

# Fisken i Haldenvassdraget undersøkt med bruk av miljøDNA

Av Leif Asbjørn Vøllestad, Tyra Lynch, Frode Fossøy, Håkon Ørjasæter, Ingvar Spikkeland og Lars Kristian Selbekk

Leif Asbjørn Vøllestad er Dr. philos i biologi og professor ved Institutt for biovitenskap, Universitetet i Oslo.

Tyra Lynch er Master i biovitenskap fra Universitetet i Oslo.

Frode Fossøy er Dr. scient. i biologi og seniorforsker ved Norsk institutt for naturforskning (NINA), Senter for biodiversitetsgenetikk (NINAGEN) i Trondheim.

Håkon Ørjasæter er Cand. scient. i biologi, pensjonert lektor og faglig rådgiver i Aurskog-Høland Fiskeadministrasjon.

Ingvar Spikkeland er Cand. real. i biologi. Har jobbet i videregående skole, høyskole og Østfoldmuseene, er nå pensjonist.

Lars Kristian Selbekk er utdannet lektor med master i biologi og jobber som Vannområdeleder for Haldenvassdraget vannområde.

## Summary

*Investigation of the freshwater fish diversity in a Norwegian watercourse using eDNA.* The Norwegian freshwater fish fauna is depauperate, containing 32 naturally occurring species. Knowledge about the distribution of some of these species is still limited. We used eDNA for mapping the local distribution of freshwater fish in rivers and streams in the Haldenvassdraget watercourse. A total of 45 locations were sampled during June 2021. We tested for presence of various fish species using metabarcoding, and specifically for presence of lamprey species using qPCR with species-specific primers. A total of 16 species were detected (average 5.5 species per location). European perch and roach were most abundant (found at 37 and 34 locations, respectively). Northern pike and brown trout were also common (both found at 25 locations). Lamprey (brook- and river lamprey cannot be discriminated against) was registered

at 21 locations. The two methods (metabarcoding, qPCR) yielded almost similar results, supporting the use of metabarcoding in this kind of study. Typically, lake-living species were rarely detected. We end by discussing the usefulness of these methods for documenting fish species inventories in water courses.

## Sammendrag

Norske ferskvannsforekomster er artsfattige, også på fisk. Kun 32 arter forekommer naturlig. Kunnskapen om utbredelsen er fortsatt mangelfull spesielt om endel småvokste og lite utnyttede arter. Vi har brukt miljøDNA for å vurdere utbredelsen til ferskvannsfisk i bekker og elver i Haldenvassdraget. Vi tok prøver fra 45 lokaliteter i juni 2021 og testet for forekomst av ulike ferskvannsfisk med metastrekkoding. I tillegg brukte vi artsspesifikke markører og qPCR for å teste forekomst av niøye spesifikt. Vi registrerte

16 arter (gjennomsnitt 5,5 arter pr lokalitet), endel færre enn rapportert tidligere i samme vassdrag. Abbor og mort forekom oftest (37 og 34 lokaliteter), mens gjedde og ørret også var svært vanlige (begge funnet i 25 lokaliteter). Niøye (bekk- og elveniøye kan ikke skilles med denne metoden) ble registrert på 21 lokaliteter. De to ulike metodene ga ganske like resultater; dette betyr at vi kan anbefale bruk av metastrek-koding i studier som dette. Arter som er typiske innsjølevende, ble sjelden registrert. Til slutt diskuterer vi bruk av miljøDNA som metode for kartlegging av fiskeartsinventar i vassdrag.

## Introduksjon

Norske ferskvannsfremkomster er generelt artsfattige. Etter siste istid lå landet tomt og øde (Ramberg et al. 2006) og ventet på at de ulike artene skulle vandre inn fra ulike refugier i øst og sør. Dyr som kunne spre seg via land eller luft hadde et fortrinn, mens fiskene var avhengig av

å aktivt vandre inn i et vassdragslandskap som stadig endret seg. De fleste artene av ferskvannsfisk er heller ikke i stand til å leve i saltvann slik at de kunne spre seg via saltvann. Totalt sett er derfor Norge fattig på ferskvannsfisk (Huitfeldt-Kaas 1918, Eggan and Johnsen 1983). I Norge regner vi med at totalt 44 arter er registrert, hvorav kun 32 arter har vandret inn naturlig (Vøllestad 2023). De resterende artene er kommet til Norge med ulike typer hjelp fra mennesker.

Størst artsrikdom er det i sør-øst, noe som skyldes at de fleste ferskvannsfisk har vandret inn via de store svenske vassdragene som ligger mellom Østersjøen og norske-grensen (Huitfeldt-Kaas 1918, Vøllestad 2023). Innvandringen av fisk fra øst og sør har skjedd over lang tid, og er kanskje ikke avsluttet enda. Mer varmekjære arter som ikke finnes i Norge, kan tenkes å kunne komme til Norge som følge av klimaendringer og ulike menneskelig inngrep i vassdragene som endrer vandringsveiene til fisken.



Figur 1. Oversikt over lokalitetene i Haldenvassdraget som det ble tatt prøver for miljøDNA. Bildet øverst til venstre viser oppsettet for hvordan vann ved hjelp av en peristaltisk pumpe presses gjennom et filter. Bildet nede til venstre viser lokalitet 1 (utløp Floen/Ulviksjøen) der prøvene ble tatt nedstrøms stryket, noe som skulle sikre at vannet var godt blandet.

Dersom det kommer nye arter ferskvannsfisk til landet gjennom naturlig innvandring vil trolig Haldenvassdraget være stedet de kommer til tidlig. Dette vassdraget er allerede nå et av de mest artsrike vassdragene i Norge (Spikkeland 2014).

Haldenvassdraget (**Figur 1**) er et lavlands-vassdrag som strekker seg langs svenskegrensen fra Halden i sør til forbi Bjørkelangen i nord. Vassdraget er langt og smalt, og består av en rekke større innsjøer som ligger som perler på ei snor, med relativt korte elvestubber mellom. Fra sidene kommer en rekke sidevassdrag med svært ulik vannkvalitet. Vassdraget er sterk påvirket av marine leirer, mens noen av sidevassdragene drenerer næringsfattige, humusrike og relativt sure områder. Vassdraget er også sterkt påvirket av menneskelig aktivitet, både jordbruk, skogbruk og industri. Det finnes omfattende informasjon om vannkvaliteten i vassdraget, og Haldenvassdraget vannområde har oppsummert mye av dette (<https://www.haldenvassdraget.org/>).

Det er en rekke dammer i vassdraget, noen av dammene i hovedvassdraget har sluser som muliggjør båtferdsel og samtidig også bevegelse av fisk. Andre dammer blokkerer for oppvandring av fisk. Alle disse menneskelige påvirkningene vil påvirke forekomst av ulike arter. Mange av de mindre sidevassdragene har også naturlig vandringshinder for fisk.

Det er gjennomført en rekke biologiske undersøkelser i Haldenvassdraget. I 2014 oppsummerte Ingvar Spikkeland kunnskapen om fiskene og annen akvatisk biodiversitet som fantes på den tiden (Spikkeland 2014). Og i 2023 publiserte Ole-Håkon Heier og Atle Haga en fullstendig oversikt over all informasjon som fantes om ferskvannsfisken i Østfold fylke (Heier and Haga 2023). Totalt skulle dette gi god kunnskap om hvilke arter som er å finne hvor. Men som det blir påpekt i disse rapportene så er det fortsatt mange hull i kunnskapen vår. Mange lite ettertraktede arter er sjelden nevnt, og mye informasjon ser ut til å mangle. Dette gjelder spesielt niøyene, der tre ulike arter kan forventes i Haldenvassdraget (bekkeniøye *Lampetra*

*planeri*, elveniøye *L. fluviatilis*, havniøye *Petromyzon marinus*). Kunnskapen om utbredelsen til disse artene er også mangelfull i Norge generelt (Hesthagen et al. 2020, Hesthagen et al. 2021a).

