

1878

NINA Rapport

Insektovervåking på Østlandet 2020

Rapport fra første feltsesong

Jens Åström, Tone Birkemoe, Marie Davey, Torbjørn Ekrem, Frode Fossøy, Oddvar Hanssen, Arne Laugsand, Arnstein Staverløkk, Anne Sverdrup-Thygeson, Frode Ødegaard



NINAs publikasjoner

NINA Rapport

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

NINA Temahefte

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

NINA Fakta

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

Annen publisering

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

Insektovervåking på Østlandet 2020

Rapport fra første feltsesong

Jens Åström

Tone Birkemoe

Marie Davey

Torbjørn Ekrem

Frode Fossøy

Oddvar Hanssen

Arne Laugsand

Arnstein Staverløkk

Anne Sverdrup-Thygeson

Frode Ødegaard

Jens Åström, Tone Birkemoe, Marie Davey, Torbjørn Ekrem, Frode Fossøy, Oddvar Hanssen, Arne Laugsand, Arnstein Staverløkk, Anne Sverdrup-Thygeson, Frode Ødegaard. 2020.
Insektovervåking på Østlandet 2020 – Rapport fra første feltsesong. NINA Rapport 1878. Norsk institutt for naturforskning.

Trondheim, desember 2020

ISSN: 1504-3312

ISBN: 978-82-426-4650-7

RETTIGHETSHAVER

© Norsk institutt for naturforskning

Publikasjonen kan siteres fritt med kildeangivelse

TILGJENGELIGHET

Åpen

PUBLISERINGSTYPE

Digitalt dokument (pdf)

KVALITETSSIKRET AV

Jørgen Rosvold

ANSVARLIG SIGNATUR

Forskningsjef Signe Nybø (sign.)

OPPDRAGSGIVER(E)/BIDRAGSYTER(E)

Miljødirektoratet

OPPDRAGSGIVERS REFERANSE

M-1861|2020

KONTAKTPERSON(ER) HOS OPPDRAGSGIVER/BIDRAGSYTER

Preben Danielsen

FORSIDEBILDE

2 malaisefeller ved lokaliteten Semi-nat_9 i juni © Arnstein Staverløkk

NØKKEWORD

- Norge
- Østlandet
- insekter
- overvåking
- metastrekkoding
- skogsmark
- jordbruksmark

KEY WORDS

- Norway
- Østlandet
- insects
- monitoring
- metabarcoring
- forest
- agricultural land

KONTAKTOPPLYSNINGER

NINA hovedkontor
Postboks 5685 Torgarden
7485 Trondheim
Tlf: 73 80 14 00

NINA Oslo
Sognsveien 68
0855 Oslo
Tlf: 73 80 14 00

NINA Tromsø
Postboks 6606 Langnes
9296 Tromsø
Tlf: 77 75 04 00

NINA Lillehammer
Vormstuguvegen 40
2624 Lillehammer
Tlf: 73 80 14 00

NINA Bergen
Thormøhlens gate 55
5006 Bergen
Tlf: 73 80 14 00

www.nina.no

Sammendrag

Åström, J., Birkemoe, T., Davey, M., Ekrem, T., Fossøy, F., Hanssen, O., Laugsand, A., Sverdrup-Thygeson, A., Ødegaard, F. 2020. Insektovervåking på Østlandet 2020 – Rapport fra første feltsesong. NINA Rapport 1878. Norsk institutt for naturforskning.

Denne rapporten beskriver arbeidet med en generell insektovervåking på Østlandet i 2020, og markerer starten på en langsiktig overvåking av insekter i Norge. Prosjektet er finansiert av Miljødirektoratet og er en oppfølging av metodeutvikling og et mindre pilotforsøk som ble gjennomført i Trøndelag i 2018 og 2019. Overvåkingen er per 2020 begrenset til Østlandet og til hovedøkosystemene skog og semi-naturlig mark/jordbruksmark. Prioriteringen av disse hovedøkosystemene er begrunnet i anbefalinger fra tidligere rapporter, men overvåkingen kan utvides til andre økosystem i fremtiden og til andre geografiske områder.

Arbeidet med å prosessere prøvene er fortsatt i gang når dette skrives. Feltlesongen strakk seg inn i oktober 2020, og prøvene må igjennom en rekke behandlingstrinn etter at de er samlet inn, - fra manuell håndtering, genetiske analyser, bioinformatikk og statistiske analyser. Rapporten begrenser seg derfor til analyser og konklusjoner som er mulige å utføre i november 2020. Prosjektet bærer fortsatt et visst preg av metodeutvikling, der særlig metastrekkodingen av insekter fortsatt forbedres. En omfattende vurdering av hele overvåkingen kan gjennomføres etter et første omdrev på 5 år, og eventuelle forandringer i insektfaunaen forventes å kunne påvises etter 10-15 år. Denne rapporten inkluderer begrunnelser for en utarbeiding av indikatorer for insekter i ulike økosystemer. Slike indikatorer er vanskelige å operasjonalisere per i dag, da vi mangler grunnleggende data på forekomsten av insekter, men den anbefalte overvåkingsdesignet og innretningen er godt egnet til å samle inn de datasettene som trengs for å ferdigstille indikatorer i fremtiden. Det er imidlertid behov for å etablere overvåkingslokaliteter i referansetilstanden for å kunne vurdere hva som er god tilstand i insektfaunaen på sikt.

I 2020 ble 10 lokaliteter i semi-naturlig mark og 10 lokaliteter i skog valgt ut for overvåking. Disse danner de første lokalitetene i et rullerende skjema, der man besøker 10 nye lokaliteter i hvert økosystem i årene 2020-2024, for så å vende tilbake igjen til de opprinnelige lokalitetene i 2025. På denne måten blir totalt 50 lokaliteter i semi-naturlig mark og 50 lokaliteter i skog besøkt på Østlandet i løpet av en 5-års periode. Overvåkingen kan utvides med tilsvarende antall i andre regioner.

Overvåkingslokalitetene i de to hovedøkosystemene ble valgt ut ifra GIS-informasjon og tilgjengelige flyfoto. Semi-naturlig mark er vanskelig å identifisere på denne måten, da det savnes dekkende, systematisk informasjon om hevd og den aktuelle tilstanden på de fleste gressmarker. Det er fortsatt et åpent spørsmål hvordan dette økosystemet skal operasjonaliseres og om overvåkingen skal utvides til å inkludere mer intensivt drevne arealer. Vi anbefaler en bredere overvåking i jordbrukslandskapet generelt, heller enn å prøve å begrense seg til en relativt sjelden habitattype, som for eksempel semi-naturlig eng, slik den er definert i Natur i Norge. Skog derimot, er enklere og kan identifiseres ut ifra tilgjengelig kartinformasjon slik at utvalget av overvåkingslokaliteter spiller mye av variasjonen i økosystemet.

På hver overvåkingslokalitet ble det satt ut to malaisefeller. Disse fanger et bredt spektra av insekter, men særlig veps og fluer (Hymenoptera & Diptera). I 2020 testet vi to intervaller i tømningene av fellene for å avklare hvor hyppig disse må være for å bevare kvaliteten i insektfangstene. Tømming ble gjennomført hver andre uke, parallelt med tømning hver fjerde uke. Vi kan derfor sammenligne de kumulative insektfangstene i de ulike tømmingsregimene. I tillegg til de to malaisefellene hadde skogslokalitetene i også fire vindusfeller, særskilt rettet mot å fange biller (Coleoptera). I disse ble det også testet ut to konserveringsvæsker, henholdsvis etanolblanding og propylenglykol + etanolblanding i en kryss-over design med testen av tømmingsintervall. Disse testene undersøker mulighetene for å minke antallet felletømminger for å spare kostnader.

2020 er et spesielt år på flere måter, der koronaepidemien har fått konsekvenser for vidt forskjellige aktiviteter. Prosjektet ble berørt gjennom at malaisefellene ikke kunne leveres på tid grunnet problemer i leveransekjeden til produsenten. Den sene leveransen fikk som konsekvens at lokalitetene ble startet opp enten i slutten av mai, eller i slutten av juni, når aktiviteten til insektene på flere plasser allerede var godt i gang. Vi savner derfor data fra starten av insektsesongen på flere lokaliteter i 2020.

Fellene ble tømt mellom 8 og 11 ganger på hver av de 20 lokalitetene for et totalt antall på over 500 prøver. De endelige resultatene er ikke tilgjengelige ennå, men vi har per i dag prosessert mer enn 1.9 kg insekter (tørrvekt) fordelt over mer enn 11 000 taksa (identifiserbare skilte arter). Fortsatt mangler vi artsidentifikasjon på ca. 59% av disse taksa, noe som først og fremst grunnes manglende strekkodebibliotek for alle norske arter. Vi mangler spesielt mange strekkoder for fluer og veps. Artsidentifiseringene av disse funnene vil stadig bli bedre da bioinformatikken kan gjentas i ettertid etter hvert som biblioteket bygges ut. I samarbeid med NTNU Vitenskapsmuseet bygger vi nå ut biblioteket med strekkoder for over 300 norske arter og komplementerer med strekkoder fra 30 arter som tidligere var dårlig representert i Barcode of Life Data Systems (BOLD). En kontinuerlig forbedring av strekkodebiblioteket er en viktig del av et løpende overvåkningsprogram for insekter. Til tross for at denne metodikken fortsatt ikke kan identifisere en stor del av individene til art, innebærer metastrekkodingen at man kan prosessere og dermed identifisere langt større prøvemengder enn hva man hadde klart med tradisjonelle metoder.

Som tidligere nevnt er resultatene fortsatt foreløpige, men per desember 2020 har vi ikke grunn til å anbefale en generell tømmingsfrekvens på fire uker. Det ser ut til at vi klarer å identifisere flere insekter fra feller som stått ute to uker en fire, slik at presisjonen i overvåkingen går ned med en mindre hyppig tømmingsfrekvens. Det dårligere resultatet med den lengste tømmingsfrekvensen kan muligens forklares med lavere kvalitet på materialet ved at DNAet i insektene har begynt å brytes ned før analyse. Alternativt kan det forklares med problem knyttet til å analysere de større mengdene insekter som en lengre tømmingsfrekvens gir. Årsaken er noe vi fortsatt undersøker. Bortsett fra i et fåtall tilfeller virker fellene ikke ha blitt fulle i etter fire uker. Derfor kan et intervall på fire uker fortsatt være en mulighet i fremtiden hvis den suppleres med tømminger hver andre uke i varme lokaliteter i visse perioder. Hvis vi klarer å forbedre kvaliteten på metastrekkodingen, slik at vi finner en større del av innholdet også i de større prøvene, kan tømmingsintervallet revurderes.

Den parallelle innsamlingen med vindusfeller og malaisefeller i skogsmark gjør det mulig å sammenligne typene av funn som disse ulike fellene gir. Det er hovedsakelig innen biller som vindusfeller har sin styrke, og de foreløpige resultatene viser at vindusfellene øker mengden biller som blir fanget inn betydelig, i tillegg til de som blir fanget med malaisefellene. Vindusfellene fanger de billearter som ikke ofte går i malaisefeller, og i våre data stod de for en større del av fangstene av de arter som bare ble funnet kun ved et tilfelle. Dette tyder på at vindusfeller fanger mer av de sjeldne billeartene enn malaisefeller, og at de derfor gir verdifull informasjon om insektfaunaen i skog. Ut ifra disse foreløpige analysene anbefaler vi å fortsette med vindusfeller i skogsmark.

Dataene fra undersøkelsene i 2020 inkluderer i tillegg til artsbestemmelse av insekter også en rekke miljøvariabler. Det har vært gjennomført ANO-kartlegging ved insektfellene, og i skog har også en forenklet landsskogstaksering blitt gjennomført. I tillegg har det blitt samlet inn data på temperatur og luftfuktighet ved fellene. Disse dataene vil bli offentlig tilgjengelig så langt det går via GBIF, ved bruk av den såkalte «Event core-standard» som muliggjør kobling av miljødata og annen felles informasjon knyttet til enkelte artsfunn i en hierarkisk struktur. Disse dataene, som vil følge FAIR-prinsippet for forskningsdata vil gjøres tilgjengelige så snart vi er klare med kvalitetssikringen av funnene.

Kostnadene for overvåkingen ser ut å følge de tidligere estimatene relativt godt. Kostnadene knyttet til selve tømmingene har vist seg være mindre enn hva vi fryktet, mens miljøundersøkelsene og oppstarten av feltarbeidet ble dyrere enn hva vi hadde regnet med. En del av arbeidet

kan forventes å bli billigere etter hvert, da det bygges rutiner i et løpende opplegg, men vi forventer oss ikke store kostnadsbesparinger i fremtiden. Rapporteringsfristen i starten av desember bør forskyves til våren etterfølgende år, da dette vil gjøre det mulig å beskrive dataene fra hele året og gi større mulighet for analyse og refleksjon over årets resultater.

Gitt lignende budsjetttrammer i 2021, anbefaler vi å fortsette opplegget i 2020, med 20 nye lokaliteter fordelt i jordbrukslandskap og skog. Utvalget i jordbrukslandskapene bør ikke begrenses til ekstensivt brukte semi-naturlige marker, men gjenspeile en større variasjon i driftsformer. Ved en hypotetisk økning av midlene for kommende år, anbefaler vi i første omgang en geografisk utvidelse til andre landsdeler.

Jens Åström, NINA, Postboks 5685 Torgarden, 7485 Trondheim.

Tone Birkemoe, NMBU/MINA, Postboks 5003 NMBU, 1432 Ås.

Marie Davey, NINA, Postboks 5685 Torgarden, 7485 Trondheim.

Torbjørn Ekrem, NTNU Vitenskapsmuseet, NTNU, 7491 Trondheim.

Frode Fossøy, NINA, Postboks 5685 Torgarden, 7485 Trondheim.

Oddvar Hansen, NINA, Postboks 5685 Torgarden, 7485 Trondheim.

Arne Laugsand, NINA, Postboks 5685 Torgarden, 7485 Trondheim.

Arnstein Staverløkk, NINA, Postboks 5685 Torgarden, 7485 Trondheim.

Anne Sverdrup-Thygeson, NMBU/MINA, Postboks 5003 NMBU, 1432 Ås.

Frode Ødegaard, NTNU Vitenskapsmuseet, NTNU, 7491 Trondheim.

Abstract

Åström, J., Birkemoe, T., Davey, M., Ekrem, T., Fossøy, F., Hanssen, O., Laugsand, A., Sverdrup-Thygeson, A., Ødegaard, F. 2020. Insect monitoring in Eastern Norway 2020 – Report from the first field season. NINA Report 1878. Norwegian institute for nature research.

This report documents six months of general insect monitoring in Eastern Norway in 2020, which marks the start of a continuous insect monitoring scheme in Norway, financed by the Norwegian Environmental Agency. The work follows previous methodological development and a brief pilot study in Trøndelag performed in 2018 and 2019. The scope of the monitoring program is currently limited to the region of Eastern Norway, and to the major ecosystems of forest and semi-natural land/agricultural land. This prioritization was based on recommendations in earlier reports, but the program and methodologies are extendable to other ecosystems in the future, as well as to other geographical regions.

The processing of samples from 2020 is still ongoing at the time of writing, as the field season extends into October, and the samples must pass through several stages after collection, from manual processing and genetic analysis, to bioinformatics, and statistical analysis. The current report must limit itself to the analyses and conclusions possible within November 2020. The work is to an extent still characterized by methodological optimization, particularly for the metabarcoding stages of the process. A comprehensive evaluation of the monitoring scheme should be possible after a complete sampling cycle of 5 years, and evidence for potential changes in the insect fauna is expected to be detectable after about 10-15 years. This year's report includes considerations for the development of indicators for insects in various ecosystems. Such indicators are currently difficult to operationalize without extensive data of insect occurrences, but the current project is well suited to gather the requisite information.

In 2020, 10 sites in semi-natural grasslands, and 10 sites in forests were selected for monitoring. These will be the first locations in a staggered survey scheme, where 10 new locations will be visited each year in each ecosystem type during the 2020-2024 seasons, before circling back to revisit these original sites in 2025. With this set-up, a total of 50 sites will be visited in semi-natural grasslands and forest, respectively, throughout Eastern Norway during a period of 5 years. The monitoring can be extended to other geographical regions using a similar rotating sampling scheme.

Monitoring sites of the two ecosystem types were randomly selected from the ecosystems identified in existing GIS-layers and aerial photographs. Semi-natural grasslands are difficult to identify with this method, since we lack a systematic mapping of land management and the current state of most grasslands in Norway. It is still an open question how to operationalize this ecosystem, and whether it should be extended to include agricultural land in a wider sense, including more intensively managed landscapes. We recommend a wider monitoring of the agricultural landscape in general, rather than limiting efforts to the relatively rare semi-natural meadow ecosystem as defined in a stricter botanical sense. In contrast, forests are less problematic to identify from existing GIS-layers and aerial photographs, and the randomly selected monitoring localities cover much of the available variation within the type.

In each ecosystem type, two Malaise traps were set up, which collect a broad spectrum of insects, albeit with a focus on flies and wasps (Diptera & Hymenoptera). In 2020, we tested out different intervals for emptying the traps, by emptying the traps every two weeks in parallel with every four weeks. This is done by using identical traps over the same time periods, such that the cumulative catches of two 2-week samples can be directly compared to the catches in the single 4-week sample. Each location had two Malaise traps, set up in a column, which were emptied at different time intervals. The forest sites had, in addition, four window traps that specifically target beetles (Coleoptera). These traps also tested out different preservation liquids (ethanol vs. a propylene glycol + ethanol mixture), in a crossed design with the emptying intervals. These tests

investigate the possibility to reduce the number of trap collections in order to reduce costs, while avoiding evaporation or dilution by rainwater, to which window traps are particularly susceptible.

2020 has been an unprecedented year in many respects, where the Corona epidemic has had consequences for a wide range of activities. This project was affected by a delayed delivery of the Malaise traps, due to interruptions in the supply chain of the producer. The late delivery caused the sites to be set up in either late May or late June, when the insect flight activity was well underway. We therefore lack monitoring data for the start of the season for several sites in 2020.

The traps were emptied between 8 and 11 times per site throughout the season, for a total of over 500 individual samples. The final results are still pending, but to date we have processed more than 1.9 kg of insects (dry weight), spanning over 11 000 individual taxa (distinct species). We still lack an identification to the species level of approximately 59% of these taxa, which foremost is caused by a lack of barcodes for the complete Norwegian entomofauna. We especially lack barcodes for many flies and hymenopterans. The species identification will continue to improve in the future and can be rerun retroactively as the barcode libraries are successively filled. To that end, we have added over 300 Norwegian species to the barcode library, in cooperation with NTNU, and in addition added complimentary barcodes of species with limited representation in the Barcode of Life Data Systems (BOLD). A continuous improvement of the barcode libraries is an important component of a long-term monitoring program. Despite the current shortcomings of this technology to identify a large portion of the insects, the metabarcoding methodology still enable us to process, and thereby to identify, vastly larger sample sizes than would have been possible with traditional identification methods.

While the results from this year's monitoring are still preliminary, we haven't found support for switching to a 4-week sampling schedule. We appear to identify a higher diversity within the two 2-week samples compared to the single 4-week sample, i.e. the precision seems to decrease with a less frequent trap emptying schedule. This could be explained either by a lower sample quality, due to a partial decay of the insects, or by problems associated with the metabarcoding of larger samples. We are still analysing the underlying cause, and hope to improve the analysis techniques, so that we can identify a greater proportion of the larger samples in the future. Apart from a few cases, the traps themselves do not seem to fill up during the 4-week emptying periods. Therefore, 4-week samplings may still be a viable option, if it is combined with more frequent sampling in some locations during warmer periods and the quality of the metabarcoding can be increased for the longer sample periods.

The parallel sampling of window and Malaise traps makes it possible to compare trap types to each other. The main strength of the window traps is with the collection of beetles, and the preliminary analyses indicate that these traps substantially increase the beetle catches. The window traps both compliment the species list of beetles found in Malaise traps and to a higher degree catch species with only one observation. This suggests that the window traps catch more of the rare beetle species, and that they thereby provide a valuable data source. Given these preliminary findings, we recommend continuing with the use of window traps as a compliment to Malaise traps in forest ecosystems.

The collected data in 2020 contains not only insect occurrences, but also a variety of environmental variables. Within the project, we performed ANO-surveys (spatially representative nature monitoring) of the flora within 250 m² circles adjoining the insect traps, and in the forest sites an additional forestry inventory was performed within the same circles. In addition, we have collected temperature and humidity data at the sites throughout the season. The data will be made publicly available through the GBIF network as far as possible, using the «Event core standard», which makes it possible to attach environmental data and other companion data to insect observations that have a hierarchical structure. The data will be published according to the principle of FAIR scientific data once it has passed a quality control regarding the species identifications.

The cost of the insect monitoring scheme continues to follow earlier estimates. The costs associated with emptying of traps were lower than projected, but the floristic and forestry inventories were more expensive than anticipated. Some of the work is expected to become cheaper in coming years as routine tasks continue to develop, but we don't expect major cost reductions in the future. The deadline for reporting should be extended to the spring of the following year, to make it possible to assess all data from a single biological year, and to facilitate a greater degree of reflection and analysis of the past year's work.

Given a similar budget in 2021, we recommend a continuation of the work along the lines of 2020, with 20 new locations within agricultural and forest landscapes in Eastern Norway. The selection of the agricultural lands should not be limited to only extensively managed semi-natural grasslands, but rather represent a wider variation of agricultural management and lands. Given a hypothetical extension of the budget the following years, we recommend a geographical up-scaling to other regions of the country.

Jens Åström, NINA, Postboks 5685 Torgarden, NO - 7485 Trondheim.
Tone Birkemoe, NMBU/MINA, Postboks 5003 NMBU, NO - 1432 Ås.
Marie Davey, NINA, Postboks 5685 Torgarden, NO - 7485 Trondheim.
Torbjørn Ekrem, NTNU Vitenskapsmuseet, NTNU, NO - 7491 Trondheim.
Frode Fossøy, NINA, Postboks 5685 Torgarden, NO - 7485 Trondheim.
Oddvar Hansen, NINA, Postboks 5685 Torgarden, NO - 7485 Trondheim.
Arne Laugsand, NINA, Postboks 5685 Torgarden, NO - 7485 Trondheim.
Arnstein Staverløkk, NINA, Postboks 5685 Torgarden, NO - 7485 Trondheim.
Anne Sverdrup-Thygeson, NMBU/MINA, Postboks 5003 NMBU, NO - 1432 Ås.
Frode Ødegaard, NTNU Vitenskapsmuseet, NTNU, NO - 7491 Trondheim.

Innhold

Sammendrag	3
Abstract	6
Innhold	9
Forord	11
1 Innledning	12
2 Gjennomføring i 2020	13
2.1 Rulleringsskjema	13
2.2 Utvalg av overvåkingslokaliteter	13
2.3 Overvåking i urbane områder	14
2.4 Feltarbeid.....	15
2.4.1 Oppsett av feller.....	15
2.4.2 Felletømminger	19
2.4.3 ANO-kartlegging	19
2.4.4 Landsskogstaksering	19
2.4.5 Øvrig datainnsamling	20
2.4.6 Logistikk og håndtering av prøver	21
2.5 Genetiske undersøkelser.....	21
2.5.1 Preprosessering	21
2.5.2 DNA-ekstraksjon og DNA-metastrekking	21
2.5.3 Bioinformatiske analyser.....	22
2.5.4 Veiledning for å identifisere arter	22
3 Resultater	24
3.1 Oversikt over innsamlet materiale	24
3.2 Artsantall og biomasse	24
3.3 Trender gjennom sesongen.....	26
3.4 Sammenligning mellom felletyper	32
3.5 Sammenligning mellom tømmefrekvenser.....	35
3.6 Lyseringstid og artsmangfold.....	39
3.7 Sammenligning av konserveringsvæske i vindusfeller	40
3.8 Klimavariabler	41
3.9 ANO-kartlegging	42
3.10 Landskogskartlegging.....	43
4 Prosjektgjennomføring	44
4.1 Virksomheten i 2020	44
4.2 Plan for tenkt fortsettelse i 2021, ved samme omfang.....	44
4.3 Muligheter for utvidelse av overvåkingen	45
4.4 Vurdering for kostnadsreduksjon.....	46
5 Miljøvariabler	49
5.1 Plantevernmidler og andre miljøgifter.....	49
6 Overvåking av vannlevende insekter	54
6.1 Forslag til samplingdesign for vannprøver	55

7 Utvidelse av DNA-strekkodebiblioteket for insekter	56
8 Indikatorer for insekter i terrestriske økosystem	57
8.1 Begrepet indikator for økologisk tilstand	57
8.2 Utvikling av indikatorer for økologisk tilstand basert på insekter	57
8.3 Spesielle utfordringer for insekter som grunnlag for indikatorer	60
8.4 Arbeidsprosess for å identifisere og teste indikatorer	60
8.5 Videre arbeid med indikatorer	62
9 Datalagring og publisering av insektfunn	63
9.1 Analyse-skript	63
10 Referanser	64

Forord

Det har blitt desember og året 2020 går mot slutten. Da ligger det nære å gi et lite tilbakeblikk og en oppsummering av årets arbeid. Har det egentlig skjedd noe verdt å huske på dette året? Jo, det har faktisk skjedd én ting. Norge har fått en løpende insektovervåking. Enn så lenge er denne begrenset til Østlandet, men det er likevel en etterlengtet start. Vi håper at dette bare er første oppstart på en lang tidsserie for insekter i Norge, som vil gi uvurderlige data for denne sentrale artsgruppen for økosystemet.

Årets arbeid har vært gjennomført av en lang rekke personer, der prosjektlederen hverken har båret mest, satt opp flest feller, byttet flest oppsamlingsflasker, silt flest prøver eller pipettert mest. Men kanskje har prosjektlederen tastet flest knapper på tastaturet, «delete» inkludert. Jeg vil rette en stor takk til alt feltpersonal som har kjørt rundt til vidt adskilte steder på Østlandet. Dere har gått gjennom skog, opp skråninger og over enger for å komme fram til alle feltlokaliteter.

Arnstein Staverløkk, Oddvar Hanssen og Arne Laugsand har stått for den entomologiske kompetansen og etablert alle lokaliteter i felt, sendt og tatt imot oppsamlingsflasker fra ymse plasser og prosessert mange prøver på lab. På lab har vi også hatt stor hjelp av Jacob Gastinger som har håndtert hundrevis av felleprøver med fast hånd. På lab har ellers Hege Brandsegg vært uvurderlig i organiseringen og den genetiske prosesseringen av materialet.

Driften i felt har først og fremst blitt gjennomført av Solveig Haug i sør og John Gunnar Dokk i nord og de har kjørt tusentals mil og båret hundretalls kilo flasker med insekter i sprit. De har også fått hjelp av Torbjørn Havnås og Tobias Holter. Diverse miljødata på overvåkingslokalitetene har blitt innsamlet av Mathias Andreasen, Sindre Jakobsen, Øyvind Lynne og Adriana Sòria Peris, og innsamlingen av miljødata har vært koordinert av Vegard Bakkestuen.

Med administrasjonen har jeg hatt god hjelp av Anette Ljosdal Havmo, som har holdt kontroll på kontoer, kvitteringer og oppsummeringer. Takk også til alle andre som bidratt som ikke blitt nevnt her.

Til sist takk til alle grunneiere som har vært vennlige å godkjenne plasseringen av fellene på markene deres. Gjerne tak kontakt hvis dere er interessert i å få hvite hvilke insekt som er funnet på akkurat deres mark.

01.12.2020 Jens Åström

1 Innledning

Sommeren 2020 markerte starten på en kontinuerlig generell insektovervåking i Norge. 20 nye overvåkingslokaliteter ble etablert i Østfold, og vil etter planen etterfølges av totalt 80 flere lokaliteter over de kommende fire årene. Hovedøkosystemene skog og semi-naturlig mark er prioritert, da disse står for stor andel av insektenes biodiversitet, danner betydelige naturgoder for menneskelig sivilisasjon og står under stort press fra menneskelig aktivitet. Flere økosystem er interessante å overvåke i tillegg, og Miljødirektoratet har flagget for muligheten å utvide overvåkingen til våtmark, fjell og arktisk tundra.

Behovet for økt kunnskap om insekters status, og nødvendigheten av å etablere en kontinuerlig, robust overvåking poengteres stadig oftere, både i akademiske tidsskrifter og i politiske kanaler (EC & UWE 2020). Rapportene fra 2017 som varslet om betydelige nedganger (C. A. Hallmann mfl. 2017, Lister & Garcia 2018), har blitt etterfulgt av ytterligere rapporter som bekrefter de generelle nedadgående trendene og innskjerper alvoret i situasjonen (C. A. Hallmann mfl. 2020, C. Hallmann mfl. 2018, van Klink mfl. 2020). Nedgangene risikerer få betydelig effekt i økosystemene på grunn av insektenes sentrale rolle som matkilde, nedbrytere og givere av andre økosystemtjenester. Fra Europa har man f.eks. dokumentert betydelige nedganger av insektspissende fugler i landbruket (Bowler mfl. 2019). De potensielle kostnadene for store nedganger av insekter gjør at overvåkingsprogram ofte også er økonomisk lønnsomt (Breeze mfl. 2020, Le-buhn mfl. 2013, Åström mfl. 2020)

Overvåkingen som nå har blitt startet opp gjør at man vil kunne følge utviklingen til store grupper insekter over store områder med en bred sammensetning av karakterer, noe som vil danne et unikt kunnskapsgrunnlag for naturforvaltningen i fremtiden. I skrivende stund, da alle prøver ikke ennå har rukket bli prosessert, ser årets innsamling ut å spenne over mer enn 11 000 ulike insekttaksa fra drøyt 300 av de totalt 500 prøvene. Disse prøvemengder utgjør et kvantesprang i informasjonen om forekomsten av insekter i Norge, som har blitt muliggjort av senere års utvikling innen genteknikk. Selv om teknikken er moden for å brukes i dag, står det fortsatt igjen en del metodeutvikling, der vi stadig gjør fremskritt. Vi ser fortsatt potensiale for å forfine analysemetodikken, og finslipe det logistiske arbeidet omkring håndteringen av fellefangstene, men prøvene fra i år og i fortsetningen vil kunne inngå i den langsiktige tidsserien. Derfor markerer 2020 starten på en kontinuerlig tidsserie for insekter i Norge.

I år har metodeutviklingen fremst vært rettet mot å teste ut effektene av et økt felletømmingsintervall, ved å sammenligne en parallell innsamling i to 2-ukesperioder med en 4-ukesperiode. Vi har også undersøkt hvorvidt den negative effekten av dette kan begrenses i vindusfeller, ved å bruke propylenglykol som konserveringsvæske. I tillegg har vi gjort oss erfaringer knyttet til å etablere og å drifte et større antall feller i et stort geografisk område, samt å håndtere et stort antall prøver logistisk.

Årets rapport er raskt produsert, med tanke på den korte tidsperioden mellom da de første rådataene ble tilgjengelig fra de genetiske analysene, miljøundersøkelser i felt, og innsamling av diverse dataloggere. Analysene må derfor begrenses kraftig, og vi får ikke med fangstdata fra den siste delen av innsamlingen. Rapporten er derfor i hovedsak en oppsummering av arbeidet som har blitt gjort, og en generell redegjørelse for de innsamlede dataene. Årets rapport inneholder også en diskusjon om veien videre mot fungerende indikatorer for insekters status, knyttet til det nasjonale arbeidet omkring økologisk tilstand (Nybø mfl. 2019).

