

1962

NINA Rapport

## Kartlegging og overvåking av biologisk mangfold med ny teknologi

Miljø-DNA og kamerafeller

Siri Lie Olsen, Jesamine Bartlett, Marie Davey, Frode Fossøy, John D. C. Linnell, Jenni Nordén, John Odden, Brett K. Sandercock og Neri Horntvedt Thorsen



## **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.

# Kartlegging og overvåking av biologisk mangfold med ny teknologi

Miljø-DNA og kamerafeller

Siri Lie Olsen

Jesamine Bartlett

Marie Davey

Frode Fossøy

John D. C. Linnell

Jenni Nordén

John Odden

Brett K. Sandercock

Neri Horntvedt Thorsen

Olsen, S.L., Bartlett, J., Davey, M., Fossøy, F., Linnell, J.D.C., Nordén, J., Odden, J., Sandercock, B.K. & Thorsen, N.H. 2021. Kartlegging og overvåking av biologisk mangfold med ny teknologi: miljø-DNA og kamerafeller. NINA Rapport 1962. Norsk institutt for naturforskning.

Oslo, mars 2021

ISSN: 1504-3312

ISBN: 978-82-426-4741-2

RETTIGHETSHAVER

© Norsk institutt for naturforskning

Publikasjonen kan siteres fritt med kildeangivelse

TILGJENGELIGHET

Åpen

PUBLISERINGSTYPE

Digitalt dokument (pdf)

KVALITETSSIKRET AV

Jenny Mattisson

ANSVARLIG SIGNATUR

Assisterende forskningssjef Tor Atle Mo (sign.)

OPPDRAKSGIVER(E)/BIDRAGSYTER(E)

Miljødirektoratet

OPPDRAKSGIVERS REFERANSE

M-1955|2021

KONTAKTPERSON(ER) HOS OPPDRAGSGIVER/BIDRAGSYTER

Tomas Holmern

FORSIDEBILDE

Kamerafeller og analyser av miljø-DNA i jordprøver er potensielle metoder for kartlegging og overvåking av biologisk mangfold

©John Odden/Solveig Haug

NØKKEWORD

biomangfold, død ved, fenologi, jord, kamerafelle, karplanter, kartlegging, leddormer, metodeutvikling, miljø-DNA, Norge, overvåking, PATHEXT, pattedyr, SCANDCAM, sopp

KEY WORDS

annelids, biodiversity, camera trap, dead wood, e-DNA, fungi, mammals, survey, methods development, monitoring, Norway, PATHEXT, phenology, soil, SCANDCAM, vascular plants

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](http://www.nina.no)

## Sammendrag

Olsen, S.L., Bartlett, J., Davey, M., Fossøy, F., Linnell, J.D.C., Nordén, J., Odden, J., Sandercock, B.K. & Thorsen, N.H. 2021. Kartlegging og overvåking av biologisk mangfold med ny teknologi: miljø-DNA og kamerafeller. NINA Rapport 1962. Norsk institutt for naturforskning.

Norge har forpliktet seg til å stanse tap av biologisk mangfold. Å ivareta det biologiske mangfoldet krever imidlertid kunnskap om hvor artene befinner seg. For mange arter har vi god kunnskap om utbredelse og bestandsstørrelse, mens for andre arter er dette dårlig kjent. Det gjelder blant annet arter som lever skjult i jord og død ved, og mobile arter med lav tetthet. De siste tiårene har ny teknologi som bruk av miljø-DNA og kamerafeller, åpnet for påvisning av «skjult» biologisk mangfold, samt kostnadseffektiv kartlegging av andre artsgrupper.

For å kunne utnytte ny teknologi i kartlegging og overvåking av biologisk mangfold, er det imidlertid nødvendig å identifisere de beste og mest kostnadseffektive metodene. Vi har derfor testet ut ulike metoder for bruk av ny teknologi i kartlegging av terrestrisk biologisk mangfold i Norge. Dette omfatter registrering av artsmangfold i jord og død ved hjelp av miljø-DNA og artsmangfold og fenologi hos pattedyr ved hjelp av kamerafeller.

Våre resultater viser at analyser av miljø-DNA fra relativt enkle jord- og vedprøver kan være et nyttig verktøy for kartlegging og overvåking av biologisk mangfold. Vi bekrefter egnetheten til genetiske markører for planter, sopp og leddormer i jord, samt sopp i død ved. For disse artsgruppene fant vi at metoden fanger opp viktige forskjeller i artssamfunnet mellom natur- og substrattypen uavhengig av prøvetakings- og ekstraksjonsmetode. Sannsynligheten for deteksjon av arter var også relativt lik for ulike metoder. Vi kan derfor anbefale bruk av de enkleste og mest kostnadseffektive metodene. Resultatene for planter var sammenlignbare med tradisjonell kartlegging i regi av ANO. Foreløpige tester av markører for spretthaler, rundormer, edderkoppdyr, insekter og vertebrater resulterte i relativt få arter. Våre funn viser at dersom formålet er å overvåke artsrikdom eller artssammensetning på generelt nivå, er miljø-DNA en egnet metode. Dersom målet isteden er å registrere alle arter, og særlig rødlistearter, er trolig en kombinasjon av tradisjonell kartlegging og bruk av miljø-DNA det beste.

Vårt arbeid med bruk av kamerafeller til kartlegging og overvåking av store og mellomstore pattedyr viser at dette kan benyttes til overvåking av antall og tetthet av dyr, utbredelse av både stedeegne og fremmede arter, sammensetning av pattedyrsamfunn, noen sykdommer og fenologi, for eksempel vintersøvn hos grevling, pelsskifte hos hare og gevirsyklus hos rådyr. Bilde-data fra kamerafeller har med andre ord en rekke bruksområder, også utover registrering av forekomst. Bruk av miljø-DNA fanger ikke opp pattedyrarter som ble påvist ved hjelp av kamerafeller.

Denne rapporten bidrar med kunnskap om hvordan ny teknologi kan inngå i overvåkingen av biologisk mangfold i norsk natur. Videre arbeid med bruk av miljø-DNA bør omfatte valg av riktig sekvensdybde, videre uttesting av genetiske markører og alternative metoder for innsamling av miljø-DNA. Videre arbeid med kamerafeller bør omfatte utvikling av ulike bestandsindekser og uttesting av modifiserte kamerafeller til overvåking av smånagere. En kombinasjon av en rekke metoder, både nye og tradisjonelle, vil være nødvendig for en helhetlig overvåking av biologisk mangfold av ulike artsgrupper.

Et utvidet sammendrag er tilgjengelig i **Vedlegg 10**.

S. L. Olsen ([siri.lie.olsen@nina.no](mailto:siri.lie.olsen@nina.no)), J. Odden ([john.odden@nina.no](mailto:john.odden@nina.no)), J. Nordén ([jenni.norden@nina.no](mailto:jenni.norden@nina.no)) og N. H. Thorsen ([neri.thorsen@nina.no](mailto:neri.thorsen@nina.no)), Norsk institutt for naturforskning (NINA), Sognsveien 68, 0855 Oslo. J. Bartlett ([jesamine.bartlett@nina.no](mailto:jesamine.bartlett@nina.no)), M. Davey ([marie.davey@nina.no](mailto:marie.davey@nina.no)), F. Fossøy ([frode.fossoy@nina.no](mailto:frode.fossoy@nina.no)), J. D. C. Linnell ([john.linnell@nina.no](mailto:john.linnell@nina.no)) og B. K. Sandercock ([brett.sandercock@nina.no](mailto:brett.sandercock@nina.no)), Norsk institutt for naturforskning, Postboks 5685 Torgarden, 7485 Trondheim.

## Abstract

Olsen, S.L., Bartlett, J., Davey, M., Fossøy, F., Linnell, J.D.C., Nordén, J., Odden, J., Sandercock, B.K. & Thorsen, N.H. 2021. Surveying and monitoring biodiversity using new technology: eDNA and camera trapping. NINA Report 1962. Norwegian Institute for Nature Research.

Norway has committed to halting the loss of biodiversity. However, preserving biodiversity requires knowledge about species distributions. For some species we have good knowledge of distribution and population size, but the vast majority of species are poorly known. For instance, this is the case for species found in soil and dead wood, and mobile species with low population densities. New technologies have emerged recently, such as the use of environmental DNA (eDNA) and camera traps, which provide many opportunities for the detection of “hidden” biodiversity as well as cost-effective mapping of other species groups.

To be able to exploit new technology in mapping and monitoring of biodiversity, it is necessary to identify the best and most cost-effective methods. We have therefore tested different technologies for surveying terrestrial biodiversity in Norway. This includes surveying biodiversity in soil and dead wood using eDNA, and diversity and phenology of mammals using camera traps.

We show that analyses of eDNA in relatively simple soil and wood samples is a potentially useful tool for mapping and monitoring of biodiversity. We confirm the utility of genetic markers for plants, fungi and annelids in soil as well as fungi in dead wood. For these species groups we found that the method is robust and can detect important differences in community structure between habitat and substrate types independent of sampling and DNA extraction methods. The probability of detecting species was also consistent across methodologies. We can therefore recommend using the simplest and most cost-effective methods. The results for plants were comparable to those of traditional ANO surveys. Preliminary testing of markers for collembola, nematodes, arachnids, insects and vertebrates resulted in relatively few species. Our findings suggest that if the goal is to monitor species richness or composition in general, eDNA can be suitable. However, if the aim is to detect all species, especially red-listed species, a combination of traditional methods and eDNA is probably the best.

Our studies with camera traps shows that the method is suitable for mapping and monitoring the presence and relative densities of medium to large mammals, the distribution of both native and alien species, community structure as well as the presence of certain diseases and the timing of life history events (phenology) like winter dormancy of badgers, winter coats in mountain hare and antler cycles in roe deer. This demonstrates that the remotely collected images obtained from camera traps can provide insights into many ecosystem parameters beyond presence. Analyses of eDNA did not capture the mammal species recorded using camera traps.

This report provides new insights into the way that new technologies can contribute to monitoring the biodiversity associated with Norwegian nature. Further work with eDNA should focus on exploring how field sampling methods, choice of sequence depth and marker selection can be optimized. For camera traps, future work should explore how different deployments of cameras influence the stability of abundance indices, and how modified cameras can be used to monitor small mammals. The results clearly show that a combination of many different methods will be needed to effectively monitor biodiversity.

An extended abstract is available in **Appendix 11**.

S. L. Olsen ([siri.lie.olsen@nina.no](mailto:siri.lie.olsen@nina.no)), J. Odden ([john.odden@nina.no](mailto:john.odden@nina.no)), J. Nordén ([jenni.norden@nina.no](mailto:jenni.norden@nina.no)) and N. H. Thorsen ([neri.thorsen@nina.no](mailto:neri.thorsen@nina.no)), Norwegian Institute for Nature Research (NINA), Sognsveien 68, NO-0855 Oslo. J. Bartlett ([jesamine.bartlett@nina.no](mailto:jesamine.bartlett@nina.no)), Marie Davey ([marie.davey@nina.no](mailto:marie.davey@nina.no)), F. Fossøy ([frode.fossoy@nina.no](mailto:frode.fossoy@nina.no)), J. D. C. Linnell ([john.linnell@nina.no](mailto:john.linnell@nina.no)) and B. K. Sandercock ([brett.sandercock@nina.no](mailto:brett.sandercock@nina.no)), Norwegian Institute for Nature Research, P.O. Box 5685 Torgarden, NO-7485 Trondheim.

# Innhold

<b>1 Innledning</b> .....	<b>8</b>
<b>2 Litteratursammenstilling</b> .....	<b>10</b>
2.1 Litteratursøk.....	10
2.2 Litteraturgjennomgang.....	11
2.2.1 Sopp og andre mikroorganismer .....	11
2.2.2 Planter.....	12
2.2.3 Virvelløse dyr .....	12
2.2.4 Pattedyr.....	13
2.2.5 Fugler.....	14
2.2.6 Amfibier og reptiler.....	15
2.2.7 Fordeler og begrensninger ved bruk av miljø-DNA.....	15
2.2.8 Fordeler og begrensninger ved bruk av kamerafeller .....	18
2.2.9 Oppsummering .....	20
<b>3 Miljø-DNA i jord og død ved</b> .....	<b>21</b>
3.1 Materialer og metoder .....	22
3.1.1 Jord- og vedprøver til analyser av miljø-DNA.....	22
3.1.2 Jordprøver til kjemiske analyser .....	26
3.2 Resultater.....	27
3.2.1 Abiotiske faktorer .....	27
3.2.2 Genetiske markører .....	28
3.2.3 Analyser av sopp .....	31
3.2.4 Analyser av planter .....	42
3.2.5 Analyser av leddormer.....	48
3.3 Diskusjon .....	54
3.3.1 Abiotiske faktorer .....	54
3.3.2 Analyser av miljø-DNA.....	54
<b>4 Sammenligning av miljø-DNA og tradisjonell kartlegging av sopp i død ved</b> .....	<b>57</b>
4.1 Materialer og metoder .....	57
4.2 Resultater.....	59
4.3 Diskusjon .....	60
<b>5 Kamerafeller for kartlegging og overvåking av store og mellomstore pattedyr</b> .....	<b>62</b>
5.1 SCANDCAM .....	62
5.1.1 Bakgrunn.....	62
5.1.2 Om prosjektet.....	62
5.2 Kartlegging av antall og tetthet.....	65
5.2.1 Validering av antall familiegrupper av gauper i Norge .....	65
5.2.2 Beregning av tetthet av gaupe i Hedmark .....	66
5.3 Kartlegging av utbredelse .....	67
5.3.1 Utbredelse av villsvin .....	67
5.3.2 Hjort og rødrev i sørlige deler av Viken .....	68
5.4 Sammensetning av pattedyrsamfunn.....	69
5.5 Fenologi .....	71
5.5.1 Vintersøvn hos grevling .....	71
5.5.2 Pelsskifte hos hare.....	73
5.5.3 Gevirsyklus hos rådyr .....	74
5.6 Overvåking av sykdom .....	75
<b>6 Sammenligning av miljø-DNA og kamerafeller</b> .....	<b>77</b>
6.1 Materialer og metoder .....	77
6.2 Resultater.....	78

---

6.3	Diskusjon .....	79
<b>7</b>	<b>Oppsummering og anbefalinger .....</b>	<b>80</b>
7.1	Anbefalinger for videre arbeid i prosjektet.....	80
7.1.1	Miljø-DNA.....	80
7.1.2	Kamerafeller.....	81
7.2	Anbefalinger for overvåking av biologisk mangfold generelt .....	83
<b>8</b>	<b>Referanser .....</b>	<b>86</b>
	<b>Vedlegg 1. Feltprotokoll for jord- og vedprøvetaking .....</b>	<b>98</b>
	<b>Vedlegg 2. Dybde jordprøvetaking .....</b>	<b>103</b>
	<b>Vedlegg 3. Protokoll for isolering av miljø-DNA .....</b>	<b>104</b>
	<b>Vedlegg 4. Protokoll for analyse av næringsstoffer i jord .....</b>	<b>105</b>
	<b>Vedlegg 5. Næringsinnhold i jord.....</b>	<b>107</b>
	<b>Vedlegg 6. Dimensjoner død ved.....</b>	<b>109</b>
	<b>Vedlegg 7. Antall deteksjoner .....</b>	<b>110</b>
	<b>Vedlegg 8. Modellseleksjon .....</b>	<b>111</b>
	<b>Vedlegg 9. Sammenligning av resultater for planter .....</b>	<b>113</b>
	<b>Vedlegg 10. Utvidet sammendrag.....</b>	<b>124</b>
	<b>Appendix 11. Extended abstract.....</b>	<b>126</b>



## Forord

Mangel på kunnskap om arters utbredelse og bestandstetthet i tid og rom er en stor utfordring for forvaltning av det biologiske mangfoldet. Dette gjelder særlig det «skjulte» mangfoldet som vi sjelden ser, men som leverer viktige økosystemtjenester, for eksempel arter som lever i jord og død ved, og mobile arter som mellomstore og store pattedyr.

De siste tiårene har teknologisk utvikling åpnet nye muligheter for å kartlegge og overvåke «skjult» biologisk mangfold på en standardisert og kostnadseffektiv måte. Før ny teknologi tas i bruk i stor skala, må den imidlertid testes grundig for å avdekke fordeler og ulemper og for å identifisere mulige synergier med tradisjonelle metoder.

Norsk institutt for naturforskning (NINA) fikk derfor i oppdrag av Miljødirektoratet å utvikle metoder for kartlegging og overvåking av biologisk mangfold ved hjelp av ny teknologi, nærmere bestemt analyser av miljø-DNA i jord og død ved og kamerafeller. Denne rapporten omfatter det første året med uttesting og må sees på som et første steg i retning av å utvikle nye metoder for kartlegging og overvåking biologisk mangfold.

En stor takk til Håvard Kausrud ved Universitetet i Oslo for innspill og råd til etablering av miljø-DNA-feltmetodene. Takk til John Gunnar Dokk og Tobias Holter for jord- og vedprøvetaking på de ti lokalitetene i som er samlokalisert med insektovervåkingen, til Solveig Haug, Torbjørn Havnås og Markus Fjelde som tok jordprøver foran kamerafellene og samlet inn bilder, og til Maren Karine Stokke for innlegging av data. Videre takk til Nina Myhr og Sunniva Bahk som organiserte arbeidet med prøvetaking og sortering av bilder. Stor takk til Tim Hofmeester (SLU Umeå) og Laura Bartra Cabré (NMBU og NTNU) som hjalp til med analysene på fenologi hos hare og grevling. Til slutt en takk til alle som har validert bilder i SCANDCAMs databaser.

NINA Genlab har gjort de genetiske analysene, og vi ønsker å takke Hege Brandsegg, Ida Pernille Øystese Andersskog, Merethe Spets og Line Birkeland Eriksen for deres innsats i laboratoriet med uttesting av protokoller for jord- og vedprøver, samt Markus Antti Mikael Majaneva for hjelp med bioinformatiske analyser. Takk også til og Knut Fageraas og Tessa Bargmann for oversettelse av tekst til rapporten og Tor Erik Brandrud for nyttige innspill.

Når det gjelder sammenligning av miljø-DNA og tradisjonell kartlegging av vedlevende sopp (kap. 4), ønsker vi å takke Karl-Henrik Larsson, Viacheslav Spirin, Matti Kulju, Sergio Pérez Gorjón og Sten Svantesson for arbeid med artsidentifikasjon av fruktlegemer, Svantesson også for feltinnsats med kartlegging av fruktlegemene. Vi ønsker også å takke Håvard Kausrud og Anders Bjørnsgaard Aas for arbeid med miljø-DNA i vedprøver. Norges Forskningsråd, Finlands Akademi, Artsdatabanken, Stiftelsen Fonden för skogsvetenskaplig forskning ved Sveriges lantbruksuniversitet (Umeå) og Kaptan Carl Stenholms Donationsfond ved Göteborgs Universitet takkes for økonomisk støtte.

Kontaktperson hos Miljødirektoratet har vært Tomas Holmern. Takk for god kontakt og konstruktive innspill underveis i prosessen, særlig da koronapandemien stakk kjepper i hjulene for kjemikalieleveransene våre. Det ordnet seg heldigvis til slutt!

Oslo, mars 2021

Siri Lie Olsen

Prosjektleder

# 1 Innledning

Norge har gjennom FNs konvensjon for biologisk mangfold forpliktet seg til å stanse tap av biologisk mangfold. Dette er nedfelt i nasjonale mål for naturmangfold og konkretisert gjennom blant annet forvaltningsmål for arter og naturtyper i naturmangfoldloven. Å ivareta det biologiske mangfoldet krever imidlertid kunnskap om hvor artene befinner seg. For mange arter har vi god kunnskap om utbredelse og bestandsstørrelse, mens for andre arter er dette dårlig kjent. Det gjelder blant annet arter som lever skjult i jord og død ved (e.g. Cameron et al. 2019), og mobile arter med lav tetthet (e.g. O'Connell et al. 2011), som kan være vanskelig å kartlegge ved bruk av tradisjonelle metoder. De siste tiårene har ny teknologi som bruk av miljø-DNA og kamerafeller, åpnet for deteksjon av «skjult» biologisk mangfold, samt kostnadseffektiv kartlegging av andre artsgrupper.

Miljø-DNA er spor av arvestoff (DNA) hentet fra miljøprøver uten at man observerer organismene man leter etter (Thomsen & Willerslev 2015). Miljø-DNA er altså alt DNA vi kan finne i en spesifikk miljøprøve, for eksempel vann eller jord, uavhengig av hvilket substrat miljøprøven kommer fra og hvilke arter den inneholder (Pietramellara et al. 2009). DNA i miljøet kan stamme fra hele organismer som bakterier og protister, men også fra for eksempel hud- og hårceller, rester av røtter og blader, soppmycel og -sporer, spytt eller avføring fra levende eller nylig døde organismer. Miljø-DNA er derfor i utgangspunktet uspesifikt og kan i prinsippet inneholde spor av arvestoff fra alle arter som har avlagt slike spor i et gitt økosystem. I praksis er imidlertid tilstedeværelse av DNA i miljøprøven avhengig av størrelsen og utstrekningen (f.eks. soppmycel) til organismen, morfologi, aktivitetsnivå og habitatvalg for de ulike artene (Taberlet et al. 2018), samt DNA-konsentrasjonen i ulike typer vev.

I vannprøver viser flere studier at analyser av miljø-DNA kan ha en høyere sannsynlighet for å finne sjeldne arter enn tradisjonell kartlegging basert på morfologi (Thomsen et al. 2012, Biggs et al. 2015, Valentini et al. 2016). Dette tyder på at miljø-DNA kan være egnet for overvåking av for eksempel truede arter og fremmede arter, som ofte har lave tettheter (særlig i etableringsfasen) og er vanskelige å oppdage med konvensjonelle metoder. Det er imidlertid ikke gitt at dette også er tilfellet i terrestriske økosystemer. Frøslev et al. (2019) fant at analyser av miljø-DNA i jordprøver identifiserte flere sopparter enn tradisjonell kartlegging – men tradisjonell kartlegging resulterte i flere funn av rødlistede arter. Tilsvarende kan bruk av miljø-DNA fange opp flere arter i død ved enn tradisjonell kartlegging (Ovaskainen et al. 2013), men det er uklart om dette også gjelder sjeldne arter. Selv om miljø-DNA så langt i hovedsak har vært tatt fra vannprøver, er det stadig flere studier som viser mulighetene med bruk av analyse av miljø-DNA også fra for eksempel jordprøver (e.g. Tedersoo et al. 2014, Fahner et al. 2016, Oliverio et al. 2018) og vedprøver (e.g. Hoppe et al. 2015, Rämä et al. 2016, Saine et al. 2020).

Kamerafeller, det vil si utplasserte (digitale) kameraer som utløses automatisk av for eksempel bevegelse, kan også benyttes til overvåking av biologisk mangfold. Metoden er kostnadseffektiv da kameraene potensielt kan registrere arter døgnet rundt og stå ute i flere måneder uten tilsyn. Slike kamerafeller kan dessuten benyttes for å overvåke fenologiske endringer i naturen, for eksempel knyttet til effekter av klimaendringer (Keenan et al. 2014, Brown et al. 2016, Hofmeester et al. 2019a, Richardson et al. 2018, Richardson 2019, Zimova et al. 2020b), og validere resultater fra bruk av miljø-DNA (e.g. Leempoel et al. 2020) for organismer som lar seg fange opp med et kamera.

Globalt er kamerafeller hovedsakelig benyttet til overvåking av store og mellomstore pattedyr (Rovero et al. 2013, Trolliet et al. 2014, Burton et al. 2015, Caravaggi et al. 2017, Hofmeester et al. 2019b). De fleste mellomstore og store pattedyrene i Norge er høstbare arter som forvaltes gjennom såkalt adaptiv forvaltning, som krever en overvåking og oppfølging av effekten av høstingen. I senere år har snøfrie vintre skapt utfordringer for snøbasert overvåking av store rovdyr. Metoder som innsamling av DNA fra ekskrementer (bjørn, jerv og ulv) og automatiske kamerafeller (gaupe) er derfor tatt i bruk i den nasjonale overvåkingen av store rovdyr (Bischof et al. 2019, Flagstad et al. 2019, Odden 2015). Kamerafeller har potensial til å la oss studere storskala

endringer i fordeling, tetthet og bestandsutvikling hos en rekke pattedyrarter (store og små rovdyr, hjortevilt, hare og andre jaktbare småviltarter).

Internasjonalt er analyser av miljø-DNA og bruk av kamerafeller flere steder integrert i kartlegging og overvåking av biologisk mangfold. Miljø-DNA brukes systematisk til overvåking av biologisk mangfold blant annet i Sverige. Der overvåkes sopp i jord i forbindelse med «Riksskogstaxeringen» (tilsvarende den norske Landsskogstaxeringen) ved hjelp av jordprøver og analyser av miljø-DNA (se bl.a. <https://www.slu.se/centrumbildningar-och-projekt/markinventeringen/>). Tilsvarende er kamerafeller rutinemessig benyttet til overvåking av dyr i avgrensede områder som nasjonalparker i en rekke land (se bl.a. <https://www.wildlifeinsights.org/team-network>), og et tilsvarende system er under utvikling i Tyskland. I Alberta i Canada brukes kamerafeller til systematisk overvåking av dyr i hele provinsen, i regi av et eget institutt, Alberta Biodiversity Monitoring Institute (<https://www.abmi.ca/home.html>), som driver overvåking av en rekke artsgrupper med ulike metoder.

Både bruk av miljø-DNA og kamerafeller har potensial for å effektivisere kartlegging og overvåking av biologisk mangfold, samt gjøre det mulig å fange opp artsgrupper som er vanskelig å registrere med tradisjonelle metoder. For å kunne utnytte ny teknologi i kartlegging og overvåking av biologisk mangfold, er det imidlertid nødvendig å identifisere de beste og mest kostnadseffektive metodene. Målsetningen med prosjektet «Hotspots for trua arter på land: Kartlegging med digitale verktøy» var derfor å utvikle og teste ut metoder for bruk av miljø-DNA og kamerafeller for kartlegging av terrestrisk biologisk mangfold i Norge.

Prosjektet omfatter:

- En sammenstilling av eksisterende kunnskap om bruk av ny teknologi i kartlegging og overvåking av biologisk mangfold, med fokus på miljø-DNA og kamerafeller
- Jordprøvetaking med påfølgende kjemiske analyser og registrering av død ved i ulike hovednaturtyper
- Utvikling og uttesting av kostnadseffektive metoder for inventering av artsmangfold i jord og død ved hjelp av miljø-DNA
- Utvikling og uttesting av kostnadseffektive metoder for inventering av artsmangfold og overvåking av fenologi hos pattedyr ved hjelp av kamerafeller
- Sammenligning av nye metoder med tradisjonell kartlegging
- Anbefalinger for videre arbeid med overvåking av biologisk mangfold med nye metoder generelt og i dette prosjektet spesielt

I tillegg ble det utløst en opsjon (opsjon 1) på uttesting av to typer sekvenseringsmaskiner; dette rapporteres her sammen med hovedprosjektet.

Til sammen vil de ulike delene av prosjektet bidra til å danne grunnlag for en standardisert kartlegging og overvåking av biologisk mangfold ved hjelp av miljø-DNA og kamerafeller.

## 2 Litteratursammenstilling

### 2.1 Litteratursøk

For å sammenstille eksisterende litteratur på bruk av miljø-DNA og kamerafeller i kartlegging og overvåking av biologisk mangfold, gjennomførte vi et litteratursøk i Web of Science. Søket ble gjort på engelsk i perioden juli-november 2020. Følgende temaer ble inkludert:

- Miljø-DNA: mycology, ecology, microbiology, remote sensing, plant sciences, zoology, biodiversity conservation, biology, entomology, soil science, environmental sciences (ekskludert: engineering, medical, physiological, metallurgy) = 10707 publikasjoner
- Kamerafeller: ecology, zoology, biodiversity conservation, environmental sciences, remote sensing, imaging science, photographic technology, veterinary sciences, behavioural sciences, plant sciences, entomology, environmental studies = 3590 publikasjoner

Søkeordene (**Tabell 2.1**) ble først testet ut basert på hvorvidt de returnerte kjente, sentrale arbeider. For eksempel ga søk etter "Camera trapping OR camera surveys OR camera AND biodiversity OR monitoring" ikke treff på den mye siterte review-artikkelen til Burton et al. (2015), men dette ble rettet opp ved å fjerne "OR monitoring". Få søkeord gjorde den initielle litteraturlista så omfattende som mulig før videre avgrensning av søket. Litteraturlista ble deretter sortert etter relevans og evaluert med tanke på formålet med litteratursammenstillingen. For å gjøre resultatene mest mulig forvaltningsrelevante, valgte vi å fokusere på i hvilken grad de ulike metodene er relevante for ulike terrestriske artsgrupper (se **Tabell 2.1**).

Et eksempel på resultatet av et søk "Results: 158 (from Web of Science Core Collection) You searched for: TOPIC: (environmental DNA OR eDNA AND biodiversity). Refined by: Web of Science categories: (mycology OR environmental sciences OR ecology OR plant sciences OR biology OR entomology OR zoology OR soil science OR biodiversity conservation ) AND TOPIC: (amphibians). Timespan: All years. Indexes: SCI-EXPANDED, SSCI, A&HCI, ESCI."

**Tabell 2.1.** Søkeord i Web of Science (på engelsk), avgrensinger (med ytterligere innsnevring av søket i parentes) og resulterende antall publikasjoner. \* Sannsynligvis overlapper noe litteratur mellom 'soil communities' og 'microbial'

OR	AND	Avgrensning	Publikasjoner kamerafeller	Publikasjoner miljø-DNA
Camera trapping Camera surveys Camera	Biodiversity	Amphibian	25	158
		Reptile	65	50
		Invertebrate	55	287
		Plants (terrestrial plants)	230	2670 (87)
eDNA environmental DNA		Mammal	1083	302
		Soil communities*	N/A	562
		Microbial (soil)*	N/A	987 (413)
		Birds	335	187

Merk at hensikten med denne litteratursammenstillingen ikke er en fullstendig gjennomgang av all litteratur om bruk av kamerafeller og miljø-DNA, da det er en svært omfattende oppgave som ligger langt utenfor rammene for dette prosjektet. Gjennomgangen av litteraturen som dukker opp i søket, er ment å gi en kortfattet oppsummering av eksisterende kunnskap om temaet, hvor formålet er å gi en oversikt over hvordan disse metodene brukes i kartlegging og overvåking av biologisk mangfold.

## 2.2 Litteraturgjennomgang

I løpet av de siste tiårene har det blitt utviklet to metoder som i stor grad øker muligheten for rask kartlegging av flere arter samtidig: analyser av miljø-DNA og kamerafeller.

På 1980- og 1990-tallet revolusjonerte utviklingen av masseproduserte kameraer studiet av pattedyr med lav tetthet, nattdyr og dyr med vanskelig tilgjengelige leveområder (O'Connell et al. 2011). Den neste revolusjonen kom med utviklingen av digitale kameraer de siste ti årene, og kamerafeller, det vil si utplasserte (digitale) kameraer som utløses automatisk av for eksempel bevegelse, er nå godt etablert som metode i kartlegging av middels store til store pattedyr i en rekke habitater verden over (Burton et al. 2015), spesielt etter at nye fremskritt innen kamera-teknologi og automatisert bildeanalyse har gitt raskere behandling av store bildedatasett. Kamerafeller brukes ikke bare til å samle forekomstdata, men også for å studere dyreatferd, dyrehelse og overvåke enkeltindivider. Vanligvis har kamerafeller blitt brukt til påvisning og overvåking av store pattedyr, men det har også blitt gjort forsøk på å tilpasse teknologien til mindre pattedyr og til og med insekter (f.eks. Hobbs et al. 2017). Kameraer som tar bilder over tid, såkalte «time lapse»-kameraer, kan også gi informasjon om fenologi hos dyr og planter, samt gi kunnskap om ernæring hos noen arter (Bater et al. 2010).

Innen mikrobiologi har miljø-DNA-tilnæringer har i flere tiår gitt verdifull innsikt i det mikrobielle mangfoldet i naturen (Fierer & Jackson 2006). Fremskritt innen sekvensering med «high-throughput-sequencing» (HTS) og relaterte DNA-teknologier (Loman et al. 2012) har muliggjort studier av mikrobiologisk mangfold uavhengig av tradisjonelle dyrkningsmetoder, og det har også gitt innsikt i biologisk mangfold i tidligere ukjente samfunn. Bruken av miljø-DNA for større organismer er et relativt nytt felt med store implikasjoner for overvåking og forvaltning av biologisk mangfold (Deiner et al. 2017, Creer et al. 2016). Det er en rask og effektiv metode for å kartlegge biologisk mangfold av en lang rekke artsgrupper og har derfor stort potensial for å komplementere eller erstatte tradisjonelle kartleggingsmetoder.

Overvåking av biologisk mangfold av større organismer gjennom analyser av miljø-DNA hadde sin spede begynnelse i 2003, i form av terrestriske sedimentprøver i paleoøkologisk forskning (Willerslev et al. 2003). I nyere tid ble metoden først tatt i bruk i akvatiske systemer (Ficetola et al. 2008), både i ferskvann og marine økosystemer, i form av vannprøver (Thomsen et al. 2012). Denne metoden er nå mye brukt og kan detektere spesifikke arter (ofte fremmede arter og truede arter) eller fange opp hele artssamfunn (Goldberg et al. 2011, Jerde et al. 2011, Thomsen et al. 2011).

Under følger en oppsummering av hvordan analyser av miljø-DNA og bruk av kamerafeller kan brukes i kartlegging og overvåking av biologisk mangfold av ulike terrestriske artsgrupper.

### 2.2.1 Sopp og andre mikroorganismer

Kort tid etter at analyser av miljø-DNA med «high-throughput-sequencing» (HTS) ble tatt i bruk i akvatiske og semi-akvatiske økosystemer, ble tilsvarende analyser testet ut i terrestriske systemer, først med jordprøvetaking for å studere sopp (Buée et al. 2009). Mikroorganismer utgjør de mest mangfoldige artsgruppene på planeten, men å beskrive disse samfunnene og deres variasjon i tid og rom var ikke mulig før utviklingen av miljø-DNA-analyse (Fierer & Jackson 2006), med unntak av sopparter med makroskopiske fruktlegemer. Tidlig miljø-DNA-forskning, sammen med rDNA-analyser av enkeltarter og -slekter, muliggjorde studier av mikrobielle samfunn på begynnelsen av 1990-tallet (Pace 1997, Bass et al. 2015). For sopp, bakterier og andre mikroorganismer har det vært vanskelig å isolere og dyrke prøver som har de rette egenskapene for identifisering, noe som har vært en betydelig begrensning i tradisjonell kartlegging (Bridge & Spooner 2001). Men etter gjennombruddet med HTS rundt 2008 ble det mulig å undersøke

mikrobielle samfunn i en helt annen skala – og man gikk fra å analysere noen hundre til å analysere millioner av sekvenser.

Miljø-DNA-metodene har imidlertid også begrensninger. Det finnes store referansesekvensdatabaser for sopp og bakterier, men generelt mangler referansesekvensdatabasene fremdeles store deler av det mikrobielle mangfoldet. Dessuten er for eksempel bare ca. 10 % av soppdiversitet hittil beskrevet (Bik et al. 2012). Mangel på referansesekvenser gjør at det ikke alltid er mulig å få pålitelige treff på kartlagte sekvenser (Lindahl et al. 2013). Selv mange iøynefallende og velkjente makrosopper kan mangle referansesekvenser. Det er også usikkerhet omkring artsbestemmelse for noen artsgrupper ved bruk av miljø-DNA. For eksempel er mange arter i slørsopp-slekten så like i barcoding-gensekvensene (ITS-DNA) at de ikke sikkert kan skilles basert på en miljø-DNA-prøve analysert med denne markøren (Pauvert et al. 2019, Lindahl et al. 2013). Her er det behov for *a priori* kunnskap av de gruppene som skal overvåkes, og forbedring av metodikken og markørene hvis man skal overvåke spesifikke arter med svært like barcoding-sekvenser.

Litteraturen peker også på flere momenter som må tas hensyn til ved innsamling av prøver til analyse av miljø-DNA. Mikrobielle samfunn er vanligvis svært heterogene på liten skala, til og med på millimeter- og centimeter-nivå. Hvis mønstre på større skala er av interesse, er det derfor å foretrekke å ta flere delprøver og samle dem til én samleprøve som er representativ for et større område (Lindahl et al. 2013). I tillegg er sammensetningen av mikrobielle samfunn ofte variabel som respons på lokale værhendelser, årstider og fenologien til vertsplanter (Davey et al. 2012). På grunn av dette burde prøvetaking fortrinnsvis strekke seg over flere årstider og ideelt sett over flere år.

## 2.2.2 Planter

Den første miljø-DNA-studien som omhandlet plantediversitet i jord, ble utført av Yoccoz et al. (2012). De fant at for terrestriske plantearter er det bedre taksonomisk oppløsning i miljø-DNA-analyser fra toppjord enn i tradisjonelle undersøkelser over bakken. Påfølgende miljø-DNA-undersøkelser av terrestrisk biologisk mangfold har resultert i lignende resultater, med funn som er like bra som tradisjonelle undersøkelser eller bedre (Drummond et al. 2015). Studier av innsjøsedimenter finner også at miljø-DNA-metoder kan brukes til å samle inn data om fortidens plantesamfunn, på lik linje med tradisjonelle pollen- og makrofossilanalyser (Alsos et al. 2015). Imidlertid vil akutt skade/ending ved slitasje, beiting, forurensning og lignende ikke registreres ved bruk av miljø-DNA

I tillegg til å kartlegge artsmangfold, kan miljø-DNA brukes til å karakterisere interaksjoner mellom planter og andre organismer. Prøvetaking av honning og pollen kan avsløre interaksjoner mellom planter og pollinatorer mye raskere enn direkte observasjonsmetoder og oppdage et større nettverk av plante-pollinator-interaksjoner (f.eks. Pornon et al. 2017). Blant annet har miljø-DNA avdekket sesongvariasjoner i plantevalg hos blomsterfluer (Lucas et al. 2018) og negative effekter av fremmede plantearter på næringssøkende bier (de Vere et al. 2017).

Når det gjelder kamerafeller, har både dedikerte «phenocams» og standard kamerafeller for vilt blitt brukt til å studere planters fenologi (Hofmeester et al. 2019a), for å forbedre landbruksproduksjon (Sakamoto et al. 2012) og etablere internasjonale nettverk for overvåkning av vegetasjonsfenologi og tilhørende primærproduksjon på global skala (Nasahara & Nagi 2015). Kamerafeller er imidlertid ikke en metode som blir brukt for å registrere biologisk mangfold av planter (Sonnentag et al. 2012).

## 2.2.3 Virvelløse dyr

Bruk av miljø-DNA-metoder til kartlegging av virvelløse dyr har vært vellykket i både marine og ferskvannskosystemer, blant annet for å registrere mangfoldet av virvelløse dyr i store vannmasser og kartlegge fremmede arter (f.eks. Nguyen et al. 2020, Klymus et al. 2017). I elver har miljø-DNA-overvåking vist seg å være sammenlignbar med tradisjonell prøvetaking av virvelløse dyr ved hjelp av sparkeprøver (Mächler et al. 2014). De siste årene har det også blitt undersøkt

om virvelløse dyr kan identifiseres gjennom analyse av miljø-DNA fra jord og strø (f.eks. Horton et al. 2017). I en sammenligning av miljø-DNA og tradisjonelle metoder fant Yang et al. (2014) at de ulike metodene fanget opp ulik artssammensetning, men at analyser av miljø-DNA var mer sensitive for habitatforskjeller og er et nyttig verktøy for generell kartlegging av biologisk mangfold av virvelløse dyr i jord og strø. Andre, mer spesifikke studier har utforsket meitemark- og rundormmangfold (f.eks. henholdsvis Bienert et al. 2012 og Vervoort et al. 2012).

Miljø-DNA kan også brukes til å identifisere arter som er samlet inn ved hjelp av tradisjonelle metoder. For eksempel har såkalte bulkprøver vist seg å være nyttig for å identifisere arter i et stort antall insektprøver. Både Yu et al. (2012) og Ji et al. (2013) fant at DNA-metastrekkoding var i stand til å identifisere titusener av virvelløse dyr som var blitt samlet ved hjelp av tradisjonelle metoder (malaisefeller, fallfeller, lysfeller o.l.). En direkte sammenligning mellom metastrekkoding og morfologiske analyser av sporeprøver fant at DNA-analysene også kan brukes til å estimere viktige indekser som brukes i EUs vanddirektiv (Elbrecht et al. 2017). Metastrekkoding av bulkprøver kan også brukes for å evaluere vert-parasitoid-interaksjoner (Šigut et al. 2017, Miller et al. 2016) og vertebratmangfold gjennom prøvetaking av spyfluer (Calvignac-Spencer et al. 2013, se **kap. 2.2.4**).

Så langt har miljø-DNA vist seg å være et effektivt verktøy for kartlegging av terrestriske virvelløse dyr både over og under bakken (Gibson et al. 2019). Metoden kan for eksempel identifisere fremmede arter (f.eks. Valentin et al. 2018), kartlegge migrasjonsmønstre (f.eks. Suchan et al. 2018) og fremheve rollen virvelløse dyr har i økologiske nettverk (Thomsen & Sigsgaard 2019, Zielinska et al. 2017). Videre kaster den nytt lys over underjordisk fauna, hvorav de fleste artene er små og lette å overse ved bruk av tradisjonelle metoder for prøvetaking (Gibson et al. 2019). Bruk av miljø-DNA kan gi en bedre forståelse av slike jordsamfunn.

Selv om miljø-DNA kan supplere tradisjonelle metoder for overvåking av virvelløse dyr, er det verdt å nevne at metoden også har sine utfordringer. Blant annet er prøvetakingen utsatt for DNA-forurensning med mindre strenge protokoller følges (Yang et al. 2014). Siden referansedatabaser fortsatt er under utvikling, er det også en risiko for feilidentifisering som bare kan reduseres med bruk av ekspertvurderinger og kunnskap om det aktuelle samfunnet av virvelløse dyr.

Bruk av kamerafeller for kartlegging og overvåking av virvelløse dyr er ikke vanlig per i dag. Det er utviklet systemer som kan fange opp utvalgte arter av større virvelløse dyr, men dette er ikke en verifisert metode for kartlegging av biologisk mangfold (Hobbs et al. 2017). «Time lapse»-kameraer kan brukes til å detektere mindre insekter og maur (Collett & Fisher 2017), men er mest benyttet til overvåking av pollinerende insekter på planter (f.eks. Symes 2017, Johnson et al. 2019).

## 2.2.4 Pattedyr

Kamerafeller med tilhørende bildeprosessering og maskinlæring er i dag den mest avanserte metoden som blir brukt for å registrere mellomstore til store pattedyr (> 1 kg) (Rovero & Zimmermann 2016). Nylige modifikasjoner gjør det også mulig å bruke kamerafeller til å kartlegge smågnagere (Mos & Hofmeester 2020) og trelevende arter (Moore et al. 2020). Den store fordelene med kamerafeller er at hvert enkelt kamera kan ta tusener av bilder i månedsvis i strekk gjennom hele året (inkludert perioder med snødekke), og de er derfor spesielt egnet for arter med lav tetthet og/eller svært mobile arter. For arter der enkeltindivider kan gjenkjennes, kan kameradata også gi informasjon om kjønnsforhold og reproduksjon (Burton et al. 2015), og det finnes statistiske metoder for å estimere populasjonstetthet ved hjelp av «capture-recapture»-modeller (Royle et al. 2013). Registrering av arter på et bestemt sted kan gi data om habitatvalg og inngå i modellering av utbredelse, mens bildefrekvens kan brukes til å utvikle abundans-indekser (Burton et al. 2015). Bildene er også tids- og dato-stemplet med høy presisjon, noe som gjør det mulig å kartlegge aktivitetsmønstre, sesongmessige endringer i utbredelse, tiltrekning- eller unngåelsesatferd og effekter av menneskelig forstyrrelse. Denne høye presisjonen i tid og rom tillater også studier av klimaendningsrelevant fenologi som dvale, reproduksjon og pelsfargeendring (f.eks. Morrow & Nicol 2009, Funakoshi et al. 2017). Bildene kan også brukes til å påvise sykdom

(Carricondo-Sanchez et al. 2017) og fremmede arter (Massei et al. 2018), og kamerafeller brukes mye for å studere dyreatferd (Caravaggi et al. 2020).

Karakterisering av pattedyrmangfold og tilstedeværelse av arter er mulig også med analyser av miljø-DNA i jord. Metoden ble første gang testet i dyreparker og på gårder med kjent artssammensetning og reflekterte både artsrikdom og relativ biomasse av de tilstedeværende artene (Andersen et al. 2012). En fersk studie av Leempoel et al. (2020) sammenlignet bruk av miljø-DNA og kamerafeller til kartlegging av pattedyr. De fant at alle pattedyr som ofte ble registrert i kamerafeller, også ble oppdaget med miljø-DNA. I tillegg registrerte miljø-DNA-analysen ellers ikke rapporterte små pattedyr som vånd, mus, rotter og flaggermus. Imidlertid fant de at mens miljø-DNA var nesten like bra som kamerafeller for å registrere tilstedeværelse av pattedyr, var den romlige nøyaktigheten dårligere (Leempoel et al. 2020). I tillegg kan hudbiter, pels eller tørkede rester transporteres inn i et område med vind eller av andre arter. Dette gjør at dyr feilaktig kan registreres som til stede i området med analyser av miljø-DNA. Atferd kan også ha en sterk innvirkning på påvisning ved hjelp av miljø-DNA. Leempoel et al. (2020) fant for eksempel at noen arter så ut til å være overrepresentert, for eksempel katter som markerer territorium og stier med urin og avføring. Kort oppsummert kan miljø-DNA gi et godt bilde av forekomst av et bredt spekter av dyr, inkludert arter som ikke fanges opp av kamerafeller, men den romlige nøyaktigheten er dårligere, og metoden tilbyr ikke nødvendigvis data over tid slik som kamerafeller (Andersen et al. 2012).