Det kan være tidkrevende og komplisert å gjennomføre gode undersøkelser i ferskvann, spesielt dersom det er mål om å skaffe kunnskap om alle mulige fiskearter i et område. Artene er ulike i størrelse, kroppsform, atferd, og valg av leveområder. Dette gjøre det komplisert å samle inn data som representerer alle artene. For eksempel har niøyer et langt larvestadium der de lever nedgravd i elve- og bekkesedimenter, og vil ofte ikke bli oppdaget ved standard fiskeundersøkelser. Det er mest vanlig at niøyene blir registrert under gytingen på vår og tidlig sommer. Kunnskapen om alle artene er altså fortsatt mangelfull. Et alternativ som er blitt svært populært for å søke å skaffe rask oversikt over tilstedeværelse av ulike arter er bruk av miljøDNA (eDNA).

Alle organismer frigir DNA til omgivelsene sine, og slikt fritt DNA blir kalt miljøDNA (Pawlowski et al. 2020). For vannlevende organismer kan slikt DNA samles inn ved filtrering av vannprøver gjennom filter med egnet maskevidde. Metoden er etter hvert blitt mye brukt, og det er blitt utviklet ulike standarder som kan benyttes avhengig av målsetningen med undersøkelsen (Fossøy et al. 2018). MiljøDNA er spesielt blitt mye brukt for å undersøke tilstedeværelse av arter som er sjeldne, forekommer i lite antall eller lever kryptisk og slik kan være vanskelig å observere. Selv om metoden virker enkel, er det en rekke kritiske vurderinger som må gjøre i forbindelse med valg av innsamlingsmetodikk, bruk av analyseteknologi og tolkningen av dataene (Goldberg et al. 2016).

Vi har brukt miljø-DNA til å undersøke forekomsten av fiskearter i elver og bekker i Haldenvassdraget. Deler av studien som inkluderer niøye utgjorde en mastergradsoppgave ved Universitetet i Oslo (Lynch 2023). En av metodene som ble benyttet kunne imidlertid også identifisere de fleste andre fiskeartene i ferskvann. Siden målet egentlig var å undersøke

forekomsten av niøye så samlet vi inn prøver fra rennende vann og ikke fra innsjøer. I denne artikkelen presenterer vi metodene som ble brukt, diskuterer de to alternative metodene (qPCR og metastrekkoding) vi brukte og presenterer resultatene vi fant.

## Innsamling og analyse av miljøDNA

Innsamling av miljøDNA i vann består av å filtrere en gitt mengde vann gjennom et filter, og deretter konservere filteret på en egnet måte. Det finnes mange ulike måter å gjøre dette på, men en standard måte er å pumpe vann gjennom filteret ved bruk av en peristaltisk pumpe. Valg av filter er avgjørende for hvor mye vann som kan filtreres gjennom, og hvor mye DNA som blir fanget opp. Vi brukte et standard oppsett som er i bruk ved Norsk institutt for naturforskning (NINA). Mengden vann som kan pumpes gjennom filteret vil variere avhengig av mengden og typer partikler (humus, alger og leire) i vannet, og dette kan påvirke sannsynligheten for å påvise arter på ulikt vis.

Vi tok alle prøvene fra rennende vann, og søkte primært å finne områder der vannet var godt blandet. I stillestående vann, som i innsjøer, kulper og bakevjer vil det kunne finnes sjiktinger og strømminger både horisontalt og vertikalt som gjør at DNA fra enkelte arter ikke blandes inn og dermed heller ikke fanges opp. To uavhengige prøver (kalt A og B her) ble tatt fra hver lokalitet. Ved å ta prøver fra rennende vann vil vi kunne observere arter som finnes oppstrøms innsamlingspunktet. Hvor langt oppstrøms dette kan gjelde er avhengig av en rekke faktorer som påvirker transporten og nedbrytingen av DNA. Det vil også være mulig å detektere arter som finnes i innsjøer oppstrøms. I hvilken grad slike arter kan bli detektert er avhengig av hvor de lever i innsjøen (dypt/grunt; strandnært/pelagisk etc.), om de er aktive eller ikke og spesielt om de er i gytesong. Når det er høy vannføring i elver og bekker vil konsentrasjonen av oppløst DNA bli redusert (uttynning) og det vil bli vanskelig å detektere sjeldne (fåtallige) arter (Curtis et al. 2021).

Prøvetakingen startet med at vann ble hentet opp fra lokaliteten i en plastboks. Vannet ble så pumpet gjennom et lite kapselfilter ved hjelp av en peristaltisk pumpe. Filteret består av et 5,0 mm glassfiber forfilter og et 0,8 mm polyester-sulfon (PES) filter. Vi brukte utbyttable silikonslanger i pumpen og nye plastbokser og slanger ble brukt for hver lokalitet for å unngå kontaminering. Når det ikke var mulig å pumpe mer vann gjennom filteret blir kapselen tømt for vann og tørket ved å pumpe gjennom luft. Kapselen ble så tilsatt en buffer for lysering av vev (ATL-buffer) og lagret mørkt i romtemperatur frem til videre analyser.

MiljøDNA ble isolert fra filtrerne med bruk av standard protokoller ved Senter for biodiversitetsgenetikk (NINAGEN; <https://www.nina.no/NINAGEN>) i Trondheim. Deretter ble prøvene analysert med bruk av DNA-metastrekkoding (DNA-metabarcoding) og kvantitativ PCR (qPCR) (Fossøy et al. 2018). Metodene er beskrevet i mer detalj i oppgaven til Lynch (2023), og beskrives bare kort her.

Vi brukte kvantitativ PCR (qPCR) for spesielt å undersøke for forekomst av niøye. Denne metoden benytter artsspesifikke genetiske markører som kun fester seg til DNA fra en bestemt art/artsgruppe. Elve- og bekkeniøye er genetisk svært like, og det er ikke mulig å skille disse ved hjelp av miljøDNA analyser (Zancolli et al. 2018). En positiv prøve betyr derfor at minst en av artene er til stede. Vi kjørte også en artsspesifikk markør for havniøye (Gustavson et al. 2015). Alle prøvene ble analysert i triplikater, og vi krevde at minst to av tre replikater måtte være positive for en teknisk positiv påvisning av art(e).

Metastrekkoding benytter artsgenerelle markører som kan feste seg til DNA fra flere arter innen en spesiell taksonomisk gruppe. Valget av markør er avgjørende for kvaliteten på resultatene. I og med at markørene som brukes til metastrekkoding er generelle kan de være mindre sensitive enn qPCR, i tillegg til at analysene vil være dyrere. Fordelen er at de vil kunne detektere mange arter i samme analyse. Til metastrekkodingen benyttet vi markøren MiFish

(Miya et al. 2015) som er spesielt utviklet for å registrere diversiteten av fiskesamfunn. Etter standard bibliotekoppsett på NINAGEN ble prøvene sekvensert ved Norwegian Sequencing Centre (NSC; <https://www.sequencing.uio.no/>) i Oslo. Etter sekvensering, kvalitetskontroll og filtrering ble sekvensene sammenliknet med sekvenser fra GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) for å identifisere arter. Antall sekvenser i hver prøve vil variere mye avhengig av mengden og kvaliteten på DNA. Det kan også forekomme at det er kjemiske materialer i prøven som hemmer ulike prosesser fra DNA-ekstraksjon til sekvensering. Andelen sekvenser fra hver art i en prøve sier noe om den relative mengden DNA fra hver art i prøven. Men det sier ikke nødvendigvis noe om absolutt antall individer av hver art.

