og spredning av signalkreps (Johnsen et al 2019).

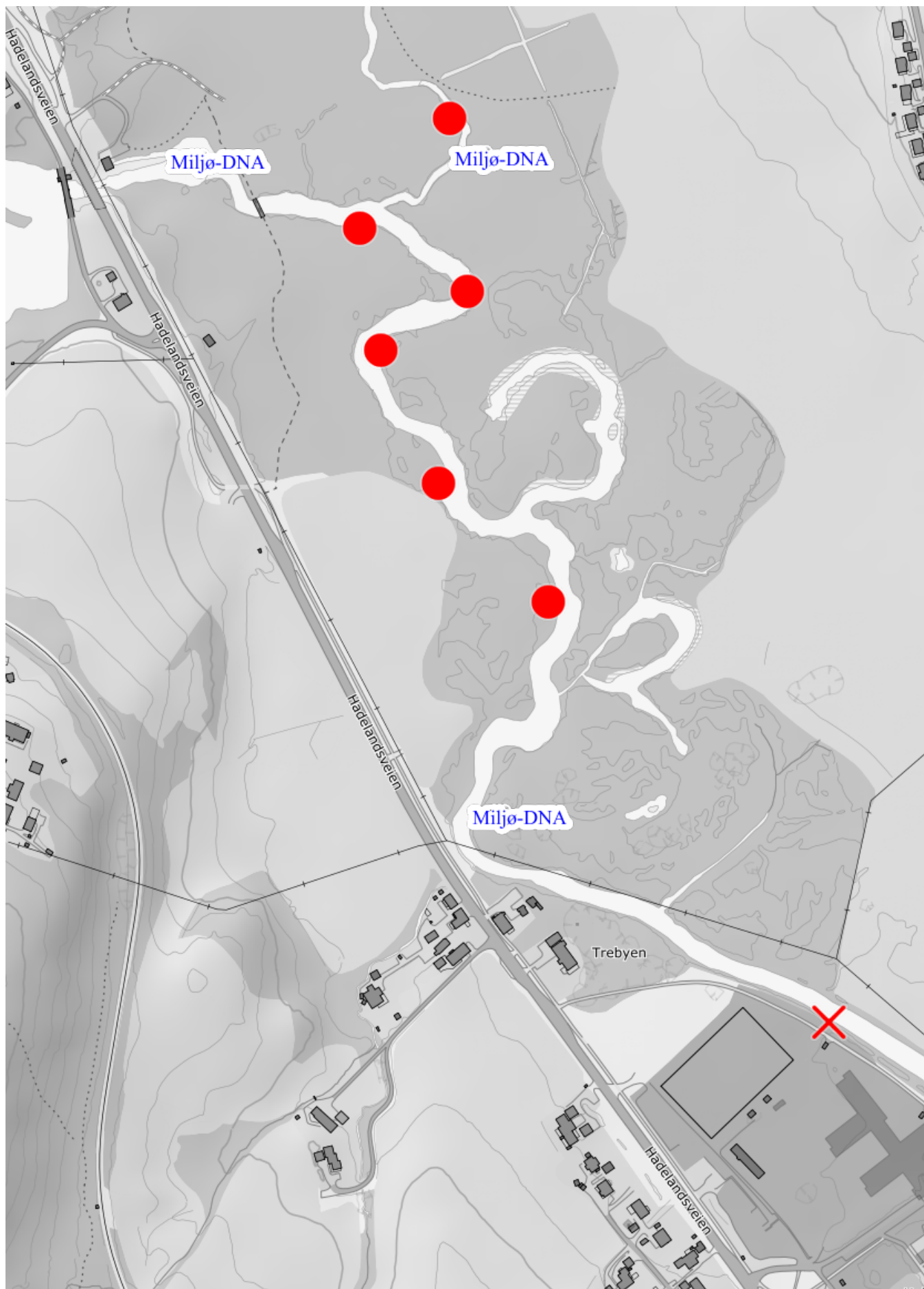
Utmarksforvaltningen tok ut vannprøve på 5L fra 6 stasjoner i Nitelva i to omganger (02.09.2020 og 30.09.2020). Prøvene ble fraktet til Ørje og filtrert på lab på glassfiber filter, filtreringsutstyret ble vasket/skylt med 10% klor og springvann mellom hver prøve. Etter filtrering ble filtrerne overført til et 15ml Falcon rør med buffer og fryst før transport til Veterinærinstituttet. På Veterinærinstituttets lab ble DNA isolert fra filtrerne og prøvene analysert med de tre artsspesifikke markørene for edelkreps, signalkreps og krepsepest.

Grunnet funn som krevde ekstra oppfølging tok Veterinærinstituttet ut ekstra prøver i felt den 19.10.2020. Det ble tatt ut nye prøver på 2x 5l fra 3 stasjoner i Nitelva, hvor prøvene ble filtrert på stedet og filter lagt på 15ml Falcon rør med buffer. Filtreringsutstyret ble vasket/skylt med 10% klor og 5% Natrium thiosulfat løsning mellom hver stasjon. Det ble også filtrert 3x 5l springvann fra Ørje som kontrollprøver. Prøvene ble deretter fraktet til Veterinærinstituttet, hvor DNA ble isolert fra filtrerne og prøvene analysert med de tre artsspesifikke markørene for edelkreps, signalkreps og krepsepest.