Miljø-DNA er utbredt i kartlegging av akvatiske artssamfunn – for eksempel er hele virveldyrsamfunn i marine systemer beskrevet på denne måten (Port et al. 2016) –, og de samme teknikkene er brukt med hell i analyser av vannhull. Harper et al. (2019) brukte miljø-DNA fra dammer til å overvåke semi-akvatiske og terrestriske pattedyr på steder med forvaltnings- eller bevaringsinteresse. Metastrekkodingen oppdaget ikke grevling og rødrev som ble fanget opp av kamerafeller, men registrerte mindre pattedyr som ellers ikke hadde blitt oppdaget. Andre vellykkede teknikker i pattedyrundersøkelser har inkludert miljø-DNA fra spyfluer, som frakter med seg DNA fra kadavre som de har besøkt (Rodgers et al. 2017). DNA som er avledet fra fluer og andre virvelløse dyr, betraktes som et kostnads- og tidseffektivt verktøy for å overvåke mangfold av virveldyr, og kan komplettere bruk av kamerafeller (Gogarten et al. 2019). På samme måte kan analyser av miljø-DNA i diettprøver fra rovdyr gi data om byttedyrene deres (Shehzad et al. 2012).

## 2.2.5 Fugler

Analyser av miljø-DNA fra vannhull er også en nyttig metode for overvåking av fuglemangfold. Sjeldne fugler har blitt oppdaget med miljø-DNA på denne måten i Australia (Lewis 2019), og en spesifikk test er utviklet for å oppdage fuglearter i vannprøver fra dyreparker (Ushio et al. 2017). Tidligere har fugler også blitt fanget opp i miljø-DNA-analyser som en del av en bredere, ikke-målrettet biomangfoldkartlegging; for eksempel er fugler identifisert i undersøkelser i både marine og ferskvannskosystemer (Port et al. 2016, Thomsen et al. 2012). Fugler (så vel som andre grupper) har også blitt kartlagt med suksess ved hjelp av jordprøver (Epp et al. 2012).

Sammen med akustisk kartlegging, for eksempel i form av lydopptak, kan kamerafeller være et nyttig verktøy i kartleggingen av fuglesamfunn (Buxton et al. 2018). Kamerafeller er effektive når de er rettet mot bestemte fuglearter på bestemte steder, for eksempel bakkelevende fugler som rypere (Gregersen & Gregersen 2014) eller ved overvåking av fuglers tilstedeværelse i nærheten av vindmøller (Robinson et al. 2015). Samtidig har metoden også vært effektiv i storskala undersøkelser i ekstremt artsrike og fjerntliggende regioner; for eksempel ble 193 fuglearter oppdaget i et prosjekt i Sør-Guyana (Pickles et al. 2011). I tempererte habitater er kamerafeller effektive sammenlignet med standard linjetransekter (Wix & Reich 2019), men alene oppdager de ofte ikke fugler eller trelevende arter, og man trenger derfor en tilnærming der begge metodene blir brukt for å få en fullstendig registrering av biologisk mangfold av fugl (Buxton et al. 2018).



## 2.2.6 Amfibier og reptiler

Da den fremmede arten oksefrosk ble påvist i Frankrike, var det en av de første gangene miljø-DNA ble brukt til kartlegging av større organismer (Dejean et al. 2012). Siden har miljø-DNA blitt brukt i en rekke studier for å påvise fremmede og skadelige amfibier (f.eks. Secondi et al. 2016, Vimercati et al. 2020, Dejean et al. 2012), fremmede arters påvirkning på stedeegne amfibier (Falaschi et al. 2020) og ikke minst for å vurdere tilstanden til truede amfibiearter (f.eks. Malekian et al. 2018). En fersk studie som omhandler 30 amfibiearter i Brasil, påviste både arter som var i tilbakegang og lokalt forsvunnet, samt én art som ikke var påvist på mer enn 50 år, og andre arter som ikke var blitt påvist ved hjelp av tradisjonelle metoder (Lopes et al. 2020). I en annen undersøkelse fra Brasil ble kartlegging av biologisk mangfold ved hjelp av miljø-DNA-analyser i bekker sammenliknet med resultater fra 5 år med visuell-akustiske undersøkelser (Sasso et al. 2017). Miljø-DNA-analysen klarte ikke å påvise alle kjente arter, men derimot noen sjeldne arter som ikke var blitt påvist gjennom den tradisjonelle kartleggingen.

Mens bruk av miljø-DNA for kartlegging av amfibier er mye brukt, er det færre eksempler med reptiler, hvor de fleste studiene har omhandlet akvatiske eller semi-akvatiske arter, særlig fremmede slanger (Piaggio et al. 2014, Halstead et al. 2010) eller stedeegne skilpadder (f.eks. Kundu et al. 2018). Miljø-DNA fra reptiler har vist seg effektivt for å påvise truede arter, slik som øgler (Reinhardt et al. 2019) og skilpadder (Adams et al. 2019), samt for å kartlegge den fremmede burmesiske pytonslangen i Florida, USA (Piaggio et al. 2014). Imidlertid har det vist seg at den keratiniserte huden hos reptiler avgir få celler og lite DNA, noe som gjør det teknisk utfordrende å bruke miljø-DNA for kartlegging av reptiler (Adams et al. 2019). Dette blir ytterligere komplisert av at reptiler ofte har lav bestandstetthet. Adams et al. (2019) presenterer anbefalinger og prosedyrer for å oppnå bedre muligheter for å påvise reptiler med miljø-DNA, siden det sannsynligvis vil være behov for å utvikle egne metoder for å påvise ulike arter innenfor denne artsgruppen.

En studie basert på kamerafangst av små reptiler fant at kamerafeller i større grad fanget opp fokusartene enn tradisjonell kartlegging, men forskjellen var ikke signifikant, samtidig som kostnadene var høyere (Welbourne et al. 2015). Spesielle tekniske tilpasninger og forbedringer medfører at små dyr, inkludert reptiler og amfibier, med suksess kan bli fanget opp av kamerafeller når det brukes sammen med tunneler, åte eller andre former for kanalisering av ferdsel (Hobbs et al. 2017). Kamerafeller kan derfor brukes for å overvåke aktiviteten til gitte arter på bestemte lokaliteter, men er ikke en effektiv metode for å gjennomføre bredere kartlegging av biologisk mangfold for denne artsgruppen (Pagnucco et al. 2011, Hobbs et al. 2017).

## 2.2.7 Fordeler og begrensninger ved bruk av miljø-DNA

Miljø-DNA-undersøkelser er ofte svært effektive for å kartlegge arters forekomst (**Figur 2.1**), men er ikke en like god metode for alle artsgrupper og kan ikke gi informasjon om kjønn, alder, størrelse eller atferd. Det er i særlig grad behov for å utvikle metoden for å påvise reptiler (f.eks. Adams et al. 2019). Den er imidlertid svært effektiv for å påvise arter innen akvatiske eller semi-akvatiske økosystemer (Ficetola et al. 2008) og er bedre enn tradisjonelle metoder og kamerafeller når det gjelder å påvise små pattedyr og insekter, i tillegg til å gi mulighet for å undersøke artsgrupper som er vanskelig å observere, slik som jordlevende organismer. Miljø-DNA fungerer også godt til å kartlegge fastsittende organismer som planter, siden disse artenes levevis gjør spørsmål knyttet til metodens romlig-temporale nøyaktighet mindre viktig (Yoccoz et al. 2012). Når det gjelder makrosopp, samt lav og moser, kan miljø-DNA være egnet til å supplere, men kanskje ikke erstatte, tradisjonell «overjordisk» registrering. Sammenliknet med standard biomangfold-kartlegging, kan resultater fra miljø-DNA være mer omfattende, mange ganger raskere å produsere og mindre avhengig av taksonomisk ekspertise. Ji et al. (2013) framhever at det å prosessere de 55813 insektartene de samlet i sin studie, ville tatt en taksonomisk ekspert over 2500 timer å utføre, med de kostnadene det medfører. Deres studie ble isteden gjennomført på en brøkdel av tiden og med langt mindre kostnader. Analyser av miljø-DNA er mye brukt for å påvise bestemte arter og har vist seg å være et utmerket verktøy for tidlig påvisning og respons på fremmede arter (f.eks. Ficetola et al. 2008), registrering av truede arter (f.eks. Rees et al. 2014), og vurdering av tilstanden til økosystemer gjennom overvåking av indikatorarter (Bienert et al. 2012).

Den mest omfattende sammenlikningen mellom miljø-DNA og kamerafangst fant at miljø-DNA-basert overvåking kan være en verdifull del av et økosystembasert overvåkingsprogram (Leempoel et al. 2020). Denne sammenlikningsstudien fra California fant at alle pattedyr som jevnlig ble fanget opp av kamerafeller, også ble påvist ved hjelp av miljø-DNA, men miljø-DNA klarte i tillegg å fange opp små pattedyr som ellers ville forblitt udokumentert (Leempoel et al. 2020). Miljø-DNA er derfor et verdifullt verktøy for artsovervåking, og det finnes forskjellige typer genetiske analyser med andre metastrekkoding-teknikker (se **kap. 3**) som gir en høyere taksonomisk oppløsning (Leempoel et al. 2020). Taksonomisk oppløsning vil være fordelaktig ved evaluering og overvåking av for kryptiske fremmede arter, som er svært utfordrende å identifisere med tradisjonelle metoder og morfologi-basert taksonomi (Morias & Reichard 2018).

Selv om miljø-DNA gir mulighet for å få fram informasjon om et større mangfold av arter, reduseres sannsynligheten for påvisning når en art er sjelden, noe som øker risikoen for at truede arter og arter som er i tilbakegang, ikke blir oppdaget. Dette gjelder både flora, fauna og funga. For eksempel fant Leempoel et al. (2020) da de kryssjekket data fra kamerafeller med miljø-DNA-resultater, at for arter som er i rask tilbakegang, klarte ikke miljø-DNA å fange opp individer som dukket opp i kamerafeller, og at det sannsynligvis er en tidsmessig terskel i påvisbarheten til miljø-DNA når det gjelder arter som forekommer sjelden. De anslår at inntil 150 dager etter kamerafelledeteksjon er det et vindu hvor miljø-DNA-prøver best fanger opp artens tilstedeværelse, og at sjeldne arter som var kjent for å være tilstede i et område, ikke nødvendigvis var påvisbare i miljø-DNA-undersøkelser.

Uten sekundære visuelle undersøkelser er den romlig-temporale nøyaktigheten av miljø-DNA-analyser usikker, da miljø-DNA kan stamme fra avføringen til et rovdyr eller en planteeter, tidligere tilstedeværelse av en art eller være transportert inn fra et annet sted, for eksempel vindblåste frø eller soppsporer (Creer et al. 2016). På samme måte kan ikke nøyaktige beregninger av en arts absolutte abundans gjøres basert på miljø-DNA alene. Dette tilsier at miljø-DNA begrenser seg til å påvise en arts tilstedeværelse i et habitat, samt dens relative abundans, og det er en fordel om metoden suppleres med data fra andre kilder og ytterligere kunnskap om habitatet. Dette gjelder ikke minst høstbare pattedyr der overvåkingen gjerne må svare på spørsmål knyttet til antall, relative tettheter eller bestandsutvikling.

Påvisning av arter er også begrenset av referansedatabasen(e) som brukes ved videre bearbeiding av resultatene fra DNA-analysene. Dette er en av de største begrensningene ved bruk av miljø-DNA, da hvilke arter som påvises, avhenger av den genetiske databasen som brukes til å kryssreferere sekvenser. Jo flere arter i referansedatabasen, desto bedre, samtidig som bruk av multiple gener i miljø-DNA-studiene kan forbedre resultatene (Axtner et al. 2019). Påvisning av arter er imidlertid bare mulig dersom de er inkludert i en referansedatabase, men disse databasene forbedres kontinuerlig, og bestemmelse til et høyere taksonomisk nivå lar seg ofte gjøre selv om identifisering til artsnivå ikke er mulig (Somervuo et al. 2016).

Drummond et al. (2015) reiser i tillegg flere spørsmål knyttet til skalerbarhet. For eksempel er en organismes fysiske størrelse direkte relatert til tettheten i et gitt prøvevolum: mens meiofauna, slik som bjørnedyr, er mikroskopiske i størrelse, har de likevel en biomasse som er mange ganger større enn jordbakterier. Drummond et al. (2015) understreker at når man inkluderer mikro-invertebrater og mikroorganismer må skalaen til prøvene, for eksempel optimalt prøvevolum for ulike artsgrupper, tas i betraktning, og at sammenligninger med referansemateriale som har blitt identifisert morfologisk, er viktig for å kunne evaluere miljø-DNA-baserte mål på biologisk mangfold.

## Miljø-DNA



**Figur 2.1.** Noen eksempler på klassiske bruksområder, nye bruksområder og utfordringer ved bruk av miljø-DNA. Merk at disse eksemplene ikke gir en fullstendig oversikt over mulighetene eller begrensningene ved metoden. Etter Ficetola et al. (2019).

## 2.2.8 Fordeler og begrensninger ved bruk av kamerafeller

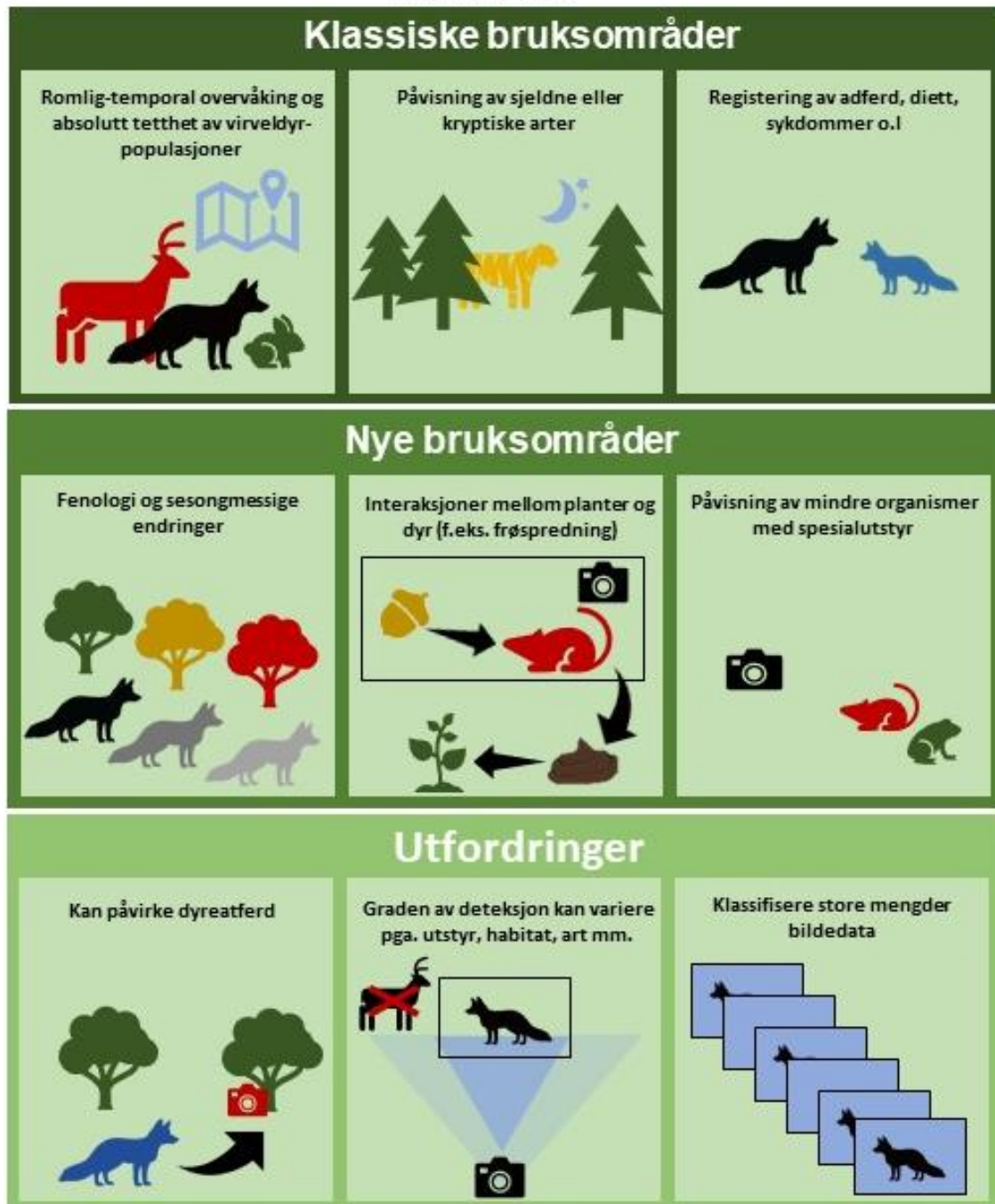
Den største fordelen med moderne kamerafeller er at de kan være utplassert i lengre perioder og kontinuerlig registrere dyr som passerer foran kamera, dag som natt og med lite behov for tilsyn. Formålet med overvåkingen vil variere mellom artsgrupper, men metoden lar oss svare på spørsmål om både utbredelse, antall, bestandsutvikling, fenologi og sykdommer (**Figur 2.2**). Selv sjeldne hendelser, som reirpredasjon eller at en toppredator passerer gjennom et område, kan bli kvantifisert og studert, samtidig som data om arters kjønn, alder, størrelse og atferd kan bli fanget i ett enkelt bilde. Bildene representerer dessuten en verifiserbar artsregistrering, noe som, i kombinasjon med minimal teknisk innsats, betyr at kamerafeller er anvendelige for folkeforskningsprosjekter («citizen science») som kan samle data om store pattedyr fra et stort geografisk område (f.eks. eMammals.si.edu, Green et al. 2020).

I Norge brukes kamerafeller i dag som en komplementær metode til overvåking av populasjonstrender for rovdyr i målrettede, artsspesifikke studier (se **kap. 5**). Kostnadene som er knyttet til omfattende bruk av kamerafeller, betyr at metoden ikke vil kunne erstatte eksisterende populasjonsovervåkingsverktøy i norsk naturforvaltning som for eksempel «sett elg» i forbindelse med elgjakt (Pfeffer et al. 2018, se også Cretois et al. 2020). Imidlertid finnes det et potensial for bruk av kamerafeller for å frambringe data om arter det har vært mindre fokus på, slik som rådyr, hare og andre mellomstore pattedyr (f.eks. Caravaggi et al. 2016). En systematisk gjennomgang av kamerafeller for miljøovervåking viste, sammenliknet med alternative, tradisjonelle undersøkelser, at de fleste studiene anbefalte bruk av kamerafeller, og at kamerafeller er spesielt egnet for bredspektrede kartlegginger av biologisk mangfold (Wearn & Glover-Knapfer 2019). Flertallet av studiene dreide seg imidlertid om rovdyr, og fokusartene hadde en tendens til utelukkende å være mellomstore til store pattedyr, som denne metoden tross alt er best egnet for.

En stor utfordring med kamerafeller er at det kreves mye tid for å klassifisere bildene, selv om den raske utviklingen i kunstig intelligens og maskinlæring vil bidra til å finne mer effektive løsninger på dette (Tabak et al. 2019). Det er også utfordringer knyttet datainfrastruktur og håndtering av store mengder bildedata. Det er i tillegg en rekke forhold knyttet til deteksjon som må vurderes nøye, slik at det blir justert for potensielle skjevheter som størrelse på dyr, plassering av kameraer, kameramodell, påvirkning fra hvit og infrarød blits og bruk av duft og åte for å tiltrekke arter (Hofmeester et al. 2019b, Tourani et al. 2020), samt kameraets potensielle påvirkning på visse arters og individers atferd (Meek et al. 2016). Metodikken er imidlertid i så utbredt bruk at det finnes mye, og økende, erfaring med disse påvirkningsfaktorene og et sett av statistiske analyseverktøy som kan korrigere for noen av dem (Hofmeester et al. 2019b, Caravaggi et al. 2020).

Bruk av kamerafeller kan gi feilbestemmelser, selv om de brukes av eksperter og til tross for utviklingen i kunstig intelligens-programvare (Deiner et al. 2017, Green et al. 2020). Når en arts adferd eller størrelse gjør den vanskelig å kartlegge (f.eks. små pattedyr), kreves spesialisert utstyr og/eller observasjonstidspunkter, noe som kan gjøre det vanskelig å estimere artsrikdom og relativ abundans for hele dyresamfunnet. På grunn av disse begrensningene er det ikke mulig å bare bruke kamerafeller for å skaffe helhetlig kunnskap om det biologiske mangfoldet i et økosystem, men de betraktes fortsatt som en avgjørende metode for å lykkes med storskala forvaltning, særlig når det gjelder mellomstore og store pattedyrarter (Burton et al. 2015).

## KAMERA



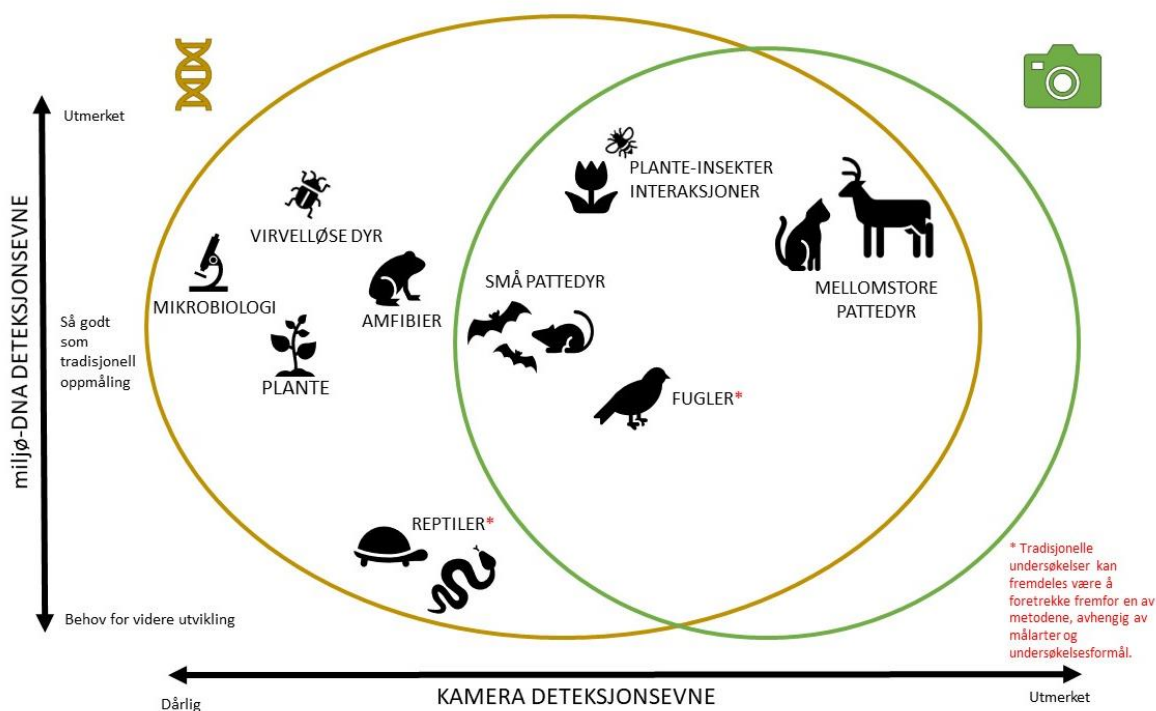
**Figur 2.2.** Noen eksempler på klassiske bruksområder, nye bruksområder og utfordringer ved bruk av kamerafeller. Merk at disse eksemplene ikke gir en fullstendig oversikt over mulighetene eller begrensningene ved metoden. Etter Ficetola et al. (2019).

## 2.2.9 Oppsummering

Verken miljø-DNA eller kamerafeller gir 100% nøyaktig deteksjon av arter og kan ikke sikkert påvise fravær av arter. Miljø-DNA har, i motsetning til kamerafeller, potensiale til å kunne påvise mindre pattedyr og amfibier. I tillegg til kan metoden supplere tradisjonelle kartleggingsmetoder i overvåking av virvelløse dyr og mikroorganismer (**Figur 2.3**). Dessuten er miljø-DNA i stand til å fange opp arter og artsgrupper som er vanskelige å observere, for eksempel jordlevende organismer. Bruk av miljø-DNA i kartlegging av planter gir minst like gode resultater som tradisjonelle undersøkelser, og det samme gjelder for fugl, i alle fall når kartleggingen retter seg mot kjente fugle-hotspots som vannhull.

Miljø-DNA og metastrekkoding er en informativ og vanligvis ikke-invasiv metode for kartlegging av arters tilstedeværelse som kan brukes alene eller supplere mangfoldet av tradisjonelle tilnærminger. Metoden kan også overvinne begrensningene ved konvensjonelle metoder ved å identifisere et større mangfold og øke den taksonomiske oppløsningen. Bruk av miljø-DNA utelukker imidlertid ikke behovet for tradisjonelle undersøkelser for å oppdage trender hos sjeldne arter og arter i nedgang. Videre kan bruk av miljø-DNA være mer kostnadseffektivt enn tradisjonell kartlegging, og metoden kan brukes i både terrestriske og akvatiske miljøer. Imidlertid er det nødvendig med utvikling av forskjellige analyseteknikker (f.eks. 12S vs. 16S primere for bestemte arter) og videre utvikling av referansedatabasene for å forbedre miljø-DNA-resultater for alle arter ytterligere (Leempoel et al. 2020).

Kamerafeller er et pålitelig kartleggingsverktøy som blir brukt hovedsakelig for registrering av mellomstore og store pattedyr (**Figur 2.3**), og den store styrken ligger i at datainnsamlingen omfatter mer enn bare forekomst (i motsetning til miljø-DNA). For eksempel kan bruk av kamerafeller danne grunnlag for tetthetsestimater og ulike indekser, fange opp reproduksjon, fenologi og atferd og åpne for folkeforskning. Bruk av kamerafeller sammen med miljø-DNA, og eventuelt i kombinasjon med tradisjonelle metoder, vil gi det mest komplette bildet av terrestrisk biologisk mangfold, forekomst av dyr og dyreatferd.



**Figur 2.3.** Påvisningsevnen til miljø-DNA og kamerafeller for viktige terrestriske artsgrupper.

### 3 Miljø-DNA i jord og død ved

Målsetning med miljø-DNA-delen av prosjektet var å 1) utvikle og teste metoder for kartlegging av arts mangfold i jord og død ved gjennom analyser av miljø-DNA og 2) sammenligne disse metodene med tradisjonelle kartleggingsmetoder. Dette inkluderte å utarbeide protokoller og veiledere for innsamling av prøver og DNA-analyser. Bruk av miljø-DNA og tradisjonelle kartleggingsmetoder sammenlignes for følgende utvalgte artsgrupper:

- Karplanter (**kap. 3.2.4**)
- Sopp i død ved (**kap. 4**)
- Vertebrater (**kap. 6**)
- Sopp i jord (presenteres ikke i denne rapporten)

For del 1) ønsket vi å teste følgende punkter:

#### a. DNA-metastrekkoding av jord

##### i. Sammenligning av prøvetaking

Med tanke på å koordinere prøvetaking med pågående overvåkingsprosjekter, ønsket vi å sammenligne jordprøvetakingsmetoden beskrevet i feltinstruksen for Arealrepresentativ naturovervåking (ANO; Tingstad et al. 2019) (4-6 tilfeldig delprøver innenfor en sirkel på 250 m<sup>2</sup>) med en mer intensiv prøvetaking (25 systematiske delprøver innenfor en sirkel på 250 m<sup>2</sup>). Til forskjell fra ANO vil vi også ta med strølaget.

##### ii. Sammenligning av DNA-ekstraksjonsmetoder

Jord inneholder både DNA i celler fra levende, jordboende arter og ekstracellulært DNA som kan komme fra diverse døde og levende organismer og som er bundet til jordpartikler. Vi ønsket å sammenligne en løsning for å kun fange opp ekstracellulært DNA (Taberlet et al. 2012) og en mer standard metode for ekstraksjon av alt genomisk DNA i en mindre jordprøve (MP FastSpin kit for soil, 50 mL), som vi vanligvis bruker på jordprøver og avføringsprøver ved NINA.

##### iii. Sammenligning av markører

DNA-metastrekkoding av noen artsgrupper fra jordprøvene er allerede godt utviklet, og standardmetoder kan bli brukt for sopp, lav, karplanter og moser uten videre testing av markørene. Metodene for metastrekkoding av blant annet vertebrater, insekter og rundormer i jord er mindre utviklet, og vi ønsket å teste flere aktuelle markører (**Tabell 3.1**) i dette prosjektet for å kunne sette sammen et utvalg av markører som komplementerer hverandre og til sammen dekker et bredt taksonomisk nivå. Mange av de genetiske markørene påviser de samme artsgruppene, og det endelige utvalget av markører for kartlegging vil være en avveining mellom taksonomisk dekning og kostnadseffektivitet. Markørene ble testet på et begrenset antall prøver for å øke kostnadseffektiviteten.

#### b. DNA-metastrekkoding av død ved

Analyser av død ved omfattet kartlegging av sopp og insekter fordi død ved er en særskilt hotspot for arter av disse gruppene.

##### i. Sammenligning av prøvetakingsmetoder

Vi ønsket å sammenligne prøvetaking fra overflaten (bark og rusk) med flis fra boreprøver.

##### ii. Sammenligning av markører

Markører til metastrekkoding av sopp i vedprøver er allerede godt utviklet, og standardmetoder kan bli brukt til det. Vi ønsket å teste noen insektmarkører (**Tabell 3.1**) for å finne en markør som passer for metastrekkoding av insekter fra død ved.

**Tabell 3.1.** Oversikt over genetiske markører som ble testet på jord- og vedprøver fra lokaliteter knyttet til insektovervåkingen fordelt på artsgruppe.

Målgruppe	Markør	Gen	Produkt (bp)	Maskin	Referanse
Insekter	BF3/BR2	COI	242	MiSeq	Elbrecht & Leese (2017)
Insekter/spretthaler	Col_mtCOI_382F/ Col_mtCOI_695R	COI	314	MiSeq	Saitoh et al. (2016)
Insekter	fwhF2/EPTDr2N	COI	142	NovaSeq	Leese et al. (2020)
Insekter	ZBJ-ArtF1c/R2c	COI	157	NovaSeq	Zeale et al. (2011)
Midd og flått	Acar01	16S	41-44	NovaSeq	Taberlet et al. (2018)
Edderkopper	Aran01	16S	56-160	NovaSeq	Taberlet et al. (2018)
Karplanter, moser	ITS_S2F/ITS4	ITS	180-400	MiSeq	Chen et al. (2010), White et al. (1990)
Sopp, lav	fITS7/ITS4	ITS	50-400	MiSeq	Ihrmark et al. (2012)
Rundormer	18Sr2b	18S	200	NovaSeq	Porazinska et al. (2009)
Leddormer	ewDE	16S	70	NovaSeq	Bienert et al. (2012), Jackson et al. (2017)

### 3.1 Materialer og metoder

Studieområdet for miljø-DNA-delen av prosjektet ble lagt til Sørøst-Norge og hovednaturtypene skog og semi-naturlig mark. For å maksimere innsamling av data med tradisjonelle metoder, ble lokalitetene våre samlokalisert med Nasjonal overvåking av terrestriske insekter (Åström et al. 2019a, 2020a,b), hvor det også ble gjort vegetasjonsanalyser etter protokollen til Arealrepresentativ naturovervåking (ANO) (Tingstad et al. 2019). Dette resulterte i totalt ti lokaliteter for innsamling av miljø-DNA, hvorav fem i skog og fem i semi-naturlig mark (**Figur 3.1**). Samlokaliseringen sørget for at vi fikk tilgang til data på biologisk mangfold av insekter og karplanter samlet med tradisjonelle metoder. Disse dataene og metodikk for innsamling er nærmere beskrevet i Åström et al. (2020b). Der presenteres også bilder fra lokalitetene.

#### 3.1.1 Jord- og vedprøver til analyser av miljø-DNA

##### *Innsamling av prøver i felt*

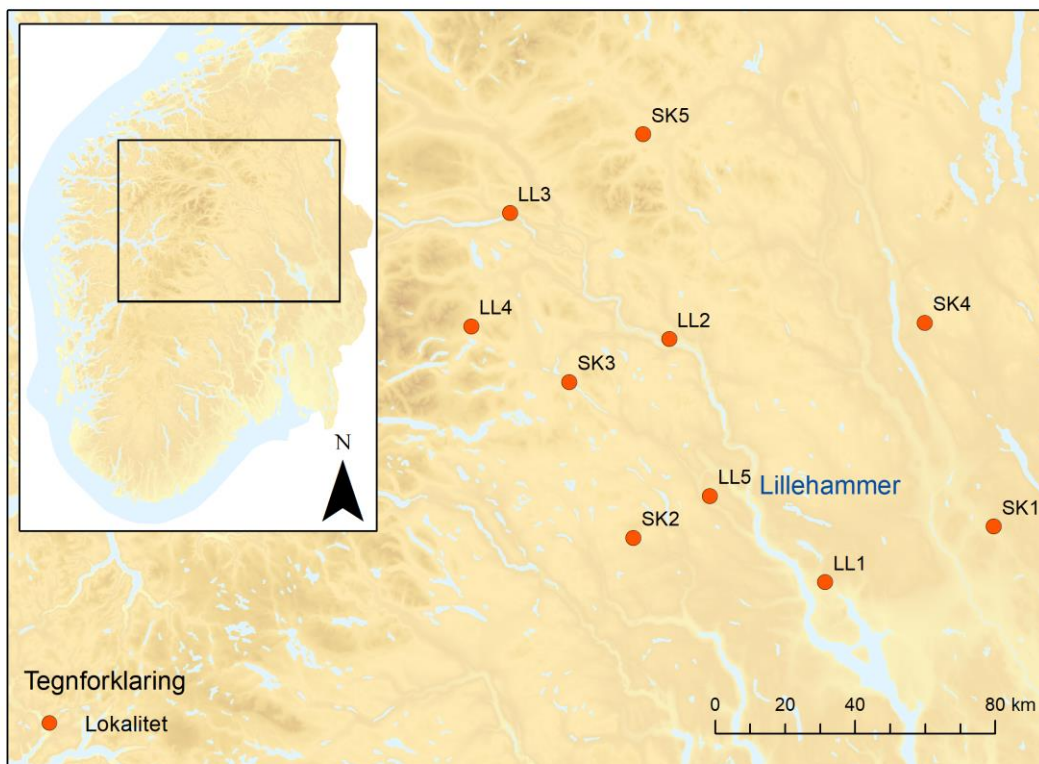
Jordprøver til analyser av miljø-DNA ble samlet inn i juni 2020 fra alle ti lokaliteter i Sørøst-Norge, det vil si både i semi-naturlig mark og skog. På hver lokalitet ble det etablert en flate på 250 m<sup>2</sup> hvor jordprøvene ble samlet inn. For å teste ut ulike prøvetakingsdesign, ble to jordprøver bestående av flere delprøver samlet inn fra hver lokalitet:

- 1) Tilfeldig prøvetaking i henhold til ANOs feltinstruks: én prøve bestående av seks delprøver fra tilfeldig valgte punkter (**Figur 3.2A**)
- 2) Systematisk, intensiv prøvetaking: én prøve bestående av 25 delprøver tatt systematisk langs linjer i de ulike himmelretningene (**Figur 3.2B**)

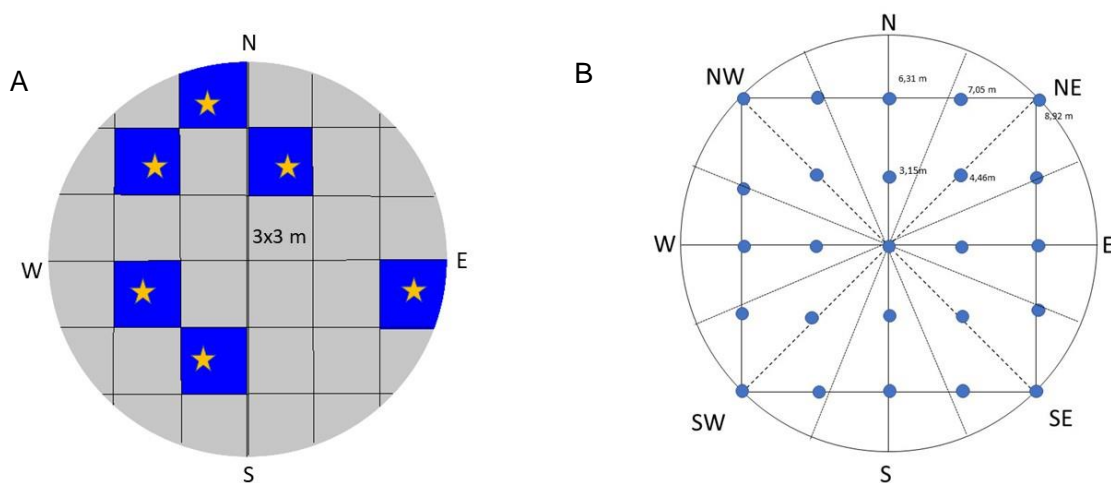
For begge prøvetakingsdesignene ble det gjort ett stikk med jordbor på hvert punkt, så dypt som mulig. Jordboret ble sterilisert mellom hver lokalitet. Jordprøvene ble oppbevart kjølig i felt og frosset ned til -20°C så snart som mulig og innen 24 timer. Se **Vedlegg 1** for detaljer om metodikk for jordprøvetaking og **Vedlegg 2** for dybde for jordprøvetaking på de ulike lokalitetene.

I tillegg til jordprøvene til analyser av miljø-DNA, ble det tatt tilsvarende jordprøver for analyse av miljøgifter med bruk av samme prøvetakingsdesign, men mye grunnere (kun 5 cm dybde). Videre behandling av disse prøvene er ikke omfattet av denne rapporten.





**Figur 3.1.** Lokalitetene som inngår i miljø-DNA-delen av prosjektet i 2020, fordelt på hovednaturtypene skog (SK) og semi-naturlig mark (LL).



**Figur 3.2.** Prøvetakingsdesign for tilfeldig (A) og systematisk prøvetaking (B) av jord. Midtpunktet i den store sirkelen tilsvarer lokalitetens midtpunkt. I delfigur A er sektorer for prøvetaking markert med blått, og stjerner viser hvor delprøvene tas. Utvalget av sektorer er tilfeldig og vil variere fra lokalitet til lokalitet. I delfigur B markerer de blå punktene hvor delprøvene skal tas.

Vedprøver til analyser av miljø-DNA ble samlet inn i 2020 fra de fem lokalitetene i skog. På hver lokalitet ble først mengden død ved registrert. Dette omfattet alle døde stokker helt innenfor eller med rotenden innenfor 250 m<sup>2</sup>-prøveflaten. Se **Vedlegg 1** for detaljer om dødvedregistrering. Vedprøver ble tatt ved hjelp av batteridrill fra opptil tre døde stokker innen en 25,2 m radius fra sentrum av flaten. Disse stokkene skulle omfatte følgende kategorier: 1) liggende, nedbrytningstadium 1, 2) liggende, nedbrytningstadium 2, 3) stående, nedbrytningstadium 1 (**Tabell 3.2**). Fra hver stokk ble det tatt en vedprøve bestående av flere delprøver. For liggende død ved ble det tatt fem delprøver fra hver stokk, basert på resultatene fra Ovaskainen et al. (2010) som viste at en slik design fanger opp en stor del av sopp-samfunnet (se også **kap. 4.1**). For stående død ved, hvor det er ikke mulig å ta prøver fra toppenden, ble det kun tatt tre delprøver. Drillen ble sterilisert mellom hver stokk, og borehullene ble tettet med bivoks. Fra hver stokk hvor det ble tatt boreprøver, ble det i tillegg tatt en strøprøve bestående av flere delprøver. For hvert borepunkt ble det samlet inn en bark- og/eller strøprøve, og alle delprøvene fra hver stokk ble blandet sammen til én felles prøve. Både strø- og vedprøver ble frosset ned så snart som mulig og innen 24 timer. Se **Vedlegg 1** for detaljer om vedprøvetaking.

**Tabell 3.2.** Nedbrytningsstadier for død ved (Skog og landskap 2008).

Nedbrytningsstadium	Definisjon
L1 - Lite nedbrutt	Fra nylig dødt virke til stokker der veden begynner å mykne i ytre lag pga. råte
L2 - Mye nedbrutt	Fra råtten i ytre lag til helt nedbrutt. Fra det stadium der veden i ytre lag lett kan plukkes fra hverandre med kniv til fragmenter og konturer under vegetasjonen.

#### Ekstraksjon av DNA

Vi testet to ulike metoder for ekstraksjon av DNA fra jord, og disse to metodene ble testet for begge prøvetakingsdesign:

- 1) FastDNA Spin Kit for Soil 50 mL (MP Biochemicals), heretter kalt «kit»
- 2) Ekstra-cellulær fosfatbuffer-ekstraksjon (Taberlet et al. 2012)

Den førstnevnte metoden inkluderte en mindre mengde jord (gj.snitt. 13,6 gram (7,3-27,1 gram)) som blir mekanisk knust ved hjelp av knusekuler og dermed åpner cellene slik at intracellulært DNA blir ekstrahert i prosessen, mens den sistnevnte metoden inkluderte en større mengde jord (gj.snitt. 82,7 gram (21,9-97,7 gram)) som blir blandet sammen med fosfatbuffer uten mekanisk knusing, og som dermed bare ekstraherer ekstracellulært DNA. Etter blanding med fosfatbuffer i 20 minutter ble 700 µL av bufferen inkludert i en FastDNA Spin Kit for Soil 2 mL ekstraksjon.

Ved- og strøprøvene ble også ekstrahert med FastDNA Spin Kit for Soil 2 mL etter at de tørre vedprøvene (gj.snitt. 2,6 gram (1,4-4,0 gram)) ble tilsatt væske og homogenisert.

Se **Vedlegg 3** for mer detaljerte protokoller for DNA-ekstraksjon.

#### Oppsett av bibliotek

De genetiske markørene ble amplifisert i en standard to-trinns Illumina-protokoll. En første PCR inkluderte primere med «overhang adaptor»-sekvenser, etterfulgt av en andre PCR for å tilsette Illumina-indekser. PCR-produktene ble kvalitetssjekket på en Tape Station (Agilent 4200) og rensert med magnetiske kuler (MAG-BIND RXN PURE PLUS) etter hver PCR. Til slutt ble prøvene normalisert og slått sammen til et bibliotek for sekvensering. Markørene ble enten sekvensert på en Illumina MiSeq-maskin ved NTNU Genomics Core Facility (GFC) i Trondheim eller en Illumina NovaSeq-maskin ved Norwegian Sequencing Centre i Oslo (**Tabell 3.1**).

Uttesing av ulike sekvenseringsmaskiner er del av opsjon 1 i prosjektet. Vi ønsket i utgangspunktet å teste Illumina NextSeq-maskinen, som bare kan lese fragmenter på 150 basepar sammenlignet med MiSeq som kan lese 300 basepar, og da sammenligne artsoppløsning for ulike markører som gir lange og korte DNA-fragmenter. Et lengre DNA-fragment vil gjøre det lettere å skille nært beslektede arter. I løpet av prosjektperioden fikk vi mulighet til å teste den aller nyeste

Illumina-maskinen, Illumina NovaSeq, som både kan lese lange DNA-fragmenter (250 basepar) og gir veldig mye data. Mens en MiSeq-maskin produserer ca. 10 millioner DNA-sekvenser, får vi hele 800 millioner DNA-sekvenser fra en NovaSeq-maskin. Dette gir oss veldig mange flere DNA-sekvenser per prøve, og dermed større sannsynlighet for å finne flere arter.

#### *Bioinformatiske analyser*

Sekvenseringsresultatene ble analysert i programmet dada2 (Callahan et al. 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 sekvenseringsmaskiner) og genererer biologisk meningsfulle DNA-sekvenser (genotyper) med færre amplifiserings- og sekvenseringsfeil (Callahan et al. 2017). Flere studier har vist at denne tilnærmingen reduserer antall grupper/arter («operational taxonomic units» (OTUs) eller ASVs) og ikke minst reduserer risikoen for falske genotyper og dermed feilaktig påvisning av arter som ikke finnes i prøven (Caruso et al. 2019). For å tilegne hver ASV til et taksonomisk nivå benyttet vi ulike tilnærminger basert på tilgang til ulike referansedatabaser for de ulike taksonomiske gruppene. For insekter benyttet vi RDP-Classifiser (Wang et al. 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. For planter benyttet vi PLANITS-databasen (Banchi et al. 2020) med SINTAX-algoritme (Edgar 2016), en k-mer likhetsbasert metode for taksonomiske bestemmelser. Taksonomi hos sopp ble bestemt ved bruk av en maskinlæringsalgoritme (IDTAXA, Murali et al. 2018) med UNITE-databasen. Alle andre artsgrupper ble identifisert ved bruk av BLAST-søk mot GenBank.

#### *Statistiske analyser*

For å undersøke hvorvidt ulike prøvetyper og ekstraksjonsmetoder fanger opp variasjon i biologisk mangfold på samfunnsnivå, har vi brukt multivariate ordinasjonsmetoder for å identifisere mønstre i  $\beta$ -diversitet. Vi har benyttet både den ubetingede ordinasjonsmetoden «non-metric multidimensional scaling» (NMDS) og betinget ordinasjon i form av «canonical correspondence analysis (CCA), hvorav den siste gjør det mulig å fjerne variasjon som skyldes for eksempel naturtype for å bedre få fram mønstre som skyldes metodikk.

I tillegg brukte vi «mark recapture»-modeller til å modellere sannsynlighet for deteksjon for de ulike artsgruppene og metodene. Når det gjelder forekomst av sopp og leddormer i jordprøver analyserte vi de fem lokalitetene i hvert naturtype separat og opprettet «encounter histories» med fire «occasions» for de forskjellige typene prøver (to jordprøvetakingsmetoder: tilfeldig prøvetaking i henhold til ANOs feltinstruks og systematisk, intensiv prøvetaking; to ekstraksjonsmetoder: «kit» og fosfatbuffer). Analyser av planter i jordprøver var tilsvarende, men med en ekstra «occasion» i form av tradisjonelle, morfologisk baserte vegetasjonsanalyser i 1x1 m ruter (se Tingstad et al. 2019) utført i forbindelse med insektovervåkingen (Åström et al. 2020b). Dette ga oss mulighet til å sammenligne bruk av miljø-DNA og tradisjonelle metoder. Når det gjelder sopp i død ved analyserte vi de fem lokalitetene samlet og opprettet «encounter histories» med seks «occasions» for de forskjellige typene prøver (tre typer død ved: 1: liggende, lite nedbrutt, 2: liggende, mye nedbrutt, 3: stående, lite nedbrutt; to prøvetakingsmetoder: boreprøver og strøprøver). Totalt antall mulige prøver var 22 fordi ikke alle typer død ved var representert på alle lokaliteter.

