

Torbjørn Ekrem, Markus Majaneva, Elisabeth Stur, Mohsen Falahati-Anbaran, Guttorm Christensen, Ann Kristin Schartau, Elianne Egge, Sonja Kistenich og Anette Engesmo

Overvåkning av fjærmygg i innsjøer med bruk av miljø-DNA

NTNU Vitenskapsmuseet
naturhistorisk notat 2025-6



NTNU Vitenskapsmuseet naturhistorisk notat 2025-6

Torbjørn Ekrem, Markus Majaneva, Elisabeth Stur, Mohsen Falahati-Anbaran, Guttorm Christensen, Ann Kristin Schartau, Elianne Egge, Sonja Kistenich og Anette Engesmo

Overvåkning av fjærmygg i innsjøer med bruk av miljø-DNA

NTNU Vitenskapsmuseet naturhistorisk notat

Dette er en elektronisk serie fra 2013 som erstatter tidligere Botanisk notat og Zoologisk notat. Serien er ikke periodisk, og antall nummer varierer per år. Notatserien benyttes til rapportering fra mindre prosjekter og utredninger, datadokumentasjon, statusrapporter, samt annet materiale som ikke har en endelig bearbeidelse.

Tidligere utgivelser: <http://www.ntnu.no/web/museum/publikasjoner>

Referanse

Ekrem, T., Majaneva, M., Stur, E., Falahati-Anbaran, M., Christensen, G., Schartau, A.K., Egge, E., Kistenich, S. & Engesmo, A. 2025. Overvåkning av fjærmygg i innsjøer med bruk av miljø-DNA. – NTNU Vitenskapsmuseet naturhistorisk notat 2025-6: 1-24.

Trondheim, juni, 2025

Utgiver

NTNU Vitenskapsmuseet
Institutt for naturhistorie
7491 Trondheim
Telefon: 73 59 22 80
e-post: post@vm.ntnu.no

Ansvarlig signatur

Ingrid Ertshus Mathisen (instituttleder)

Publiseringstype

Digitalt dokument (pdf)

Forsidefoto

Fra vannprøvetaking i Selbusjøen. Foto: Mohsen Falahati-Anbaran.

www.ntnu.no/museum

ISBN 978-82-8322-423-8
ISSN 1894-0064

Sammendrag

Ekrem, T., Majaneva, M., Stur, E., Falahati-Anbaran, M., Christensen, G. Schartau, A.K., Egge, E., Kistenich, S. & Engesmo, A. 2025. Overvåkning av fjærmygg i innsjøer med bruk av miljø-DNA – NTNU Vitenskapsmuseet naturhistorisk notat 2025-6: 1-24.

DNA-metastrekkoding av filtrerte vannprøver gjør det mulig å påvise arter i et miljø uten å samle inn selve organismene. Metoden har vist seg lovende for identifisering av bunndyr i rennende vann, men det finnes få studier som vurderer hvor godt den egner seg til å påvise denne artsgruppen i lotiske miljøer.

Fjærmygg (Diptera: Chironomidae) er blant de mest artsrike insektgruppene i ferskvann, men har vært lite brukt i norsk miljøovervåkning. Dette skyldes i stor grad at morfologisk artsidentifisering er tidkrevende og krevende. Med et godt utbygd referansebibliotek for norske fjærmyggarter basert på DNA-strekkoder, åpner metastrekkoding for effektiv og nøyaktig identifisering, noe som kan gjøre fjærmygg til en realistisk indikatorgruppe i fremtidig overvåkning – særlig i innsjøer med lav bunndyrdiversitet.

I dette studiet undersøkte vi om metastrekkoding av filtrerte vannprøver kunne påvise fjærmyggarter i Selbusjøen (Trøndelag) samt i Diesetvassdraget og Linnévassdraget på Spitsbergen, og hvor robust denne påvisningen er mellom biologiske replikater. I Selbusjøen ble det påvist DNA fra over 200 arter, men mange arter ble kun registrert i én av tre replikater, noe som indikerer lav robusthet. Det var også liten overlap mellom artssammensetning i vannprøver og det som ble registrert med tradisjonelle metoder som sparkeprøver og sedimentprøver. Som forventet ble det påvist mange terrestriske og lotiske arter nær bekke- og elveutløp.

Resultatene viser at metastrekkoding har potensial for bruk av fjærmygg i biomonitorering, men at det er behov for videre undersøkelser for å avklare om filtrert vann eller sedimentprøver best egner seg til å påvise stedeegne arter, og hvor mange replikater som kreves for en pålitelig deteksjon. I tillegg bør eksperimentell prøvetaking gjennomføres for å forstå hvordan miljø-DNA fra fjærmygg distribueres både horisontalt og vertikalt i innsjøsystemer.

Nøkkelord: Chironomidae – metastrekkoding – Spitsbergen – Trøndelag – vannprøver

Torbjørn Ekrem¹, Markus Majaneva², Elisabeth Stur¹, Mohsen Falahati-Anbaran¹, Guttorm Christensen³, Ann Kristin Schartau², Elianne Egge⁴, Sonja Kistenich⁴ og Anette Engesmo⁴

¹ NTNU Vitenskapsmuseet, Institutt for naturhistorie, NO-7491 Trondheim

² Norsk institutt for naturforskning (NINA), Postboks 5685 Torgarden, NO-7485 Trondheim

³ Akvaplan-niva, Postboks 6606 Stakkevollan, 9296 Tromsø

⁴ Norsk institutt for vannforskning (NIVA), Økernveien 94, 0579 Oslo

Innhold

Sammendrag	3
Forord	5
1 Innledning	6
2 Metode	8
2.1 Selbusjøen	8
2.2 Diesetvassdraget	9
2.3 Linnévassdraget	9
3 Resultater	10
3.1 Selbusjøen	10
3.2 Linnévassdraget	19
4 Diskusjon og konklusjon	20
5 Forslag til videre arbeid	22
6 Referanser	23

Forord

I dette prosjektet ønsket vi å undersøke om analyser av miljø-DNA (eDNA) gir et pålitelig bilde av artsmangfold og artssammensetning av fjærmygg – både i litoral- og profundalsonen – i Selbusjøen (Trøndelag), samt i Diesetvassdraget og Linnévassdraget på Spitsbergen. Dersom metodikken viser seg treffsikker, vil dette kunne danne grunnlaget for en større studie med mål om å utvikle en kvalitetsindeks basert på fjærmygg i innsjøer.

Prosjektet møtte flere utfordringer under feltarbeidet. Værforholdene var krevende, med flom i Selbusjøen og en uvanlig sen vår på Spitsbergen i 2023. Til tross for dette lyktes prosjektgruppen – bestående av representanter fra NTNU Vitenskapsmuseet, NINA, NIVA og Akvaplan-niva – i å gjennomføre nødvendig prøvetaking for de molekylære analysene. I etterkant oppsto også enkelte laboratoriemessige utfordringer som førte til forsinkelser i databehandlingen.

Resultatene viser at det kan være krevende å oppnå konsistente artsregistreringer med miljø-DNA for fjærmygg. Samtidig fremkommer et imponerende mangfold av arter, noe som understreker det store potensialet metoden har for fremtidig overvåkning av vann og vassdrag.

En stor takk rettes til alle som har bidratt til prosjektet, særlig Erik Friele Lie (NINA) og Stig Lasse Rosendal (Statens naturoppsyn) for uvurderlig hjelp med båttransport og prøvetaking i Selbusjøen.

Prosjektet ble finansiert av Miljødirektoratet under avtalenummer 23087459

Trondheim, 8. juni, 2025

Torbjørn Ekrem

1 Innledning

Overvåking av norske innsjøer er forankret i vannforskriftens vedlegg V, og innsjøer skal klassifiseres mht. økologisk tilstand basert på biologiske, fysisk-kjemiske og hydromorfologiske kvalitetselementer (KE'er; Miljødirektoratet 2025). Av de biologiske KE'er representerer planteplankton, dyreplankton og fisk pelagisk sone i innsjøer mens vannplanter, bunndyr (makroinvertebrater) og fisk representerer innsjøenes grunnvannsområder (litoralsonen). Prøver fra innsjøenes dype bunnområder (profundalen) benyttes ikke per i dag. Heller ikke bunndyr fra litoralsonen benyttes i overvåking av de fleste store sjøer (ØKOSTOR: Økosystemovervåking i store innsjøer) på grunn av vanskelige bunnforhold i litoralsonen i regulerte innsjøer. Bunnprofilen til de fleste norske innsjøer er dessuten bratt, noe som resulterer i en smal litoralsone og en bred profundalsone. Økt tilførsel av næringsstoffer til innsjøer resulterer i økt produktivitet med påfølgende økning i tilførselen av organisk materiale til profundalsonen. Som følge av dette kan organismer i profundalsonen gi en god indikasjon på nåværende og tidligere endringer i innsjøenes produktivitet og kan brukes i vurderingen av økologisk tilstand til en gitt innsjø (Lang & Lods-Crozet 1997, Brodersen & Lindegaard 1999).

Både leddormer og fjærmygg anses som svært gode indikatorer for oksygentilstand (Brundin 1949) og trofisk tilstand (Sæther 1979) i profundalen. Av disse to taksonomiske gruppene er fjærmygg sannsynligvis den mest nyttige indikatoren for trofisk tilstand ettersom de er en av de mest artsrike insektfamiliene i norske ferskvann, forekommer over hele spekteret av næringsforhold og har enkeltarter med spesifikke miljøtoleranser (Cortelezzi m.fl. 2020). Artssammensetningen av fjærmygg endres langs gradienten av næringssalter (fosfor og nitrogen) og pH i innsjøer (Ruse 2015), og bruk av fjærmygg for å klassifisere norske innsjøer i forhold til eutrofiering har vist seg å fungere godt (Aagaard 1986). Fjærmygg har også blitt benyttet for å undersøke effekten av kalking av forsurede vassdrag i Sør-Norge (Lindstrøm m.fl. 2005).

Fjærmygg er blant de mest hyppig forekommende og artsrike insektgruppene i arktiske områder og på Svalbard alene er det kjent mer enn 70 arter (Stur & Ekrem, 2020). Et flertall av artene har akvatiske larver og pupper, og fjærmygg er dermed en mulig god gruppe for miljøovervåking av arktiske vassdrag, i motsetning til andre akvatiske insektgrupper, f.eks. døgnfluer, vårfluer og steinfluer, som er artsfattigere i polare strøk.