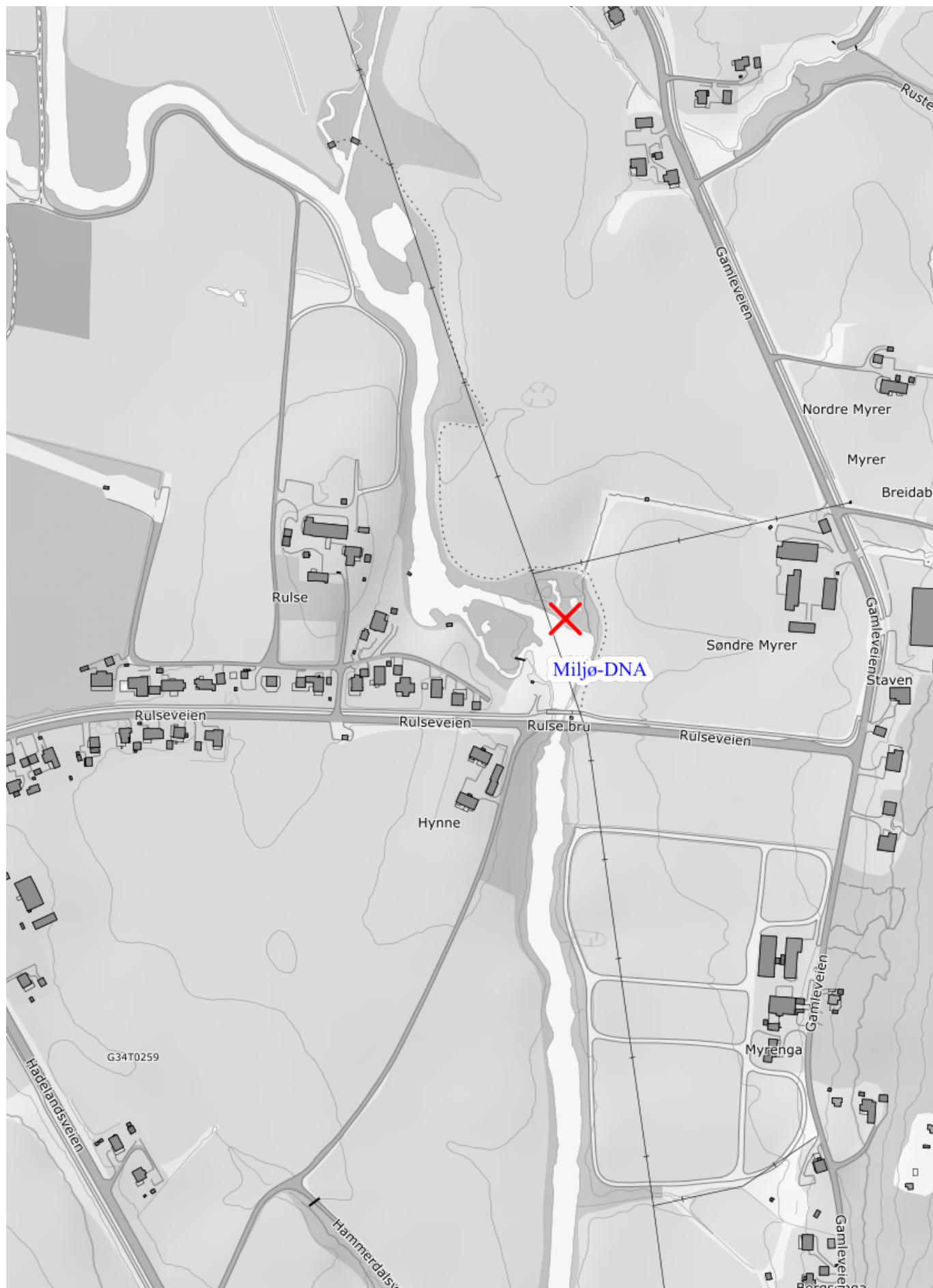


Bilde 3 og 4: Til venstre vannprøver klare til analyse (Foto: Elin Kollerud)

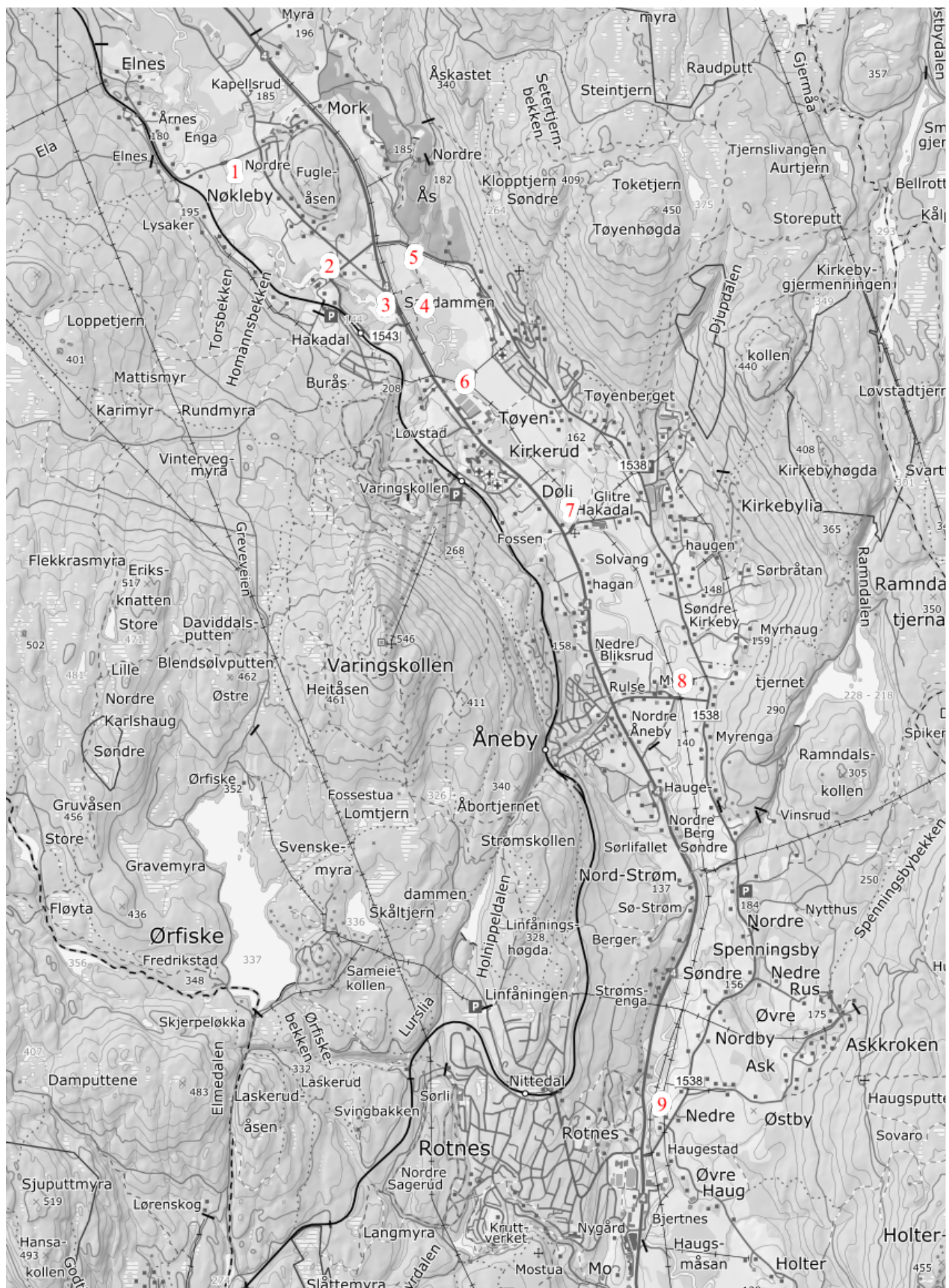
Til høyre filter med miljø-DNA fryses før innsending til Veterinærinstituttet (Foto: Johan Bergerud)