For både sopp, planter og leddormer i jord og sopp i død ved brukte vi «closed capture models» og maksimale sannsynlighetsprosedyrer i Program Mark (White 2008) for å estimere artsrikdom. For sopp ble dette gjort separat for tre forskjellige taksonomiske grupper: Ascomycota (sekksporesopp), Basidiomycota (stilksporesopp) og Zygomycota (koblingssopp). For sopp i død ved ble de forskjellige artene også delt inn i funksjonelle grupper basert på fire trofiske nivåer med verktøyene fra FUNguild (Nguyen et al. 2016). Trofiske nivåer inkluderte patotrofe, saprotrofe, symbiotrofe og en kombinasjon av de to siste nivåene (sapro-symbiotrofe). Jordprøvene med miljø-DNA ga forskjellig antall DNA-sekvenser, og vi beregnet proporsjonal abundans (PA) av hvert takson som andel av de totale sekvensene i hver prøve. Dette ga en indeks over hvor

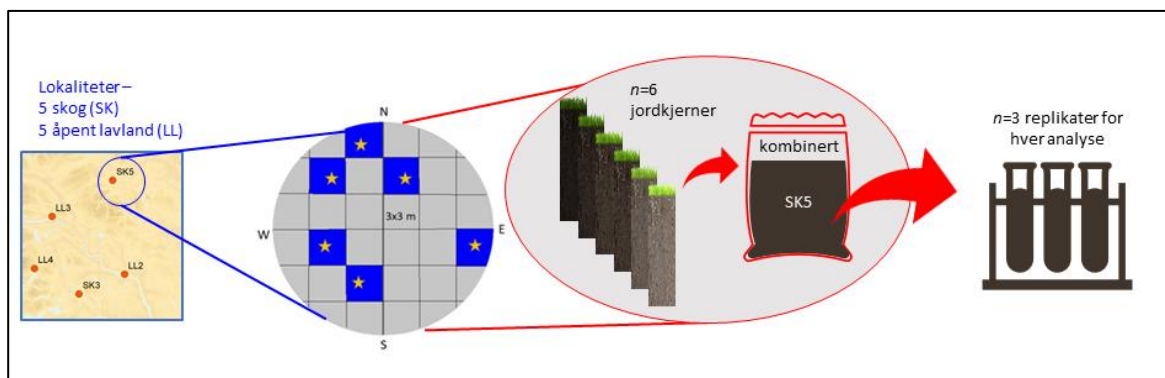
vanlig et takson var i prøvene. Vi modellerte sannsynligheten for deteksjon mot proporsjonal abundans over alle prøvene for å undersøke deteksjonsgrenser for de forskjellige gruppene av organismer. Deteksjonssannsynlighet ble modellert som en funksjon av prøvetype (sopp og leddormer i jord: 4 nivåer; planter i jord: 5 nivåer; sopp i død ved: 6 nivåer) og for sopp også taksonomisk gruppe (3 nivåer).

Vi inkluderte flere alternative modeller for å ta høyde for heterogenitet i deteksjonssannsynlighet. For både sopp, planter og leddormer i jord og sopp i død ved omfattet dette: ingen heterogenitet der alle taksa var like («ingen») og «finite mixture»-modeller med to diskrete grupper med henholdsvis høy og lav deteksjonssannsynlighet (H2). For sopp og leddormer inkluderte vi i tillegg modeller med gjennomsnittlig proporsjonal abundans (PA) på tvers av alle prøvene, og for sopp i død ved også modeller med «continuous random effects» (RE). For modellene uten heterogenitet beregnet vi den kumulative sannsynligheten for deteksjon ( $p^*$ ) over de ulike prøvetypene som  $p^* = 1 - (1 - \tilde{p})^n$  hvor  $\tilde{p}$  er median sannsynlighet for deteksjon på tvers av  $n$  forskjellige prøvetyper. For «finite mixture»-modellene beregnet vi kumulativ deteksjonssannsynlighet som  $p^* = 1 - [\hat{\pi}(1 - \tilde{p}_{lo})^n + (1 - \hat{\pi})(1 - \tilde{p}_{hi})^n]$  hvor  $\hat{\pi}$  er den estimerte andelen av samfunnet i gruppen med lav deteksjon og  $\tilde{p}_{lo}$  og  $\tilde{p}_{hi}$  er median sannsynlighet for deteksjon for henholdsvis lav- og høydeteksjonsgruppen. For «random effects»-modellen er parameteren  $\sigma_p$  et samlet estimat for heterogenitet blant sopptaksa der  $\sigma_p \approx 0$  hvis ingen heterogenitet er observert.

Modellparametere inkluderte antall estimerte parametere ( $K$ ) og modellavvik (Dev), som ble brukt til å beregne Akaike Information Criterion (AICc). Kandidatmodellene ble rangert etter forskjeller i AICc-verdier ( $\Delta AICc$ ), og den relative støtten til alternative modeller ble estimert av Akaike-vektene ( $w_i$ ). Vi presenterer imidlertid resultater fra alle kandidatmodeller for å kunne sammenligne ulike artsgrupper.

### 3.1.2 Jordprøver til kjemiske analyser

Jordprøver til kjemiske analyser ble samlet inn i oktober 2020 fra de samme lokalitetene som jordprøver til analyser av miljø-DNA. Fra hver lokalitet ble det samlet inn én jordprøve bestående av flere delprøver i henhold til ANOs feltinstruks (Tingstad et al. 2019, se **kap. 3.1.1**). Se **Vedlegg 1** for detaljer om jordprøvetaking. Jordprøvene ble oppbevart ved +4°C under transport. Ved ankomst til laboratoriet ble de lagret i kjøleskap ved samme temperatur i omtrent en uke frem til oppstart av analyser i begynnelsen av november. Fra hver samleprøve ble det tatt ut tre representative replikater ( $n = 3$ ) for analyse (**Figur 3.3**). Disse ble deretter analysert for jordfuktighet, organisk karbon («soil organic carbon», SOC), nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ), nitritt ( $\text{NO}_2^-$ ), ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), kalium ( $\text{K}^+$ ), pH og  $\text{H}_3\text{O}^+$ , totalt karboninnhold (C) og totalt nitrogeninnhold (N) i henhold til protokollen i **Vedlegg 4**.



**Figur 3.3.** Eksempel på prøvetakingsprosess og videre bearbeiding av prøvene.

## 3.2 Resultater

### 3.2.1 Abiotiske faktorer

Resultatene av jordanalysene viser at skogslokalitetene er våtere og surere og har et høyere innhold av organisk karbon i jorda (SOC) enn lokalitetene i semi-naturlig mark (**Tabell 3.3**). Skogslokalitetene hadde også lavere nivå av nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ), men et mye høyere kaliumnivå ( $\text{K}^+$ ), mens lokalitetene i semi-naturlig mark hadde en mer nøytral pH enn i skogen.

**Tabell 3.3.** Jordanalysedata oppsummert etter hovednaturtype (se **Vedlegg 5** for prøveresultater per lokalitet). Resultatene vises som gjennomsnittet av fem prøver +/- standardfeilen til gjennomsnittet (SEM). Nitritt ( $\text{NO}_2^-$ ) og fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) var under minimum deteksjonsnivå. Flere av lokalitetene ( $n = 1$ , semi-naturlig mark;  $n = 2$ , skog) hadde verdier  $> 4 \text{ mg/L NH}_4^+$  (over deteksjonsnivået for fotometri) og rapporteres derfor som  $4 \text{ mg/L}$  for habitatsammenligningsformål, men kan være høyere.

Hovednaturtype	Jordfuktighet (%)	SOC (%)	$\text{NO}_3^-$ (mg/L)	$\text{NO}_2^-$ (mg/L)	$\text{NH}_4^+$ (mg/L)
Semi-naturlig mark	31,29 ( $\pm 3,09$ )	37,5 ( $\pm 3,48$ )	2,93 ( $\pm 0,77$ )	<1	1,54 ( $\pm 0,38$ )
Skog	52,83 ( $\pm 6,45$ )	60,3 ( $\pm 7,86$ )	1,83 ( $\pm 0,07$ )	<1	2,08 ( $\pm 0,58$ )
	$\text{PO}_4^{3-}$ (mg/L)	$\text{K}^+$ (mg/L)	$\text{H}_3\text{O}^+$	pH	C:N
Semi-naturlig mark	<0,2	2,78 ( $\pm 0,26$ )	1,83E-06	5,87 ( $\pm 0,11$ )	10:1
Skog	<0,2	6,33 ( $\pm 1,17$ )	2,00E-04	4,54 ( $\pm 0,30$ )	11:1

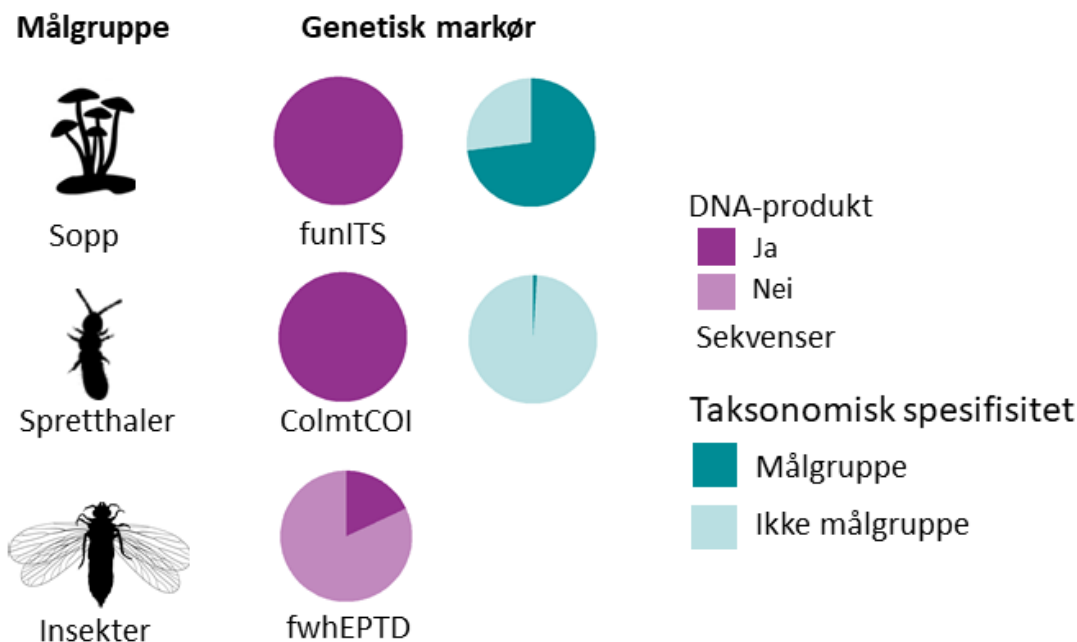
Død ved ble registrert innenfor 250 m<sup>2</sup>-flaten på fire av fem skogslokaliteter. Bjørk var dominerende treslag, og generelt var dimensjonen på stokkene liten, selv om både antall stokker og gjennomsnittlig størrelse på stokkene varierte (**Tabell 3.4**). Se **Vedlegg 6** for flere detaljer om variasjonen i dødveddimensjoner mellom lokalitetene.

**Tabell 3.4.** Dødvedregistreringer på de ulike skogslokalitetene i 2020. Tabellen angir type død ved (stående/liggende), nedbrytningsstadium (se **Tabell 3.2**), antall stokker, treslag, gjennomsnittlig diameter (cm) og gjennomsnittlig lengde (m). Lokaliteten SK1 er ikke inkludert på grunn av manglende død ved.

Lokalitet	Type	Nedbrytningsstadium	Antall stokker	Treslag	Gj.sn. diameter (cm)	Gj.sn. lengde (m)
SK2	Stående	1	6	Bjørk	12,1	1,99
	Liggende	1	5	Bjørk	15,8	5,44
SK3	Liggende	2	3	Furu	13,8	2,3
SK4	Stående	1	1	Furu	24,0	13,0
	Liggende	1	1	Gran	12,0	6,7
SK5	Stående	1	1	Bjørk	16,0	5,5
	Liggende	2	2	Bjørk	17,5	2,1

### 3.2.2 Genetiske markører

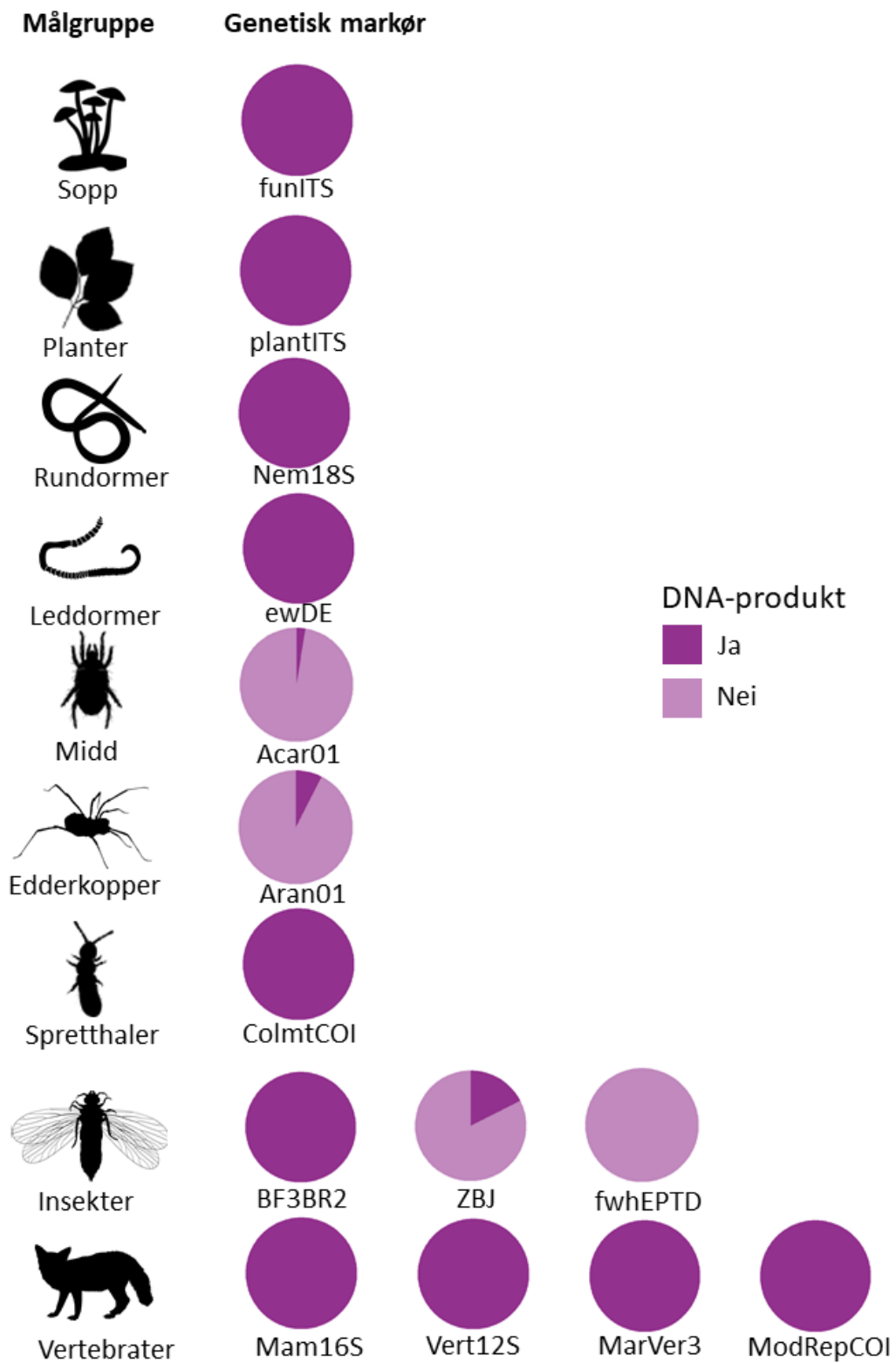
I dette studiet har vi testet en rekke ulike markører for ulike taksonomiske grupper i prøvene samlet inn fra død ved og jord. **Figur 3.4** viser en oversikt over amplifikasjonssuksess og taksonomisk spesifisitet for de tre markørene testet på prøver fra død ved. Resultatene viser at de to markørene som amplifiserer spretthaler og sopp gir god amplifikasjonssuksess, det vil si at markørene gir gode DNA-produkter som vi kan analysere. Markøren som amplifiserer insekter gir derimot god amplifikasjonssuksess i under en fjerdedel av prøvene. Når det gjelder spesifisitet er det svært lite DNA fra spretthaler i resultatene fra spretthalemarkøren, og svært lite DNA fra insekter i resultatene fra insektmarkøren, mens resultatene fra soppmarkøren inneholdt en stor andel sopp-DNA.



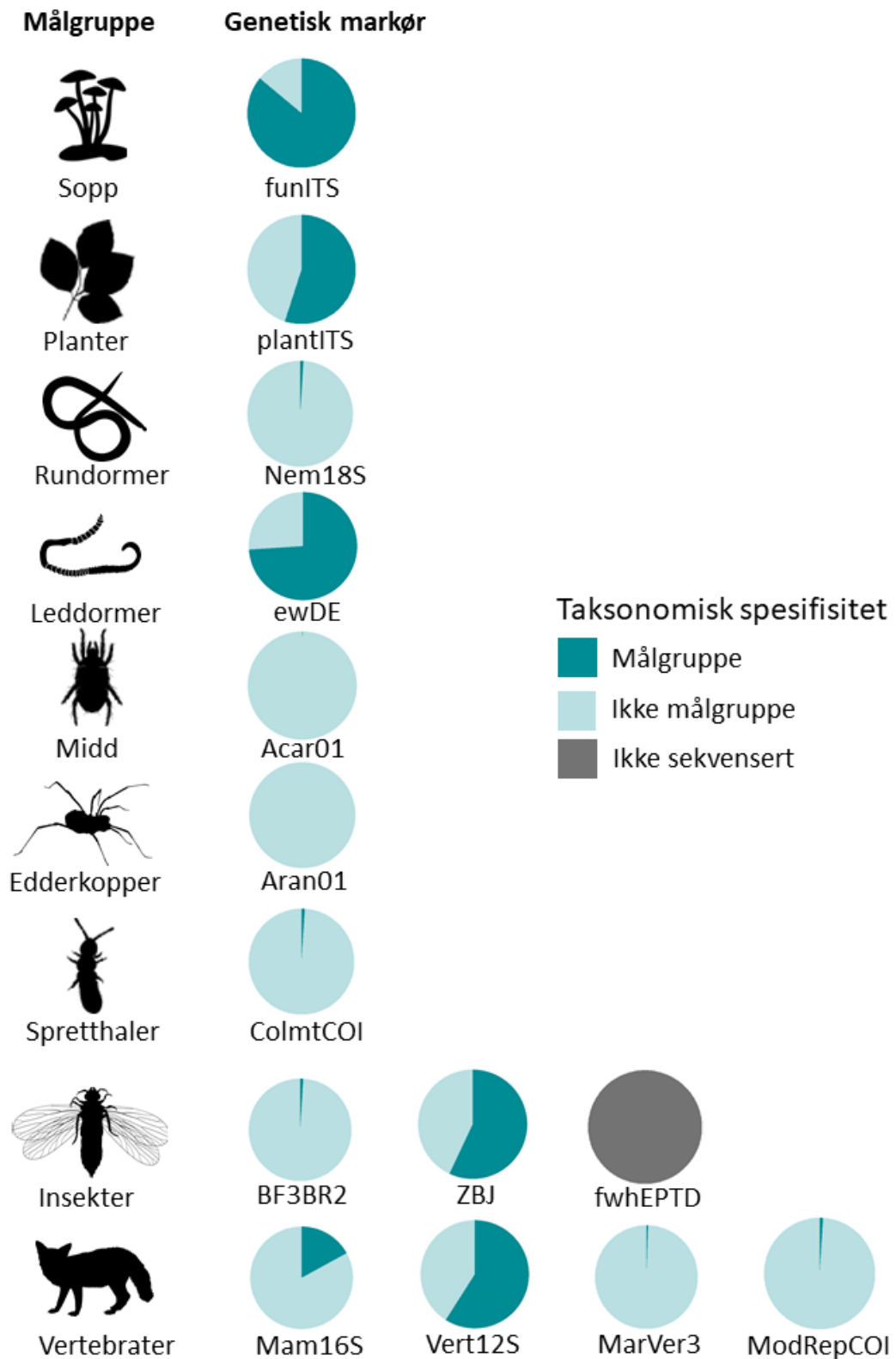
**Figur 3.4.** Oversikt over amplifikasjonssuksess (DNA-produkt) og taksonomisk spesifisitet for markører testet på prøver fra død ved. Sopp og spretthaler viser en god amplifikasjonssuksess noe som betyr at den genetiske markøren gir et godt DNA-produkt for de fleste prøvene, mens insekter viser en lav amplifikasjonssuksess, noe som betyr at den genetiske markøren ikke gir et godt DNA-produkt for mange prøver. Taksonomisk spesifisitet viser hvor stor andel av DNA-sekvensene som tilhører målgruppen, der markøren for sopp viser en god taksonomisk spesifisitet, mens markøren for spretthaler viser at nesten ingen av DNA-sekvensene fra analysen representerte målgruppen.

For markørene vi testet på jordprøver fikk vi god amplifikasjonssuksess for de fleste markørene med unntak fra markørene for midd og edderkopper, samt to av markørene for insekter (**Figur 3.5**). Når vi ser på taksonomisk spesifisitet finner vi at relativt mange markører påviser lite DNA fra den taksonomiske gruppen markøren er ment å amplifisere (**Figur 3.6**). Dette er et generelt problem med miljøprøver der en svært liten andel av det totale DNAet kommer fra målgruppen man ønsker å studere, og der sopp og bakterier ofte bidrar med en stor andel.

For markørene vi testet på prøver fra død ved, var det kun markøren for sopp som var egnet for videre analyser, mens for markørene testet på jordprøver var markørene for sopp, planter og leddormer egnet for videre analyser. Vi presenterer bare detaljerte resultater for markørene som både ga god amplifikasjonssuksess og som hadde høy taksonomisk spesifisitet. Markørene for rundormer, spretthaler, vertebrater, samt én av markørene for insekter, ga god amplifikasjonssuksess, men hadde lav taksonomisk spesifisitet og ga ikke nok data for videre analyser.



**Figur 3.5.** Amplifikasjonssuksess (DNA-produkt) for markører testet på jordprøver. En god amplifikasjonssuksess betyr at den genetiske markøren gir et godt DNA-produkt for de fleste prøvene.



**Figur 1.6.** Taksonomisk spesifisitet for markører testet på jordprøver. Taksonomisk spesifisitet viser hvor stor andel av DNA-sekvensene som tilhører målgruppen.



### 3.2.3 Analyser av sopp

Sopp ble analysert både i prøvene fra død ved og i jord. Fra resultatene ser vi at antall arter påvist er desidert størst i jord (**Figur 3.7**). Vi finner også en god del arter til felles mellom de tre prøvetypene, men generelt viser dataene som forventet at det finnes en god del forskjellige sopparter i jord og død ved. Andel av taksa bestemt til art sammenlignet med slekt eller høyere taksonomisk nivå for ulike rekker av sopp var relative lik mellom jord og død ved (**Tabell 3.5**).



**Figur 3.7.** Et venn-diagram som viser antall arter av sopp påvist i jord, flis og strø og overlapp av arter påvist med hver prøvetype.

**Tabell 3.5.** Taksonomisk identifisering av forskjellige arter av sopp i jord og død ved på henholdsvis ti og fem lokaliteter i Norge, 2020.

Taksonomisk gruppe	Til slekt eller høyere taksonomisk nivå	Til art	Sum antall
<b>Sopp i jord</b>			
Ascomycota	716 (76,5%)	220 (23,5%)	936
Basidiomycota	430 (55,3%)	348 (44,7%)	778
Zygomycota	226 (77,1%)	67 (22,9%)	293
Totalt	1 372 (68,4%)	635 (31,6%)	2007
<b>Sopp i død ved</b>			
Ascomycota	459 (76,0%)	145 (24,0%)	604
Basidiomycota	111 (52,9%)	99 (47,1%)	210
Zygomycota	32 (59,3%)	22 (40,7%)	54
Totalt	602 (69,4%)	266 (30,6%)	868

### 3.2.3.1 Sopp i død ved

Totalt ble det påvist 868 taksa av sopp i død ved. De viktigste taksonomiske gruppene var Ascomycota (604 taksa, 69,6%) og Basidiomycota (210 taksa, 24,2%), og resten tilhørte Zygomycota (54 taksa, 6,2%). Mellom 24 og 47% av alle taksa ble identifisert til art (30,6% totalt), mens resten ble identifisert til slekt eller høyere taksonomisk nivå (**Tabell 3.5**). I påfølgende tekst vil alle taksa for enkelhets skyld bli omtalt som arter. Ufullstendig deteksjon var vanlig: 75% av alle arter ble oppdaget i bare 1-2 prøver, og < 3% ble funnet i alle 6 typer prøver (**Vedlegg 7**).

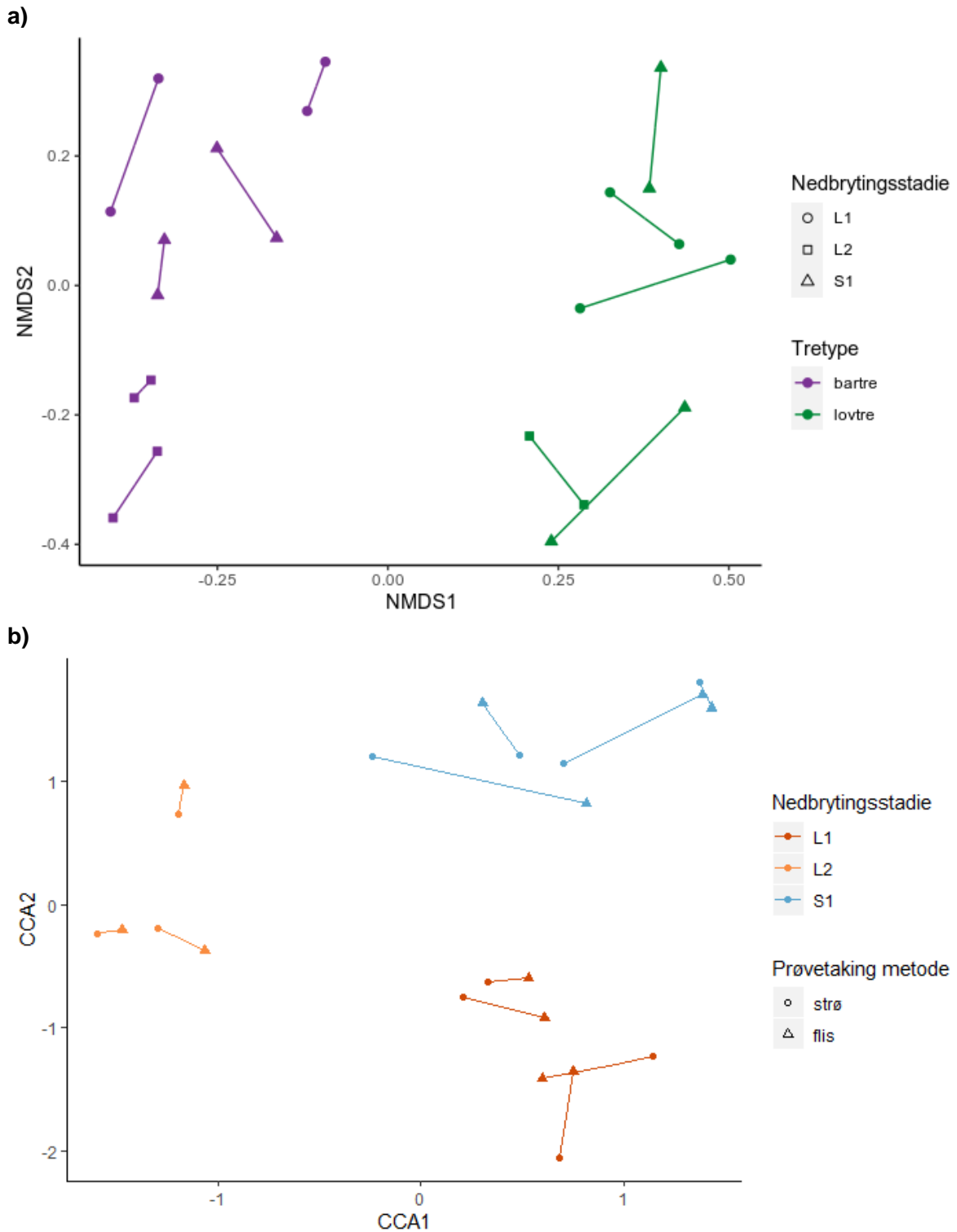
Ordinasjonsanalyser viser at soppasamfunnet skiller seg klart mellom død ved fra løvtrær og bartrær og mellom nedbrytningsstadier (**Figur 3.8**). I tillegg viser disse analysene at analyser av flis- og strøprøver fra samme stokk påviser ganske like artssamfunn. Vi finner at variasjonen koblet til nedbrytningsstadier (11,7% av variasjonen) er viktigere enn prøvetakingsmetode, noe som tyder på at vi fanger opp samfunnsstrukturen med begge prøvetakingsmetoder.

#### *Modellering av deteksjonssannsynlighet*

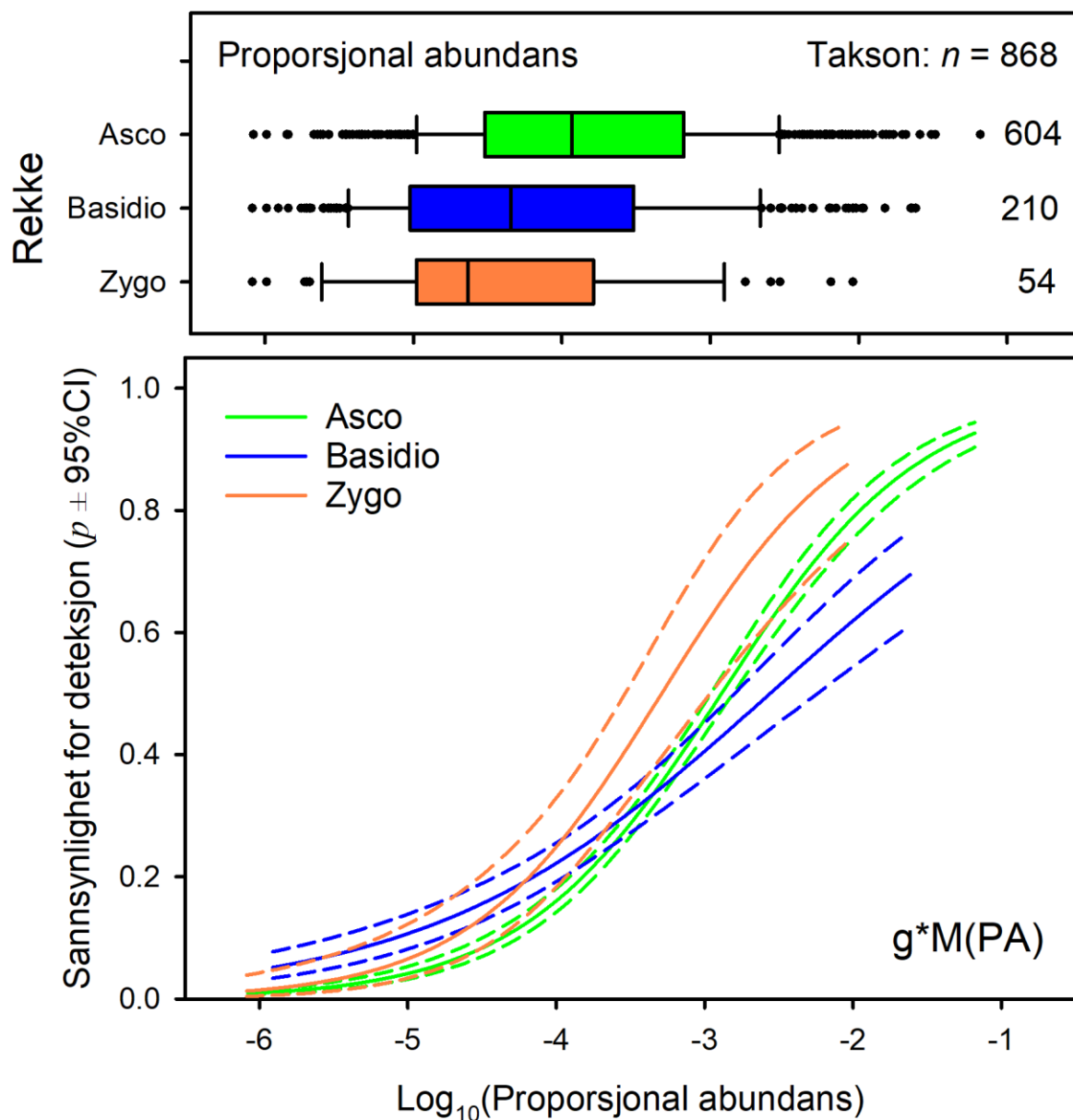
Modeller hvor heterogenitet i deteksjon ble modellert som en funksjon av proporsjonal abundans, fikk mye større støtte enn kandidatmodeller basert på «finite mixtures» eller «continuous random effects» (**Vedlegg 8**). Estimer for artsrikdom basert på den beste modellen ( $w_i = 1,000$ ),  $p$ (taksonomisk gruppe $\times$ prøve, PA), indikerte at artsrikdommen til soppasamfunnet i virkeligheten kan være nesten dobbelt så stor som antall arter som ble påvist i våre prøver (1,93 $\times$ , **Tabell 3.6**). Anslag fra andre kandidatmodeller ( $w_i < 0,001$ ) var mer varierende, men antydte et spenn på mellom 1,15 og 3,50 ganger større. Den proporsjonale forekomsten av forskjellige sopparter varierte mellom de tre taksonomiske gruppene og ble rangert som Zygomycota < Basidiomycota < Ascomycota (**Figur 3.9**). Sannsynligheten for deteksjon var  $p < 0,2$  for sjeldne arter med proporsjonal abundans <  $10^{-4}$  per prøve, men var  $p > 0,5$  for vanligere arter med proporsjonal abundans >  $10^{-2}$  per prøve. For vanlige arter på samme abundansnivå var deteksjonsgraden høyere blant Zygomycota enn de to andre taksonomiske gruppene.

Estimatene for deteksjonssannsynlighet fra de andre kandidatmodellene viste at taksonomisk gruppe og prøvetype hadde liten effekt på sannsynligheten for deteksjon (**Figur 3.10**). I modellen uten heterogenitet var sannsynligheten for deteksjon lav for de fleste prøvene (median = 0,240, minimum-maksimum = 0,118-0,688), med høyest deteksjon for strø-prøver fra mye nedbrutte, liggende stokker. I «finite mixture»-modellen var sannsynligheten for å være i gruppen med lav deteksjon lavere blant Basidiomycota ( $\pi = 0,126$ ) enn de to andre gruppene ( $\pi > 0,83$ ), men det var liten forskjell blant prøvetypene når det gjaldt sannsynligheten for deteksjon både i gruppen med lav deteksjon ( $p_{\pi}$ : med. = 0,128, min-maks. = 0,033-0,437) og høy deteksjon ( $p_{1-\pi}$ : med. = 0,607, min-maks. = 0,118-0,406). I modellen med «continuous random effects» var heterogenitet i deteksjon lavere blant Basidiomycota ( $\sigma_p \approx 0$ ) enn de to andre gruppene ( $\sigma_p > 2,3$ ), og sannsynligheten for deteksjon var derfor høyere i Basidiomycota (median = 0,228) enn de andre gruppene ( $p < 0,11$ ). Alle estimatene for deteksjonssannsynlighet var lavere for sopp i død ved enn for sopp i jord (**kap. 3.2.3.2**) på de samme lokalitetene.

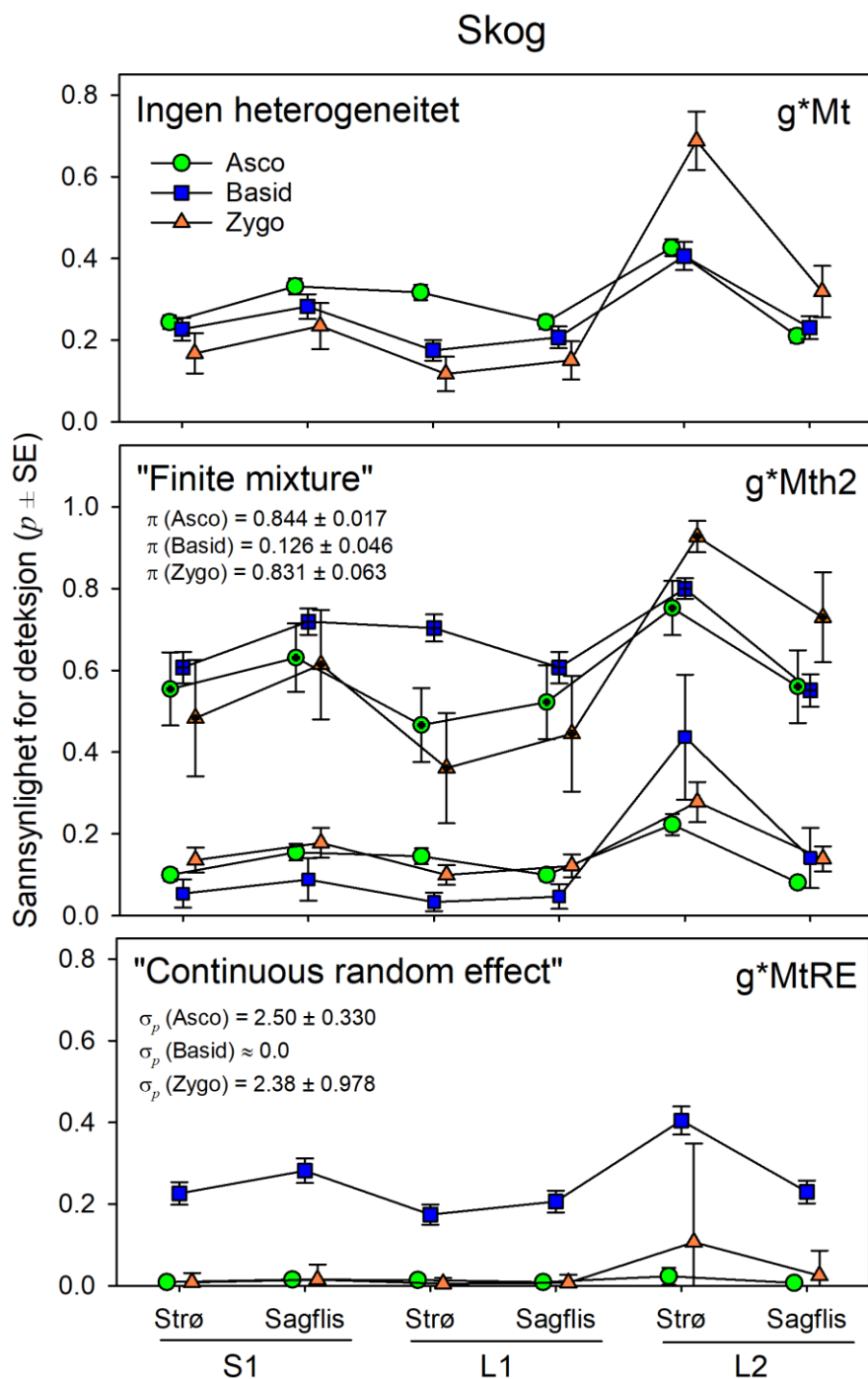
Av 868 arter kunne 540 (62,2%) deles inn i funksjonelle grupper. Flertallet av disse var saprotrofe (311 av 540, 57,6%), etterfulgt av symbiotrofe (90, 16,7%), sapro-/symbiotrofe (80, 14,8%) og patotrofe (59, 10,9%) arter. Den proporsjonale abundansen av soppartene varierte også med funksjonell gruppe, med følgende rangering: patotrofisk < saprotrofisk < symbiotrofisk = sapro-/symbiotrofisk (**Figur 3.11**). Sannsynligheten for deteksjon varierte igjen som en funksjon av proporsjonal abundans, men mønsteret var likt blant de fire forskjellige funksjonelle gruppene av sopp.



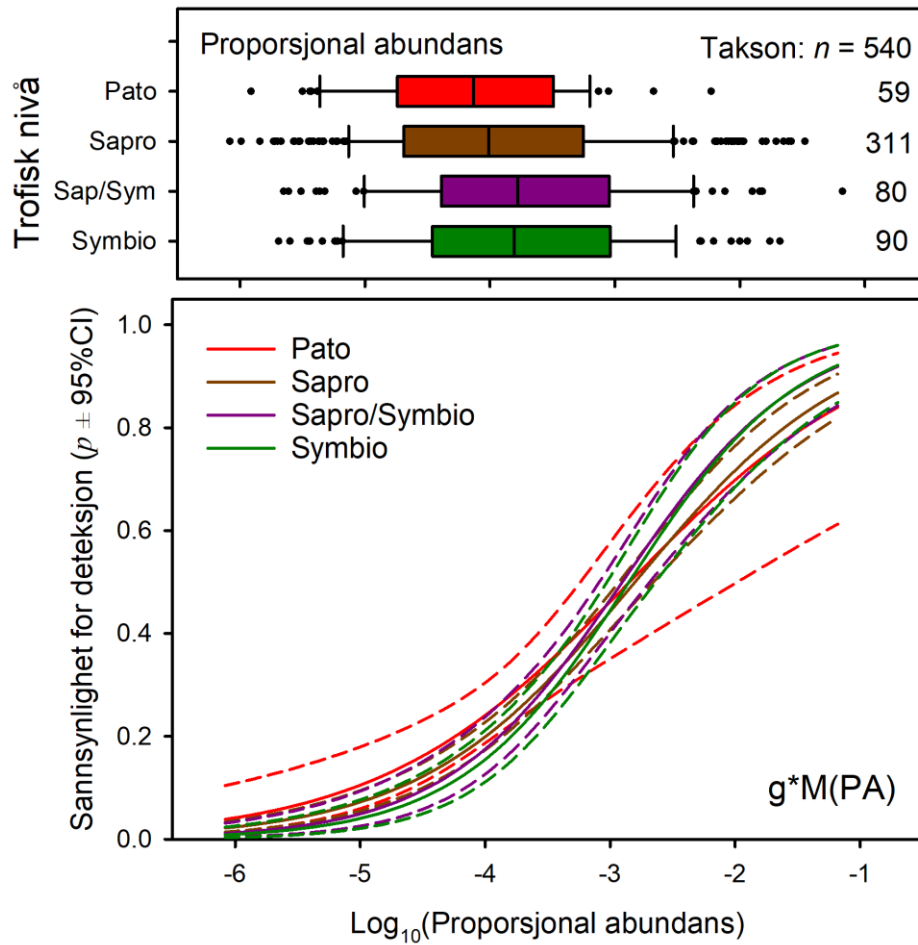
**Figur 3.8.** Ordinasjonsplot som viser forskjellen i artssamfunn av sopp i død ved a) mellom bartrær og løvtrær og b) mellom ulike nedbrytningsstadier (S1: stående, lite nedbrutt, L1: liggende, lite nedbrutt, L2: liggende, mye nedbrutt). I figur b) er variasjonen som skyldes ulike treslag tatt ut av analysen. Linjene mellom punkter angir at dette er prøver fra flis og strø fra den samme lokaliteten.



**Figur 3.9.** Proporsjonal abundans av tre forskjellige grupper av sopp i 22 prøver fra død ved (øverst, log10-skala, ANOVA:  $F_{2,865} = 14,8$ ;  $P < 0,001$ ), og sannsynlighet for deteksjon som en funksjon av proporsjonal abundans (nederst, log10-skala). Parameterestimater er hentet fra en modell med  $p$ (taksonomisk gruppe), med heterogenitet modellert som en funksjon av proporsjonal abundans.



**Figur 3.10.** Deteksjonssannsynlighet ( $p$ ) for sopp i død ved (Ascomycota, Basidiomycota og Zygomycota) i skog som en funksjon av prøvetype. To typer prøver (strø eller flis) ble samlet inn fra tre klasser av død ved (S1: stående, lite nedbrutt, L1: liggende, lite nedbrutt, L2: liggende, mye nedbrutt). Modellene ( $M$ ) inkluderte effekter av taksonomisk gruppe ( $g$ ) og prøvetype ( $t$ ), og hadde forskjellig struktur for heterogenitet i deteksjonssannsynlighet: ingen heterogenitet ( $g * Mt$ , øverst), en «finite mixture» med to diskrete grupper (H2,  $g * Mth2$ , i midten) eller «continuous random effects» (RE, nederst). For «finite mixture»-modellen er parameteren  $\pi$  et estimat for andelen av soppfunnet som havner i en lavdeteksjonsgruppe, med separate estimater for deteksjon for lav- ( $p_{\pi}$ , åpne symboler) og høydeteksjonstaksa ( $p_{1-\pi}$ , kryss). For «random effects»-modellen er parameteren  $\sigma_p$  et samlet estimat for heterogenitet blant soppstaksa der  $\sigma_p \approx 0$  hvis ingen heterogenitet er observert.