Å bestemme fjærmygglarver til art basert på morfologiske karakterer innenfor rimelig tidsbruk er svært krevende. Det store antallet arter innenfor vidt utbredte slekter og mangel på artsdiagnostiske larvekarakterer i flere grupper hemmer derfor bruk av fjærmygg som indikator. I tillegg må gjerne et stort antall individer prepareres for lysmikroskopi for sikker identifisering. Ved å benytte DNA-baserte metoder kan derimot alle fjærmygglarver i miljø-prøver identifiseres med mye større sikkerhet og objektivitet så lenge det eksisterer et kvalitetssikret referansebibliotek. Referansebiblioteket til norske fjærmygg har god dekning, ca. 85% av de kjente norske artene (564/660) har en strekkekode i Barcode of Life Data Systems (BOLD) noe som gjør DNA-basert identifikasjon enda mer pålitelig. Derfor er det betimelig å ta opp igjen fjærmygg som en mulig gruppe for overvåking av økologisk tilstand i norske innsjøer, spesielt om miljø-DNA gir troverdige oversikter over artssamfunn. Undersøkelser der miljø-DNA har blitt benyttet til identifisering av fjærmyggsamfunn i britiske innsjøer har gitt lovende resultater og vist at metoden kan benyttes til registrering av arter gjennom hele året (Bista m.fl. 2017).

I dette prosjektet har vi testet potensialet for fjærmygg i innsjøovervåking ved miljø-DNA prøvetaking i Selbusjøen i Trøndelag og Linné- og Disetvassdraget på Spitsbergen.

Selbusjøen er en del av Nea-Nidelvvassdraget som tilhører vannregion Trøndelag. Den er typifisert som en svært stor (areal: > 50 km²), dyp (middel dyp: >15 m), kalkfattig (kalsium: 1-4 mg Ca/l) og klar (farge: 10-30 mg Pt/L) lavlandssjø (høyde over havet: <200 m o.h.) iht. vannforskriftens typologi. Innsjøen har vært regulert siden 1919 og har en regulerings høyde på 6,3 m (vinternedtapping på 4,7 m). Som en følge av dette variere vannstanden mellom 161,3 og 155 m o.h. Selbusjøen har et overflateareal på 57 km² og et største dyp på 206 m. Middeldypet er beregnet til 70 m og vannets oppholdstid til 1,42 år. Innsjøens nedbørfelt består av 37 % snaufjell, 35 % skog,

13 % myr, 8 % vann og 2 % dyrket mark. Områdene rundt den østlige delen av sjøen er tettest befolket, mens vestover er det bare spredt bebyggelse. Det er en del jordbruksvirksomhet i den sør-østlige delen. Selbusjøen er undersøkt årlig siden 2017 som en del av det nasjonale overvåkingsprogrammet ØKOSTOR. Før den tid ble det også gjort enkelte undersøkelser av Selbusjøen, særlig mht. dyreplankton og fisk, men data på fjærmygg foreligger ikke.

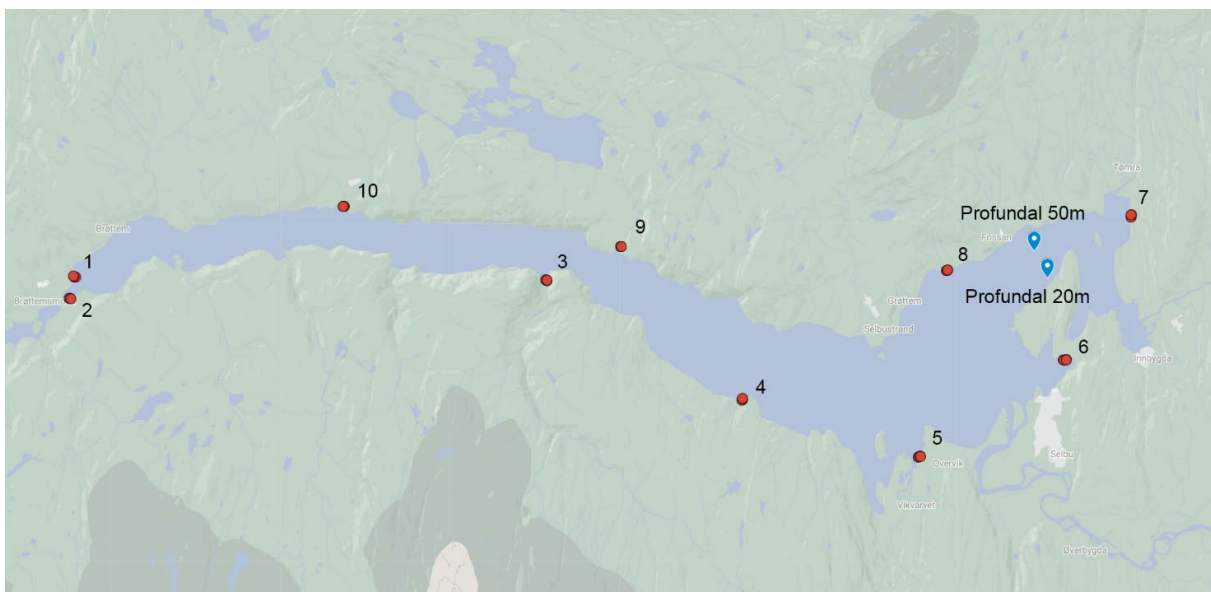
Diesetvassdraget består av Nordre- og Søre Diesetvatnet samt Diesetelva som drenerer Søre Diesetvatnet og fører ut til vestkysten av Mitrahalvøya, nord for Ny-Ålesund. Diesetvassdraget inkludert Søre Diesetvatnet og Diesetelva er inkludert i det nasjonale overvåkingsprogrammet Konsept for integrert klimaovervåking i vann (IKO-Svalbard) som ble etablert i 2022. Diesetvassdraget ble første gang undersøkt som en del av dette programmet i 2023, og skal etter planen undersøkes på nytt i 2025 og 2027. Det tas prøver (basert på sparkemetoden og plukk) fra litoralsonen i Søre Diesetvatnet og fra Diesetelva til bestemmelse av fjærmygg. Identifiseringen av fjærmygglarver baseres på morfologiske kriterier og DNA-analyser. Tidligere er det gjort bunndyrundersøkelser i Søre Diesetvatnet (Hansen 1983) og Diesetelva (upubliserede data fra 2014), men bestemmelse av fjærmygglarvene varierer mht. taksonomisk nivå (fra art til subfamilie).

Linnéassdraget ligger i Linnédalen ytterst i Isfjorden. Det består av Linnéelva som drenerer mot nord og det 4,6 km² store Linnévatnet som er Svalbards største innsjø med anadrom røye (Svenning m.fl. 2020). Linnévatnet er en svært næringsfattig, monomiktisk innsjø som vanligvis er islagt rundt ni måneder i året (Brittain m.fl. 2020, Svenning 2015). Nedre del av Linnéelva som drenerer ut i Isfjorden ved Russekeila er en relativt bred ca. 2 km lang elv. Linnéassdraget inkludert Linnévatnet og Linnéelva er en del av overvåkingsprogrammet IKO Svalbard. Linnéassdraget ble undersøkt som en del av dette programmet i 2022, og på nytt i 2024, og skal etter planen også undersøkes i 2026. Tidligere har det blitt utført en rekke undersøkelser både av røyebestand, bunndyr og plankton i Linnéassdraget (Brittain m.fl. 2020; Svenning m.fl. 2007, 2020).

2 Metode

2.1 Selbusjøen

Vannprøver, 3 x 5 L, ble tatt ved alle 10 litoralstasjoner rundt Selbusjøen som benyttes i det nasjonale overvåkningsprogrammet ØKOSTOR. Til dette ble det benyttet en 7 m lang stav for å føre munningen av en sterilisert silikonslange ca. 20 cm under vannoverflaten. Vannet ble pumpet gjennom slangen og filteret mens munningen ble flyttet sideveis for å dekke et størst mulig område med samme radius fra der prøvetakeren stod. I tillegg ble det tatt 3 x 5 L prøver av vannsøylen noen meter over bunnen i profundalsonen på ca. 50 m eller 20 m dybde med en vannhenter. Prøvetakingen ved profundalen foregikk samtidig med prøvetakingen i ØKOSTOR for å dra nytte av felles logistikk, tre ganger i løpet av sesongen. Vannprøvene fra litoralen ble tatt i samme uke som bunndyrprøvene i ØKOSTOR ble samlet inn. Vannprøvene ble filtrert på lukkede filtre (5,0 µm GF-forfilter og 0,8 µm PES-filter, NatureMetrics), og fiksert på ATL buffer (Qiagen). DNA ble ekstrahert på NINAGEN med å tilsette proteinase K (Qiagen) til kapselfiltrene før de ble inkubert over natt. DNA ble isolert fra kapselfiltrene ved hjelp av et NucleoSpin Plant II (Machery-Nagel) DNA ekstraksjonssett. Strekkodemarkøren COI for bunndyr inkludert Diptera ble amplifisert med primer fwhF2/EPTDr2n utviklet av Leese m.fl. (2021) og med primersettet BF3/BR2 utviklet av Elbrecht m.fl. (2019). Alle amplifikasjoner ble kjørt i en standard to-trinns 16S-Illumina protokoll med KAPA HiFi HotStart ReadyMix. En første PCR inkluderte primere med «overhang adaptor»-sekvenser, etterfulgt av en andre PCR for å tilsette Illumina-indekser (IDT for Illumina, DNA/RNA UD indexes). I motsetning til Leese m.fl. (2021) brukte vi en temperatur (56°C) og ikke touch-down protokoll i den første PCR. Hver prøve ble amplifisert i en PCR, både med fwhF2/EPTDr2n og med BF3/BR2. PCR-produktene ble kvalitetssjekket på en Tape Station (Agilent 4200) og rensert med magnetiske kuler (MAG-BIND RXN PURE PLUS) etter hver PCR. Sekvenseringsbibliotek ble sekvensert på Illumina Novaseq ved det Nasjonale sekvenseringssenteret, fwhF2/EPTDr2n med 2x150 bp og BF3/BR2 med 2x250 bp. Råsekvenser ble filtrert og kvalitetssikret etter Åström m.fl. (2023). Primerne ble fjernet med programmet cutadapt v. 1.9.1, og DNA-sekvensene ble deretter filtrert, kvalitetssikret og feilrettet med programmet dada2 (Callahan m.fl. 2016) for å generere ASV-er (Amplicon Sequence Variants). For å klassifisere ASV-ene til arter, brukte vi først programmet RDP-Classifer (Wang m.fl. 2007) og en referansedatabase for COI sammenstilt og utviklet ved NINA med basisdata fra offentlig tilgjengelige databaser. For å sikre RDP-identifikasjonene brukte vi blast (Zhang m.fl. 2000) mot denne NINA-databasen og NCBI GenBank nucleotide database.