Kart 1: Rød prikk viser stasjoner for teinefiske. Rødt kryss viser plassering av burforsøk. Blå miljø-DNA viser tre av prøvetakingsstasjonene for miljø-DNA.



Kart 2: Rødt kryss viser plassering av burforsøk. Blå miljø-DNA viser prøvetakingspunkt. Det ble også tatt miljø-DNA prøver ved Rotnes og Slattum



Kart 3: Lokalteter for vannprøver. 1: Haug, 2: Verkensdammen, 3: Oppstrøms Sagdammen, 4: Nedstrøms Sagdammen, 5: Åsbekken, 6: Hakadal ungdomsskole, 7: Tøyen 8: Rulse, 9: Rotnes, 10: Slattum (ikke synlig)

Resultater

Prøvefiske

Det er fanget kreps i teiner på nedsiden av Sagdammen og oppstrøms Sagdammen. Ytterligere prøvefiske på strekningen Sagdammen-Hakadal ungdomsskole var forventet å gi svar på hvor tett bestanden nedstrøms Sagdammen er, og denne strekningen ble derfor prioritert for prøvefiske. Vi gjennomførte 30 teinedøgn her og la første lenke med fem teiner nedstrøms lokaliteten der det tidligere er funnet kreps. Siste og nederste lenke ble lagt så nær Hakadal skole som mulig. I tillegg la vi en lenke i nedre del av Åsbekken. Det ble dessverre ikke fanget kreps i noen av teinene.

Burforsøk

Burforsøket ble gjennomført i perioden 11. august til 16. oktober med 20 kreps over minstemålet på 9,5 cm fordelt på to bur. Burforsøket ble fulgt opp med tilsyn fra representanter fra Nittedal Elveforum, som byttet på å se til krepsen.



Bilde 5 og 6: Burforsøket settes ut i elva i samarbeid med Nittedal elveforum (Foto: Knut Holager)

Buret ved Åneby ble plassert oppstrøms badeplassen i god avstand til badeaktivitetene. Burvertskapet oppdaget imidlertid at buret var tømt for kreps den 12. september og at det så ut som om noen hadde bendt opp lokket. Det er ukjent om krepsen ble tatt opp av vannet eller om den ble sluppet ut i elva. Burforsøket ved Åneby ble derfor avsluttet den 12. september.

Buret ved Hakadal ungdomsskole fikk stå uforstyrret hele testperioden. Skolen er under ombygging og området var preget av anleggsvirksomhet med begrenset adkomst til elva. Buret ble plassert rett ut for skolen i forbindelse med ei sluse der vann fra skolens nye anlegg for overflatevannshåndtering kommer ut, da buret ville være nokså lett tilgjengelig for burvertene her. Med denne plasseringen testet også burforsøket ut effekten av overvannshåndteringen, samt eventuelle konsekvenser av å være i umiddelbar nærhet til et anleggsområde. Krepsen så ut til å tåle dette godt og alle krepsene var i fin form etter endt forsøk.



Bilde 7: Krepes fanget i Stryken til burforsøk (Foto: Elin Kollerud)

Vannprøver

Vannprøver ble tatt på åtte stasjoner. Prøvene ble analysert for pH, jern, kalsium og fargetall som er parametere kreps særlig følsom for og levert av ALS Laboratory Group Norway AS

	Haug	Verkensdammen	Sagdammen	Nedstrøms Sagdammen	Åsbekken	Hakadal u.skole	Tøyen	Åneby	Rotnes	Slattum
pH	7,3	7,4	7,3	7,1	7,0	7,3	7,3	7,3	7,2	7,7
Kalsium (Ca)	6,66	6,65	6,34	6,69	2,97	6,63	6,31	6,86	7,37	23,1
Fe ³⁺	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Fe ²⁺	1,08	0,12	0,23	0,14	0,28	0,20	0,07	0,21	0,22	0,23
Fe	1,08	0,12	0,23	0,14	0,28	0,20	0,07	0,21	0,22	0,23
ANC	421	426	407	434	231	430	404	458	402	1479
Fargetall	24	25	27	25	45	28	27	27	27	24

Tabell 1: Resultater fra vannkjemiske analyser

Tabell 1 viser at vannkvaliteten i all hovedsak er god med verdier som tilfredsstillende minstekravet for at kreps skal kunne leve her. pH er generelt god (>6,5) og kalsium er god (>4,0) med unntak av Åsbekken hvor det er noe lavt. Vannprøver tatt ved Haug, Verkensdammen, Sagdammen, Åsbekken, Tøyen og Åneby, tatt i slutten av september 2019, viser det samme bildet med noe lavt kalsiuminnhold ved Åsbekken (Utmarksforvaltningen, 2019).