## Stasjonene og noen generelle vurderinger

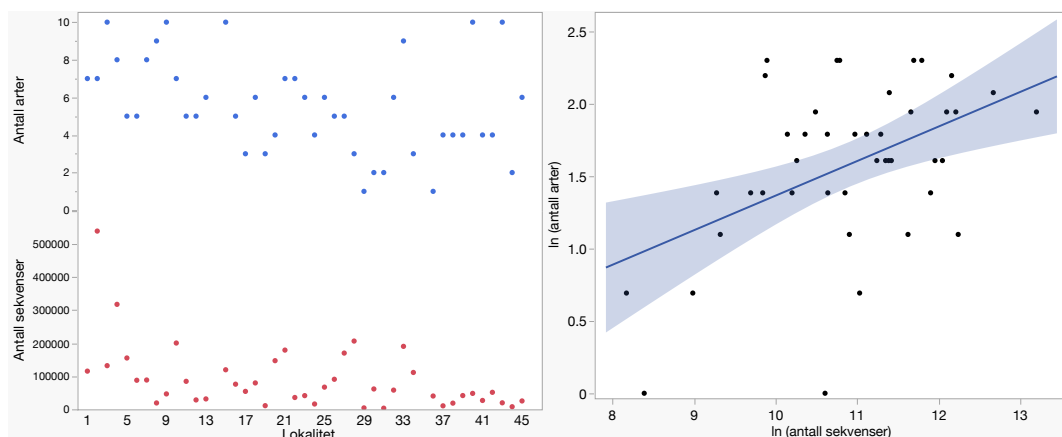
Totalt tok vi prøver fra 45 ulike lokaliteter (Figur 1, Tabell 1) fordelt på hele Haldenvassdraget fra Aurskog-Høland i nord og til utløpet av Tista i Halden i sør. Prøvene ble tatt i perioden 7-13. juni, 2021. Lokalitetene varierte mye, fra små bekker som drenerte våtmark og små tjern til store elver med høy vannføring. Vi forsøkte å finne områder med turbulent strøm der vannet var godt blandet. I løpet av prøvetakings-

perioden var været stabilt godt, og vannføringen var stabil.

Det var svært stor variasjon i antall sekvenser som ble klassifisert som fiske-DNA ved bruk av metastrekkodingen. Totalt kunne vi påvise fiske-DNA fra 43 av 45 lokaliteter (Tabell 2). Fra sju av lokalitetene var det bare mulig å registrere fiske-DNA fra en av delprøvene (A eller B). Antall sekvenser variert mellom 543 og 554446, med et medianantall på 58854. Det var en signifikant positiv sammenheng mellom antall sekvenser (ln-transformert) og antall registrert arter (ln-transformert) ( $\ln \text{Arter} = -1,024 + 0,239(\ln \text{Arter}); R^2 = 0,221, P = 0,002$ ) (Figur 2). Siden det var en tendens til at antall sekvenser var lavere i de nedre deler av vassdraget (Figur 2), så kan det bety at det var vanskeligere å detektere en del arter der. Fravær av fiske-DNA kan skyldes flere ting, og mest sannsynlig handler dette om lab-tekniske detaljer, der det noen ganger kan være for høye verdier av uønska stoffer i prøven som påvirker/hemmer analysene.

## Utbredelsen av de ulike fiskeartene

Totalt ble det registrert minst 16 fiskearter (Tabell 3). De artene som ble påvist flest ganger var abbor (37 lokaliteter) og mort (34 lokaliteter). Det er tidligere registrert mer eller mindre sikker forekomst av 31 arter i vassdraget (Heier



Figur 2. Venstre: Variasjon i antall DNA sekvenser fra fisk (nedre del) og antall registrerte arter (øvre del) i de undersøkte lokalitetene i Haldenvassdraget. Høyre: Sammenhengen mellom antall DNA-sekvenser (ln-transformert) og antall registrert arter (ln-transformert). Regresjonslinjen med konfidensintervall er vist.

Tabell 1. Oversikt over alle lokalitetene som er undersøkt med bruk av miljøDNA (navn, lengdegrad, breddegrad) og hvilke arter som ble funnet.

Lok.	Navn	Lengdegrad	Breddegrad	Vassdragsdel	Antall arter	Arter påvist ("vanligste" art i bold)
1	Elv fra Floen/ Ulviksjøen	59.966797	11.495812	Bjørkelangen	7	Laue, <b>mort</b> , ørekyt, abbor, gjedde, hork, lake
2	Eidsbekken	59.884123	11.580333	Bjørkelangen	7	<b>Laue</b> , mort, ørekyt, abbor, brasme, ørret, niøye
3	Lierelva	59.886227	11.575236	Bjørkelangen	10	<b>Laue</b> , mort, ørekyt, abbor, brasme, ørret, gjedde, niøye, hork, krøkle
4	Bekk fra Snartjern	59.840777	11.538131	Bjørkelangen	8	<b>Laue</b> , mort abbor, brasme, gjedde, niøye, hork, flire
5	Maltjernbekken	59.836745	11.479805	Bjørkelangen	5	<b>Mort</b> , ørekyt, abbor, ørret, niøye
6	Dalselva	59.727686	11.404894	Hemnessjøen	5	<b>Mort</b> , abbor, ørret, niøye, lake
7	Hemneselva	59.725505	11.420211	Hemnessjøen	8	<b>Laue</b> , mort, abbor, brasme, gjedde, niøye, hork, sørv
8	Elv fra Hellesjøvann	59.722643	11.466323	Hemnessjøen	9	Laue, <b>mort</b> , ørekyt, abbor, brasme, ørret, niøye, hork, sørv
9	Hølandselva	59.720461	11.492098	Hemnessjøen	10	Laue, mort, ørekyt, abbor, <b>brasme</b> , gjedde, niøye, hork, krøkle, flire
10	Hafsteinelva	59.747636	11.435987	Hemnessjøen	7	<b>Mort</b> , ørekyt, abbor, ørret, gjedde, niøye, hork
11	Setta	59.84663	11.675412	Setten	5	Mort, <b>ørekyt</b> , ørret, gjedde, laks
12	Langebruslora	59.787913	11.726863	Setten	5	<b>Mort</b> , abbor, ørret, gjedde, hork
13	Langtjernbekken	59.810876	11.61592	Setten	6	<b>Mort</b> , abbor, ørret, gjedde, hork, lake
14	Mjerma ved Soprimveien	59.713321	11.555722	Setten	-	
15	Mjerma under Lunds fossen	59.694242	11.528943	Setten	10	<b>Laue</b> , mort, abbor, ørret, gjedde niøye, hork, ulke, lake, krøkle
16	Krokseelva	59.618259	11.596371	Rødenessjøen	5	<b>Ørekyt</b> , abbor, ørret, gjedde, niøye,
17	Østenbyelva	59.533827	11.60172	Rødenessjøen	3	<b>Mort</b> , abbor, gjedde
18	Taraldrudelva	59.581574	11.565786	Rødenessjøen	6	<b>Mort</b> , ørekyt, abbor, ørret, gjedde, niøye
19	Åsebyelva	59.600175	11.61974	Rødenessjøen	3	Abbor, <b>ørret</b> , niøye
20	Bekk mellom Gåseby og Stillesby	59.546237	11.626861	Rødenessjøen	4	<b>Mort</b> , ørekyt, ørret, niøye
21	Engerelva	59.491057	11.667821	Rødenessjøen	7	Laue, mort, ørekyt, ørret, <b>gjedde</b> , niøye, hork
22	Ørjeelva	59.472415	11.654516	Øymarksjøen	7	Laue, mort, abbor, <b>brasme</b> , gjedde, hork, lagesild
23	Bøenselva	59.461618	11.660805	Øymarksjøen	6	Laue, <b>mort</b> , abbor, brasme, gjedde, sørv
24	Gunnengbekken	59.366216	11.689881	Øymarksjøen	4	<b>Mort</b> , abbor, gjedde, niøye,
25	Innløp til Skinnarbutjenn	59.351489	11.733146	Øymarksjøen	6	Laue, mort, abbor, <b>brasme</b> , gjedde, sørv
26	Langetjernelva	59.329994	11.685982	Øymarksjøen	5	<b>Mort</b> , abbor, ørret, gjedde, hork
27	Fangebekken	59.288988	11.678935	Ara	5	<b>Mort</b> , ørekyt, abbor, ørret, niøye