Til slutt oppsummerer vi prosjektgjennomførelsen og gir forslag for neste års arbeid, samt viser hvordan dataene fra prosjektet vil bli offentlig tilgjengelig så snart kvalitetsgranskningen av funnene er ferdig.

2 Gjennomføring i 2020

2.1 Rullerings skjema

Som beskrevet i tidligere rapporter har vi lagt opp til et rullerende skjema for undersøkelseslokalitetene. Dette gjøres for å dekke størst mulig geografisk variasjon innen de gitte budsjett-rammene, med tanke på den naturlige heterogeniteten hos insektforekomster. Det velges derfor ut ti lokaliteter i hvert hovedøkosystem og geografisk region for hvert av årene 2020-2024, for så å vende tilbake til samme lokaliteter fra og med 2025. På den måten planlegger vi å besøke 50 lokaliteter totalt i hvert økosystem og geografisk region. Hvis man øker overvåkingen til de øvrige fire landsdelene, dekker man altså totalt 250 lokaliteter per økosystem over hele landet, noe som er i tråd med generelle anbefalinger om nødvendig prøvemengde for insektovervåking (Breeze mfl. 2020, Lebuhn mfl. 2013)

2.2 Utvalg av overvåkingslokaliteter

Insektovervåkingen i 2020 var, etter instruks fra Miljødirektoratet, begrenset til Østlandet, med ti lokaliteter i skog, og ti i semi-naturlig mark. Skogslokalitetene kunne vi samlokalisere med kartleggingen i ANO (arealrepresentativ naturovervåking), der det tilfeldige utvalget i høy grad treffer skog. ANO sine lokaliteter er basert på SSB sitt 500x500m grid og besøkes med et rullerende skjema som passer sammen med insektovervåkingen. Vi identifiserte derfor de lokalitetene som ville bli ANO-kartlagt i 2020 som traff skog, ved å bruke klassifiseringen i det åpne kartlagret AR5. Selv om AR5 i grunnen er et slags økonomisk kart og gjenspeiler brukspotensialet av marken, fungerer den greit til å bruke som utvalgsgrunn for skog (Tingstad mfl. 2019). Det ble også bekreftet av årets feltarbeid.

Økosystemet semi-naturlig mark betyr i denne rapporten i praksis flere typer av gressmark som holdes åpent gjennom kontinuerlig hevd. Semi-naturlig mark i botanisk forstand er svært utfordrende å identifisere fra tilgjengelige kartgrunnlag og vi var derfor nødt til å bruke et utvalg som opererer med en bred definisjon av naturtypen. Vi har sammen med oppdragsgiver ikke landet en endelig definisjon av dette økosystem for prosjektet. Prosjektgruppen anbefaler heller å fange opp «åpent lavland», eller «jordbrukslandskap» i videre mening, og ikke begrense insektovervåkingen til for eksempel den relativt uvanlige naturtypen semi-naturlig eng, som utgjør en svært liten del av landarealet i Norge. Sammen med oppdragsgiveren ble vi likevel enige om å bruke termen «semi-naturlig mark» i årets overvåking. Definisjonen og utvalget av denne naturtypen bør diskuteres og operasjonaliseres innen fortsettelsen av overvåkingen. Som diskutert i tidligere rapport (Åström mfl. 2019) er det høyst relevant å følge med på utviklingen av insekter i jordbrukslandskapet generelt i landet, for å fange opp statusen og trendene for insekter som påvirkes av, og i sin tur påvirker, det pågående landbruket. Et fokus på semi-naturlige enger risikerer å gå glipp av de store pågående forandringene ved å snevre seg inn på en liten mengde frimerker av gjenstående tradisjonell hevd. Hovedøkosystemet «Semi-naturlig mark» ble i 2020 i likhet med skog identifisert hovedsakelig etter AR5, men kunne ikke samlokaliseres med ANO-kartleggingen da deres tilfeldig valgte lokaliteter sjelden treffer denne naturtypen.

Mer konkret foregikk utvalget av feltlokalitetene slik:

Semi-naturlig mark

Vi utgikk ifra de 10 000 kandidat-lokalitetene til ANO, som opprinnelig er laget av NIBIO. Dette er et tilfeldig utvalg av SSB sitt grid over 500x500 meter store ruter i landet. De første 1 000 av disse brukes for ANO, der 200 av rutene vil kartlegges hvert år, men vi brukte hele utvalget på 10 000 ruter for å kunne treffe nok ruter av semi-naturlig mark.

Vi sammenstilte informasjon om prosentuell dekning av hver arealtype etter AR5 i disse lokalitetene, og definerte jordbrukslandskap som de ruter som dekkes av minst 30% fulldyrka mark, overflatedyrka mark eller innmarksbeite. For å utelukke de mer intensivt dyrkede arealene, etter

instruks fra Miljødirektoratet, valgte vi ut ifra disse rutene, de lokalitetene som bestod av maksimalt 50% fulldyrka mark, og minst 20% overflatedyrka mark eller innmarksbeite. Terskelverdiene ble valgt ut subjektivt for å tilse at man har tilgang til nok lokaliteter for overvåkingsopplegget, samtidig som man unnviker de mest intensivt dyrkede markene.

Etter denne klassifisering ble kandidat-lokalitetene ordnet i en tilfeldig rekkefølge og vi vurderte dem manuelt etter flyfoto i denne rekkefølgen. To lokaliteter ble forkastet manuelt fordi de hadde sterkt preg av fulldyrka mark og intensiv drift, eller fordi de tilfeldigvis lå veldig nære en annen lokalitet, men ellers ble de ti lokalitetene trukket etter den tilfeldige rekkefølgen.

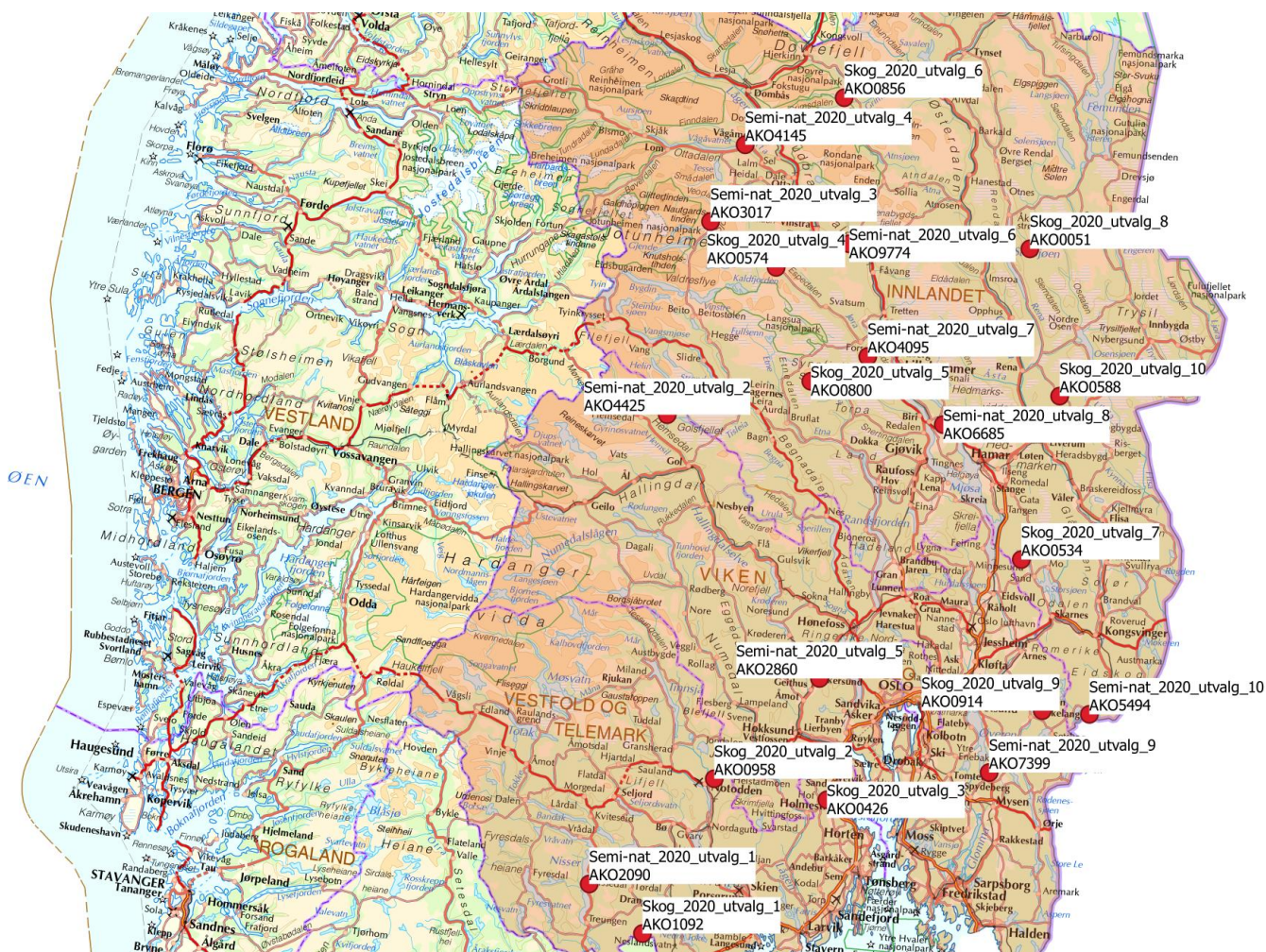
Skog

Vi sammenstilte informasjon om prosentuell dekning av hver arealtype etter AR5, og definerte skogslandskap som de ruter som var minst 50% dekt av skog. Mer enn nok av de lokalitetene som ville bli kartlagt i ANO i 2020 falt inn under denne definisjonen, slik at et ytterligere utvalg var nødvendig. Rutene som ble ANO-kartlagt i 2020 var gruppert i kluster for å effektivisere feltarbeidet. Tanken er at ANO-informasjonen ikke er så dynamisk at man må sample dem spredt ut over landet hvert år, men at man dekker inn den geografiske variasjonen ved å velge andre kluster etterfølgende år. Insekters forekomst derimot er mer dynamisk og kan variere sterkt mellom steder og år. Vi valgte derfor en skogslokalitet i hvert kluster av ANO ruter, for å spre dem ut så mye som mulig over regionen. Dette ble gjort manuelt, men ga seg naturlig ved at vi prøvde å maksimere avstanden mellom skogslokalitetene.

Grunneierne til de utvalgte lokalitetene ble identifisert gjennom Norgeskart og kontaktet for tillatelse til å sette ut feller. I kun ett tilfelle var markeieren ikke positiv til utsetting av insektfeller, slik at vi måtte velge en ny skogslokalitet. Her var vi nødt til å velge en rute utenfor ANO-kartleggingen da øvrige skogslokaliteter i det klusteret tilhørte samme grunneiere. Figur 1 viser plasseringen av insektfeller i 2020, og identitetskodene i det store ANO-utvalget.

2.3 Overvåking i urbane områder

NINA utfører i tillegg overvåking av insekter i et prosjekt rettet mot tidlig varsling av fremmede arter (Jacobsen mfl. 2020). Det prosjektet gjennomfører innsamling av insekter i malaisefeller med lignende metodikk på Østlandet i 2020, med vekt på urbane områder og plasser der spredning av insekter fra avfall fra hageplanter er sannsynlig. Disse funndata kan slås sammen med dataene fra den øvrige overvåkingen for å dekke mer urbane strøk.



Figur 1. Innsamlingslokaliteter i feltsesongen 2020.

2.4 Feltarbeid

2.4.1 Oppsett av feller

Vårt utgangspunkt for en god insektovervåking er å få på plass insektfellene rett før flyvesesongen starter, og la dem samle insekter gjennom hele sesongen, til ut på høsten da temperaturene er såpass lave at aktiviteten kraftig går ned. I Norge kan starten på sesongen skje ganske raskt, når temperaturen går over null i store deler av døgnet og snøen smelter vekk. Derfor er det viktig å være raskt på banen i april-mai, eller i mer høytliggende områder i juni.

En så tidlig start var vanskelig å få til stand i 2020, da søknadsfristen for tilbudet var i slutten av mars, og beskjed om tildeling kom i april. I fremtiden er det ønskelig at anbudsrunder blir klar tidligere eller, enda bedre, at prosjektperioden løper over flere år slik at usikkerheten minkes i driften av prosjektet. Starten på årets feltarbeid ble i tillegg forsinket på grunn av leveranseproblemer av malaisefellene. På grunn av problem i leveransekjeden av råmaterialet til fellene i forbindelse med koronakrisen ble produksjonen forsinket og de siste ble levert oss i midten av juni.

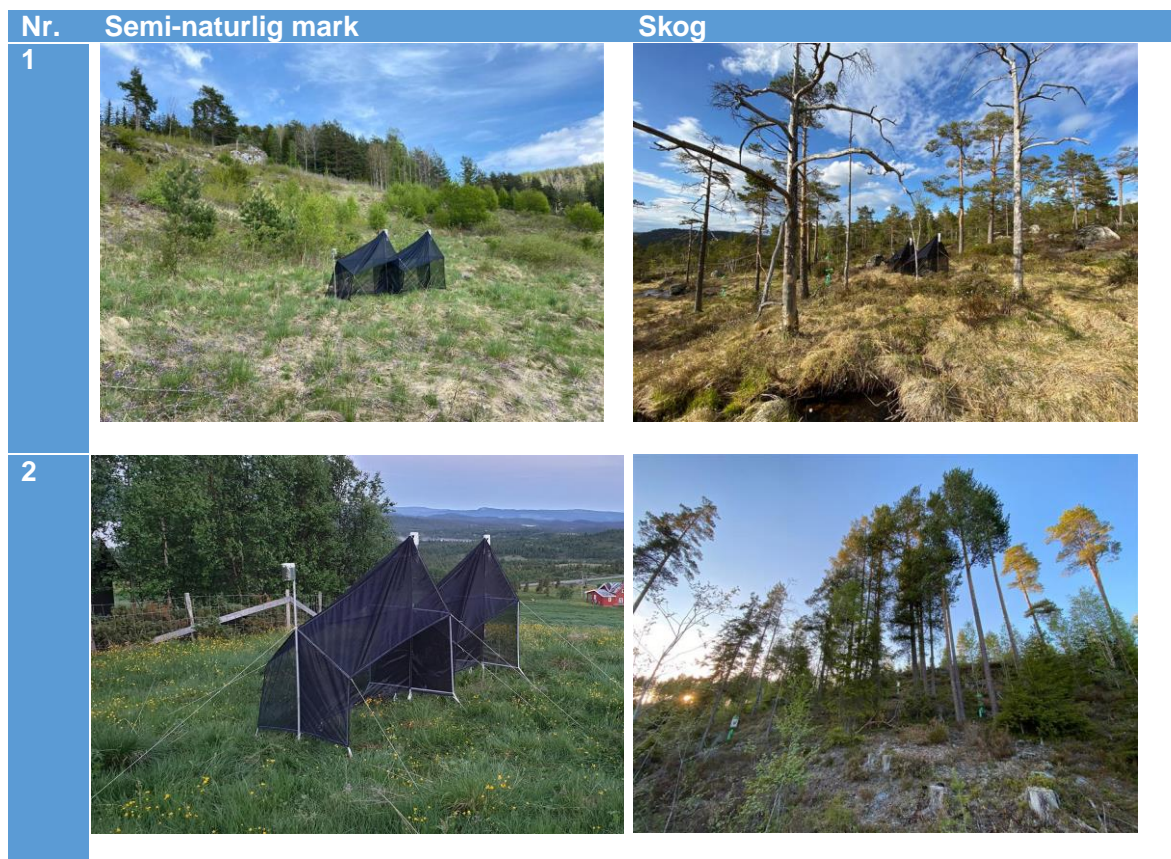
Nesten halvparten av lokalitetene i 2020 er høytliggende, der snøen lå igjen til seint på sommeren. På disse stedene ble konsekvensene av den sene igangsettingen mindre enn på andre stedene der flyveaktiviteten kom i gang tidligere. Dette varierer ofte kraftig, avhengig lokalt mikroklima, helning og retning mot solen, slik at det kan være vanskelig å forutse nøyaktig når aktiviteten starter på hver lokalitet.

På grunn av dette ble de første fellene plassert ut den 11. mai, og de siste fellene den 26. juni. På hver lokalitet plasserte vi ut to malaisefeller av samme modell og farge i kolonne. De ble også utstyrt med temperatur- og luftfuktighetsmåler, samt informasjonsskriv om virksomheten. Malaisefellene ble plassert nært sentrum av den 500x500m store undersøkningsruten, der den nøyaktige plasseringen ble bestemt av praktiske hensyn med tanke på bebyggelse, eventuelle gjerder, dyrket mark og trær.

Malaisefellene hadde 85% etanol som konserveringsvæske og flaskene ble foliert med aluminium for å minske fordamping og skader fra sollys. Vi brukte 500ml størrelse på flaskene til malasiefellene.

I de ti skogslokalitetene ble i tillegg fire vindusfeller satt ut, spredt i nærområdet til malaisefellene. Disse hadde tak og en vannmodul som er ny for 2020, utviklet av NMBU, og som minker uttynningen av regnvann. To av disse fellene hadde 85% sprit, og to hadde en blanding av 70% propylenglykol og 30% av samme spritblanding.

Figur 2 viser plasseringen av fellene på årets lokaliteter. Fra bildene er det åpenbart at det er stor spennvidde i karakteristikken innen både «semi-naturlig mark» og «skog». Posisjonen til fellene ble oppmålt med høypresisjons-GPS med en nøyaktighet på under 1m³ (men ofte mellom 1-5cm³).



3



4



5



6





Figur 2. Bilder fra oppstart på innsamlingslokalene 2020.

2.4.2 Felletømminger

På hver feltlokalitet ble halvparten av fellene tømt annenhver uke, og halvparten hver fjerde uke. På denne måten kan vi sammenligne den sammenlagte fangsten de to 2-ukersperiodene med tilsvarende 4-ukersperiode. Dette ble gjort på tvers av behandlingen med de ulike konserveringsvæskene i vindusfellene, slik at en vindusfelle med sprit og en vindusfelle med propylenglykolblanding ble tømt annenhver uke, og de andre hver 4. uke. På den måten kan vi undersøke hvorvidt etanol eller propylenglykol håndterer den økte tømmingsperioden bedre.

Vi prøvde i størst mulig grad å holde oss til eksakt to respektive fire ukers tidsintervall mellom tømningene, men det nøyaktige antallet dager mellom hver tømning varierte noe av praktiske grunner. Det nøyaktige antallet felledager for hver fangst bør brukes for mer detaljerte analyser av fellefangstene.

2.4.3 ANO-kartlegging

Overvåkingen i skog foregikk som beskrevet ovenfor i et utvalg av de lokalitetene som inngikk i årets ANO-kartlegging. Disse rutene ble derfor kartlagt i et separat prosjekt etter ANO-metodikk med 18 sirkler á 250 m² etter et gitt nettverk i hver rute. Data fra dette ble levert gjennom en spesiell ANO-app på nettbrett i vanlig ordning og vi fikk dataene levert i etterkant fra Miljødirektoratet. Skog_1 savner ANO-kartlegging da vi fikk bytte lokalitet fra den planlagte som inngikk i ANO-prosjektet, på grunn av ønske fra grunneiere. At det ikke ble gjennomført en ekstra kartlegging av denne lokaliteten var uheldig.

Lokalitetene i semi-naturlig mark inngikk som tidligere nevnt ikke i den planlagte ANO-kartleggingen, og vi gjennomførte derfor en begrenset ekstra ANO-kartlegging i disse rutene. Med tanke på budsjett, og etter instruks fra Miljødirektoratet gjennomførte vi her en ANO-kartlegging i en 250 m² sirkel i hver overvåkingslokalitet. Vi valgte som regel den ANO-sirkelen som lå nærmest fellene, men valgte i et fåtall tilfeller en sirkel lengre borte som bedre gjenspeilte hele ruten. For eksempel lå i et tilfelle den nærmeste ANO-sirkelen direkte på en grusvei, noe som ville ha vært misvisende for fellefangstene. ANO-appen var ikke forberedt for å håndtere registrering av bare en sirkel, så disse data ble punchet inn manuelt på papir og senere aggregert. Fremtidig kartlegging ville lettes ved at det lages et skjema i ANO-appen som gjør det mulig å registrere en mindre kartlegging i forbindelse med insektvåkingen (og andre lignende prosjekter).

Dataene i ANO registrerer kort beskrevet naturtype, arealbruket og floraen (i hver sirkel). Floraen er videre oppdelt i naturlig flora, problemarter og fremmede arter. I tillegg til 250m²-sirklene gjennomførtes en mer nøyaktig vegetasjonskartlegging i en 1 m² i hver sirkel.

2.4.4 Landsskogstaksering

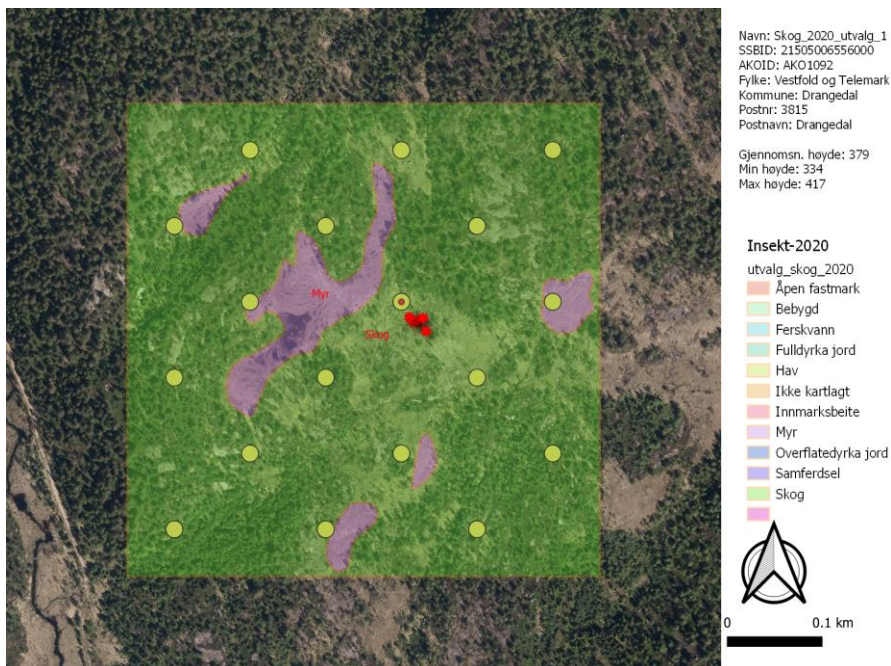
På skogslokalitetene ble også en forenklet landsskogstaksering gjennomført (Ørka, Bollandsås, mfl. 2019). Den foregår også i en sirkel på 250 m², der vi valgte den nærmeste sirkelen fra felleplasseringen eller i noen tilfeller den nærmest sirkelen som samsvarer godt med plasseringen av fellene, på lignende måte som for ANO-kartleggingen i semi-naturlig mark. Sirkelen ble altså ikke forskjøvet fra det teoretiske senterpunktet etter instruks, da vi mener det er bedre at plasseringen samsvarer med ANO-kartleggingen.

For både ANO-kartleggingen og landskogskartleggingen ble senterpunktene for sirklene oppmålt med høypresisjons-GPS. Den nådde i de aller fleste tilfeller en nøyaktighet på mellom 1-5 cm³, og i verste fall på rett under 1 m³.

Figur 3 viser et eksempel på plasseringen av alle de 18 sirklene som ble kartlagt etter ANO-metodikk i skogsflatene, og den sirkelen av de 18 som i tillegg ble kartlagt etter landskogstakseringen. Noter at i de semi-naturlige lokalitetene ble bare en sirkel kartlagt etter ANO.

Den ekstra ANO-kartleggingen og landskogstakseringen i insektovervåkingen gjennomførtes i regi av samme personell som arbeidet den øvrige ANO-kartleggingen. Dette arbeid viste seg ble

mer kostbart enn forventet, noe som skyldes at 2020 var et oppstartsår med overvåking i stor skala. Prosjektgruppen til ANO har per muntlig kommunikasjon tro på at dette vil bli billigere etterkommende år, da reiser og koordinering av undersøkelsesflater vil gjøres mer effektivt.



Figur 3. Eksempel på plassering av feller (røde stjerner), kartlagte ANO-sirkler (lysgrønt), og sirkelen som ble landsskogstaksert (sentrum i rødt).

2.4.5 Øvrig datainnsamling

På hver lokalitet ble temperatur- og luftfuktighetsmåler festet til den bakerste malaisefellen. Loggeren ble plassert under en foliert plastikkhette for å minimere påvirkningen fra sollys (Figur 4). Temperatur, relativ luftfuktighet og duggpunkt ble registrert hvert 20. minutt.



Figur 4. Oppsett av temperaturlogger på metallstangen til den bakerste malaisefellen.

Fra et tilknyttet prosjekt ble også en ekstra temperatur- og lyslogger plassert ved fellene, samt en lydlogger (Rosten, Mathiassen, mfl. 2020). Lyden behandles ikke i dette prosjekt, men vi

registrerte den ekstra temperatur- og lysmålingen. Et annet tilknyttet prosjekt tok også prøver for DNA-metastrekkoding av jord og død ved (Olsen mfl. 2020). Disse ble tatt innen, eller så nære den undersøkte ANO- eller landskogstakseringsruten som mulig. Disse blir analysert for forekomst av forskjellige typer av organismer utenfor dette prosjekt.

Hvis disse to metodeutviklingsprosjektene blir vellykket er det tenkbart at slike undersøkelser vil inngå i et slags standardbatteri av prøvetakinger ved lokalitetene for insektovervåking. Lydloggere kan for eksempel brukes for å kvantifisere fugleaktivitet, for å undersøke den fenologiske matchingen mellom insekter og fugl. Jord og treprøvene kan muligens oppdage forekomst av jord- eller trelevende insekter, som insektfellene i mindre grad fanger.

2.4.6 Logistikk og håndtering av prøver

Østlandet dekker et så stort område at det var mest hensiktsmessig å dele opp driften av fellene på to team. De aller fleste fellelømmingene i de ni lokalitetene nærmest Oslo ble utført av samme person, basert i Oslo, med unntak av noen få lømminger. De nordlige fellene ble også driftet i stort sett av en person gjennom hele sesongen, med unntak av noen tilfeller der det ble gjort av en avløser. Et normalt besøk besto i å bytte innsamlingsflaskene, etikettere de innsamlete flaskene, og se over statusen på fellene. De to teamene klarte som regel å besøke 2-3 lokaliteter på en dag, slik at fellelømmingene tok 3-4 dager for hvert team annenhver uke. I tillegg må det legges til noe tid på etterarbeid der flaskene fylles opp med sprit for å unngå at insektene ristes i stykker under transporten, samt transport opp til Trondheim der materialet ble videre behandlet. Budfirmaer og post vil helst ikke levere materialet på grunn av den høye spritkonsentrasjonen. Vi samlet derfor sammen materialet fra flere fellelømminger og kjørte det selv med bil til Trondheim, i flere turer utover sesongen. Prøvene ble lagret nedkjølt før de ble prosessert for å bevare DNA-kvaliteten.

2.5 Genetiske undersøkelser

De genetiske analysene i 2020 bygger videre på tester gjort i 2019 der vi sammenlignet bruk av etanol, lysering av insektene og knusing av insektene (Åström mfl. 2020). Resultatene fra disse testene viste at lysering er en metode som er sammenlignbar med knusing av insektene når det gjelder påvisning av artsmangfold, men som i tillegg muliggjør morfologiske undersøkelser i etterkant. Testene viste også at replikater gav svært like resultater. Vi har derfor bare benyttet lysering i 2020 og vi har kun tatt én delprøve per insektfelle.

2.5.1 Preprosessering

Vi benyttet en prosesseringsmåte der insektene som regel aldri ble fjernet fra prøveflaskene. Dette medfører minst mulig håndtering av insektene og minimering av kontamineringsrisikoen. Først ble spriten forsiktig tømt fra prøveflaskene, ved at et fint filter ble skrudd fast på flasken og spriten helt av manuelt. Spriten heltes av til det gikk mer enn 10 sekunder mellom hver dråpe. Hele flasken ble deretter veid for å få et tall på våtvekt av fangsten. Deretter ble prøvene tørket over natt i 67°C i et varmeskap. Dagen etterpå ble flaskene veid igjen for å få et mål på tørrvekten av insektene. En lyseringsbuffer (ATL-buffer, Qiagen) blandet med Proteinase-K ble så tilsatt før flaskene ble satt i varmeskap med forsiktig risting over natt i 67°C. Fra disse flaskene ble det så tatt en delprøve på 200 µL som inngikk i den genetiske analysen. For å kunne bevare insektene for mulige morfologiske undersøkelser i etterkant ble lyseringsbufferen vasket bort ved å tilsette vann og skylle insektene, tømme ut vannet, og så fylle på ny etanol til slutt.

2.5.2 DNA-ekstraksjon og DNA-metastrekkoding

DNA ble ekstrahert fra delprøven på 200 µL fra preprosesseringen ved hjelp av et standard ekstraksjonskit (Qiagen Blood & Tissue kit). En bit av det mitokondrielle genet COI ble amplifisert ved hjelp av primerne BF3-BR2 (Elbrecht mfl. 2019) i en standard to-trinns 16S-Illumina protokoll. En første PCR inkluderte primere med «overhang adaptor»-sekvenser, etterfulgt av en andre PCR for å tilsette Illumina-indeks. PCR-produktene ble kvalitetssjekket på en Tape Station (Agilent 4200) og renses med magnetiske kuler (MAG-BIND RXN PURE PLUS) etter hver

PCR. Til slutt ble prøvene normalisert og slått sammen til et bibliotek for sekvensering på en Illumina MiSeq maskin ved NTNU Genomics Core Facility (GFC) i Trondheim.

2.5.3 Bioinformatiske analyser

Sekvenseringsresultatene ble analysert i programmet dada2 (Callahan mfl. 2016) for å generere ASVer (Amplicon Sequence Variants). Ved å bruke ASVer kontrollerer man for usikkerheten i DNA-sekvensen for hver analyse (både innen og mellom sekvensmaskiner) og genererer biologisk meningsfylte DNA-sekvenser (genotyper) med færre amplifiserings- og sekvenseringsfeil (Callahan, McMurdie, mfl. 2017). Flere studier har vist at denne tilnærmingen reduserer antall grupper/arter (OTUs eller ASVs) og ikke minst reduserer risikoen for falske genotyper og dermed feilaktig påvisning av arter som ikke finnes i prøven (Caruso mfl. 2019). For å tilegne hver ASV til et taksonomisk nivå benyttet vi RDP-Classifiser (Wang mfl. 2007) og en «trenet referansedatabase», satt sammen av nesten en million COI-sekvenser fra artropoder og chordater (Porter & Hajibabaei 2018) for å tilegne ASVer til arter. Databasen ble opprinnelig utviklet med fokus på Nord-Amerika, men vi har i 2020 gått gjennom norsk navneliste i Artsdatabanken og inkludert norske strekkoder for 4061 norske arter. Tilnærmingen med å bruke ASVer gir i tillegg til taksonomisk id også informasjon om intraspesifikk genetisk variasjon.