Lav pH kan gi krepsen problemer med skallskifte fordi den da får vanskeligheter med å ta opp kalsium. Krepsen er også ekstra utsatt for surstøt dersom kalsium er lav, da det er lite buffer i vannet til å motvirke surstøtet. Også jerninnholdet er tilstrekkelig lavt, unntatt ved prøvestasjonen på Haug hvor innholdet er høyere enn hva som regnes som grenseverdien for kreps, altså <0,5 mg/l. Vannprøve tatt ved Haug i 2019, viste imidlertid ingen høye jernverdier og de litt høye verdiene i år, kan skyldes naturlig variasjon med utvasking fra berggrunnen. Høye konsentrasjon av jernioner i vannet kan gi krepsen lavere oksygenopptak og påfølgende lavere motstandskraft mot sykdommer.

ANC måler syrenøytraliseringskapasiteten og sier noe om bufferevnen til å takle surstøt. ANC <150 µl regnes som grenseverdi for kreps. Alle vannprøvene fra Nitelva ligger altså godt over grenseverdien.

Miljø-DNA

Det ble påvist miljø- DNA fra edelkreps fra stasjonen ved Sagdammen, Hakadal ungdomsskole og Rulse fra de to første uttakene. Det ble ikke påvist krepsepest i vannprøvene, men det ble påvist miljø-DNA fra signalkreps fra stasjonen ved Hakadal og Slattum ved første uttak (02.09.2020) og fra stasjonen ved Sagdammen og Åsbekken ved andre uttak (30.09.2020).

Fra det ekstra prøveuttaket 19. oktober ble det kun påvist miljø-DNA fra edelkreps ved stasjonen ved Sagdammen og Hakadal ungdomsskole. Det ble ikke påvist signalkreps på noen av de besøkte lokalitetene, og funnene fra tidligere uttak ble derfor ikke bekreftet. Det ble heller ikke påvist krepsepest på de besøkte lokalitetene i dette tredje prøveuttaket, og ingen av artene ble påvist i kontrollprøvene fra springvannet i Ørje

Da miljø- DNA transporteres nedstrøms i rennende vann, kan positive miljø-DNA prøver fra Sagdammen, Hakadal ungdomsskole og Rulse stamme fra edelkrepspopulasjoner oppstrøms Sagdammen. Disse påvisningene ble repetert ved alle tre uttak, unntatt ved Rulse, som ikke ble besøkt ved siste uttak. Miljø-DNA er en veldig sensitiv metode og rester av DNA fra annet arbeid med disse artene kan potensielt forårsake kontaminering. Positive miljø-DNA prøver for signalkreps må derfor tolkes med forsiktighet. Det er imidlertid ikke noe som tilsier at prøvene skal ha blitt kontaminert. Vi valgte likevel å gjennomføre et ekstra prøveuttak, og i dette prøveuttaket ble det ikke påvist signalkreps miljø-DNA.

Tidligere erfaringer med miljø-DNA undersøkelser tilsier at ved veldig lave tettheter av kreps så vil man få sporadisk påvisning i prøvene, noe som kan forklare variasjonen i påvisning av miljø-DNA fra signalkreps. Positiv påvisning av signalkreps i Nitelva er bekymringsverdig, og vi anbefaler at dette følges opp med flere miljø-DNA og undersøkelser og teinefangst for å verifisere funnet.

	Prøve nr 1 2/9 2020			Prøve nr 2 30/9 -2020			Prøve nr 3 19/10 2020		
Lokalitet	EK	SK	KP	EK	SK	KP	EK	SK	KP
Nedstrøms Sagdammen	+	-	-	+	+	-	+	-	--
Åsbekken	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Hakadal ungdomsskole	+	+	-	+	-	-	+	-	-
Rulse	+	-	-	+	-	-	n/a	n/a	n/a
Rotnes	-	-	-	-	-	-	n/a	n/a	n/a
Slattum	-	+	-	-	-	-	n/a	n/a	n/a
Springvann/kontroll	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	-	-	-

Tabell 2: Resultater fra miljø-DNA analyse. EK= Edelkreps, SK=Signalkreps, KP=Krepsepest
n/a = ikke undersøkt

Diskusjon

Påvisning av signalkreps i miljø-DNA analysene er naturligvis det mest oppsiktsvekkende ved årets undersøkelser. Funnet av miljø-DNA fra signalkreps i Nitelva er bekymringsverdig og dette bør følges opp med ekstra miljø-DNA undersøkelser og prøvefiske med teiner for å verifisere funnet.

De siste årenes kartlegging av krepsebestanden, Nitelva, viser at Sagdammen er et klart skille for hvor det er krepse. Mens bestanden oppstrøms dammen er middels/god, er den svært tynn nedstrøms dammen og det antas at krepse her har vært utsatt for en lokal påvirkning, som for eksempel krepsepest. Krepsepest har imidlertid aldri blitt påvist og årets miljø-DNA analyse tyder heller ikke på at det er pest i elva. Funnet av signalkreps i noen av miljø-DNA analysene er det derfor viktig å følge opp, for å se om det er signalkreps som har forårsaket at edelkrepsen så og si er borte nedstrøms Sagdammen.