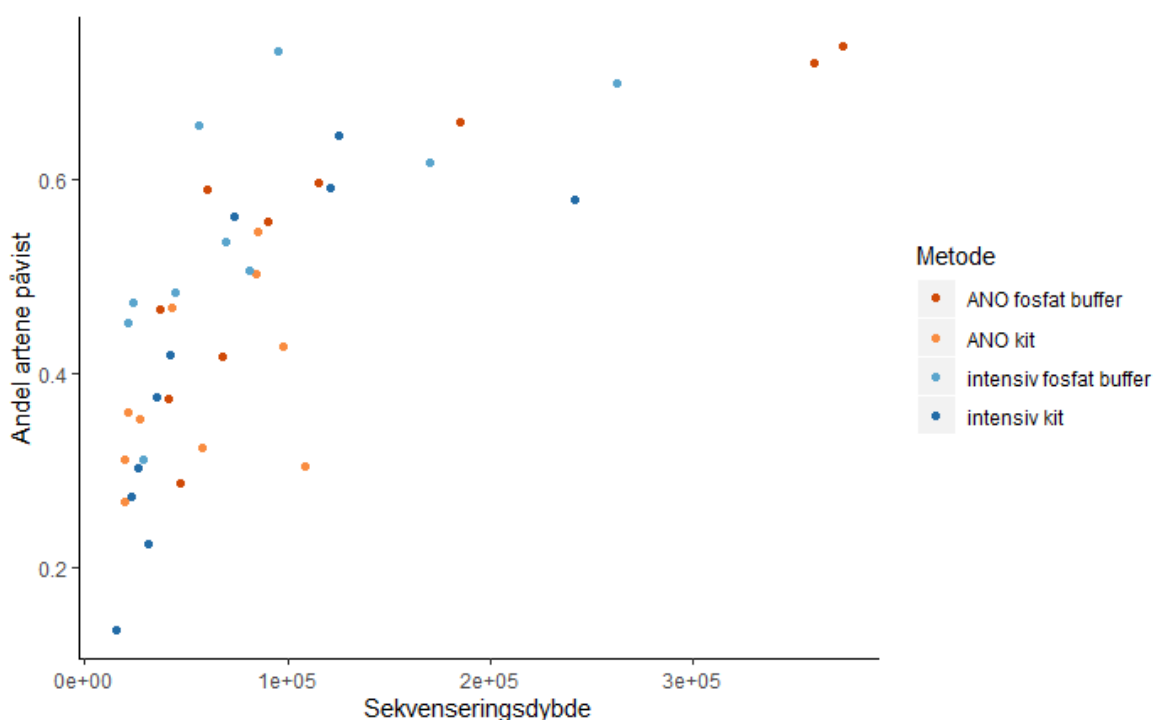


**Figur 3.11.** Proporsjonal abundans av fire funksjonelle grupper av sopp i 22 prøver fra død ved (øverst,  $\log_{10}$ -skala), og sannsynlighet for deteksjon som en funksjon av proporsjonal abundans (nederst,  $\log_{10}$ -skala). Parameterestimater hentet fra en modell med  $p(\text{funksjonell gruppe})$ , med heterogenitet modellert som en funksjon av proporsjonal abundans. Av 868 taksa kunne 328 (38%) ikke tilordnes en funksjonell gruppe, og disse ble derfor ekskludert.

### 3.2.3.2 Sopp i jord

Totalt ble det påvist 2007 sopptaksa i 40 jordprøver på ti prøvelokaliteter i skog og semi-naturlig mark. De viktigste taksonomiske gruppene var Ascomycota (936 taksa, 46,6%) og Basidiomycota (778 taksa, 38,8%), og resten tilhørte Zygomycota-gruppen (293 taksa, 14,6%). Mellom 23 og 45% av alle taksa ble identifisert til art (31,6% totalt), mens resten ble identifisert til slekt eller høyere taksonomisk nivå (**Tabell 3.5**). I påfølgende tekst vil alle taksa for enkelhets skyld bli omtalt som arter. Ufullstendig deteksjon var vanlig: 38-49% av alle arter ble oppdaget i bare én prøve, mens 15-35% ble oppdaget i alle fire typer prøver (**Vedlegg 7**).

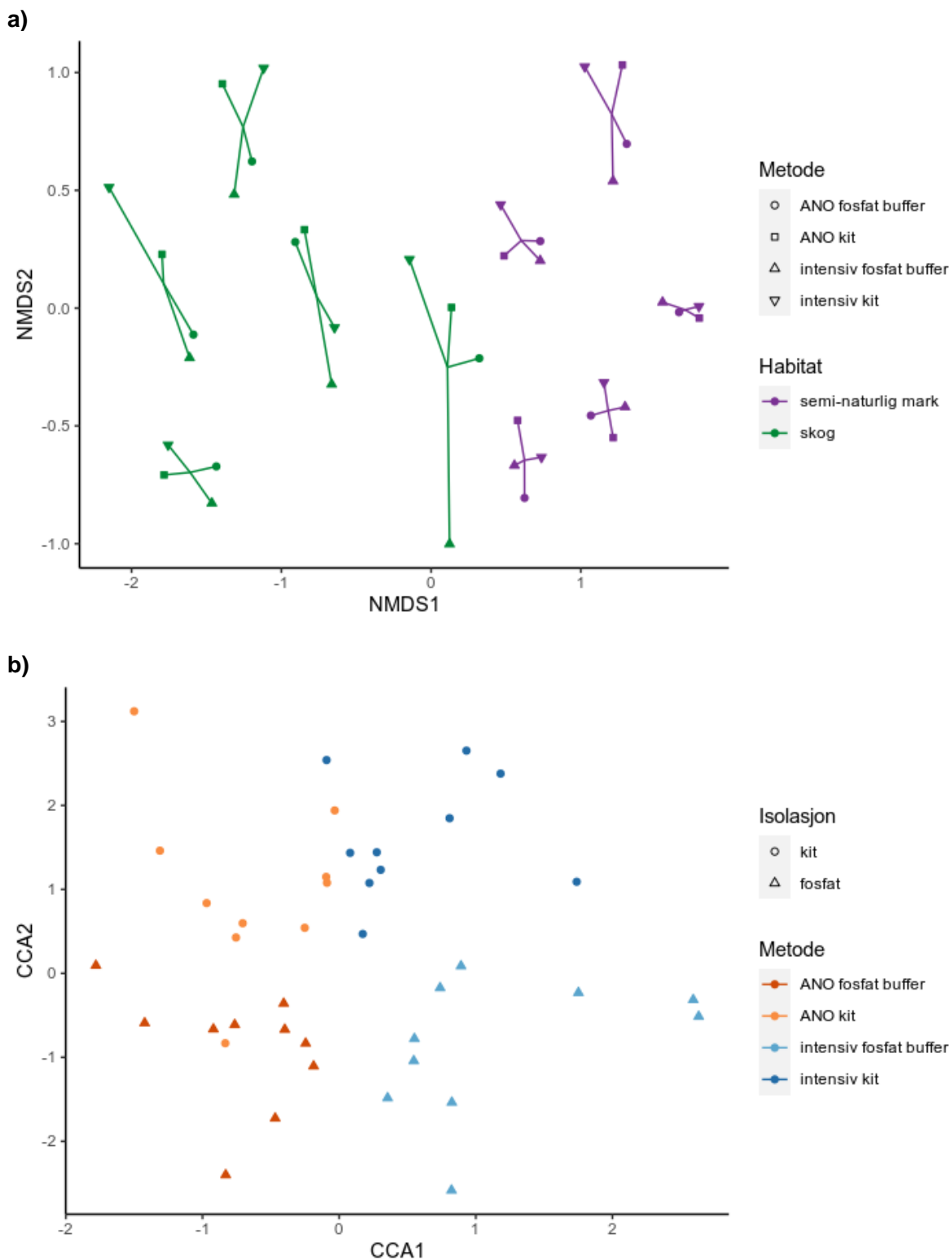
Sopp er en veldig artsrik gruppe, og med sekvenseringsmaskinen vi benyttet i disse analysene fant vi en sterk sammenheng mellom antall DNA-sekvenser og andel arter påvist i en prøve (**Figur 3.12**). Dette betyr at antall DNA-sekvenser for en del av prøvene mest sannsynlig er for lavt til å korrekt identifisere artsmangfoldet. Fremtidige studier bør derfor endre litt på analyseoppsettet eller benytte en annen sekvenseringsmaskin for å øke antall DNA-sekvenser per prøve.



**Figur 3.12.** Sammenhengen mellom antall DNA-sekvenser på x-aksen og andel arter av sopp påvist i en jordprøve på y-aksen.

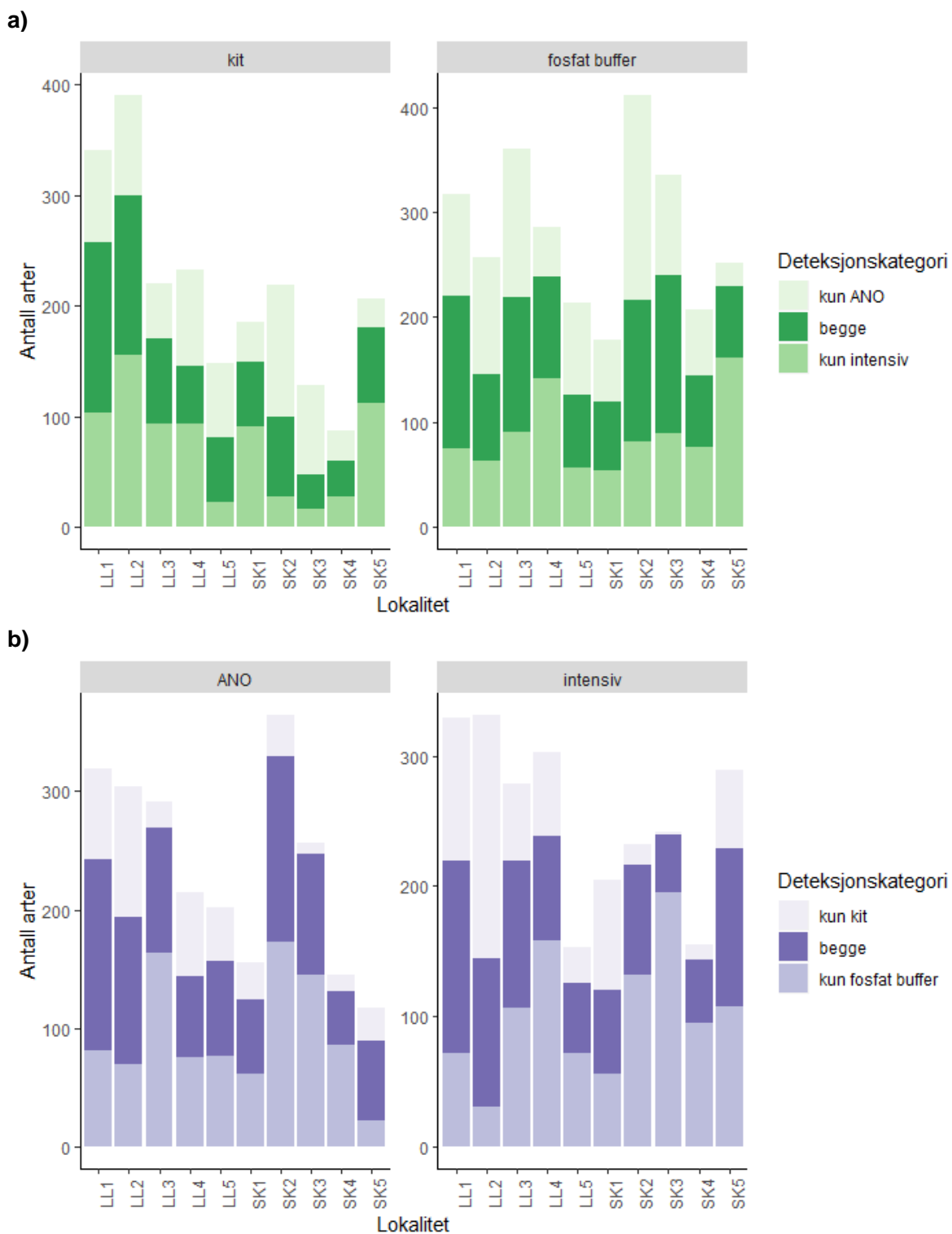
Ordinasjonsanalyser av sopp i jord viser en stor effekt av naturtype (skog og semi-naturlig mark) på artssammensetning, og at metodevalg ikke har noen stor effekt på artssammensetningen i en prøve (**Figur 3.13a**). Naturtype forklarer 58% av variasjonen, mens valg av prøvetakingsmetode eller ekstraksjonsmetode kun forklarer 6% av variasjonen. Dersom vi fjerner variasjonen som skyldes naturtype, finner vi fremdeles en forskjell mellom prøvetakingsmetoder og ekstraksjonsmetoder (**Figur 3.13b**). Overvåking av samfunnsstrukturen er likevel i hovedsak relativt lite påvirket av våre metodevalg.

Når det gjelder antall arter og hvilke arter vi påviser, er det en del forskjeller både mellom ekstraksjonsmetoder og prøvetakingsmetoder, og ulike kombinasjonen av metoder påviser unike arter (**Figur 3.14**).



**Figur 3.13.** Ordinasjonsplot som viser forskjellen i artssamfunn av sopp i jord a) mellom naturtyper og b) mellom ulike metoder for jordprøvetaking (tilfeldig prøvetaking i henhold til ANOs feltinstruks og intensiv, systematisk prøvetaking) og ekstraksjon av DNA («kit» og fosfatbuffer). Linjene mellom punkter angir at dette er prøver fra den samme lokaliteten. I figur b) er variasjonen som skyldes naturtype tatt ut av analysen.



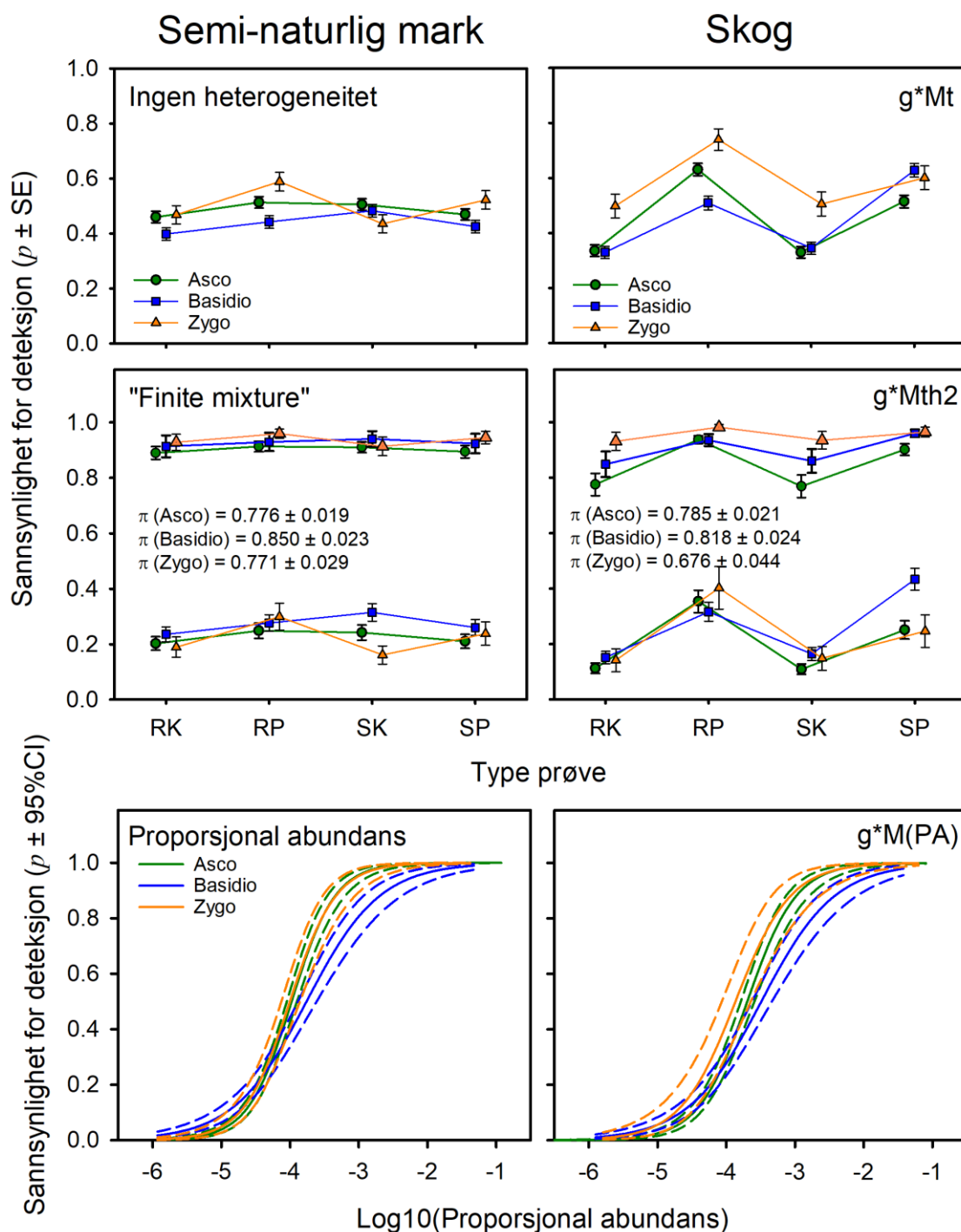


### Modellering av deteksjonssannsynlighet

Modellen hvor heterogenitet i deteksjonssannsynlighet ble modellert som en funksjon av proporsjonal abundans, var den eneste kandidatmodellen med støtte ( $w_i = 1,000$ ) og passet bedre til dataene enn kandidatmodeller uten heterogenitet eller heterogenitet basert på «finite mixtures» ( $w_i < 0,001$ , **Vedlegg 8**). Estimer av artsrikdom basert den beste modellen indikerte at artsrikdom i soppfunnene i skog og semi-naturlig mark var minst dobbelt så stor som den påviste artsrikdommen (2,6-2,7×, **Tabell 3.6**). Andre, mindre gode kandidatmodeller estimerte en forskjell på 1,08-1,36 ganger påvist artsrikdom.

Estimer for deteksjonssannsynlighet fra de andre kandidatmodellene viste at alle prøveprosedyrer hadde lignende sannsynlighet for påvisning av jordsopp i semi-naturlig mark (**Figur 3.15**). I modellen uten heterogenitet var deteksjonssannsynligheten intermediær for de fleste prøvene fra både semi-naturlig mark (median = 0,469, minimum-maksimum = 0,398-0,588) og skog (med. = 0,507, min-maks. = 0,330-0,740). Sannsynligheten for deteksjon av sopp i skog var generelt høyere enn semi-naturlig mark, spesielt for DNA-ekstraksjoner utført med fosfatbuffer (fosfatbuffer: median = 0,614, minimum-maksimum = 0,509-0,740; «kit»: med. = 0,340, min-maks. = 0,330-0,505). Parameterestimer fra «finite mixture»-modellen viste at i prøver fra semi-naturlig mark var det liten variasjon i deteksjonssannsynlighet mellom prøvetyper i lavdeteksjons- ( $p_{\pi}$ : med. = 0,240, min-maks. = 0,161-0,315) og høydeteksjonsgruppen ( $p_{1-\pi}$ : med. = 0,919, min-maks. = 0,890-0,960), mens i prøver fra skog ga bruk av fosfatbuffer større variasjon og høyere deteksjonssannsynlighet for både lavdeteksjons- ( $p_{\pi}$ : med. = 0,205, min-maks. = 0,109-0,434) og høydeteksjonsgruppen ( $p_{1-\pi}$ : med. = 0,933, min-maks. = 0,769-0,982).

Sannsynligheten for deteksjon var gjennomgående høyere for sopp i jordprøver enn i vedprøver (**kap. 3.2.3.1**). Deteksjonssannsynligheten var  $p < 0,1$  for sjeldne arter med proporsjonal abundans  $< 10^{-5}$  per prøve, men var  $p > 0,5$  for arter med en proporsjonal abundans på minst  $10^{-4}$  per prøve. For vanlige arter på samme abundansnivå var sannsynligheten for deteksjon lik blant Ascomycota og Zygomycota, men lavere blant Basidiomycota.



**Figur 3.15.** Sannsynlighet for deteksjon ( $p$ ) for sopp i jordprøver fra skog og semi-naturlig mark som en funksjon av prøvetype (øvre rader) eller proporsjonal abundans (nederste rad, log10-skala). Prøvetakingen var tilfeldig eller systematisk («random/systematic» = R/S) og DNA-ekstraksjoner med «kit» eller fosfatbuffer («kit/phosphate» = K/P). Parameterestimer er hentet fra modeller med  $p(\text{taksonomisk gruppe} \times \text{prøve})$  eller  $p(\text{taksonomisk gruppe})$ . Heterogenitet i deteksjon ble modellert som ingen heterogenitet (første rad), en «finite mixture» med to diskrete grupper (andre rad) eller som en funksjon av proporsjonal abundans i jordprøvene (tredje rad). For «finite mixture»-modellen er parameteren  $\pi$  et estimat for andelen av soppfunnet som havner i en lavdeteksjonsgruppe, med separate estimater for deteksjon for lav- ( $p_{1-\pi}$ ) og høydeteksjonstaksa ( $p_{1-\pi}$ ).

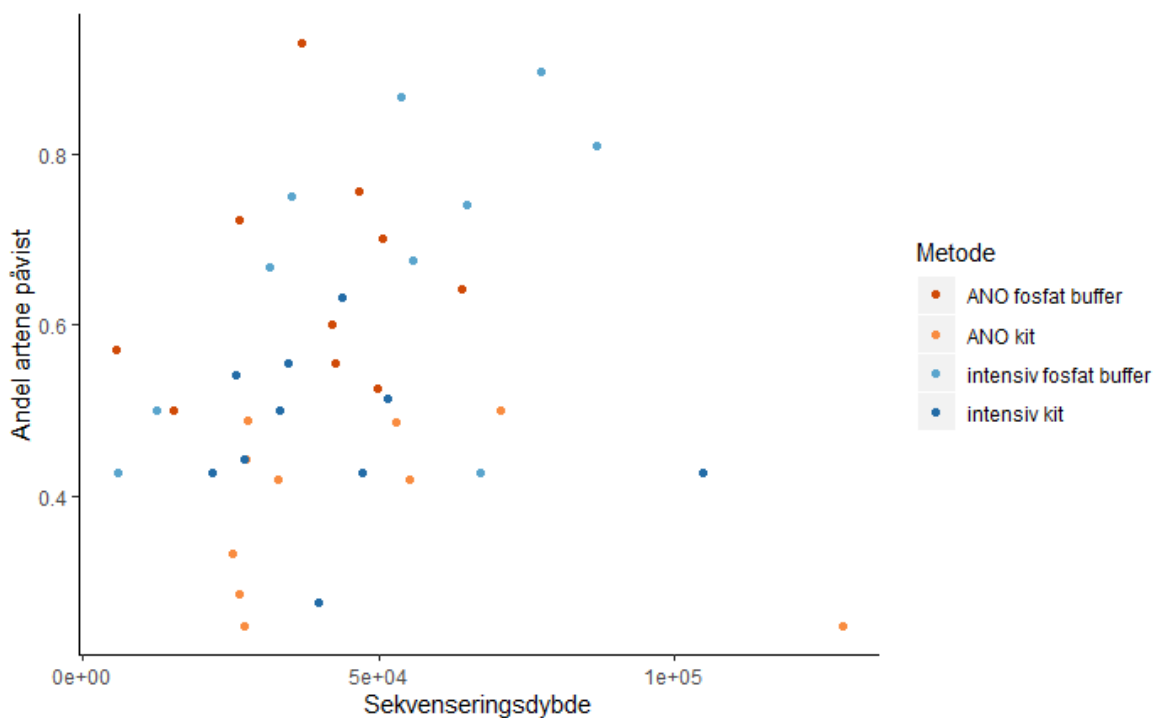
### 3.2.4 Analyser av planter

Totalt 117 taksa av planter ble påvist på de 10 lokalitetene hvor ruteanalyser ble sammenlignet med jordprøver. Et flertall ble identifisert til art (95 arter; 81%), mens en del ble bare identifisert til slekt (22 taksa; 19%). Av de 95 plantene som ble identifisert til art, ble 41 arter oppdaget ved både jordprøvetaking og ruteanalyser, 24 arter ble oppdaget bare ved hjelp av ruteanalyser, og 30 arter ble oppdaget bare ved jordprøvetaking.

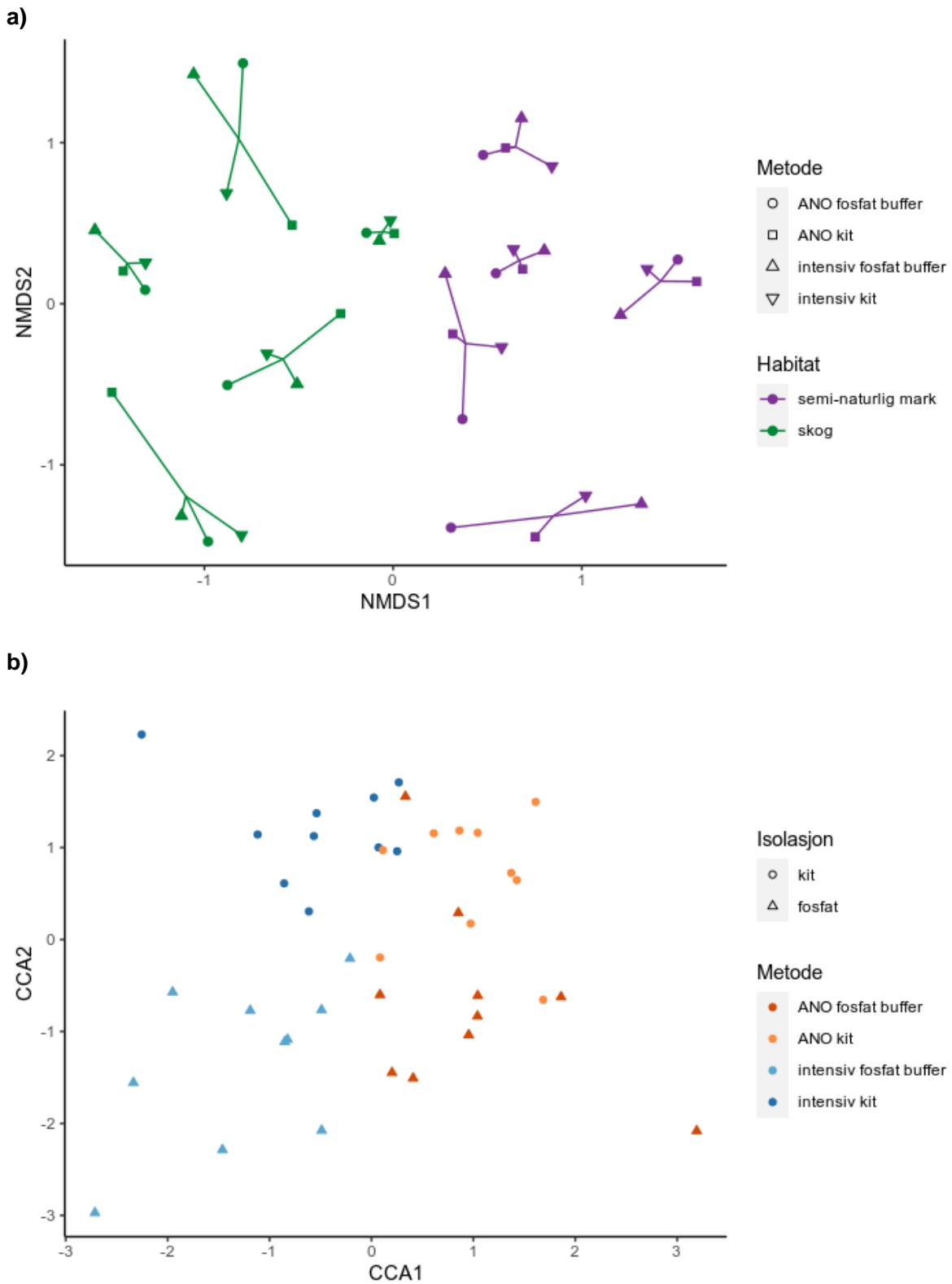
Syv taksa ble identifisert til slekt, men beholdt i videre analyser enten fordi alle arter i slekten ble samlet i et enkelt takson (*Carex*, *Salix*, *Vicia* og *Viola* spp.) eller fordi genetiske metoder identifiserte taksa for arter, men tradisjonell morfologisk bestemmelse bare kunne identifisere planten til slekt (*Alchemilla*, *Myosotis* og *Taraxacum* sp.). Ytterligere 15 taksa ble identifisert til slekt ved bruk av miljø-DNA, men ble fjernet fra videre analyser fordi det ikke var mulig å matche taksa til en individuell art blant de potensielle mulighetene fra ruteanalysene (f.eks. *Anemone*, *Betula* og *Poa* sp.). Deteksjonshistorier for til sammen 102 plantetaksa (heretter for enkelthets skyld kalt arter) ble derfor analysert med «closed capture models».

Planter er en mindre artsrik gruppe enn sopp, men vi finner likevel en sterk sammenheng mellom antall DNA-sekvenser og andel arter påvist i en prøve (Figur 3.16). Ordinasjonsanalyser av planter i jord viser en stor effekt av naturtype (skog og semi-naturlig mark), og at metodevalg heller ikke her har en stor effekt på artssammensetningen i en prøve (Figur 3.17a). Naturtype forklarer 66% av variasjonen, mens valg av prøvetakingsmetode eller ekstraksjonsmetode kun forklarer 3% av variasjonen. Dersom vi fjerner variasjonen som skyldes naturtype, finner vi en forskjell mellom prøvetakingsmetoder og ekstraksjonsmetoder (Figur 3.17b), men samfunnsstrukturen er i hovedsak relativt lite påvirket av metodevalg.

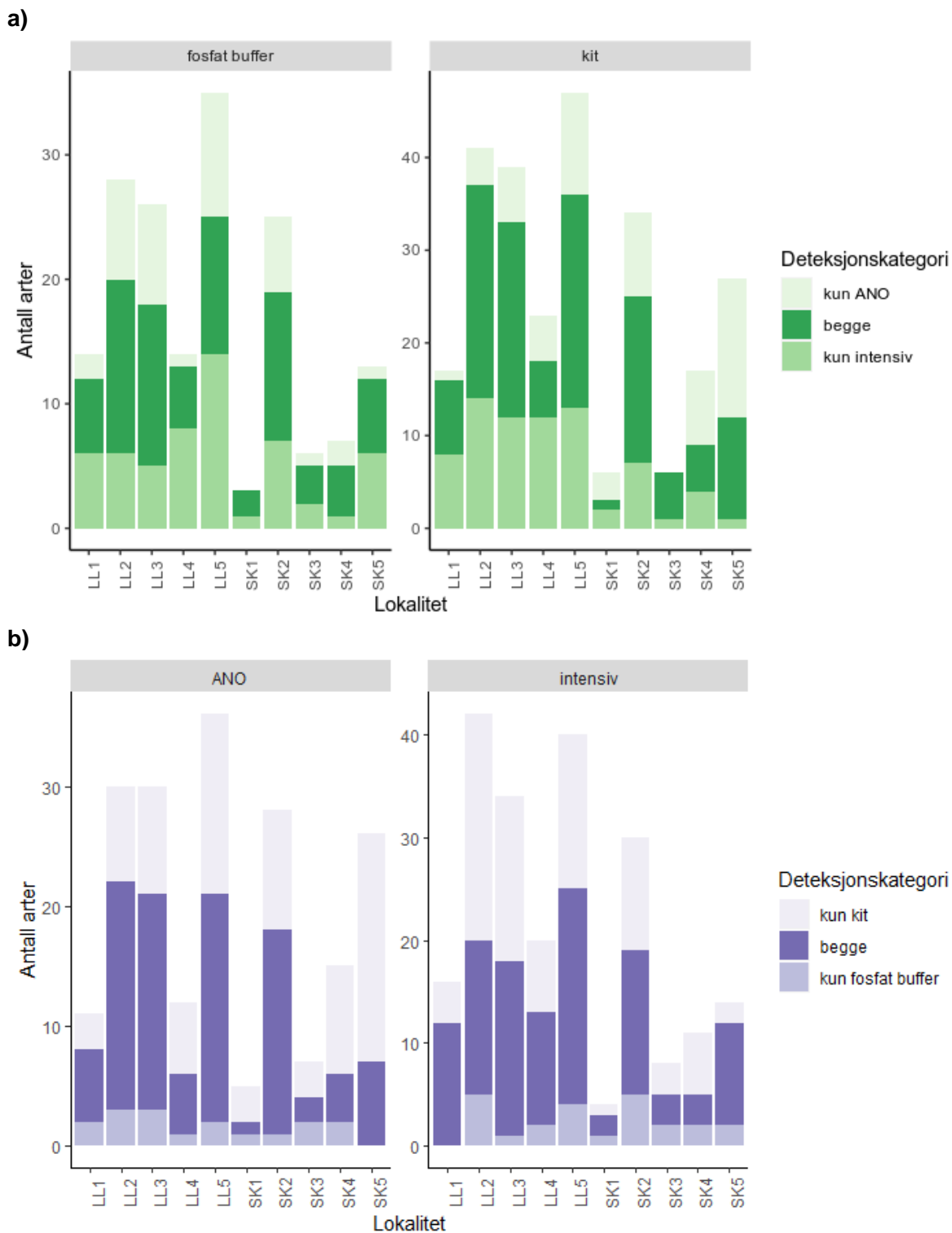
Når vi ser på antall arter av planter påviser hver metode en del unike arter, og ekstraksjon med «kit» ser ut til å påvise noen flere arter enn ekstraksjon med buffer (Figur 3.18).



**Figur 3.16.** Sammenhengen mellom antall DNA-sekvenser på x-aksen og andel arter av planter påvist i en prøve på y-aksen.



**Figur 3.17.** Ordinasjonsplot som viser forskjellen i artssamfunn av planter i jord a) mellom naturtyper og b) mellom ulike metoder for jordprøvetaking (tilfeldig prøvetaking i henhold til ANOs feltinstruks og intensiv, systematisk prøvetaking) og ekstraksjon av DNA («kit» og fosfatbuffer). Linjene mellom punkter angir at dette er prøver fra den samme lokaliteten. I figur b) er variasjonen som skyldes naturtype tatt ut av analysen.



**Figur 3.18.** Stolpediagrammer som viser antall plantearter påvist med a) ulike ekstraksjonsmetoder («kit» og fosfatbuffer) og b) ulike metoder for jordprøvetaking (tilfeldig prøvetaking i henhold til ANOs feltinstruks og intensiv, systematisk prøvetaking) på de ulike lokalitetene.

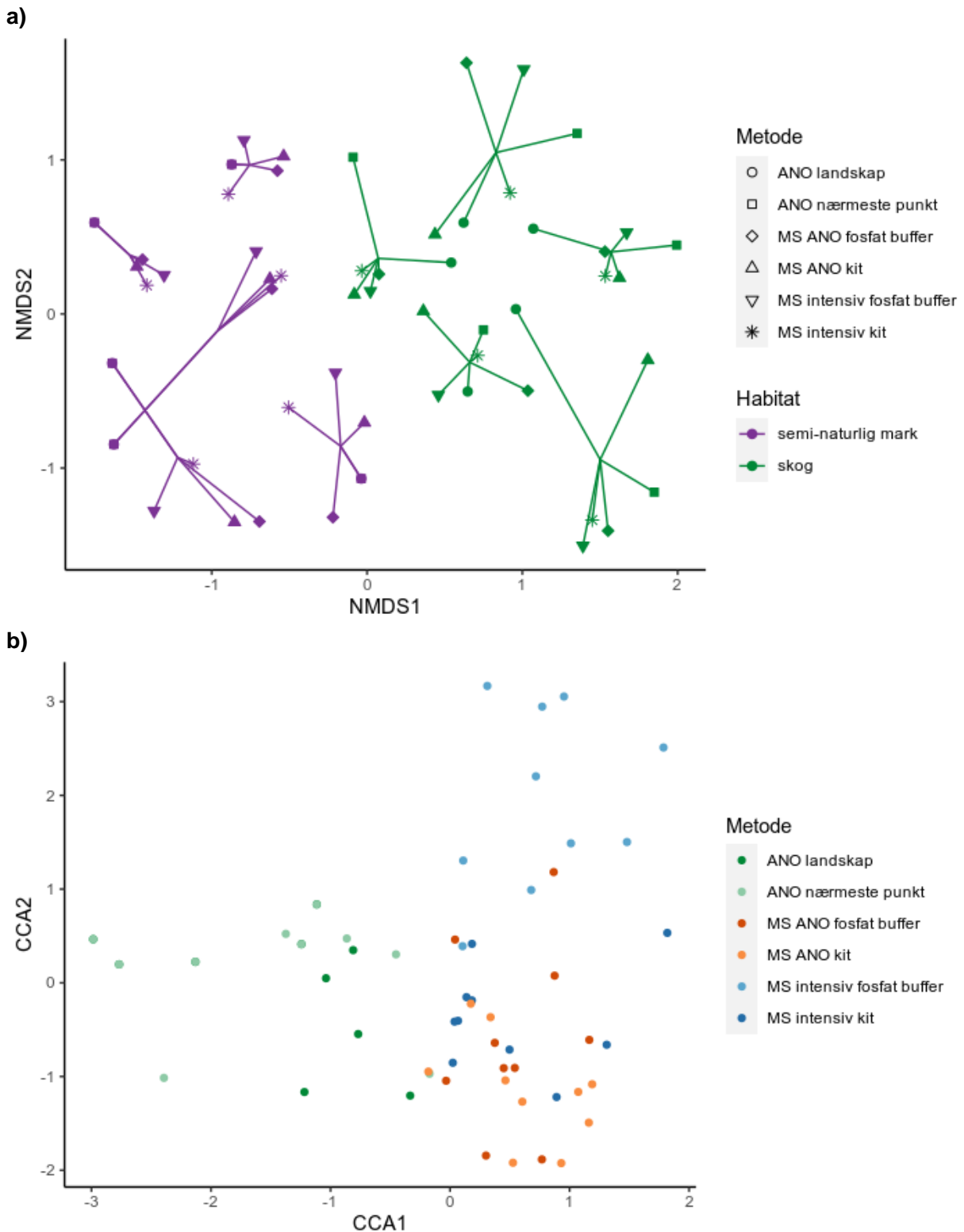
### Sammenligning med konvensjonell ANO-analyse

De genetiske dataene i dette studiet ble generert fra prøvetaking på lokaliteter der konvensjonelle rute-baserte vegetasjonsanalyser også ble gjennomført i regi av ANO. En sammenligning av disse dataene viser at miljø-DNA dataene og data samlet inn med tradisjonelle metoder viser det samme mønsteret (**Figur 3.19**). Art-for-art sammenligninger viser også at konvensjonelle ANO-undersøkelser og miljø-DNA analyser fanger opp mange av de samme artene (**Vedlegg 9**).

### Modellering av deteksjonssannsynlighet

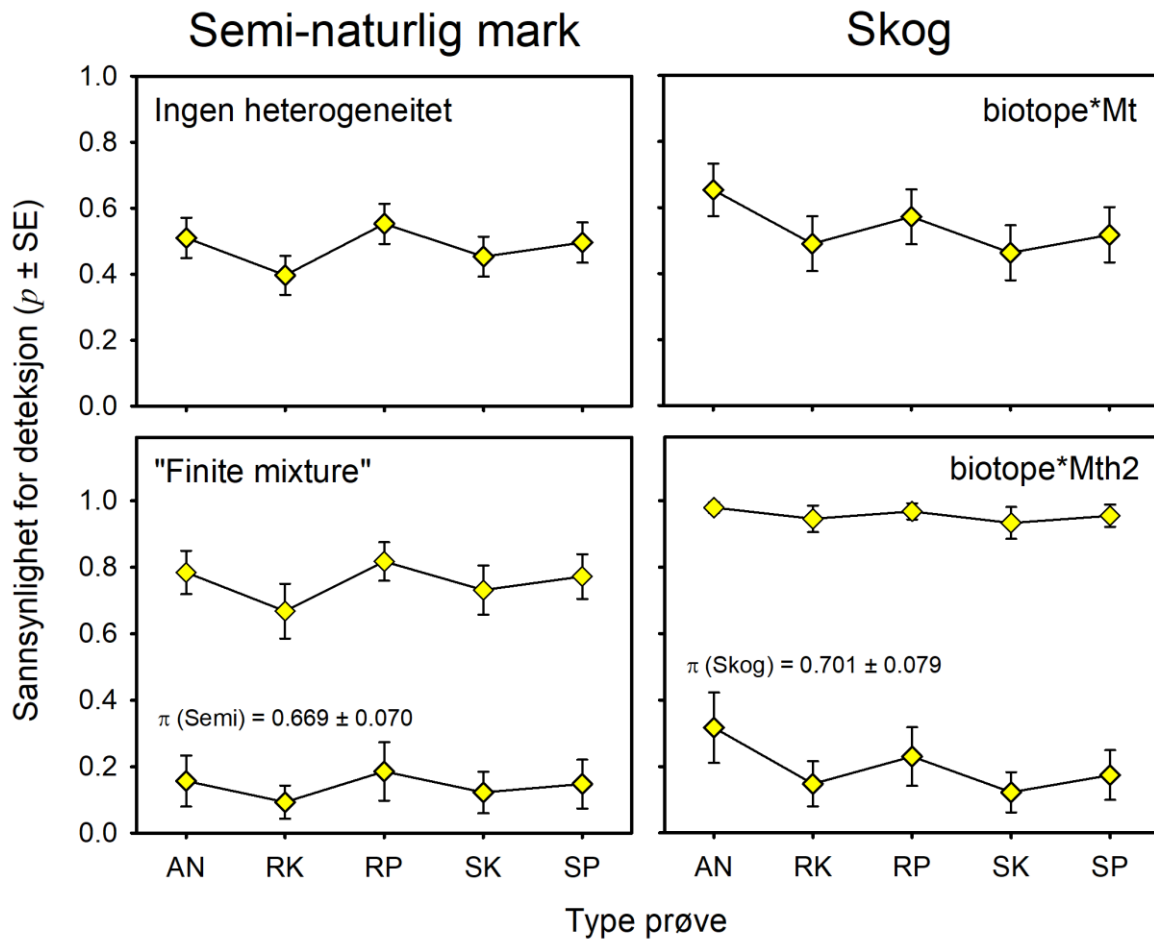
Modeller uten heterogenitet i deteksjonssannsynlighet passet dårlig til «encounter histories» ( $w_i < 0,001$ ) sammenlignet med modeller der heterogenitet ble modellert som en «finite mixture» ( $\sum w_i \approx 1,000$ , **Vedlegg 8**). Estimer av sannsynligheten for deteksjon fra modeller med «finite mixture» viste at alle de forskjellige prøvetakingsprosedyrene hadde lignende sannsynlighet for deteksjon av planter i skog og semi-naturlig mark (**Figur 3.20**). I begge naturtyper var hovedandelen av plantesamfunnet i gruppen med lav deteksjon ( $\pi > 0,67$ ) med en mindre andel av arter ( $1-\pi < 0,13$ ) i gruppen med høy deteksjonssannsynlighet. Deteksjonssannsynligheten for gruppen med høy deteksjon varierte mellom naturtyper og var lavere i semi-naturlig mark (median = 0,772, minimum/maksimum = 0,668-0,817) enn skog (med. = 0,954, min/maks. = 0,932-0,979). I kontrast var deteksjonssannsynligheten for gruppen med lav deteksjon lik i begge naturtyper: skog (med. = 0,174, min/maks. = 0,122-0,317) og semi-naturlig mark (med. = 0,147, min/maks. = 0,093-0,186). Estimer for artsrikdom fra «finite mixture»-modellen indikerte at den totale artsrikdommen var 1,31 til 1,47× større enn antall påviste arter.

Parameterestimer fra modeller uten heterogenitet indikerte at deteksjonssannsynligheten var lik for alle fem metodene, men hadde en tendens til å være lavere på semi-naturlige mark (median = 0,496, minimum-maksimum = 0,397-0,553) enn i skog (med. = 0,517, min/maks. = 0,463-0,653, **Figur 3.20**). Estimer av artsrikdom basert på modeller uten heterogenitet var sammenlignbare med antall påviste arter (1.03×, **Tabell 3.6**) fordi den kumulative sannsynligheten for deteksjon ( $p^*$ ) på tvers av alle de fem forskjellige metodene var nær en:  $p^* = 1 - (1 - p)^n = 1 - (1 - 0,50)^5 = 0,969$ .



**Figur 3.19.** Ordinasjonsplot som viser forskjellen i artssammensetning av planter kartlagt med miljø-DNA (MS = metastrekkoding) og konvensjonell ANO-undersøkelse (ANO) ved hjelp av taksonomer i felt for a) ulike naturtyper og metoder og b) der variasjonen som skyldes naturtype er tatt ut av analysen. Linjene mellom punkter angir at dette er prøver fra den samme lokaliteten. «ANO landskap» omfatter data fra alle ANO-ruter på en lokalitet, mens «ANO nærmeste punkt» er den nærmeste ANO-ruten kartlagt med konvensjonelle metoder.

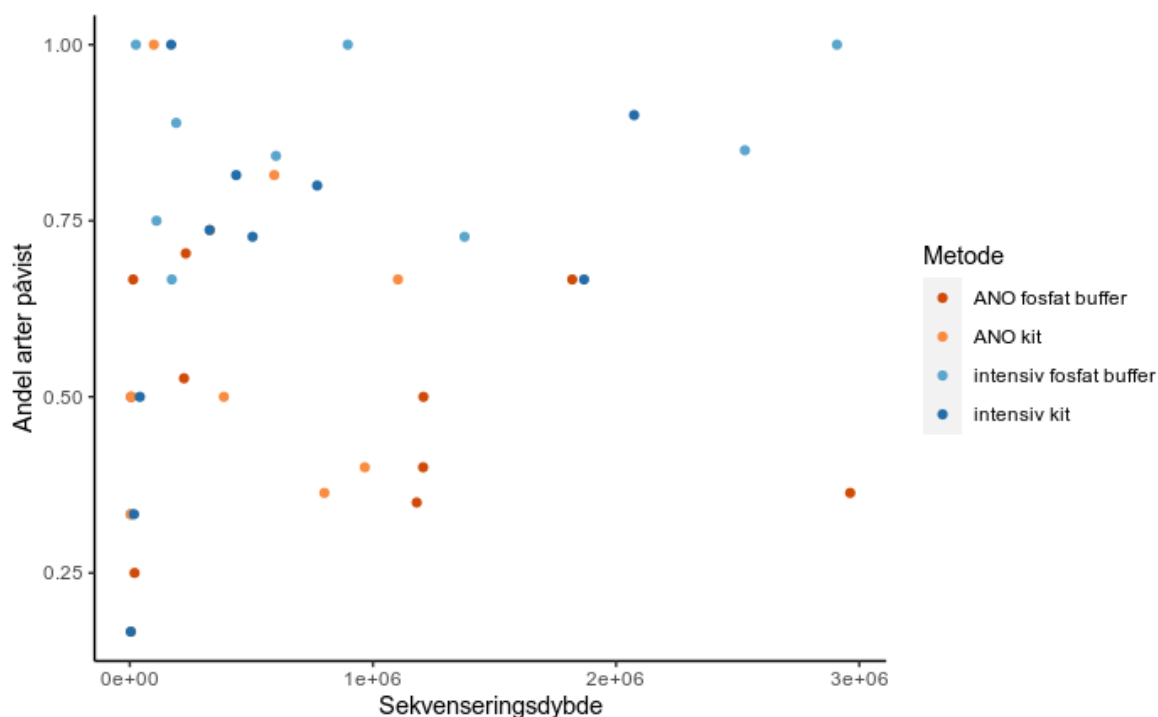




**Figur 3.20.** Deteksjonssannsynlighet ( $p$ ) for planter fra tradisjonelle ruteanalyser og jordprøver i skog og semi-naturlig mark. Prøvetyper inkluderte: tradisjonelle ruteanalyser i henholdsvis til ANOs feltinstruks (AN) og eller jordprøver tatt tilfeldig eller systematisk («random/systematic» = R/S) og DNA-ekstraksjoner med «kit» eller fosfatbuffer («kit/phosphate» = K/P). Parameterestimater ble hentet fra en modell med  $p(\text{naturtype} \mid \text{prøve})$ . Heterogenitet i deteksjonssannsynlighet ble modellert som ingen heterogenitet (øvre rad) eller en «finite mixture» med to diskrete grupper (nedre rad).