2.5.4 Veiledning for å identifisere arter

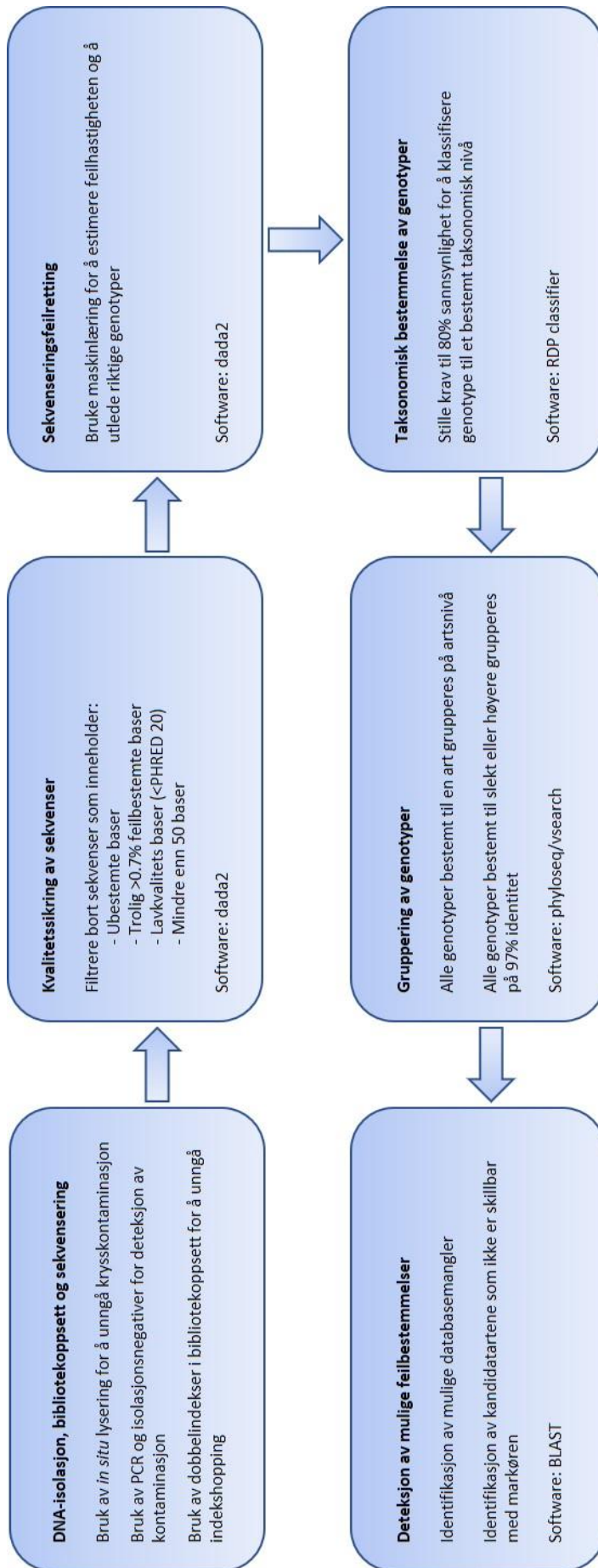
Gjennom de to siste årene har vi testet en lyseringsprotokoll for å ekstrahere DNA fra insekter fanget i Malaisefeller. Detaljene for hvert trinn er beskrevet i avsnittene over, men her gir vi en generell veiledning for protokollen. Den samme protokollen kan brukes på fellefengster innsamlet med etanol eller propylenglykol. Se Figur 5 for ulike tiltak gjort i dette prosjektet for å unngå kontaminering og kvalitetssikre artsbestemmelser.

Felthåndtering

1. Alle flasker og korker som brukes i felt bør enten være nye eller vaska med 10% klor før bruk for å unngå kontaminering.
2. Flaskene bør tildekkes med aluminiumsfolie i felt, slik at sollys og UV-stråling ikke varmer opp prøvene eller bryter ned DNA.
3. Ved innsamling bør flaskene settes så raskt som mulig i kjøletemperatur for å bevare DNA-kvaliteten.

Labhåndtering

4. Tøm flaskene for etanol eller propylenglykol ved å feste en kork med et filter på flaskene til det går minst 10 sekunder mellom hvert drypp, hvorefter man måler våtvekt av prøven. Kork og filter må klores mellom hver prøve.
5. Inkubere prøvene over natt på 67°C, og mål deretter tørrvekt av prøven.
6. Tilsett lyseringsbuffer og proteinase-K slik at det dekker insektene i flasken og inkuber prøvene på 67°C over natt igjen,
7. Ekstraher 200 µL for ekstraksjon og følg standard Qiagen Blood & Tissue protocol.



Figur 5. Veiledning for å unngå kontaminasjon og kvalitetssikre artsbestemmelse

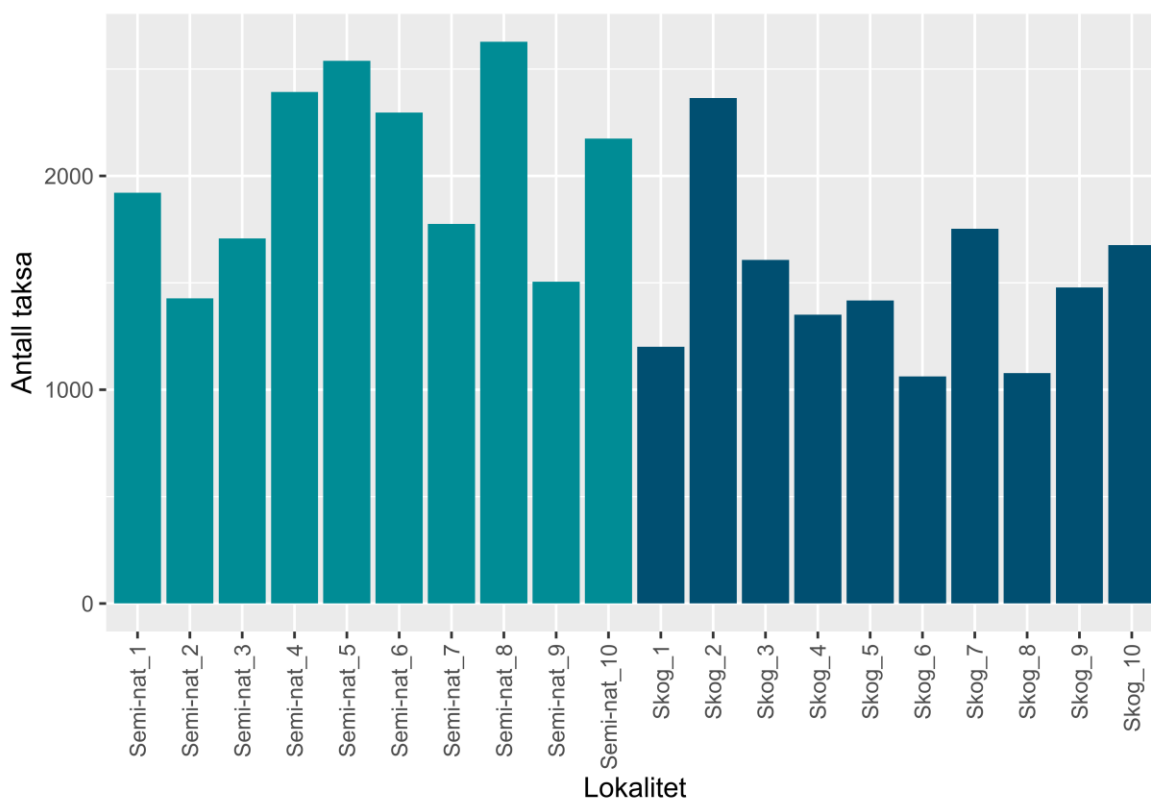
3 Resultater

3.1 Oversikt over innsamlet materiale

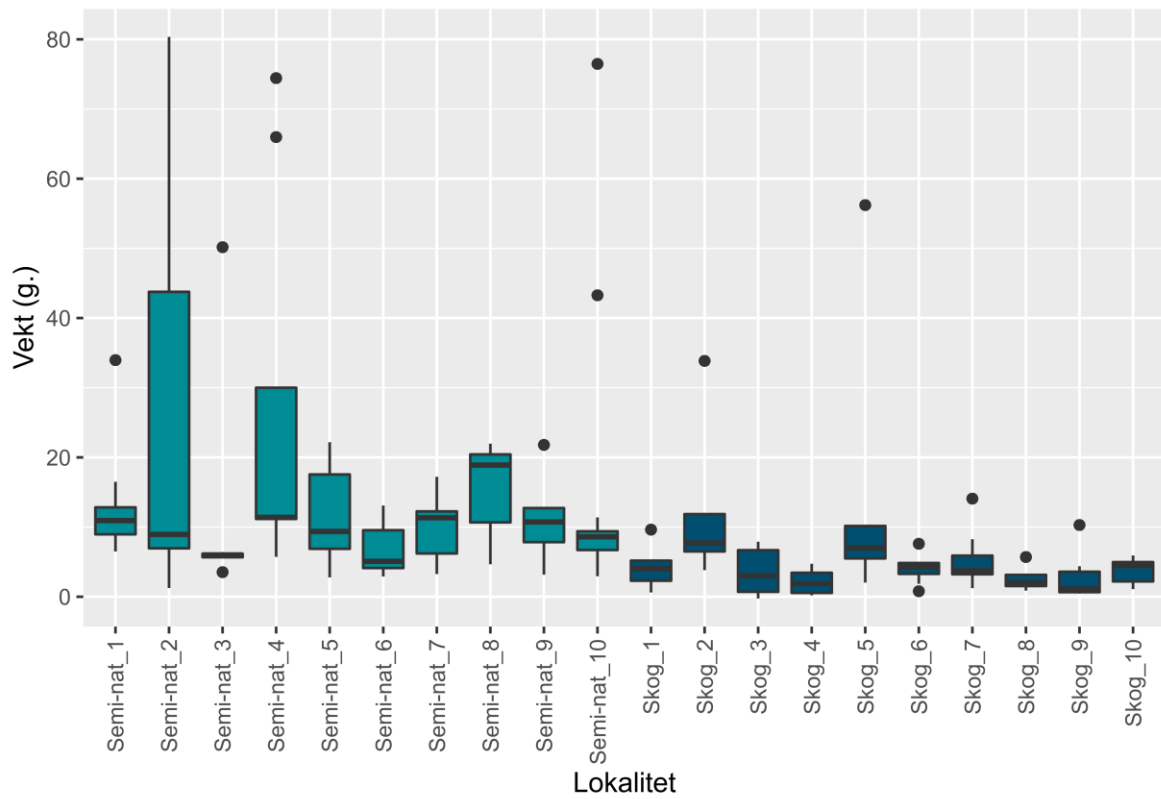
De første fellene ble tømt uke 22, den 25. mai, og felletømmingene fortsatte utover sommeren og høsten til den siste tømmingen i uke 42, den 16. oktober. Dette ga til sammen 11 tømminger med totalt ca. 520 prøver (eksakt antall er under optelling etter prosessering). Antallet prøver er litt større i år enn hva som kan forventes i fremtiden, på grunn av den ekstra uttestingen med ulike tømmingsintervall. Det kan også tenkes at man i fremtiden slår sammen fangstene i flere vindusfeller og dermed sparer penger på antall analyser av DNA-metastrekoding når man er ferdig med metodeuttestingen.

3.2 Artsantall og biomasse

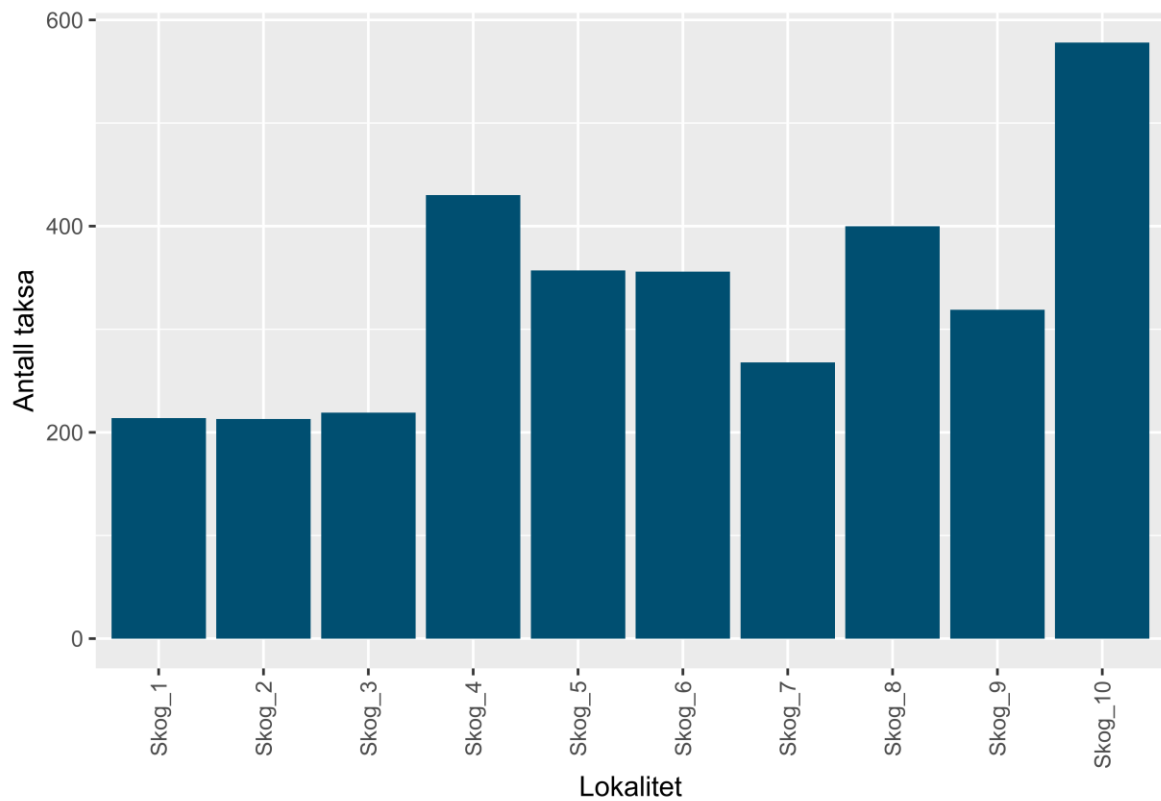
De foreløpige dataene viser en stor bredde i artsantall og biomasse av insekter fra de ulike innsamlingslokalitetene. Semi-naturlig mark har jevnt over litt høyere artsantall (Figur 6), og fremfor alt høyere biomasse enn skog (Figur 7). En enkel sammenligning av artsantall og biomasse tilsier også at det ikke er et helt enkelt forhold mellom disse størrelsene. Det tyder på at biomassen på visse lokaliteter kan domineres av noen få arter. Vindusfeller fanger nesten bare en tiendedel av antall arter sammenlignet med malaisefeller, og forskjellen er enda større for biomasse (Figur 8 og Figur 9).



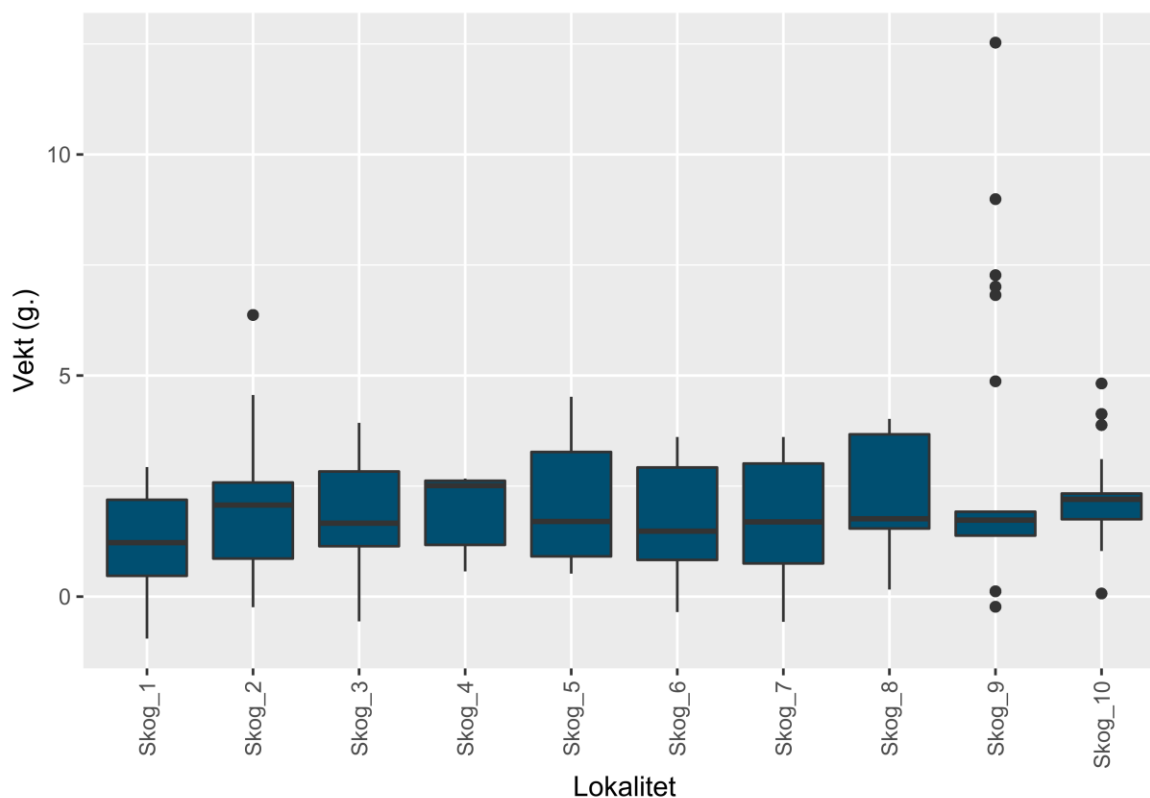
Figur 6. Kumulativ artsantall fanget i malaisefeller per 2020-09-04. Antallet identifiserte separate taksa tilsvarer i høy grad riktige arter, men flere av dem er ikke identifisert til art.



Figur 7. Gjennomsnittlig biomasse (tørrvekt i gram) per fellestømming av innsamlede insekter i malaisefeller per 2020-09-04.



Figur 8. Kumulativ artsantall fanget i vindusfeller per 2020-09-04. Antallet identifiserte separate taksa tilsvarer i høy grad riktige arter, men flere av dem er ikke identifisert til art.

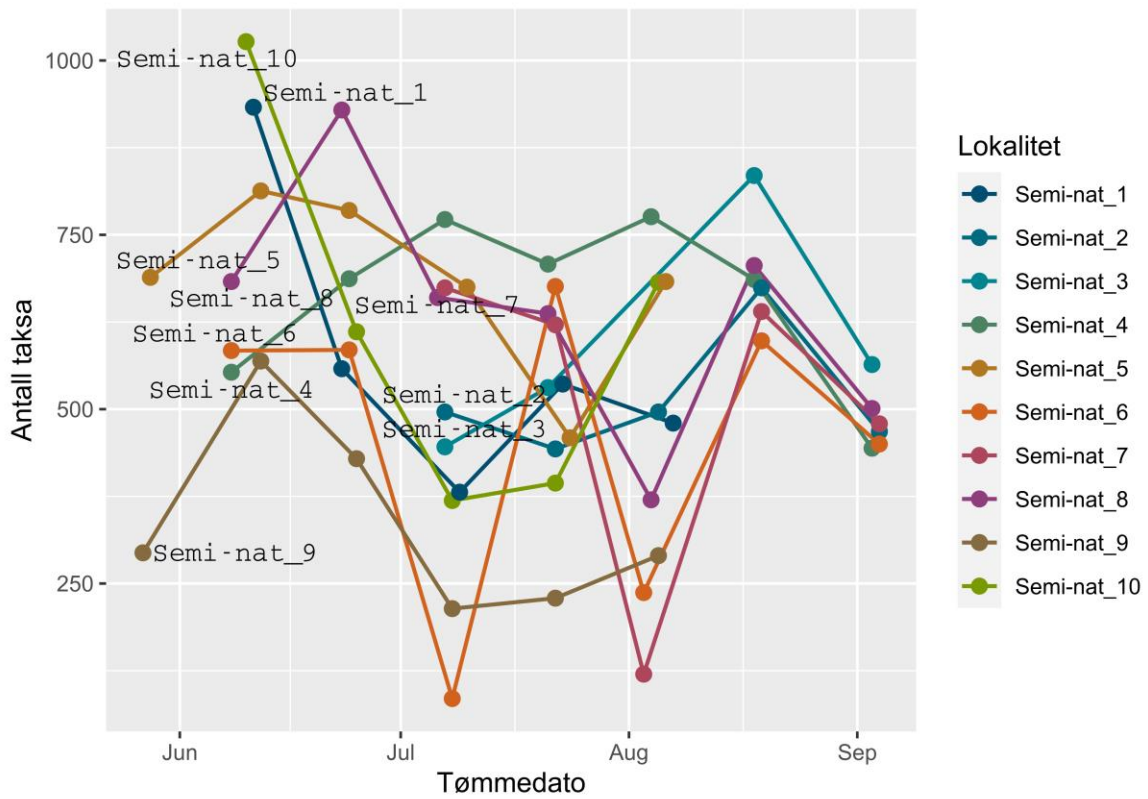


Figur 9. Gjennomsnittlig biomasse (tørrvekt i gram) av innsamlete insekter per felletømming, i vindusfeller per 2020-09-04.

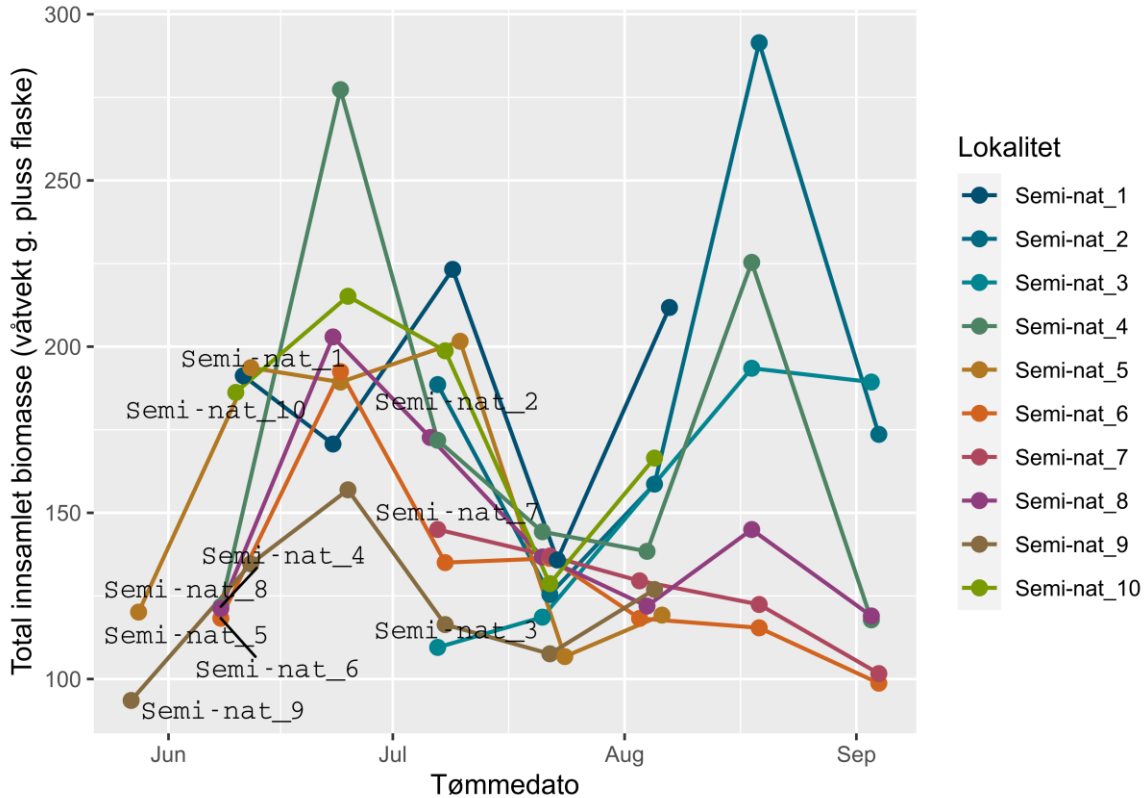
3.3 Trender gjennom sesongen

Tidstrendene for innsamlet biomasse og artsantall viser en svært variabel fangst utover sesongen. Særlig skogslokalteter viser en tydelig forskjell i tidstrender mellom lokaliteter. Det viser betydningen av å samle inn data over hele sesongen, og å samle data fra en tilstrekkelig variasjon av habitater for å kunne speile den overgripende tilstanden. Resultatene viser viktigheten av å komme i gang tidlig med innsamlingen, da biomangfoldet toppes på flere lokaliteter allerede ved den første felletømmingen. Feltinnsatsen i 2020 ble som tidligere beskrevet noe utsatt i starten, grunnet leveranseproblemer av feller som resultat av Korona-epidemien. Her gikk vi glipp av verdifull informasjon av insektaktiviteten tidlig i sesongen. Figur 11 og til en viss grad Figur 13 viser en tydelig nedgang i innfanget biomasse ved innsamlingen i slutten av juli, noe som ikke sammenfaller med artsdiversiteten under same periode (Figur 10 og Figur 12). Under samme periode viser loggerdata at det var kaldere vær (Figur 26), hvilket kan bety at nedgangen i biomasse stammer fra dårligere vær i denne periode. Det krever mer inngående analyser for å fastsette årsaken til disse svingningene. Det er i hvert fall åpenbart at mengdene insekter som fanges utover sesongen kan svinge kraftig, og trenger ikke å gjenspeile en tilsvarende forandring i antallet arter som er aktive. Dette viser igjen betydningen av å så langt som mulig identifisere artene, og ikke bare måle total biomasse.

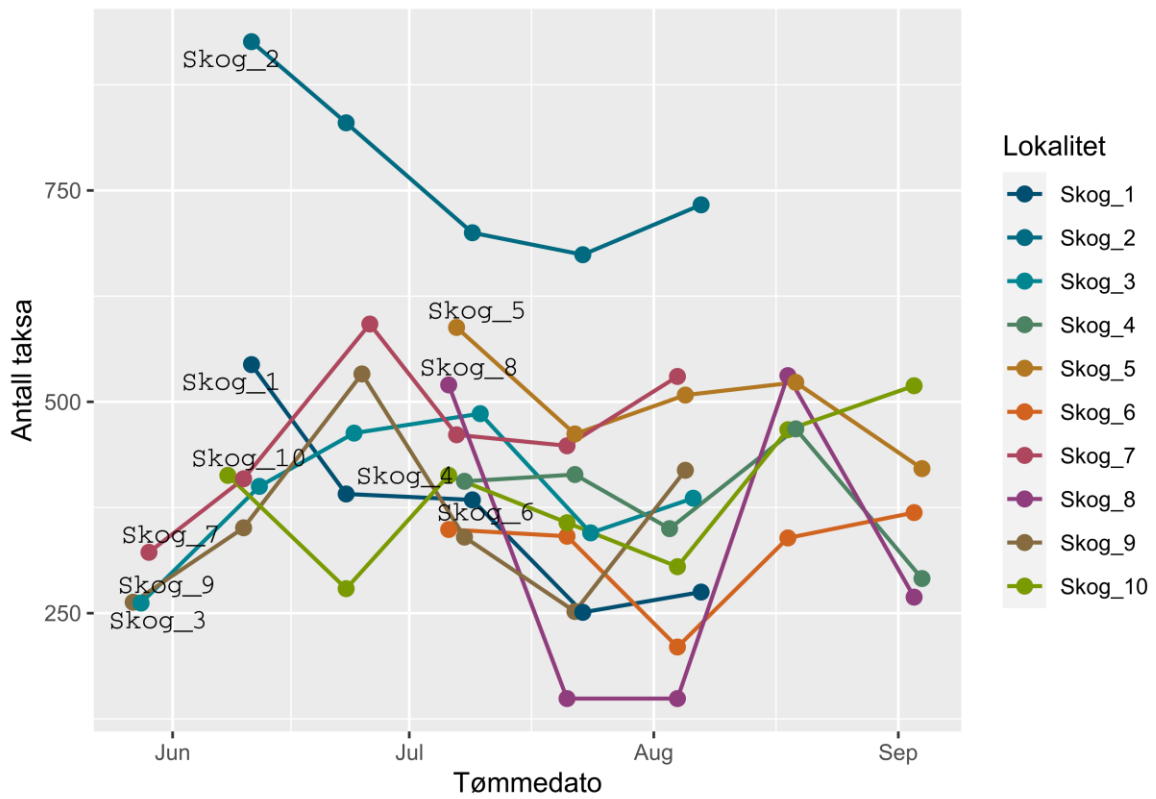
Lokalt vær og habitatskvaliteter kan troligvis forklare mye av variasjonen og i viss grad «normalisere» forskjellene, slik at overgripende trender vil vise seg. Denne øvelsen gjøres best med et større datagrunnlag enn hva som foreligger ved tidspunktet når dette skrives.



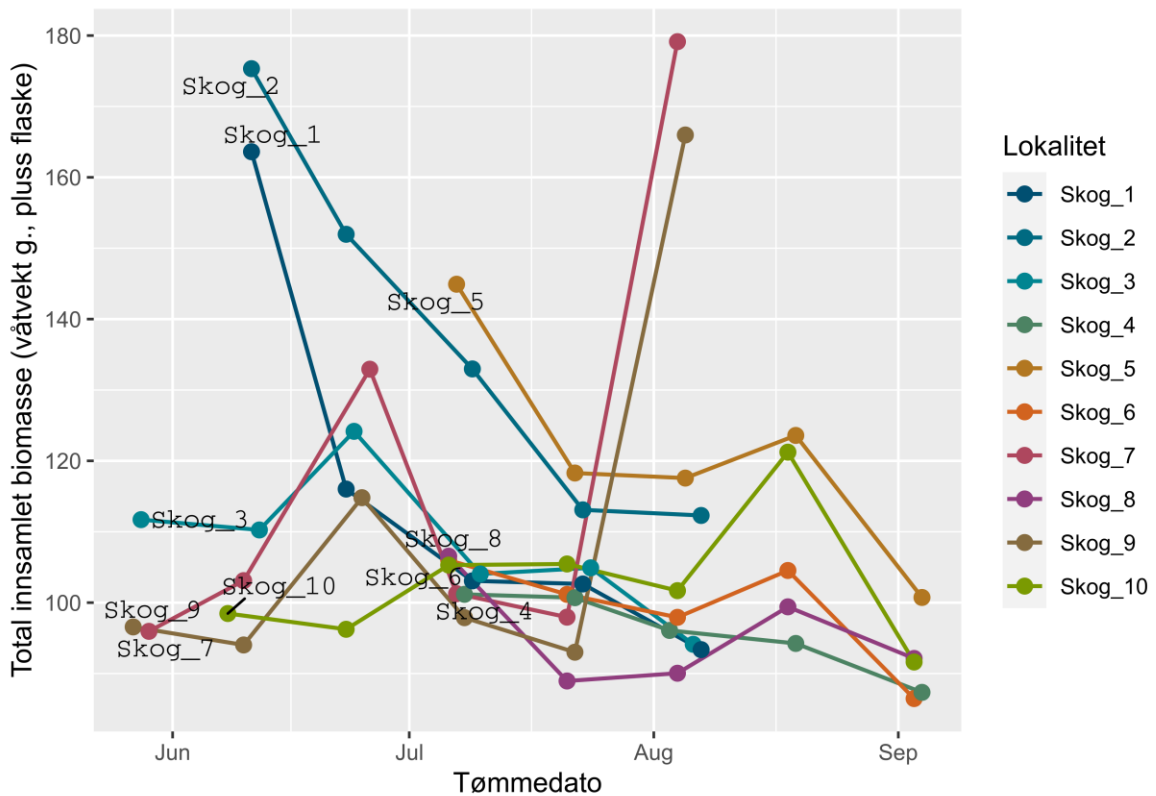
Figur 10. Tidstrend av innsamlet mengde insektarter (taksa) i semi-naturlig mark over sesongen. Semi-naturlige lokaliteter hadde bare malaisefeller.