Det er blitt prøvefisket med teiner i Nitelva gjennom flere år, også på strekningen Sagdammen-Åneby uten at det er fanget signalkreps. Så vidt vi kjenner til, er det prøvefisket med over 500 teinedøgn i årene 2012-2020 i hele Nitelva. Det er fanget enkelte edelkreps, men stort sett har teinene vært tomme. I 2019 ble det fanget fire edelkreps rett på nedsiden av dammen i 2019, men disse kan ha vandret ned igjennom dammen. Også i 2017 og 2012 ble det fanget et fåtall kreps rett nedstrøms dammen. I 2016 ble det fanget kreps så langt ned som Rulse (Svae, 2017).

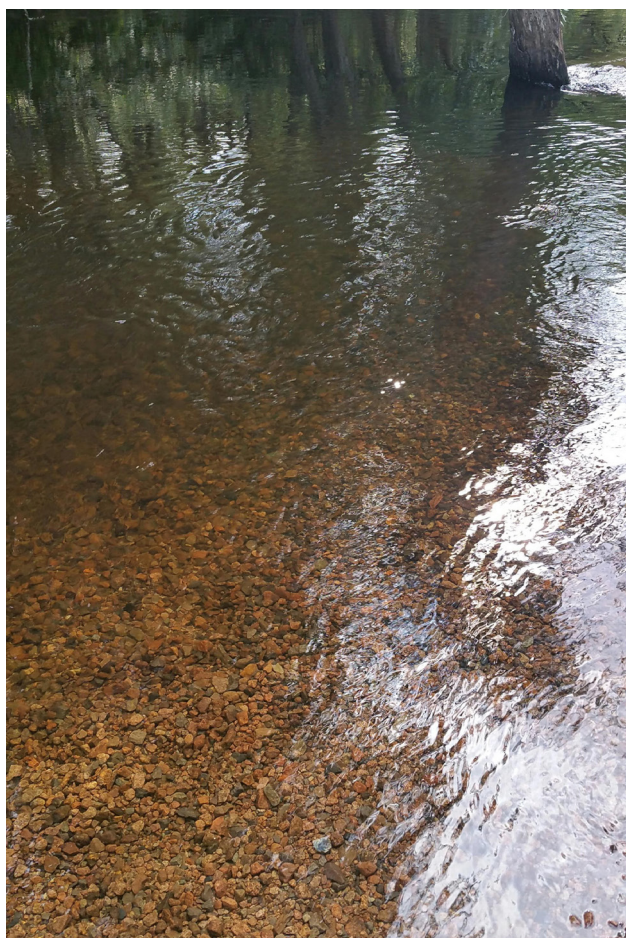
En teori allerede fra 2012 har vært at det kan ha oppstått et krepsepestutbrudd med kilde i Åsbekken, som så har slått ut krepsebestanden nedover Nitelva. Bestanden har deretter ikke klart å ta seg opp igjen. Reguleringen av Nitelva reduserer mulighet for nedvandring og rekolonisering nedover elva på grunn av tidvis liten vannføring mellom Verkensdammen og Sagdammen. Åsbekken har blitt kartlagt i innløpsområdet til Nitelva igjennom teinefiske og vannprøver over flere år, og i 2020 også med miljø-DNA. Åsbekken oppstrøms FV 1538 er imidlertid aldri blitt kartlagt og det bør undersøkes om bekken kan inneholde en mulig kilde til signalkreps og krepsepest.

Årets burforsøk ved Hakadal ungdomsskole og Rulse, samt ett burforsøk i 2019 ved Åneby og to burforsøk i 2018 nedstrøms Sagdammen, har vist at edelkrepsen klarer seg fint i Nitelva, så lenge forsøket har pågått. Resultatene fra burforsøkene tilsier i alle fall at det er ingen ting som tyder på at det er krepsepest i elva. Også vannkjemien i Nitelva må karakteriseres som godt tilpasset til kreps.

Strekningen Sagdammen-Åneby skal i prinsippet ha potensial for reetablering av edelkreps, så lenge det ikke finnes krepsepest og signalkreps i elva. Nitelva går her i et naturlig elveløp mellom Sagdammen og Hakadal ungdomsskole og mellom Tøyen og Åneby. Ved Hakadal ungdomsskole er elvestrekningen rettet ut og NIVA utredet i 2019 hvordan denne delen av elveløpet kunne tilpasses kreps.

Nitelva mellom Sagdammen og Åneby har godt med vegetasjon på begge kanter og biotopkvaliteten vurderes til å være god. Substratet er grovt mellom Sagdammen og Hakadal ungdomsskole, men det er ikke større steiner eller vegetasjon som gir svært gode skjulmuligheter. Det kan være aktuelt å forbedre akkurat dette på strekningen Sagdammen-Hakadal ungdomsskole, dersom man kommer til en reetablering av kreps på denne strekningen. Nedstrøms Tøyen går elva dypere og det er flere svaberg og steiner som gir godt med skjulmuligheter.

Det er imidlertid helt avgjørende å avdekke om det kan finnes signalkreps nedstrøms Sagdammen og i Åsbekken, for å sette iverk tiltak og reetablering av edelkreps. Dersom det skulle vise seg å være signalkreps her, vil det være aller viktigst å se på Sagdammen som et vandringshinder og rette innsatsen mot å styrke edelkrepsbestanden oppstrøms dammen.



Bilde 5 og 6: Grovt substrat, men få ideelle skjulmuligheter i deler av elva. Tydelige spor av mink ved elvebredden (Foto: Johan Bergerud)

Tidligere kartlegginger har også pekt på predasjonstrusselen langs Nitelva og den er fortsatt aktuell. Tydelige spor etter mink vitner om predasjonsfare, som kan reduseres gjennom minkfangst. Det vil være et godt tiltak med tanke på krepsebestanden også oppstrøms Sagdammen.

Engasjementet for Nitelva er stort blant Nittedals befolkning. Vi har tidligere pekt på at informasjons- og kommunikasjonsiltak kan øke bevisstheten og kunnskapen om edelkrepsen lokalt og hos besøkende langs Nitelva. Tiltak kan omfatte skilting langs elva, innlegg på nettsider og sosiale medier, jevnlig møteplasser med relevante aktører, kursvirksomhet (for eksempel i minkfangst), opplegg for skole og barnehage med mer.