Lok.	Navn	Langde-grad	Bredde-grad	Vassdragsdel	Antall arter	Arter påvist ("vanligste" art i bold)
28	Fossbybekken	59.220603	11.6962	Ara	3	<b>Ørekyt</b> , ørret, gjedde
29	Skolleborg	59.232771	11.671846	Ara	1	<b>Abbor</b>
30	Bekk fra Kvernetjernet	59.25494	11.64334	Aremarksjøen	2	Abbor, <b>ørret</b>
31	Tenebekken	59.280254	11.65288	Aremarksjøen	2	<b>Abbor</b> , gjedde
32	Strømsfoss	59.301061	11.658639	Øymarksjøen	6	Laue, <b>mort</b> , abbor, brasme, gjedde, hork
33	Lielva	59.461153	11.644340	Øymarksjøen	9	Mort, abbor, brasme, <b>ørret</b> , gjedde, niøye, hork, sørv, lake
34	Valbyelva	59.381098	11.642453	Øymarksjøen	3	Mort, <b>ørekyt</b> , ørret
35	Holmegilelva	59.142629	11.739045	Aspern	-	
36	Kverntjernbekken (Remne)	59.140828	11.660145	Aspern	1	<b>Abbor</b>
37	Stenselva	59.14554	11.638203	Aspern	4	Laue, mort, abbor, <b>hork</b>
38	Ganerødelva	59.144157	11.534509	Femsjøen	4	<b>Abbor</b> , ørret, gjedde, ål,
39	Mellebyelva	59.180468	11.689811	Aspern	4	Laue, ørekyt, <b>abbor</b> , hork
40	Rødselva	59.171888	11.545509	Femsjøen	10	Mort, ørekyt, abbor, <b>brasme</b> , ørret, gjedde, niøye, ål, sørv, flire
41	Rjørelva	59.183022	11.51762	Femsjøen	4	Laue, <b>mort</b> , abbor, flire
42	Asakbekken	59.138606	11.451391	Femsjøen	4	Mort, <b>abbor</b> , ørret, niøye,
43	Tistedalsfoss	59.130336	11.437732	Tista	10	Laue, <b>mort</b> , abbor, brasme, ørret, gjedde, niøye, ål, krøkle, flire
44	Skåningsfoss	59.125933	11.416768	Tista	2	Mort, <b>ål</b>
45	Porsnes	59.123438	11.39958	Tista	6	Laue, mort, abbor, hork, <b>ål</b> , krøkle

og Haga 2023). Vi registrerte omtrent halvparten av disse med bruk av miljøDNA. Det ble funnet i gjennomsnitt 5,5 arter pr lokalitet (med variasjon fra 1 – 10 arter). Generelt var det størst artsantall øverst i vassdraget (rundt Bjørkelangen og Hemnessjøen), mens det var relativt få arter i en del bekker som drenerte til innsjøene nederst i vassdraget (Figur 2). Variasjonen i forekomst kan ha mange årsaker, slik som variasjon i vannkvalitet, vannvolum som ble filtrert, og om det forekom fisk i området direkte oppstrøms prøvetakingsstedet. I det følgende kommenterer vi omkring forekomsten til de ulike artsgruppene, inndelt hovedsakelig etter familier. Vi går ikke i detaljer; spesielt interesserte finner detaljene i tabell 1.

## Niøye: utbredelse av artene og vurdering av ulike DNA-metoder

I denne undersøkelsen var vi spesielt interessert i utbredelsen til niøye. Vi forventet blant annet å registrere havniøye i Tistas nedre deler, siden den er registrert der tidligere (Hesthagen et al. 2020). Men ingen havniøye ble registrert, hverken med qPCR eller metastrekkoding. Dette kan bety at havniøye ikke har gytt suksessfullt i Tistas nedre deler de siste årene, og det var trolig heller ikke gytemoden havniøye i området. Om tidligere gyting hadde vært suksessfull så burde det vært niøyelarver nedgravd i sedimentet som så skulle blitt registrert av oss. Til sammenlikning ble det registrert elv- eller bekkeniøye på lokaliteten nedenfor Tistedalsfoss (lokalitet 43).

Elve- og bekkeniøye (Figur 3) lar seg ikke skille med noen av metodene som vi brukte, så disse kalles bare niøye heretter. Niøye ble

Tabell 2. Oversikt over resultatene fra qPCR og metastrekkoding for deteksjon av bekk- og elvenøye i Haldenvassdraget. For qPCR-analysene angis Ct-verdiene (en lavere Ct-verdi betyr høyere DNA-konsentrasjon) for A og B prøvene, mens for metastrekkodingen angis totalt antall registrerte DNA-sekvenser etter filtrering av materialet (totalt antall fiskesekvenser og antall niøyesekvenser, samt % niøyesekvenser). Vi angir også om arten er registrert tidligere på lokaliteten (ja/nei).

Lokalitet	Navn	qPCR (A) qPCR (B)		Metastrekkoding (A)			Metastrekkoding (B)			Observert før?
		Ct	Ct	N-tot	N-niøye	% niøye	N-tot	N-niøye	% niøye	
1	Elv fra Floen/Ulviksjøen			123143			108306			Ja
2	Eidsbekken	27.991	27.964	524914	3362	0.640	554446	4463	0.805	
3	Lierelva	39.337	33.928	128354	4991	3.888	136224	1522	1.117	Ja
4	Bekk fra Snartjern	27.928	27.928	296624	2855	0.962	339131	1969	0.581	Ja
5	Maltjernbekken	28.969	29.407	137131	2717	1.981	173915	1614	0.928	Ja
6	Dalselva		27.800	117960	11297	9.577	58284	2891	4.960	
7	Henneselva	34.465	34.465	141659	95	0.067	36005			
8	Elva fra Hellesjøvann		28.253	18588			20196	654	3.238	
9	Hølandselva	29.674	31.181	61200	1094	1.788	32323	54	0.167	Ja
10	Hafsteinelva	24.643	31.075	252563	33295	13.183	149066	21099	14.154	Ja
11	Setta			84863						
12	Langebruslora			30620			26481			
13	Langtjernbekken			18980			44228			
14	Mjerma ved Soprimveien									
15	Mjerma under Lunds fossen		28.420	143222	672	0.469	96479	2145	2.223	Ja
16	Krokseiva	28.491	26.866	59424	4514	7.596	93011	5351	5.753	Ja
17	Østenbyelva						54421			
18	Taraldrudelva	30.971	25.400	81966	16275	19.856	78025	21135	27.087	Ja
19	Åsebyelva	35.621	35.225	14715	139	0.945	7642			
20	Bekk mellom Gåseby og Stilleby	28.618	29.037	126497	429	0.339	168234			
21	Engerelva	27.659	28.083	163123	4613	2.828	195665	3117	1.593	Ja

Lokalitet	Navn	qPCR (A) qPCR (B)		Metastrekoding (A)			metastrekoding (B)			Observert før?
		Ct	Ct	N-tot	N-niøye	% niøye	N-tot	N-niøye	% niøye	
22	Øtjeelva			38584			33260			
23	Bøenselva			46218			36906			
24	Gunnengbekken	37.601	36.328	11597	24	0.207	20850			
25	Innløp til Skinnarbutjenn			52248			82281			
26	Langtjernelva						91083			
27	Fangebekken	32.336	31.711	195522			145248	18	0.012	
28	Fossbybekken			206737						
29	Skolleborg			543			8255			
30	Bekk fra Kvernetjernet						61726			
31	Tenebekken						3537			
32	Strømsfoss			75699			40798			
33	Lielva	34.922	34.108	160183			221201			
34	Valbyelva			155144			68240			
35	Holmegjelva									
36	Kvemtjernbekken (Remne)			40398						
37	Stenselva			20758			606			
38	Ganerødelva			12855			24760			
39	Mellebyelva			41782						Ja
40	Rødselva						48345	415	0.858	Ja
41	Rjørelva			39359			14532			
42	Asakbekken	27.942	27.976	97710	3879	3.970	5480	2594	47.336	
43	Tistedalsfoss	37.230	40.993	19947			19686			Ja
44	Skåningsfoss						7980			
45	Porsnes			31134			19765			

Tabell 3. Oversikt over fisk registrert i Haldenvassdraget ifølge Heier og Haga (2023). Tabellen viser også i hvor mange lokaliteter (bekker og elver) vi registrerte de ulike artene med bruk av miljøDNA.