Figur 1. Prøvetakingsstasjoner i Selbusjøen 2023. Kartgrunnlag fra Google Maps.

De sekvensene som ble identifisert som fjærmygg på denne måten, fikk til slutt en taksonomisk tilordning basert på BOLD v4 (Selbusjøen: 24 januar, 2025; Linnévasdraget: 1 april, 2025) som ble gjennomgått og revidert manuelt av taksonomiske eksperter på Chironomidae (E. Stur & T. Ekrem).

I tillegg har det blitt tatt 5 prøver av toppsedimenter fra profundalen med en Van Veen grabb i samme området som vannprøvene ble tatt. Sedimentet ble siktet gjennom en sil med porestørrelse på 250 μm og resterende sediment med dyr ble fiksert på 96% etanol. DNA ble ekstrahert fra sedimentprøvene ved forsiktig pipettering av etanol fra prøvene og tilsetning av Matrix D og Matrix A. Prøvematerial ble da homogenisert på FastPrep-96 (1600rpm, 120s). Etter det ble det tatt en delprøve på 0,5 ml som ble tørket i varmeskap, og deretter ble det tilsatt ATL buffer (Qiagen) og proteinase K (Qiagen), og prøvene ble inkubert over natt. DNA ble ekstrahert med King Fisher MagMax Tissue 2.0 og analysert på samme måte som miljø-DNA prøvene.

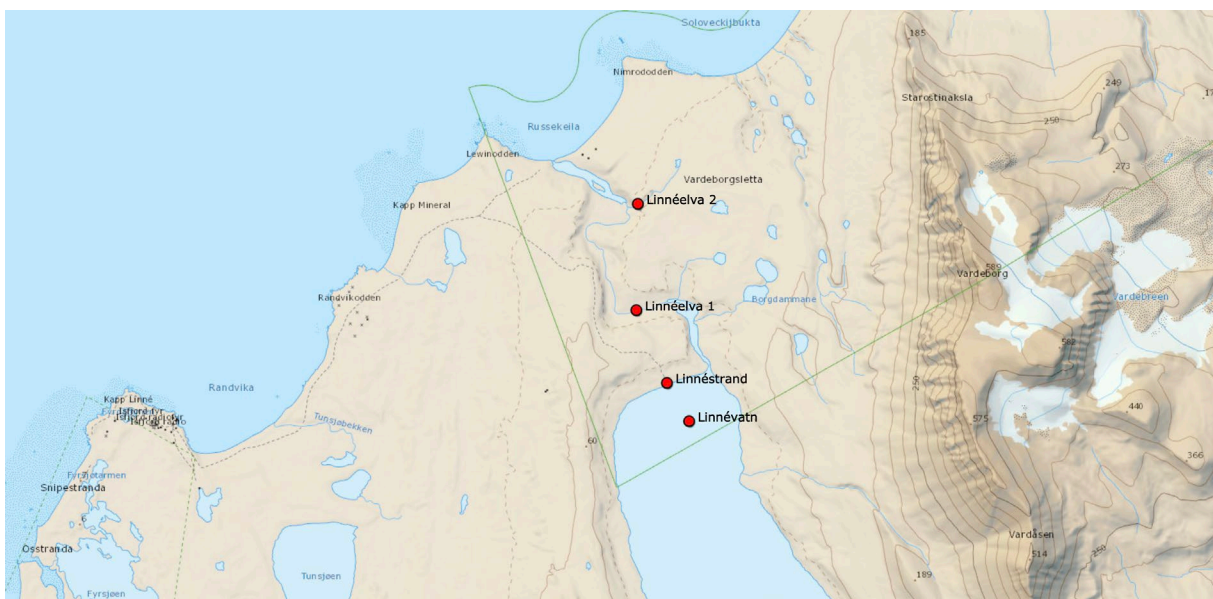
2.2 Diesetvassdraget

Vannprøver, 3 x 5 L, ble tatt ved fire stasjoner i Diesetvassdraget: To i Diesetelva og to i Søre Diesetvatnet. I tillegg ble det tatt 3 sparkeprøver á 1 min ved hver stasjon. Prøvetakingen foregikk samtidig med planlagt prøvetaking i prosjektet IKO-Svalbard for å dra nytte av felles logistikk.

2.3 Linnévasdraget

Vannprøver, 2 x 2,5 L, ble tatt ved fire stasjoner i Linnévasdraget i 2024 (figur 2). Linnévatn ble prøvetatt i juli og august, Linnéelva i juli, august og september. I noen tilfeller var det ikke mulig å filtrere 2,5 L fordi filteret tettet seg før hele vannprøven var filtrert. I tillegg ble det satt opp et Malaisetelt for innsamling av voksne fjærmygg for senere analyse i tilfelle miljø-DNA prøvene fra dette området inneholder spor fra arter som ennå ikke finnes i referansebiblioteket.

Totalt 20 miljø-DNA prøver ble analysert (+ negativ kontroll). Vannprøvene ble filtrert på stedet på 0,45 μm PES membranfilter (Merck Millipore) og fiksert på Qiagen ATL buffer. DNA ble ekstrahert etter standard metodikk på NIVA ved bruk av Qiagen Blood & Tissue der filtrerne på ATL ble tilsatt proteinase K og inkubert ved 56° C over natt før videre behandling. Strekkodemarkøren COI ble amplifisert med primerne BF3/BR2 (Elbrecht m.fl. 2019), med anbefalt bindingstemperatur 50° C. Libraries ble indeksert med Illumina adaptore, og sekvensert på én plate Illumina MiSeq v3 på det Nasjonale sekvenseringsenteret. Råsekvenser ble kvalitetssikret og identifisert på samme måte som sekvensene fra Selbusjøen.



Figur 2. Prøvetakingsstasjoner i Linnévasdraget. Kartgrunnlag fra TopoSvalbard, Polarinstituttet.

3 Resultater

All prøvetaking i Selbusjøen ble gjennomført i 2023. Prøvetaking i Diesetvassdraget ble også gjennomført i 2023, men på grunn av en uvanlig sen vår og en tidlig vinter ble det bare tid til en innsamlingsrunde (september). Ettersom vannprøvene ble samlet ved -10 °C kunne de ikke filtreres i felt og stod ett døgn i kanner før filtrering. Dette er ikke optimalt ettersom DNA i flytende vann nedbrytes raskt. I tillegg gikk filterprøvene som ble oppbevart på Akvaplan-niva tapt i forbindelse med at et fryserom sluttet å fungere. Prøvene fra Diesetvassdraget har derfor ikke gitt resultater. Prøvetakingen i Linnévassdraget ble gjennomført i 2024.

3.1 Selbusjøen

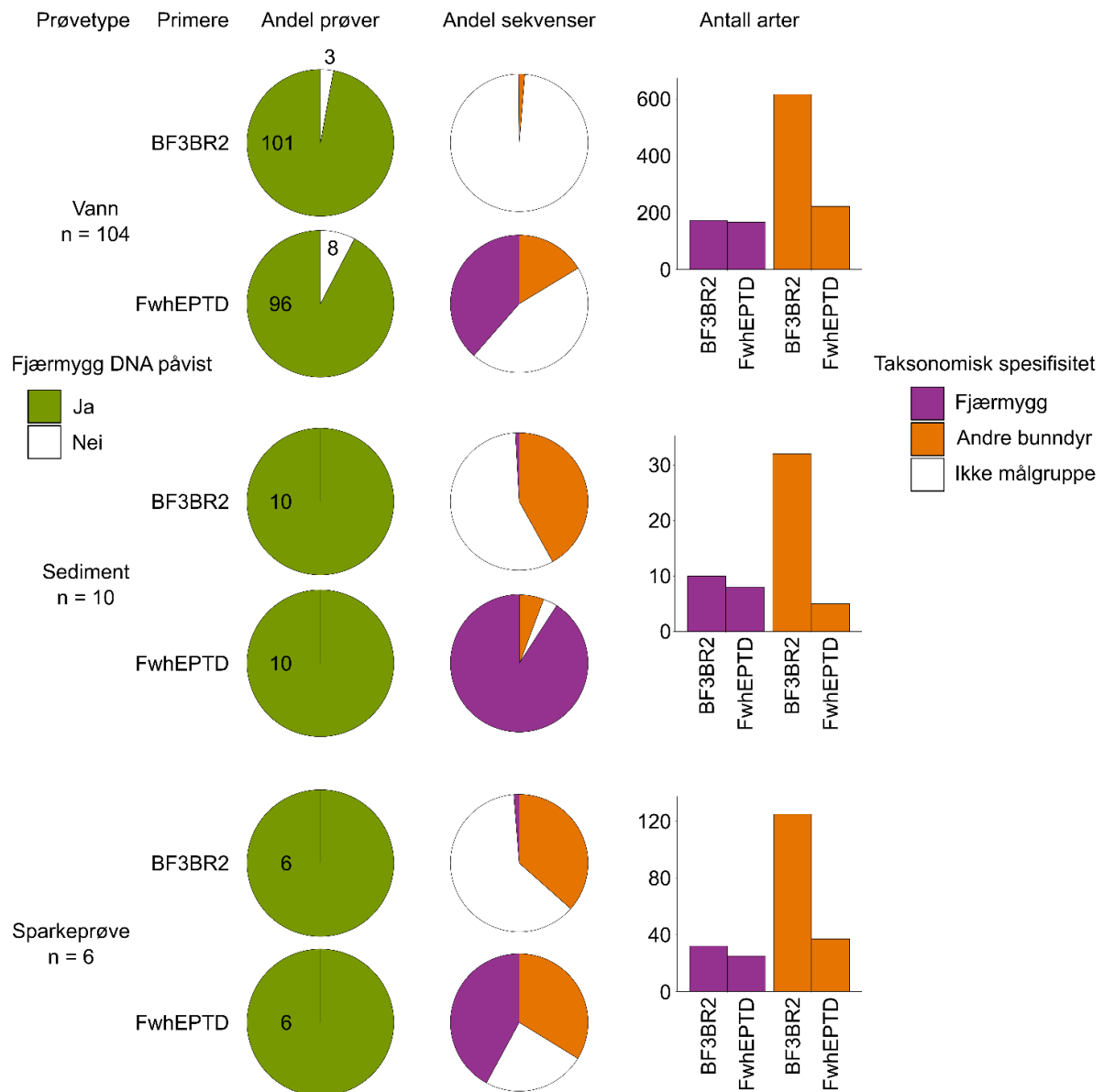
På grunn av utfordringer med protokoll for amplifisering av COI fragmentet med insektspesifikke primere (fwhF2/EPTDr2n) ved NINAGEN, ble sekvensdata generert senere enn opprinnelig planlagt i 2023. I de foreløpige resultatene med insektspesifikke primere fra prøvene som ble tatt Selbusjøen gjorde vi flere interessante observasjoner:

1. Det ble registrert totalt 209 ulike genetiske varianter av fjærmygg i prøvene fra Selbusjøen. Flere av disse tilhører samme art, så antall registrerte arter i prøvene er rundt 176. Av disse er rundt 64 arter kjent for å forekomme i innsjøer og andre lentiske miljøer.
2. Replikater av vannprøver fra den samme stasjonen påviser ikke alltid de samme artene. For eksempel ga miljø-DNA vannprøver fra 50m dyp treff på henholdsvis *Chironomus cingulatus* og *Stempellinella brevis* i en av tre replikater, mens *Tanytarsus lestagei* agg. ble registrert i alle tre replikatene.

Gitt de foreløpige resultatene besluttet vi å utføre ytterligere analyser av prøvene fra Selbusjøen med mer generelle primere for å øke datamengden og dermed gi et bedre grunnlag for konklusjoner. Dette ga oss muligheten til å vurdere innflytelsen av tilfeldig amplifisering av enkelte arters DNA fra miljøprøvene og et samlet datasett der flere av de biologiske replikatene ble representert.

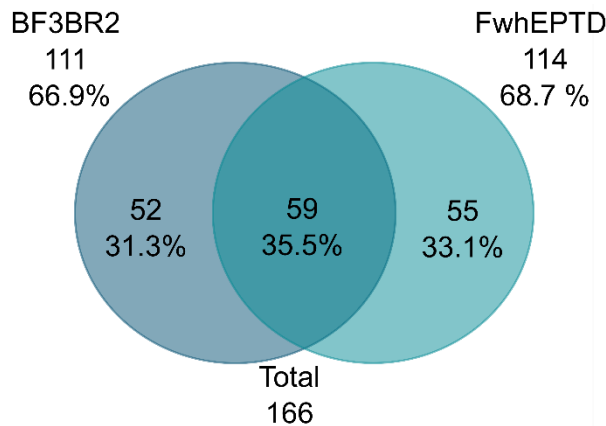
DNA fra fjærmygg ble registrert fra 101 av 104 vannprøver med primersettet BF3/BR2 og 96/104 vannprøver med primersettet fwhF2/EPTDr2n, mens fjærmygg ble registrert i alle sedimentprøver og sparkeprøver (figur 3). Andelen fjærmyggsekvenser og sekvenser fra andre bunndyr er betydelig høyere med markøren som har mer insektspesifikke primere (fwhF2/EPTDr2n), spesielt i vannprøvene (figur 3). Selv om sekvenser fra fjærmygg dominerer totalbildet for denne markøren, har det ingen påvirkning på antallet arter registrert (figur 3, stolpediagram). Samtidig observerer vi at de mer generelle primerne (BF3/BR2) påviser betydelig flere arter bunndyr enn de insektspesifikke primerne (fwhF2/EPTDr2n).

Stasjoner i nærheten av elve- og bekkeutløp registrerer mange arter som ikke tidligere er kjent fra innsjøer. For eksempel registrerte vi i prøver fra juni ved stasjon 10, nær utløpet av Drakstelva DNA fra lotiske arter i slekter som *Rheocricotopus* og *Rheotanytarsus*, samt terrestriske arter i slekter som *Smittia* og *Bryophaenocladus*. Dette skyldes transport av DNA fra disse artene ut i Selbusjøen og ikke tilstedeværelse av artene i lentiske miljø. På grunn av dette fokuserte vi de videre analysene på stasjoner som ikke ligger i umiddelbar nærhet til bekk- eller elveutløp, dvs. stasjonene 1, 2, 6, 7 og 8, samt profundalstasjonene (figur 1).



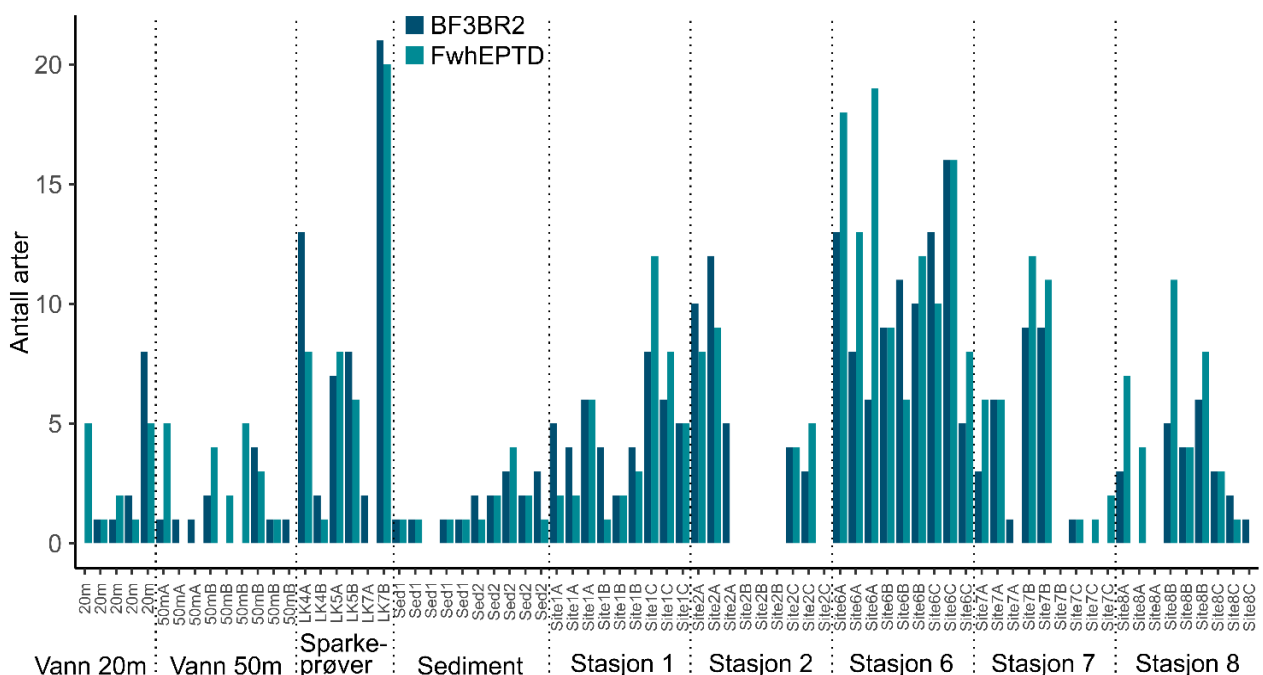
Figur 3. Andel prøver der DNA fra fjærmygg ble påvist (grønne sektordiagram); andel sekvenser fra fjærmygg, andre bunndyr og organismer utenfor målgruppene (flerfargede sektordiagram); antall arter av fjærmygg og andre bunndyr registrert med de to ulike markørene (stolpediagram).

De to ulike primersettene resulterte i relativt like resultater. BF3/BR2 settet ga 229 genetiske varianter som kunne tilordnes fjærmygg, mens fwhF2/EPTDr2n produserte 209 varianter. Ettersom markøren som amplifiseres med BF/BR2 er 418 bp, mens fwhF2/EPTDr2n-markøren bare er 142 bp, var dette som forventet siden en lengre markør har større sjanse for å akkumulere mutasjoner. En taksonomisk gjennomgang av de genetiske grupperingene i datasettet viser at de to markørene produserer relativt like artslister, men at en god del arter er unike for hvert av datasettene (tabell 1, figur 4). Dette kan skyldes stokastisk tilfeldig amplifisering, men også primer bias for enkelte taksa.



Figur 4. Arter registrert med bruk av primersett BF3/BF2 og fwhF2/EPTDr2n fra lokaliteter uten nærliggende innløpselv/bekk.

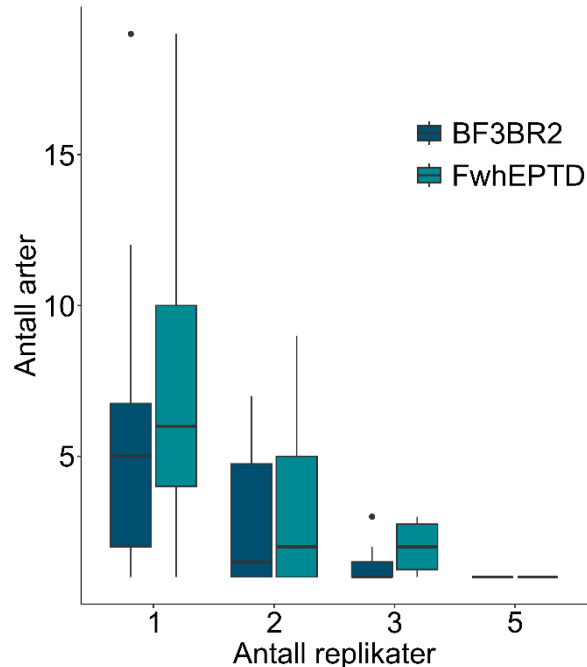
For litoralprøvene observeres det relativt stor variasjon i antall arter mellom biologiske replikater, mellom stasjoner og mellom årstider (figur 5). Antall arter per prøve for de ulike markørene følger et ganske likt mønster (korrelasjon mellom antall arter per prøve for markørene: 0,82) med et litt høyere gjennomsnitt av arter per prøve for de insektspesifikke primerne (fwhF2/EPTDr2n). Som ventet, påvises generelt flere arter i vannprøvene fra litoralsonen i forhold til profundalsonen.