Målrettede informasjons- og kommunikasjonsiltak er også sentralt når det gjelder krepsepest og signalkreps. Det er svært viktig at signalkreps ikke spres. Med signalkreps utryddes i praksis edelkrepsen fra lokaliteten. Funn av signalkreps i Glomma aktualiserer behovet for å øke den generelle bevisstheten om dette og om våre forpliktelser til å bevare biologisk mangfold og edelkrepsen som en sterk truet art.

Innføring av signalkreps er alltid en overhengende fare når denne finnes i vassdrag som ikke befinner seg altfor langt unna. Nitelva renner i et trafikkert område hvor det er lett å komme til i elva og dermed også lett å spre infisert vann, utstyr, fisk og i verste fall signalkreps. Gode informasjonstiltak kan virke forebyggende.

Oppsummering

Funnet av miljø-DNA av signalkreps bør altså følges opp med nye undersøkelser i form av flere miljø-DNA analyser og teinefiske i Nitelva og Åsbekken før arbeid med biotopforbedrende tiltak og reetablering av edelkreps nedstrøms Sagdammen settes igang.

Målrettede informasjons- og kommunikasjonsiltak kan imidlertid vurderes både når det gjelder edelkreps og signalkreps for å øke den generelle bevisstheten om å bevare biologisk mangfold og for å bevare edelkrepsen som en sterk truet art.

Oppsummering av forslag til tiltak:

Tiltak	Lokalitet
Miljø-DNA analyser	Nedstrøms Sagdammen og Åsbekken
Teinefiske	Nedstrøms Sagdammen og Åsbekken
Predasjon, minkfangst	Hele elva, særlig oppstrøms Sagdammen
Informasjonstiltak	Langs turløyper
Kommunikasjonstiltak	Rettet mot konkrete målgrupper

Referanser

- Mattilsynet (2020) Tiltak for å hindre spredning av krepsepest [URL: 06.11.20]
- Johnsen, S.I., Strand, D.A., Rusch, J. & Vrålstad, T. 2019. Nasjonal overvåking av edelkreps og spredning av signalkreps- presentasjon av overvåkingsdata og bestandsstatus – oppdatert 2019 – NINA Rapport 1761. 106 s. + vedlegg.
- Rusch, J.C., Mojzisova, M., Strand, D.A., Svobodova, J., Vralstad, T., and Petrusek, A. 2020. Simultaneous detection of native and invasive crayfish and *Aphanomyces astaci* from environmental DNA samples in a wide range of habitats in Central Europe. *Neobiota* (58), 1-32.
- trand, D., Rusch, J., Johnsen, S.I., Tarpai, A. & Vrålstad, T. 2020. The surveillance programme for *Aphanomyces astaci* in Norway 2019. Veterinærinstituttet 2020, 13 s
- Svae, Pål Sindre (2017) Kartlegging av edelkrepsi Nitelva. Utmarksavdelingen for Akershus og Østfold.
- Vrålstad, T., Knutsen, A.K., Tengs, T., Holst-Jensen, A. 2009. A quantitative TaqMan® MGB real-time polymerase chain reaction based assay for detection of the causative agent of crayfish plague *Aphanomyces astaci*. *Veterinary Microbiology* 137: 146-155.

Vedlegg 1: Svarbrev fra Veterinærinstituttet om miljø-DNA undersøkelse



Veterinærinstituttet
Norwegian Veterinary Institute

Oslo

Elin Kollerud
Utmarksforvaltningen AS

Ullevålsveien 68
Postboks 750 Sentrum · 0106 Oslo
Tlf.: 23 21 60 00
Epost: postmottak@vetinst.no

Deres ref.: Miljø-DNA Nitelva

Vår ref. PJS 2020-23-227/257/324

Dato: 05.11.2020

Miljø-DNA undersøkelse i Nitelva

Bakgrunn

Miljø-DNA overvåkning representerer en relativ ny overvåkingsmetode for å påvise mikro og makro organismer i miljøet (vann, sedimenter, jord osv.) uten å fange selve organismen, men ved å fange og påvise organismens DNA i miljøet. Ved bruk av artsspesifikke markører kan man påvise tilstedeværelse av enkeltarter og ved bruk av sekvensering kan man påvise artssamfunn. Da DNA nedbrytes relativt raskt i naturen vil vannprøver fra akvatiske system gi et øyeblikksbilde av arter som er eller har vært tilstede i prøveområdet nylig. I rennende vann kan DNA transporteres flere kilometer og kan gi en indikasjon på arter som er oppstrøms prøvepunktet. Det er utviklet artsspesifikke markører for edelkreps, signalkreps (Rusch et al. 2020) og *A. astaci* (Vrålstad et al. 2009) som forårsaker krepsepest. Disse markørene benyttes i Nasjonal overvåking av krepsepest (Strand et al. 2020) og i Nasjonal overvåking av edelkreps og spredning av signalkreps (Johnsen et al 2019).

Prøvetaking og miljø-DNA undersøkelse

Utmarksforvaltningen tok ut vannprøve på 5L fra 6 stasjoner i Nitelva i to omganger (02.09.2020 og 30.09.2020). Prøvene ble fraktet til Ørje og filtrert på lab på glassfiber filter, filtreringsutstyret ble vasket/skylt med 10% klor og springvann mellom hver prøve. Etter filtrering ble filtrene overført til et 15ml Falcon rør med buffer og fryst før transport til Veterinærinstituttet. På Veterinærinstituttets lab ble DNA isolert fra filtrene og prøvene analysert med de tre artsspesifikke markørene for edelkreps, signalkreps og krepsepest.