### 3.2.5 Analyser av leddormer

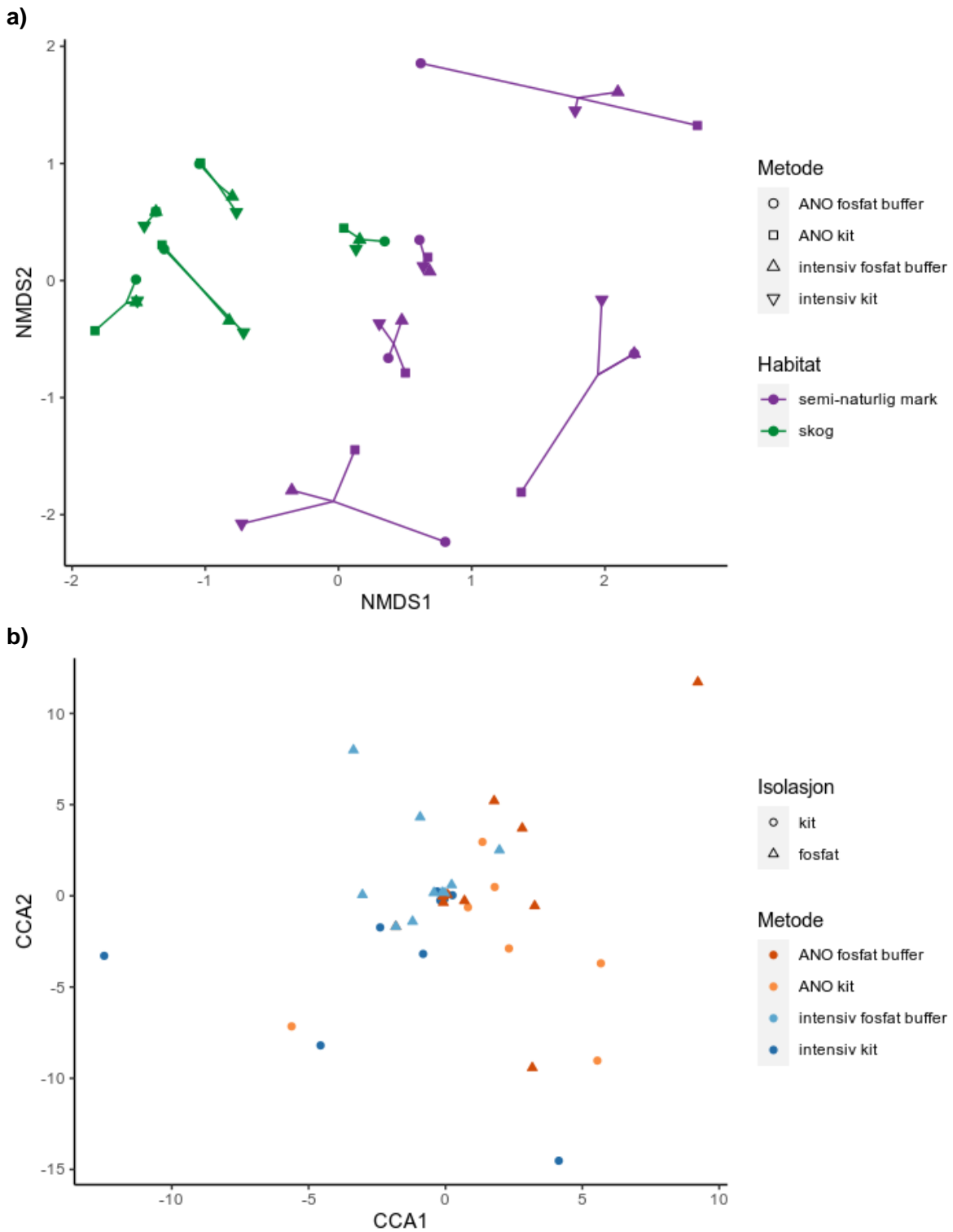
Totalt 45 taksa av leddormer ble påvist i jordprøvene. Alle taksa ble identifisert til art, men noen av disse er kryptiske arter som kun er beskrevet med DNA-metastrekoding og ikke morfologisk (6 av 45, 13,3%; inkludert tre arter i *Chamaedrillus aff.*-artskomplekset). Leddormsamfunnet inkluderte arter i tre forskjellige ordener: *Crassitella* (11 arter), *Enchytraeide* (33 arter) og *Lumbri-culida* (1 art). I motsetning til for sopp og planter fant vi her liten effekt av sekvenseringsdybde (**Figur 3.21**). Selv om leddorm-markøren ble analysert på NovaSeq-maskinen får vi likevel en del prøver med lav sekvensdybde, det vil si få DNA-sekvenser per prøve, men det ser altså likevel ut til at for denne artsgruppen er datagrunnlaget tilfredsstillende.



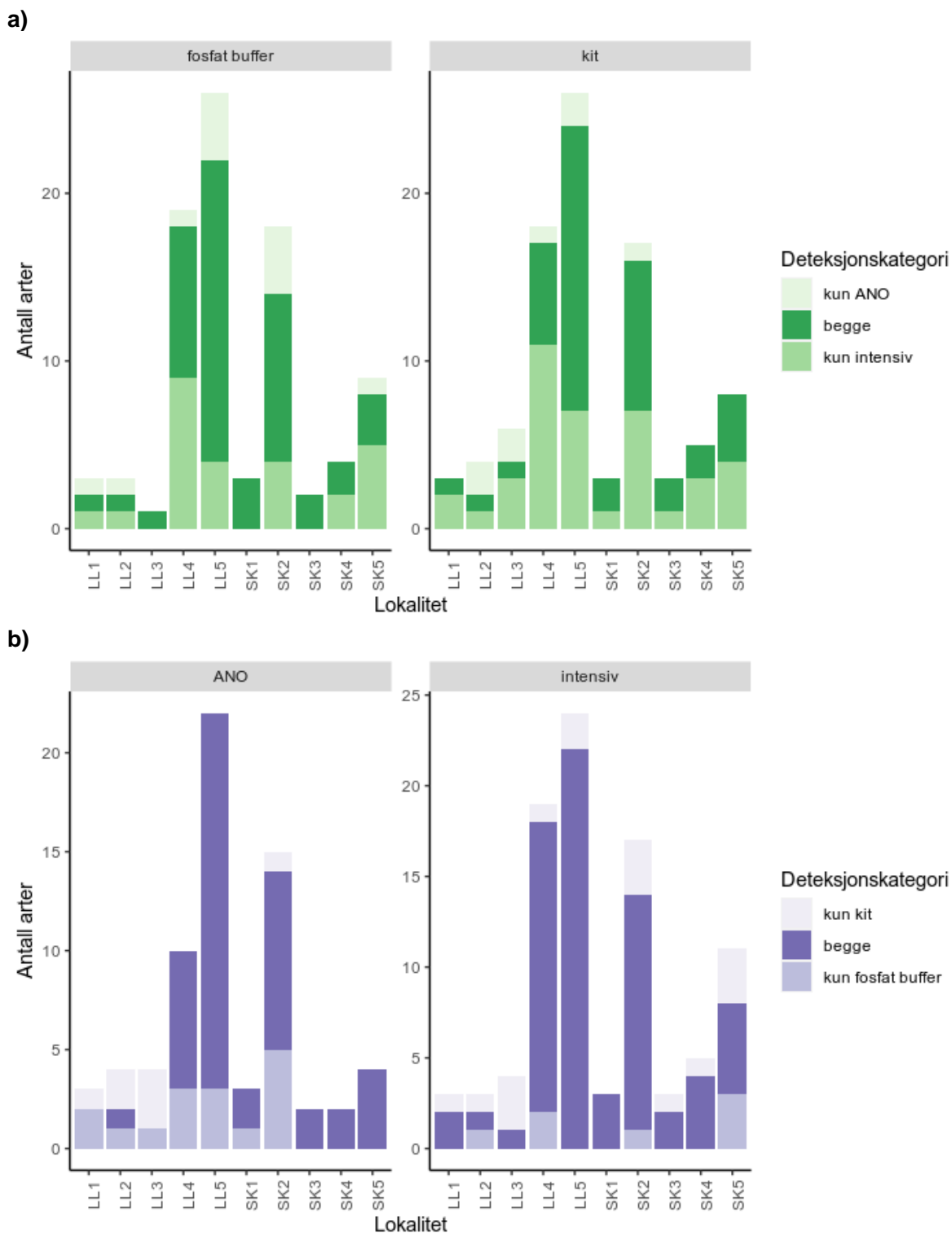
**Figur 3.21.** Sammenhengen mellom antall DNA-sekvenser på x-aksen og andel arter av leddormer påvist i en jordprøve på y-aksen.

Som for planter og sopp finner vi en stor effekt av naturtype (skog og semi-naturlig mark), og at metodevalg ikke har en stor effekt på artssammensetningen i en prøve (**Figur 3.22**). Naturtype og lokalitet forklarer 71% av variasjonen, mens valg av prøvetakingsmetode eller ekstraksjonsmetode kun forklarer 1% av variasjonen.

Når det gjelder antall arter finner vi et noe høyere antall i den intensive prøvetakingen enn den enklere ANO-prøvetakingen (**Figur 3.23**).



**Figur 3.22.** Ordinasjonsplot som viser forskjellen i artssamfunn av leddormer i jord a) mellom naturtyper og b) mellom ulike metoder for jordprøvetaking (tilfeldig prøvetaking i henhold til ANOs feltinstruks og intensiv, systematisk prøvetaking) og ekstraksjon av DNA («kit» og fosfatbuffer). Linjene mellom punkter angir at dette er prøver fra den samme lokaliteten. I figur b) er variasjonen som skyldes naturtype tatt ut av analysen.



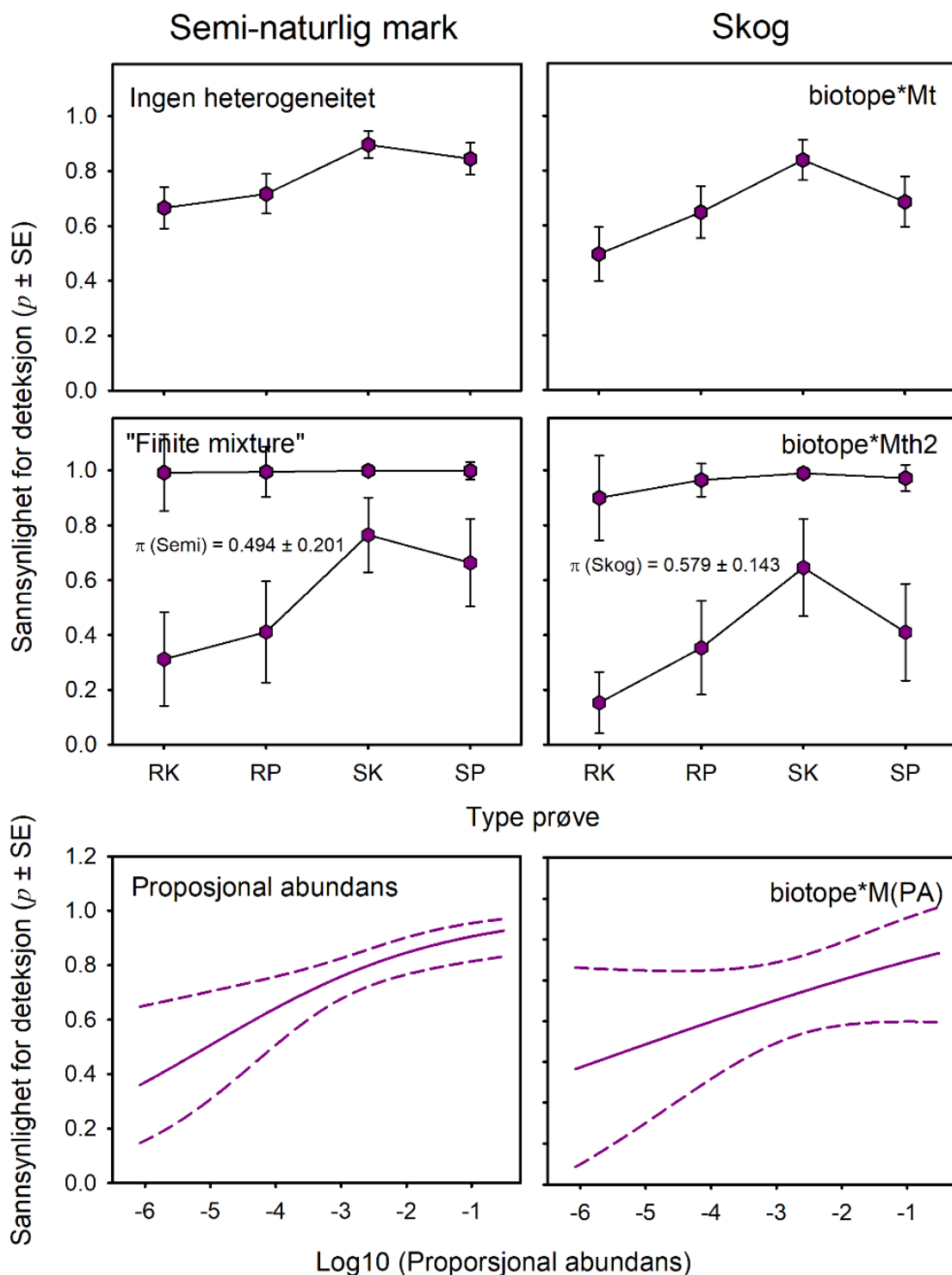
**Figur 3.23.** Stolpediagrammer som viser antall arter av leddormer påvist med a) ulike ekstraksjonsmetoder («kit» og fosfatbuffer) og b) ulike metoder for jordprøvetaking (tilfeldig prøvetaking i henhold til ANOs feltinstruks og intensiv, systematisk prøvetaking) på de ulike lokalitetene.

### Modellering av deteksjonssannsynlighet

Modeller hvor heterogenitet ble modellert som en «finite mixture» fikk mest støtte blant kandidatmodellene ( $\sum w_i > 0,99$ ; **Vedlegg 8**). I både skog og semi-naturlig mark var omtrent halvparten av leddorm-artene i gruppen med lav deteksjon ( $\pi = 0,494-0,578$ ; **Figur 3.24**). Sannsynligheten for deteksjon for høydeteksjonsgruppen var nær én i både skog (median = 0,968; minimum-maksimum = 0,899-0,989) og semi-naturlige mark (med. = 0,996; min-maks. = 0,992 til 0,999). Deteksjonssannsynligheten for lavdeteksjonsgruppen var derimot høyere i semi-naturlige mark (med. = 0,537; min-maks. = 0,312-0,765) enn i skog (med. = 0,381; min-maks. = 0,152-0,645). Prøvetakingsmetode hadde en innvirkning på deteksjonssannsynlighet i lavdeteksjonsgruppen, med større sannsynlighet for deteksjon for den systematiske, intensive prøvetakingsmetoden. Estimert artsrikdom fra «finite mixture»-modellen var tilnærmet lik antall oppdagede arter (**Tabell 3.6**) fordi den kumulative sannsynligheten for deteksjon var høy i både skog ( $p^* = 0,915$ ) og semi-naturlig mark ( $p^* = 0,977$ ).

Modeller uten heterogenitet i deteksjon passet relativt dårlig til deteksjonshistoriene ( $w_i < 0,001$ ) (**Vedlegg 8**). Parameterestimer for disse modellene indikerte at sannsynligheten for deteksjon var høyere i semi-naturlig mark (med. = 0,781; min-maks. = 0,666-0,896) enn i skog (med. = 0,667; min-maks. = 0,495-0,839) (**Figur 3.24**). Også her var det en tendens til at deteksjonssannsynligheten var høyere for den systematiske, intensive prøvetakingsmetoden sammenlignet med tilfeldig prøvetaking. Estimert artsrikdom basert på modeller uten heterogenitet var tilnærmet lik antall påviste arter (**Tabell 3.6**) fordi den kumulative sannsynligheten for deteksjon på tvers av de fire metodene var nær én ( $p^* > 0,98$ ).

Modeller der sannsynligheten for deteksjon ble modellert som en funksjon av proporsjonal abundans, fikk også lite støtte blant kandidatmodellene ( $w_i < 0,001$ ) (**Vedlegg 8**). Forholdet mellom deteksjonssannsynlighet og proporsjonal abundans viste ingen klar terskel, og deteksjonssannsynligheten var fort satt høy ( $p > 0,4$ ) selv ved proporsjonal abundans  $< 10^{-4}$ . For sopp i jord og død ved var sannsynligheten for deteksjon lav ( $p < 0,2$ ) ved proporsjonal abundans  $< 10^{-5}$ - $10^{-4}$ .



**Figur 3.24.** Sannsynlighet for deteksjon ( $p$ ) for leddormer i jordprøver fra skog og semi-naturlig mark som en funksjon av prøvetupe (øvre rader) og proporsjonal abundans (nederste rad, log10-skala). Prøvetakingen var tilfeldig eller systematisk («random/systematic» = R/S) og DNA-ekstraksjoner med «kit» eller fosfatbuffer («kit/phosphate» = K/P). Parameterestimer ble hentet fra en modell med  $p(\text{naturligtype} \times \text{prøve})$ . Heterogenitet i deteksjon ble modellert som ingen heterogenitet (øverste rad), en «finite mixture» med to diskrete grupper (midtre rad) eller som en funksjon av proporsjonal abundans (tredje rad). For «finite mixture»-modellen er parameteren  $\pi$  et estimat for andelen av leddormsamfunnet som havner i en lavdeteksjonsgruppe, med separate estimater for lav- ( $p_\pi$ ) og høydeteleksjonstaksa ( $p_{1-\pi}$ ).

**Tabell 3.6.** Estimat for artsrikdom ( $\hat{N}$ ) for tre taksonomiske grupper av sopp i jord og død ved, samt planter og leddormer. Artsrikdom ble beregnet som en avledet parameter og hentet fra modellene  $p(\text{taksonomisk gruppe} \times \text{prøve})$ . For sopp og leddormer i jord ble heterogenitet i deteksjonssannsynlighet modellert som fraværende (ingen), en «finite mixture» med to diskrete grupper (H2) eller som en funksjon av gjennomsnittlig proporsjonal abundans (PA). For sopp i død ved ble heterogenitet i deteksjonssannsynlighet modellert som fraværende (ingen), som en «finite mixture» med to diskrete grupper (H2), «continuous random effects» (RE), eller som en funksjon av gjennomsnittlig proporsjonal abundans (PA). For planter ble heterogenitet i deteksjonssannsynlighet modellert som fraværende (ingen) eller en «finite mixture» med to diskrete grupper (H2).

Taksonomisk gruppe	Antall	Modell for heterogenitet			
		Ingen	H2	RE	PA
<b>Sopp i jord</b>					
<i>Skog</i>					
Ascomycota	499	542 ± 8	713 ± 45		1830 ± 433
Basidiomycota	432	470 ± 8	557 ± 26		718 ± 62
Zygomycota	133	137 ± 2	171 ± 15		258 ± 57
Totalt skog	1064	1149 ± 11 (1,08×)	1441 ± 54 (1,35×)		2806 ± 441 (2,64×)
<i>Semi-naturlig mark</i>					
Ascomycota	595	639 ± 8	824 ± 41		1583 ± 221
Basidiomycota	470	522 ± 9	617 ± 28		922 ± 90
Zygomycota	227	241 ± 5	315 ± 25		976 ± 171
Totalt semi-nat.	1292	1402 ± 13 (1,09×)	1756 ± 56 (1,36×)		3481 ± 279 (2,69×)
<b>Sopp i død ved</b>					
Ascomycota	604	685 ± 12	933 ± 58	2607 ± 840	1253 ± 111
Basidiomycota	210	252 ± 9	305 ± 27	259 ± 9	321 ± 27
Zygomycota	54	60 ± 3	83 ± 21	174 ± 149	99 ± 29
Totalt	868	997 ± 15 (1,15×)	1321 ± 67 (1,52×)	3040 ± 853 (3,50×)	1673 ± 118 (1,93×)
<b>Planter</b>					
Skog	36	37 ± 1 (1,03×)	47 ± 7 (1,31×)		
Semi-naturlig mark	68	70 ± 2 (1,03×)	100 ± 21 (1,47×)		
<b>Leddormer</b>					
Skog	26	26,2 ± 0,5 (1,01×)	27,9±2,2 (1,31×)		26,5 ± 0,8 (1,31×)
Semi-naturlig mark	39	39,1 ± 0,2 (1,00×)	39,6±1,0 (1,47×)		39,4 ± 0,7 (1,47×)

## 3.3 Diskusjon

### 3.3.1 Abiotiske faktorer

Lokalitetene i skog og semi-naturlig mark hadde jord med ulike egenskaper, og dette har naturlig nok stor betydning for samfunnet av planter og sopp i de ulike naturtypene. Jordsmonnet på skoglokalitetene hadde høyere jordfuktighet, lavere pH og høyere innhold av organisk karbon i jorda (SOC). Dette er ikke overraskende gitt at noen av lokalitetene hadde innslag av myr. Skogslokalitetene hadde også lavere nitrat-nivåer og høyere kalium-nivåer, noe som i stor grad skyldes én prøve med tydelig myrpreg (se **Vedlegg 5**). Bruk av forbedrede metoder hadde gjort det mulig å påvise stoffer som nå var utenfor analysenes deteksjonsgrenser (se **Tabell 3.3**). I tillegg hadde en bedre oppløsning på næringsprofilen i jorda, for eksempel når det gjelder fordeling av karboninnhold i jorda, vært mulig ved å dele opp jordprøvene etter dybde og analysere de forskjellige dybdeprofilene individuelt. Dette er imidlertid svært arbeidskrevende. Som et kostnadseffektivt alternativt valgte vi å inkludere så mye av jordprofilen som mulig i én prøve, og ikke bare det øvre organiske laget. En mer omfattende gjennomgang av resultatene av de kjemiske jordanalysene finnes i **Vedlegg 5**.

Ettersom skogslokalitetene inngikk i et representativt utvalg av norsk natur og ikke var lagt til gammelskogsområder, forventet vi ikke å finne store mengder død ved på de fem skogslokalitetene. Ganske riktig var både antall stokker og volumet av død ved begrenset, og én lokalitet manglet helt død ved innenfor 250 m<sup>2</sup>-flaten. Det innebærer at vår protokoll med prøvetaking av miljø-DNA i død ved innenfor et større areal var fornuftig for å fange opp ulike typer død ved og treslag. Likevel manglet noen typer død ved på noen lokaliteter, så det kan hende at arealet for prøvetaking bør økes ytterligere.

### 3.3.2 Analyser av miljø-DNA

I miljø-DNA-delen av dette prosjektet har vi testet hvordan prøvetakingsmetoder og DNA-ekstraksjonsmetoder påvirker miljø-DNA analyser av jord- og vedprøver. I tillegg har vi gjort en stor uttesting av genetiske markører for ulike artsgrupper for å vurdere egnetheten til jordprøver som en overvåkingsmetode for ulike taksa.

Våre funn tyder på at dersom målet er å overvåke artssamfunn på et bredt taksonomisk nivå, er analyser av miljø-DNA fra jordprøver en svært kostnadseffektiv metode der flere artsgrupper kan overvåkes i en og samme prøve. En videre utvikling av genetiske markører for flere dyregrupper vil gjøre metoden enda mer anvendbar. Innsamling av jordprøver krever kun enkel opplæring av felpersonell og er ikke avhengig av taksonomiske eksperter i felt. I tillegg vil en taksonomisk bestemmelse av artsrike grupper som sopp, med ca. 2000 taksa påvist i denne studien, i et kostnadsperspektiv ikke være mulig på nasjonal skala. En samkjøring med andre eksisterende prosjekter, som for eksempel nasjonal overvåking av insekter, vil dermed kunne gi en svært kostnadseffektiv overvåking av biodiversitet i jord ved å dra nytte av eksisterende infrastruktur for feltarbeid og skape gode synergier mellom prosjekter både gjennom arbeidsinnsats og ikke minst gjennom utvidete analyser av data fra de samme lokalitetene. Sammenligning av miljø-DNA resultater på planter og data fra konvensjonelle taksonomiske analyser gjennom ANOVA viser et godt samsvar også når det kommer til artsidentitet. Som ved alle sammenligninger av metoder blir det funnet noen arter bare med den ene eller andre metoden. Vi anser likevel at dersom hensikten er en kostnadseffektiv overvåking av artssamfunn generelt, er en miljø-DNA-basert overvåking egnet.

Generelt ser vi at den taksonomiske spesifisiteten varierer svært mye mellom markører. Noen markører er spesielt utviklet for miljø-DNA analyser, mens andre markører er utviklet for å fange opp alle arter innen en artsgruppe med mindre fokus på miljøprøver. Sistnevnte markører er ofte ikke spesifikke nok for målgruppen, noe som fører til at en svært liten andel av DNA-resultatene representerer målgruppen. Vi finner at markørene for sopp, planter og leddormer har en tilfredsstillende taksonomisk spesifisitet og gir et godt bilde av artssammensetningen av disse gruppene i jordprøver. Markørene for midd, edderkopper og to av markørene for insekter ga dårlig DNA-produkt og kun et fåtall av prøvene ble derfor sekvensert. Markørene for rundormer, spretthaler,



vertebrater, samt én av markørene for insekter, påviste lite DNA fra målgruppen. Videre uttesting av markører kan gi bedre resultater for disse artsgruppene.

Mye av DNAet i miljøprøver består av bakterier og sopp, og markører som er for generelle, vil derfor stort sett påvise disse taksonomiske gruppene. Dette er et felles problem for alle miljøprøver, og analyser av vannprøver og avføringsprøver har de samme utfordringene. Bedre markører kan løse noe av dette problemet, men det finnes også andre alternativer. I vannprøver ser vi for eksempel at krepsdyr avgir lite DNA til vannet, og at en planktonprøve derfor gir mye bedre DNA-data enn en vannprøve (Bui et al. 2021). For påvisning av parasittiske rundormer i jordprøver vil valg av prøvetakingssted være avgjørende, og mens en tilfeldig jordprøve nesten aldri inneholder parasittiske rundormer finner vi mange av disse i jordprøver tatt fra saltsteinsplasser, der både tamme og ville dyr bruker mye tid (Davey et al. 2021).

I et prosjekt der vi ser på spredningsveier av insekter gjennom import av hageplanter bruker vi Berlese-trakter til å drive ut levende insekter fra jordprøver ved hjelp av kunstig lys (Westergaard et al. 2020). På denne måten får vi oppkonsentrert artsgruppene vi ønsker å studere og kan bruke generelle genetiske markører til å beskrive diversiteten av insekter og spretthaler i jordprøvene. Denne fremgangsmåten har gitt svært gode data, og en slik utdriving av levende organismer fra jordprøver vil være fornuftig å teste ut også i dette prosjektet. Metoden er velkjent for utdriving av spretthaler fra jordprøver (Pommeresche & Fjellberg 2011).

Det ble også testet to ulike sekvenseringsmaskiner i dette prosjektet, der den ofte benyttede Illumina MiSeq-maskinen ble sammenlignet med den nyere Illumina NovaSeq-maskinen. Mens MiSeq-maskinen typisk gir 10 millioner DNA-sekvenser i en analyse, gir NovaSeq maskinen hele 800 millioner DNA-sekvenser i en analyse. En mye høyere sekvensdybde, det vil si flere DNA-sekvenser per prøve, vil gi mer data per prøve og vil dermed kunne påvise flere arter. For lav sekvensdybde kan føre til påvisning av færre arter enn forventet. En nyere studie viser også at teknologien som brukes i den nye maskinen i tillegg påviser flere arter med det samme antallet DNA-sekvenser (Singer et al. 2019). Vi ser fra våre data at analysene for sopp og planter ved hjelp av MiSeq-maskinen viser en sterk sammenheng mellom andel sekvenser og sannsynligheten for at en art blir påvist. Dette tyder altså på at sekvensdybden er for liten i disse analysene og at vi mest sannsynlig ikke har påvist hele artsmangfoldet i prøvene med lav sekvensdybde. Til sammenligning finner vi mindre effekt av sekvensdybde for leddormer, som ble sekvensert på en NovaSeq-maskin.

Vi finner likevel sterke kontraster i artssamfunnet av sopp på løvtrær og bartrær, og fra død ved i ulike nedbrytningsstadier, noe som indikerer at disse dataene likevel er egnet for overvåking av artssamfunn. De vanligste artene blir altså påvist selv med lav sekvensdybde, mens det er de sjeldne artene som uteblir fra resultatet (se også **kap. 4**). Sekvensdybden er også avhengig av artsmangfoldet i gruppen man studerer, og der vi påviser 20-30 planter per prøve finner vi 100-300 arter av sopp i de samme prøvene. Vi trenger altså en høyere sekvensdybde for mer artsrike målgrupper. Merk at vi likevel har greid å påvise en ikke ubetydelig andel av soppartene som finnes i Norge (totalt ca. 8400 arter, Artsdatabanken 2020), mens for planter (ca. 2300 arter i Norge, Artsdatabanken 2020) og rundormer (ca. 900 arter i Norge, men mange av disse ikke er terrestriske; Bakken et al. 2015) er andelen arter påvist mye mindre. Forskjellene i andel arter påvist har trolig sterk sammenheng med hvorvidt de svært få lokalitetene vi har undersøkt, overlapper med artsrike habitater for de ulike artsgruppene.

I tillegg til å gi oss informasjon om arter, gir de DNA-baserte metodene vi bruker i denne studien også informasjon om DNA-variasjon innen arter, såkalte ASV'er (Amplicon Sequence Variants) eller haplotyper (Callahan et al. 2017). Denne informasjonen blir brukt som en del av variasjonen inn i artssamfunn, og gir en enda finere oppløsning enn artsidentitet. Dermed kan vi overvåke hvordan genetisk variasjon endrer seg over tid og rom (populasjonsgenetikk), og på den måten avsløre tap av biomangfold innen arter eller migrasjonsbarrierer og geografiske områder med unik genetisk variasjon innen spesifikke arter. Foreløpige analyser fra overvåking av insekter viser for eksempel at flere vanlige arter som finnes både på Østlandet og i Trøndelag har svært

ulike haplotyper, og dermed innehar genetisk variasjon som er viktig å ta vare på utover artsidentitet.

Analyser på ASV-nivå gjør også miljø-DNA til en svært egnet metode for å påvise endringer over tid, og ikke minst for overvåking av effekter av tiltak (se f.eks. Evju et al. 2021). Med klassisk taksonomi vil man for eksempel benytte en matrise med 20 arter av en spesifikk taksonomisk gruppe, mens med miljø-DNA analyser vil denne matrisen raskt inneholde 400 haplotyper og dermed gi en mye finere oppløsning for å påvise endringer. Slike analyser er heller ikke nødvendigvis avhengig av artsidentitet, og der en taksonomisk eller genetisk identitet bare kan bestemme et individ til slekt eller familie, vil vi uansett kunne bruke haplotyper til å analysere faktiske genetiske endringer over tid eller rom.

Referansedatabaser for ulike artsgrupper varierer mye i hvor fullstendige de er når det gjelder norske arter og ikke minst i hvordan de er strukturert for taksonomisk bestemmelse. Vi har i tidligere rapporter gått gjennom dekningsgrad for ulike ordener av insekter i slike databaser, og vi ser at selv om mange ordener har god dekningsgrad internasjonalt, er det ofte få referansesekvenser fra Norge (Åström et al. 2019a). Når det gjelder gruppene vi har undersøkt i dette studiet er det ikke like lett å estimere referansedatabasenes dekningsgrad, da for eksempel antall sopp eller leddormer i jord i områdene vi har sett på ikke nødvendigvis er kjent. Som diskutert over er ikke artsidentitet nødvendig for å overvåke endringer i biomangfold over tid. Men for å knytte nye data basert på miljø-DNA til historiske data basert på konvensjonell taksonomi er man avhengig av artsidentitet, og der vil dagens referansedatabaser sette begrensninger.

Den mest vanlige metoden for å tilegne DNA-sekvenser til arter er gjennom BLAST-sammenligning av sekvenser i Genbank, som kun gir en prosentvis likhet mellom DNA-sekvensen vi har funnet og en referansesekvens i Genbank. Ofte kan man finne flere referansesekvenser fra ulike arter som gir den samme prosentvise likheten. Med denne metoden er det vanskelig å si om man har et godt eller dårlig treff for en viss art. Ved å bruke programmet RDP-classifier eller andre maskinlæringsmetoder for å tilegne DNA-sekvenser (ASV/haplotype) til arter får man en konfidensverdi for hvert taksonomisk nivå for hver DNA-sekvens. Man kan altså si hvor sikker man er på at dette for eksempel er rett art, hvor sikker man er på at dette er rett slekt, og hvor sikker man er på at dette er rett familie. For å gjøre dette på en best mulig måte krever dette at man lager en lokal referansedatabase for norske arter. Vi anbefaler derfor at det blir brukt ressurser fra miljøforvaltningen til utvikle slike referansedatabaser for relevante artsgrupper.

Til sist er det også et spørsmål om hva man ønsker å overvåke. Tradisjonelt er overvåking knyttet til arter og artsidentitet. For miljø-DNA resultater det nå flere studier som foreslår såkalt «taksonfri» DNA-overvåking (Cordier mfl. 2018, Mächler mfl. 2020). Dette vil ikke gi en oversikt over arter, men man benytter heller maskinlæring på store databaser av genetiske data for å predikere status og tilstand i miljøet. Så langt har denne tilnærmingen gitt svært gode resultater, men dette er en problemstilling som må diskuteres og vurderes av miljøforvaltningen.

## 4 Sammenligning av miljø-DNA og tradisjonell kartlegging av sopp i død ved

For å sammenligne kartlegging av sopp i død ved ved bruk av tradisjonelle metoder og miljø-DNA, har vi benyttet et eksisterende datasett fra PATHEXT-prosjektet (Norges Forskningsråd #203808) som ble samlet inn i perioden 2010-2011. Dette datasettet omfatter 60 gran-stokker på hver av 14 par skog-lokaliteter i Norge og Sverige, totalt over 100 000 fruktlegemer av over 400 arter av vedlevende sopp, pluss miljø-DNA-prøver. PATHEXT-datasettet inneholder med andre ord data vi ikke har hatt mulighet til å samle inn innenfor rammene av «Kartlegging med digitale verktøy»-prosjektet, og de gir oss derfor en unik mulighet til å evaluere bruk av miljø-DNA for kartlegging av vedlevende sopp.

### 4.1 Materialer og metoder

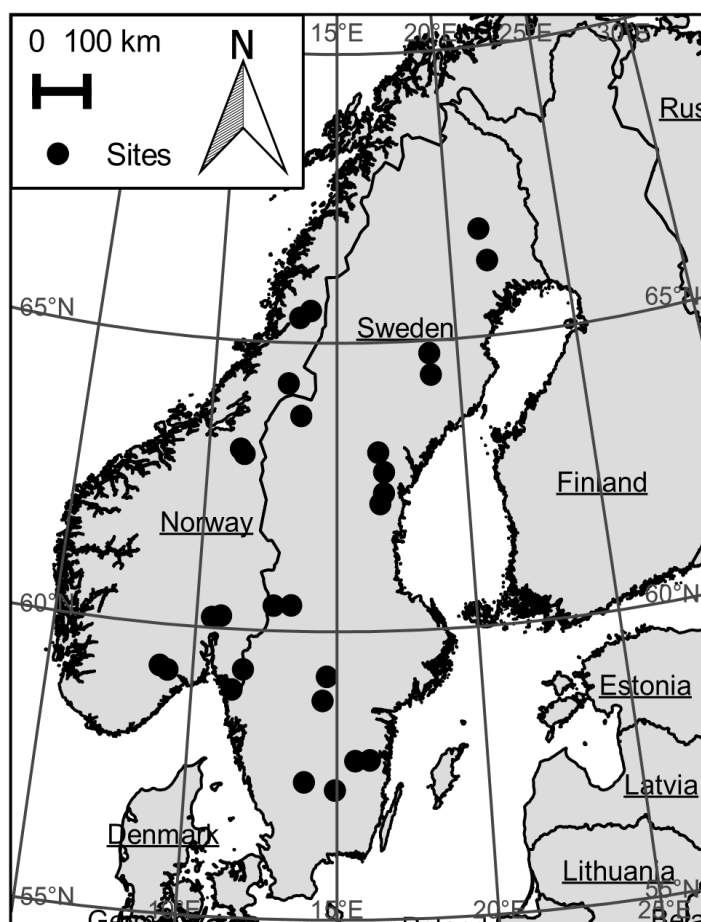
To grupper av vedlevende stilksporesopper (Basidiomycota), kjuker og barksopper, ble kartlagt med tradisjonelle fruktlegemebaserte undersøkelser og analyser av miljø-DNA på 14 par lokaliteter som representerer naturskoglignende granskog. I hvert lokalitetspar var den ene lokaliteten et stort verneområde og den andre lokaliteten et lite verneområde eller en liten nøkkelbiotop. Lokalitetene dekker en rekke klimatiske forhold fra sør til nord i granas utbredelsesområde i Skandinavia (**Figur 4.1**). Undersøkelsene ble gjort i 2010-2011 i løpet av september-oktober, som er den beste fruktifiseringsperioden for soppene. På hver av lokalitetene ble det etablert en undersøkelsesflate på fire hektar (200 × 200 m), der 60 store granlæger (diameter 20-40 cm) ble valgt for studien. Fire nedbrytningsstadier fra ferske til godt nedbrutte læger ble kartlagt i like store proporsjoner (ca. 15 læger i hvert nedbrytningsstadium).

Fruktlegemekartleggingen besto av nøye visuell inspeksjon av hver låg og samling av eksemplarer av alle de levende og døde fruktlegemene som ikke med sikkerhet kunne identifiseres til art i felt. Kartlegging tok ca. 10-40 min per låg, tiden var avhengig av lågens nedbrytningsgrad: ferske og små stokker har få fruktlegemer og er raske å kartlegge, mens gamle og store stokker har mange fruktlegemer og tar mer tid å kartlegge. Til sammen tok det tre dager å kartlegge de 60 granlægene på en lokalitet. De fleste soppartene (de fleste kjukene og nesten alle barksoppene) kan ikke bli identifisert til art med sikkerhet uten mikroskopi, og derfor ble det tatt et eksemplar av nesten alle fruktlegemer på lægene, noe som resulterte i til sammen > 100000 belegg av fruktlegemer. Hver av dem ble senere identifisert til art mikroskopisk av eksperter i løpet av flere år (> 3 årsverk). Mange av de mikroskopisk identifiserte fruktlegemene ble strekkodesekvensert for å forbedre referansesekvensdatabasene som er nødvendig for identifisering av arten fra sekvensmateriale.

Vedprøver fra de samme lokalitetene ble samlet fra hver låg ved å bore i fem steder langs stokken: 1,3 m, 3,8 m, 6,3 m, 8,8 m og 11,3 m fra basis (2,5 m intervaller) på lokaliteter i Norge og Nord-Sverige (hvor lægene vanligvis er kortere enn i Sør-Sverige), og 1,3 m, 4,3 m, 7,3 m, 10,3 m og 13,3 m fra basis (3 m intervaller) på lokaliteter i Sør-Sverige, med sikte på å dekke minimum den basale og midtre delen av lågen. Designet med fem hull spredt over den grove delen av stokken ble valgt basert på resultater fra en tidligere pilotstudie (Ovaskainen et al. 2010) som viste at et slikt design fanger opp en stor del av soppfunnet. Flere borehull enn fem ville fanget opp en enda større del av samfunnet, men det ville tatt lengre tid og krevd en sampling som er mer invasiv enn fem hull. Til boreprøvene ble det benyttet et elektrisk bor (Makita BDF452FE) med 10\*400 mm borkroner og boret fra en side på tvers og nesten gjennom stokken for å få prøvemateriell fra hele tverrsnittet. Før boring ble barken og et 1-2 mm lag av overflaten fjernet fra hvert borepunkt med kniv. Kniven og borekronen ble rengjort mekanisk med en stålborste og sterilisert med en flamme (gassbrenner) mellom lægene, og kniven også mellom borehullene. Vedprøvene fra de fem borehullene ble samlet i en «ziplock»-pose som ble plassert i

fryser (-20 °C) om kvelden på prøvetakingsdagen og lagret der til DNA-ekstraksjon. Boring tok i gjennomsnitt ca. 20-25 min. per låg.

Sagflisprøver ble homogenisert, og DNA ble ekstrahert fra homogenisert materiale ved bruk av Nucleospin Soil kit (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG) i henhold til produsentens anbefalinger. PCR ble kjørt på en MJResearch PCT-200 Thermal Cycler (MJ Research, Waltham, MA) ved bruk av primerne ITS4 (White et al. 1990) og ITS7A (Ihrmark et al. 2012). Sekvenseringen ble gjort på Oslo Sequencing Center, på 454-plattformen. Dette er en annen sekvenseringsteknologi enn den som er beskrevet i **kap. 3**, men begge metodene er egnet til å påvise mønstre i arts-sammensetning. Bioinformatisk prosessering av sekvensdata inkluderte kontrollering for bytte av tags, sekvenskvalitet, «denoising», chimera-sjekking og fjerning av globale singleton-OTUer og alle ikke-målorganismer (hovedsakelig alger). Taksonomisk identifisering av sekvensene ble gjort ved bruk av BLAST i tilpassende databaser inkludert UNITE-databasen og en skreddersydd referansesekvensdatabase som dekker de fleste barksoppene og kjukene, samt BLAST i NCBI-nr-databasen.



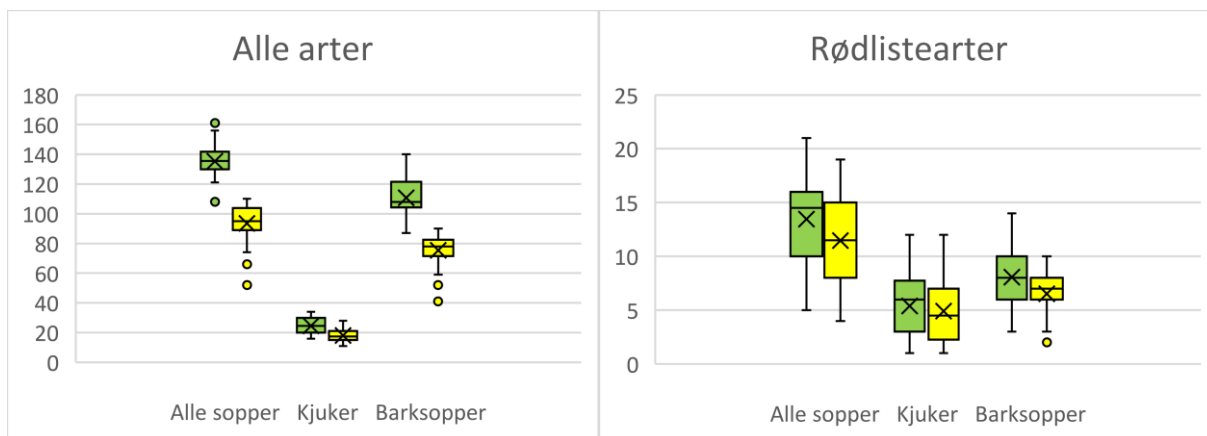
**Figur 4.1.** Naturskogslignende granskoger som ble undersøkt for vedlevende sopper med miljø-DNA og tradisjonell kartlegging av fruktlegemer. Fra Nordén et al. 2018.

## 4.2 Resultater

Til sammen ble 425 arter av barksopper og kjuker påvist med tradisjonell kartlegging av fruktlegemer: 358 barksopparter og 67 kjukearter. Med miljø-DNA ble det til sammen påvist 251 arter av barksopper og kjuker: 188 barksopparter og 63 kjukearter.

Også på lokalitetskala resulterte kartlegging av fruktlegemer i høyere artsmangfold enn miljø-DNA (**Figur 4.2**). Med fruktlegemekartlegging ble det funnet i gjennomsnitt 135,4 arter per lokalitet (standardavvik 14,2; variasjonsbredde 108-165). For kjuker var tallene 24,6 arter per lokalitet (SD 5,4; variasjonsbredde 16-34), og for barksopper 110,8 arter per lokalitet (SD 12,25; variasjonsbredde 87-140). Med miljø-DNA-undersøkelser ble det funnet 93,4 sopparter per lokalitet (SD 12,9; variasjonsbredde 52-110). For kjuker var tallene 18,0 arter per lokalitet (SD 4,1; variasjonsbredde 11-28), og for barksopper 75,4 arter per lokalitet (SD 10,7; variasjonsbredde 41-90). For rødlisteartene var trendene de samme: fruktlegemeundersøkelser resulterte i høyre antall arter, særlig når det gjaldt rødlistede barksopparter (**Figur 4.2**).