Figur 5. Antall arter per prøve fra stasjoner i Selbusjøen mindre påvirket av miljø-DNA fra omliggende områder. Resultater fra primersettet BF3/BR2 og fwhF2/EPTDr2n. Vannprøver fra profundalsonen angitt med meter. Prøvenavn med «LK» angir sparkeprøver, «sed1» og «sed2» angir sedimentprøver fra profundalsonen. Litorale stasjoner er angitt med stasjonsnummer og bokstav for innsamlingstidspunkt: A = 14-15. juni, 2023; B = 4-5. august, 2023; C = 21-22. september, 2023.

Flere av stasjonene viste resultater som antyder usikker påvisning av arter fordi disse ikke ble oppdaget i mer enn en av de biologiske replikatene. Dette gjelder også for markøren amplifisert med det mer generelle primersettet (BF3/BR2). For eksempel ble 8 av 11 arter påvist i kun en av replikatene tatt ved stasjon 1 i juni. I juli var andelen 7 av 10 arter, mens det i september var 5 av 11. Tilsvarende mangel på overenstemmelse i påvisning av arter mellom biologiske replikater er

tydelig i resultatene fra de andre stasjonene, inkludert profundalstasjonene på 50 m og 20 m dybde der bare 3 av 18 arter ble påvist i mer enn en av fem vannprøver. figur 6 viser et sammendrag av hvor mange arter som ble påvist i en eller flere replikater fra samme prøvested og tidspunkt. For begge markørene ble det påvist flere arter i en replikat enn i to eller tre. Fem replikater ble bare gjennomført for vann og sediment i profundalsonen.



Figur 6. Antall arter til stede i replikater (gjentatt prøvetaking) fra samme sted og til samme tidspunkt i Selbusjøen. Fem replikater ble gjennomført for vann og sedimentprøver fra profundalsonen.

Det var lite samsvar mellom arter påvist i sedimentprøver og vannprøver fra profundalsonen. Mens sedimentprøvene inneholdt DNA fra forventede profundalarter som *Heterotrissocladus subpilosus*, *Micropsectra insignilobus*, *Stictochironomus sticticus* og *Monodiamesa bathyphila*, ble disse stort sett ikke påvist i vannprøvene fra samme stasjon. Et unntak er en vannprøve fra 50 m dybde som registrerte *Heterotrissocladus subpilosus*.

Samsvaret mellom påviste arter i sparkeprøver og vannprøver for stasjon 7 var noe bedre. *Chironomus* sp. 1, *Cricotopus* sp. 1, *Cricotopus sylvestris*, *Heterotrissocladus marcidus* og *Psectrocladius* sp. 4TE ble alle påvist i samme periode fra minst en vannprøve og en sparkeprøve. Enkelte innsjøarter som *Dicrotendipes* sp. 1 og *Micropsectra insignilobus* ble bare påvist i vannprøver, mens *Chironomus* sp. 4, *Parakiefferiella bathophila*, *Pseudochironomus* sp. 1 og *Synendotendipes* sp. 1ES bare ble funnet i sparkeprøver. *Cladotanytarsus nigrovittatus*, *Tanytarsus* sp. 1 og *Tanytarsus lestagei* aggr. ble registrert i en sparkeprøve fra juni og i vannprøver fra august.

Tabell 1. Liste over arter registrert med miljø-DNA fra Selbusjøen ved bruk av to ulike fragment av COI.

Underfamilie	Art	fwhF2/EPTDr2n	BF3/BR2
Chironominae	<i>Chironomus longistylus</i>		x
Chironominae	<i>Chironomus melanescens</i>	x	x
Chironominae	<i>Chironomus</i> sp. 1	x	x
Chironominae	<i>Chironomus</i> sp. 10TE		x
Chironominae	<i>Chironomus</i> sp. 1TE		x
Chironominae	<i>Chironomus</i> sp. 2		x
Chironominae	<i>Chironomus</i> sp. 2JM	x	
Chironominae	<i>Chironomus</i> sp. 3		x
Chironominae	<i>Chironomus</i> sp. 4TE	x	x
Chironominae	<i>Chironomus</i> sp. TE11	x	
Chironominae	<i>Chironomus storai</i>	x	x
Chironominae	<i>Cladotanytarsus atridorsum</i>	x	x
Chironominae	<i>Cladotanytarsus mancus</i> sp. 2TE	x	x
Chironominae	<i>Cladotanytarsus nigrovittatus</i>	x	x
Chironominae	<i>Cryptochironomus supplicans</i>		x
Chironominae	<i>Demicryptochironomus vulneratus</i>	x	x
Chironominae	<i>Dicotendipes modestus</i>	x	x
Chironominae	<i>Endochironomus albipennis</i>	x	
Chironominae	<i>Endochironomus tendens</i>	x	x
Chironominae	<i>Glyptotendipes signatus</i>	x	
Chironominae	<i>Kiefferulus tendipediformis</i>		x
Chironominae	<i>Micropsectra appendica</i>	x	x
Chironominae	<i>Micropsectra chionophila</i>	x	x
Chironominae	<i>Micropsectra contracta</i>	x	x
Chironominae	<i>Micropsectra insignilobus</i>	x	x
Chironominae	<i>Micropsectra junci</i>	x	x
Chironominae	<i>Micropsectra lacustris</i>	x	x
Chironominae	<i>Micropsectra logani</i>	x	x
Chironominae	<i>Micropsectra pallidula</i>	x	x
Chironominae	<i>Micropsectra recurvata</i>	x	x
Chironominae	<i>Micropsectra roseiventris</i>	x	
Chironominae	<i>Micropsectra</i> sp. 5SW		x
Chironominae	<i>Micropsectra uliginosa</i>	x	x
Chironominae	<i>Microtendipes brevitarsis</i>	x	
Chironominae	<i>Microtendipes confinis</i>	x	x
Chironominae	<i>Microtendipes nigellus</i>		x
Chironominae	<i>Microtendipes pedellus</i>	x	x
Chironominae	<i>Microtendipes</i> sp. 1ES	x	
Chironominae	<i>Neozavrelia</i> sp. 1ES	x	x
Chironominae	<i>Paracladopelma camptolabis</i>	x	x
Chironominae	<i>Paracladopelma laminatum</i>	x	x
Chironominae	<i>Paracladopelma nigrifulum</i>	x	x

Underfamilie	Art	fwhF2/EPTDr2n	BF3/BR2
Chironominae	<i>Paratanytarsus austriacus</i>	x	x
Chironominae	<i>Paratanytarsus grimmii</i>		x
Chironominae	<i>Paratanytarsus laccophilus</i>		x
Chironominae	<i>Paratanytarsus lauterborni</i>		x
Chironominae	<i>Paratanytarsus penicillatus</i>	x	
Chironominae	<i>Paratendipes albimanus</i>	x	
Chironominae	<i>Phaenopsectra flavipes</i>		x
Chironominae	<i>Polypedilum albicorne</i>	x	x
Chironominae	<i>Polypedilum convictum</i>		x
Chironominae	<i>Polypedilum cultellatum</i>		x
Chironominae	<i>Polypedilum pullum</i>	x	x
Chironominae	<i>Polypedilum quadriguttatum</i>	x	x
Chironominae	<i>Polypedilum tuberculum</i>	x	x
Chironominae	<i>Polypedilum uncinatum</i>	x	
Chironominae	<i>Pseudochironomus prasinatus</i>	x	x
Chironominae	<i>Rheotanytarsus distinctissimus</i>	x	x
Chironominae	<i>Rheotanytarsus ringei</i>		x
Chironominae	<i>Sergentia coracina</i>		x
Chironominae	<i>Sergentia prima</i>		x
Chironominae	<i>Sergentia</i> sp. 2TE		x
Chironominae	<i>Stempellinella brevis</i>	x	x
Chironominae	<i>Stenochironomus</i> sp. 16XL		x
Chironominae	<i>Stictochironomus maculipennis</i>	x	x
Chironominae	<i>Stictochironomus rosenschoeldi</i>		x
Chironominae	<i>Stictochironomus</i> sp. 3TE		x
Chironominae	<i>Stictochironomus sticticus</i>	x	x
Chironominae	<i>Synendotendipes luski</i>		x
Chironominae	<i>Synendotendipes</i> sp. 1ES	x	x
Chironominae	<i>Tanytarsus arduennensis</i>	x	x
Chironominae	<i>Tanytarsus bathophilus</i>	x	x
Chironominae	<i>Tanytarsus brundini</i>	x	x
Chironominae	<i>Tanytarsus eminulus</i>	x	
Chironominae	<i>Tanytarsus inaequalis</i>		x
Chironominae	<i>Tanytarsus nemorosus</i>	x	
Chironominae	<i>Tanytarsus occultus</i>	x	
Chironominae	<i>Tanytarsus</i> sp. <i>lestagei</i> aggregat	x	x
Chironominae	<i>Tanytarsus thomasi</i>		x
Chironominae	<i>Tanytarsus usmaensis</i>	x	x
Diamesinae	<i>Diamesa bohemani</i>		x
Diamesinae	<i>Diamesa hyperborea/tonsa</i>	x	
Diamesinae	<i>Potthastia longimanus</i>	x	x
Diamesinae	<i>Potthastia</i> sp. 1	x	
Orthoclaadiinae	<i>Acricotopus lucens</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Brillia bifida</i>	x	x