Grunnet funn som krevde ekstra oppfølging tok Veterinærinstituttet ut ekstra prøver i felt den 19.10.2020. Det ble tatt ut nye prøver på 2x 5l fra 3 stasjoner i Nitelva, hvor prøvene ble filtrert på stedet og filter lagt på 15ml Falcon rør med buffer. Filtreringsutstyret ble vasket/skylt med 10% klor og 5% Natrium thiosulfat løsning mellom hver stasjon. Det ble også filtrert 3x 5l springvann fra Ørje som kontrollprøver. Prøvene ble deretter fraktet til Veterinærinstituttet, hvor DNA ble isolert fra filtrene og prøvene analysert med de tre artsspesifikke markørene for edelkreps, signalkreps og krepsepest.

Resultater

Det ble påvist miljø- DNA fra edelkreps fra stasjonen ved Sagdammen, Hakadal og Rulse fra de to første uttakene. Det ble ikke påvist krepsepest i vannprøvene, men det ble påvist miljø-DNA fra signalkreps fra stasjonen ved Hakadal og Slattum ved første uttak (02.09.2020) og fra stasjonen ved Sagdammen og Åsbekken ved andre uttak (30.09.2020). Fra det ekstra prøveuttaket 19. oktober ble det kun påvist miljø-DNA fra edelkreps ved stasjonen ved Sagdammen og Hakadal. Det ble ikke påvist signalkreps på noen av de besøkte lokalitetene, og funnene fra tidligere uttak ble derfor ikke bekreftet. Det ble heller ikke påvist krepsepest på de besøkte lokalitetene i dette 3. prøveuttaket, og ingen av artene ble påvist i kontrollprøvene fra springvannet i Ørje.

Tabell 1. Oversikt over lokaliteter, dato for prøveuttak og miljø-DNA resultater.

Saksnummer	Prøvenr	Lokasjon	Prøvedato	Edelkreps	Signalkreps	Krepsepest
2020-23-227-1	1	Sagdammen	02.09.2020	+	-	-
2020-23-227-2	2	Åsbekken	02.09.2020	-	-	-
2020-23-227-3	3	Hakadal	02.09.2020	+	+	-
2020-23-227-4	4	Rulse	02.09.2020	+	-	-
2020-23-227-5	5	Rotnes	02.09.2020	-	-	-
2020-23-227-6	6	Slattum	02.09.2020	-	+	-
2020-23-257-1	2.1	Sagdammen	30.09.2020	+	+	-
2020-23-257-2	2.2	Åsbekken	30.09.2020	-	+	-
2020-23-257-3	2.3	Hakadal Skole	30.09.2020	+	-	-
2020-23-257-4	2.4	Rulse	30.09.2020	+	-	-
2020-23-257-5	2.5	Rotnes	30.09.2020	-	-	-
2020-23-257-6	2.6	Slattum	30.09.2020	-	-	-
2020-23-324-1	3.1A	Sagdammen	19.10.2020	+	-	-
2020-23-324-1	3.1B	Sagdammen	19.10.2020	+	-	-
2020-23-324-2	3.2A	Åsbekken	19.10.2020	-	-	-
2020-23-324-2	3.2B	Åsbekken	19.10.2020	-	-	-
2020-23-324-3	3.3A	Hakadal	19.10.2020	+	-	-
2020-23-324-3	3.3B	Hakadal	19.10.2020	+	-	-
2020-23-324-4	3.4A	Springvann/Kontroll	19.10.2020	-	-	-
2020-23-324-4	3.4B	Springvann/Kontroll	19.10.2020	-	-	-
2020-23-324-4	3.4C	Springvann/Kontroll	19.10.2020	-	-	-

Kommentarer til undersøkelsene

Da miljø-DNA kan transporteres nedstrøms i rennende vann kan positive miljø-DNA prøver fra Sagdammen, Hakadal og Rulse stamme fra edelkrepspopulasjonen oppstrøms Sagdammen. Disse påvisningene ble repetert ved alle tre uttak med unntak av Rulse, som ikke ble besøkt ved siste uttak. Miljø-DNA er en veldig sensitiv metode, og rester av DNA fra annet arbeid med disse artene kan potensielt forårsake kontaminering. Positive miljø-DNA prøver for signalkreps må derfor tolkes med forsiktighet. Det er imidlertid ikke noe som tilsier at prøvene skal ha blitt kontaminert. Vi valgte å likevel å gjennomføre et ekstra prøveuttak, og i dette uttaket ble det ikke påvist signalkreps miljø-DNA.

Tidligere erfaring med miljø-DNA undersøkelser tilsier at ved veldig lave tettheter av kreps så vil man få sporadisk påvisning i prøvene, noe som kan forklare variasjonen i påvisning av miljø-DNA fra signalkreps. Positiv påvisning av miljø-DNA fra signalkreps i Niteelva er bekymringsverdig, og vi anbefaler at dette følges opp med ekstra miljø-DNA undersøkelser og teinefangst for å verifisere funnet.

Referanser

- Johnsen, S.I., Strand, D.A., Rusch, J. & Vrålstad, T. 2019. Nasjonal overvåking av edelkreps og spredning av signalkreps - presentasjon av overvåkingsdata og bestandsstatus – oppdatert 2019 – NINA Rapport 1761. 106 s. + vedlegg.
- Rusch, J.C., Mojzisova, M., Strand, D.A., Svobodova, J., Vrålstad, T., and Petrusek, A. 2020. Simultaneous detection of native and invasive crayfish and *Aphanomyces astaci* from environmental DNA samples in a wide range of habitats in Central Europe. *Neobiota* (58), 1-32.
- Strand, D., Rusch, J., Johnsen, S.I., Tarpai, A. & Vrålstad, T. 2020. The surveillance programme for *Aphanomyces astaci* in Norway 2019. Veterinærinstituttet 2020, 13 s
- Vrålstad, T., Knutsen, A.K., Tengs, T., Holst-Jensen, A. 2009. A quantitative TaqMan® MGB real-time polymerase chain reaction based assay for detection of the causative agent of crayfish plague *Aphanomyces astaci*. *Veterinary Microbiology* 137: 146-155.