Trendene var også de samme på skala av den enkelte låg: kartlegging av fruktlegemer avslørte en større del av sopp-samfunnet enn miljø-DNA. Med fruktlegemekartlegging ble det funnet i gjennomsnitt 13,0 sopparter per låg (SD 6,5; variasjonsbredde 0-40), hvorav i gjennomsnitt 2,8 (SD 2,0; variasjonsbredde 0-12) kjukearter og 10,3 (SD 5,6; variasjonsbredde 0-33) arter av barksopp. Med miljø-DNA ble det funnet i gjennomsnitt 8,7 sopparter per låg (SD 4,3; variasjonsbredde 0-24), hvorav i gjennomsnitt 2,2 arter (SD 1,5; variasjonsbredde 0-8) kjukearter, og 6,5 (SD 4,1; variasjonsbredde 0-22) arter av barksopp.



**Figur 4.2.** Antall arter per lokalitet på de 28 norske og svenske skogslokalitetene, som påvist ved tradisjonelle fruktlegemeundersøkelser (grønt) og miljø-DNA (gult). Gjennomsnitt (kryss), median (linje) og 25 % og 75 % kvartiler (boks), samt minimum og maksimum, er angitt separat for alle arter (til venstre) og rødlistearter (til høyre), og separat for alle sopper, kjuker og barksopper.

For kjukearter fanget begge metodene opp ca. to tredjedeler av samfunnet, og den tradisjonelle metoden var bare litt bedre enn miljø-DNA til å fange opp arter (**Figur 4.3**). Men for barksopper, som utgjør den største delen av basidiomycetsamfunnet i død ved, var den tradisjonelle metoden betydelig bedre enn miljø-DNA-metoden: fruktlegemekartlegging påviste mange flere arter enn miljø-DNA-undersøkelse (**Figur 4.3**).

Det ble observert totalt 80 rødlistearter; 75 arter med den tradisjonelle metoden og ytterligere 5 arter som ble bare observert med miljø-DNA (**Figur 4.3**). Nesten dobbelt så mange arter ble

observert med den tradisjonelle metoden sammenlignet med miljø-DNA. For rødlistede kjuker var ikke forskjellen mellom metodene stor, men forskjellen var betydelig for rødlistede barksopper; mer enn dobbelt så mange arter ble observert med fruktlegemekartlegging sammenlignet med miljø-DNA, og bare tre av artene som ble observert med miljø-DNA, ble ikke sett i fruktlegemekartlegging.



**Figur 4.3.** Vedlevende sopparter som ble funnet med tradisjonell kartlegging av fruktlegemer (grønt) og med miljø-DNA (gult) i 28 skogslokaliteter. Flere arter ble funnet med den tradisjonelle metoden, særlig for rødlistearter (nederste rad). For rødlistede kjukearter var ikke forskjellen mellom metodene veldig stor, men for barksopparter var den tradisjonelle metoden betydelig bedre.

### 4.3 Diskusjon

Barksopper og kjuker er veldig artsrike grupper av vedlevende sopper, der en stor andel av artene er rødlistet; ca. halvparten av kjuker og en tredjedel av barksopper (Henriksen & Hilmo 2015). Systematiske undersøkelser av disse artene er særlig viktig fordi flere av artene, særlig barksopper, er utilstrekkelig kartlagt. Undersøkelser som er basert på tradisjonell kartlegging av fruktlegemer, krever mye tid til mikroskopisk identifikasjon, som er ekspertarbeid, men viser seg her å gi et bedre resultat enn miljø-DNA-undersøkelse.

Forskjellene i resultatene skyldes sannsynligvis at vedprøver til miljø-DNA-analyse bare kommer fra fem punkter langs hver låg, mens fruktlegemene blir registrert langs hele lågen. Dessuten er noen arter, særlig av barksoppene, ikke godt nok eller ikke i det hele tatt representert i referansesekvensdatabaser, noe som gjør identifisering ved hjelp av miljø-DNA vanskelig. Et problem med sekvensdataene er i tillegg at de inneholder sannsynlige og åpenbare feilidentifikasjoner relatert til tilgjengeligheten av referansesekvenser. For eksempel kan en sekvens ha blitt tildelt en art som ikke forekommer i Norge, hvis en nært beslektet art ennå ikke har blitt strekkodesekvensert.

Problemet med tradisjonell kartlegging basert på fruktlegemer er at ikke alle arter fruktifiserer når undersøkelsen er gjort, selv om de er tilstede. Det er særlig de sjeldne, økologisk spesialiserte artene som har lav fruktifiseringsrate (Ovaskainen et al. 2013), det vil si som forholdsvis sjelden fruktifiserer selv om de er tilstede, noe som bidrar til deres sjeldenhet. Imidlertid er fruktifisering et entydig tegn på tilstedeværelse av et individ av en gitt art som tilhører det lokale sopp-samfunnet, og som er i stand til å reprodusere. Med miljø-DNA vet vi aldri om vi faktisk har truffet et levende og potensielt reproduksjonsdyktig individ (mycel), dødt mycel, eller en død eller levende spore som ikke nødvendigvis tilhører det lokale sopp-samfunnet eller som har aldri klart å etablere seg i det lokale samfunnet (død spore). De fleste basidiesopper er avhengig av at to kompatible mycel parer seg før fruktifisering er mulig. Fruktifisering er kritisk for populasjonsdynamikken, men miljø-DNA gir ikke informasjon om slike aspekter, som er svært viktige særlig for sjeldne arter og arter med negative populasjonstrender.

En død låg inneholder titalls eller til og med hundrevis av sopparter (basidiomyceter og ascomyceter), noe som gjør det vanskelig å observere dem alle. Arter med lite mycel, få mycel eller DNA som amplifiserer dårligere enn DNA av andre arter, blir lett oversett med miljø-DNA. Arter med få og lite mycel er typisk sjeldne og/eller rødlistede og derfor viktig å kartlegge og overvåke. Miljø-DNA alene passer ikke bra til kartlegging eller overvåking av slike arter. Mange av rødlisteartene blir veldig sjelden eller aldri observert med miljø-DNA (**Figur 4.3**). Vi anbefaler bruk av fruktlegemekartlegging og miljø-DNA i kombinasjon for å observere flest mulig arter, også rødlistearter, og finne ut i hvilken grad arter som er tilstede klarer å reprodusere. Fruktlegemekartlegging i den beste fruktifiseringsperioden, det vil si om høsten, gir et godt resultat selv for de sjeldne spesialistartene (**Figur 4.3**). Miljø-DNA passer dårlig til intensiv overvåking av enkeltstokker fordi boring er invasivt og påvirker sopp-samfunnet i stokken. Derfor anbefaler vi ikke boring av enkeltstokker flere ganger. På lokalitetsnivå kan boring imidlertid bli gjort som overvåkingsaktivitet gitt at et nytt utvalg av stokker bores for hvert omdrev.

## 5 Kamerafeller for kartlegging og overvåking av store og mellomstore pattedyr

I dette kapitlet demonstrerer vi hvordan data fra kamerafeller kan benyttes til overvåking av arts- mangfold og fenologi hos pattedyr. Vi har benyttet billedata innsamlet fra eksisterende kamera- feller i regi av prosjektet SCANDCAM (**kap. 5.1**). Mer spesifikt har vi sett på hvordan denne typen data kan brukes til å kartlegge og overvåke ulike aspekter ved:

- Antall og tetthet av dyr (**kap. 5.2**)
- Arters utbredelse (**kap. 5.3**)
- Artssammensetning av dyresamfunn (**kap. 5.4**)
- Fenologi (**kap. 5.5**)
- Dyrehelse (**kap. 5.6**)

Noen av dataene her er publisert tidligere, men er benyttet her som viktige eksempler på hvordan kamerafelle-data kan brukes i kartlegging og overvåking av flere arter og ulike aspekter med samme feltinnsats. Andre datasett er nye i den forstand at de er gjennomgått (verifisert) og ana- lysert som en del av dette prosjektet. I eksemplene nedenfor inkluderes bilder fra hele eller ulike deler av SCANDCAM-prosjektet. Detaljer rundt hvert enkelt datasett er angitt i de ulike delkapit- lene.

### 5.1 SCANDCAM

#### 5.1.1 Bakgrunn

Selv om ikke alle kan sies å være nøkkelarter, er det rimelig å si at mellomstore og store pattedyr spiller en viktig rolle i våre økosystemer. Store planteetere, som elg, hjort og rådyr, kan ha store effekter på skogsvegetasjon og tilknyttet biologisk mangfold. De store rovdyrene har potensiale til å påvirke trofiske interaksjoner mellom planteetere og vegetasjon og etterlater åtsler til åtsel- etere. De mellomstore rovdyrene som rødrev og mår, er viktige predatorer for mindre pattedyr og bakkerugende fugl.

Det norske skogøkosystemet er ikke villmark, men en intensivt utnyttet «utmark» der vi mennes- ker påvirker artsinteraksjonene i stor grad. Mennesker har stor interesse for mange av artene på grunn av deres økonomiske verdi, rekreasjonsverdi, deres rolle i konflikter eller på grunn av deres bevaringsverdi. Pattedyrsamfunnet er både en sentral driver i mange økosystemprosesser og trofiske interaksjoner i skogene våre og representerer potensielle indikatorer for endringer.

Noen arter (som elg og store rovdyr) er allerede gjenstand for nasjonale overvåkingsprogram- mer, men få andre arter er nøye overvåket i dag. Kamerafeller er en av de mest benyttete me- todene for overvåking av pattedyr i skog, og målsettingen for overvåkingen vil avhenge av arts- grupper og tematikk. SCANDCAM-prosjektet har som mål å utvikle en metode som kan overvåke større deler av pattedyrsamfunnet i skog.

#### 5.1.2 Om prosjektet

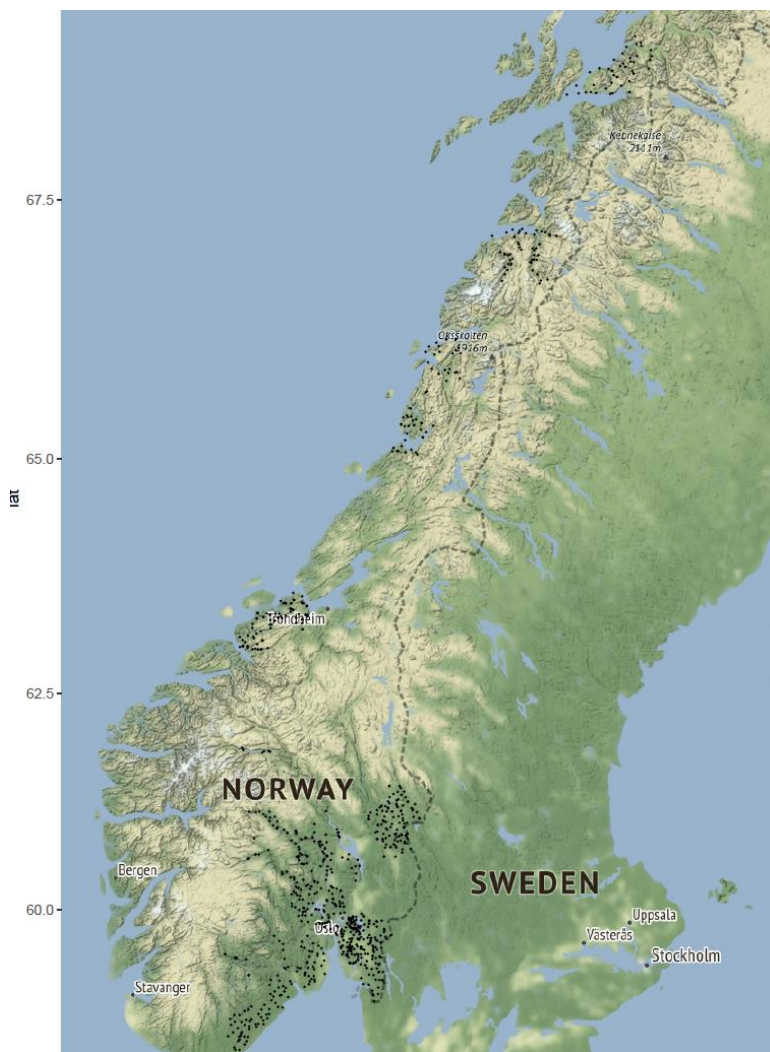
Forskningsprosjektet SCANDCAM (<https://viltkamera.nina.no/>) har som mål å utvikle kamerafel- ler som verktøy for å gi forvaltningen kunnskapsgrunnlaget som er nødvendig for å ta beslut- ninger om pattedyrbestander i Skandinavia. Prosjektet startet i 2010 for å bistå i arbeidet med å overvåke gaupe. De siste årene har prosjektet utviklet seg til et sett med prosjekter som samler relevant kunnskap om overvåking av pattedyrsamfunn i det norske skogøkosystemet, i tillegg til å være en viktig del av overvåking av gaupe. SCANDCAM har totalt hatt kamerafeller på 1700 lokaliteter i Norge, i fylkene Troms og Finnmark, Trøndelag, Møre- og Romsdal, Innlandet, Viken, Vestfold og Telemark og Agder (**Figur 5.1**).



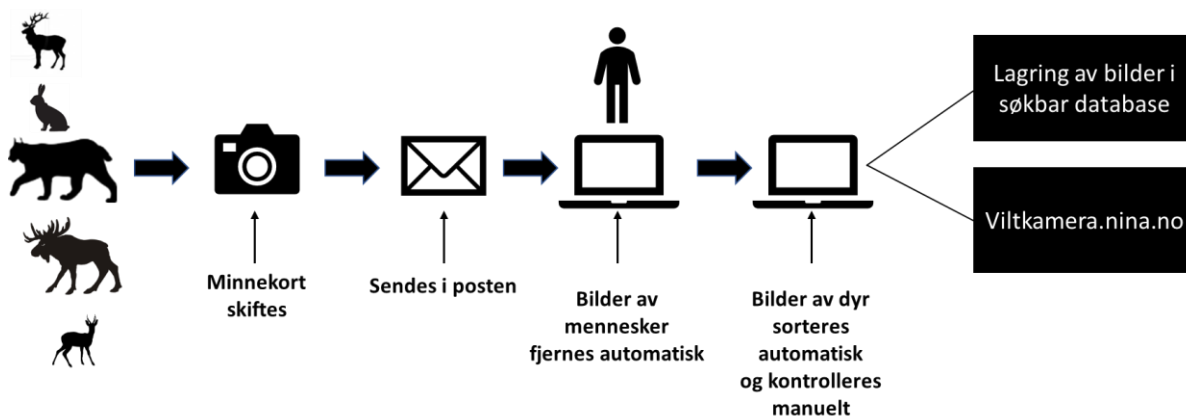
SCANDCAM er finansiert av Norges forskningsråd, NINAs strategiske instituttprogram, Miljødirektoratet og det svenske Naturvårdsverket, i tillegg til en rekke Statsforvaltere (tidl. Fylkesmannen), Rovviltnemnder og Fylkeskommuner. Prosjektet drives i regi av NINA og Sveriges lantbruksuniversitet (SLU), men ulike delprosjekter gjennomføres i samarbeid med Høgskolen i Innlandet, Universitetet i Oslo (UiO) og Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU). Arbeidet i felten skjer gjennom bruk av lokale krefter organisert av fylkeslag av Norges jeger- og fiskerforbund (NJFF), ulike Länsstyrelser i Sverige eller NINA og SLU selv. De alle fleste kameraene er driftet av lokale jegere og andre naturinteresserte. En høy grad av brukermedvirkning er en bevisst del av prosjektets konsept.

De ulike studieområdene (**Figur 5.1**) har alle lik design og er delt inn i rutenett med 50 kvadratkilometer store ruter. Innenfor hver rute velges en lokalitet. Ruter med sammenhengende fjellområder og tettbefolkede områder utelates. Kameraene er ikke tilfeldig plassert, men plassert på steder hvor man forventer at vilt ferdes. Dette er eksempelvis kjerreveier, skogsbilveier og viltråkk. På hver lokalitet skrues kameraet, i den grad det er mulig, fast i trær med innretning 90 grader på forventet fartsretning, ca. 70 cm over bakkenivå og ca. 2 meter fra veien eller tråkket. Generelt benyttes én kamerafelle av typen Reconyx (<https://www.reconyx.com/>) per lokalitet. Kamerafellene trigges av en kombinasjon av varme og bevegelse foran kameraene. Kameraene er programmert til å ha høyest mulig sensitivitet og tar en bildeserie på 3 bilder i rask rekkefølge. Neste bildeserie startes umiddelbart etter at en bildeserie har blitt tatt. Alle kamera tar i tillegg ett bilde hver dag på et forhåndsbestemt tidspunkt for å gi tall på hvilke dager kameraene har fungert og bilde av vegetasjon og/eller snødekke. Kamerafellene er aktivert hele året og kontrolleres manuelt hver tredje måned.

Grunneiers tillatelse blir alltid innhentet før kameraene monteres, og lokalitetene er merket med navn og kontaktinformasjon. Personvern hensyn er ivaretatt. NINA har i dialog med Datatilsynet laget rutiner for kameraovervåkning og har utviklet egen programvare som bruker kunstig intelligens og bildegjenkjenningsteknologi til automatisk sletting av bilder som inneholder mennesker. Alle minnekortene fra kamerafellene må derfor prosesseres av NINA for å sikre at mennesker ikke blir overvåket. Per i dag er NINA det eneste instituttet i Skandinavia som har tilgang til denne teknologien, og i prinsippet er derfor NINA eneste operatør av kamerafeller som tilfredsstiller kravene fra Datatilsynet. NINA har ansvar for bildeanalyser og bildeklassifisering. **Figur 5.2** viser en skjematisk framstilling av prosessen fra et bilde blir tatt i skogen til bildene er lagret i NINAs databaser og er lagt ut på nettsiden <http://viltkamera.nina.no/> for publikum.



**Figur 5.1.** Kart over plassering av kamerafeller (sorte prikker) i Norge i regi av SCANDCAM siden 2010.



**Figur 5.2.** Skjematisk framstilling av prosessen fra et bilde blir tatt til bildene er lagret på NINA og lagt ut på nettsiden <http://viltkamera.nina.no/>.

## 5.2 Kartlegging av antall og tetthet

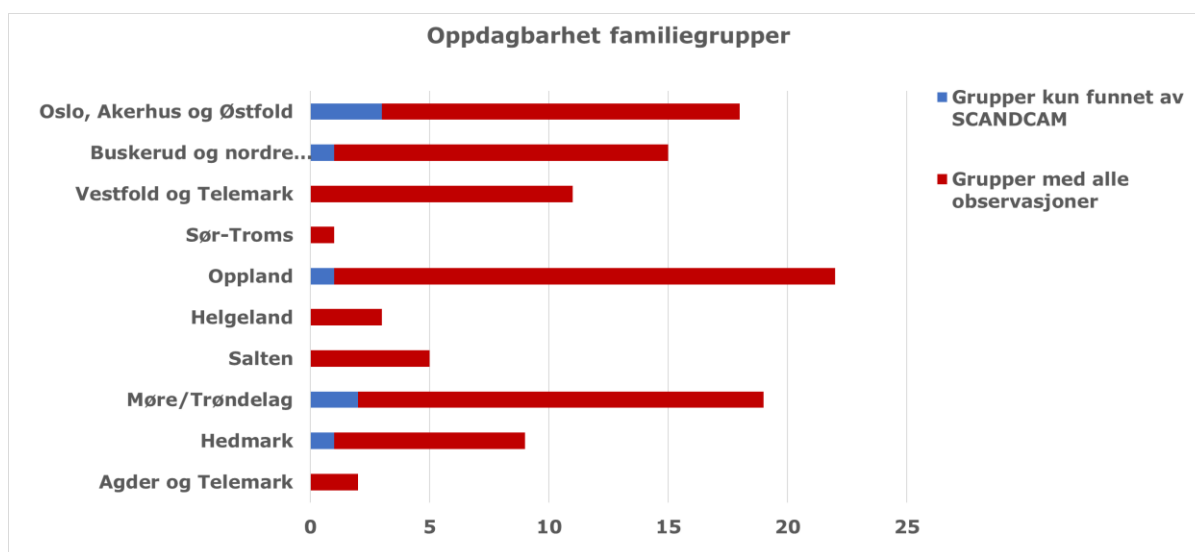
### 5.2.1 Validering av antall familiegrupper av gauper i Norge

Norge forvalter gaupe basert på en konkret målsetting om antall familiegrupper (voksente hunddyr med unger) (Anonym 2004). En årlig kvotejakt skal sørge for at antall familiegrupper holder seg rundt det fastsatte bestandsmålet. Årlige og presise bestandsdata er en forutsetning for å kunne se effekten av kvotejakten og følge bestandsutviklingen hos gaupe (Nilsen et al. 2012). Gaupebestanden i Skandinavia har siden midten av 1990-tallet blitt overvåket gjennom en årlig kartlegging av antall familiegrupper over hele landet (Gervasi et al. 2013, Kjørstad et al. 2012, Linnell et al. 2007). Gaupe er en art som har en sterk trofisk interaksjon med sitt viktigste byttedyr, rådyret, og god kunnskap om gaupebestanden er derfor viktig for å forstå endringer i rådyrbestander.

Overvåkingen er basert på folkeforskning, der lokale folk melder inn sporobservasjoner i snø, bilder fra viltkamera og døde gaupeunger til Statens naturoppsyn (SNO) i perioden fra 1. oktober til 28. februar. Rovdata beregner antall familiegrupper av gaupe ut fra alle observasjoner ved bruk av såkalte avstandskriterier (AK) som gir en objektiv klassifisering av antall familiegrupper med gaupe basert på forflytningsavstander hos radiomerkede hunngauper i Skandinavia (Gervasi et al. 2013, Linnell et al. 2007).

I deler av landet har det de siste årene vært variabelt og til dels manglende snødekke gjennom vinteren. Det har også i enkelte områder blitt rapportert om «observatørtretthet» grunnet konflikten rundt forvaltningen av rovdyr. Siden 2010 har derfor SCANDCAM benyttet kamerafeller til å evaluere overvåkingen av gaupe ved å se på oppdagbarhet av familiegrupper i ulike deler av Norge. Observasjoner av familiegrupper på kamerafellene har alle blitt registrert i Rovbase ([www.rovbase.no](http://www.rovbase.no)) og har inngått som en del av grupperingene gjort av Rovdata ([www.rovdata.no](http://www.rovdata.no)). Vi har her sett på hvor mange av Rovdatas grupperinger som kun inneholder en observasjon fra kamerafelle, og benyttet dette som et mål på hvor stor andel av familiegruppene den tradisjonelle på overvåkingen fanger opp. Disse dataene er tidligere publisert i årlige rapporter til Miljødirektoratet og regionale oppdragsgivere (f.eks. Odden 2020).

I perioden 2010-2020 ble det totalt registrert 104 familiegrupper av gaupe med tilhold helt eller delvis innenfor studieområdene ([rovbase.no](http://rovbase.no)). Av disse registrerte var åtte familiegrupper kun registrert med våre kamerafeller (**Figur 5.3**).



**Figur 5.3.** Andelen familiegrupper i studieområdene i Norge som kun er registrert av kamerafeller tilhørende SCANDCAM.

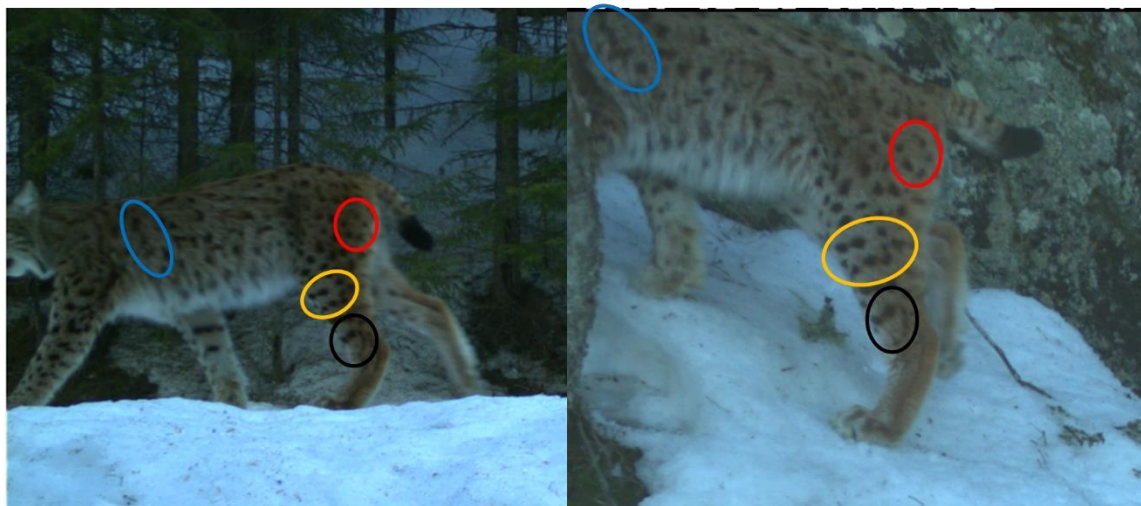
### 5.2.2 Beregning av tetthet av gaupe i Hedmark

Kamerafeller er den mest benyttede metoden for overvåking av kattedyr i verden i dag (Rovero & Zimmermann 2016). Metodikken er spesielt egnet for kattedyr da individer kan identifiseres ut fra mønstrene i pelsene (Bashir et al. 2013, Rodgers et al. 2014), og man kan beregne bestandsstørrelse ved hjelp av romlige fangst-gjenfangst-metoder (Karanth et al. 2006). I mange europeiske land er metodikken i mange år benyttet i overvåking av gaupe (Blanc et al. 2013, Pesenti & Zimmermann 2013, Weingarth et al. 2012, 2015, Zimmermann et al. 2013). Vi demonstrerer her metoden med data fra kamerafeller i vårt studieområde i Hedmark. Arbeidet med å identifisere gaupeindivider gjøres i dag manuelt, men det jobbes med å utvikle metoder for å gjøre dette ved hjelp av bildegjenkjenningsteknologi. Dataene på tetthet av gaupe er tidligere publisert årlige underveiserapporter til Miljødirektoratet og regionale oppdragsgivere (f.eks. Odden 2020).

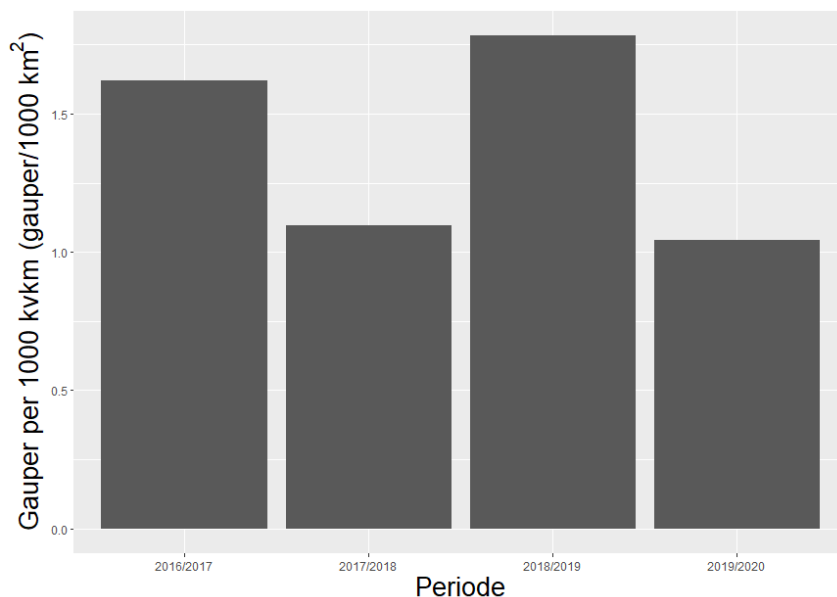
I fire vintre (2016/17-2019/20) har vi hatt fra 75 til 100 kamerafeller i kommunene Trysil, Åmot, Elverum, Våler og Åsnes. Til sammen registrerte vi gaupe 338 ganger og var i stand til å identifisere individ på 212 av disse observasjonene (**Figur 5.4**). Dette har vi igjen brukt til å regne på tettheten av voksne gauper i studieområdet hver vinter (oktober-mars).

Til sammen identifiserte vi minimum 17 gaupeindivider. Vi benyttet romlige fangst-gjenfangst-metoder, der vi lot oppdagbarheten variere mellom individer (Royle et al. 2013). Beregningene viser at tettheten av gaupe i studieområdet har variert fra ca. 0,98 til 1,76 gauper per 1000 kvadratkilometer (**Figur 5.5**).

Disse to eksemplene viser at kamerafeller har en viktig dobbeltfunksjon. De fungerer som en uavhengig kontroll av den snøbaserte overvåkingen i områder med godt snødekke. I områder med ustabil snødekke fungerer de også som et viktig supplement. En bedre oversikt over antall gauper sikrer bærekraft i forvaltning og et bedre grunnlag for å forstå deres økologiske rolle. I tillegg vil en høy grad av brukermedvirkning øke aksepten for overvåkningsdataene.



**Figur 5.4.** Eksempel på hvordan flekkmønster kan benyttes til å skille eller gruppere gaupeindivider. De ulike sirklene viser 4 spesifikke flekkmønstre som gjør at man kan konkludere med at de to bildene er av samme individ.



**Figur 5.5.** Beregnet tetthet av gaupe i studieområdet vintrene 2016/17 til 2019/20.

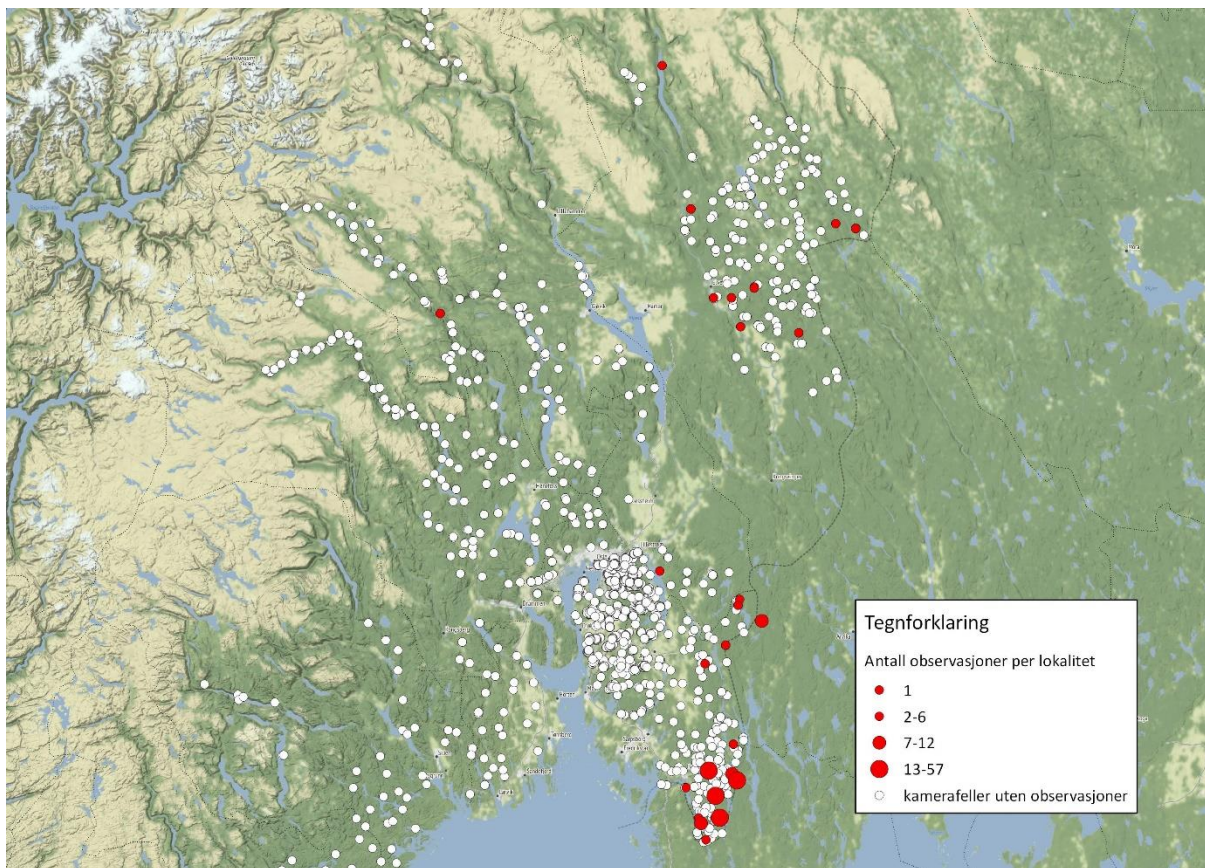
### 5.3 Kartlegging av utbredelse

Kunnskap om artssammensetningen i økosystemet er viktig. Fordelinger av arter varierer som en funksjon av ulike økologiske gradienter, og kan variere over tid som en konsekvens av blant annet klimaendringer, nedbygging og oppstyking av habitat og invasjon av nye arter. Uansett årsak vil det være viktig å overvåke effekten av pågående globale endringer i artsutbredelse hvis vi skal forstå og forvalte økosystemer i en verden i endring. Norske skoger har sett store endringer i artsutbredelse i løpet av forrige århundre. Elg og rådyr returnerte til de fleste områder fra 1920-tallet, og store rovdyr har fått lov til å reetablere seg i enkelte deler av landet siden 1980-tallet. I dag ser vi en massiv ekspansjon i utbredelsen til hjort og en rekolonisering av villsvin i Sørøst-Norge. Selv en vanlig art som rødreven ble sterkt redusert i antall og utbredelse i Norge på 1970- og 1980-tallet etter utbrudd av skabb. Kamerafeller lar oss studere storskala endringer i utbredelse. Gitt riktig design gir metoden oss også muligheten til å studere hvordan arter bruker habitater på finere skala.

#### 5.3.1 Utbredelse av villsvin

Villsvinet har igjen blitt å se i vår fauna etter at det ble utryddet for ca. 1000 år siden. Dette som følge av at villsvin etablerte seg i Sverige på 1970-tallet etter rømminger og utsettinger fra fangenskap. Villsvin regnes i dag som en fremmed art i Norge, og er risikovurdert til «høy risiko» (HI) (Artsdatabanken 2018). Villsvinets tilbakekomst skaper utfordringer for folk og næringer, for eksempel knyttet til at villsvinet kan føre til etablering og spredning av sykdommer slik som afrikansk svinepest, til tross for at det har aldri vært dokumentert i skandinavisk villsvin (Miljødirektoratet & Mattilsynet 2019). Det finnes i dag ingen systematisk bestandsovervåking av villsvin i Norge. Vi viser her bruk av SCANDCAM sitt nettverk av kamerafeller til å følge utvikling i antall og utbredelse av villsvin i Norge.

Tilsammen registrerte vi villsvin 182 ganger på kamerafellene siden 2015 (**Figur 5.6**). De fleste observasjonene av villsvin er gjort langs svenskegrensa i Halden, Aremark og Rømskog, men de siste årene har de i stadige økende grad blitt observert lenger nord i kommunene Elverum, Våler og Åsnes. Sommeren 2020 har vi også registrert villsvin lenger nord i Østerdalen i Åmot og Rendalen kommuner. Grupper på mer enn 3 villsvin er registrert i Halden, Aremark, Våler og Elverum kommuner. Jegere rapporterer årlig antall felte villsvin til SSB, og SSB rapporterer antall felte dyr per kommune. Det er godt sammenfall mellom fordelingen av skutte villsvin og data fra kamerafellene.



**Figur 5.6.** SCANDCAM kamerafeller med observasjoner av villsvin fra 2015 til 2020.

### 5.3.2 Hjort og rødrev i sørlige deler av Viken

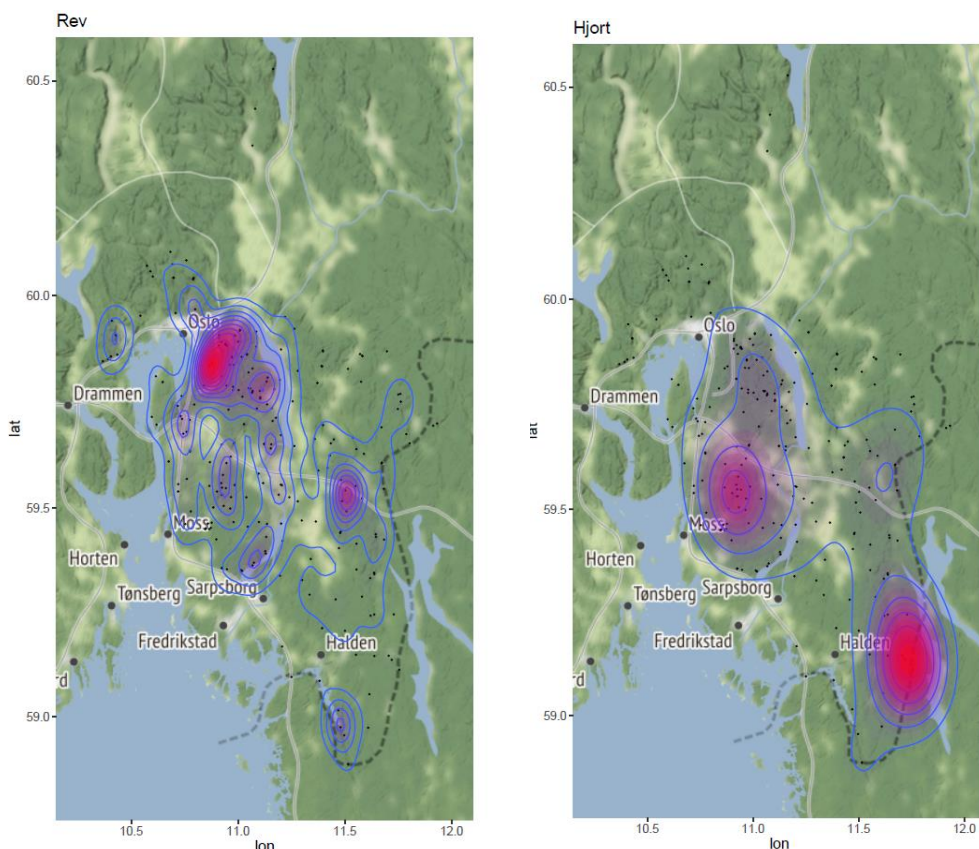
Rødrev har en nøkkelfunksjon i mange av våre økosystemer. I Norge finner vi rødrev over hele fastlandet og i alle terrestre miljøer. Det mangler i dag en nasjonal registrering av rødrevens utbredelse og bestandstettheter i Norge. Eneste datakilde er jaktstatistikk, men det er ikke kjent om denne reflekterer rødrevbestanden på en god måte, spesielt gjelder dette på mindre skala.

De siste 20 årene er det gjennomført mye forskning på effekter av beiting fra hjortevilt. Mye av forskningen er gjort på hjort i kystområder og elg i innlandet. Hjorten øker nå både i antall og utbredelse og sprer seg til områder der elgen tradisjonelt har vært den dominerende planteeteeren. Det er ventet en sterk bestandsvekst på Sørlandet og Østlandet i årene som kommer. Denne endringen i fordelingen av planteetere vil kunne ha effekter på vegetasjon og tilhørende biomangfold.

Det er mange ulike metoder som benyttes til å modellere sannsynlighet for arters tilstedeværelse i landskapet (se f.eks. Lele et al. 2013). Eksempelvis kan data fra kamerafeller benyttes i en «occupancy»-analyse til å modellere egnet habitat eller habitatbruk for en art (se f.eks. Gould et al. 2019, Keim et al. 2019). I andre tilfeller kan det være ønskelig å bruke romlige eksplisitte metoder til å se på fordelingen eller utbredelsen av en art i landskapet. Vi har her, som et eksempel på det siste, benyttet data fra SCANDCAM (observasjoner per tidsenhet) og såkalt kjernetetthetsestimering («kernel density») til å illustrere fordeling av observasjoner av hjort og rødrev i søndre Viken (tidligere Oslo, Akershus og Østfold). Vi hentet ut og validerte bildedata fra 2012 til og med 2019, men valgte å ekskludere 2020 da data fra hele året ikke var tilgjengelig. Den romlige kjernetettheten ble estimert ved hjelp av en «bivariat normal kernel». Basert på kjernetetthetsestimering kan vi hente ut konturlinjer som angir hvor mange prosent av observasjonene som er innenfor linja. En konturlinje på 95 % betyr at 95 % av observasjonene ligger innenfor konturlinja. De høyeste frekvensene av rødrevobservasjoner finner vi nærområdene til

Oslo (**Figur 5.7**). Observasjoner av hjort er klart høyest i kommune Indre Østfold og Are-mark/Halden (**Figur 5.7**). Dette er også de to eneste kommunene hvor det er registrert skutt hjort sørøst for Oslo (hjortevilregisteret.no).

Disse tetthetskartene og andre tilnæringer som modellerer fordeling av arter i landskapet gir oss muligheten til ekstrapolere fra studieområdene til større deler av landskapet. Slike prediktive kart kan bli et viktig grunnlag for utvikling av grønn infrastruktur egnet for bruk i arealplanlegging.

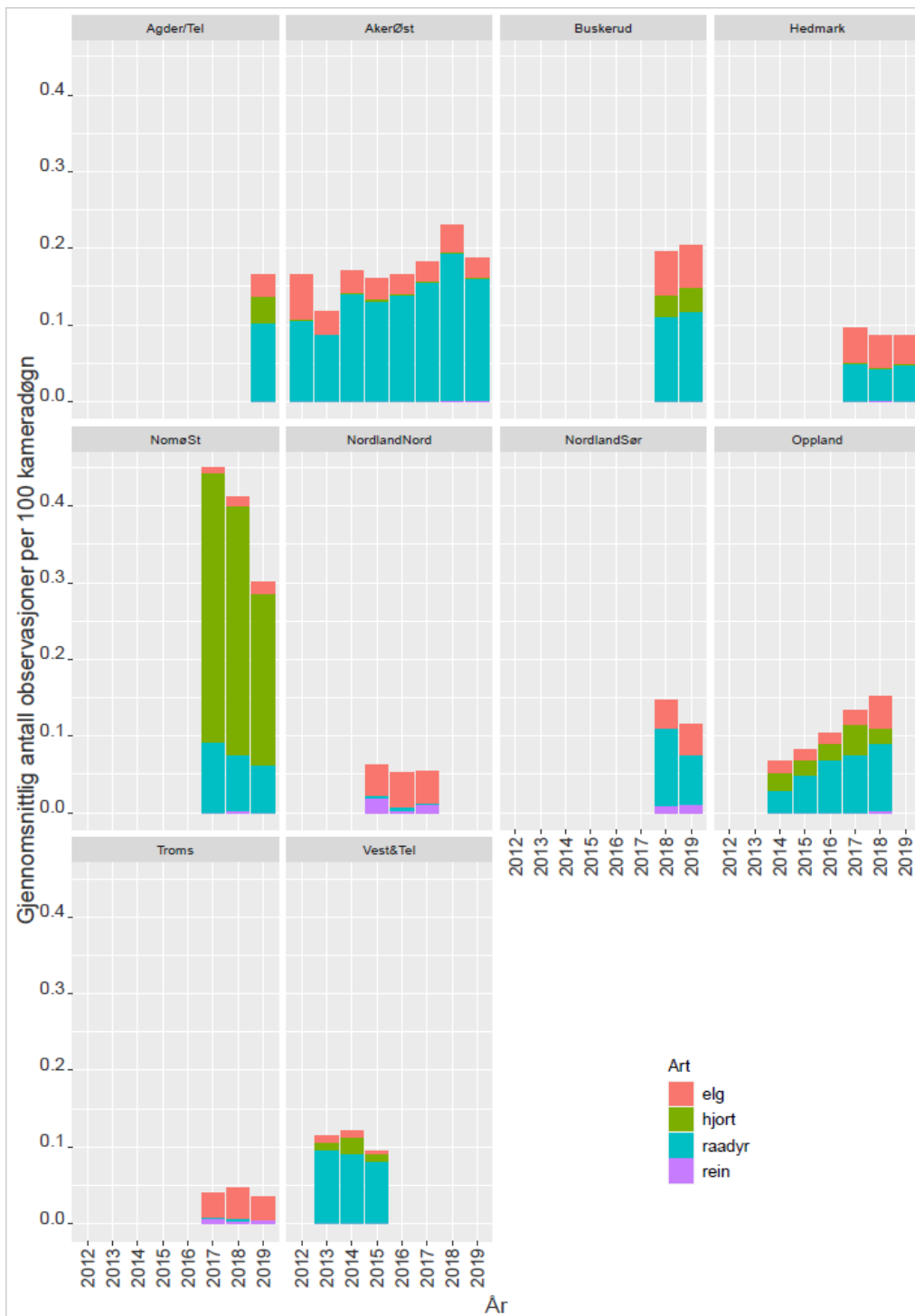


**Figur 5.7.** «Kernel density»-kart for henholdsvis rødrev og hjort (data fra 2012-2019). Sorte prikker er kamerafeller. Rødere farge indikerer områder med høyere frekvens. De blå strekene er konturlinjer og kan tolkes på liknende måte som høydekvoter på et kart. De innerste konturlinjene (i områder med rød farge) avgrensner områder der kameraene har høy frekvens av arten.

## 5.4 Sammensetning av pattedyrsamfunn

Norske skogøkosystemer inneholder en rekke planteetere, med opptil fem store, ville planteetere (rådyr, hjort, elg, villrein, villsvin) og fire frittgående husdyr (sau, geit, tamrein og storfe). Storskala og langsiktige endringer i det relative antallet av disse artene er dokumentert ved hjelp av jaktstatistikk og landbruksstatistikk (Austrheim et al. 2011). De ulike artene har forskjellige furasjeringsstrategier og fødepreferanser. I hvilken grad artene påvirker vegetasjon og økosystemdynamikken vil avhenge av forskjeller i deres utbredelse og tetthet på finere skala. Store planteetere er blant de enkleste artsgruppene å detektere med kamerafeller, og SCANDCAM har allerede samlet titusener av observasjoner. Vi har her benyttet data fra 2012 til 2020 og beregnet relativ frekvens (observasjon per tidsenhet) av hjortedyr og rovdyr i samtlige av SCANDCAM sine studieområder. Figurene nedenfor illustrerer hvordan vi med data fra kamerafeller kan vise forskjeller i sammensetning av pattedyrsamfunn mellom ulike studieområder

basert på relativ frekvens (**Figur 5.8 og 5.9**). Et eksempel er den store andelen i hjort i Møre og Trøndelag sammenlignet med andre områder, og store rovdyr i Hedmark.