Underfamilie	Art	fwhF2/EPTDr2n	BF3/BR2
Orthocладиinae	<i>Brillia longifurca</i>	x	
Orthocладиinae	<i>Bryophaenocladus aestivus</i>	x	x
Orthocладиinae	<i>Bryophaenocladus flexidens</i>	x	x
Orthocладиinae	<i>Bryophaenocladus ictericus</i>	x	
Orthocладиinae	<i>Bryophaenocladus nitidicollis</i>	x	x
Orthocладиinae	<i>Bryophaenocladus</i> sp. 6ES	x	x
Orthocладиinae	<i>Cardiocladus capucinus</i>		x
Orthocладиinae	<i>Chaetocladus elisabethae</i>	x	x
Orthocладиinae	<i>Chaetocladus perennis</i>	x	
Orthocладиinae	<i>Chaetocladus piger</i>		x
Orthocладиinae	<i>Chaetocladus</i> sp. 1		x
Orthocладиinae	<i>Corynoneura arctica</i>	x	x
Orthocладиinae	<i>Corynoneura edwardsi</i>	x	
Orthocладиinae	<i>Corynoneura fittkaui</i>		x
Orthocладиinae	<i>Corynoneura lacustris</i>	x	x
Orthocладиinae	<i>Corynoneura lobata</i>	x	x
Orthocладиinae	<i>Corynoneura</i> sp. 14ES	x	x
Orthocладиinae	<i>Corynoneura</i> sp. 15ES	x	x
Orthocладиinae	<i>Corynoneura</i> sp. 17ES	x	
Orthocладиinae	<i>Corynoneura</i> sp. 20ES	x	
Orthocладиinae	<i>Corynoneura</i> sp. 24ES		x
Orthocладиinae	<i>Corynoneura</i> sp. 25ES	x	x
Orthocладиinae	<i>Corynoneura</i> sp. 26ES		x
Orthocладиinae	<i>Corynoneura</i> sp. 4ES	x	x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus annulator</i>		x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus bicinctus</i>	x	x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus</i> cf. <i>curtus</i>		x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus festivellus</i>	x	x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus fuscus</i>	x	
Orthocладиinae	<i>Cricotopus osellai</i>	x	
Orthocладиinae	<i>Cricotopus pilatarsis</i>		x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus polaris</i>	x	x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus pulchripes</i>	x	x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus rufiventris</i>	x	
Orthocладиinae	<i>Cricotopus similis</i>		x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus skirwithensis</i>	x	x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus</i> sp. 16ES	x	x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus</i> sp. 1ES		x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus sylvestris</i>	x	x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus tibialis</i>		x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus tremulus</i>	x	x
Orthocладиinae	<i>Cricotopus triannulatus</i>	x	
Orthocладиinae	<i>Diplocladius cultriger</i>	x	
Orthocладиinae	<i>Eukiefferiella brevicar</i>		x

Underfamilie	Art	fwhF2/EPTDr2n	BF3/BR2
Orthoclaadiinae	<i>Eukiefferiella claripennis</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Eukiefferiella ilkleyensis</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Eukiefferiella minor</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Gymnometriocnemus brevitarsis</i>	x	
Orthoclaadiinae	<i>Gymnometriocnemus kamimegavirgus</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Gymnometriocnemus subnudus</i>	x	
Orthoclaadiinae	<i>Heleniella</i> sp. 6ES	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Heterotanytarsus apicalis</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Heterotrissocladus grimshawi</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Heterotrissocladus marcidus</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Heterotrissocladus subpilosus</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Hydrosmittia ruttneri</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Hydrosmittia</i> sp. 3ES	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Limnophyes asquamatus</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Limnophyes bidumus</i>	x	
Orthoclaadiinae	<i>Limnophyes edwardsi</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Limnophyes habilis</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Limnophyes margaretae</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Limnophyes minimus</i> sp. 1	x	
Orthoclaadiinae	<i>Limnophyes minimus</i> sp. 2		x
Orthoclaadiinae	<i>Limnophyes natalensis</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Limnophyes pentaplastus</i>	x	
Orthoclaadiinae	<i>Limnophyes schnelli</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Limnophyes</i> sp. 13ES	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Limnophyes</i> sp. 14ES		x
Orthoclaadiinae	<i>Limnophyes</i> sp. 3ES		x
Orthoclaadiinae	<i>Limnophyes aagaardi</i>	x	
Orthoclaadiinae	<i>Metriocnemus albolineatus</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Metriocnemus beringensis</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Metriocnemus eurynotus</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Metriocnemus picipes</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Metriocnemus</i> sp. 1SW	x	
Orthoclaadiinae	<i>Nanocladius dichromus</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Nanocladius</i> sp. 1	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus ashei</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus</i> cf. <i>abiskoensis</i>	x	
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus consobrinus</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus dentifer</i>	x	
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus frigidus</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus fuscimanus</i>	x	
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus</i> indet. BOLD:ABW5947		x
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus oblidens</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus rivicola</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus rubicundus</i>		x

Underfamilie	Art	fwhF2/EPTDr2n	BF3/BR2
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus schnelli</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus</i> sp. 1	x	
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus</i> sp. 11TE		x
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus</i> sp. 17ES	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus</i> sp. 18TE	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Orthocladus</i> sp. 2TE	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Paracricotopus niger</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Parakiefferiella bathophila</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Parakiefferiella coronata</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Parakiefferiella smolandica</i>	x	
Orthoclaadiinae	<i>Parametricnemus</i> sp. 1ES	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Parametricnemus stylatus adzharicus</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Paraphaenocladus exagitans</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Paraphaenocladus impensus</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Paraphaenocladus</i> indet.		x
Orthoclaadiinae	<i>Prosmittia jemtlandica</i>	x	
Orthoclaadiinae	<i>Psectrocladius oligosetus</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Psectrocladius psilopterus</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Psectrocladius</i> sp. 4TE	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Psectrocladius</i> sp. 5TE	x	
Orthoclaadiinae	<i>Psectrocladius</i> sp. 7TE		x
Orthoclaadiinae	<i>Psectrocladius ventricosus</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Psectrocladius zetterstedti</i>	x	
Orthoclaadiinae	<i>Pseudorthocladus</i> cf. <i>curtistylus</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Pseudorthocladus</i> cf. <i>filiformis</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Pseudorthocladus filiformis</i>	x	
Orthoclaadiinae	<i>Pseudorthocladus pilosipennis</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Pseudosmittia</i> cf. <i>angusta</i>	x	
Orthoclaadiinae	<i>Pseudosmittia forcipata</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Rheocricotopus effusus</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Rheocricotopus</i> sp. 3ES	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Smittia aterrima</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Smittia</i> cf. <i>stercoraria</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Smittia</i> sp. 10ES		x
Orthoclaadiinae	<i>Smittia</i> sp. 14ES	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Smittia</i> sp. 15ES		x
Orthoclaadiinae	<i>Smittia</i> sp. 16ES	x	
Orthoclaadiinae	<i>Smittia</i> sp. 24ES	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Smittia</i> sp. 3ES		x
Orthoclaadiinae	<i>Smittia</i> sp. 8ES	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Synorthocladus semivirens</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Thienemanniella caspersi</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Thienemanniella vittata</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Thienemanniella xena</i>	x	

Underfamilie	Art	fwhF2/EPTDr2n	BF3/BR2
Orthoclaadiinae	<i>Tokunagaia kibunensis</i>		x
Orthoclaadiinae	<i>Tokunagaia rectangularis</i>	x	
Orthoclaadiinae	<i>Tvetenia bavarica</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Tvetenia calvescens</i>	x	x
Orthoclaadiinae	<i>Tvetenia verralli</i>	x	x
Podonominae	<i>Parochlus kiefferi</i>		x
Prodiamesinae	<i>Monodiamesa bathyphila</i>	x	x
Prodiamesinae	<i>Prodiamesa olivacea</i>		x
Tanypodinae	<i>Ablabesmyia longistyla</i>	x	x
Tanypodinae	<i>Ablabesmyia monilis</i>	x	x
Tanypodinae	<i>Ablabesmyia</i> sp. 1ES	x	x
Tanypodinae	<i>Apsectrotanypus trifascipennis</i>	x	x
Tanypodinae	<i>Arctopelopia barbitarsis</i>	x	x
Tanypodinae	<i>Conchapelopia hittmairorum</i>		x
Tanypodinae	<i>Conchapelopia melanops</i>	x	x
Tanypodinae	<i>Krenopelopia</i> sp.		x
Tanypodinae	<i>Krenopelopia</i> sp. 1	x	
Tanypodinae	<i>Macropelopia adaucta</i>		x
Tanypodinae	<i>Macropelopia nebulosa</i>	x	
Tanypodinae	<i>Macropelopia</i> sp. 1	x	
Tanypodinae	<i>Natarsia punctata</i>	x	
Tanypodinae	<i>Nilotanypus dubius</i>	x	x
Tanypodinae	<i>Procladius barbatus</i>	x	
Tanypodinae	<i>Procladius frigidus</i>	x	x
Tanypodinae	<i>Protanypus caudatus</i>		x
Tanypodinae	<i>Rheopelopia</i> sp. 1ES	x	x
Tanypodinae	<i>Trissopelopia</i> cf. <i>flavida</i>	x	x
Tanypodinae	<i>Trissopelopia longimanus</i>	x	x
Tanypodinae	<i>Zavreliomyia cingulata</i>	x	
Tanypodinae	<i>Zavreliomyia divisa</i>	x	x
Tanypodinae	<i>Zavreliomyia melanura</i>		x
Tanypodinae	<i>Zavreliomyia</i> sp. 1ES	x	x

3.2 Linnévasdraget

Resultatene fra metastrekkoding av vannprøver i Linnévasdraget var fullstendig dominert av krepsdyret *Cyclops abyssorum* og hjuldyr i slekten *Polyarthra* med hhv 75% og 22,5% av sekvensene. Det ble allikevel påvist seks fjærmyggarter: *Diamesa bohemani*, *Micropsectra radialis*, *Oliveridia tricornis*, *Orthocladus nitidoscutellatus*, *Orthocladus telochaetus* og *Paratanytarsus austriacus*. Alle er tidligere kjent fra Spitsbergen og forventet å finne i Linnévasdraget. Tidligere undersøkelser av flygende fjærmygg i samme området har registrert 13 arter, hvorav ni ikke ble påvist i våre miljø-DNA analyser. Også for Linnévasdraget fant vi liten sammenheng mellom de to replikatene tatt ved hver stasjon til samme tidspunkt, og ingen av artene ble funnet i mer enn en biologisk replikat.

4 Diskusjon og konklusjon

Resultatene viser at et betydelig antall fjærmyggarter lar seg påvise i DNA fra vannprøver. Dette er i samsvar med tidligere studier (f.eks. Bista m.fl. 2017). Vi observerer også at fjærmyggsamfunn ved stasjoner i nærheten av innløpselver og bekker ikke er representative for lenticke miljø ettersom DNA fra lotiske og terrestriske arter tilføres lokaliteten utenfra. Dette er et kjent fenomen (f.eks. Hupało m.fl. 2021; Harrison m.fl. 2019) som påvirker hvordan prøvetakingen av miljø-DNA i innsjøer bør organiseres. I vårt tilfelle ønsket vi å bruke de samme stasjonene som benyttes i det overvåkningsprogrammet ØKOSTOR, men ved en eventuell overgang til miljø-DNA i overvåkingen bør prøvestasjonenes plassering revurderes.