Figur 11. Tidstrend av innsamlet biomasse i semi-naturlig mark over sesongen per 2020-09-04. Semi-naturlig mark hadde bare malaisefeller.



Figur 12. Tidstrend av innsamlet mengde insektarter (taksa) i skogsmark over sesongen per 2020-09-04.

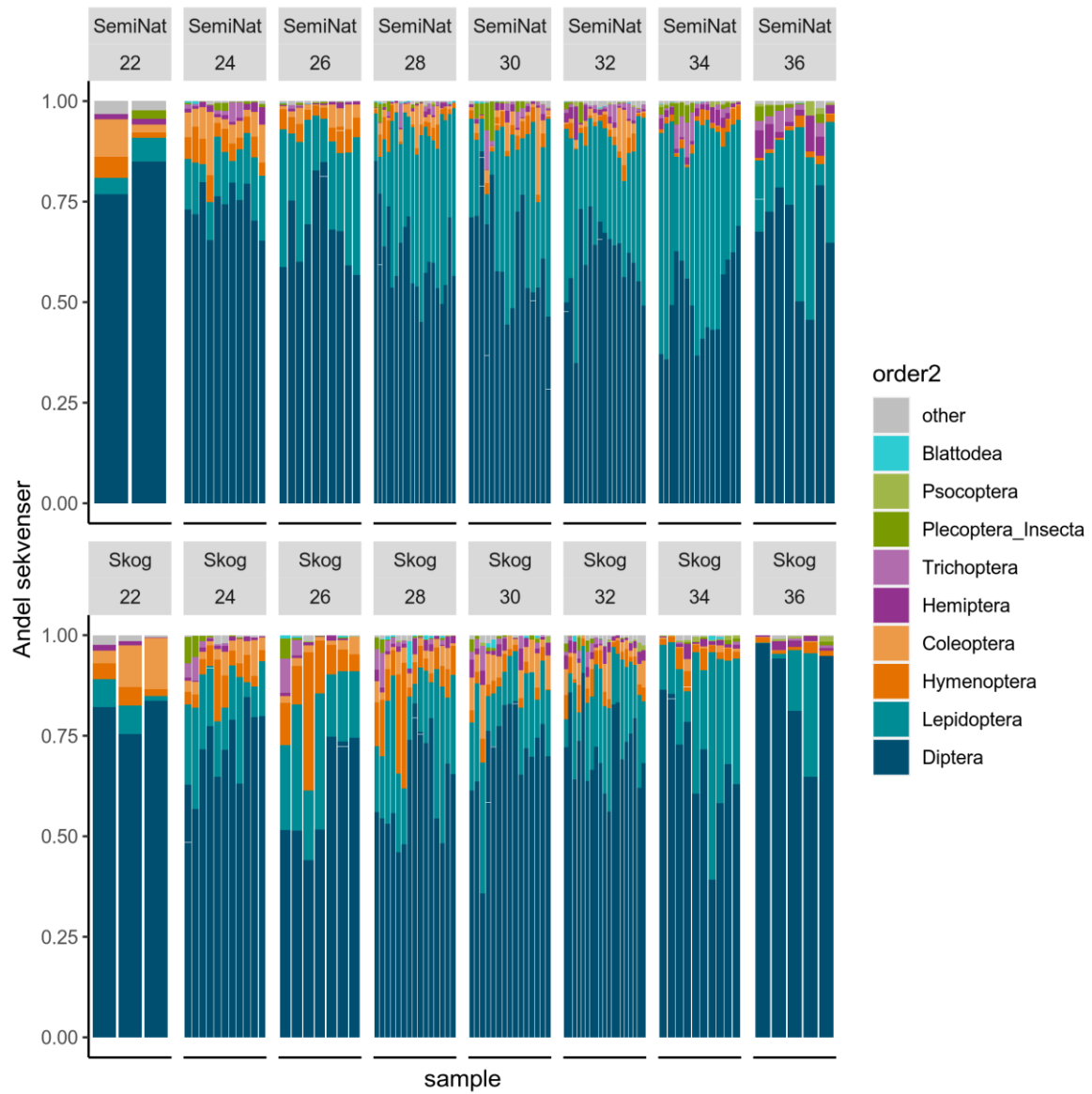


Figur 13. Tidstrend av innsamlet biomasse i skogsmark over sesongen per 2020-09-04. Artssamfunn

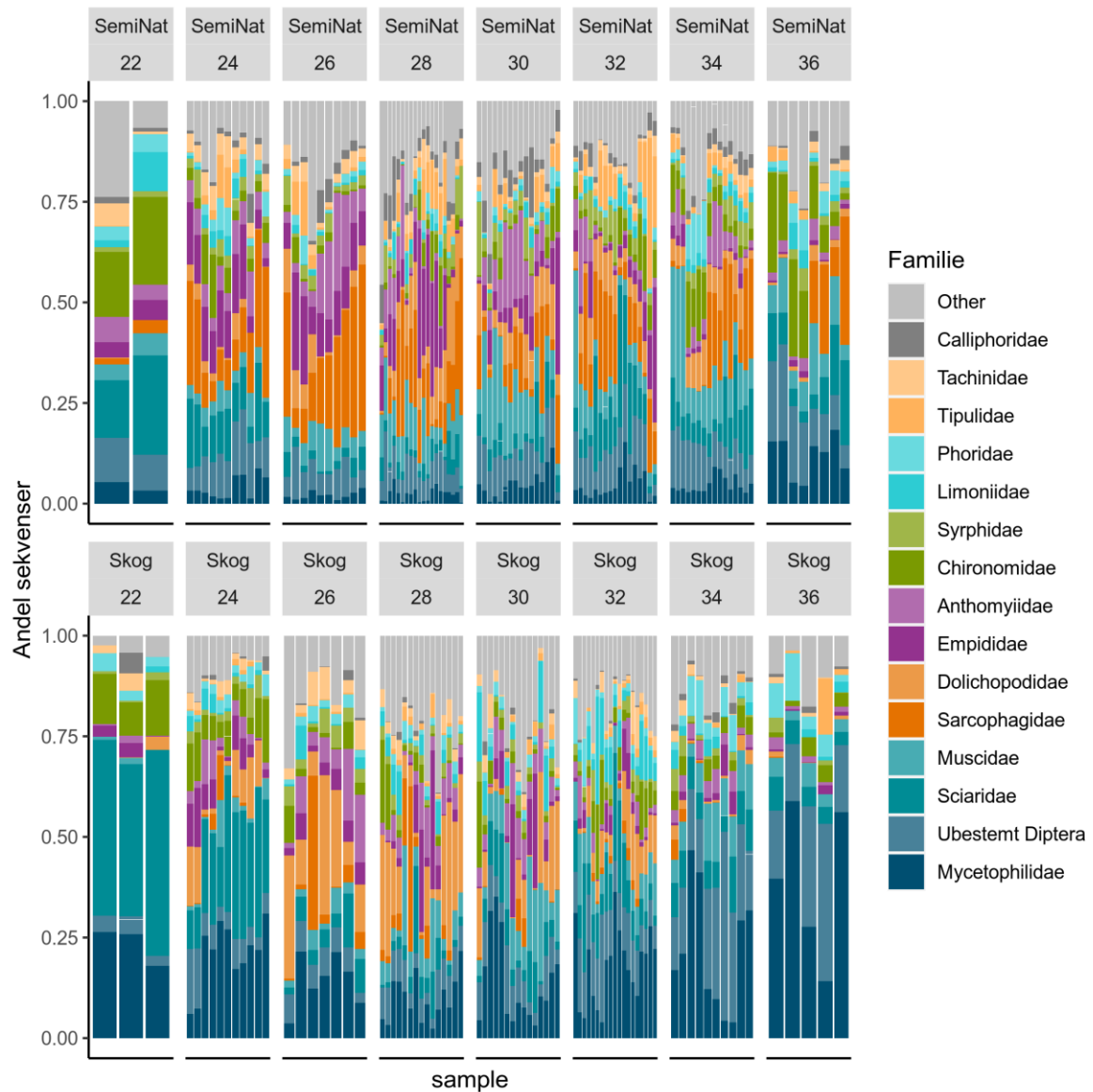
Ordenen Diptera (tovinger) dominerte malaisefellefangstene og vi fant hele 4464 arter (**Tabell 1**). Til sammenligning fant vi 2060 arter av Hymenoptera, ordenen med nest flest arter. Den relative fordelingen av DNA-sekvenser per taksonomiske gruppe blir ofte brukt som et mål på den relative mengden av ulike insekter, selv om dette er omdiskutert. Fra tester på lyseringslengde (se under) ser vi at den relative fordelingen av DNA-sekvenser blir forskjøvet mot myke arter i dette studiet, men vi ser at det store antallet arter av Diptera også speiles av et stor antall DNA-sekvenser (Tabell 1, Figur 14). Innen Diptera finner vi en stor variasjon i andelen DNA-sekvenser mellom habitat og sesong (Figur 15). En ordinasjonsanalyse av alle arter og DNA-sekvenser viser en klar samfunnsstruktur både mellom habitater og gjennom sesongen (Figur 16). Selv om vi har lokaliteter hele veien fra Vestfold og Telemark til Innlandet er det likevel en klar forskjell mellom skog og semi-naturlig.

Tabell 1. Oversikt over antall DNA-sekvenser og antall arter per Orden totalt for alle malaisefeller.

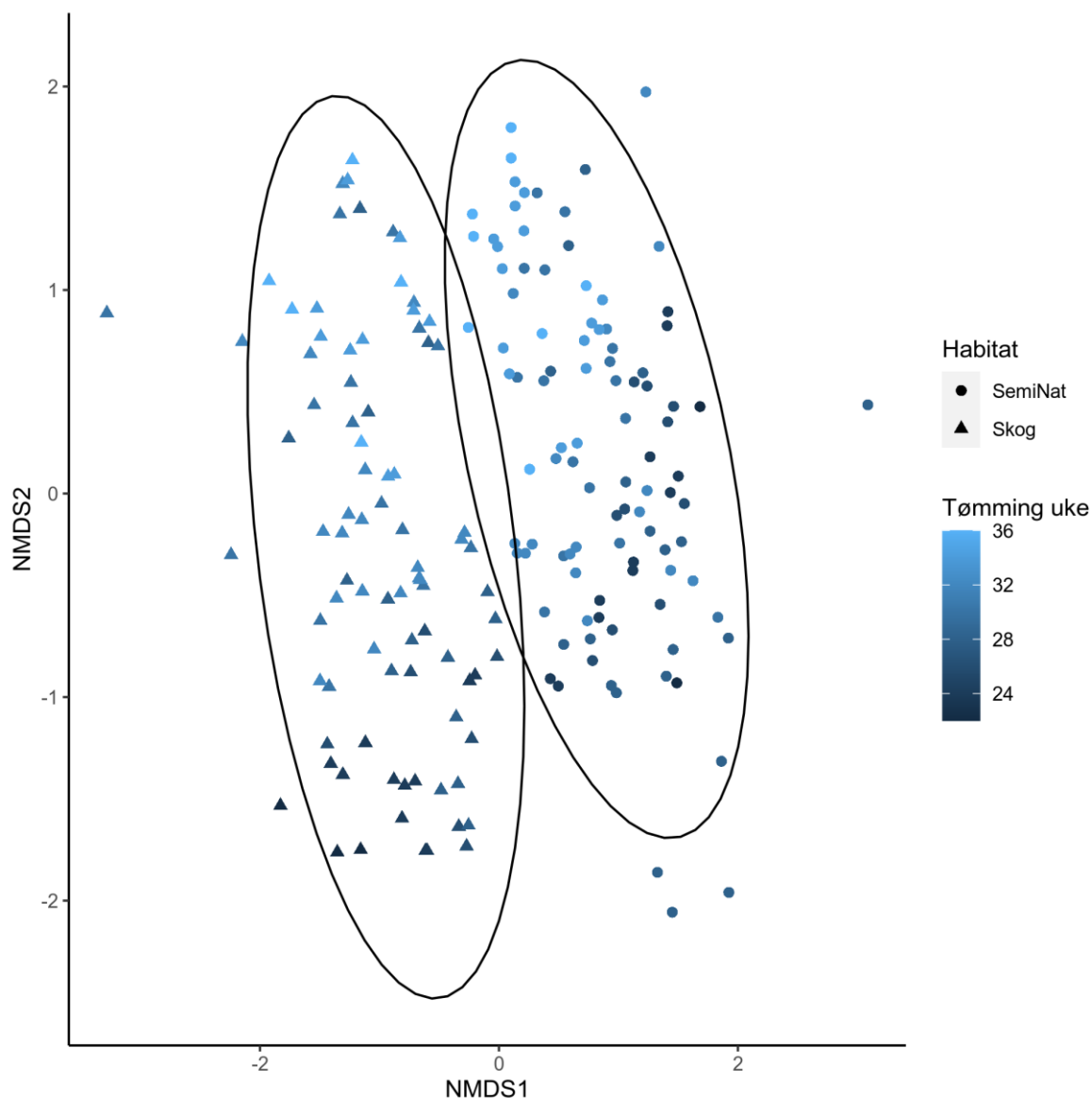
Klasse	Orden	Antall DNA-sekvenser	Antall arter
Insecta	Diptera	9775889	4464
Insecta	Lepidoptera	3405690	921
Insecta	Hymenoptera	569645	2060
Insecta	Coleoptera	421200	329
Insecta	Hemiptera	196298	254
Insecta	Trichoptera	167659	53
Insecta	Plecoptera_Insecta	111420	14
Insecta	Psocoptera	24209	19
Insecta	Blattodea	22269	2
Collembola	Entomobryomorpha	19813	7
Insecta	Neuroptera	15102	31
Insecta	Dermaptera	9854	4
Insecta	Orthoptera	9160	28
Arachnida	Opiliones	7222	4
Insecta	Ephemeroptera	6583	18
Collembola	Symphypleona	3820	3
Insecta	Mecoptera	2400	1
Insecta	Odonata	2259	3
Insecta	Raphidioptera	1251	3
Arachnida	Araneae	585	26
Arachnida	Trombidiformes	456	4
Insecta	Thysanoptera	88	6
Insecta	Strepsiptera	11	1
Collembola	Poduromorpha	8	1



Figur 14. Fordeling av DNA-sekvenser for ordener innen klasse Insekter. Hver søyle er en prøve, og hver gruppering viser habitat (skog eller seminaturlig) samt ukenummer gjennom sesongen.



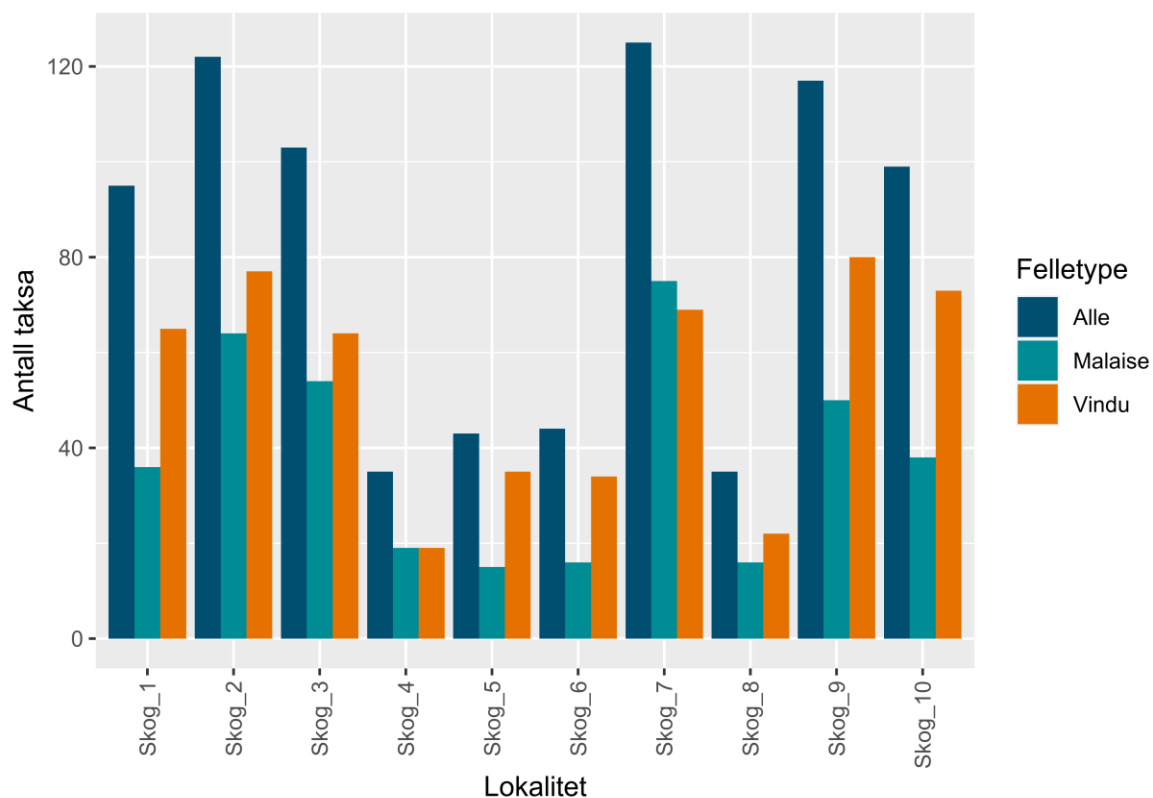
Figur 15. Fordeling av DNA-sekvenser mellom de 15 familiene med flest DNA-sekvenser innen orden Diptera. Hver søye er en prøve, og hver gruppering viser habitat (skog eller seminaturlig) samt ukenummer gjennom sesongen.



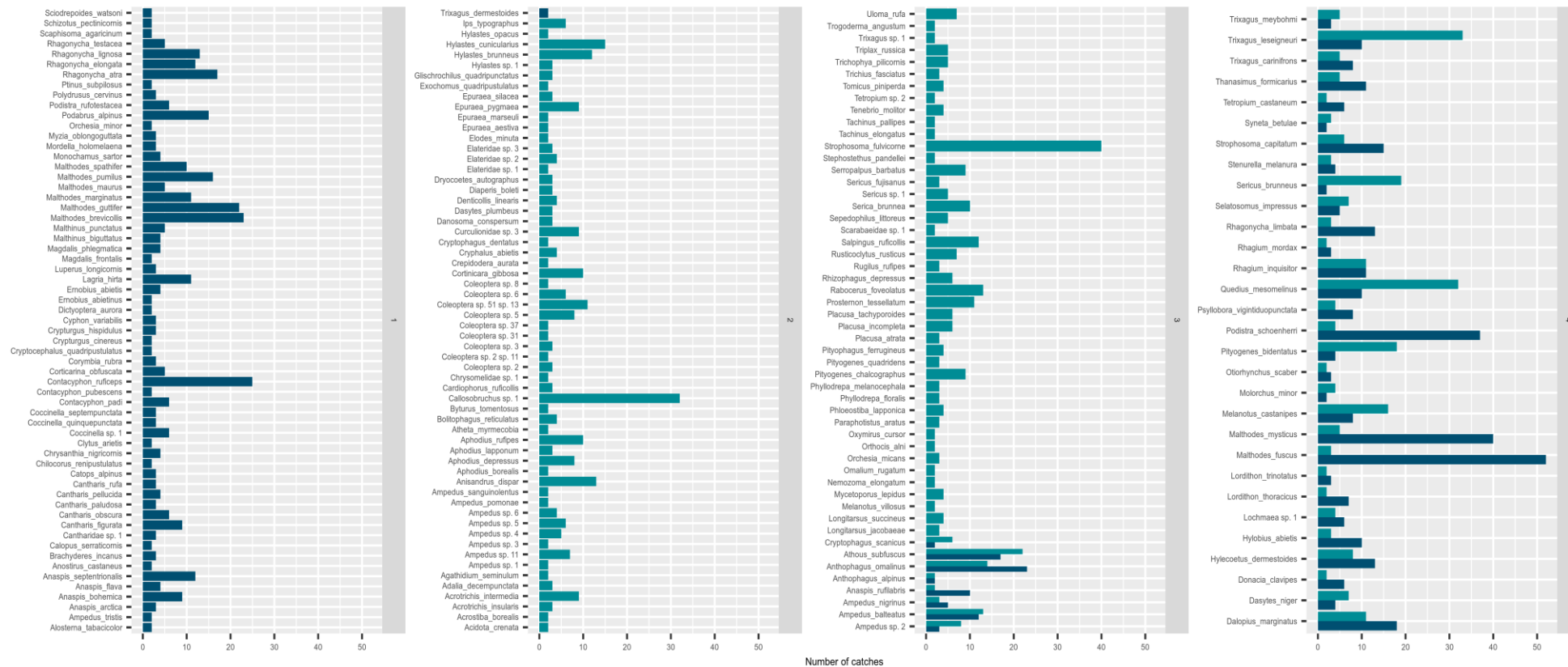
Figur 16. Et ordinasjonsplot av variasjonen i arter og DNA-sekvenser i forhold til habitat og sesong (ukenummer).

3.4 Sammenligning mellom felletyper

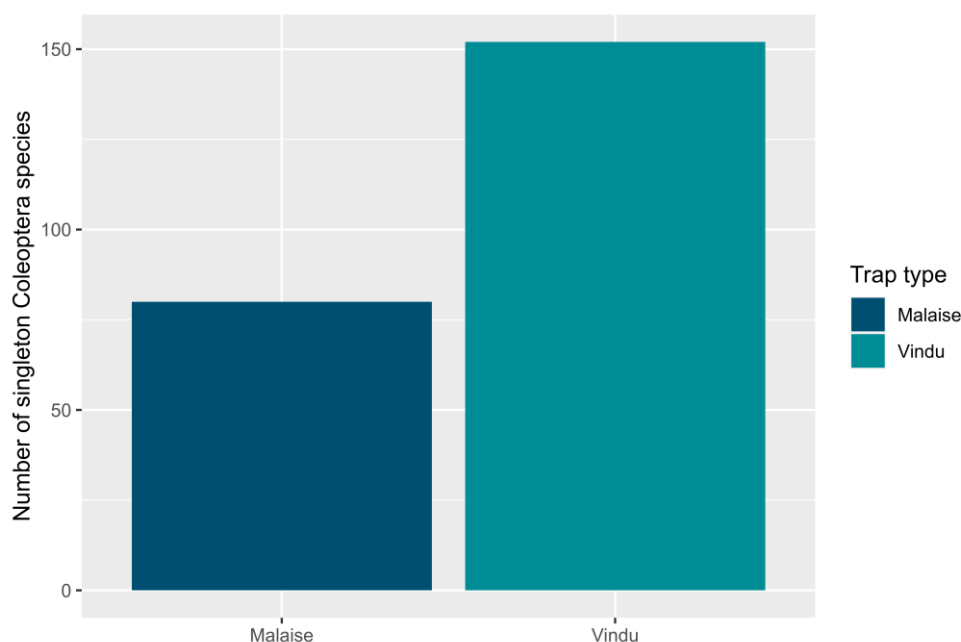
I skogslokalitetene ble vindusfeller brukt i tillegg til malaisefeller. De er først og fremst inkludert for å samle inn biller, da mange billearter er karakteristiske for skog, og noen arter i mindre grad fanges i malaisefeller. Figur 17 viser hvordan de to felletypene fanger biller. De fire vindusfellene per lokalitet fanger generelt flere billearter enn de to malaisefellene, selv om det i noen lokaliteter var omvendt. Det er videre tydelig at de to typene kompletterer hverandre i og med at det totale antallet billearter i begge felletyper gjennomgående er større enn i hver enkelt type. Figur 18 viser hvordan de ulike artene fordeler seg mellom de to felletypene. Flere arter har blitt fanget i begge felletyper (de med to smale stolper), men flertallet arter er kun fanget i en felletype. Til sist viser Figur 19 fordelingen av billearter som er blitt fanget kun en gang. Vindusfellene står her for flertallet av slike «singletons», som viser at denne felletypen fanger mer av de sjeldne billeartene.



Figur 17. Totalt antall arter (taksa) biller som er funnet på hver skogslokalitet per 2020-09-04.



Figur 18. Fordeling av hvilke felle typer ulike billearter ble fanget i for skog. Taksa som bare ble fanget i en felle en gang er ikke tatt med (se Figur 19). Noter at artsidentifiseringene er midlertidige.

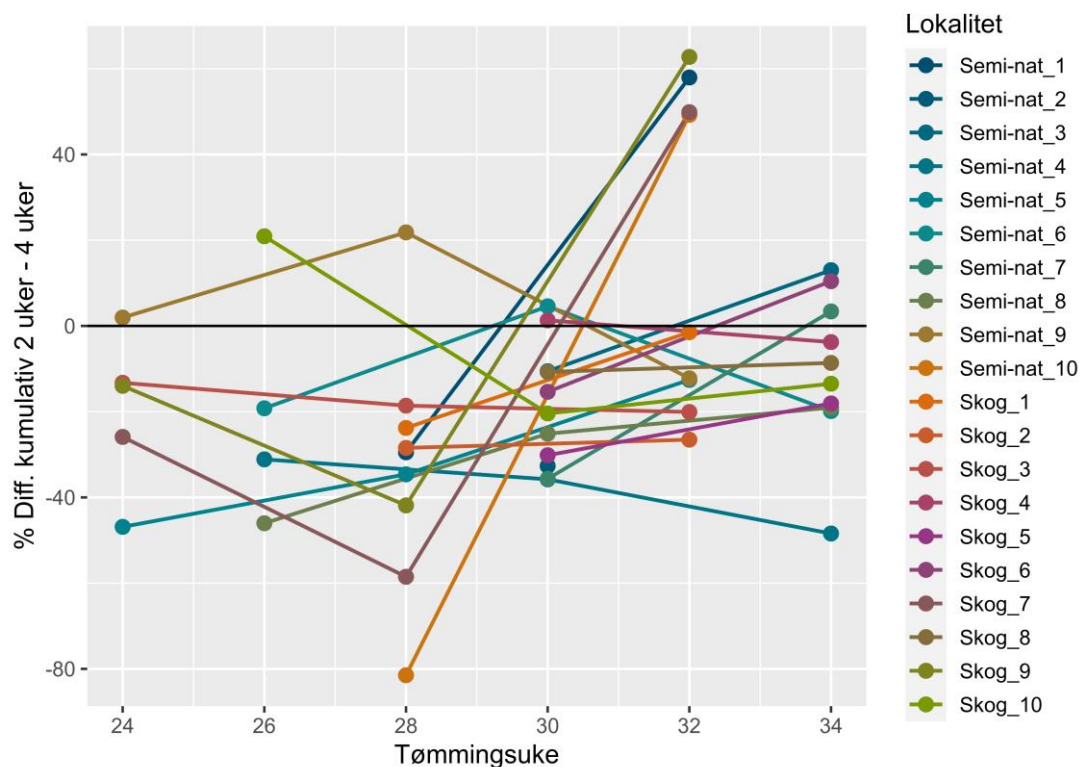


Figur 19. Antall arter biller som bare har blitt funnet i en felle en gang, fordelt på felletype. Kun skogslokaliteter er tatt med.

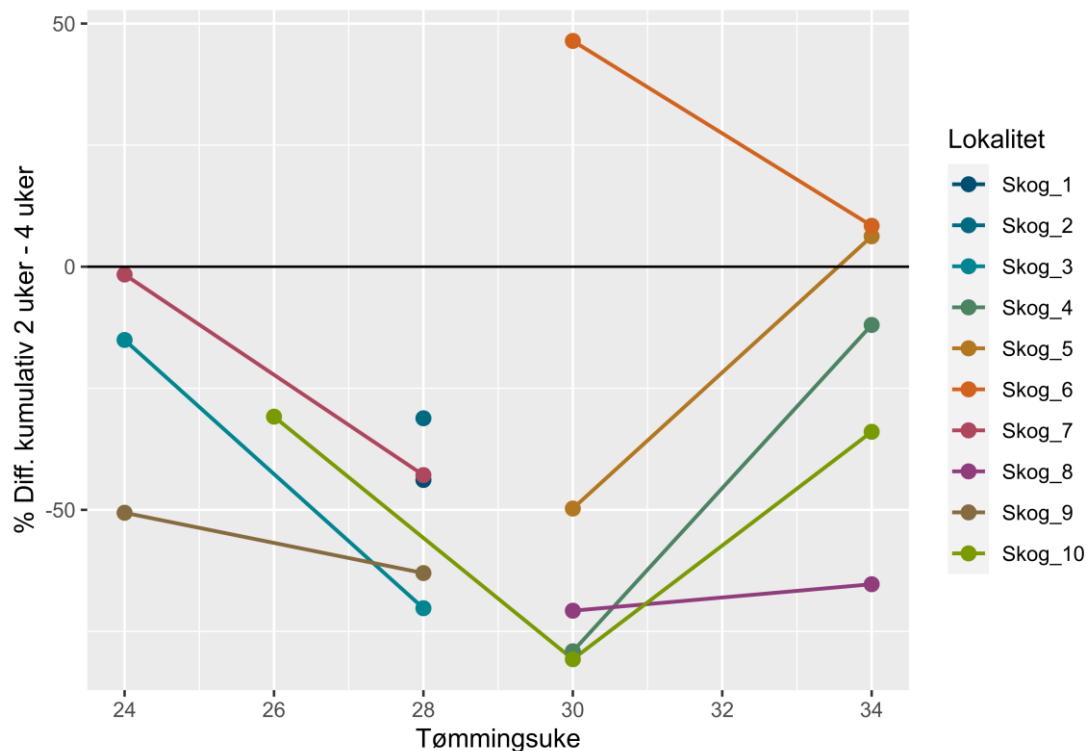
3.5 Sammenligning mellom tømmefrekvenser

Felletømmingene ble i år gjennomført i 2- og 4-ukersintervaller parallelt, ved at den ene av to malaisefeller per lokalitet ble tømt hver 2. uke og den andre hver 4. uke. På den måten kan man legge sammen funnene i de to 2-ukersperiodene og sammenligne med funnet i 4-ukerstømmingen. Som tidligere nevnt baseres denne rapporten kun på en del av dataene, og derfor er resultatene foreløpige. Sammenligningene viser likevel et tydelig mønster i at 4-ukerstømmingen ikke fant like mange arter som summen av 2-ukerstømmingene. Figur 20 viser den prosentuelle forskjellen i antall taksa funnet ved 2-ukerstømming sammenlignet med 4-ukerstømming i malaisefellene. Flertallet av verdiene er negative, dvs. at 4-ukerstømmingen ga færre identifiserte taksa enn de to 2-ukerstømmingene samlet. Figur 21 viser tilsvarende sammenligning for vindusfeller. Også her er flertallet av verdiene negative. Det er vanskelig å anslå en kvantitativ forskjell basert på et så lite datagrunnlag, men det virker ikke usannsynlig at forskjellen kan være opp imot 30% for malaisefeller, og enda høyere for vindusfeller.