Art (Latinsk og norsk navn)		N	Kommentar
<i>Perca fluviatilis</i>	Abbor	37	
<i>Rutilus rutilus</i>	Mort	34	
<i>Esox lucius</i>	Gjedde	25	
<i>Salmo trutta</i>	Ørret/aure	25	
<i>Lampetra fluviatilis eller planeri</i>	Elvenøye/bekkenøye	21	Kan ikke skilles med miljø-DNA
<i>Alburnus alburnus</i>	Laue	18	
<i>Gymnocephalus cernua</i>	Hork	18	
<i>Phoxinus phoxinus</i>	Ørekyt	17	
<i>Abramis brama</i>	Brasme	13	
<i>Blicca bjoerkna</i>	Flire	7	
<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	Sørv	6	
<i>Anguilla anguilla</i>	Ål	5	
<i>Osmerus eperlanus</i>	Krøkle	5	
<i>Lota lota</i>	Lake	5	
<i>Cottus gobio eller poecilopus</i>	Hvitfinnet steinulke/steinsmett	2	Kan ikke skilles med miljø-DNA
<i>Coregonus lavaretus eller albula</i>	Sik/lagesild	1	Kan ikke skilles med miljø-DNA
<i>Salmo salar</i>	Laks	1	Kontaminering
<i>Petromyzon marinus</i>	Havnøye	0	
<i>Carassius carassius</i>	Karuss	0	
<i>Leuciscus leuciscus</i>	Gullbust	0	
<i>Leuciscus cephalus</i>	Stam	0	Trolig feilbestemt ifm tidligere funn
<i>Leuciscus idus</i>	Vederbuk	0	
<i>Leuciscus aspius</i>	Asp	0	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Regnbueørret	0	
<i>Salvelinus alpinus</i>	Røye	0	
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Trepigget stingsild	0	
<i>Pungitius pungitius</i>	Nipigget stingsild	0	
<i>Sander lucioperca</i>	Gjørs	0	

registrert på totalt 21 lokaliteter, og i de fleste tilfellene ble nøye registrert med begge metodene (18 lokaliteter) (Tabell 2). Det var imidlertid noen forskjeller mellom metoder, og mellom A- og B-prøvene. Om en av delprøvene var positive for nøye så antar vi at nøye var til stede. Ved bruk av qPCR ble nøye registrert i 20 lokaliteter, mens ved bruk av metastrekkoding ble nøye registrert på 19 lokaliteter. Nøye ble

registrert med bruk av metastrekkoding, men ikke med qPCR i lokalitet 40 (Rødselva). Videre ble nøye registrert med qPCR, men ikke med metastrekkoding i lokalitet 33 (Lielva) og 43 (Tistedalsfoss). Vi fant altså ingen stor forskjell mellom de to DNA-metodene i dette studiet. Dette betyr at vi kan anbefale metastrekkoding som metode for undersøkelse etter nøye, spesielt siden denne metoden også gir mye

tilleggsinformasjon om resten av fiskesamfunnet.

Det var vanlig å finne niøye i de øvre deler av vassdraget (Tabell 2), og spesielt i de mindre lokalitetene. I hovedelva og i lokalitetene sør for Øymarksjøen fant vi lite niøye. I Settens delnedbørfelt var det heller ikke niøye. Noe av variasjonen i forekomst av niøye kan skyldes at det var en økt sannsynlighet for å finne niøye ( $Pr_{Niøye}$ ) i lokaliteter med mange fiskesekvenser ( $N_{sekvenser}$ ) (logistisk regresjon;  $\text{logit}(Pr_{Niøye}) = -1,23 + 1,67e^{-5}(N_{sekvenser})$ ,  $R^2 = 0,170$ ,  $P = 0,001$ ,  $N = 43$ ), og det ble funnet relativt få fiskesekvenser i mange av bekkene i nedre deler av vassdraget (Figur 2).

## Ål

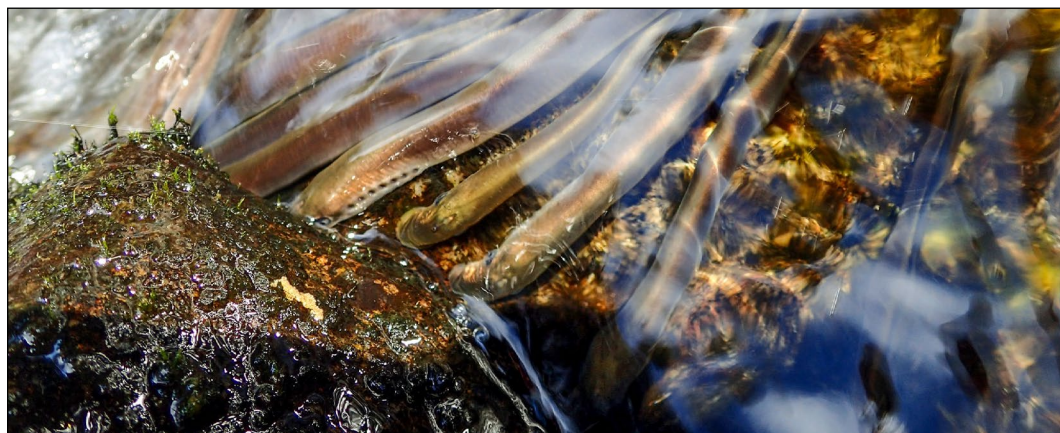
Ål er en art som regnes som sterkt truet både i Norge (Hesthagen et al. 2021b) og hele Europa, og det har vært lokal diskusjon omkring mulighetene den har til å komme seg opp Tista til Femsjøen og deretter videre oppover vassdraget. Tista er sterkt urbanisert, med mange naturlig og menneskeskapt vandringshindre og barrierer. DNA fra ål ble registrert på alle de tre lokalitetene i Tista, og den ble også registrert på to av lokalitetene som drenerer til Femsjøen (Ganerødelva fra sørøst og Rødselva fra nordvest). Lenger opp i vassdraget ble den ikke funnet. Dette betyr at Brekke dam og sluser trolig er et vandringsbarriere som foreslått tidligere (Gregersen 2023). Våre data støtter dette.

Det at vi registrerte ål i Femsjøens sidebekker betyr ikke nødvendigvis at arten er tallrik, noe et konvensjonelt forsøksfiske med ruser har bekreftet (Selbekk et al. 2020).

## Laksefiskene

Ifølge Heier og Haga (2023) kunne vi forvente å finne fem arter laksefisk i vassdraget (Tabell 3). I tillegg finnes den nærstående arten krøkle. Ørret var vidt utbredt i hele vassdraget. Den ble funnet på totalt 25 lokaliteter, hovedsakelig i de mindre bekkene. Den var ikke å finne i hovedløpet. Siden det tidvis settes ut ørret i enkelte vann i området er det ikke helt klart om det er rekruttering av ørret i alle bekkene. Blant annet ligger Bjørkelangen Settefiskanlegg oppstrøms Eidsdammen i bekken (lokalitet 2) fra Lille Langsjøen. Det er likevel grunn til å tro at det er naturlig rekruttering i de fleste lokalitetene. For å dokumentere dette må det andre undersøkelser til.

Røye og regnbueørret ble ikke funnet, og det var heller ikke å forvente basert på rapporten til Heier og Haga (2023). Vi fikk imidlertid treff på laks i Setta (lokalitet 11). Denne lokaliteten ligger i delvassdraget Setten, og det er grunn til å tro at dette var en kontaminering av vannet vi tok prøver av. Mest sannsynlig stammer kontamineringen fra avløpsvann fra bebyggelsen i området ved Åmodt eller oppover langs Aursetta oppstrøms der den møter Setta. Laks er blitt en vanlig matvare i Norge, og DNA kan komme i



Figur 3. Gytende bekeniøye fra Svarthølbekken på grensa mellom Drangedal og Skien, Telemark. Bildet tatt av Kjell Sandaas.

avløpsvannet i forbindelse med matlaging. Laks ble heller ikke registrert i de nedre deler av Tista, selv om Tista er regnet som lakseførende.