Med hilsen



David Strand
Veterinærinstituttet
Postboks 750 Sentrum
0160 Oslo
| www.vetinst.no

Vedlegg 2: Metodebeskrivelse av vannkjemisk analyse

Rapport

Side 6 (7)



S2001626

2PD38WNICQB



"a" etter parameternavn indikerer at analysen er utført akkreditert ved ALS Laboratory Group Norway AS.

"a ulev" etter parameternavn indikerer at analysen er utført akkreditert av underleverandør.

"*" etter parameternavn indikerer uakkreditert analyse.

Utførende laboratorium er oppgitt i tabell kalt Utf.

n.d. betyr ikke påvist.

n/a betyr ikke analyserbart.

< betyr mindre enn.

> betyr større enn.

Metodespesifikasjon	
1	Fe(III), treverdig jern i vann Metode: Total Fe: EPA 200.7, ISO 11885, EN 12506 (ICP-AES) Fe(II): ISO 6332 (spektrofotometrisk metode) Fe(III): Kalulasjon Måleprinsipp: Treverdig jern beregnes fra jern total og toverdig jern. Analyse av totalt innhold av jern med ICP-AES. Analyse av toverdig jern med spektrofotometrisk metode. Rapporteringsgrenser: LOQ 0,01mg/l Andre opplysninger: Analysen krever 2 prøvebeholdere. En ukonservert og en konservert med HCl (Fe(II)).
2	Bestemmelse av Syrenøytraliseringskapasitet (ANC) Metode: Beregnet verdi etter følgende formel: $ANC = Ca + Mg + Na + K - SO_4 - NO_3 - Cl$ Annet: Hvis noen av parameterne har en verdi under rapporteringsgrense vil tallet 0 bli brukt i beregningen.
3	«V-2» Bestemmelse av metaller i rent vann Metode: ISO 11885, EPA 200.7, EN 16192, EPA 6010 Måleprinsipp: ICP-AES Rapporteringsgrenser: Ca: 0,0050 mg/l Fe: 0,0020 mg/l Mg: 0,0030 mg/l Mn: 0,00050 mg/l Al: 0,010 mg/l Cr: 0,001 mg/l 0,001 mg/l As: 0,005 mg/l Cu:
4	Fargetall i vann Metode: NS-ISO 7887 (2011) (metode C) Måleprinsipp: Spektrofotometrisk Rapporteringsgrenser (LOQ): 2 mg Pt/l Måleusikkerhet: 2-10 mg Pt/l: $\pm 25\%$ 10-250 mg Pt/l: $\pm 15\%$
5	Bestemmelse av pH i vann Metode: NS-EN ISO 10523 (2012) (Rentvann, bassengvann og avløpsvann) (Sjøvann: Intern metode basert på NS-EN ISO 10523 (2012))

ALS Laboratory Group Norway AS
PB 643 Skøyen, N-0214 Oslo

ALS Sarpsborg
Yvenveien 17, N-1715 Yven

E-post: info.on@alsglobal.com

Tel: + 47 22 13 18 00

Web: www.alsglobal.no

Dokumentet er godkjent
og digitalt undertegnet
av Rapportør

Sabra Hashimi

Client Service

Sabra.Hashimi@alsglobal.com

2020.08.31 16:39:23

Metodespesifikasjon	
Måleprinsipp:	Elektrokjemisk
Måleområde:	pH 4-10
Måleusikkerhet:	±0,2 pH-enheter
Tidssensitiv parameter: Det gjøres oppmerksom på at resultatet kan påvirkes av tiden mellom prøvetakning og analyse. Prøven bør derfor ha ankommet lab snarest mulig etter prøvetakning. Dersom ikke annet er angitt er analysen startet innen gjeldene tidsfrist i henhold til analysemetoden.	
6	Filtrering Filter med porestørrelse 0,45µm.

	Godkjenner
ANME	Anne Melson
SUHA	Suleman Hajizada

	Utf ¹
1	Ansvarlig laboratorium: ALS Laboratory Group, ALS Czech Republic s.r.o, Na Harfě 9/336, Praha, Tsjekkia Lokalisering av andre ALS laboratorier: Ceska Lipa Bendlova 1687/7, 470 03 Ceska Lipa Pardubice V Raji 906, 530 02 Pardubice Kontakt ALS Laboratory Group Norge, for ytterligere informasjon
2	Ansvarlig laboratorium: ALS Laboratory Group Norway AS avd. Sarpsborg, Yvenveien 17, 1715 Yven

Måleusikkerheten angis som en utvidet måleusikkerhet (etter definisjon i "Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement", JCGM 100:2008 Corrected version 2010) beregnet med en dekningsfaktor på 2 noe som gir et konfidensintervall på om lag 95%.

Måleusikkerhet fra underleverandører angis ofte som en utvidet usikkerhet beregnet med dekningsfaktor 2. For ytterligere informasjon, kontakt laboratoriet.

Måleusikkerhet skal være tilgjengelig for akkrediterte metoder. For visse analyser der dette ikke oppgis i rapporten, vil dette oppgis ved henvendelse til laboratoriet.

Denne rapporten får kun gjengis i sin helhet, om ikke utførende laboratorium på forhånd har skriftlig godkjent annet. Resultatene gjelder bare de analyserte prøvene.

Angående laboratoriets ansvar i forbindelse med oppdrag, se aktuell produktkatalog eller vår webside www.alsglobal.no

Kopi sendt til:

Elin Kollerud, Utmarksforvaltningen AS, 1870 Øjre, Norway.

Den digitalt signert PDF-fil representerer den opprinnelige rapporten. Eventuelle utskrifter er å anse som kopier.

¹ Utførende teknisk enhet (innen ALS Laboratory Group) eller eksternt laboratorium (underleverandør).