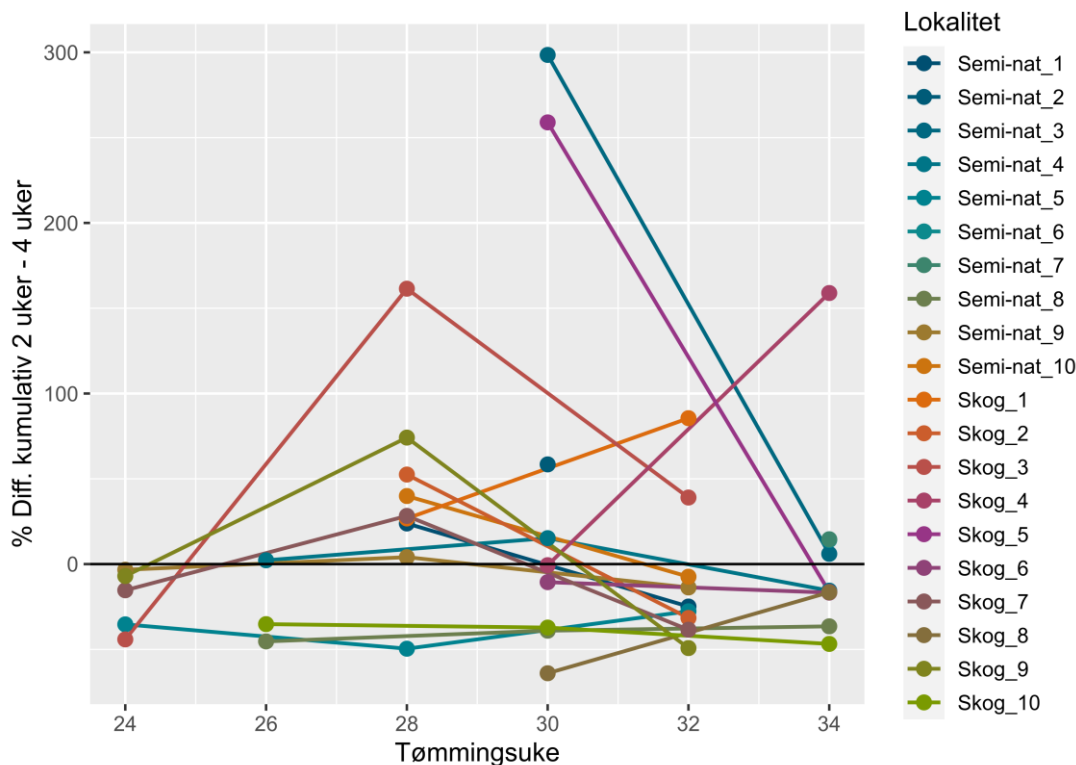
Figur 22 viser tilsvarende sammenligning, men for biomasse av innsamlede insekter. Dette er kun verdt å gjøre for malaisefeller, da vindusfeller fanger så liten biomasse at veiingen blir usikker. Biomasse følger ikke samme mønster som antall taksa. 4-ukerstømmingene fanger iblant lavere og iblant høyere vekt insekter enn summen av de to 2-ukersinnsamlingene. Biomasse ser også ut å være mer variabel enn antall taksa, og man bør ta ekstreme verdier med en klype salt, som for eksempel de to tilfellene der 4-ukerstømmingen fanget langt høyere biomasse enn 2-ukerstømmingene i Semi-nat_3 og Skog_5 i perioden uke 26-30.



Figur 20. Prosentuell forskjell i påvist artsrikdom (antall taksa) i malaisefeller mellom to 2-ukers tømninger og en 4-ukerstømming på samme lokalitet og tidsintervall. Negative verdier (lengre ned på skalaen) indikerer at 4-ukerstømmingen fant færre arter enn summen av 2-ukerstømmingene. Lokalteter med komplette data er sammenbundet med linjer.



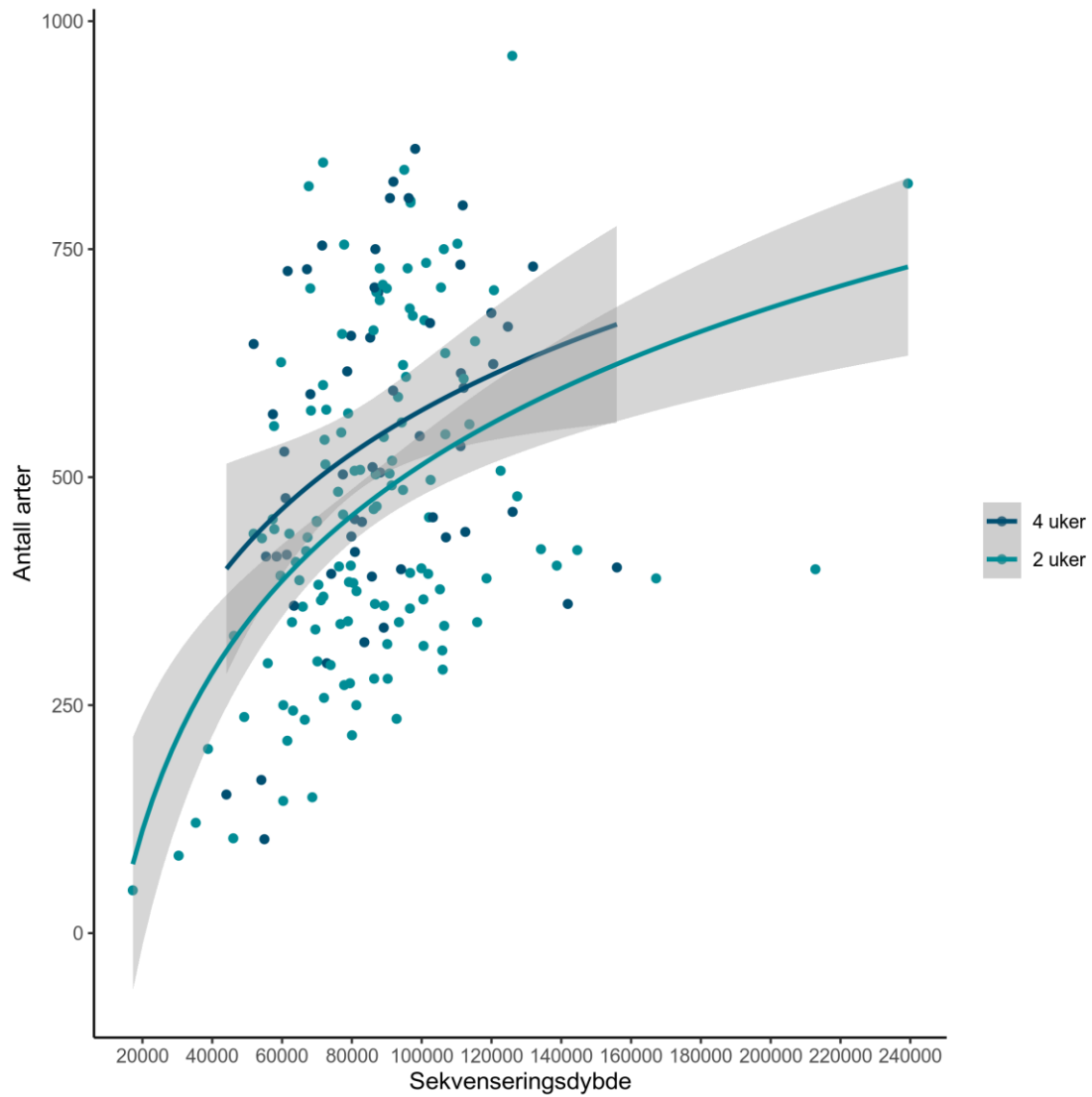
Figur 21. Forskjell i påvist artsrikdom (antall taksa) i vindusfeller mellom to 2-ukers tømninger og en 4-ukerstømming på samme lokalitet og tidsintervall. Negative verdier (lengre ned på skalaen) indikerer at 4-ukerstømmingen fant færre arter enn summen av 2-ukerstømmingene. Lokalteter med komplette data er sammenbundne med linjer. De to vindusfellene i hver lokalitet og tømmeperiode er slått sammen.



Figur 22. Prosentuell forskjell i tørrvekt av insekter i malaisefeller mellom to 2-ukers tømminger og en 4-ukers-tømming på samme lokalitet og tidsintervall. Positive verdier (lengre ned på skalaen) indikerer at 4-ukerstømmingen fant mindre biomasse enn summen av 2-ukerstømmingene, mens negative verdier (høyere opp på skalaen) indikerer at 4-ukerstømmingen fanget større vekt enn summen av de to 2-ukerstømmingene. Lokalteter med komplette data er sammenbundne med linjer.

Grunnen til forskjellen i antall arter påvist mellom to og fire ukers tømminger kan ha flere årsaker. Det er mulig at en lengre oppbevaring i felt kan degradere kvaliteten på DNA i flaskene. Derfor har vi i dette prosjektet brukt aluminiumsfolie rundt alle flasker i felt for å forhindre UV-stråling fra sola og forminske fordampingen av etanol. Flaskene blir også fullere med 4 ukers intervall enn 2 ukers intervall, noe som kan gjøre at forholdet mellom etanolmengde og insektmengde blir for liten. Med for lav etanolandel i flasker øker risikoen for degradering av DNA. En større insektmengde kan også gjøre lyseringen og ekstraksjon av DNA vanskeligere på lab, da sjeldne arter med få individer kan maskeres av den store biomassen av mer vanlige insekter.

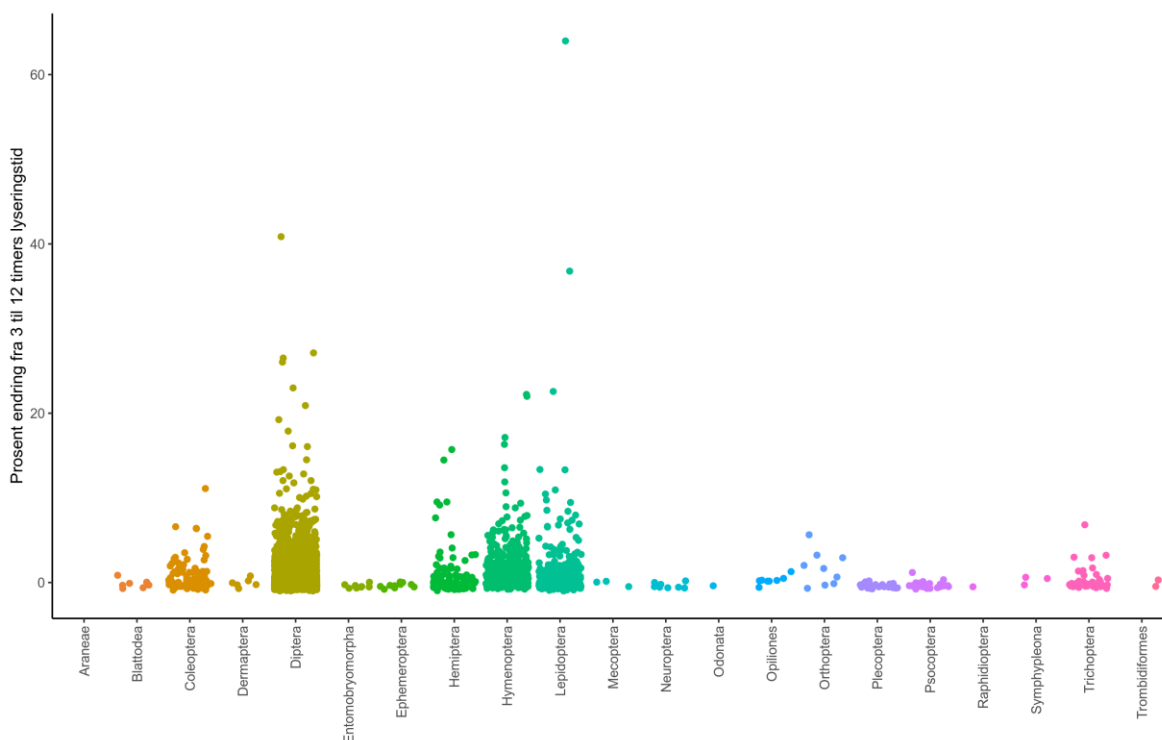
Sekvenseringsdybde varierer en del mellom prøvene, og er en faktor som vi har diskutert i tidligere rapporter (Westergaard mfl. 2018). For hver kjøring på en MiSeq maskin får vi ca. 10 millioner DNA-sekvenser. Hvor mange DNA-sekvenser vi får per prøve avhenger derfor av hvor mange prøver vi inkluderer i hver kjøring. Vi har i dette studiet inkludert 80-90 prøver per kjøring. Men vi ser av resultatene at det kanskje er i overkant for å sikre at alle prøver får en god sekvenseringsdybde. Vi finner en positiv sammenheng mellom sekvenseringsdybde og antall arter (Figur 23), noe som kan tyde på at vi ikke finner alle artene i prøver med lav sekvenseringsdybde. For sammenligningen mellom to og fire ukers tømmeintervaller betyr dette at når vi kjører to separate analyser for de to 2-ukers prøvene vil vi ha dobbelt så mange DNA-sekvenser til sammen som for den ene analysen for 4-ukers prøvene. Dette kan ha påvirket resultatet i negativ grad for 4-ukers prøvene. Men vi ser ikke en forskjellig effekt av hvordan antall DNA-sekvenser påvirker antall arter for 2-ukers sammenlignet med 4-ukers tømmeintervall (Figur 23). Vi vil likevel anbefale at vi kun inkluderer 50-60 prøver per MiSeq kjøring for å øke sekvenseringsdybden i fremtiden.



Figur 23. Antall arter påvist med DNA-metastrekoding som en funksjon av sekvenseringsdybde (antall DNA-sekvenser generert per prøve) for 2- og 4-ukers prøver.

3.6 Lyseringstid og artsmangfold

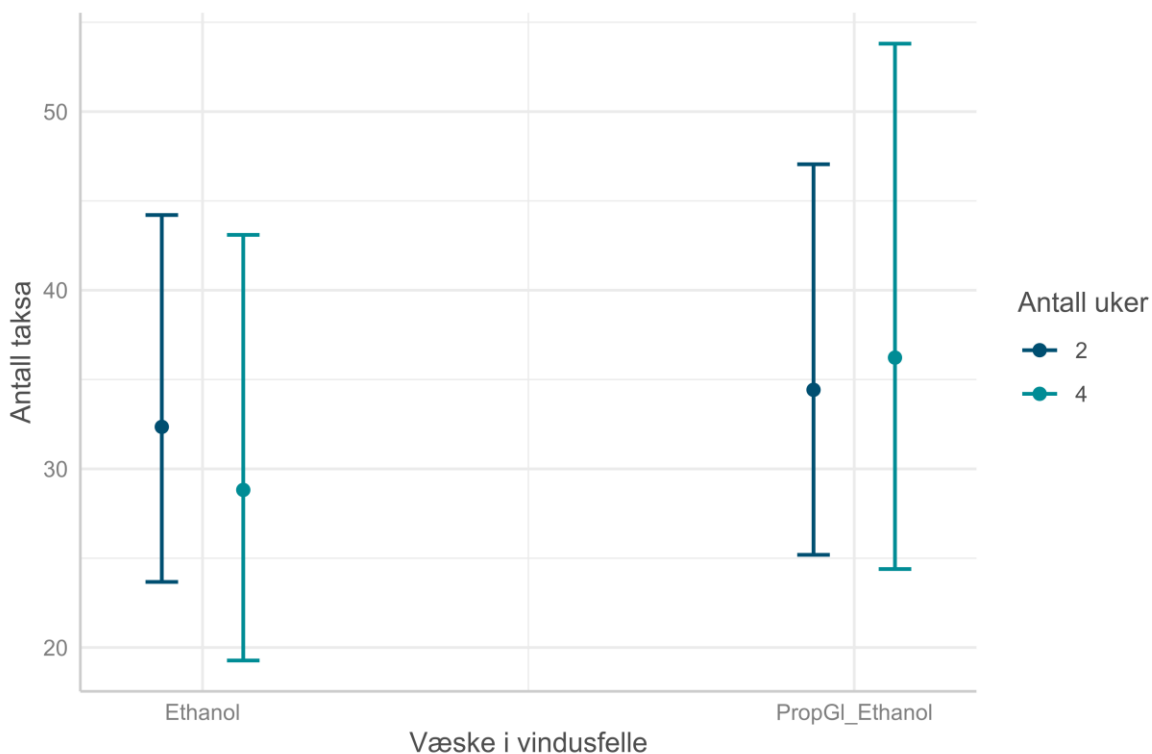
For uttesting av lysering som vi gjorde i 2019 (Åström mfl. 2020) tilsatte vi lyseringsbuffer og proteinase-K og inkuberte prøven over natt. Vi har i år gjort en sammenligning av lyseringstid for 20 prøver der vi tok ut en delprøve av lyseringsbufferen etter tre timer og en ny delprøve etter lysering over natt som normalt. Resultatet viser at «myke» insekter bidrar relativt mer til andelen DNA-sekvenser ved lengre lysering (Figur 24). Dette betyr at vi har mindre sannsynlighet for å påvise små insekter med harde eksoskjeletter etter en lang lysering sammenlignet med en kortere lysering. Vi anbefaler derfor at insektprøver ikke blir lysert mer enn tre timer.



Figur 24. Y-aksen viser endring i relativt antall DNA-sekvenser fra lysering i tre timer til lysering over natt (12 timer) for ulike ordener. Vi ser at «myke» insekter bidrar relativt mer til andelen DNA-sekvenser ved lengre lysering.

3.7 Sammenligning av konserveringsvæske i vindusfeller

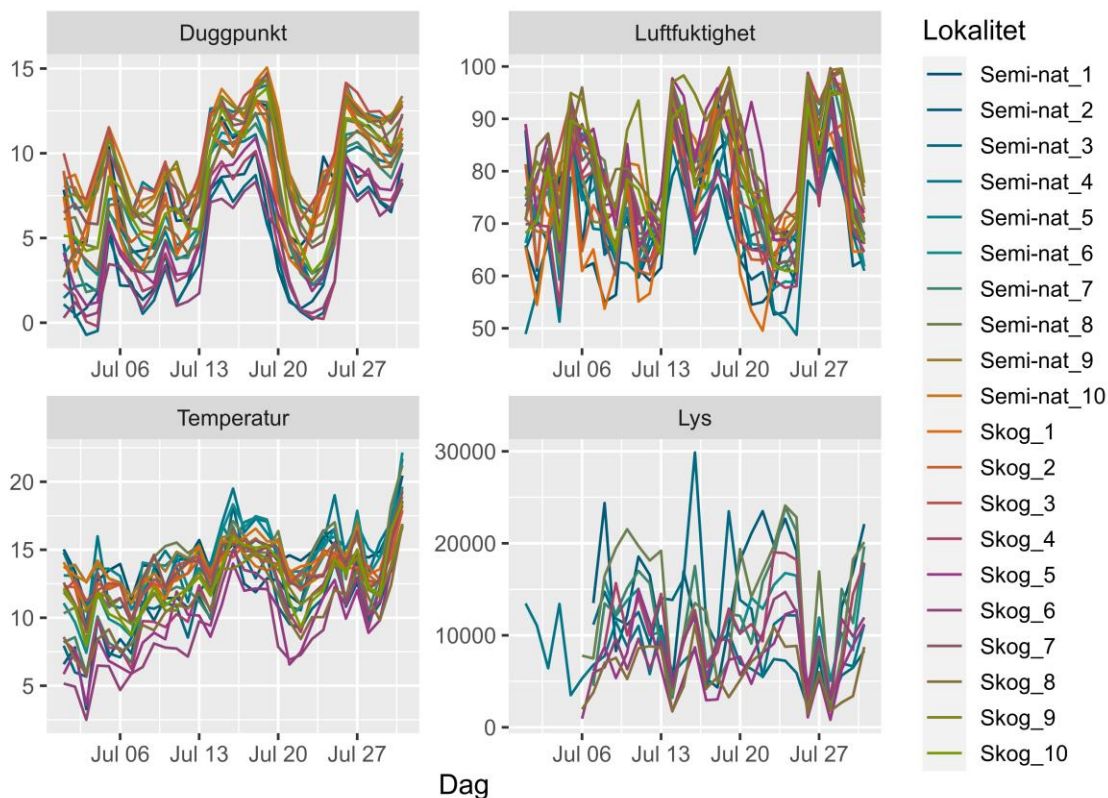
Bruk av propylenglykol for konservering av insekter der en ønsker å ta vare på DNA har vært omdiskutert av mange forskere internasjonalt. Testene vi gjorde som del av dette prosjektet i 2019 viser derimot at man kan få sammenlignbare resultater med bruk av etanol som konserveringsvæske, ved å vaske bort propylenglykolen og bruke lysering for ekstraksjon av DNA (Åström mfl. 2020). I 2020 gjorde vi en ny sammenligning for vindusfeller, og resultatene viser igjen at bruk av propylenglykol ikke ser ut å gi dårligere resultat enn bruk av etanol, selv om analysen er forbundet med usikkerhet (Figur 25). For vindusfeller som har et større problem med både for-damping og uttynning av etanolen med regn er dette funnet svært positivt.



Figur 25. Modellert forskjell i antall påviste taksa i vindusfeller, avhengig av tømmefrekvensen og konserveringsvæsken. 2-ukerstømminger er her ikke slått sammen fordi det bare var en vindusfelle per tømming som hadde stått ute samme tid med samme konserveringsvæske. Usikkerheten vises som 95% konfidensintervall.

3.8 Klimavariabler

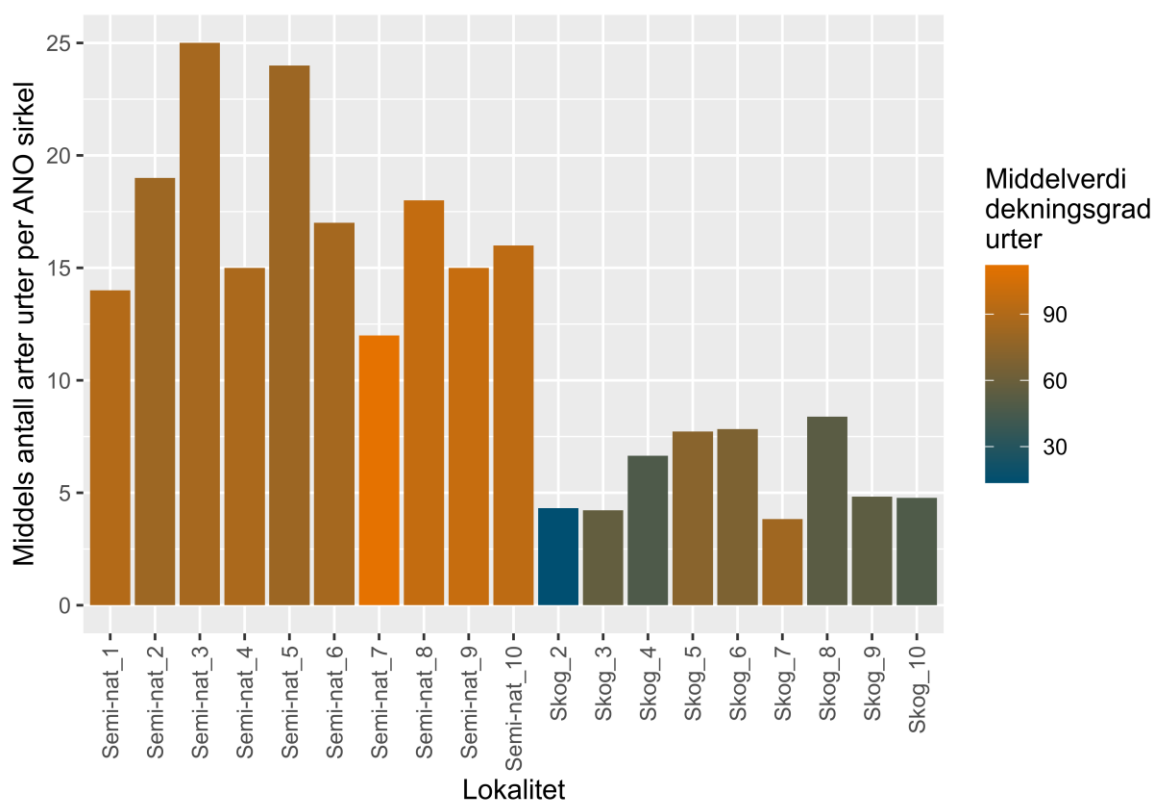
Figur 26 viser en oversikt over de innsamlede klimavariablene under 2020. Vi har brukt temperatur- og luftfuktighetsmåler MX2301A fra Hobo, samt temperatur- og lyslogger MX2202 i de lokalitetene nær Lillehammer der også lydlogger ble satt ut i ett tilknyttet separat prosjekt (Rosten, Mathiassen, & Fossøy 2020).



Figur 26. Innsamlede klimavariabler i 2020. Kun verdier fra juli vises som eksempel.

3.9 ANO-kartlegging

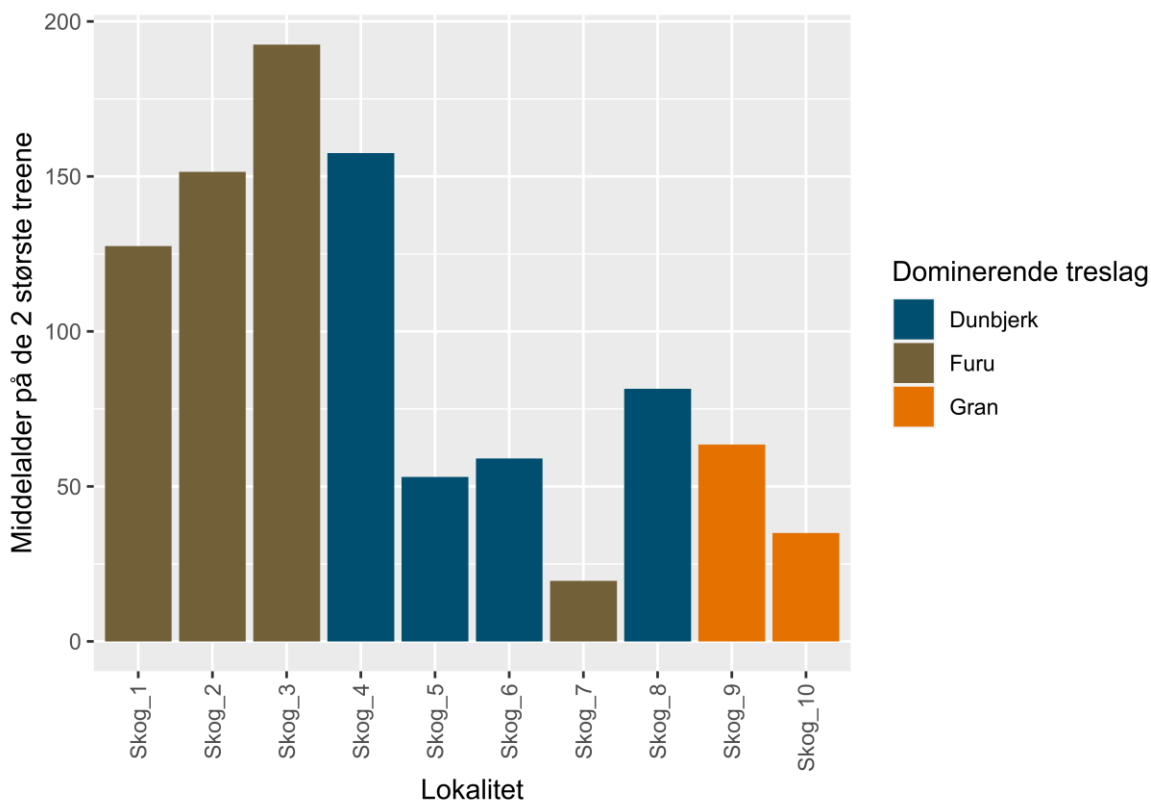
ANO-kartleggingen gir et ganske rikt datasett, med informasjon om dekningsgrad av stedeigne urter, problemarter og fremmede arter. Vi gjør bare en kort summering av funnene i denne rapporten. Figur 27 viser artsantall (staber) og dekningsgrad (farge) av stedeigne urter, innen de undersøkte sirkelene i hver lokalitet (unntatt Skog_1). Ikke særlig overraskende har semi-naturlig mark en større diversitet av urter, og en generelt høyere dekningsgrad. Diversiteten er relativt høy i de semi-naturlige lokalitetene som bærer preg av beiting (se Semi-nat_2,3,4 i Figur 2). Merk at disse lokalitetene er forbundet med større usikkerhet, da dataene bare baseres på en undersøkt sirkel, mot de 18 i skogslokalitetene. Skogslokalitetene har i flere tilfeller en lav biodiversitet med under fem arter urter. Dette er sannsynligvis ikke et uvanlig resultat, gitt den ofte enda lavere diversiteten i andre skogslokaliteter (Vegard Bakkestuen, pers. kom.).



Figur 27. Middelverdi på antallet arter urter innen de kartlagte ANO-sirkelene på 250m² ved feltlokalitetene. Fargeskalaen viser den prosentuelle totale dekningsgraden av urter i undersøkelsessirkelen. Merk at skogslokalitetene baseres på 18 slike sirkler mens de i semi-naturlig mark baseres på 1 sirkel.

3.10 Landskogskartlegging

Landskogstakseringen viser en stor spennvidde i alder i de ulike skogbestandene. Vi traff tilfeldigvis flere lokaliteter som nærmer seg definisjonen av gammelskog med tanke på alder. De fleste lokalitetene betegnes likevel som normalskog da de bærer preg av tidligere hogst. Skog_6 og Skog_7 var de eneste som ble klassifisert som noe annet, med «natskog» respektive «plantasje» (se Figur 2). Grunnet en misforståelse av instruksjonen, ble de største trærne aldersbestemt isteden for de største trærne av det dominerende treslaget. Aldersmålingen for Skog_4 og Skog_8 er for eksempel ikke fra bjørk.



Figur 28. Estimert bestandsalder på skogen, etter en forenklet landskogstaksering. Alderen baseres på borreprøver fra de to største trærne, men bør egentlig begrenses til det dominerende treslaget. Fargeskalaen viser dominerende treslag innenfor den 250 m² store undersøkningssirkelen.

4 Prosjektgjennomføring

4.1 Virksomheten i 2020

Planen for årsbudsjettet for 2020 var basert på estimat fra tidligere vurderinger og pilotstudier (Åström mfl. 2020, 2019). Den totale budsjetttrammen viste seg å fungere ganske greit for realiteten i 2020 totalt sett, selv om noen deler ble billigere og noen dyrere. Generelt gikk felletømmingene kjappere enn hva vi hadde trodd, og ble mye billigere enn hva vi hadde estimert. I tillegg ble det noen færre felletømminger på grunn av at fellene ikke ble satt ut på alle lokaliteter i starten av sesongen (se ovenfor). Registreringene av ANO-data og landsskogskarteringen ble dog mer kostbare enn hva vi hadde forventet oss, og var dyrere enn alle felletømmingene til sammen. Preprosessering av prøvene på lab, dvs. tømming av etanol, tilsetting av buffer og spesielt vasking av prøvene for lagring i etterkant, tok også mye lengre tid enn antatt. Denne del innebærer nye steg som ikke gjøres i annen metastrekkoding, og var derfor vanskelig å estimere timeforbruk for i forkant.

Rapporteringen og de analyser som ønskes av oppdragsgivere i kravspesifikasjonen oppleves som omfattende i forhold til budsjetttrammene. Noen av punktene kunne ha vært formål for egne rapporter og må behandles nokså kortfattet i denne rapporten. Særlig rapporteringsfristen er problematisk da vi ikke rekker ferdigstille prosesseringen av prøvene i løpet av høsten, og at en del av metodeutviklingen er vanskelig å planlegge i forkant. Resultatene fra 2020 tyder for eksempel på problemer med identifiseringen av større prøver, noe som kan være knyttet til sekvenseringsdybden eller lyseringsprotokollen i den genetiske analysen. Vi gjennomfører nå ekstra uttesting for å identifisere årsaken.