Det ble registrert forekomst av arter i slekta *Coregonus* på en lokalitet (lokalitet 22; Ørjeelva nedstrøms Rødenessjøen). Sik og lagesild kan ikke skilles med metoden vi brukte, men det er mest trolig lagesild vi fant. Sik kan teoretisk forekomme ifølge Heier og Haga (2023), men det er ingen dokumentasjon i nyere tid. Siden lagesild er vanlig forekommende i de store innsjøene fra Rødenessjøen og nedover hadde vi forventet å registrere den i prøver tatt fra hovedvassdraget, inkludert Tista. En grunn til at vi ikke fikk positive registreringer ved for eksempel Strømsfoss (lokalitet 32) og i Tista (lokalitet 43-45) kan være at lagesilda i den perioden vi tok prøvene holdt seg dypt i innsjøene, trolig under sprangsjiktet (Vøllestad 1983b). Det vil føre til at lite lagesild-DNA vil bli transportert nedover vassdraget med overflatevannet.

Krøkle er også en svært vanlig art i innsjøene i vassdraget (Heier og Haga 2023). Krøkle ble registrert på fem lokaliteter, noe som kan indikere at krøkla oppholder seg litt grunnere i innsjøene enn lagesilda. Dette kan stemme med resultatene fra prøvefiske gjennomført på 1980-tallet (Vøllestad 1983b). Vi fant også krøkle-DNA oppstrøms Bjørkelangen (lokalitet 3 Lierelva). Det har vært noe diskusjon om arten fortsatt finnes i Bjørkelangen (Brabrand 1993), selv om den ble dokumentert i lavt antall i prøvefiske i 1982 (Vøllestad 1983b). Det var også påfallende at krøkla var et viktig byttedyr for gjedda i Bjørkelangen i samme år (Vøllestad 1983a, Vøllestad et al. 1986). Totalt betyr dette at det er viktig å vurdere tidspunkt for prøvetaking dersom miljøDNA-undersøkelser skal kunne være representative for alle arter, spesielt i innsjøer. De forskjellige artene er trolig enklest å registrere når det er aktive og spesielt i gytetiden. Det er stor forskjell i når de ulike artene gyter eller er aktive på andre måter. Innsamling av miljøDNA bør derfor tilpasses dette.

## Karpefiskene

Vi registrerte seks arter karpefisk av de mulige 11 arter som Heier og Haga (2023) rapporterte om. Mort var den arten som var mest utbredt. Vi fant den på 34 lokaliteter fordelt over hele vassdraget, og den var tilsynelatende særdeles tallrik målt ut fra antall DNA-sekvenser. Mort var den nest vanligste arten i systemet, etter abbor. Tidligere studier i de større innsjøene i vassdraget har vist at mort var den mest tallrike arten (Vøllestad 1983b, Ørjasæter 1993).

Også laue var svært vanlig i vassdraget, og vi fant den på 18 lokaliteter. Laue forekommer ofte i tallrike stimer i den øvre deler av vannmassene i innsjøer og elver. Arten ble ikke registrert i Setten-vassdraget, selv om arten er registrert der tidligere (se Artsdatabanken). En grunn til at laue ble funnet i færre lokaliteter enn mort er trolig at arten er mindre strømsterk.

Ørekyt var også svært vanlig forekommende, og ble registrert på totalt 17 lokaliteter. Ørekyt er sterkt knyttet til bekker og elver, og kan sies å være svak i konkurranse med andre karpefisk og vil være sjelden i innsjøer med effektive predatorer som gjedde og abbor. Ørekyt forekom nesten alltid på de samme lokalitetene som ørret (14 av 17 lokaliteter).

Av de tre andre karpefiskene som ble registrert – brasme, flire og sørv – var brasmen den klart vanligste. Brasmen ble registrert i 13 lokaliteter, mens flire ble registrert 7 steder og sørv 6 steder. Alle disse tre artene er sterkt knyttet til innsjøer, men kan tydeligvis også finnes i større bekker og elver. Brasme ble funnet i hele vassdragssystemet, unntatt i Setten-delen. Flire og sørv ble nesten alltid funnet på samme lokalitet som brasme, og tidligere studier har vist at disse to artene forekommer i mindre antall enn brasme der de opptrer sammen (Vøllestad 1983b). Det kan medføre at det vil være vanskeligere å registrere flire og sørv med bruk av miljøDNA.

Fem karpefiskearter som Heier og Haga (2023) nevner ble ikke funnet. Gullbust, vederbuk og stam er arter som er like i form, spesielt når de er små. Og alle likner også på mort. Dette gjør at disse artene kan være vanskelig å identifisere morfologisk. Selv om gullbust tidligere er

rapportert enkelte steder i vassdraget (Spikkeland 2014, Heier and Haga 2023), så er det lite trolig at arten faktisk forekommer. Stam og vederbuk er arter som trives i rennende vann, og gjerne foretar vandringer. Begge artene er tidligere registrert i Tistas nedre deler (Artsdata-bankens artskart). I vassdraget ellers finnes de neppe. Den sjeldneste karpefisken, asp, ble for noen år siden overraskende nok registrert i Skulerudsjøen (Spikkeland and Basnes 2009). Totalt tre enkeltindivider er registrerte i hovedvassdraget nord for Ørje (Spikkeland, pers. obs.). Aspen er en aktiv fiskespiser allerede når den når lengder rundt 10 cm (Vašek et al. 2018), noe som skiller den fra alle andre karpefisk. Siden den er en aktiv jeger i innsjøer og trolig forekommer i lavt antall, vil den være vanskelig å detektere med miljøDNA med den innsamlingsmåten vi benyttet. Den siste karpefiskarten som vi ikke fant, var karuss. Karuss er kjent fra hele Østfold (Heier and Haga 2023), men er mest vanlig i dammer og småvann. Så selv om den finnes innen Haldenvassdragets nedslagsfelt så vil den trolig ikke kunne registreres i de bekkene og elvene vi tok prøver fra.

## Abborfiskene

Abbor var den absolutt vanligste arten i Haldenvassdraget, og ble registrert på 37 av 43 lokaliteter. Arten forekommer ofte i stort antall, og har et fleksibelt levesett. I artsrike innsjøer slik som i Haldenvassdraget vil abborbestandene bestå av en rekke alder- og størrelsesgrupper, og enkelt individer kan nå store størrelser. I Skinnarbutjern som drenerer til Øymarksjøen er det ikke uvanlig å se abbor større enn 40 cm og eldre enn 10 år (Heibo and Vøllestad 2002). Sammen med mort utgjør abboren de viktigste artene i vassdraget.

Også hork var en vanlig forekommende art, og den ble registrert på 18 lokaliteter fordelt over hele vassdraget. Horken kan forekomme i stort antall i innsjøene, men synes i mindre grad enn abboren å bruke de mindre bekkene. Generelt foretrekker horken stilleflytende vann med bløtbunn der den søker nedgravde bunn-dyr som føde (Ogle 1998). I innsjøene i Halden-

vassdraget synes horken å være sterkt knyttet til bunnsonen, og periodevis også til relativt grunt vann (Vøllestad 1985).

En siste abborfisk som muligens finnes i vassdraget er gjørs. Vi fant ikke gjørs med vår prøvetaking. Gjørs var i tidligere tider vanlig i Femsjøen nederst i vassdraget (Huitfeldt-Kaas 1918, Hesthagen et al. 2012), men det er uklart om arten fortsatt finnes. Arten skal også være blitt utsatt i Hemnessjøen, men den synes ikke å ha dannet en bestand der (Spikkeland 2014).