Resultatene viser også at profundale fjærmyggarter lettere lar seg påvise i miljø-DNA fra sedimenter enn fra vannprøver tatt over bunn. Tilsvarende resultater er tidligere funnet for fisk (Turner m.fl. 2015; Sataka m.fl. 2020), men det er lite tilgjengelig litteratur på bunndyr og miljø-DNA fra innsjøsedimenter (Pawlowski m.fl. 2022) og vi har ikke klart å finne resultater fra andre studier som sammenligner bunndyrfauna registrert fra miljø-DNA analyse av sediment og vann i profundalsonen.

Litoralprøvetakingen ved stasjon 7 viser et begrenset samsvar i påviste arter mellom sediment/ sparkeprøver og vannprøver fra samme stasjon, selv om fem arter ble registrert i begge prøvetypene. Våre funn stemmer godt med sammenlignbare studier blant annet i Canada (Hajibabaei m.fl. 2019) og Spania (Múrria m.fl. 2024), der artssamfunn registrert med DNA fra vannprøver har lite overlapp med samfunn registrert med DNA fra bulkprøver. I norske rennende vann ser det imidlertid ut til at vannprøver og sparkprøver finner flere av samme artene (Majaneva m.fl. 2024, Fossøy m.fl. 2024). Dette kan være relatert til inhiberende stoffer i vannet – de norske elvene har relativt klart vann, mens de kanadiske og spanske elvene kan ha flere organiske og uorganiske stoffer i seg som kan påvirke amplifiseringen av DNA i PCR.

De øvrige resultatene fra miljø-DNA analysene i Selbusjøen er noe overraskende ettersom det, på tross av at det påvises svært mange arter, er såpass liten overenstemmelse mellom replikater av filtrerte vannprøver tatt på samme stasjon til samme tid. Normalt forventes det relativt god overenstemmelse mellom biologiske replikater av det samme vandige miljøet, men tidligere studier som undersøker horisontal spredning av DNA i lenticke miljø har vært fokusert på vertebrater (Harrison m.fl. 2019) med mye større bevegelsesrom enn fjærmygglarver. For akvatiske invertebrater av en viss størrelse, f.eks. tifotkreps, betyr prøvetakingssted mye for deteksjonsmuligheten og samleprøver tatt langs hele sjøens bredde har større muligheter for å påvise arter (Troth m.fl. 2021). Stor variasjon i påvisningsmulighetene for arter kan oppstå om stasjonsområdet det tas prøver fra er stort, og/eller organismene som ønskes påvist har en flekkvis fordeling i miljøet (Goldberg m.fl. 2018). Under prøvetakingen ved de litorale stasjonene i Selbusjøen ble vann filtrert direkte fra sjøen gjennom en slange som ble ført ca. 20 cm under vannflaten langs bredden i en avstand på 10-15 m ved hver stasjon. Det betyr at de tre prøvene tatt på et bestemt tidspunkt ved den samme stasjonen ikke tok prøver av nøyaktig det samme miljøet og at selv små romlige ulikheter mellom replikatene kan ha påvirket resultatet. Det er også sannsynlig at en PCR-replikat per prøvereplikat ikke var tilstrekkelig for å gi et helhetlig bilde av sammensetningen av arter i prøven fordi det er tilfeldig hvilke DNA-molekyler som blir mangfoldiggjort ved PCR ved lave DNA konsentrasjoner (Ficetola m.fl. 2015). Det er lite empiriske data publisert fra innsjøer på dette området, men et nyere studie av vannprøver fra pelagiske områder i dyphavet anbefaler 5-10 PCR replikater per prøve for å påvise DNA fra over 75% av artene i en prøve (Peres & Bracken-Grissom 2025).

I Linnévassdraget fant vi også dårlig samsvar mellom replikatene tatt ved samme lokalitet på samme tidspunkt, men her er årsaken sannsynligvis at prøvene som ikke registrerte fjærmygg var fullstendig dominert av krepsdyr og hjuldyr. Vi mistenker at det i disse tilfellene har kommet levende eller nylig døde planktoniske dyr med i prøven og at eventuelle DNA spor fra fjærmygg ble ubetydelige i forhold til den cellulære DNA-mengden fra krepsdyr og hjuldyr.

Med bakgrunn i resultatene ovenfor anbefales det foreløpig at undersøkelser av fjærmyggsamfunn ved metastrekkoding baserer seg på DNA ekstrahert fra bulk- eller sedimentprøver der det er mulig. Om prøvetakingsforholdene er slik at bunndyr eller sediment kan prøvetas (f.eks. steinbunn), anbefales det å ta et større antall biologiske replikater for å sikre seg at tilstedeværende arter blir påvist. Det nøyaktige antallet replikater avhenger av målet med undersøkelsen og miljøet for øvrig. Et alternativ der det er mulig å samle fysiske prøver, men der en ikke ønsker å ta livet av innsamlede organismer, er å la dyrene leve fritt i en beholder med vann og filtrere dette vannet for DNA ekstraksjon og metastrekkoding. Ved å gjøre det på denne måten, er en sikker på at artene som påvises faktisk lever på lokaliteten som er prøvetatt (Sander m.fl. 2025). Videre er det mulig å begrense effekten av plankton og organiske partikler på resultatet ved å prefiltrere vannprøvene med grovere filtre (f.eks. Majaneva m.fl. 2018), og på den måten redusere mengden av uønsket DNA og PCR-inhibitorer.

Valg av markør og primersett påvirker resultatene betydelig (figur 3 og 4), men ikke nødvendigvis på antall registrerte arter (figur 3). Det var forventet en større overlapp i artene registrert med hver av markørene (figur 4, tabell 1), men manglende overlapp kan antakelig tilskrives tilfeldigheter ettersom de fleste artene bare ble registrert i en av tre replikater. Vi ser at den mer generelle markøren med primersettet BF3/BR2 registrerer større diversitet i noen av slektene som har arter assosiert med innsjøer, f.eks. *Chironomus*, *Sergentia*, *Stictochironomus* og *Heterotrissocladius* (tabell 1), og i tillegg påviser betydelig flere arter av andre bunndyr (figur 3). Når vi med egen erfaring vet at denne markøren er lettere å amplifisere ved PCR i molekylærlaboratoriet, er vår anbefaling å benytte primersettet BF3/BR2 der metastrekkoding brukes i analyser av bunndyrsamfunn i innsjøer.

5 Forslag til videre arbeid

Basert på resultatene fra Selbusjøen finner vi grunnlag for å videreføre undersøkelsene rundt hvordan miljø-DNA kan benyttes for å registrere fjærmyggsamfunn i innsjøer. På den mer tekniske siden må vi finne ut hvor mange PCR-replikater per prøve vi trenger for å kunne stole på eventuelle forskjeller i de biologiske replikatene. Vi kan bruke de allerede innsamlede prøvene fra Selbusjøen til dette formålet og trenger ikke å ta nye prøver. Ved å gradvis øke antallet PCR-replikater for utvalgte biologiske replikater vil vi analysere hvordan tilfeldig utvalg av DNA-molekyler i lav konsentrasjon påvirker resultatet.

Videre er det interessant å undersøke vertikal fordeling av miljø-DNA fra fjærmygg langs en dybdegradient, og utføre studiet i en uregulert innsjø på fastlandet der diversiteten forventes å være høyere og kanskje jevnere fordelt i litoralsonen enn den som ble registrert i den regulerte Selbusjøen. I tillegg vil det være helt essensielt å få klarhet i hva som er optimal prøvetaking med hensyn på nødvendig antall replikater og romlig fordeling av prøvetakingen ved hver stasjon (avstand mellom replikatene). Et eksperimentelt oppsett som tar høyde for disse variablene, ville gitt verdifull kunnskap i forhold til hvordan prøvetaking best organiseres når miljø-DNA skal benyttes til overvåkning av invertebrater i innsjøer.

Det er også en fordel om den videre prøvetakingen utføres i innsjøer som allerede blir overvåket gjennom ØKOSTOR, ØKOFERSK eller lokale eller regionale overvåkningsprogram ettersom det vil lette logistikken og senke kostnaden tilknyttet prøvetakingen. Den mest aktuelle planlagte overvåkingen vi kjenner til som omfatter pelagisk og litoral prøvetaking i 2025 (tabell 2).

På bakgrunn av nåværende kunnskap vil vi foreslå å ta prøver i referansesjøen Songsjøen og Jonsvatnet som er drikkevannskilde i Trondheim. Vi får da inkludert en liten og en stor innsjø i eksperimentet og koordinert med planlagt aktivitet i 2025.

Tabell 2. Oversikt over aktuelle prøvelokaliteter 2025.

Navn	Fylke	Overvåkningsprogram
Fjellgardsvatnet	Rogaland	ØKOFERSK Trend
Jonsvatnet	Trøndelag	Trondheim kommune
Kapervatnet	Troms	ØKOFERSK Trend
Krøderen	Buskerud	ØKOSTOR
Mjøsa	Innlandet/Akershus	ØKOSTOR
Møsvatn	Vestfold og Telemark	ØKOSTOR
Songsjøen	Trøndelag	ØKOFERSK Trend
Stiksvannet	Viken	ØKOFERSK Øst
Svarttjern	Viken	ØKOFERSK Øst
Søndre Slemsjøen	Innlandet	ØKOFERSK Øst
Takvatnet	Troms	ØKOSTOR
Torvikvatnet	Agder	ØKOFERSK Øst
Votni	Vestfold og Telemark	ØKOFERSK Øst
Øyeren	Akershus/Østfold	ØKOSTOR
Åletjern	Buskerud	ØKOFERSK Trend