4.2 Plan for tenkt fortsettelse i 2021, ved samme omfang

I skrivende stund har det ikke kommet frem tydelige resultater som angir at man bør forandre noe grunnleggende i overvåkingen i 2021. Vi har ikke grunn per i dag til å konkludere med at tømning hver 4. uke vil fungere godt nok, men det kan ikke utelukkes at dette kan fungere greit i visse perioder under sesongen. De foreløpige analysene viser at vi identifiserer færre arter med tømning hver fjerde uke kontra hver andre uke. For å kunne endre til tømning hver fjerde uke, må man kunne identifisere hvorvidt de dette skyldes teknikken for metastrekkodingen, og om dette lar seg forbedre. Det er derfor for tidlig å konkludere tømmefrekvensen på per desember 2020, men vi gjennomføre i skrivende stund kompletterende analyser som kan bidra til å avklare dette.

Resultatene fra 2020 viser også at det er relevant å fortsette med vindusfeller i skogslokaliteter, og at propylenglykol kan være en grei konserveringsmetode for disse fellene. Gitt den lave biomassen i hver vindusfelle, gir det mening å fortsette med fire vindusfeller på hver lokalitet. Prøver fra disse fire fellene kan dog slås sammen ved analyse for å redusere kostnadene for metastrekkoding og lagring. Vi anbefaler derimot å bruke en malaisefelle per lokalitet i stedet for to. En malaisefelle per lokalitet samsvarer også bedre med internasjonale prosjekt, og tidligere pilotforsøk viser likevel at man må opp til et mye større antall feller for å nå en fullstendig kartlegging av den lokale insektfaunaen (Åström mfl. 2020). Hvis det imidlertid viser seg å være behov for ytterligere undersøkelser knyttet til tømingsintervall, må det likevel benyttes to malaisefeller.

En diskusjon har blitt startet med landbruksdirektoratet og NIBIO, om mulighetene til å samlokalisere insektovervåkingen i jordbruksmark i tilknytning til eksisterende 3Q-flater. Hvis dette lar seg gjøre, vil man kunne oppnå synergieffekter ved å slå sammen to omfattende overvåkingsprosjekt og kombinere data på insektforekomster med mer detaljert data på lokale miljøvariabler, inklusive historiske data på landskapssammensetning og gårdsdrift. Det forventes dog ikke å lede til noen særlig kostnadsbesparing da den sammenlagte datainnsamlingen ikke forventes å

bli mindre. Denne muligheten vil fortsatt bli diskutert i løpet av vinteren slik at mulighetene til en samlokalisering er utredet før neste års feltarbeid.

4.3 Muligheter for utvidelse av overvåkingen

Oppdragsgiver har gitt indikasjoner på at det ikke er aktuelt med en utvidelse av overvåkingen i 2021, hverken geografisk eller til andre økosystemer. Vi vurderer derfor mulighetene til utvidelse i korthet. Generelt er det ønskelig å utvide overvåkingen geografisk, for å dekke flere områder enn Østlandet. Det er ikke forsvarlig å generalisere funnene på Østlandet til andre områder, gitt den store variasjonen i klima, vegetasjon, og menneskelig påvirkning. Distribusjonen av forskjellige økosystemtyper er videre behandlet i tidligere rapport (Åström mfl. 2020, 2019). En utvidelse kan med fordel gjennomføres stegvis, ved å legge til en landsdel per gang. Sørlandet kan tenkes kombineres med Vestlandet. Øvrige deler forventes å kunne overvåkes med omtrent samme antall lokaliteter som på Østlandet, men den eksakte fordelingen kan ha behov for modifisering basert på forekomsten av økosystemene i de ulike områdene. Tidligere analyser viste at skogslokalitetene i ANO-kartleggingen sannsynligvis ikke vil rekke for en insektovervåking i de andre landsdelene enn Østlandet, uten at man da vil være nødt til å trekke fra hele de 10 000 potensielle rutene. Kostnadsbesparingene fra samlokalisering med ANO vil da minke for disse områdene. En potensiell mulighet er å samlokalisere overvåkingen i skog med den eksisterende landskogs-takseringen. Denne mulighet bør undersøkes nærmere, likt det nå vil bli gjort for en mulig samlokalisering med 3Q i landbrukslandskapet.

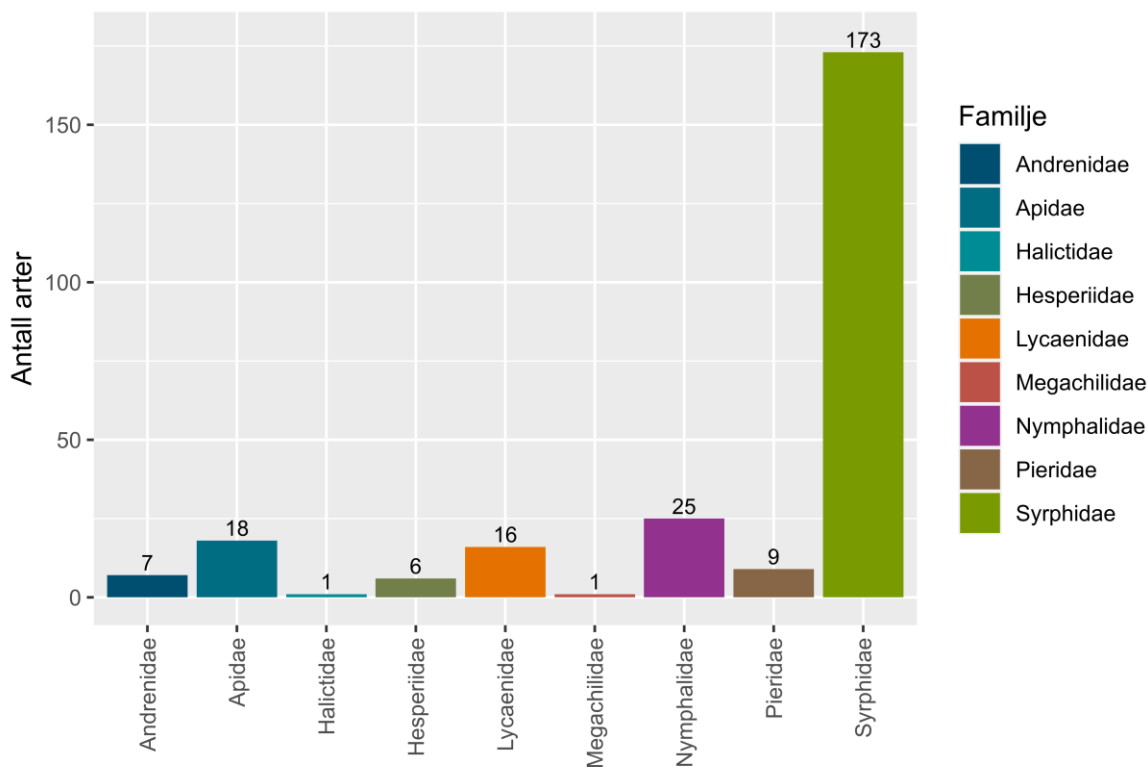
Detaljerte kostnadsberegninger for utvidelse, både geografisk og til andre økosystem, er vanskelig å gjennomføre. Det er for eksempel vanskelig å forutse hvor lang tid det vil ta å oppsøke mer avsides lokaliteter. Særlig Nordland og Vestlandet kan by på økte reisekostnader for felle-tømminger. Dette trenger ikke å bety at man må øke arbeidsstyrken mye, da det kan være mulig å gjennomføre med et team ved å tømme fellene i et forskjøvet skjema innen hver region. Tidligere preliminnære undersøkelser viste at tiden for å ta seg til en feltlokalitet generelt vil bli høyere for fjell enn for jordbruksland og skog, men at det for Nord-Norge også vil være lengre reisetider til jordbrukslokaliteter (se fig 34 i Åström mfl. 2020).

Det kan også være utfordringer ved å bruke malaisefeller i værharde lokaliteter. Fjell bør i utgangspunktet gå fint å overvåke med malaisefeller, men man vil nok danne seg noen verdifulle erfaringer det første året man drifter et stort antall feller i fjellet. I tundra kan det være mer egnet rent økologisk å bruke fallfeller istedenfor malaisefeller, men dette vil innebære økte kostnader for manuell håndtering av fellene, og det er sannsynlig at kvaliteten på materialet ikke vil være godt nok til å bruke metastrekkoding som identifiseringsmetode på grunn av fordamping, uttynning og kontaminering. Andelen tundra fordeler seg naturlig nok ikke likt over alle geografiske regioner. Man kan kanskje redusere mengden lokaliteter i tundra, men dette må vurderes mer detaljert før dette økosystemet blir aktuelt for å overvåke.

For å sammenfatte så har virksomheten i 2020 ikke lagt grunnlag for et vesentlig forandret budsjett for framtiden. Vi anbefaler derfor et uforandret budsjett, og håper at de økte kostnadene ved en komplett feltsesong fra starten på våren vil kunne tjenes inn gjennom løpende effektiviseringer. Kostnader for en utvidelse til andre regioner må på dette tidspunktet baseres på den nåværende virksomheten, det vil si omtrent 5 millioner per region for to økosystem. Ved en utvidelse vil man kunne spare inn noe, i og med at man bruker en felles administrasjon og analyse med eksisterende overvåking, men de delene utgjør en relativt liten del av budsjettet, og det er trolig at disse besparingene ligger innen feilmarginen for kostnadene for den nye virksomheten.

Til sist er det også verdt å nevne EU-initiativet med en kommende overvåking av pollinatorer («EU Pollinators Initiative»). Der vil man drive en overvåking rettet mot pollinatorer, gjennom å bruke såkalte pan-traps, eller «gulskåler». Disse fargete skålene med vann samler særlig inn flyvende insekter som besøker blomster, men må tømmes ofte da de ikke inneholder konserveringsvæske. Prosjektet vil starte opp i 2021, og vil inneholde både manuell identifisering av

fangstene og metastrekkoding. Malaisefellene som vi bruker i Nasjonal insektovervåking fanger også pollinatorer, men da særlig blomsterfluer (Syrphidae, Figur 29). Vi åpner for muligheten til å teste ut en utvidet innsamling av pollinatorer med hjelp av gulskåler i jordbrukslokalitetene i fremtiden. Dette vil skape ekstra kostnader knyttet til et antall flere felletømminger, samt metastrekkoding. Manuell identifisering av materialet er mulig, men vurderes for kostbart for å være forsvarlig. Dette er en mulighet som naturforvaltningen får vurdere, i henhold til en eventuell tilkobling mot det Europeiske pollinator-initiativet.



Figur 29. Antall identifiserte taksa av pollinatorer i malaisefeller, per 2020-09-04.

4.4 Vurdering for kostnadsreduksjon

Arbeidet i 2020 har ikke identifisert noen store muligheter for kostnadsbesparinger, men alle muligheter er ikke ferdigvurderte. Per i dag har vi ikke grunnlag for å anbefale et tømmeintervall på 4 uker. De midlertidige resultatene fra metastrekkodingen viser at dette tømmeintervallet gir lavere deteksjon av insektene enn med 2-ukersintervall. I skrivende stund er det ikke konkludert med hva dette skyldes, og det kan finnes flere årsaker. Det kan skyldes en lavere kvalitet på DNA-et i prøvene som har stått ute i vær og vind lengre, det kan skyldes at DNA-metastrekkoding analysene ikke klarer å finne sjeldne arter i større prøver. Vi gjennomfører videre uttesting av metastrekkodingsteknikken som vi håper kan utelukke den siste forklaringen. Hvis det viser seg å være mulig å finne en høyere andel arter med en forbedret analysemetode, kan det fortsatt være tenkbart å øke tømmefrekvensen til 4 uker. Men per i dag kan vi ikke anbefale det. Den uventede lave mengden insekter i vindusfellene etter 4 uker taler for at det ikke er analysemetodene som svikter, da disse prøvene inneholder en relativt liten biomasse. Vi noterer at vi ikke er kjent med andre tilsvarende prosjekt som bruker lengre tømmeintervall enn 2 uker, og de fleste større internasjonale malaisefelle-prosjekter tømmer sine feller hver uke.

Det finnes et visst potensiale for kostnadsreduksjon ved å rasjonalisere håndteringen av prøvene på lab. Dette kan delvis gjøres med økt parallellisering av prøvehåndteringen, men det er ikke trolig at dette kan gi store besparinger. Vi kan redusere tørketiden og lyseringstiden på lab. Erfaringer fra et svensk prosjekt viser at dette kan gi nokså godt, eller bedre resultater enn metoden vi har brukt (Andreia Miraldo, Fredrik Ronquist, pers. kom.). Hvis dette lar seg gjøre, kan tidsforbruket på lab minkes betydelig og vi kan øke hastigheten prøvene prosesseres på, men kostnaden vil ikke gå dramatisk ned, da lyseringstiden ikke koster noe i seg selv.

En annen mulighet er å ikke ta vare på prøvene etter metastrekkoding, da disse må vaskes etter lysering før de lagres. Dette har vi diskutert tidligere, men er ikke noe vi anbefaler, da det umuliggjør en kvalitetssikring av «uventede» funn, og utplukking av individer som per i dag mangler strekkoder i referansebibliotekene. Prosjektet inneholder ikke midler for langtidslagring av felle materialet, og oppdragsgiveren har til nå signalert at dette ikke er aktuelt. Gitt nåværende budsjett vi vil kun ha mulighet til å lagre prøvene i en begrenset periode, før vår lagringskapasitet tar slutt. Vi vurderer at dagens kapasitet rekker til en lagring av et materiale av samme størrelse som i årets innsamling fra 3-5 års overvåking. Hvis ikke det tilkommer midler for en mer langsiktig lagring vil vi bli nødt til å kaste eldre prøver. Denne tidsperioden bør være lang nok for å manuelt undersøke flasker som viser seg å være interessante basert på DNA-funnene. I tillegg langtidslagrer vi det ekstraherte DNA-et på fryser, slik at det er mulig å kjøre om hele sekvenseringen i fremtiden, hvis betydelig metodeutvikling skjer. Dette vil vi ha mulighet til å fortsette å gjøre i overskuelig fremtid innen nåværende budsjett.

I tillegg er det mulig å gjøre en viss kostnadsbesparing ved å bare bruke en malaisefelle per lokalitet, og å slå sammen alle vindusfelleprøver og analysere dem som en samlet prøve. Grunnen til å ha flere malaisefeller, og å analysere fangstene i vindusfellene separat, er fremst knyttet til metodeutvikling, og når denne anses å være ferdig burde man kunne effektivisere prøvehåndteringen slik. Vi viser til analyser i tidligere rapport på at man med to malaisefeller også er langt ifra å fange alle insekter som finnes til stede på en lokalitet, og at en fullstendig kartlegging av den lokale faunaen ikke er gjennomførbar i et større overvåkingsprosjekt (Åström m.fl. 2020).

Det kan også være mulig å redusere kostnadene ved å redusere antallet miljøvariabler som samles inn. Vegetasjonskartleggingen kan for eksempel bli billigere hvis man er villig til å utelukke den ved en eventuell samlokalisering med 3Q i åpent lavland. Den kan også begrenses hvis det er mulig å samlokalisere overvåkingen med flater som allerede inngår i landskogstakseringen. Det statistiske designet må fortsatt være robust, og problemstillingene over kan utredes i kommende felt sesonger.

Arbeidet med å tømme fellene kan i prinsippet gjennomføres av frivillige i et distribuert dugnadsarbeid, men det er usikkert om det lar seg gjøre på en måte som er stabilt nok ift. innsamlings tidspunkt og -frekvens, og om det faktisk ville redusere kostnadene. Det er ikke teknisk vanskelig å tømme insektfellene og det krever ikke spesialkompetanse (se nåværende feltinstruks i vedlegg 1), men det bør gjennomføres likt mellom lokalene. Det gir også verdifull bakgrunnskunnskap å drifte flere feller, slik at en fagperson kan sammenligne fellenes tilstand på flere plasser. Vi vurderer at koordineringen og logistikken omkring prøvehåndteringen vil bli langt mer komplisert og at fellene i praksis vil bli driftet mer ulikt, hvis man sprer arbeidet over et stort antall personer. Dugnadsarbeid vil også være mer vanskelig å standardisere med henblikk på prøvetakingstidspunkt, da det kan være vanskelig å få frivillige å oppsøke tilfeldig valgte ruter på et bestemt tidspunkt mange ganger i året. Til sist vil også en distribuert felletømming innebære at man må kjøre rundt til alle frivillige for å samle opp felle materialet, ettersom de normalt sett ikke kan sendes med post eller bud på grunn av mengden etanol i flaskene. Leveransen av prøvene til laben vil derfor bli mer kostbar og komplisert. Erfaringene fra 2020 viste at felletømmingene var mindre arbeidsomt enn forventet, da en person kunne drifte omtrent tre lokaliteter per dag. I 2020 delte vi opp arbeidet på to personer. De to brukte en liten arbeidsuke annenhver uke på tømning av 10 feller hver, men det er i prinsippet mulig at en person kunne ha gjennomført all felletømming på en heltidsstilling i sommermånedene. En person i full stilling som drifter en hel region, alternativt oppdelt på to personer, mener vi er en rimelig og grei ordning som tilsier en

håndtering av god kvalitet. Hvis oppdragsgiveren likevel vil fortsette å utrede mulighetene for frivilligarbeid så anbefaler vi at dette gjøres i samarbeid med Sabima i 2021, men det vil være små muligheter å få dette på plass før starten av en feltsesong i 2021 og det er lite trolig at man vil greie å dekke en hel region.

5 Miljøvariabler

I skrivende stund har vi ikke hatt tid til å gjennomføre analyser av evnen til de innsamlede miljøvariablene å predikere forekomsten av insekt i fellene. Uansett er det en utfordrende oppgave å undersøke hvilke miljøvariabler som forklarer forekomst og mengde av insekter, da datamaterialet er lavt etter kun en sesong. Vi begrenser oss derfor til en generell diskusjon om behovet for øvrige forklaringsvariabler.

En fullstendig ANO-kartleggingen ser ut å gi en god oversikt over vegetasjonen i overvåkingsrutene (500x500m). Etter feltsesongen i 2020 har vi altså ANO-kartlegging i 18 punkter i skogslokalitetene fordi de er samordnet med ANO. I semi-naturlig mark derimot, er ANO-kartleggingen forbundet med ganske mye usikkerhet, da bare en av de ellers 18 sirklene på 250m² i ANO-ruten kartlegges. Hvor stor variasjon det er i vegetasjon innad i en ANO-rute bør kunne analyseres via randomiseringsanalyser fra hele ANO-materialet. De data som samles inn via ANO, insektovervåkingen eller andre prosjekter vurderer vi at tilsvare de miljødata som ble brukt i analysen til Hallman (2017), der data fra 27 års insektinnsamling kunne dokumentere store nedganger av insekt i Tyskland. Vi vurderer derfor at den nåværende overvåkingen vil være i stand til å forklare grunnleggende årsaker til endringer i insektfaunaen, men at mye variasjon på lokalt nivå og mellom år vil være vanskelig å predikere.

Generelt er det verdifullt å få mer detaljert info over arealbruken over et større område en 500x500m i ANO-ruten, da insektforekomsten sannsynlig påvirkes av et langt større område. I landbruksområder vil det for eksempel dreie seg om hvilke vekster som dyrkes, hvilken gjødsling som benyttes og hvilke bekjempningsmidler som blir brukt, størrelse og kvalitet på restarealer og kantsoner, og hvilket beite som foregår i landskapet kring overvåkingslokalitetene, samt generell landskapskonfigurasjon og flora. Statistikk over støtteordninger i landbruket som SSB publiserer kan gi nyttig tilleggsinformasjon, men disse offentliggjøres som regel på aggregert nivå og ikke på gård eller teignivå. En teoretisk mulighet for å øke tilfanget av miljødata i jordbruksområder er å samlokalisere insektovervåkingen med en separat overvåking av landbruket, for eksempel 3Q-overvåkingen. De detaljerte arealbruksdata som blir samlet inn gjennom 3Q kunne da benyttes til å vurdere sammenhenger med utviklingen i insektovervåkingen.

5.1 Plantevernmidler og andre miljøgifter

Effekten av bekjempningsmidler og andre miljøgifter er komplekse. Påvirkningene kan enten være direkte, ved at de reduserer insektenes overlevelse og formering, eller de kan være indirekte ved at næringen deres, for eksempel at forekomsten av viktige beiteplanter minker pga. sprøyting med herbicider. Effektene kan også vises over flere trofiske nivåer. Studier fra Tyskland har for eksempel vist på et komplekst forhold mellom pesticidbruk og effekter på dietten hos artropoder (Graf mfl. 2020).

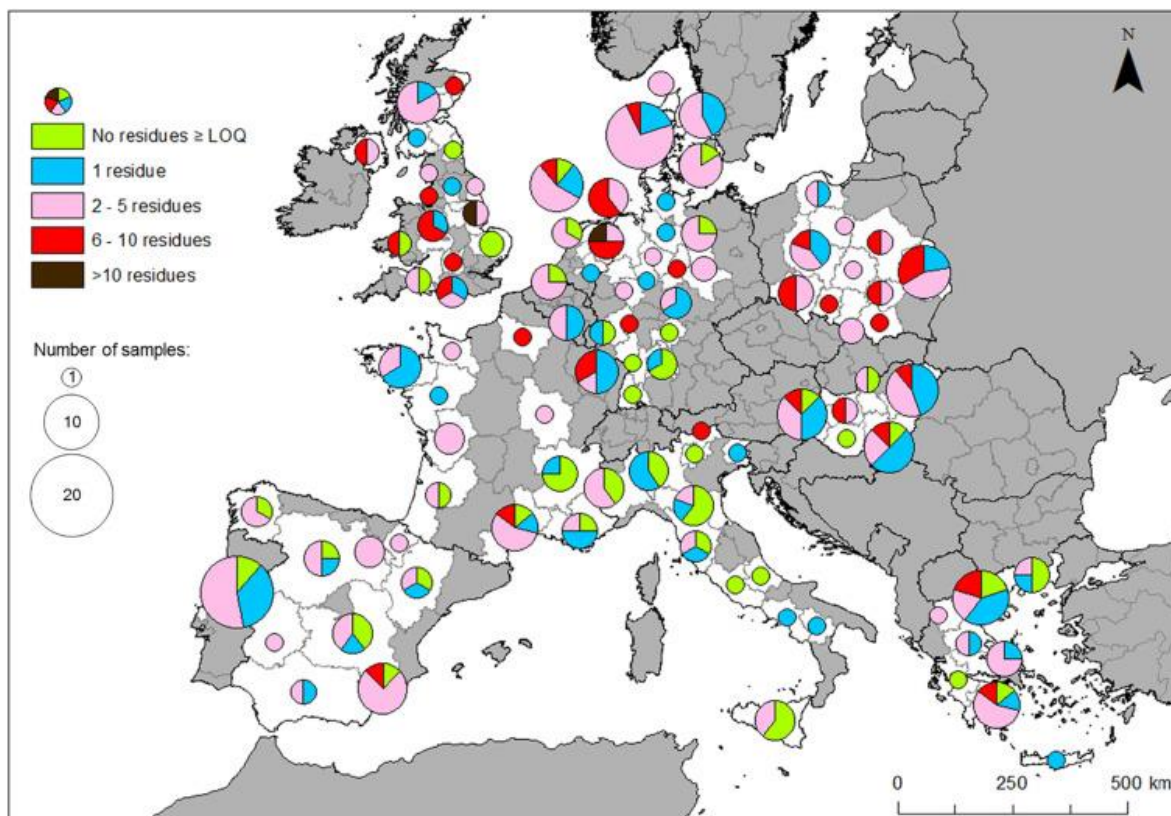
Generelt kan det være vanskelig å overvåke mengdene av miljøgifter direkte i insektene. Man antar at skadelige stoffer ikke vil bioakkumuleres slik som hos mer langlevende dyr, men detaljerte modeller for akkumuleringen i insekt savnes i høy grad (Gobas mfl. 2016). Det er i prinsipp mulig å måle mengden pesticider i insektene (se f.eks. Khebbeb, Delachambre, mfl. 1997, Zaidi, Farine, mfl. 2013), men bekjempelsesmidler danner en rekke nedbrytningsprodukter, og de vil derfor ikke være tilstede i samme kjemiske form over tid, slik som grunnstoffer som for eksempel tungmetaller. Hvor mye bekjempningsmidler som tas opp i insektene varierer sannsynlig også, selv i avgrensede områder, da tilførselen er ganske punktvis i landbruket. Zhang m.fl. (2012) fant at mengdene kvikksølv i insekter samsvarte med nivåene som måltes i jord med en korrelasjon på omtrent 30%, og mente at analyse av kjemisk innhold i insekter kan være en måte å følge med på det kjemiske innholdet i jordene. Nivåene av kvikksølv var dog høyest for øyestikker som lever en stor del av sitt liv i vann, og relasjonene mellom innholdet i jord og insekter varierte med trofisk nivå. Honningbier har også blitt brukt for å måle forekomst av tungmetaller i Italia, der de

fant en stor geografiske variasjon, noe som tyder på variasjoner i lokalt bruk av pesticider og gjødsling, alternativt variasjoner i jordtyper og bruket av disse (Goretti mfl. 2020).

Mulighetene med å måle konsentrasjoner av giftstoffer i selve insektene er interessante, men er også beheftet med en del metodiske utfordringer. Det grunnleggende utgangspunktet er at insektene vil ta opp giftige stoffer fra miljøet de har levd i, som siden kan detekteres i felle materialet. Men det er samtidig rimelig å tro at sprøytemidler som påvirker insekter, vil minke mengden insekter som går i fellene, slik at nivåene man oppmåler er beheftet med en «overlevelse-bias». Derfor kan det være vanskelig å registrere et hypotetisk høyt nivå av bekjempelsesmidler i fellene, fordi insektene har dødd før de fanges i fellene. Hvis man skal følge med på nivåene av giftstoffer i felle materialet, bør man derfor gå igjennom en grunnleggende metodeutvikling, der man samtidig måler mengdene som blir tilført på jordbruksvekstene, samt måler restmengder i jord. Det forefaller som det er en mer robust metode å overvåke mengdene bekjempelsesmidler på jordbruksarealene, enten fysisk eller ved å registrere tilførte bekjempningsmidler gjennom landbruksstatistikken, enn å analysere innholdet i fangstene i insektfellene.

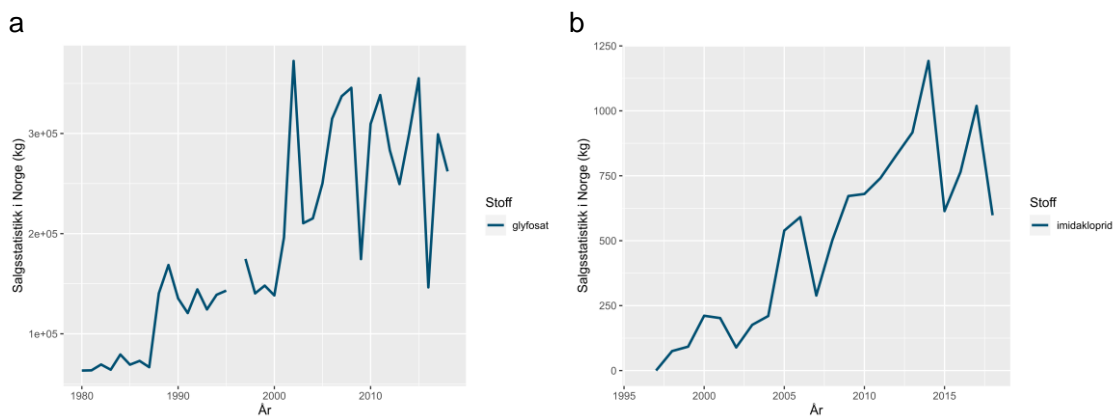
Insekticider har per definisjon direkte skadelige virkninger på insekter, der det som regel finnes studier på letale doser i labmiljø. Se for eksempel Katagi & Tanaka (2016) for en review over metabolisme og toksisitet av miljøgifter i insekt. Men subletale effekter er i regel mindre undersøkte, da det er mer komplisert å vurdere, særskilt i naturlige miljøer. I tillegg kan det finnes så kalte «cocktail-effekter», der flere stoffer til sammen bidrar til å skape verre virkninger enn de har på egen hånd, enten additivt eller gjennom synergi.

Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM) publiserte i 2008 en rapport som i store drag mener at cocktail-effekter er sjeldne i menneskelig konsumpsjon (se vurdering i Hetland mfl. 2013, i tillegg Boobis mfl. 2011), da stoffene i regel forekommer langt under grenseverdiene for menneskelig føde. Situasjonen er sannsynligvis en annen for faunaen som lever der sprøytemidlene blir påført. Det er vanskelig å få oversikt over og teste alle relevante kombinasjonsmuligheter av stoffer. Det store flertallet mulige kombinasjonseffekter er derfor ikke undersøkt, særlig ikke på insekter. Rizzati fant i en review at insekticider i større grad hadde synergistiske negative effekter enn andre typer av pesticider, f.eks. fungicider, men effektene var bare undersøkt for pattedyr (Rizzati mfl. 2016). En nylig dansk studie fant store synergistiske negative effekter av kombinasjoner av flere fungicider på Dafnier (vannlevende krepsdyr), og noterte at slike kombinasjoner ofte tilføres i kombinasjon med insekticider (Nørgaard & Cedergreen 2010). En nylig studie på honningbier viste også negative effekter av kombinasjoner av den svært vanlige herbicidet glyfosat, neonicotinoiden imidakloprid og fungicidet difenokonazol (Almasri mfl. 2020). En kartlegging av rester av pesticider på jorder innen EU viste nylig at det er vanlig å finne mellom 6-10 forskjellige pesticider i samme jordprøve (Figur 30), og at antallet forskjellige stoffer var høyest i nordlige Europa (Silva mfl. 2019). Selv om bruket av pesticider kan forventes å være lavere i Norge grunnet lavere forekomst av skadedyr i landbruket og strenge restriksjoner, bør man regne med at plantevernmidler vil være en faktor av betydelse for forekomsten og biodiversitet av norsk insektfauna.



Figur 30. Antallet rester av forskjellige pesticider i prøver fra toppjord i jordbruksmark innen EU. Kake-diagrammene viser proporsjonen prøver med forskjellige antall ulike pesticid-rester, og størrelsen på kakene viser antallet prøver per region. Fra Silva m.fl. 2020.

Vi vurderer vi det prematurt å identifisere en liste over stoffer som bør overvåkes i insektovervåkingen, med risiko for at man avferder eventuelle påvirkninger som ikke i dag er belyst. De to midlene som kanskje fått mest plass i debatten om tilbakegangen av insekter er glyfosat og neonikotinoider, og disse gis en særskilt omtale nedenfor (**Figur 31**). Disse to plantevernmidlene representerer et herbicid og et insekticid, og belyser ulike påvirkninger på insekter.



Figur 31. Omsetningsstatistikk for glyfosat (a) respektive imidakloprid (b) i Norge. Merk at disse stoffene delvis erstatter tidligere bruk av andre stoffer. Data fra mattilsynet

Glyfosat er et herbicid, der direkte toksiske effekter på insekter er mindre sannsynlige, men der indirekte effekter kan forventes. Glyfosat er det mest vanlig brukte herbicidet på verdensbasis og i Norge, og brukes for å begrense ugras. Sprøytingen med glyfosat påvirker beiteplanter til

insekter generelt da den er bredspektret og dreper både en- og tofrøbladete arter. Det er påvist at vegetasjonen i grøfter og restarealer i nærheten av jordbruksmark minker av bruk av ugrasmidler i produksjonsmark (Boutin mfl. 2014). Moderne konvensjonelt jordbruk fører generelt til mer artsfattige landskap, der restarealer, kantsoner og næringsfattige jorder som er viktige leveområder for insekter fjernes. Disse arealene pløyes, gjødsles, og uønsket vegetasjon holdes i sjakk med herbicider som for eksempel glyfosat (Vickery, Feber, mfl. 2009). Men det kan være vanskelig å kvantifisere de enkelte påvirkningene på insekter, da forandringene i jordbruket skjer gradvis og omfatter mange typer av forandringer. Glyfosat er et omstridt stoff, der forskjellige studier peker i ulike retninger om effekten av stoffet. En nylig rapport viser for eksempel at glyfosat påvirker tarmfloraen til honningbier (Motta, Raymann, mfl. 2018), men hvor stor påvirkning dette har på helsen til honningbier i felt eller andre insekter er ukjent. Glyfosat er fortsatt tillatt i EU og i Norge.