## Gjedde

Det ble registrert gjedde i totalt 25 lokaliteter. Arten forekommer over hele vassdraget, noe som var forventet siden den er vanlig forekommende i alle større innsjøer i systemet (Vøllestad et al. 1986, Spikkeland 2014). Gjedda er en storvokst art som er lite tilpasset livet i små bekker, men det er ikke uvanlig å finne i hvert fall smågjedder også i slike lokaliteter gitt at det er mulig å vandre opp eller ned fra større vannforekomster (Skov et al. 2018). Gjedde ble nesten alltid registrert sammen med abbor og/eller mort. Unntaket er i Fossby (lokalitet 28), der den ble registrert sammen med ørekyt og ørret. Gjedda er fiskespiser nesten hele livet, og studier av dietten til gjedda i Haldenvassdraget viser at de fleste tilgjengelige arter blir spist (Vøllestad 1983a).

## Lake

Lake ble registrert kun på fem lokaliteter. Lake er kjent å forekomme i alle de større innsjøene i vassdraget, og ofte i høy tetthet (Vøllestad 1983b, 1992, Spikkeland 2014). Den er også kjent å kunne utnytte større elver og bekker (Stapanian et al. 2010). En grunn til at vi ikke registrerte lake flere steder er trolig at laken lever nær bunnen og på dypere vann (Vøllestad 1992). Når fisken lever på dypere vann i innsjøer, og gjerne under sprangsjiktet så er det lav sannsynlighet for at DNA vil bli transportert ut med utløpselvene.

## Ulkefisker

Ulkefisk ble registrert kun på to lokaliteter, i Tenebekken (lokalitet 31) som drenerer til

Aremarksjøen og i nedre del av Mjerma (lokalitet 15). I Mjerma er det trolig steinsmett som ble funnet siden det ble funnet mye steinsmett her ved elfiske høsten 2022 (Kjell Sandaas, pers. medd.). Metoden vi har benyttet klarer ikke å skille mellom steinsmett og hvitfinnet steinulke, så hvilken art som ble funnet i Tenebekken er usikkert. I forbindelse med overvåkingen av bunndyr ble både steinsmett og hvitfinnet steinulke påvist i lokaliteter lenger ned i systemet (Spikkeland 2015). Ut fra tidligere undersøkelser skulle vi forventet å finne ulkefisk flere steder (Spikkeland 2014, Heier and Haga 2023). Steinsmett er for eksempel tidligere påvist ved Lierfoss, som ligger oppstrøms prøvepunktet i Lierelva (lokalitet 3).

## Stingsild

Vi fant hverken trepigget eller nipigget stingsild i undersøkelsen vår. Selv om disse artene er vidt utbredt i Norge viser oversikten til Heier og Haga (2023) at de ikke er særlig utbredt i Østfold, og spesielt ikke i Haldenvassdraget. En grunn kan være at artene er konkurransesvake, og de er sjelden å finne i noe særlig mengde sammen med effektive fiskespisende fisker som gjedde og abbor.

## Oppsummerende betraktninger

Det ble tatt prøver fra hovedvassdraget flere steder. Blant annet tok vi prøver nedstrøms Ørje sluser, mellom Rødenessjøen og Øymarksjøen (lokalitet 22), og i Stenselva mellom Aspern og Femsjøen (lokalitet 37). Selv om det er registrert 17-18 arter i innsjøene oppstrøms ble det kun registrert 7 arter i Ørjeelva og 4 arter i Stenselva. Heller ikke tallrike arter som lake og krøkle ble funnet. Også på de tre lokalitetene i Tista nedstrøms Femsjøen fant vi få arter. Vannet i elvene som det ble tatt prøver av er overflatevann som kommer fra de store innsjøene oppstrøms, noe som betyr at DNA fra arter som hovedsakelig holder seg dypere enn sprangsjiktet i innsjøen sannsynligvis ikke vil bli fanget opp. I tillegg er vannføringen (vannvolumet) stor, noe som kan ha en betydelig uttynningseffekt (Curtis et al. 2021). En annen

faktor som må tas hensyn til er at DNA brytes ned over tid, og hvor langt DNA kan bevege seg nedstrøm og likevel bli registrert vil være avhengig av en rekke faktorer (vannkvalitet, temperatur, etc.). Videre er det å forvente at sjeldne arter ikke fanges opp, men at vanlig forekommende arter heller ikke ble registrert var overraskende. Det må trolig tas mange prøver til ulik tid, og fra ulike dyp fra slike elver for å fange opp alle artene som finnes.

Erfaringene fra dette prosjektet viser at bruk av miljøDNA er en nyttig metode for å påvise forekomst av arter i et vassdrag. De artene vi fant var å forvente, det ene unntaket var laks i Setta. Vi har altså ingen kjente eksempel på at vi har fått såkalte falske positive. Likevel ser vi at metoden eller prøvetakingen har sine begrensninger, ved at arter som mest sannsynlig finnes på lokaliteten svært ofte likevel ikke blir påvist (falske negative). For å få mer fullstendige resultater vil det være nødvendig å øke antall prøver betydelig samtidig som de må hentes fra flere deler av det aktuelle området. Spesielt viktig er det trolig å ta prøver på ulike tidspunkt av året siden ulike arter har ulike aktivitetsnivå og atferd gjennom sesongen. En god protokoll for innsamling av miljøDNA er derfor helt avgjørende (Goldberg et al. 2016). Erfaringene våre viser også at god lokalkunnskap og registrering i felt fortsatt er helt nødvendig dersom en skal få en god oversikt over fiskefaunaen i et vassdrag.

Et eksempel på nytten av metoden er at vi kunne påvise ål oppstrøms Tista, noe som har vist seg arbeidskrevende med standard metoder (Selbekk et al. 2020). Man har hatt mistanke om at ål ikke finnes oppstrøms Brekke og vi kunne kun påvises arten nedstrøms Brekke. Dette underbygger antagelsen om at ål er blitt borte fra nordlige deler av vassdraget.

Metoden var også nyttig til å påvise niøye i og med at vi fant niøye på 21 lokaliteter. Kunnskapen om niøyeartene er mangelfull i Norge (Hesthagen et al. 2021a), og bruk av miljøDNA kan være en nyttig og effektiv metode for å skaffe oversikt før eventuelle detaljerte studier. Niøyeartene (elve- og bekkeniøye) blir sjelden registrert i standard prøvfiske i elver og bekker,

hovedsakelig fordi de oppholder seg på annen type habitat enn arter som laks og ørret. Det er disse to sistnevnte artene som oftest er målet for undersøkelser i elver og bekker i Norge (Vøllestad 2023). Et annet viktig resultat var at de to ulike analysemetodene vi brukte, qPCR og metastrekkoding, i stor grad ga samme resultat. Dette betyr at vi kan anbefale metastrekkoding i videre studier, hovedsakelig fordi denne metoden gir mye mer informasjon enn qPCR. Et argument mot dette kan være at metastrekkoding er mer kostbart og krever både mer tid og analytisk kompetanse.

## Takksigelse

Denne undersøkelsen startet som et mastergradsprosjekt ved Institutt for biovitenskap ved Universitetet i Oslo og er støttet økonomisk derfra. Vi takker Marie Davey og Hege Brandsegg for hjelp med laboratoriarbeid og bioinformatick. Og takk til Kjell Sandaas for foto av gyten-de bekkeniøye.

## Referanser

Brabrand, Å. 1993. Tetthet, dybdefordeling og biomasse av fisk i Bjørkelangen og Hemnessjøen, Haldensvassdraget. Rapport 141, Laboratorium for Ferskvannssøkologi og Innlandsfiske, Zoologisk museum, Universitetet i Oslo.

Curtis, A. N., J. S. Tiemann, S. A. Douglass, M. A. Davis, og E. R. Larson. 2021. High stream flows dilute environmental DNA (eDNA) concentrations and reduce detectability. *Diversity and Distributions* 27:1918-1931.

Eggan, G., og B. O. Johnsen. 1983. Kartlegging av utbredelsen av ferskvannsfisk i Norge. Del 1 - kommunevis utbredelse. Direktoratet for vilt og ferskvannsfisk, Trondheim.

Fossøy, F., J. Thaulow, M. Anglès d'Auriac, H. Brandsegg, R. Sivertsgård, T. A. Mo, O. T. Sandlund, og T. Hesthagen. 2018. Bruk av miljø-DNA som supplerende verktøy for overvåking og kartlegging av fremmed ferskvannsfisk. NINA Rapport 1586.