**Figur 5.8.** Gjennomsnittlig antall observasjoner per 100 kameradøgn av elg, hjort, rådyr og tamrein i ulike studieområder i Norge i perioden 2012-2020). Årstallene viser «reproduksjonsår» (juni-mai). De ulike studieområdene er Agder og Telemark (Agder/Tel), tidligere Akershus og Østfold fylker (AkerØst), tidligere Buskerud fylke, tidligere Hedmark fylke, Nordmøre og sørlige deler av Trøndelag (NomeSt), Salten i Nordland (NordlandNord), Helgeland i Nordland (NordlandSør), sørlige deler av Oppland, sørlige deler av Troms, samt Vestfold og Telemark (Vest&Tel).





**Figur 5.9.** Gjennomsnittlig antall observasjoner per 100 kameradøgn av bjørn, gaupe, jerv og ulv i ulike studieområder i Norge i perioden 2012-2020. Årstallene viser «reproduksjonsår» (juni-mai). De ulike studieområdene er Agder og Telemark (Agder/Tel), tidligere Akershus og Østfold fylker (AkerØst), tidligere Buskerud fylke, tidligere Hedmark fylke, Nordmøre og sørlige deler av Trøndelag (NomøSt), Salten i Nordland (NordlandNord), Helgeland i Nordland (NordlandSør), sørlige deler av Oppland, sørlige deler av Troms, samt Vestfold og Telemark (Vest&Tel).

## 5.5 Fenologi

Det er i dag usikkerhet om hvordan klimatiske endringer vil påvirke biologisk mangfold og økosystemer. Et sentralt aspekt gjelder tidspunktet for periodiske hendelser i livssyklus, som ofte refereres til som fenologi. Spørsmålet er hvorvidt ulike organismer evner å gjøre kortsiktige tilpasninger til klimaendringene, noe vi kan kalle grad av plastisitet i fenologien. Vi ser her på om vi kan benytte data fra kamerafeller til å undersøke hvordan klimatisk variasjon vil påvirke fenologien hos ulike pattedyr. Eksemplene omfatter tidspunktet for vintersøvn hos grevling, pelsskifte hos hare og gevirsyklus hos rådyr.

Dataene vi presenterer her representerer enkle øyeblikksbilder av situasjonen slik den er nå i forskjellige deler av Norge. Lengre tidsserier vil tillate oss å studere hvordan flere livshistoriske trekk fra flere arter reagerer på det skiftende miljøet.

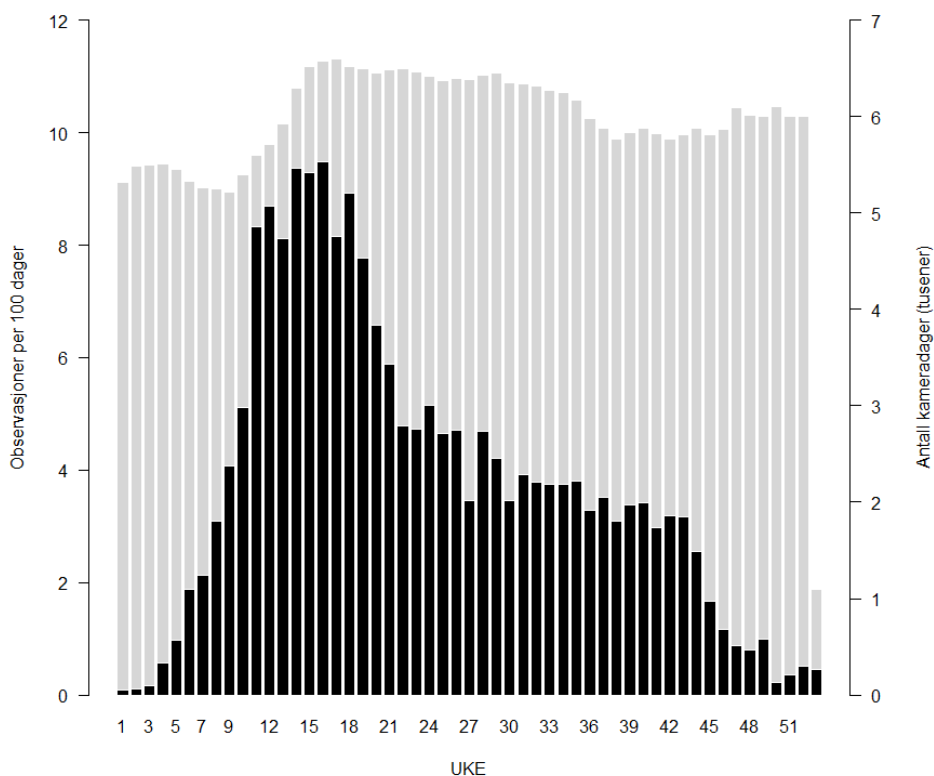
### 5.5.1 Vintersøvn hos grevling

I Norge er grevling en vanlig art i hele Sør-Norge nordover til Nordland, men enkeltindivider er observert så langt nord som Finnmark. Grevling senker kroppstemperaturen noen grader for å spare energi under vintersøvn, men går ikke inn i ekte dvale. Graden av vintersøvn hos grevling kan være et eksempel på en mulig indikator på hvordan arter er i stand til å tilpasse seg endrede klimaforhold.

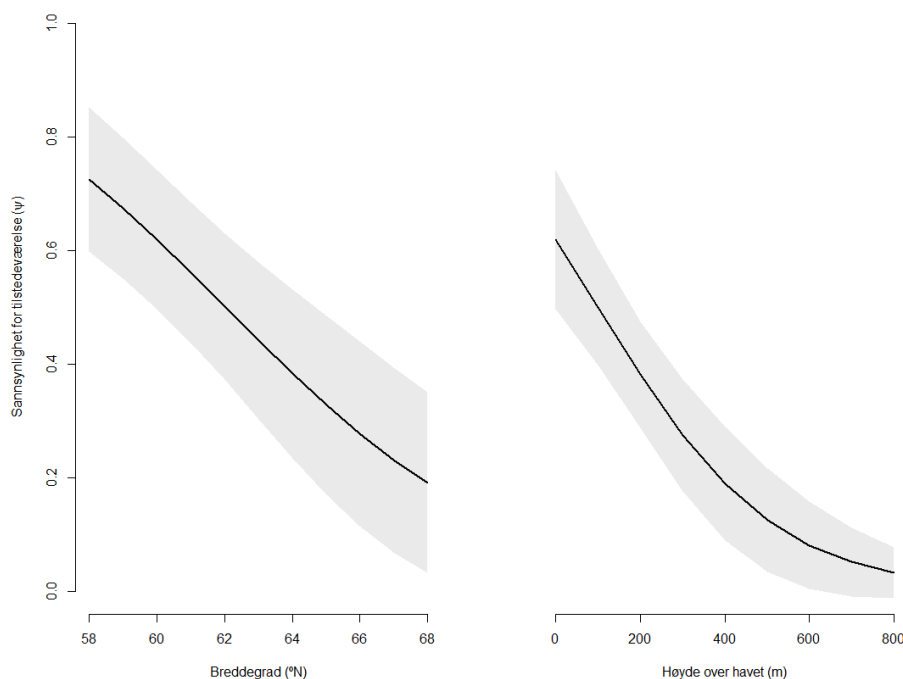
Dataene og analysene presentert her er tidligere publisert i masteroppgaven til Laura Bartra Cabré, NMBU (Cabré 2020) og inkluderer data fra kamerafeller i Norge fra 2015 til 2018. Vi hadde ikke anledning innenfor dette budsjettet til verifisere bilder av grevling også fra 2019 og 2020. Det ble ikke registrert grevling nord for Bodø kommune i Nordland. I løpet av de fire årene var 741 kamerafeller aktive i totalt 333446 døgn, med et gjennomsnitt på  $427 \pm 361$  døgn per kamera. Totalt ble det registrert 12474 observasjoner av grevling, med et gjennomsnitt på  $30 \pm 64$  observasjoner per kamerafelle. Cabré (2020) benyttet «occupancy»-modeller til å beregne sannsynligheten for at en grevling er tilstede på et kamera, mens man samtidig tar hensyn til oppdagbarheten (altså sannsynligheten for at arten oppdages gitt at den er tilstede).

Analysene viser at sannsynligheten for at grevling er aktive i vintermånedene er lav, men grevling kan være aktive gjennom vinteren (**Figur 5.10**). Denne aktiviteten var sterkt korrelert med temperatur. Grevlingene var ikke bare relativt mer aktive i varmere vintre, men også mer aktive på vinterens varmeste dager. Vi fant videre at sannsynligheten for at grevlingene var aktive om vinteren minket jo lenger nord vi kom i Norge og med økende høyde over havet (**Figur 5.11**).

Vi viser her at grevlingene utviser stor variasjon i graden av vintersøvn og at en storskala innsamling av data fra kamerafeller gir oss mulighet til å studere disse intrikate mønstrene. Vi trenger lange tidsserier for å se om endringer av klima, og derav lengden på vintersøvnen, vil kunne påvirke bestanden.



**Figur 5.10.** Fordeling av antall observasjoner av grevling (per 100 døgn) gjennom året. Svarte søyler viser antall observasjoner, mens grå søyler viser totalt antall døgn kamerafellene har kunnet registrert grevling (innsats).



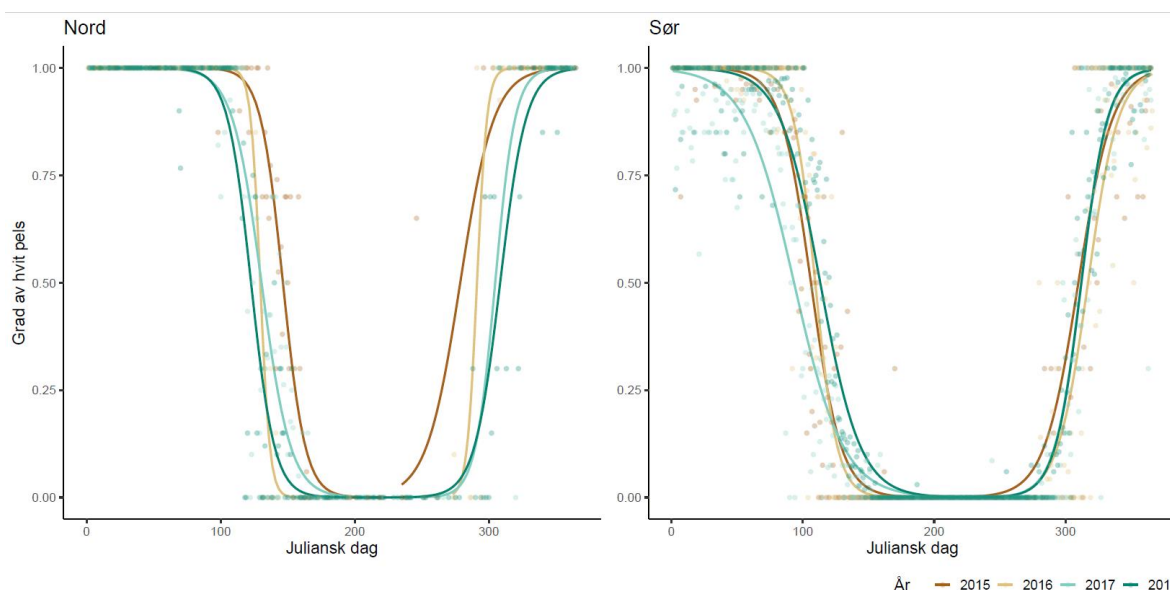
**Figur 5.11.** Sannsynlighet for tilstedeværelse av grevling på viltkamerabilder vinterstid i forhold til breddegrad og høyde over havet.

### 5.5.2 Pelsskifte hos hare

Hare er i dag på den norske rødlisten på grunn av en dramatisk nedgang i høstingsstatistikken (Wiig et al. 2015). Flere faktorer kan ha forårsaket denne nedgangen, og blant annet klimaendringer og derav økt predasjonspress er pekt på som mulige forklaringer. Harer endrer pelsfargen fra brun om sommeren til hvit om vinteren som flere andre pattedyrarter i boreale eller alpine områder. Klimaendringene fører til færre dager med snødekke (Hanssen-Bauer et al. 2015). Færre dager med snø vil kunne føre til større grad av «mismatch», det vil si perioder der harer har skiftet til hvit pels i områder uten snø. Dette vil igjen kunne føre et økt predasjonstrykk. Et viktig spørsmål blir derfor i hvilken grad fenologien til pelsskiftet følger endringer i snødekke og temperatur, eller om den følger fotoperioden. Det er også viktig å kartlegge om det er tilstrekkelig plastisitet i tidspunktet for pelsskifte, noe som være avgjørende for hvordan harebestandene vil kunne takle endret klima framover.

Studier av snøskohare i Nord-Amerika indikerer at selv om det er variasjon mellom områder i pelsskiftefenologi (Zimova et al. 2020a), er det lite variasjon mellom år i de ulike områdene (Mills et al. 2013). Forskerne konkluderer med at hare har lite plastisitet i dette fenologiske trekket. Til dags dato finnes det ingen systematiske studier av disse fenomenene hos den norske haren.

Vi viser her hvordan vi kan benytte data fra kamerafellene til å tallfeste pelsskifte hos hare langs en nord-sør gradient i Norge. Vi har klassifisert grad av pelsskifte på ~ 14000 bilder fra lokaliteter fra Troms i nord til Agder i sør. Dette er et svært tidkrevende arbeid, og vi har kun hatt anledning til å klassifisere bilder fra 2015 til og med 2018 i denne rapporten. **Figur 5.12** viser den daglige gjennomsnittlige andelen av hare med hvit pelsfarge i fire år på kamerafeller nord ( $n = 602$ ) og sør ( $n = 1189$ ) for  $62^\circ$  breddegrad. Dataene viser at variasjonen i tidspunkt for pelsskifte er større i sør enn i nord. Ikke overraskende ser vi at perioden der haren er hvit er lengre i nord enn i sør. For alle bildene klassifiserte vi også i hvor stor grad bakken var dekket av snø. I 2021 vil vi analysere graden av «mismatch» i de ulike studieområdene. Lengre tidsserier med kamerafeller vil kunne gi oss kunnskap om eventuelle variasjon i grad av «mismatch» og plastisitet.



**Figur 5.12.** Den daglige gjennomsnittlige pelsfargen i årene 2015 til 2018 på kamerafeller nord for 62° breddegrad ( $n = 602$ ) og kamerafeller sør for den linjen ( $n = 1189$ ). Prikkene er råestimaterne, mens linjene viser en logistisk regresjon gjennom punktene. X-aksen viser juliensk dag (dager etter 1. januar).

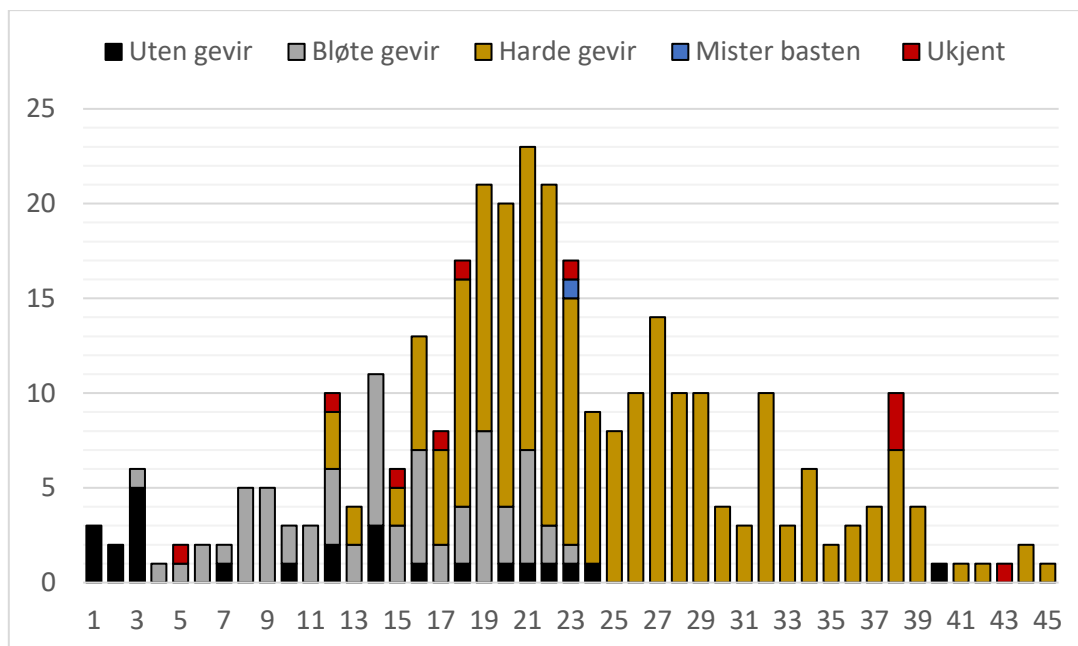
### 5.5.3 Gevirsyklus hos rådyr

Gevirutviklingen hos hjortevilt er en årlig syklus der nivået på hormonet testosteron gjør at geviret faller av om våren. Ny gevirvekst starter umiddelbart etter. Geviret er avgjørende for at bukkene skal få tilgang til geiter, og eventuelle endringer i fenologien til gevirsyklus vil kunne ha «fitness»-effekter. En langsiktig overvåking av fenologien vil derfor være viktig for å forstå «fitness»-konsekvenser av et endret klima. Jegere selekterer dessuten sterkt på rådyr med store gevir. Det er grunn til å tro at et kjønnsselektivt uttak kan drive seleksjon mot tidligere felling av gevir.

Rådyr er spesielt interessante i denne forbindelsen siden geviret vokser vinterstid når ressursene er knappe. Gevirene herdes også tidlig på våren akkurat i tide til å skaffe seg eget revir, noe som er avgjørende for å sikre tilgang til geiter (Liberg et al. 1998). Gevirstørrelse og besittelse av et revir er viktige faktorer for tilgang til geiter.

Det finnes i dag ingen andre metoder enn kamerafeller som på stor skala kan gi oss tall på timing i gevirfelling (høst) og gevirherding (vår), og som kan la oss studere hvordan dette varierer innenfor og mellom studieområdene, og dermed kvantifisere plastisitet og identifisere de klimatiske variablene som best forklarer variasjonen.

SCANDCAMs database består per 23.11.2020 av 11510 observasjoner av elg, 46727 observasjoner av rådyr og 11132 observasjoner av hjort. Vi hadde her kun anledning til å ta ut et utvalg av disse observasjonene og bare for rådyr, 1119 observasjoner fra 36 kamerafeller i Innlandet og Viken fra perioden 1.1.-13.12.2019, hvorav 310 observasjoner var av bukker. Disse ble klassifisert med hensyn på gevirutvikling i følgende klasser: ikke gevir, bløte gevir, harde gevir, i ferd med å miste basten eller ukjent. **Figur 5.13** viser tydelig gevirsyklusen og at det er stor variasjon mellom individer. Neste steg vil være å se nærmere på regionale forskjeller. Med lengre tidsreier vil metoden la oss studere eventuelle endringer i gevirsyklus, og om dette kan skyldes endringer i miljø- eller menneskeskapt drivere.



**Figur 5.13.** Andelen observasjoner av rådyrbukker per uke med gevir, bløte gevir, harde gevir, i ferd med å miste basten eller ukjent.

## 5.6 Overvåking av sykdom

Kamerafeller kan også benyttes til overvåking av viltsykdommer som etterlater synlige ytre tegn, for eksempel sykdommer som påvirker pelsen til dyrene. Et eksempel er reveskabb som forårsakes av skabbmidd *Sarcoptes scabiei*, som borer seg inn i revens hud og legger egg (**Figur 5.14**). På 1970-tallet og 80-tallet ble rødrevbestanden i Skandinavia kraftig redusert på grunn av skabb (Lindström et al. 1994). Skabbmidden ødelegger huden til reven og forårsaker kraftig kløe og håravfall, noe som gjør at hardt angrepne dyr magrer av og dør. Skabb er fortsatt en viktig sykdom hos rødrev, men det er uklart hvordan parasitten påvirker rødrevbestanden i dag. Skabb kan også angripe ulv og gaupe. Det finnes også andre eksterne parasitter som påvirker vilte arter som planteetere som potensielt kan dokumenteres gjennom observasjoner gjort av kamerafeller.

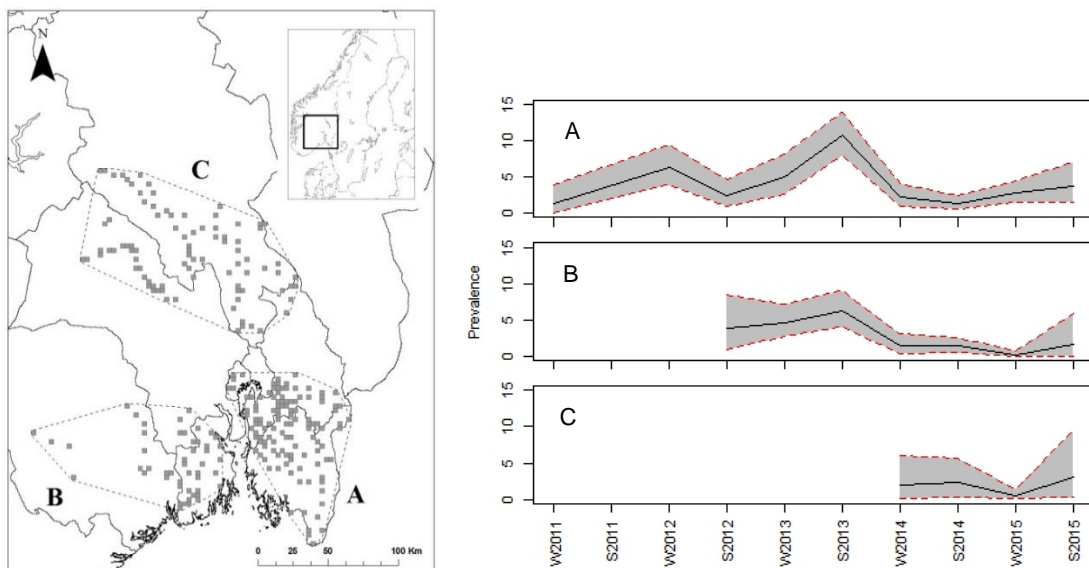
I 2017 publiserte vi et arbeid (Carricondo-Sanchez et al. 2017) der vi benyttet kamerafeller for å undersøke utbredelse og romlig-temporal dynamikk i reveskabb i en rødrevbestand i Sørøst-Norge. Vi gir her en kort oppsummering av de viktigste resultatene for å vise hvordan data fra kamerafeller kan benyttes til overvåking av sykdomsforekomst. Analysene ble basert på 305 kamerafeller i fem år (2010-2015) fordelt på et område på 18000 km<sup>2</sup>. Vi delte studieområdet inn i tre deler: Oslo/Akershus/Østfold (A), Vestfold/Telemark (B) og Oppland (C) (**Figur 5.15**). Totalt 6581 observasjoner av rødrev ble visuelt klassifisert med hensyn på forekomst av skabb, og det ble påvist skabb i 173 tilfeller. Vi undersøkte hvilke faktorer som var knyttet til forekomsten av skabb ved å bruke logistiske modeller innenfor et Bayesiansk rammeverk. Vi ønsket videre å se om forekomsten av skabb er tilfeldig fordelt i landskapet og over tid, eller om det er et mønster i forekomst. For å få til dette anvendte vi en såkalt «space-time scan statistics»-metode for å identifisere ansamlinger av revere med skabb (heretter kalt «klustre») (Kulldorff et al. 2005).

Forekomsten av sykdommen svingte over studietiden med gjennomsnittlig prevalens på 3,15% (**Figur 5.15**). Vi så også at forekomst av skabb var høyest nær bosetninger og om vinteren. Klusteranalysene viste flere klustre av sykdommen som varierte i tid og størrelse, noe som antyder at sykdommen følger et mønster av små lokaliserte utbrudd i stedet for store, vidstrakte utbrudd som var tilfelle på 1970- og 80-tallet.

Andre sykdommer kan påvirke reproduksjon og/eller tidlig overlevelse hos avkom. Data fra kamerafeller vil også kunne la oss estimere andelen reproduserende individer og overlevelse hos avkom for arter som elg, hjort, rådyr, gaupe og ulv.



**Figur 5.14.** Eksempel på rever med skabb



**Figur 5.15.** Prevalens av skabb hos rødrev i de tre områdene i Sør-Norge. Sort linje viser gjennomsnitt og gråskravert viser 95% konfidensintervaller.

## 6 Sammenligning av miljø-DNA og kamerafeller

Studier har vist at DNA fra terrestriske pattedyr kan påvises i jordprøver under gitte forhold (Lempool et al. 2020). Miljø-DNA kan bli et nytt verktøy for påvisning av pattedyrarter. Dette vil være av spesiell interesse i en overvåking av mindre pattedyrarter. Vi gjør her et første forsøk på teste metoden under norske forhold, og sammenligner her bruk av miljø-DNA og kamerafeller i deteksjon av større pattedyr. Vi gjorde dette ved å ta jordprøver til analyse av miljø-DNA foran eksisterende kamerafeller.

### 6.1 Materialer og metoder

Jordprøver til analyser av miljø-DNA ble samlet inn i slutten av juni og begynnelsen av juli 2020 ved ti ulike kamerafeller i Viken i Sørøst-Norge (**Figur 6.1**). For å få prøver fra ulike habitattyper ble fem kamerafeller plukket ut tilfeldig blant SCANDCAMs kamerafeller i nærområdene til Oslo (**kap. 5.1**). I tillegg ble fem kameraer plukket tilfeldig fra kamerafeller utplassert som en del av forskningsprosjektet Multibluegreen finansiert av Norges forskningsråd. Disse kameraene er tilfeldig utplassert i motsetning til SCANDCAM sine kamerafeller som er plassert der man forventer at gaupene skal gå.

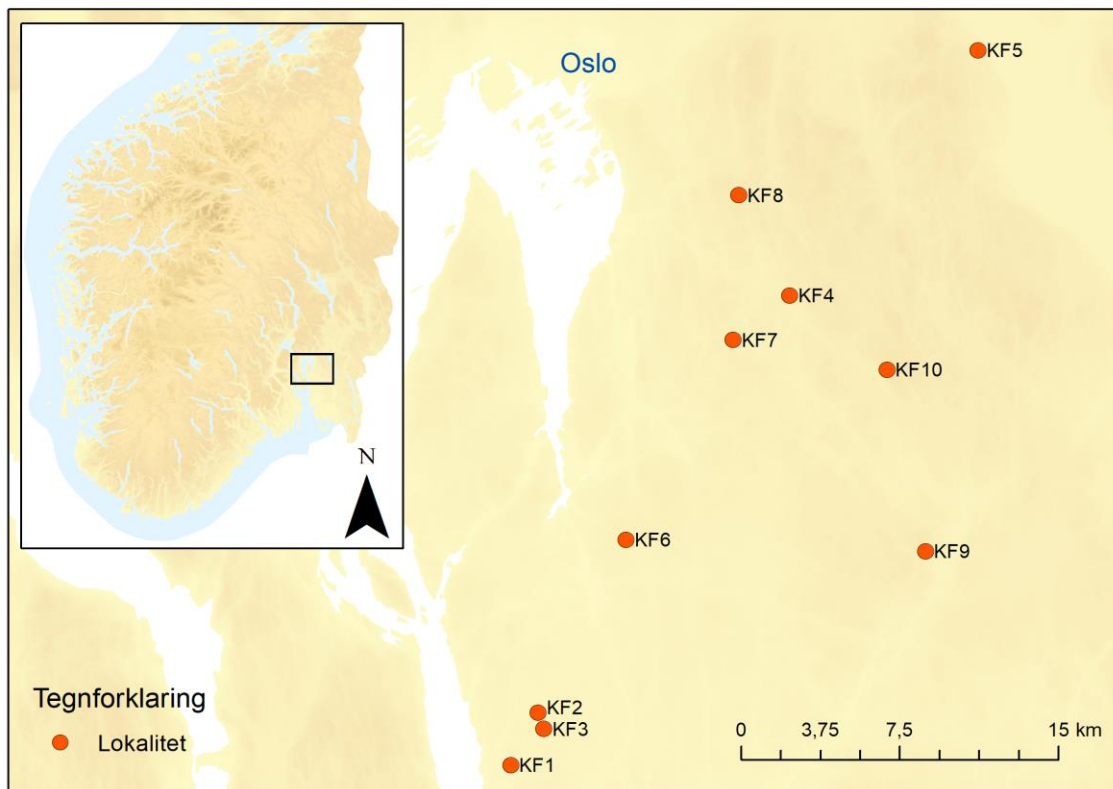
Vi ønsket å teste følgende punkter:

1. Sammenligning av prøvetakingsmetoder: tilfeldig prøvetaking i henhold til ANOs feltinstruks og systematisk, intensiv prøvetaking (se **kap. 3** og **Vedlegg 1**)
2. Sammenligning av DNA-ekstraksjonsmetoder: fosfatbuffer og bruk av «kit» (se **kap. 3** og **Vedlegg 3**)
3. Sammenligning av markører: DNA-metastrekkoding av noen artsgrupper fra jordprøver er allerede godt utviklet. Metodene for metastrekkoding av vertebrater i jord er derimot mindre utviklet, og vi ønsket å teste flere aktuelle markører i dette prosjektet (**Tabell 6.1**).

Jordprøvetakingen ble utført på samme måte som beskrevet i **kap. 3**, med unntak av at sentrum av hver flate ble lagt til treet som kamerafellen var festet i.

**Tabell 6.1.** Oversikt over genetiske markører som ble testet på jordprøver fra lokaliteter knyttet til kamerafeller.

Organismer	Markør	Gen	Produkt (bp)	Maskin	Referanse
Vertebrater	12S_V5F/ 12S_V5R	12S	140	NovaSeq	Riaz et al. (2011)
Vertebrater	MarVer3	16S	245	MiSeq	Valsecchi et al. (2020)
Vertebrater	VertCOI_7194_F/ Mod_RepCOI_R	COI	395	MiSeq	Reeves et al. (2018)
Pattedyr	16Smam med blocker for humant DNA	16S	130	NovaSeq	Boessenkool et al. (2012)



**Figur 6.1.** Lokalitetene som inngår i sammenligningen av miljø-DNA og kamerafeller i 2020. Hver lokalitet er lokalisert til en eksisterende kamerafelle (KF).

## 6.2 Resultater

Det ble registrert fra en til sju pattedyrarter på de 10 kamerafellene (**Tabell 6.2**). Resultatene fra miljø-DNA analyser av jord resulterte i lavkvalitets data, og DNA-sekvensene var vanskelig å tilordne til arter. Vi fant mye menneske-DNA, hunde-DNA og diverse andre domestiserte arter ved bruk av generelle vertebratmarkører, men analysene kunne ikke påvise noen av de forventede artene. Siden analysene ikke kan påvise noen av de forventede artene anser vi ikke miljø-DNA av jordprøver er en egnet metode for overvåking av denne dyregruppen foreløpig.

**Tabell 6.2.** Antall observasjoner av pattedyrarter med kamerafeller på 10 lokaliteter i 60 døgn før jordprøver ble tatt og undersøkt for miljø-DNA. \*Kamerafelle 54 hadde feil på minnekort og tallene viser pattedyr som passerte i fra 134-74 døgn før jordprøven ble tatt.

Kamera- felle	Registrerte pattedyrarter							
	Elg	Rådyr	Grevling	Hare	Ekorn	Mår	Rev	Katt
25	1	12	1	1		1	1	
54*		8	17	2	1			
249	4	25	31	16	4		8	3
328		25		5	4		2	
728	2	23		5				
1363		7	2		5			
1475	2		2					
1650	1							
1756	6	8						
1769	5	25	12		9			



## 6.3 Diskusjon

Vertebrater og pattedyr var vanskelig å påvise i jordprøvene innsamlet ved kamerafeller i dette prosjektet, og vi anser derfor foreløpig ikke analyser av miljø-DNA fra jordprøver som en egnet metode for overvåking av disse dyregruppene. Nedenfor følger en grundigere diskusjon av utfordringene med påvisning av slike dyr med miljø-DNA og potensielle metoder for å forbedre resultatene.

Større pattedyr streifer ofte over store områder, noe som gjør det vanskelig å påvise disse dyrene i tilfeldige jordprøver som våre. Studier fra en dyrepark i København har vist at jordprøver fra steder med hyppig urinering inneholder en økt konsentrasjon av DNA fra tigere (Andersen et al. 2012). Sannsynligheten for å påvise DNA fra pattedyr kan derfor økes ved samle inn jordprøver fra spesielt utvalgte lokaliteter. Smågnagere er for eksempel en gruppe der miljø-DNA har potensiale. De kan lokkes inn i kunstige tunneler, og prøvetaking av jord fra slike ganger eller tunneler vil øke sannsynligheten for å påvise disse artene med miljø-DNA. Det benyttes nå modifiserte kamerafeller til å kartlegge smågnagere og mindre mårdyr (Mos & Hofmeester 2020, <https://www.coat.no/Data/COAT-viltkamera>), men det kan være vanskelig å artsbestemme noen av smågnagerne, særlig de nært beslektede. Det bør derfor prioriteres å teste ut kombinasjoner av miljø-DNA og kamerafeller for å påvise små pattedyr.

Prøvetaking fra tydelige dyrestier som brukes hyppig, vil også kunne øke sannsynligheten for å påvise vertebrater. I et studie fra California ble det påvist flere grupper av pattedyr gjennom miljø-DNA-analyser av jordprøver enn gjennom kamerafeller (Leempoel mfl. 2020). Her ble jordprøvene samlet spesifikt fra dyrestier. Men en stor andel av taksaene som ble påvist, kunne bare bestemmes til slekt, ikke til art. Det er likevel overraskende at dette studiet kunne påvise så mange arter fra jordprøvene sammenlignet med resultatene fra våre analyser. Vi mistenker at tettheten av dyr og jordtypen har mye å si for disse resultatene. For eksempel ble våre jordprøver ikke samlet fra tydelige dyrestier, hvor dyretettheten og dermed konsentrasjonen av DNA sannsynligvis er høyere enn ellers i terrenget. Andre studier har også brukt vannprøver for å påvise terrestriske vertebrater (Rodgers & Mock 2015, Ushio et al. 2017, Seeber et al. 2019). Dette er noe vi også ser fra egne resultater når vi benytter taksonomisk brede markører for vertebrater på vannprøver i Norge, der vi påviser både fugler, hjortedyr og smågnagere (Magerøy et al. 2020). Bruk av jordprøver til påvisning av vertebrater krever imidlertid videre metodeutvikling, for eksempel uttesting av alternative metoder for prøvetaking, før overvåking kan bli aktuelt.

## 7 Oppsummering og anbefalinger

### 7.1 Anbefalinger for videre arbeid i prosjektet

#### 7.1.1 Miljø-DNA

Miljøprøver inneholder mengder av DNA fra mange ulike dyregrupper og kan representere en kostnadseffektiv metode for å overvåke mange artsgrupper samtidig. Men dette mangfoldet av DNA medfører også en stor utfordring når det gjelder å finne sjeldne arter ved hjelp av DNA-metastrekkoding. Vi finner at sekvensdybden kan være en stor utfordring for påvisning av biomangfold, og at ulike markører varierer mye i graden av spesifisitet for målgruppen de er designet for. En viktig konklusjon fra denne rapporten er derfor å velge riktig sekvensdybde i forhold til markøren og artsrikdommen i målgruppen man ønsker å studere. Vi ser blant annet at sekvensdybden ble for lav for sopp og planter i denne studien, og vi anbefaler derfor å kjøre om igjen disse prøvene på den nye NovaSeq-maskinen for en direkte sammenligning.

Den dominerende effekten av sekvensdybde i analysene gjorde det vanskelig å konkludere med hensyn til prøvetakingsdesign og DNA-ekstraksjonsmetode. Resultatene antyder likevel at det ikke er en stor effekt av metodevalg på verken sannsynligheten for påvisning av enkeltarter eller samfunnsstruktur for sopp, planter og leddormer. Vi anser derfor at den enkle prøvetakingsmetoden kan anbefales for overvåking av artssamfunn ved hjelp av miljø-DNA.

I dette studiet har vi gjort en stor uttesting av genetiske markører for ulike artsgrupper, men det finnes fortsatt mange aktuelle markører som vi ikke har fått testet innenfor de økonomiske rammene i dette prosjektet. Det har heller ikke vært rom for utstrakt optimalisering av markørene vi benyttet. Vi anser derfor at en videre uttesting av genetiske markører basert på det allerede innsamlete materialet vil være en svært kostnadseffektiv fortsettelse av prosjektet.

Vi anbefaler at utdriving av levende insekter og spretthaler fra jordprøver med Berlese-trakter testes ut som en alternativ metodikk for overvåking av disse gruppene i jord. Vi anbefaler også at en selektiv innsamling av jordprøver fra smånagertuneller og dyrestier testes ut for påvisning av vertebrater. Markørene for pattedyr/vertebrater som ble testet ut, resulterte i få arter og kvaliteten på dataene var svært varierende. Resultatene fra denne testen viser foreløpig at overvåking av større pattedyr vil være utfordrende ved bruk av miljø-DNA.

Når det gjelder prøvetaking av sopp i død ved, har vi kun testet ut ett design med fem borehull fordelt langs stokken for liggende død ved og tre borehull for stående død ved. Dette er i tråd med lignende studier av for eksempel Kubartová et al. (2012), Ottosson et al. (2015) og Mäkipää et al. (2017), og våre resultater tyder på at metoden fanger opp viktige mønstre i sopp-samfunnet i død ved, blant annet forskjellene mellom bartrær og løvtrær og mellom ulike nedbrytningsstadiet. For å fange opp flest mulig sopparter, kan det imidlertid være hensiktsmessig med videre uttesting av flere ulike prøvetakingsdesign for å undersøke hvordan antall og fordeling av borehull påvirker mangfoldet av sopp som påvises.

For at en miljø-DNA skal fungere best mulig til overvåking av en spesifikk organismegruppe bør det utvikles lokale referansedatabaser som kan brukes i kombinasjon med programvare som gir en konfidens på artstreff, som for eksempel RDP Classifier. Vi anbefaler derfor at det blir brukt ressurser fra miljøforvaltningen til å utvikle slike referansedatabaser for relevante artsgrupper slik at hver artsidentitet kan knyttes til et konfidensnivå.

På tross av at sekvensdybden ikke var tilstrekkelig i dette studiet fant vi likevel klare forskjeller mellom habitater og lokaliteter på tvers av metodene vi testet. Vi mener derfor at markørene for sopp, planter og leddormer kan implementeres i overvåking ved hjelp av jordprøver og tas i bruk av forvaltningen. Men vi anbefaler at sekvensdybden økes betraktelig i forhold til dette studiet.

Anbefalinger for videre arbeid:

- Bruke eksisterende prøver til videre uttesting av flere genetiske markører, spesielt med fokus på insekter, edderkopper/midd og rundormer.
- Bruke eksisterende prøver for sopp og planter til å sammenligne Miseq med NovaSeq
- Teste ut Berlese-trakter på nye jordprøver for utdriving av insekter, edderkopper/midd og rundormer
- Teste ut smågnagertuneller for prøvetaking av nye jordprøver  
Utvikle norske referansedatabaser som gir konfidensnivåer på artsidentitet for aktuelle organismegrupper

### 7.1.2 Kamerafeller

Vi har her demonstrert hvordan SCANDCAMs store sammenhengende nettverk av kamerafeller kan benyttes til å studere mange aspekter ved pattedyrsamfunnet, som endring i utbredelse av arter, tetthet, relativt antall, sammensetning av pattedyrsamfunn, aktivitetsmønstre, fenologi, viltsykdommer med mer. Overvåking av effektene fra storskala påvirkning på økosystemer peker mot større sammenhengende nettverk av kamerafeller som dekker gradienter av disse påvirkningene. Det samme gjelder spørsmål knyttet til overvåking av større deler av økosystemet fra store rovdyr til planteetere.

Et viktig spørsmål for miljøforvaltningen vil være å få robuste estimat på bestandsendringer hos pattedyrartene der man i dag kun har tilgang på fellingsstatistikk fra jegere. Dette gjelder eksempelvis arter som rådyr, mellomstore og mindre rovdyr og hare. SCANDCAMs nettverk av kamerafeller vil også ha potensial til å fange opp trender i bestander over tid, men det gjenstår fremdeles viktige spørsmål knyttet til design som må svares på. Dette gjelder blant annet hvordan plassering, fordeling og tetthet av kamera påvirker hvilken skala vi kan fange opp trender på, og hvordan dette varierer med arter.

For arter som lever under lavere tettheter og med flekkvis forekomst, kan bestandsindekser baseres på endringer i andelen av kamera som påviser arten i løpet av en periode. For de fleste arter kan vi ikke skille mellom ulike individer som observeres, og dette fører at man kan overestimere (relativ) tetthet av en art på grunn av dobbelttelling av individer (såkalte «falske positive»). Dette problemet løses gjerne ved å bruke deteksjon/ikke-deteksjon i en såkalt «occupancy»-modell. Dette fungerer godt for arter med middels eller lave tettheter, men problemene oppstår for vanlige arter som forekommer i høyere tettheter. Når vi får mange observasjoner av arten på de fleste kamerafellene, vil «occupancy»-estimerer nærmer seg én. Dette gjør at man med disse modellene sannsynligvis ikke vil være i stand til å oppdage bestandstrender for «vanlige» arter som forekommer i høyere tettheter og har en vidstrakt utbredelse.

Ulike arter krever ulike typer indekser. Bestandsindekser basert på kamerafeller benyttes i forvaltningen av ulike bestander i en rekke områder (O'Connell et al. 2011, Rovero & Zimmermann 2016). Dette blir ofte gjort ved å se på endringer i antall observasjoner per kamera per tidsenhet. Dette vil tilsvare «sett-elg» eller «sett-hjort» per jegerdag som benyttes for å følge bestandsutviklingen av elg og hjort i Norge (Ueno et al. 2014). Man kan også benytte årlige endringer i estimerer av deteksjonssannsynlighet fra «occupancy»-modeller. Dette vil kunne fungere for arter som forekommer med høyere tetthet og videre utstrekning, men det er et stort behov for studier som kan validere bruken av kamerafeller for å estimere bestandsendringer over tid mot andre data, og teste ulike statistisk tilnærminger og indekser som kan gi oss de beste resultatene.

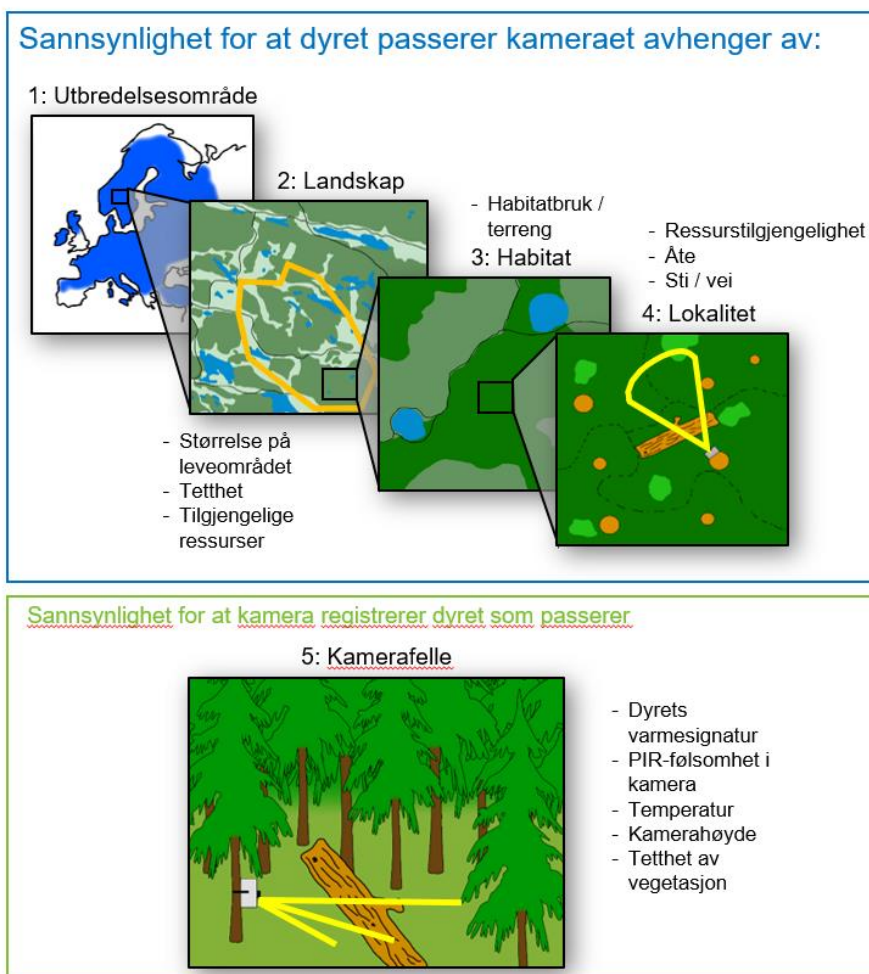
Det er svært viktig å forstå hva som påvirker kamerafellenes evne til å oppdage dyr (deteksjon), så man kan korrigere for det. I 2019 publiserte vi et rammeverk for hvordan ulike faktorer påvirker kamerafellenes deteksjon av dyr (Hofmeester et al. 2019b). Dette kan være egenskaper knyttet til (a) dyrearten, (b) kamerafellene, (c) oppsett av kamerafellene og (d) miljømessige variabler. Disse faktorene vil påvirke deteksjon på ulik skala (**Figur 7.1**). Vi har jobbet med robuste statistiske metoder for å håndtere skeivhetene i data grunnet forskjellene i deteksjon på ulike romlige skalaer.

For å optimalisere bruken av viltkamera foreslår vi her en pakke av ulike studier basert på data som vi allerede har:

(1) Bestandsindekser. Vi vil utforske hvordan vi kan benytte enten tilstedeværelse («occupancy») eller observasjonsfrekvenser til å estimere bestandstrender. Vi vil benytte data fra SCANDCAM-prosjektet i perioden 2012-2021, og sammenligne trendene med uavhengige data som eksisterer i samme periode, dvs. jaktstatistikk, «sett-elg» og det nasjonale overvåkingsprogrammet for store rovdyr.