6 Referanser

- Aagaard, K. 1986. The chironomid fauna of north Norwegian lakes, with a discussion on methods of community classification. – *Holarctic Ecology* 9: 1-12.
- Bista, I., Carvalho, G., Walsh, K., m.fl. 2017. Annual time-series analysis of aqueous eDNA reveals ecologically relevant dynamics of lake ecosystem biodiversity. – *Nature Communication* 8: 14087.
- Brittain, J., Schartau, A.K. & Svenning, M.-A. 2020. Biologisk mangfold i ferskvann på Svalbard: kunnskapsgrunnlag, påvirkninger og forslag til framtidig overvåking. – NVE-Rapport, Nr. 13/2020, 97 s.
- Brodersen, K.P., Lindegaard, C. 1999. Classification, assessment and trophic reconstruction of Danish lakes using chironomids. – *Freshwater Biology* 42: 143-157.
- Brundin, L. 1949. Chironomiden und andere Bodentiere der südschwedischen Urgebirgseen. Ein Beitrag zur Kenntnis der bodenfaunistischen Charakterzüge schwedischer oligotropher Seen. – Institute of freshwater research, Drottningholm, 30: 1-915.
- Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J.A. & Holmes, S.P. 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. – *Nature Methods* 13(7): 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Cortelezzi, A., Simoy, M.V., Siri, A., Donato, M., Cepeda, R.E., Marinelli, C.B. & Berkunsky, I. 2020. New insights on bioindicator value of chironomids by using occupancy modelling. – *Ecological Indicators* 117: 106619.
- Elbrecht, V., Braukmann, T.W.A., Ivanova, N.V., Prosser, S.W.J., Hajibabaei, M., Wright, M., Zakharov, E.V., Hebert, P.D.N. & Steinke, D. 2019. Validation of COI metabarcoding primers for terrestrial arthropods. – *PeerJ* 7: e7745. <https://doi.org/10.7717/peerj.7745>
- Ficetola, G.F., Pansu, J., Bonin, A., Coissac, E., Giguët-Covex, C., De Barba, M., Gielly, L., Lopes, C.M., Boyer, F., Pompanon, F., Rayé, G., & Taberlet, P. 2015. Replication levels, false presences and the estimation of the presence/absence from eDNA metabarcoding data. – *Molecular ecology resources* 15(3), 543–556. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12338>
- Fossøy F., Majaneva M., Sundt H. & Halleraker J.H. 2024. eDNA-SUSTAIN: Implementing eDNA as a tool for assessing sustainable operation of hydropower production. – *HydroGen brief* Nr. 43. Norwegian Research Centre for Hydropower Technology.
- Goldberg, C.S., Strickler, K.M. & Fremier, A.K. 2018. Degradation and dispersion limit environmental DNA detection of rare amphibians in wetlands: Increasing efficacy of sampling designs. – *Science of the Total Environment* 27, 633:695–703. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.295>
- Hajibabaei, M., Porter, T.M., Robinson, C.V., Baird, D.J., Shokralla, S., m.fl. 2019. Watered-down biodiversity? A comparison of metabarcoding results from DNA extracted from matched water and bulk tissue biomonitoring samples. – *PLOS ONE* 14(12): e0225409. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225409>
- Hansen, T. 1983. Bunnfaunastudier i et vassdrag på Svalbard. – Hovedfagsoppgave i limnologi. Universitetet i Oslo. 106 s.
- Harrison, J.B., Sunday, J.M. & Rogers, S.M. 2019. Predicting the fate of eDNA in the environment and implications for studying biodiversity. – *Proceedings of the Royal Society Ser. B*. 28620191409. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.1409>
- Hupalo, K., Majaneva, M., Czachur, M.V., m.fl. 2021. An urban Blitz with a twist: rapid biodiversity assessment using aquatic environmental DNA. – *Environmental DNA* 3: 200–213. <https://doi.org/10.1002/edn3.152>
- Lang, C. & Lods-Crozet, B. 1997. Oligochaetes versus chironomids as indicators of trophic state in two Swiss lakes recovering from eutrophication. – *Archiv für Hydrobiologie* 139: 187–195.
- Leese, F., Sander, M., Buchner, D., Elbrecht, V., Haase, P. & Zizka, V.M.A. 2021. Improved freshwater macroinvertebrate detection from environmental DNA through minimized nontarget amplification. – *Environmental DNA* 3: 261–276.
- Lindstrøm, E.A., Brettum, P., Halvorsen, G., Halvorsen, G., Johansen, S.W., Larsen & J., Schnell, Ø.A. 2005. Effekter av kalking på biologisk mangfold. Undersøkelser i Tovdalsvassdraget 1999-2001. – DN-utredning 2005-5.
- Lyche Solheim, A., Schartau, A.K., Persson, J., Bækkeli, K.A.E, Dahl-Hansen, G., Demars, B., Dokk, J.G., Gjelland, K.Ø., Hammenstig, D., Havn, T.B., Jensen, T.C., Lie, E.F., Mjelde, M., Skjelbred, B., Solhaug Jenssen, M.T. & Walseng, B. 2021. ØKOSTOR 2020: Basisovervåking av store innsjøer. Utprøving av

- metodikk for overvåking og klassifisering av økologisk tilstand i henhold til vannforskriften. – Miljødirektoratet rapport M-2092 | 2021, 186 s.
- Majaneva, M., Diserud, O.H., Eagle, S.H.C., m.fl. 2018. Environmental DNA filtration techniques affect recovered biodiversity. – *Scientific Reports* 8, 4682. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23052-8>
- Majaneva, M., Sundt-Hansen, L.E., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., Bongard, T. & Fossøy, F. 2024. Comparing methods and indices for biodiversity and status assessment in a hydropower-regulated river. – *Hydrobiologia* 851, 2139–2157.
- Miljødirektoratet 2025, 28.01. Veileder for klassifisering av miljøtilstand i kyst- og ferskvann
- Múrria, C., Wangensteen, O.S., Somma, S., Väisänen, L., Fortuño, P., Arnedo, M.A., & Prat, N. 2024. Taxonomic accuracy and complementarity between bulk and eDNA metabarcoding provides an alternative to morphology for biological assessment of freshwater macroinvertebrates. – *Science of the Total Environment*, 935, 173243. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173243>
- Pawlowski, J., Bruce, K., Panksep, K., Aguirre, F.I., Amalfitano, S. m.fl. 2022. Environmental DNA metabarcoding for benthic monitoring: A review of sediment sampling and DNA extraction methods. – *Science of the Total Environment*, 818, 151783. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151783>
- Peres, P.A. & Bracken-Grissom, H. 2025. Water Volume, Biological and PCR Replicates Influence the Characterization of Deep-Sea Pelagic Fish Communities. – *Environmental DNA* 7: e70086. <https://doi.org/10.1002/edn3.70086>
- Ruse, L. 2015. Even more chironomid species for classifying lake nutrient status. – *European Journal of Environmental Sciences* 5(1): 80–85.
- Sakata, M.K., Yamamoto, S., Gotoh, R.O., Miya, M., Yamanaka, H. & Minamoto, T. 2020. Sedimentary eDNA provides different information on timescale and fish species composition compared with aqueous eDNA. – *Environmental DNA* 2: 505–518. <https://doi.org/10.1002/edn3.75>
- Sander, M., Beermann, A.J., Buchner, D., Weiss, M., Werner, M.-T. & Leese, F. 2025. Capture—Incubate—Release: An animal-friendly approach to assess local aquatic macroinvertebrate species diversity through environmental DNA metabarcoding. – *Environmental DNA*, 7: e70112. <https://doi.org/10.1002/edn3.70112>
- Stur, E. & Ekrem, T. 2020. The Chironomidae (Diptera) of Svalbard and Jan Mayen. – *Insects* 11(3):183. <https://doi.org/10.3390/insects11030183>
- Svenning, M.-A. 2015. Miljøvariable i innsjøer på Svalbard; vanntemperatur, lys- og isforhold. – NINA Minirapport 575.
- Svenning, M.-A., Klemetsen, A. & Olsen, T. 2007. Habitat and food choice of Arctic charr in Linnévatn on Spitsbergen, Svalbard: the first year-round investigation in a High Arctic lake. – *Ecology of Freshwater Fish*, 16 (1): 70-77.
- Svenning, M.-A, Schartau, AK & Skjelbred, B. 2020. Overvåking av Linnévasstraget, Svalbard, 2017 og 2019. Kunnskapsgrunnlag og utprøving av metodikk for framtidig overvåking av ferskvann på Svalbard. NINA Rapport 1824. Norsk institutt for naturforskning.
- Sæther, O.A. 1979. Chironomid communities as water quality indicators. – *Holarctic Ecology* 2: 65–74.
- Troth, C.R., Sweet, M.J., Nightingale, J. & Burian, A. 2021. Seasonality, DNA degradation and spatial heterogeneity as drivers of eDNA detection dynamics. – *Science of the Total Environment*, 768, 144466. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144466>
- Turner, C.R., Uy, K.L., & Everhart, R.C. 2015. Fish environmental DNA is more concentrated in aquatic sediments than surface water. – *Biological Conservation*, 183, 93-102. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.017>
- Wang, Q., Garrity, G.M., Tiedje, J.M., & Cole, J.R. 2007. Naïve Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy. – *Applied and Environmental Microbiology* 73(16): 5261–5267. <https://doi.org/10.1128/AEM.00062-07>
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L. & Miller, W. 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. – *Journal of Computational Biology* 7: 203–214. <https://doi.org/10.1089/10665270050081478>
- Åström, J., Birkemoe, T., Brandsegg H., Dahle, S., Davey, M., Ekrem, T., Fossøy, F., Hanssen, O., Laugsand, M., Majaneva, M., Staverløkk, A., Sverdrup-Thygeson, A. & Ødegaard, F. 2023. Insektovervåking på Østlandet, Sørlandet og i Trøndelag. Rapport fra feltsesong 2022. – NINA Rapport 2241. Norsk institutt for naturforskning.

NTNU Vitenskapsmuseet er en enhet ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet, NTNU.

NTNU Vitenskapsmuseet skal utvikle og formidle kunnskap om natur og kultur, samt sikre, bevare og gjøre de vitenskapelige samlingene tilgjengelige for forskning, forvaltning og formidling.

Institutt for naturhistorie driver forskning innenfor biogeografi, biosystematikk og økologi med vekt på bevaringsbiologi. Instituttet påtar seg forsknings- og utredningsoppgaver innen miljøproblematikk for ulike offentlige myndigheter innen stat, fylker, fylkeskommuner, kommuner og fra private bedrifter. Dette kan være forskningsoppgaver innen våre fagfelt, konsekvensutredninger ved planlagte naturinngrep, for- og etterundersøkelser ved naturinngrep, fauna- og florakartlegging, biologisk overvåking og oppgaver innen biologisk mangfold.

ISBN 978-82-8322-423-8
ISSN 1894-0064

© NTNU Vitenskapsmuseet
Publikasjonen kan siteres fritt med kildeangivelse

www.ntnu.no/museum