Goldberg, C. S., C. R. Turner, K. Deiner, K. E. Klymus, P. F. Thomsen, M. A. Murphy, S. F. Spear, A. McKee, S. J. Oyler-McCance, R. S. Cornman, M. B. Laramie, A. R. Mahon, R. F. Lance, D. S. Pilliod, K. M. Strickler, L. P. Waits, A. K. Fremier, T. Takahara, J. E. Herder, og P. Taberlet. 2016. Critical considerations for the application of environmental DNA methods to detect aquatic species. *Methods in Ecology and Evolution* 7:1299-1307.

Gregersen, H. 2023. Marker kommune v/Haldensvassdraget vannområde. Ideløsning for passasje for ål i Haldensvassdraget ved Tistedal og Brekke. Oppdragsrapport Norconsult dokumentnr. 52300413\_550\_01.

Gustavson, M. S., P. C. Collins, J. A. Finarelli, D. Egan, R. O. Conchuir, G. D. Wightman, J. J. King, D. T. Gauthier, K. Whelan, J. E. L. Carlsson, og J. Carlsson. 2015. An eDNA assay for Irish *Petromyzon marinus* and *Salmo trutta* and field validation in running water. *Journal of Fish Biology* 87:1254-1262.

Heibo, E., og L. A. Vøllestad. 2002. Life-history variation in perch (*Perca fluviatilis* L.) in five neighbouring Norwegian lakes. *Ecology of Freshwater Fish* 11:270-280. Heier, O.-H., and A. Haga. 2023. Ferskvannsfisk i Østfold. *Østfold-Natur* 77:152 sider.

Hesthagen, T., O. T. Sandlund, og Å. Brabrand. 2012. Forekomst og status for gjørs *Stizostedion lucioperca* i Norge. *Fauna* 65:2-12.

Hesthagen, T., A. Vøllestad, B. Å. J. Enerud, A. Fjellheim, B. M. Larsen, O. T. Sandlund, K. Sandaas, E. Schartum, og I. Spikkeland. 2021a. Utbredelsen av bekkeniøye i norske vassdrag. *Fauna* 74:48-67.

Hesthagen, T., A. Vøllestad, og F. Økland. 2020. Forekomsten av havniøye i norske elver. *Fauna* 73:66-81.

Hesthagen, T., R. Wienerroither, O. Bjelland, I. Byrkjedal, P. Fiske, A. Lynghammar, K. Nedreaas, og N. Straube. 2021b. Fisker: Vurdering av ål *Anguilla anguilla* for Norge. Rødlista for arter 2021. Rødlista for arter 2021. Artsdatabanken. <http://www.artsdatabanken.no/lister/rodlisteforarter/2021/1381>. Nedlastet 01.11.2024.

Huitfeldt-Kaas, H. 1918. Ferskvandfiskenes utbredelse og indvandring i Norge, med et tillegg om krebsen. Centraltrykkeriet, Kristiania.

Lynch, T. F. 2023. Comparing qPCR and eDNA- metabarcoding for detection of elusive lampreys. Master of science oppgave, Universitetet of Oslo, Oslo.

Miya, M., Y. Sato, T. Fukunaga, T. Sado, J. Y. Poulsen, K. Sato, T. Minamoto, S. Yamamoto, H. Yamanaka, H. Araki, M. Kondoh, og W. Iwasaki. 2015. MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society Open Science* 2:150088.

Ogle, D. H. 1998. A synopsis of the biology and life history of ruffe. *Journal of Great Lakes Research* 24:170-185.

Ørjasæter, H. 1993. Mort- og abborpopulasjoner i forsøringsrammede skogstjern i Setten- og Rømsjøvassdragene i Akershus og Østfold. Cand. scient. oppgave, Universitetet i Oslo.

- Pawlowski, J., L. Apothéoz-Perret-Gentil, og F. Altermatt. 2020. Environmental DNA: What's behind the term? Clarifying the terminology and recommendations for its future use in biomonitoring. *Molecular Ecology* **29**: 4258-4264.
- Ramberg, I. B., I. Bryhni, og A. Nøttvedt, redaktører. 2006. Landet blir til. Norges geologi. Norges Geologiske Forening (NGF), Trondheim.
- Selbekk, L. K., J. Bergerud, E. Kollerud, og N. A. Krøgenes. 2020. Kartlegging av ål i Haldenvassdraget. Prøvefiske med åluser i Bjørkelangen, Rødenesjøen, Aremarksjøen og Femsjøen. Havass Fiskelag AS, Rapport 10.12.2020.
- Skov, C., M. C. Lucas, og L. Jacobsen. 2018. Spatial ecology. Pages 83-120 i C. Skov and P. A. Nilsson, redaktører. *Biology and ecology of pike*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Spikkeland, I. 2014. Biologisk mangfold i Haldenvassdraget. Om planter og dyr knyttet til vann i vassdragets nedbørfelt. Østfoldmuseene, avd. Haldenvassdragets Kanalmuseum, Rapport 1/2014.
- Spikkeland, I. 2015. Biologisk overvåkning av Haldenvassdraget. Bunndyr i eutrofe elver og bekker høst 2014. Oppsummering av bunndyrundersøkelsene 2008-2014. Østfoldmuseene, avd. Haldenvassdragets Kanalmuseum, Rapport 1/2015.
- Spikkeland, I., og S. H. Basnes. 2009. Asp påvist i Haldenvassdraget, Akershus/Østfold. *Fauna* **62**:66-71.
- Stapanian, M. A., V. L. Paragamian, C. P. Madenjian, J. R. Jackson, J. Lappalainen, M. J. Evenson, og M. D. Neufeld. 2010. Worldwide status of burbot and conservation measures. *Fish and Fisheries* **11**:34-56.
- Vašek, M., A. P. Eloranta, I. Vejříková, P. Blabolil, M. Říha, T. Jůza, M. Šmejkal, J. Matěna, J. Kubečka, og J. Peterka. 2018. Stable isotopes and gut contents indicate differential resource use by coexisting asp (*Leuciscus aspius*) and pikeperch (*Sander lucioperca*). *Ecology of Freshwater Fish* **27**:1054-1065.
- Vøllestad, L. A. 1983a. Fiskebestandene i Bjørkelangen, Øgderen og Rødenesjøen. En fiskeribiologisk undersøkelse i forbindelse med forurensningen av Haldenvassdraget. Fiskeribiologiske undersøkelser i Haldenvassdraget, Rapport nr. 2.
- Vøllestad, L. A. 1983b. Resultat av prøvegarnfiske i Bjørkelangen, Øgderen og Rødenesjøen sommeren 1982. Fiskeribiologiske undersøkelser i Haldenvassdraget, Rapport nr. 1.
- Vøllestad, L. A. 1985. Horkens biologi i Haldenvassdraget. *Fauna (Blindern)* **38**:13-17.
- Vøllestad, L. A. 1992. Age, growth and food of the burbot *Lota lota* in two eutrophic lakes in southeast Norway. *Fauna norvegica Serie A* **13**:13-18.
- Vøllestad, L. A. 2023. A paradoxical bias in knowledge about Norwegian freshwater fishes: research efforts during 1980-2020. *Fauna norvegica* **42**:6-30.
- Vøllestad, L. A., J. Skurdal, og T. Qvenild. 1986. Habitat use, growth, and feeding of pike (*Esox lucius* L.) in four Norwegian lakes. *Archiv für Hydrobiologie* **108**:107-117.
- Zancolli, G., A. Foote, M. Seymour, og S. Creer. 2018. Assessing lamprey populations in Scottish rivers using eDNA: proof of concept. Scottish Natural Heritage Commissioned Report **984**:i-iv, 1-20.

# Systad Prosjekt AS

Prosjekt- og byggeledelse av VA-anlegg

Sognsveien 75A, 0855 OSLO • Telefon: 22 58 06 80

E-mail: [post@systad.no](mailto:post@systad.no) • [www.systad.no](http://www.systad.no)