Neonikotinoider er insekticider og omtales her som et eksempel på en gruppe stoffer med svært toksiske direkte effekter på insekter. Disse er nervegifter som kjemisk ligner på nikotin, der letale doser ofte dreier seg om nanogram (Laurino mfl. 2011). I Norge har det vært solgt ca. 1000 kg årlig av neonikotinoiden imidaklopid på 2010-tallet (Figur 31). Etter flere rapporter om skadelige virkninger (Goulson 2013, Rundlöf mfl. 2015, Whitehorn mfl. 2012), er de fleste av neonikotinoider forbudt på friland både i EU og Norge, men et visst bruk er fortsatt tillatt i drivhus. Neonikotinoider forventes derfor ikke forekomme i større grad i norsk natur, men man bør være observant på eventuell punktvis kontaminering fra restmateriale fra drivhus, for eksempel kompost fra drivhus, som etter hva vi forstår kan spres på friland. En aktuell studie viser også at neonikotinoider fortsatt er svært vanlig forekommende i engelske vassdrag (Perkins mfl. 2020), til tross for et forbudt bruk innen landbruket. Kilden tros være bekjempelse av lopper og flått hos husdyr. Samme produkter selges reseptfritt i Norge, men det er ukjent hvor vanlig forekommende disse stoffene er i norske vassdrag, og enda mindre hvilken påvirkning det har på norske insekter. Det vurderes derimot mindre sannsynlig å kunne påvise neonikotinoider på friland i Norge i forbindelse med en generell insektovervåking, gitt det begrensede norske bruket.

Overvåking av insekter i vassdrag har større mulighet å kartlegge forekomsten av miljøgifter, da vannet som insektene lever i kan undersøkes samtidig med forekomst av DNA av insekter. Vassdrag samler også opp stoffer i det omkringliggende nedbørsfeltet og kan være en mer rasjonell måte og undersøke forekomst av miljøgifter enn i jord. Sverige gjennomfører for eksempel regelmessig undersøkelser av vassdrag i jordbruksmark. Denne overvåkingen har funnet rester av et stort antall plantevernmidler i vassdrag knyttet til landbruk (Tabell 2, Lundqvist mfl. 2019). En tilsvarende prøvetaking vil være relevant også i Norske miljøer (se Kapittel 6).

Tabell 2. *Plantevernmidler funnet i vassdrag omkring svenske jordbruksmarker, fra Lundqvist et al. 2019, fordelt på Herbicider (H), Fungicider (F), Insekticider (I) og Transformerte stoffer (T).*

Pesticid	Type*
Atrazine-desethyl	T (H)
Azoxystrobin	F
BAM	T (H)
Bitertanol	F
Boscalid	F
Carbendazim	T (F)
Clomazone	H
Chloridazon	H
Diuron	H
Diflufenican	H
Flurtamone	H
HCH-gamma (lindane)	I
Isoproturon	H
Mandipropamid	F
Methabenzthiazuron	H
Metalaxyl	F
Metazachlor	H
Methiocarb	I
Metrafenone	F
Metribuzin	H
Pirimicarb	I
Prothioconazole-desthio	T (F)
Propiconazole	F
Propyzamide	H
Prosulfocarb	H
Pyraclostrobin	F
Terbuthylazine	H
Terbuthylazine-desethyl	T (H)
Thiamethoxam	I

For å sammenfatte så er det svært vanskelig å utelukke noen giftstoffer som brukes i landbruket, som potensielt viktige påvirkningsfaktorer for insekter. Alle slags insekticider forefaller som potensielt interessante da de per definisjon er giftige for insekter. Men også herbicider og fungicider kan tenkes ha indirekte effekter på insektforekomster, ved å påvirke tilgang på mat og habitat, eller gjennom interaksjoner med andre stoffer. Vi vurderer også at det vil være svært vanskelig å kartlegge forekomsten av giftstoffer i jordprøver rundt insektfellene, da insektene som fanges i fellene kan forventes å bli påvirket av et svært stort areal, også med tidsforsinkelse mellom år. Vi anbefaler derfor at det samles inn så detaljert data som mulig av bruket av plantevernmidler i skogs- og landbruket i landskapet rundt fellene, for å deretter korrelere det med mengdene og artsidentitetene til insektene som blir fanget.

6 Overvåking av vannlevende insekter

Vi har blitt bedt om å vurdere et opplegg for overvåking av vannlevende insekter, i tillegg til de terrestriske som dagens overvåking retter seg mot. Det er et omfattende arbeid å utarbeide en slik plan i detalj, og vi må begrense oss til en generell oversikt her.

De fleste vannlevende insekter har også et flyvende livsstadium, som i prinsipp kan registreres med de fellene vi bruker i dag. Dermed er det først og fremst nærheten til vassdrag som begrenser evnen til å observere disse artene. Noen grupper, som øyestikker og vanntilknyttete biller, går ganske sjelden i malaisefeller slik at det kan finnes behov for å ha en mer rettet overvåking av disse. Miljø-DNA analyser av vann fremstår da som en fremkommelig vei, muligens i kombinasjon med malaisefeller nær vassdragene.

NINA har i lengre tid jobbet med miljø-DNA-analyser av vannprøver, spesielt med fokus på fisk, amfibier og elvemusling med mer (Fossøy mfl. 2019, 2017, 2018, Taugbøl mfl. 2017, 2018, Wacker mfl. 2019), men også for beskrivelse av vannlevende insekter i forbindelse med vannkraft, forurensning og drikkevannskvalitet. I tillegg har NINA også utviklet et eget miljø-DNA-kit som stadig brukes av norsk miljøforvaltning, vannkraftindustrien og andre oppdragsgivere for en enkel prøvetaking av miljø-DNA i elver og innsjøer (Figur 32).



Figur 32. NINA har gjennom flere år utarbeidet egne miljø-DNA kit for prøvetaking av elver og innsjøer.

Det vil derfor være relativt enkelt for personalet som håndterer tømmingen av malaisefeller å ta med dette utstyret og ta miljø-DNA vannprøver i nærheten av de samme lokalitetene. Men her må det utvikles et robust samplingdesign med hensyn til hvordan man velger ut vannlokaliteter, og det er mange spørsmål som bør adresseres før man iverksetter en slik overvåking. Skal man bare se på lokaliteter i nærheten av eksisterende malaisefeller? Hvor langt fra malaisefellen kan man i så fall ta vannprøver? Skal man overvåke både rennende og stillestående vann? Hvordan velger man elver og/eller innsjøer når det er flere alternativer på en lokalitet? Hvor mange prøver bør man ta i hver lokalitet? Når, og hvor ofte, bør man ta slike prøver?

NINAs egen erfaring med vannprøver viser for eksempel at rennende vann fungerer bedre enn stillestående vann for påvisning av insekter. Siden artssamfunnet endrer seg gjennom sesongen, bør man ta flere prøver for å representere fenologiske endringer. Vi ser også at metoden med

hvilket filter man bruker, vannvolum og prøvetakingsdesign i felt, samt valg av ekstraksjonsmetode, genetiske markører og sekvenseringsdybde påvirker artsmangfoldet man påviser til slutt.

For vannlevende insekter kan det også være særlig relevant å måle mengdene av insekter i vassdragene, og ikke bare forekomst av artene. Bekjempelsesmidler kan for eksempel kraftig minke mengdene av en art, før den forsvinner helt. Dette kan være mer vanskelig å fange opp fra vassdrag enn fra terrestriske miljøer, da DNAet kan blandes sammen over større områder og forekommer i små mengder. Genetiske analyser av vann som bare registrerer forekomst risikerer da å misse viktige aspekter av forandringer av vannlevende insekt. Her vil innsamling av konvensjonelle sparkeprøver med påfølgende lysering og DNA-metastrekoding analyser være et godt alternativ. Studier fra Nederland viser at mengdene makro-invertebrater i vassdrag var negativt korrelert med mengdene neonokotinoide i vannet (Dijk, Staalduinen, mfl. 2013). Disse stoffer er toksiske i så lave konsentrasjoner som et par nanogram per liter vann. De påvirkete insektgruppene utgjør viktige matkilder for fisk og fugler, der selve biomassen er en viktigere faktor enn biodiversiteten av insektene.

I vassdrag gir det også mening å samtidig gjennomføre kjemiske analyser av vannkvaliteten med tanke på relevante giftstoffer og annen vannkjemi. Dette er enklere å gjennomføre og koble opp mot den oppmålte forekomsten av insekter i vann, enn i terrestriske miljøer.

Vi foreslår at overvåking av vannlevende insekter testes ut i en egen opsjon, eller eventuelt et eget prosjekt, der man belyser disse spørsmålene samtidig som man gjennomfører et pilotprosjekt for å se hvilke nye arter man kan overvåke utover det man fanger med dagens malaisefelleovervåking, og hvilken metodikk som kreves for å fange opp relevante miljøvariabler og påvirkninger.

6.1 Forslag til samplingdesign for vannprøver

I vannprøver kan man detektere DNA fra vannlevende insekter. Forekomst av vannlevende insekter i overvåkingslokalitetene til insektovervåkingen vil bidra til å få en mer komplett oversikt over insektdiversiteten i området. For at vannprøvene skal være komplementære til de eksisterende Malaisefelle-prøvene, vil det være naturlig å inkludere vannprøver fra alle lokaliteter. Vi anbefaler da prøvetaking av minst en bekk/liten elv med minimum 2 vannprøver per elv. Utvelgelse av elver kan enkelt gjøres i ELVIS (Elvenettverk kartportalen til NVE (<https://temakart.nve.no/tema/elvenett>)), der vi anbefaler å velge nærmeste elv i forhold til plasseringen av Malaisefelle-lokaliteten. Ved å analysere elvene i NEVINA (Nedbørfelt-Vannføring-Indeks-Analyse: <http://nevina.nve.no/>) vil man få med viktige ko-variater på nedbørsområde, avrenning, høyde og habitat. Vi anser det også som svært viktig at prøvetaking blir gjort både vår (juni) og høst (oktober) for å fange opp hele artsmangfoldet. Dette vil si at det blir innsamlet minimum 4 vannprøver per lokalitet per år. Vi antar at eksisterende feltpersonal kan samle inn prøvene uten en stor ekstrakostnad.

Vi anbefaler at et standard miljø-DNA-kit (Figur 32) blir brukt for prøvetaking med påfølgende standard protokoller for ekstraksjon av DNA. Disse vannprøvene kan i utgangspunktet analyseres med den samme genetiske markøren som for Malaisefeller, selv om den amplifiserer veldig bredt taksonomisk. DNA-prøven bør så lagres i -80°C for fremtidig referanse.

7 Utvidelse av DNA-strekkodebiblioteket for insekter

NTNU Vitenskapsmuseet har en omfattende samling insekter med artsbestemt materiale som det fremdeles ikke finnes referansesekvenser fra i Barcode of Life Data Systems (BOLD). Det ble derfor laget en mankoliste basert på kjente norske arter listet i Artsnavnebasen og oversikten over strekkodet materiale i NorBOL som utgangspunkt for prioritering av materiale. For å øke sannsynligheten for å oppnå gode sekvenser, ble det videre prioritert ferskt materiale (mindre enn 10 år) og manuelt innsamlet materiale (en del felletyper tar inn vann som degraderer DNA).

Hovedfokus ble rettet mot biller, en svært artsrik gruppe i Norge med mer enn 3600 arter. Billene inneholder en stor andel rødlistearter, og har generelt stor allmenn og forvaltningsmessig interesse. Totalt 489 biller fordelt på 240 arter ble sendt inn til strekkoding i dette prosjektet. Bille-materialet (antall arter i parentes) omfatter i hovedsak arter innen familiene Aderidae (3), Buprestidae (12), Carabidae (15), Cerambycidae (50), Chrysomelidae (3), Coccinellidae (6), Cleridae (7), Curculionidae (14), Elateridae (4), Melyridae (15), Mordellidae (17), Ptinidae (30), Scarabaeidae (26), Scirtidae (10), Scaptidae (7) og Staphylinidae (7). Av andre ordner er det sendt inn 96 Lepidoptera (39 arter), 95 Hymenoptera (39 arter), 70 Diptera (>8 arter) og 10 Hemiptera (3 arter). Totalt er det sendt vevsprøver fra minst 329 arter.

Alle artene som er prøvetatt har enten fullstendig manglet strekkoder fra Norge i BOLD (ca. 90%) eller hatt svært få sekvenser fra Norge i databasen. Materiale som er brukt er til dels delfinansiert gjennom andre prosjekter (Artsprosjektet PROCTONOR) eller er sendt til museet fra svært kompetente amatører som ønsker strekkode på arter innen sitt spesialfelt (Ichneumonidae og Lepidoptera). Vi har også med noe materiale av pollinerende Diptera fra en studentoppgave, der de aktuelle gruppene av fluer (Fannidae og Anthomyiidae) er dårlig dekket av NorBOL gjennom tidligere aktivitet. Disse vil bli identifisert etter at strekkoder er tilgjengelige.

Alle objekter vil bli oppbevart i NTNU Vitenskapsmuseets samlinger eller deponeres ved i Naturhistorisk museum i Oslo (Lepidoptera). DNA-strekkoder samt metadata vil bli gjort offentlig tilgjengelig gjennom datasettet DS-ENTONOR2 i BOLD så snart resultatene er lastet opp og kvalitetssikret.

8 Indikatorer for insekter i terrestriske økosystem

Å foreslå insektindikatorer i terrestriske økosystemer som kan inngå i vurderingen av økologisk tilstand er et omfattende arbeid som vi i dag ikke har mulighet for å kunne gjennomføre. Vi har mangelfull kunnskap om hvordan ulike faktorer påvirker insekters forekomst, og vi er langt unna å kunne beskrive hvordan insektsamfunn varierer i tid og rom, både på lokal og nasjonal skala. Det manglende kunnskapsgrunnlaget for insekter i Norge er beskrevet i en tidligere rapport (Åström m.fl. 2019) og er motivasjonen for den løpende insektovervåking som nå startes opp. Den nasjonale rødlista representerer den beste kunnskapen vi har om insekter som har en høy risiko for å dø ut fra landet. I påvente av resultater fra overvåkingen, samt utviklede insektindikatorer, er dette den lettest tilgjengelige proxy som finnes for å sammenligne insektsamfunn på ulike lokaliteter.

En løpende, generell overvåking av insekter vil danne grunnlaget for en prosess der man utvikler og kontinuerlig forbedrer indikatorer, etter hvert som ny kunnskap genereres. Vi har her utarbeidet et forslag til hvordan denne prosessen kan initieres og struktureres alt ettersom overvåkingen fortsetter.

8.1 Begrepet indikator for økologisk tilstand

Økologisk tilstand, i den forstand begrepet brukes i norsk forvaltning, er et komplekst begrep som karakteriseres gjennom mange egenskaper. Ekspertrådet som utarbeidet fagsystemet for vurdering av økologisk tilstand bruker følgende definisjon:

«God økologisk tilstand i norske økosystemer defineres ved at økosystemenes struktur, funksjon og produktivitet ikke avviker vesentlig fra referansetilstanden, definert som intakte økosystemer» (Nybø & Evju 2017, s. 34).

Referansetilstanden forstås her som økosystemer som ikke er påvirket av menneskelig aktivitet. Unntaket er seminaturlig mark som karakteriseres gjennom en tilstand av «god hevd», det vil si tradisjonelt bruk og skjøtsel. Struktur, funksjon og produktivitet er begreper som omfatter flere konkrete egenskaper, men for å operasjonalisere disse termene må det gjøres en vurdering.

I arbeidet med hvordan økologisk tilstand bør operasjonaliseres ble to metoder vurdert. Dette resulterte i ulike anbefalinger; Nybø m.fl. (2019) anbefalte indekismetoden og Jepsen m.fl. (2019) anbefalte fagpanelmetoden. Fagpanelmetoden tillater i høyere grad rent kvalitative vurderinger av tilstanden for enkelte «indikatorer», mens indekssprinsippet kvantifiserer hver «indikator» gjennom såkalte skaleringsfunksjoner. I begge disse tilnærminger er det likevel mulig å angi en verdi for hver «indikator» som representerer en god eller dårlig tilstand. Man angir altså en referansetilstand i bred forstand - som representerer en svært god tilstand for indikatoren - pluss en tilstand som representerer en dårlig tilstand. Vi mener at det for indikatorenes del spiller liten rolle hvilket overordnet prinsipp som brukes for å sammenstille vurderingen om økologisk tilstand. De fleste av «indikatorene» i Jepsen m. fl. (2019) er også kvantitative til sin natur. Begge prinsippene kan dermed med fordel bruke kvantitative indikatorer og vi mener valget av metode ikke påvirker indikatorene man velger for terrestriske insekter. Vi går derfor ikke nærmere inn i diskusjonen omkring hvilken metode som benyttes for å vurdere økologisk tilstand.

8.2 Utvikling av indikatorer for økologisk tilstand basert på insekter

Bakgrunnen for å utvikle indikatorer for økologisk tilstand er kunnskap om hvordan indikatoren ser ut i en referansetilstand. Per i dag finnes ikke denne kunnskapen om insekter i Norge, og en viktig del ved utvikling av indikatorer vil være å etablere forståelse for *hvordan* de varierer mellom områder med ulik grad av menneskelig påvirkning. Dette krever både regional og

nasjonal kunnskap samt kunnskap om variasjon i tid. En storskala løpende insektovervåking vil her bidra med verdifull informasjon.

Utvikling av indikatorer for en økologisk tilstand kan, ifølge Nybø og Evju (2017), deles i fire stadier. Vi har valgt å gå igjennom disse fire stadiene og diskutere dem for utvikling av insektindikatorer.

1. Definere hovedegenskaper for økologisk tilstand

Begrepet godt økologisk tilstand er som nevnt i grunnen noe som krever en kvalitativ vurdering og må konkretiseres i flere delaspekter. Ekspertrådet for økologisk tilstand spesifiserte syv egenskaper som de mener karakteriserer økologisk tilstand (Nybø & Evju 2017). De som er spesielt relevante for insektsamfunn er markert i fet stil. Det anbefales at indikatorer for insekt begrenses til disse hovedområder, og eksempler gis i neste punkt.

- Primærproduksjon
- **Fordeling av biomasse mellom ulike trofiske nivåer**
- **Funksjonell sammensetning innen trofiske nivåer**
- Funksjonen til funksjonelt viktige habitater, habitatbyggende arter og biofysiske strukturer
- Landskapsøkologiske mønstre er forenlige med artenes overlevelse over tid
- **Biologisk mangfold representert ved økosystemenes genetiske mangfold, artssammensetning og artsutskifting**
- Abiotiske (fysiske, kjemiske) forhold

2. Definere kvantitative eller kvalitative mål («indikatorer») på egenskapene under punkt 1

Fordeling av biomasse mellom ulike trofiske nivåer

Fordeling av biomasse mellom ulike trofiske nivåer kan beregnes mellom insektgrupper eller mellom insekter og andre taksa på ulike nivåer (se flere eksempler i Jepsen mfl. 2019). Her vil for eksempel insektenes funksjon som mat for fugl og pattedyr, regulatorer av andre insekter eller beitere på vegetasjon være mulige trofiske forhold å undersøke.

Utfordringen med en slik indeks er at det krever informasjon om flere grupper av organismer og at det per i dag er vanskelig å identifisere hvilke forhold som er karakteristiske for en referansetilstand. Det kan også være utfordrende å identifisere hvilke størrelsesforhold som er særlig viktige for hvert enkelt økosystem. Størrelsesforhold som antas spesielt følsomt for menneskelig aktivitet bør ha fokus.

Målinger av biomasse mellom trofiske nivåer vil også være sensitivt for hvilken innsamlingsmetode som benyttes. Antallet observerte individer av insekter vil for eksempel være avhengig fellestype, og kan, slik pilotstudiet i 2019 viste, til og med være påvirket av felleprodusenten. Malaisefeller fanger spesielt mange tovinger og veps, mens vindusfeller fanger relativt større mengder biller. En slik indikator må derfor være tilpasset de fellene som benyttes og basere seg på lik bruk av innsamling over tid, eller bruke analysemetoder som klarer å korrigere for eventuelle forandringer. Bruk av slike indikatorer bør gjennomføres som en kvantitativ analyse av felle materialet, sett i sammenheng med data om miljøtilstanden på fangstlokalitetene. Om man ønsker å inkludere andre grupper, som insektspisende fugl eller vegetasjon er det viktig at disse målingene gjøres parallelt.

Også lengden på næringskjedene og antall trofiske nivå som parasitter og hyperparasitter bidrar med, kan være en mulig indikator for denne egenskapen. Tidligere studier har vist at næringskjedene kan kortes ned der menneskepåvirkningen på økosystemet er betydelig (Komonen mfl. 2000).

Funksjonell sammensetning innen trofiske nivåer

Insekter har mange forskjellige ulike funksjoner i økosystemene. De kan være nedbrytere, pollinatorer og frøspredere, regulatorer eller føde for at andre organismer mm. Det er generell enighet om at en stor variasjon i disse funksjonelle egenskapene (ofte kvantifisert gjennom begrepet funksjonelle grupper) vil øke økosystemets effektivitet, f.eks. målt som omfang av en økosystemtjeneste, og også økosystemets robusthet (resistens og resiliens). Om en indikator kan fange opp statusen til viktige funksjonelle grupper av insekter er dette uten tvil et viktig mål.

Funksjonene man er interessert av kan være relativt enkle å identifisere, men vi mangler fortsatt mye informasjon for å sortere arter i forhold til egenskaper og dermed de funksjoner de bidrar til. De eksisterende databasene over funksjonelle egenskaper hos insekter er svært fragmentariske (men se Moretti mfl. 2017 for rammeverk), og for det store flertallet av insekter i Norge foreligger det ikke per i dag noen enhetlig liste. Enda vanskeligere er det å kvantifisere *hvor* effektive de enkelte arter er på å utføre en gitt funksjon. Spørsmål om hvordan man bør vekte ulike arter, totalt artsantall og antall individer er også uklart.

En mulig vei videre kan være å la eksperter identifisere insektgrupper med kjent økologi som innehar viktige økosystemfunksjoner som vi vet påvirkes av menneskelig aktivitet. Mål på artsantall, Shannon-indeks eller funksjonell diversitet disse grupper kan være en første start på en slik indeks.

Biologisk mangfold representert ved økosystemenes genetiske mangfold, artssammensetning og artsutskifting

I Norge har vi et mål om å ta vare på nasjonalt hjemmehørende arter. Den nasjonale rødlista er et av flere verktøy som brukes i dette arbeidet. Artsantall kan også bidra inn i en indikator for økologisk funksjon (diskutert i avsnittet over). Antall individer av ulike arter gir til sammen et samfunn, der relativ tallrikhet av artene er viktig. En endring av artssamfunnet slik at en eller et fåtall (generalist)arter dominerer er et kjent fenomen i sterkt menneskepåvirkede miljøer. Det genetiske mangfoldet innad i en art vil variere geografisk, noe som understreker viktigheten av å bevare arten innen store deler av utbredelsesområdet. En siste trussel mot mangfoldet er også en såkalt artsutflating, *biotic homogenization*, det vil si at flere områder som før hadde ulike artsgrupper nå blir mer og mer like. Både tap av arter og artsutflating skjer i stor grad som en effekt av menneskelig aktivitet og kan påvirke både funksjonene og det totale biomangfoldet vi har i Norge.

Det finnes en rekke velkjente indikatorer på biologisk mangfold. De fleste inkluderer arter og individer av en art, men det finnes også gode indekser for forskjell i artssammensetning mellom områder. Den enorme artsrikdommen blant insekter kan paradoksalt nok gjøre at generelle mål på biodiversitet som artsrikhet er vanskelige å tolke. Opp- og nedganger i en spesiell gruppe insekter kan raskt maskeres av samtidige forandringer i andre grupper, og det er derfor ikke sikkert at et samlet mål på biodiversiteten fanger forandringene av interesse. Vi anbefaler derfor å ta utgangspunkt i spesifikke grupper av insekter som er særlig knyttet til det enkelte økosystem og menneskelig påvirkning, og å bruke flere ulike indekser istedenfor enkelte samlede indekser.

Stadie 1 og 2 inneholder en stor del skjønnsmessig vurdering, selv om den er basert på ekspertkunnskap. Disse skritt er ofte vanskelig å etterprøve kvantitativt og man risikerer å havne i en sirkulær logikk, da de valgte egenskapene (indikatorene) brukes for å definere god økologisk tilstand og det ofte savnes uavhengige mål av god økologisk tilstand.

3. Identifisere mål på «indikatorene»

Her må referansetilstand og grense for god økologisk tilstand for de valgte indikatorene defineres. Det beste er hvis man kan identifisere referansetilstand og grense for god økologisk tilstand av insekter fra en analyse av fellefangster fra lokaliteter med ulik grad av menneskepåvirkning og dermed ulik økologisk tilstand ut fra definisjonen, basert på habitatkarakteristikk og

tilgjengelig kunnskap. Man kan dermed estimere en dose-respons funksjon for påvirkning. Dette krever dog at man kan observere den økologiske tilstanden på en uavhengig måte, for å bryte den sirkulære logikken, for eksempel kan man prøve å identifisere stabile karakteristikk for insektsamfunnet i gammel naturskog, intakte våtmarker, eller semi-naturlige marker, gjennom gjentatte fellefangster i slike lokaliteter. I praksis vil likevel både indikatorer og ekspertvurderinger være nødvendige som supplement på grunn av manglende datagrunnlag. En mulig vei å gå er å gradvis erstatte ekspertvurderinger med mer og mer objektive mål ettersom vi får mere kunnskap fra den løpende insektovervåkingen.

Helt konkret vil dette punktet betinge at overvåkingsopplegget prioriterer å inkludere lokaliteter som er så nær antatt referansetilstanden som mulig, i årene som kommer. Dette er nødvendig for å samle inn data som kan bidra til å beskrive en referansetilstand.

4. Samle inn data og beregne estimat eller indikator-verdi.

Til sist må data samles inn for å kunne estimere og kvalitetssjekke verdiene av indikatorene dersom det er mulig, og angi usikkerheten for disse verdier. Det er ønskelig å redusere usikkerheten i målmetodikken så mye som mulig, og nå et usikkerhetsnivå som er lavt nok til at endringer (av ønsket størrelsesorden) faktisk blir oppdaget. Rent praktisk trenger man ofte datainn-samling over noe tid for å kunne kvantifisere usikkerheten nok til en slik vurdering.

8.3 Spesielle utfordringer for insekter som grunnlag for indikatorer

Det er en rekke spesielle utfordringer knyttet til bruken av insekter som grunnlag for indikatorer for økologisk tilstand. Mange av dem er nevnt i beskrivelsen over, men her følger en oppsummert oversikt.

Siden insekter er en hyperdivers artsgruppe, med nærmere 20 000 norske arter der de fleste er små og lever sine liv skjult for oss, vil vi aldri få noe i nærheten av en komplett kunnskap om alle artenes økologi og respons på påvirkning. Det betyr at det alltid kan være en fare for at de ekspertvurderte artene som velges som indikatorer representerer den tilgjengelige og litt tilfeldige kunnskapen, heller enn det objektivt beste valget, gitt fullstendig oversikt. Likevel, alternativet – det å ikke forsøke – er opplagt et dårligere valg.

Det er også godt kjent at insektpopulasjoner av en gitt art vil variere mye over små avstander og mellom år. Derfor er det nødvendig å samle insektdata fra en tilstrekkelig bredde av det naturlige variasjonsspennet for et gitt økosystem, over flere år, for å kunne få fram gode nok data. Det gjelder ikke minst å skaffe insektdata fra områder som kan gi oss bedre kunnskap om indikatorernes verdier i områder som vi kan anta ligger nær referansetilstand. Slike områder må inkluderes i overvåkingen de kommende årene.

Det er betydelige utfordringer knyttet til insektsamling. Blant annet vet vi at ulike felletyper fanger de forskjellige insektgruppene ulikt godt, og at det er krevende å fastslå forholdet mellom fellefangst og populasjonen som er til stede i omkringliggende område. Dette er utfordringer som ligger innebygd i all slags insektsamling og alltid har gjort det. Hovedpoenget er å være klar over disse begrensingene, slik insektforskere alltid må være. Bruken av DNA-markører vil være et stort steg i riktig retning for en bedre dekning av insektsamfunnets fulle mangfold. Indikatorene må tilpasses slik at de fungerer for de resultatene vi ser vi får fra DNA-analyser fra insektfellene.

8.4 Arbeidsprosess for å identifisere og teste indikatorer

Under skisserer vi en arbeidsprosess for å finne gode indikatorer av insekter som kan si noe om den økologiske tilstanden i ulike økosystem. Prosedyren er basert på McGeogh (1998), der mes-teparten av metodikken går ut på å statistisk sjekke samsvaret mellom tilstand og indikator.

Tabell 3. Skisse av arbeidsprosess for utvikling av indikatorer for insekter.

Skrutt		Eksempel på valg	Kommentar
Skrutt 0.	Identifisere overordnet mål	Måle økologisk tilstand	
Skrutt 1.	Identifisere relevant egenskap for økologisk tilstand	F.eks. funksjonell sammensetting innen trofiske nivåer	Utgå fra de syv egenskapene i Nybø mfl. 2018
Skrutt 2.	Identifisere måte å måle egenskapen	F.eks. kartlegge sammensetning av nedbrytere	Her må man veie økologiske ønskemål mot praktiske muligheter
Skrutt 3.	Identifisere egnet måleenhet	F.eks. forekomst av noen kjente nedbrytere som indeks for sammensetning av nedbrytere. Alternativt definere mål av sammensetning som kan estimeres .	Hvis mulig, prioritere 1) estimator, 2) indikator, 3) ekspertvurdering
Skrutt 4.	Identifisere referansetilstand og grenseverdi	F.eks. forekomst av x antall arter av gitte nedbrytere for referansetilstand og tap av y arter/funksjoner som grenseverdi.	Om mulig, bør dette kalibreres fra empiriske studier.
Skrutt 5.	Samle inn data for indikatorer	F.eks. bruk vindusfeller i relevante skoger	
Skrutt 6.	Beregne indikator		Inklusive usikkerhet for indikator respektive estimat
Skrutt 7.	Hvis mulig, kvalitetssikre sammenhengen mellom indikator og økologisk tilstand		Dette er praktisk utfordrende fordi man trenger uavhengige mål av tilstanden (eller hovedegenskapen)
Skrutt 8.	Lage anbefalinger for bruk av indikatoren	F.eks. bruk indikatoren for å indikere tilstanden for sammensetningen av nedbrytere i økosystemet.	

8.5 Videre arbeid med indikatorer

Med bakgrunn i diskusjonen ovenfor, og kunnskapsgrunnlaget for insekter i Norge generelt (Åström m.fl. 2018), er det åpenbart at vi ikke i dag er i stand til å konkretisere indikatorer. I skrivende stund har vi tilgang til en halv sesongs data, fra 10 lokaliteter i seminaturlig mark og 10 i skoglokaliteter i Østfold. Det gir liten mening å analysere dette datamateriale med tanke på å utvikle ferdige indikatorer for insekter. Et hovedpoeng med en storskala, løpende overvåking er nettopp å kunne ta frem datagrunnlag som kan brukes for å vurdere og overvåke tilstanden til insekter i norsk natur. Vi ser for oss at tolkning av fangstdata og utvikling av indikatorer vil være en kontinuerlig prosess over tid. Tabell 4 viser en skisse på hvordan indikatorer for insekter skulle kunne se ut utefra de tre indikator typene som blitt diskutert ovenfor, med semi-naturlig mark som eksempel.

Tabell 4. Eksempel på mulige indikatorer for semi-naturlig mark.

Hovedområde	Estimat / Indikator	Tenkt påvirkning	Definisjon av referanse og grenseverdier
Funksjonell sammensetning	Egenskaper ved arter/antall arter innen funksjonelle grupper av gjødselbiller	Minsket mengde beite og artsmangfold av beitedyr	Empiriske studier av fangster fra semi-naturlig mark i variert tilstand
Biologisk mangfold	Artsrikdom av blomfluer og minerfluer	Artstap av vertsvækster fra bristende hevd	Empiriske studier av fangster fra semi-naturlig mark i variert tilstand
Biomassefordeling	Forhold mellom fluer og parasittveps	Minsket mengde beite og forandret landskapsstruktur	Empiriske studier av fangster fra semi-naturlig mark i variert tilstand

Som en overordnet konklusjon kan det sies at materialet som nå samles inn, uten tvil representerer en avgjørende og svært betydningsfull ny mulighet når det gjelder å følge med på status for insekter i de økosystemene som overvåkes. Det er likevel viktig å være klar over at det er et langsiktig og løpende prosjekt å videreutvikle overvåkingen, tolke resultatene og ta kunnskapen i bruk i et opplegg for å vurdere god økologisk tilstand.

9 Datalagring og publisering av insektfunn

All innsamlet data lagres i en PostgreSQL-database internt på NINA, med daglig backup. Dette inkluderer forekomstdata etter bioinformatikk på insektfunnene, data fra landsskogstakseringen, ANO-kartleggingen, loggerdata, samt lokalitetsinformasjon. Denne fungerer både som permanent lagring og kilde for eventuell publisering av aggregerte data.

Eksport av data til GBIF vil foregå fra denne databasen, via NINA sin IPT, etter at dataene har blitt kvalitetssjekket. Dataformatet leveres etter «Event-core»-standarden, som muliggjør at den hierarkiske strukturen på dataene beholdes, og der innsamlede miljødata kan kobles mot enkelte funn. Kvalitetssjekken som gjenstår innebærer blant annet en vurdering av taksonomer, for de grupper de har ekspertkunnskap, for å identifisere eventuelle feilaktige identifiseringer via metastrekkoding. Dette er en manuell vurdering, der rettelser ofte går begge veier. Iblant kan en taksonom definitivt flagge en identifisering gjennom metastrekkoding som feil, men iblant viser det seg at svarene fra genetikken byr på ny kunnskap for taksonomer. Denne prosessen er viktig å foreta før dataene blir offentliggjort, men det er verdt å notere at kvalitetssjekken aldri vil bli uttømmende, men begrenser seg til noen taksa som er praktisk mulig å behandle. Bioinformatikken vil stadig utvikle seg, slik at vi vil publisere oppdaterte versjoner av dataene der flere og flere funn blir identifisert til art.

Dataene vil få en lignende side i GBIF som dataene vi har publisert fra den løpende overvåkingen av dagsommerfugler og humler:

<https://www.gbif.org/dataset/aea17af8-5578-4b04-b5d3-7adf0c5a1e60>

Da formatet i event-core er komprimert, vil det være nødvendig å legge ved en instruks for nedlasting og «oppakkingen» av dataene, på lignende måte som dette eksempel for datasettet for dagsommerfugler og humler:

https://github.com/jenast/NBBM_data_export/blob/master/NBBM_GBIF_to_BMS_export.md

Det kan for eksempel være nødvendig å utelukke noen data på forklaringsvariabler i GBIF-versjonen, og isteden gjøre dette offentlig fra en separat server. For eksempel har vi registrert temperatur og luftfuktighet hvert 20 minutt for hver lokalitet, noe som kan være krevende for GBIF å lagre. Vi vil likevel tilse at all data blir offentlig tilgjengelig, slik at det komplette datasettet kan gjenskapes etter FAIR-prinsippet (Wilkinson mfl. 2016). Vi vil ikke publisere data i form av «presence/absence», det vil si å registrere null-funn, som vi gjør i eksemplet med dagsommerfugler og humler. Oppdagelsesansynligheten for en enkel art i et enkelt tømmeilfelle er såpass lav i en generell insektovervåking, at det er vanskelig å slå fast at den ikke var til stede, og dermed skal registreres som null-funn. I tillegg er det vanskelig å identifisere hvilke arter som skulle kunne ha vært til stede, og dermed hvilke arter som det overhode er aktuelt å registrere null-funn for. Merk at Norge beregnes ha omtrent 19 000 arter insekter, og at man ville ende opp med et datasett på 19 000 * antallet felletømminger, hvis man hadde inkludert «presence/absence» for alle dem.

9.1 Analyse-skript

Vi samler skript som har blitt brukt for denne rapport på github, for den som er interessert. Da det ikke er utført særlig mye analyser i denne rapporten, og rådataene ikke er publisert i skrivende stund, er disse sannsynligvis av mindre interesse for allmenheten. Det har karakteren av et internt arbeidsverktøy med en god del bearbeiding av selve dataene, inklusive utarbeiding av databasen. Koden er levende og vil fortsette å oppdateres etter at denne rapport publiseres.

Aktuell kode kan sees her:

http://github.com/jenast/insectsurvey_2020

10 Referanser

- Almasri, H., Tavares, D. A., Pioz, M., Sené, D., Tchamitchian, S., Cousin, M., ... Belzunces, L. P. 2020. Mixtures of an insecticide, a fungicide and a herbicide induce high toxicities and systemic physiological disturbances in winter *Apis mellifera* honey bees. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 203: 111013. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111013>
- Boobis, A., Budinsky, R., Collie, S., Crofton, K., Embry, M., Felter, S., ... Zaleski, R. 2011. Critical analysis of literature on low-dose synergy for use in screening chemical mixtures for risk assessment. *Critical Reviews in Toxicology* 41(5): 369–383. <https://doi.org/10.3109/10408444.2010.543655>
- Boutin, C., Strandberg, B., Carpenter, D., Mathiassen, S. K., & Thomas, P. J. 2014. Herbicide impact on non-target plant reproduction: What are the toxicological and ecological implications? *Environmental Pollution* 185: 295–306. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.009>
- Bowler, D. E., Heldbjerg, H., Fox, A. D., Jong, M., & Böhning-Gaese, K. 2019. Long-term declines of European insectivorous bird populations and potential causes. *Conservation Biology* 33(5): 1120–1130. <https://doi.org/10.1111/cobi.13307>
- Breeze, T. D., Bailey, A. P., Balcombe, K. G., Brereton, T., Comont, R., Edwards, M., ... Carvell, C. 2020. Pollinator monitoring more than pays for itself. *Journal of Applied Ecology* 1365-2664.13755. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13755>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., & Holmes, S. P. 2017. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *The ISME Journal* 11(12): 2639–2643. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.119>
- 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>
- Caruso, V., Song, X., Asquith, M., & Karstens, L. 2019. Performance of Microbiome Sequence Inference Methods in Environments with Varying Biomass. *MSystems* 4(1). <https://doi.org/10.1128/mSystems.00163-18>
- Dijk, T. C. V., Staalduinen, M. A. V., & Sluijs, J. P. V. der. 2013. Macro-Invertebrate Decline in Surface Water Polluted with Imidacloprid. *PLOS ONE* 8(5): e62374. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062374>
- EC, (European Commission), & UWE, (University of the West of England). 2020. Pollinators: importance for nature and human well being, drivers of decline and the need for monitoring. Publications Office, LU.
- Elbrecht, V., Braukmann, T. W. A., Ivanova, N. V., Prosser, S. W. J., Hajibabaei, M., Wright, M., ... Steinke, D. 2019. Validation of COI metabarcoding primers for terrestrial arthropods. *PeerJ* 7: E7745. <https://doi.org/10.7717/peerj.7745>
- EU Pollinators Initiative. u.å. Hentet 26. november 2020, fra https://ec.europa.eu/environment/nature/conservation/species/pollinators/policy_en.htm
- Fossøy, F., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., Pettersen, O., Sandercock, B. K., Solem, Ø., ... Mo, T. A. 2019. Monitoring presence and abundance of two gyrodactylid ectoparasites and their salmonid hosts using environmental DNA. *Environmental DNA (Hoboken, N.J.)* 2(1): 53–62. <https://doi.org/10.1002/edn3.45>

- Fossøy, F., Dahle, S., Eriksen, L. B., Spets, M. H., Karlsson, S., & Hesthagen, T. 2017. Bruk av miljø-DNA for overvåking av fremmede fiskearter. Utvikling av artsspesifikke markører for gjedde, mort og ørekyt. Norsk Institutt for Naturforskning. Norsk Institutt for Naturforskning. Hentet fra <http://hdl.handle.net/11250/2436734>
- Fossøy, F., Thaulow, J., d'Auriac, M. A., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., Mo, T. A., ... Hesthagen, T. 2018. Bruk av miljø-DNA som supplerende verktøy for overvåking og kartlegging av fremmed ferskvannsfisk. Norsk Institutt for Naturforskning NINA. Norsk Institutt for Naturforskning NINA. Hentet fra <http://hdl.handle.net/11250/2575873>
- Gobas, F. A., Burkhard, L. P., Doucette, W. J., Sappington, K. G., Verbruggen, E. M., Hope, B. K., ... Tarazona, J. V. 2016. Review of existing terrestrial bioaccumulation models and terrestrial bioaccumulation modeling needs for organic chemicals. *Integrated Environmental Assessment and Management* 12(1): 123–134. <https://doi.org/10.1002/ieam.1690>
- Goretti, E., Pallottini, M., Rossi, R., La Porta, G., Gardi, T., Cenci Goga, B. T., ... Cappelletti, D. 2020. Heavy metal bioaccumulation in honey bee matrix, an indicator to assess the contamination level in terrestrial environments. *Environmental Pollution* 256: 113388. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113388>
- Goulson, D. 2013. REVIEW: An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology* 50(4): 977–987. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12111>
- Graf, N., Battes, K. P., Cimpean, M., Entling, M. H., Frisch, K., Link, M., ... Schäfer, R. B. 2020. Relationship between agricultural pesticides and the diet of riparian spiders in the field. *Environmental Sciences Europe* 32(1): 1. <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0282-1>
- Hallmann, C. A., Sorg, M., Jongejans, E., Siepel, H., Hofland, N., Schwan, H., ... de Kroon, H. 2017. More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. *PLOS ONE* 12(10): e0185809. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185809>
- Hallmann, C. A., Zeegers, T., Klink, R., Vermeulen, R., Wielink, P., Spijkers, H., ... Jongejans, E. 2020. Declining abundance of beetles, moths and caddisflies in the Netherlands. *Insect Conservation and Diversity* 13(2): 127–139. <https://doi.org/10.1111/icad.12377>
- Hallmann, C., Zeegers, T., van Klink, R., Vermeulen, R., Wielink, P., Spijkers, H., & Jongejans, E. 2018. Analysis of insect monitoring data from De Kaaistoep and Drenthe.
- Hetland, R. B., Arukwe, A., Bernhoft, A., Haugen, M., Hemre, G. I., Källqvist, T., ... Alexander, J. 2013. Statement on the applicability of the 2008 VKM report «Combined toxic effects of multiple chemical exposures» after consideration of more recently published reports on risk assessment of combined exposures. Opinion of the Steering Scientific Committee of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety. I 8. (Norwegian Scientific Committee for Food Safety (VKM)).
- Jacobsen, R. M., Endrestøl, A., Magnussen, K., Fossøy, F., Brandsegg, H., Davey, M., ... Åström, J. 2020. Tidlig oppdagelse av nye fremmede arter i Norge - Uttesting og videreutvikling av overvåkingssystem for fremmede terrestriske karplanter og insekter. Norsk institutt for naturforskning NINA. Norsk institutt for naturforskning NINA. Hentet fra <https://hdl.handle.net/11250/2650766>
- Jepsen, J. U., Arneberg, P., Ims, R. A., Siwertsson, A., & Yoccoz, N. G. 2019. Test av fagsystemet for økologisk tilstand. Erfaringer fra pilotprosjekter for arktisk tundra og arktisk del

av Barentshavet. I NINA Rapport. (Norsk Institutt for Naturforskning NINA). <http://hdl.handle.net/11250/2600003>

- Katagi, T., & Tanaka, H. 2016. Metabolism, bioaccumulation, and toxicity of pesticides in aquatic insect larvae. *Journal of Pesticide Science* 41(2): 25–37. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D15-064>
- Khebbeb, M. E. H., Delachambre, J., & Soltani, N. 1997. Lipid Metabolism during the Sexual Maturation of the Mealworm (*Tenebrio molitor*): Effect of Ingested Diflubenzuron. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 58(3): 209–217. <https://doi.org/10.1006/pest.1997.2296>
- Komonen, A., Penttilä, R., Lindgren, M., & Hanski, I. 2000. Forest fragmentation truncates a food chain based on an old-growth forest bracket fungus. *Oikos* 90(1): 119–126. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2000.900112.x>
- Laurino, D., Porporato, M., Patetta, A., Manino, A., & Va, D. 2011. Toxicity of neonicotinoid insecticides to honey bees: Laboratory tests. *Bulletin of Insectology* 64: 107–113.
- Lebuhn, G., Droege, S., Connor, E. F., Gemmill-Herren, B., Potts, S. G., Minckley, R. L., ... Parker, F. 2013. Detecting Insect Pollinator Declines on Regional and Global Scales: Detecting Pollinator Declines. *Conservation Biology* 27(1): 113–120. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2012.01962.x>
- Lister, B. C., & Garcia, A. 2018. Climate-driven declines in arthropod abundance restructure a rainforest food web. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115(44): E10397–E10406. <https://doi.org/10.1073/pnas.1722477115>
- Lundqvist, J., von Brömssen, C., Rosenmai, A. K., Ohlsson, Å., Le Godec, T., Jonsson, O., ... Oskarsson, A. 2019. Assessment of pesticides in surface water samples from Swedish agricultural areas by integrated bioanalysis and chemical analysis. *Environmental Sciences Europe* 31(1): 53. <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0241-x>
- McGeogh, M. A. 1998. The selection, testing and application of terrestrial insects as bioindicators. *Biological Reviews* 73(2): 181–201. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1997.tb00029.x>
- Moretti, M., Dias, A. T. C., Bello, F. de, Altermatt, F., Chown, S. L., Azcárate, F. M., ... Berg, M. P. 2017. Handbook of protocols for standardized measurement of terrestrial invertebrate functional traits. *Functional Ecology* 31(3): 558–567. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12776>
- Motta, E. V. S., Raymann, K., & Moran, N. A. 2018. Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115(41): 10305–10310. <https://doi.org/10.1073/pnas.1803880115>
- Nybø, S., & Evju, M. 2017. Fagsystem for fastsetting av god økologisk tilstand - forslag fra et ekspertråd. <https://www.regjeringen.no/no/dokument/rapportar-og-planar/id438817/>
- Nybø, S., Framstad, E., Jakobsson, S., Evju, M., Lyngstad, A., Sickel, H., ... Aarrestad, P. A. 2019. Test av fagsystemet for økologisk tilstand for terrestriske økosystemer i Trøndelag. Norsk Institutt for Naturforskning NINA. Norsk Institutt for Naturforskning NINA. Hentet fra <http://hdl.handle.net/11250/2599977>

- Nørgaard, K., & Cedergreen, N. 2010. Pesticide Cocktails Can Interact Synergistically on Aquatic Crustaceans. *Environmental science and pollution research international* 17: 957–967. <https://doi.org/10.1007/s11356-009-0284-4>
- Olsen, S. L., Davey, M., Odden, J., Bartlett, J., Fossøy, F., Linnel, J., & Sandercock, B. 2020. Kartlegging av biologisk mangfold med ny teknologi – MiljøDNA og kamerafeller. NINA rapport IN PREP.
- Perkins, R., Whitehead, M., Civil, W., & Goulson, D. 2020. Potential role of veterinary flea products in widespread pesticide contamination of English rivers. *Science of The Total Environment* 143560. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143560>
- Porter, T. M., & Hajibabaei, M. 2018. Automated high throughput animal CO1 metabarcoding classification. *Scientific Reports* 8(1): 4226. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22505-4>
- Rizzati, V., Briand, O., Guillou, H., & Gamet-Payraastre, L. 2016. Effects of pesticide mixtures in human and animal models: An update of the recent literature. *Chemico-biological interactions* 254. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.06.003>
- Rosten, C. M., Mathiassen, J. R., & Fossøy, F. 2020. Lyd og bioakustikk – et mulighetsstudie. Bruk av lyd for naturovervåking. NINA rapport IN PREP.
- Rundlöf, M., Andersson, G. K. S., Bommarco, R., Fries, I., Hederström, V., Herbertsson, L., ... Smith, H. G. 2015. Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. *Nature* 521(7550): 77–80. <https://doi.org/10.1038/nature14420>
- Silva, V., Mol, H. G. J., Zomer, P., Tienstra, M., Ritsema, C. J., & Geissen, V. 2019. Pesticide residues in European agricultural soils – A hidden reality unfolded. *Science of The Total Environment* 653: 1532–1545. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.441>
- Taugbøl, A., Dervo, B. K., Fossøy, F., Bærum, K. M., Sivertsgård, R., Brandsegg, H., ... Ytrehus, B. 2017. Første påvisning av den patogene soppen *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) i Norge. Bruk av miljø-DNA for påvisning av fremmede arter. Norsk institutt for naturforskning NINA. Norsk institutt for naturforskning NINA. Hentet fra <http://hdl.handle.net/11250/2459941>
- Taugbøl, A., Dervo, B. K., Sivertsgård, R., Brandsegg, H., & Fossøy, F. 2018. Bruk av miljø-DNA til overvåking av små- og storsalamander. Norsk institutt for naturforskning NINA. Norsk institutt for naturforskning NINA. Hentet fra <http://hdl.handle.net/11250/2488828>
- Tingstad, L., Evju, M., Sickel, H., & Töpper, J. 2019. Utvikling av nasjonal arealrepresentativ naturovervåking (ANO). Forslag til gjennomføring, protokoller og kostnadsvurderinger med utgangspunkt i erfaringer fra uttesting i Trøndelag. Norsk Institutt for Naturforskning NINA. Norsk Institutt for Naturforskning NINA. Hentet fra <http://hdl.handle.net/11250/2590252>
- van Klink, R., Bowler, D. E., Gongalsky, K. B., Swengel, A. B., Gentile, A., & Chase, J. M. 2020. Meta-analysis reveals declines in terrestrial but increases in freshwater insect abundances. *Science* 368(6489): 417–420. <https://doi.org/10.1126/science.aax9931>
- Vickery, J. A., Feber, R. E., & Fuller, R. J. 2009. Arable field margins managed for biodiversity conservation: A review of food resource provision for farmland birds. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 133(1): 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2009.05.012>
- Wacker, S., Fossøy, F., Larsen, B. M., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., & Karlsson, S. 2019. Downstream transport and seasonal variation in freshwater pearl mussel (Margaritifera

- margaritifera) eDNA concentration. *Environmental DNA* 1(1): 64–73. <https://doi.org/10.1002/edn3.10>
- 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>
- Westergaard, K. B., Endrestøl, A., Hanssen, O., Ofte, A., Åström, J., Fossøy, F., ... Brandsegg, H. 2018. Fremmede arter – spredningsveien import av planteprodukter. Basisovervåking og metodeutvikling 2017–2018. I NINA Rapport. (Norsk Institutt for Naturforskning NINA). <http://hdl.handle.net/11250/2575833>
- Whitehorn, P. R., O'Connor, S., Wackers, F. L., & Goulson, D. 2012. Neonicotinoid Pesticide Reduces Bumble Bee Colony Growth and Queen Production. *Science* 336(6079): 351–352. <https://doi.org/10.1126/science.1215025>
- Wilkinson, M. D., Dumontier, M., Aalbersberg, I. J., Appleton, G., Axton, M., Baak, A., ... Mons, B. 2016. The FAIR Guiding Principles for scientific data management and stewardship. *Scientific Data* 3(1): 160018. <https://doi.org/10.1038/sdata.2016.18>
- Zaidi, N., Farine, J.-P., & Soltani, N. 2013. Experimental Study on Diflubenzuron: Degradation in Freshwater and Bioconcentration in Mosquitofish Following Chronic Exposure. *Journal of Environmental Protection* 04(02): 188–194. <https://doi.org/10.4236/jep.2013.42022>
- Ørka, H. O., Bollandsås, O. M., & Gobakken, T. 2019. Fjernmålingsbasert kartlegging og overvåking av økosystemet skog. V24. Fakultet for miljøvitenskap og naturforvaltning, NMBU. Fakultet for miljøvitenskap og naturforvaltning, NMBU.
- Åström, J., Birkemoe, T., Dahle, S., Davey, M., Ekrem, T., Endrestøl, A., ... Ødegaard, F. 2020. Forslag til nasjonal insektovervåking. Erfaringer fra et pilotforsøk samt en nytte-kostnadsanalyse. Norsk institutt for naturforskning NINA. <http://hdl.handle.net/11250/2646943>
- Åström, J., Birkemoe, T., Ekrem, T., Endrestøl, A., Fossøy, F., Sverdrup-Thygeson, A., & Ødegaard, F. 2019. Nasjonal overvåking av insekter. Behovsanalyse og forslag til overvåkingsprogram. I NINA Rapport. (Norsk Institutt for Naturforskning NINA). <http://hdl.handle.net/11250/2583168>

Vedlegg 1.

Feltinstruks- Felletømming

Insektovervåking 2020 – V.2.0

Oversikt over fellene

I 2020 har vi insektfeller på 20 lokaliteter på Østlandet, 11 av dem ligger nærmere Lillehammer og driftes med fordel av personal derfra, og de resterende 9 driftes av personal fra Oslo.

Lokalene er delt in i 2 hovedtyper, Skog og Semi-naturlig mark. Lokalitetene besøkes annenhver uke, der halvparten av fellene blir tømt hver gang, og halvparten blir tømt annethvert besøk.

Feller på lokalitetene

Økosystem	Felletype	FelleID	Væske	Tømmingsinter- vall
Skog	Malaise	MF1	85% Etanol	2-uker
		MF2	85% Etanol	4-uker
	Vindu	VF1	85% Etanol	2-uker
		VF2	85% Etanol	4-uker
		VF3	7/10 Propylenglykol + 3/10 96% Etanol	2-uker
		VF4	7/10 Propylenglykol + 3/10 96% Etanol	4-uker
Semi-naturlig mark	Malaise	MF1	85% Etanol	2-uker
		MF2	85% Etanol	4-uker

Koordinering av tømning

Sjekk inn og oppdater tømmeplaneringen løpende: [Link til tømmeplanering](#)

Skriv in navnet på den/de som skal tømme lokalitetene på gitt uke. Etter tømning, fyll i dato da lokaliteten besøktes. Disse datoer brukes for å dobbeltsjekke de innleverte prøvene for å faststille ID.

Kontakt

Ved spørsmål:

Jens Åström, epost: jens.astrom@nina.no, tlf: xxxxx

Arnstein Staverløkk, epost: arnstein.staverlokk@nina.no, tlf: xxxxx

<p>Sjekkliste før du drar ut for å tømme</p> <p>Ta med:</p> <p>Ferdigblandete flasker. 85% etanol og Propylenglykolblanding etter skjema ovenfor.</p> <p>Ekstra 96% etanol for å toppe opp flaskene som skal tømmes.</p> <p>Kamera/telefon.</p> <p>GPS med koordinater til flatene.</p> <p>Kontaktskjema for grunneiere (Enkelte plasser har bomvei som</p>	Koordinater til sentrum av lokaliteter (Se også kart og lokal-info på Link til prosjektside)		
	Lokal	Lat	Lon
	Skog_1	59.002500	8.915222
	Skog_2	59.583750	9.325007
	Skog_3	59.540089	10.138633
	Skog_4	61.448039	9.458225
	Skog_5	61.047212	9.788378
	Skog_6	62.080516	9.870669
	Skog_7	60.453612	11.431433
	Skog_8	61.579839	11.368532
Skog_9	59.910892	11.642026	

grunneier kan åpne). Se share-point. 2 etiketter for hver flaske og pen. Teip for etiketter på flaska.	Skog_10	61.052421	11.651559
	Semi-nat_1	59.162889	8.509569
	Semi-nat_2	60.881128	8.744346
	Semi-nat_3	61.592116	8.931736
	Semi-nat_4	61.880395	9.141611
	Semi-nat_5	59.976471	10.020810
	Semi-nat_6	61.554351	9.995649
	Semi-nat_7	61.152423	10.199171
	Semi-nat_8	60.925097	10.796999
	Semi-nat_9	59.676537	11.283430
	Semi-nat_10	59.905653	11.982489



Figur 33. Fra venstre til høyre: Malaisefelle 1 og 2 i lokal semi-nat_6. Lengst bak på Malaisefelle 2 er det festet en temperaturlogger.



Figur 34. Vindusfelle på lokalitet Skog_10.

Tømmingsprosedyre

Ved felletømming:

Sjekk at fellene ser greit ut. Stram opp stroppene etter behov. Malaisefellene fanger best da stoffet er godt strekt, og teltet ikke siger seg ned. Sjekk at markeringene/etikettene med felleID er på plass.

Notere eventuelle problem med fellene eller andre relevante forhold (pågående beite, skoghogst, slått på tømmeplaneringen på sharepoint)

Skru av flasken på fellen som skal tømmes. Legg i en etikett som identifiserer lokal, felleID og tømningstilfelle og ditt navn. Eksempel: Lok: Skog_10, Felle:VF1, Tid:05.06.2020 13:10. Person: Jens Åström

Etterfyll flasken med 96% etanol, slik at flasken er helt fylt opp til korken. Skru på korken godt. Hvis det er en luftboble i toppen av flasken kan insektene ristes sønder ved transport.

Fjern aluminiumsteipen og bruk teip for å feste en ekstra etikett utenpå flasken.

Skru fast ny flaske på fellen. Kontrollerer at du bruker rett væske.

Forvare de innsamlete flaskene i kjøleskap/rom til de blir sendt opp til Trondheim. Tenk på at håndtere og forvare alle prøver på så lik måte som mulig.

Bilder

Ta gjerne bilder med kamera/mobiltelefon ved tømningstilfellet. Prøv få med vegetasjonen på bakken rundt fellene. Det gir informasjon om fenologien ved tømningstilfellet. Legg bildene på Sharepoint-sida til prosjektet [Link til folder på prosjektside](#)

Temperaturlogger

Temperaturloggerne trenger i utgangspunktet ikke tømmes løpende, da de skal klare logge et helt år. Vi tømmer de likevel hver måned for å sjekke at de er i drift. Dataen tømmes via Bluetooth.

Installasjon:

På Android-telefon/nettbrett:

Last ned appen HoboConnect.

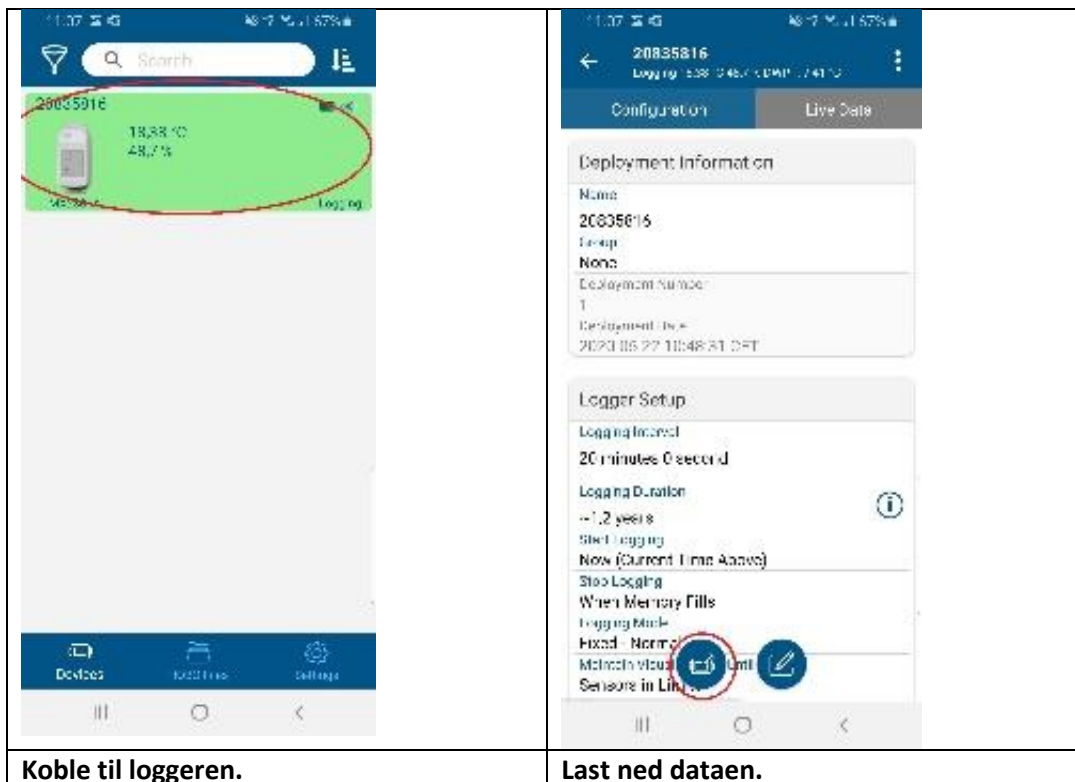
I settings -> HOBOLink: Connect account, Username: xxxx, Password: xxxx

Aktiver "Upload Data"

Nedlasting av data:

Trykk kort på knappen til loggeren for å slå på Bluetooth

Åpne HOBOLink, du skal nå få kontakt med loggeren.



Dataen vil bli sendt til skyen automatisk, og vi kan laste ned alle data samlet etterpå.

For Iphone, bruk appen HoboMobile, og følg tilsvarende prosedyre.

Levering av prøver til Trondheim

Prøvene samles i kjøleskap og kjøres til Trondheim etter avtale. Posten og andre budfirmaer vil som regel ikke kjøre disse prøver på grunn av det høye spritinnholdet. Vi koordinerer kjøring under løpet av sesongen. Tak kontakt hvis du begynner å fylle opp lagringskapasiteten. Vi vil som regel motta prøvene omtrent annen hver måned og prosessere dem underveis.

Øvrige datainnsamlinger

På flere av lokalitetene er det også festet lys og lydlogger. Husk å tømme minnekortet og batterier ved behov på lydloggerne. Følg separat instruks for dette.

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

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

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

ISSN:1504-3312
ISBN: 978-82-426-4650-7

Norsk institutt for naturforskning

NINA Hovedkontor

Postadresse: Postboks 5685 Torgarden, 7485 Trondheim

Besøks-/leveringsadresse: Høgskoleringen 9, 7034 Trondheim

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

E-post: firmapost@nina.no

Organisasjonsnummer 9500 37 687

<http://www.nina.no>



Samarbeid og kunnskap for framtidens miljøløsninger