(2) Antall kamera. Vi vil bruke data fra det nylig avsluttede studiet «Multibluegreen» i Viken der vi har benyttet høy tetthet av kamerafeller innenfor et begrenset område for å utforske effekten av ulike tettheter av kamera på estimer av bestandsendringer.

De mindre pattedyrartene fra røyskatt til gnagere og spissmus er viktige økosystemkomponenter som ikke overvåkes på stor skala. Vi foreslår et pilotstudium der vi tester ut bruk av små rør der artene tiltrekkes, og hvor en modifisert kamerafelle benyttes til å fotografere dyra på nært hold (se f.eks. <https://www.coat.no>). Dette vil bli kombinert med miljø-DNA innsamlet fra de samme kamerastasjonene (se **kap. 7.1.1**). Denne kombinasjonen av metoder vil bidra til at vi kan skille arter som ikke kan skilles ved hjelp av foto. Ved å matche disse modifiserte små pattedyrkameraene med de konvensjonelle kamerafellene, vil det være mulig å overvåke hele pattedyrsamfunnet i stor skala.



**Figur 7.1.** Illustrasjon av prosessene som bestemmer sannsynligheten for at et dyr detekteres på kamerafelle.

## 7.2 Anbefalinger for overvåking av biologisk mangfold generelt

Det finnes en rekke eksisterende programmer for kartlegging og overvåking av terrestrisk biologisk mangfold i Norge, for eksempel Terrestrisk overvåking (TOV; Framstad et al. 2020), Overvåkingsprogrammet for hjortevilt (Solberg et al. 2012, 2017), Tilstandsovervåking og resultatkontroll i jordbrukets kulturlandskap (3Q; Stokstad et al. 2016), SCANDCAM (<https://viltkamera.nina.no/>), Klimøkologisk observasjonssystem for arktisk tundra (COAT; Ims et al. 2013), Nasjonalt overvåkingsprogram for rovvilt (<https://rovdata.no/Nasjonaltovervåkingsprogram.aspx>), Nasjonal overvåking for humler og dagsommerfugler (Åström et al. 2016, 2017, 2018, 2019b) og terrestriske insekter (Åström et al. 2019a, 2020a,b) og Arealrepresentativ naturovervåking (ANO; Tingstad et al. 2019). I tillegg kommer en rekke programmer for overvåking av enkeltnaturtyper som palsmyr (Hofgaard 2004), kalklindeskog (Brandrud et al. 2014, 2016, 2020), semi-naturlig eng (Johansen et al. 2019) og åpen grunnlendt kalkmark (Evju et al. 2020), samt diverse overvåkingsprogrammer for enkeltarter. Til sammen gir disse programmene viktig kunnskap om tilstanden til norsk natur. De dekker imidlertid ikke alle arter og artsgrupper, og det er derfor stadig behov for forbedringer av overvåkingsdesign og -metodikk. Her kan nye metoder som bruk av miljø-DNA og kamerafeller bidra til økt kunnskap.

Internasjonalt er analyser av miljø-DNA og bruk av kamerafeller flere steder integrert i kartlegging og overvåking av biologisk mangfold, for eksempel til overvåking av sopp i Sverige (<https://www.slu.se/centrumbildningar-och-projekt/markinventeringen/>) og til overvåking av dyr i nasjonalparker i en rekke land (se bl.a. <https://www.wildlifeinsights.org/team-network>). Bruk av ny teknologi i overvåking av biologisk mangfold i norsk kontekst krever imidlertid en nøye gjennomtenkt strategi for at resultatet skal bli optimalt. For det første må overvåkingsprogram utformes så de dekker forvaltningens behov og genererer data som kan inngå i en adaptiv forvaltning av norsk natur. Det finnes ikke ett enkelt design eller én enkelt metode som kan svare på alle spørsmål. Det er derfor viktig at målsetningen med overvåkingen er entydig. For det andre må overvåkingsmetodikk variere med art og kontekst. Metodene og innsatsen må vurderes nøye og tilpasses ønsket presisjonsnivå for den aktuelle arten eller artsgruppen. Her vil det også være viktig å se tradisjonelle og nye metoder i sammenheng og etterstrebe synergier mellom overvåkingsprogrammer.

### *Ulike metoder for ulike artsgrupper*

Noen viltarter (for eksempel rype, elg, villrein, gaupe, jerv, ulv, brunbjørn) er gjenstand for intensiv høsting og/eller kontroll (skadefelling og lisensjakt), og årlige kvoter settes basert på tidligere års overvåkingsresultat. Disse artene krever en overvåking med høy presisjon og rask reaksjon, og for slike arter vil det derfor være ønskelig å generere indekser på bestandsendringer. Den detaljerte kunnskapen vi får om disse nøkkelartene er dessuten en viktig del av forståelsen av endringer i biologisk mangfold generelt. Denne tilnærmingen med å bygge en bredere forståelse av økosystemet fra summen av individuelle deler fungerer for artsgrupper med få arter, for eksempel pattedyr og fugler, og her kan for eksempel bruk av viltkameraer bidra med kostnadseffektiv datainnsamling for å supplere eksisterende overvåkingsprogrammer. Det er imidlertid ikke praktisk mulig å replikere dette intensitetsnivået i overvåkingen for større deler av det biologiske mangfoldet.

For artsgrupper med et mye større mangfold av arter, eller hvor vi mangler kunnskap om taksonomi, vil det være mer aktuelt å overvåke endringer i artsmangfold, fordeling i landskapet eller tilstedeværelse av fremmede arter. Bruk av miljø-DNA er en lovende metode for kartlegging og overvåking av slike artsgrupper, særlig grupper med «skjult» levevis som sopp i jord og død ved. Det finnes imidlertid ikke én enkelt metode som kan benyttes til overvåking av alle endringer i alle taksonomiske grupper. Dersom målet er å overvåke artsrikdom eller artssammensetning på et generelt nivå, tyder våre funn på at analyser av miljø-DNA kan være en aktuell metode. Dersom målet i stedet er å fange opp *alle* arter, viser våre resultater at en kombinasjon av tradisjonelle og nye metoder er det beste, særlig når det gjelder rødlistede arter (se også Frøslev et al. 2019). Merk at det ofte er sjeldne, spesialiserte og/eller små arter, hvor kartlegging og overvåking

krever en kombinasjon av metoder, som forventes å respondere først på miljøendringer (Clavel et al. 2011, Nordén et al. 2013).

Selv om det vil være mulig å koordinere lokaliteter og tidspunkter for datainnsamling for noen metoder og artsgrupper, vil de forskjellige metodene og økologien til artene de er designet for å overvåke føre til at det i liten grad vil være mulig å designe ett overvåkingsopplegg som fanger opp alle artsgrupper på en optimal måte. Økosystembasert overvåking vil derfor kreve en kombinasjon av overvåkningsmetoder (Ims et al. 2013, Framstad et al. 2020, se også <https://www.abmi.ca/home.html> for et interessant eksempel på et økosystemovervåkningsprogram i stor skala i Alberta, Canada). Uavhengig av metodikk er studier av tidsserier helt nødvendig for overvåking av biologisk mangfold. Dette er særlig viktig i en anvendt kontekst da det kan brukes til å studere virkningen av menneskelig arealbruk og aktiviteter på stor skala, samt effekten av eventuelle tiltak. Tidsseriestudier bør følges av forskning for å forstå de mekanistiske sammenhengene mellom påvirkninger og effekt.

#### *Representativ overvåking eller hotspots?*

Et sentralt spørsmål i overvåkingen av biologisk mangfold er hvordan vi fordeler metodene i landskapet. Skal vi drive med arealrepresentativ overvåking eller overvåke hotspots for biologisk mangfold? Begge deler er viktig, men formålet er forskjellig. Er det et ønske om å samle inn data på nasjonal eller regional skala for å finne ut hvordan det står til med norsk natur generelt, er det behov for å utføre overvåking på en representativ (eller stratifisert) måte. Dette vil fange opp arter langs viktige gradienter i menneskelig aktivitet, men vil ikke omfatte spesialiserte arter med begrenset utbredelse. Mange arter, spesielt truede arter, har en flekkvis forekomst knyttet til spesielle naturtyper (for eksempel gammelskog eller semi-naturlig eng) eller spesielle substrat innad i en naturtype (for eksempel død ved). Slike hotspot-områder er ekstremt viktige for bevaring av det biologiske mangfoldet (se f.eks. Evju et al. 2015 og referanser der), men dekker som regel veldig små arealer og vil derfor i svært liten grad fanges opp av lokaliteter for arealrepresentativ overvåking. Det vil i liten grad være mulig å designe ett overvåkingsopplegg som både gir god kunnskap om biologisk mangfold i hotspot-områder og arealrepresentative data på nasjonal skala. Bruk av ny teknologi som miljø-DNA og kamerafeller vil kunne benyttes til både arealrepresentativ overvåking og overvåking av hotspots, men valg av overvåkingslokaliteter og -design vil være vidt forskjellig.

Et overvåkingsprogram må også balansere behovet for intensiv datainnsamling på et mer begrenset antall lokaliteter (uavhengig av om de er hotspots eller del av arealrepresentativ overvåking) mot ønsket om ekstensiv overvåking av større arealer. Begge tilnærmingene har sterke og svake sider. Den ekstensive tilnærmingen vil fange opp endringer på større skala, men vil ha lavere følsomhet for å oppdage lokale endringer. Den intensive tilnærmingen vil ha større evne til å oppdage lokale endringer, men kan gå glipp av endringene som skjer andre steder. Ideelt sett bør en overvåking av større deler av økosystemet ta i bruk begge disse tilnærmingene, nemlig en omfattende arealrepresentativ datainnsamling i hele landskapet, supplert med intensiv innsats på lokaliteter der det er et ønske om å innhente mer presise data. Ny teknologi kan bidra med kostnadseffektiv datainnsamling ved både ekstensiv og intensiv overvåking, men igjen vil valg av overvåkingslokaliteter og -design være avgjørende for hvilke spørsmål som kan besvares.

Overvåking av biologisk mangfold kan også ha fokus på effekter av spesifikke tiltak (f.eks. Evju et al. 2021) eller påvirkningsfaktorer, som gjødsling av skog eller sluttavvirkning. I så fall må både valg av overvåkingslokaliteter og -design og hvilke artsgrupper som overvåkes, tilpasses de aktuelle tiltakene eller påvirkningsfaktorene. Ny teknologi kan inngå også i denne typen overvåking. For eksempel vil bruk av kamerafeller raskt fange opp endringer i forekomst av pattedyr i landskapet, og miljø-DNA kan benyttes til å studere endringer i genetisk variasjon innen arter over tid. Dette forutsetter imidlertid, som nevnt, at overvåkingsprogrammet er hensiktsmessig organisert med tanke på de aktuelle tiltakene og påvirkningsfaktorene.

### *Igangsetting av ny overvåking*

Det finnes et bredt spekter av metoder, både nye og tradisjonelle, som kan brukes i overvåking av ulike arter og artsgrupper og svare på forskjellige spørsmål. Et første viktig steg er å diskutere hva vi faktisk vil vite, hva vil vi overvåke, hva vil vi bruke dataene til, og hvor presise data vi trenger for å kunne oppdage endringer. Det neste steget er en iterativ prosess med dialog mellom forskning og forvaltning hvor følgende spørsmål diskuteres opp mot målene for overvåkingen, tilgjengelige metoder og finansiering:

- Hva er målene med overvåkingsprogrammet, og hvordan skal de brukes i adaptiv forvaltning eller forskning?
- Hvordan kan vi best utnytte metodene som vi vet at fungerer – og samtidig sørge for synergier med eksisterende programmer – for å produsere optimale resultater som svarer på målene for overvåkingen?
- Hvor mye vil dette koste – og er det realistisk?

Resultatet bør være en pakke av komplementære overvåkingsprogrammer som produserer statistisk robuste og kostnadseffektive resultater som svarer på forvaltningens mål, med et overordnede mål om bærekraftig forvaltning av norsk natur. Denne rapporten bidrar med noen svar på hvordan ny teknologi som analyser av miljø-DNA og kamerafeller kan inngå i overvåkingen av biologisk mangfold.

## 8 Referanser

- Adams, C.I.M., Hoekstra, L.A., Muell, M.R. & Janzen, F.J. 2019. A brief review of non-avian reptile environmental DNA (eDNA), with a case study of painted turtle (*Chrysemys picta*) eDNA under field conditions. *Diversity* 11: 50.
- Alsos, I.G., Lammers, Y., Yoccoz, N.G., Jørgensen, T., Sjögren, P., Gielly, L. & Edwards, M.E. 2018. Plant DNA metabarcoding of lake sediments: how does it represent the contemporary vegetation. *PLoS ONE* 13: e0195403.
- Andersen, K., Bird, K.L., Rasmussen, M., Haile, J., Breuning-Madsen, H., Kjær, K.H., L. Orlando, Gilbert, M.T.P. & Willerslev, E., 2012. Meta-barcoding of "dirt" DNA from soil reflects vertebrate biodiversity. *Molecular Ecology* 21: 1966-1979.
- Anonym 2004. Innstilling fra energi- og miljøkomiteen om rovvilt i norsk natur. St. meld. nr 15 (2003-2004). Innst. S. nr. 174 (2003-2004).
- Artsdatabanken 2018. Fremmedartslista 2018. <https://www.artsdatabanken.no/fremmedartslista2018>.
- Artsdatabanken 2020. Hvor mange arter finnes i Norge? [https://artsdatabanken.no/Pages/205713/Hvor\\_mange\\_arter\\_finnes\\_i?](https://artsdatabanken.no/Pages/205713/Hvor_mange_arter_finnes_i?)
- Austrheim, G., Solberg, E.J. & Mysterud, A. 2011. Spatio-temporal variation in large herbivore pressure in Norway during 1949-1999: has decreased grazing by livestock been countered by increased browsing by cervids. *Wildlife Biology* 17: 286-298.
- Axtner, J., Crampton-Platt, A., Hörig, L.A., Mohamed, A., Xu, C.C.Y., Yu, D.W. & Wilting, A. 2019. An efficient and robust laboratory workflow and tetrapod database for larger scale eDNA studies. *bioRxiv* 345082.
- Bakken, T., Oug, E. & Haraldsen, T.K. 2015. Leddormer (Annelida). Norsk rødliste for arter 2015. Artsdatabanken. <https://artsdatabanken.no/Rodliste/Artsgruppene/Leddormer>.
- Banchi, E., Ametrano, C.G., Greco, S., Stankovic, D., Muggia, L. & Pallavicini, A. 2020. PLANITS: a curated sequence reference dataset for plant ITS DNA metabarcoding. *Database* baz155 <https://doi.org/10.1093/database/baz155>.
- Bater, C.W., Coops, N.C., Wulder, M.A., Hilker, T., Nielsen, S.E., McDermid, G. & Stenhouse, G.B. 2011. Using digital time-lapse cameras to monitor species-specific understorey and overstorey phenology in support of wildlife habitat assessment. *Environmental Monitoring and Assessment* 180: 1-13.
- Bashir, T., Bhattacharya, T., Poudyal, K., Sathyakumar, S. & Qureshi, Q. 2013. Estimating leopard cat *Prionailurus bengalensis* densities using photographic captures and recaptures. *Wildlife Biology* 19: 462-472.
- Bass, D., Stentiford, G. D., Littlewood, D.T.J. & Hartikainen, H. 2015. Diverse applications of environmental DNA methods in parasitology. *Trends in Parasitology* 31: 499-513
- Bienert, F., De Danieli, S., Miquel, C. Coissac, E., Poillot, C., Brun, J. & Taberlet, P. 2012. Tracking earthworm communities from soil DNA. *Molecular Ecology* 21: 2017-2030.
- Biggs, J., Ewald, N., Valentin, A., Gaboriaud, C., Dejean, T., Griffiths, R.A., Foster, J., Wilkinson, J.W., Arnell, A., Brotherton, P., Williams, P. & Dunn, F. 2015. Using eDNA to develop a national citizen science-based monitoring programme for the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Biological Conservation* 183: 19-28.
- Bik, H.M., Porazinska, D.L., Creer, S., Caporaso, J.G., Knight, R., & Thomas, W.K. 2012. Sequencing our way towards understanding global eukaryotic biodiversity. *Trends in Ecology and Evolution* 27: 233-243.
- Bischof, R., Milleret, C., Dupont, P., Chipperfield, J., Åkesson, M., Brøseth, H. & Kindberg, J. 2019. Estimating the size of the Scandinavian wolf population with spatial capture-recapture and conversion factors. *MINA fagrapport* 57: 1-80. Norwegian University of Life Sciences.
- Blanc, L., Marboutin, E., Gatti, S. & Gimenez, O. 2013. Abundance of rare and elusive species: empirical investigation of closed versus spatially explicit capture-recapture models with lynx as a case study. *Wildlife Management* 77: 372-378.
- Boessenkool, S., Epp, L.S., Haile, J., Bellemain, E., Edwards, M., Coissac, E., Willerslev, E. & Brochmann, C. 2012. Blocking human contaminant DNA during PCR allows amplification of rare mammal species from sedimentary ancient DNA. *Molecular Ecology* 21: 1806-1815.
- Brandrud, T.E., Brandrud, M.K. & Dima, B. 2020. Nasjonal overvåking av kalklindeskog og kalklindeskogsopper. Resultater fra andre overvåkingsomløp, første år (2019). NINA Rapport 1793. Norsk institutt for naturforskning.



- Brandrud, T. E., Evju, M., Błaalid, R. & Skarpaas, O. 2016. Nasjonal overvåking av kalklindeskog og kalklindeskogsopper. Resultat fra første overvåkingsomløp 2013–2015. NINA Rapport 1297. Norsk institutt for naturforskning.
- Brandrud, T.E., Evju, M. & Skarpaas, O. 2014. Nasjonal overvåking av kalklindeskog og kalklindeskogsopper. Beskrivelse av overvåkingsopplegg fra ARKO-prosjektet. NINA rapport 1057. Norsk institutt for naturforskning.
- Bridge, P. & Spooner, B. 2001. Soil fungi: diversity and detection. *Plant and Soil* 232: 147-154.
- Brown, T.B., Hultine, K.R., Steltzer, H., Denny, E.G., Denslow, M.W., Granados, J., Henderson, S., Moore, D., Nagai, S., SanClements, M., Sanchez-Azofeifa, A., Sonnentag, O., Tazik, D. & Richardson, A.D. 2016. Using phenocams to monitor our changing Earth: toward a global phenocam network. *Frontiers in Ecology and the Environment* 14: 84-93.
- Buée, M., Reich, M., Murat, C., Morin, E., Nilsson, R.H., Uroz, S. & Martin, F. 2009. 454 Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New Phytology* 184: 449-456.
- Bui, S., Dalvin, S., Vågseth, T., Oppedal, F., Fossøy, F., Brandsegg, H., Jacobsen, Á., á Norði, G, Fordyce, M.J., Michelsen, H.K., Finstad, B. & Skern-Mauritzen, R. 2021. Finding the needle in the haystack: comparison of methods for salmon lice enumeration in plankton samples. *Aquaculture Research*. In press.
- Burton, A. C., Neilson, E., Moreira, D., Ladle, A., Steenwag, R., Fisher, J.T., Bayne, E. & Boutin, S. 2015. Wildlife camera trapping: a review and recommendations for linking surveys to ecological processes. *Journal of Applied Ecology* 52: 675-685.
- Buxton, R.T., Lendrum, P.E., Crooks, K.R. & Wittemyer, G. 2018. Pairing camera traps and acoustic recorders to monitor the ecological impact of human disturbance. *Global Ecology and Conservation* 16: e00493.
- Cabré, L.B. 2020. Disentangling the drivers of European badger (*Meles meles*) activity at multiple temporal scales. Master's thesis, Norwegian University of Life Sciences.
- 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: 2639-2643.
- Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J. & Holmes, S.P. 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 13: 581-3.
- Calvignac- Spencer, S., Merkel, K., Kutzner, N., Kühn, H., Boesch, C., Kappeler, P.M., Metzger, S., Schubert, G. & Leendertz, F.H. 2013. Carrion fly-derived DNA as a tool for comprehensive and cost-effective assessment of mammalian biodiversity. *Molecular Ecology* 22: 915-924.
- Cameron, E.K. Martine, I.S., Lavelle, P., Mathieu, J., Tedersoo, L., Bahram, M., Gottschall, F., Guerra, C.A., Hines, J., Patoine, G., Siebert, J., Winter, M., Cesarz, S., Ferlian, O., Kreft, H., Lovejoy, T.E., Montanarella, L., Origiazzi, A., Pereira, H.M., Phillips, H.R.P., Settele, J., Wall, D.H. & Eisenhauer, N. 2019. Global mismatches in aboveground and belowground biodiversity. *Conservation Biology* 33: 1187-1192.
- Caravaggi, A., Banks, P.B., Burton, A.C., Finlay, C.M.V., Haswell, P.M., Hayward, M.W., Rowcliffe, M.J. & Wood, M.D. 2017. A review of camera trapping for conservation behaviour research. *Remote Sensing in Ecology and Conservation* 3: 109-122.
- Caravaggi, A., Cole Burton, A., Clark, D.A., Fisher, J.T., Grass, A., Green, S., Hobaiter, C., Hofmeester, T.R., Kalan, A.K., Rabaiotti, D. & Rivet, D. 2020. A review of factors to consider when using camera traps to study animal behavior to inform wildlife ecology and conservation. *Conservation Science and Practice* 2: e239.
- Carricondo-Sanchez, D., Odden, M., Linnell, J.D.C. & Odden, J. 2017. The range of the range: spatiotemporal patterns of sarcoptic mange in red foxes (*Vulpes vulpes*) as revealed by camera trapping. *PlosOne* 12: e0176200.
- Caruso, V., Song, X., Asquith, M. & Karstens, L. 2019. Performance of microbiome sequence inference methods in environments with varying biomass. *mSystems* 4: e00163-18.
- Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., Zhy, Y., Ma, X., Gao, T., Pang, X., Luo, K., Li, Y., Li, X., Jia, X., Lin, Y. & Leon, C. 2010. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. *PLOS ONE* 5: e8613.
- Clavel, J., Julliard, R. & Devictor, V. 2011. Worldwide decline of specialist species: toward a global functional homogenization? *Frontiers in Ecology and the Environment*, 9: 222-228.
- Collett, R.A. & Fisher, D.O. 2017. Time-lapse camera trapping as an alternative to pitfall trapping for estimating activity of leaf litter arthropods. *Ecology and Evolution* 7: 7527-7533.

- Cordier, T., Forster, D., Dufresne, Y., Martins, C.I.M., Stoeck, T., & Pawlowski, J. 2018. Supervised machine learning outperforms taxonomy-based environmental DNA metabarcoding applied to biomonitoring. *Molecular Ecology Resources* 18: 1381–1391.
- Creer, S., Deiner, K., Frey, S., Porazinska, D., Taberlet, P., Thomas, W.K., Potter, C. & Bik, H.M. 2016. The ecologist's field guide to sequence-based identification of biodiversity. *Methods in Ecology and Evolution* 7: 1008-1018.
- Cretois, B., Linnell, J.D.C., Grainger, M., Nilsen, E.B. & Rød, J.K. 2020. Hunters as citizen scientists: contributions to biodiversity monitoring in Europe. *Global Ecology and Conservation* 23: e01077.
- Davey, M.L., Heegaard, E., Halvorsen, R., Ohlson, M. & Kauserud, H. 2012. Seasonal trends in the biomass and structure of bryophyte-associated fungal communities explored by 454 pyrosequencing. *New Phytologist* 195: 844-856.
- Davey, M., Utaaker, K.S. & Fossøy, F. 2021. Characterizing parasitic nematode faunas in faeces and soil using DNA-metabarcoding. Manuskrift.
- de Vere, N., Jones, L.E., Gilmore, T., Moscrop, J., Lowe, A., Smith, D., Hegarty, M.J., Creer, S. & Ford, C.R. 2017. Using DNA metabarcoding to investigate honey bee foraging reveals limited flower use despite high floral availability. *Scientific Reports* 7: 42838.
- Deiner, K., Bik, H.M., Machler, E., Seymour, M., Lacoursiere-Roussel, A., Altermatt, F., Creer, S., Bista, I., Lodge, D.M., de Vere, N., Pfrender, M.E. & Bernatchez, L. 2017. Environmental DNA metabarcoding: transforming how we survey animal and plant communities. *Molecular Ecology* 26: 5872-5895.
- Dejean, T., Valentini, A., Miquel, C., Taberlet, P., Bellemain, E. & Miaud, C. 2012. Improved detection of an alien invasive species through environmental DNA barcoding: the example of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus*. *Journal of Applied Ecology* 49: 953-959.
- Drummond, A., Newcomb, R.D., Buckley, T.R., Xie, D., Dopheide, A., Potter, B.C.M., Heled, J., Ross, H.A., Tooman, L., Grosser, S., Park, D., Demetras, N.J., Stevens, M.I., Russell, J.C., Anderson, S.H., Carter, A. & Nelson, N. 2015. Evaluating a multigene environmental DNA approach for biodiversity assessment. *GigaScience* 4: 1-20.
- Edgar, R.C. 2016. SINTAX: a simple non-Bayesian taxonomy classifier for 16S and ITS sequences. <https://doi.org/10.1101/074161>.
- Elbrecht, V. & Leese, F. 2017. Validation and development of COI metabarcoding primers for freshwater macroinvertebrate bioassessment. *Frontiers in Environmental Science* 5: 11.
- Elbrecht, V., Vamos, E.E., Meissner, K., Aroviita, J. & Leese, F. 2017. Assessing strengths and weaknesses of DNA metabarcoding-based macroinvertebrate identification for routine stream monitoring. *Methods in Ecology and Evolution* 8: 1265-1275.
- Epp, L.S., Boessenkool, S., Bellemain, E.P., Haile, J., Espoito, A., Riaz, T., Erséus, C., Gusarov, V.I., Edwards, M.E., Johnsen, A., Stenøien, H.K., Hassel, K., Kauserud, H., Yoccoz, N.G., Bråthen, K.A., Willerslev, E., Taberlet, P., Coissac, E. & Brochmann, C. 2012. New environmental metabarcodes for analysing soil DNA: potential for studying past and present ecosystems. *Molecular Ecology* 21: 1821-1833.
- Evju, M. (red)., Bakkestuen, V., Blom, H.H., Brandrud, T.E., Bratli, H., Nordén, B., Sverdrup-Thygeson, A. & Ødegaard, F. 2015. Oaser for artsmangfoldet - hotspot-habitater for rødlistearter. NINA Temahefte 61. Norsk institutt for naturforskning.
- Evju, M., Pedersen, B., Sydenham, M.A.K. & Framstad, E. 2021. Overvåking av effekter av tiltak for truet natur. Strategier, kostnader og prioriteringer. NINA Rapport 1975. Norsk institutt for naturforskning.
- Evju, M., Stabbetorp, O.E., Olsen, S.L., Bratli, H., Often, A. & Bakkestuen, V. 2020. Åpen grunnlendt kalkmark i Oslofjordområdet. Uttesting av overvåkingsmetodikk og resultater fra 2020. NINA Rapport 1910. Norsk institutt for naturforskning.
- Fahner, N.A., Shokralla, S., Baird, D.J. & Hajibabaei, M. 2016. Large-scale monitoring of plants through environmental DNA metabarcoding of soil: recovery, resolution, and annotation of four DNA markers. *PLoS ONE* 11: e0157505.
- Falaschi, M., Melotto, A., Manenti, R. & Ficetola, G.F. 2020. Invasive species and amphibian conservation. *Herpetologica* 76: 216-227
- Ficetola, G.F., Miaud, C., Pompanon, F. & Taberlet, P. 2008. Species detection using environmental DNA from water samples. *Biology Letters* 4: 423-425.
- Ficetola, G.F., Manenti, R. & Taberlet, P. 2019. Environmental DNA and metabarcoding for the study of amphibians and reptiles: species distribution, the microbiome, and much more. *Amphibia-Reptilia* 40: 129-148.

- Fierer, N. & Jackson, R.B. 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *PNAS* 103: 626-631.
- Flagstad, Ø., Kleven, O., Erlandsen, S.E., Spets, M.H., Eriksen, L.B., Andersson, I.P.O., Johansson, M., Ekblom, R., Ellegren, H. & Brøseth, H. 2019. DNA-basert overvåking av den skandinaviske jervebestanden 2019. NINA Rapport 1762. Norsk institutt for naturforskning.
- Frøslev, T.G., Kjølner, R., Bruun, H. H., Ejrnæs, R., Hansen, A. J., Læssøe, T. & Heilmann-Clausen, J. 2019. Man against machine: do fungal fruitbodies and eDNA give similar biodiversity assessments across broad environmental gradients? *Biological Conservation* 233: 201-212.
- Funakoshi, K., Nagasato, A., Takenouchi, S., Kannonki, R., Kikusui, M., Uchihara, A. & Tamai, K. 2017. Annual molting cycle and photoperiods that affect seasonal coat color changes in the Japanese marten (*Martes melampus*). *Mammal Study* 42: 209-218.
- Gervasi, V., Odden, J., Linnell, J. D. C., Persson, J., Andrén, H. & Brøseth, H. 2013. Re-evaluation of distance criteria for classification of lynx family groups in Scandinavia. NINA Report 965. Norwegian Institute for Nature Research.
- Gibson, L., Humphreys, W.F., Harvey, M., Hyder, B. & Winzer, A. 2019. Shedding light on the hidden world of subterranean fauna: a transdisciplinary research approach. *Science of the Total Environment* 684: 381-389.
- Gogarten, J.F., Hoffmann, C., Arandjelovic, M., Sachse, A., Merkel, K., Dieguez, P., Agbor, A., Angedakin, S., Brazzola, G., Jones, S., Langergraber, K.E., Lee, K., Marrocoli, S., Murai, M., Sommer, V., Kuhl, H., Leendertz, F.H. & Calvignac-Spencer, S. 2019. Fly-derived DNA and camera traps are complementary tools for assessing mammalian biodiversity. *Environmental DNA* 2: 63-76.
- Goldberg, C.S., Pilliod, D.S., Arkle, R.S. & Waits, L.P. 2011. Molecular detection of vertebrates in stream water: a demonstration using rocky mountain tailed frogs and Idaho giant salamanders. *PloS ONE*: e22746.
- Gould, M.J., Gould, W.R., Cain, J. W. & Roemer, G. W. 2019. Validating the performance of occupancy models for estimating habitat use and predicting the distribution of highly-mobile species: a case study using the American black bear. *Biological Conservation* 234: 28-36.
- Green, S.E., Rees, J.P., Stephens, P.A., Hill, R.A. & Giodano, A.J. 2020. Innovations in camera trapping technology and approaches: the integration of citizen science and artificial intelligence. *Animals* 10: 132.
- Gregersen, H. & Gregersen, F. 2014. Wildlife cameras effectively survey Black Grouse *Lyrurus tetrix* leks. *Ornis Norvegica* 37: 1-6.
- Halstead, B.J., Wylie, G.D. & Casazza, M.L. 2010. Habitat suitability and conservation of the Giant Gartersnake (*Thamnophis gigas*) in the Sacramento Valley of California. *Copeia* 2010: 591-599.
- Hanssen-Bauer, I., Førland, E.J., Haddeland, I., Hisdal, H., Mayer, S., Nesje, A., Nilsen, J.E.Ø., Sandven, S., Sandø, A.B., Sorteberg, A. & Ådlandsvik, B. 2015. Klima i Norge 2100 - Kunnskapsgrunnlag for klimatilpasning oppdatert i 2015. Norsk klimaservicesenter.
- Harper, R.L., Handley, L.L., Carpenter, A.I., Ghazali, M., Muri, D.C., Macgregor, J.C., Logan, T.W., Law, A., Breithaupt, T., Read, D.S., McDevitt, A.D. & Hanfling, B. 2019. Environmental DNA (eDNA) metabarcoding of pond water as a tool to survey conservation and management priority mammals. *Biological Conservation* 238: 08225.
- Hayati, A.A. & Proctor, M.C.F. 1991. Limiting nutrients in acid-mire vegetation: peat and plant analyses and experiments on plant response to added nutrients. *Journal of Ecology* 79: 75-95.
- Henriksen S. & Hilmo O. (red.) 2015. Norsk rødliste for arter 2015. Artsdatabanken, Norge.
- Hobbs, M.T. & Brehme, C.S. 2017. An improved camera trap for amphibians, reptiles, small mammals, and large invertebrates. *PLoS ONE* 12: e0185026.
- Hofgaard, A. 2004. Etablering av overvåkingsprosjekt på palsmyrer. NINA Oppdragsmelding 841. Norsk institutt for naturforskning.
- Hofmeester, T.R., Cromsigt, J.P.G.M., Odden, J., Andren, H., Kindberg, J. & Linnell, J.D.C. 2019b. Framing pictures: a conceptual framework to identify and correct for biases in detection probability of camera traps enabling multi-species comparison. *Ecology and Evolution* 9: 2320-2336.
- Hofmeester, T.R., Young, S., Juthberg, S., Singh, N.J., Widemo, F., Andren, H., Linnell, J.D.C. & Cromsigt, J.P.G.M. 2019a. Using by-catch data from wildlife surveys to quantify climatic parameters and the timing of phenology for plants and animals using camera traps. *Remote Sensing in Ecology and Conservation*, early view.

- Hoppe, B., Krüger, D., Kahl, T., Arnstadt, T., Buscot, F., Bauhus, J. & Wubet, T. 2015. A pyrosequencing insight into sprawling bacterial diversity and community dynamics in decaying deadwood logs of *Fagus sylvatica* and *Picea abies*. *Scientific Reports* 5: 9456.
- Horton, D.J., Kershner, M.W. & Blackwood, C.B. 2017. Suitability of PCR primers for characterizing invertebrate communities from soil and leaf litter targeting metazoan 18S ribosomal or cytochrome oxidase I (COI) genes. *European Journal of Soil Biology* 80: 43-48.
- Ihrmark, K., Bödeker, I.T.M., Cruz-Martinez, K., Friberg, H., Kubartova, A., Schenck, J., Strid, Y., Stenlid, J., Brandström-Durling, M., Clemmensen, K.E. & Lindahl, B. 2012. New primers to amplify the fungal ITS2 region – evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. *FEMS Microbiology Ecology* 82: 666-677.
- Ims, R.A., Jepsen, J.U., Stien, A. & Yoccoz, N.G. 2013. Science plan for COAT: Climate-ecological Observatory for Arctic Tundra. Fram Centre Report Series 1, Fram Centre, Norway.
- Jackson, M., Myrholm, C., Shaw, C. & Ramsfield, T. 2017. Using nested PCR to improve detection of earthworm eDNA in Canada. *Soil Biology and Biochemistry* 113: 215-218.
- Jerde, C.L., Mahon, A.R., Chadderton, W.L. & Lodge, D.M. 2011. "Sight-unseen" detection of rare aquatic species using environmental DNA. *Conservation Letters* 4: 150-157.
- Ji, Y., Ashton, L., Pedley, S.M., Edwards, D.P., Tang, Y., Nakamura, A., Kitching, R., Dolman, P.M., Woodcock, P., Edwards, F.A., Larsen, T.H., Hsu, W.W., Benedick, S., Hamer, K.C., Wilcove, D.S., Bruce, C., Wang, C., Levi, T., Lott, M., Emerson, B.C. & Yu, D.W. 2013. Reliable, verifiable and efficient monitoring of biodiversity via metabarcoding. *Ecological Letters* 16: 1245-1257.
- Johansen, L., Carlsen, T.H., Bele, B., Daugstad, K., Grenne, S., Solbu, E.B., Sickel, H., Vesterbukt, P. & Bär, A. 2019. Arealrepresentativ overvåking av semi-naturlig eng. Pilot i Nordland og Trøndelag 2019. NIBIO Rapport 5/163/2019. Norsk institutt for bioøkonomi.
- Johnson, S.D., Balducci, M.G., Bijl, A., Castañeda-Zárate, M., Cozien, R.J., Ortmann, C.R. & van der Niet, T. 2019. From dusk till dawn: camera traps reveal the diel patterns of flower feeding by hawkmoths. *Ecological entomology* 45: 751-755.
- Karanth, K.U., Nichols, J.D., Kumar, N.S. & Hines, J.E. 2006. Assessing tiger population dynamics using photographic capture-recapture sampling. *Ecology* 87: 2925-2937.
- Keenan, T.F., Darby, B., Felts, E., Sonnentag, O., Friedl, M.A., Hufkens, K., O'Keef, J., Klosterman, S., Munger, J.W., Toome, M. & Richardson, A.D. 2014. Tracking forest phenology and seasonal physiology using digital repeat photography: a critical assessment. *Ecological Applications* 24: 1478-1489.
- Keim, J.L., Lele, S.R., DeWitt, P.D., Fitzpatrick, J.J. & Jenni, N.S. 2019. Estimating the intensity of use by interacting predators and prey using camera traps. *Journal of Animal Ecology* 88: 690–701.
- Klymus, Marshall, N.T. & Stepien, C. A. 2017. Environmental DNA (eDNA) metabarcoding assays to detect invasive invertebrate species in the Great Lakes. *PLoS ONE* 12: e0177643.
- Kjørstad, M., Ledström, G., Nordin, H., Odden, J., Pedersen, V., Svensson, L. & Tovmo, M. 2012. Forslag til samordning av overvåking av gaupe i Norge og Sverige. NINA Rapport 880. Norsk institutt for naturforskning.
- Kubartová, A., Ottosson, E., Dahlberg, A. & Stenlid, J. Patterns of fungal communities among and within decaying logs, revealed by 454 sequencing. *Molecular Ecology* 21: 4514-4532.
- Kulldorff, M., Heffernan, R., Hartman, J., Assuncao, R. & Mostashari, F. 2005. A space-time permutation scan statistic for disease outbreak detection. *PLoS Medicine* 2: 216-224.
- Kundu, S., Kumar, V., Tyagi, K. & Chandra, K. 2018. Environmental DNA (eDNA) testing for detection of freshwater turtles in a temple pond. *Herpetological Notes* 18: 369-371.
- Leempoel, K., Hebert, T., Hadly, E.A. 2020. A comparison of eDNA to camera trapping for assessment of terrestrial mammal diversity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 287: 20192353.
- Leese, F., Sander, M., Buchner, D., Elbrecht, V., Haase, P. & Zizka, V.M.A. 2020. Improved freshwater macroinvertebrate detection from eDNA through minimized non-target amplification. *bioRxiv*: 2020.04.27.063545.
- Lele, S.R., Merrill, E.H., Keim, J. & Boyce, M.S. 2013. Selection, use, choice and occupancy: clarifying concepts in resource selection studies. *Journal of Animal Ecology* 82: 1183-1191.
- Lewis, D. 2019. Rare birds detection highlights promise of environmental DNA. *Nature* 575: 423-424.

- Liberg, O., Johansson, A., Andersen, R. & Linnell, J.D.C. 1998. Mating system, mating tactics and the function of male territoriality in roe deer. In *The European roe deer: the biology of success* (eds. Andersen, R. Duncan, P. & Linnell, J.D.C.), pp. 221-256. Scandinavian University Press.
- Lindahl, B.D., Nilsson, R.H., Tedersoo, L., Abarenkiv, K., Carlsen, T., Kjølner, R., Kõljalg, U., Penanen, T. & Rosendahl, S. 2013. Fungal community analysis by high-throughput sequencing of amplified markers – a user's guide. *New Phytologist* 199: 288-299.
- Lindström, E.R., Andrén, H., Angelstam, P., Cederlund, G., Hörnfeldt, B., Jäderberg, L., Lemnell, P.-A., Martinsson, B., Sköld, K. & Swenson, J.E. 1994. Disease reveals the predator: sarcoptic mange, red fox predation, and prey populations. *Ecology* 75: 1042-1049.
- Linnell, J. D. C., Odden, J., Andren, H., Liberg, O., Andersen, R., Moa, P., Kvam, T., Broseth, H., Segerstrom, P., Ahlqvist, P., Schmidt, K., Jedrzejewski, W. & Okarma, H. 2007. Distance rules for minimum counts of Eurasian lynx *Lynx lynx* family groups under different ecological conditions. *Wildlife Biology* 13: 447-455.
- Loman, N., Constantinidou, C., Chan, J., Halachev, M., Sergeant, M., Penn, C.W., Robinson, E.R. & Pallen, M.J. 2012. High-throughput bacterial genome sequencing: an embarrassment of choice, a world of opportunity. *Nature Reviews Microbiological* 10: 599-606.
- Lopes, C.M., Baeta, D., Valentini, A., Lyra, M.L., Sabbag, A.F., Gasparin, J.L., Dejean, T., Haddad, C.F.B. & Zamudio, K.R. 2020. Lost and found: frogs in a biodiversity hotspot rediscovered with environmental DNA. *Molecular Ecology*: doi:10.1111/mec.15594.
- Lucas, A., Bodger, O., Brosi, B.J., Ford, C.R., Forman, D.W., Greig, C., Hegarty, M., Neyland, P.J. & de Vere, N. 2018. Generalisation and specialisation in hoverfly (Syrphidae) grassland pollen transport networks revealed by DNA metabarcoding. *Journal of Animal Ecology* 87: 1008-1021.
- Magerøy, J.H., Leirflåt, T., Lunde, J. Majaneva, M.A.M., Brandsegg, H., Andersskog, I.P.Ø. & Fossøy, F. 2020. Bruk av miljø-DNA til å identifisere forurensningskilder. Tiltaksanalyse for elvemusling i Ereviksbekken. NINA Rapport 1897. Norsk institutt for naturforskning.
- Malekian, M., Sadeghi, P. & Goudarzi, F. 2018. Assessment of environmental DNA for detection of an imperiled amphibian, the luristan newt (*Neurergus kaiseri*, Schmidt 1952). *Herpetological Conservation and Biology* 13: 175-182.
- Massei, G., Coats, J., Lambert, M.S., Pietravalle, S., Gill, R. & Cowan, D. 2018. Camera traps and activity signs to estimate wild boar density and derive abundance indices. *Pest Management Science* 74: 853-860
- Meek, P., Ballard, G., Fleming, P. & Falzon, G. 2016. Are we getting the full picture? Animal responses to camera traps and implications for predator studies. *Ecology and Evolution* 6: 3216-3225.
- Miljødirektoratet & Mattilsynet 2019. Handlingsplan mot villsvin 2020-2024. Rapport M-1506|2019. Miljødirektoratet.
- Miller, K.E., Hopkins, K., Inward, D.J.G. & Vogler, A.P. 2016. Metabarcoding of fungal communities associated with bark beetles. *Ecological Evolution* 6: 1590-1600.
- Mills, L.S., Zimova, M., Oyler, J., Running, S., Abatzoglou, J.T. & Lukacs, P.M. 2013. Camouflage mismatch in seasonal coat color due to decreased snow duration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110: 7360-7365.
- Moore, J.F., Pine, W.E., Mulindahabi, F., Niyigaba, P., Gatorano, G., Masozera, M.K. & Beaudrot, L. 2020. Comparison of species richness and detection between line transects, ground camera traps, and arboreal camera traps. *Anim Conservation* 23: 561-572.
- Morias, P. & Reichard, M. 2018. Cryptic invasions: a review. *Science of the Total Environment* 613-614: 1438-1448.
- Morrow, G. & Nicol, S.C. 2009. Cool sex? Hibernation and reproduction overlap in the Echidna. *PLoS ONE* 4: e6070.
- Mos, J. & Hofmeester, T.R. 2020. The Mostela: an adjusted camera trapping device as a promising non-invasive tool to study and monitor small mustelids. *Mammal Research* 65: 843-853.
- Murali, A., Bhargava, A. & Wright, E.S. 2018. IDTAXA: a novel approach for accurate taxonomic classification of microbiome sequences. *Microbiome* 6: 140.
- Mächler, E., Deiner, K., Steinmann, P. & Altermatt, F. 2014. Utility of environmental DNA for monitoring rare and indicator macroinvertebrate species. *Freshwater Science* 33: 1174-1183.
- Mächler, E., Walser, J.-C. & Altermatt, F. 2020. Decision making and best practices for taxonomy-free eDNA metabarcoding in biomonitoring using Hill numbers. *bioRxiv*: 2020.03.31.017723.

- Mäkipää, R., Rajala, T., Schigel, D., Rinne, R.T., Pennanen, T., Abrego, N. & Ovaskainen, O. 2017. Interactions between soil- and dead wood-inhabiting fungal communities during the decay of Norway spruce logs. *The ISME Journal* 11: 1964-1974.
- Nasahara, K.N. & Nagai, S. 2015. Review: development of an in situ observation network for terrestrial ecological remote sensing: the Phenological Eyes Network (PEN). *Ecological Research* 30: 211-223.
- Nguyen, B. N., Shen, E.W., Seeman, J., Correa, A.M.S., O'Donnell, J.L., Altieri, A.H., Knowlton, N., Crandall, K.A., Egan, S.P., McMillan, O.W. & Leray, M. 2020. Environmental DNA survey captures patterns of fish and invertebrate diversity across a tropical seascape. *Scientific Reports* 10: 6729.
- Nguyen, N.H., Song, Z., Bates, S.T., Branco, S., Tedersoo, L., Menke, J., Schilling, J.S. & Kennedy, P.G. 2016. FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology* 20: 241-248.
- Nilsen, E.B., Brøseth, H., Odden, J. & Linnell, J.D.C. 2012. Quota hunting of Eurasian lynx in Norway: patterns of hunter selection, hunter efficiency and monitoring accuracy. *European Journal of Wildlife Research* 58: 325-333.
- Nordén, J., Penttilä, R., Siitonen, J., Tomppo, E. & Ovaskainen, O. 2013. Specialist species of wood-inhabiting fungi struggle while generalists thrive in fragmented boreal forests. *Journal of Ecology* 101: 701-712.
- Nordén, J., Åström, J., Josefsson, T., Blumentrath, S., Ovaskainen, O., Sverdrup-Thygeson, A. & Nordén, B. 2018. At which spatial and temporal scales can fungi indicate habitat connectivity? *Ecological Indicators* 91:138-148.
- O'Connell, A.F., Nichols, J.D. & Karanth, K.U. (eds.). 2011. *Camera traps in animal ecology: methods and analyses*. Tokyo, Springer Japan.
- Odden, J. 2015. Bruk av viltkamera i overvåking av gaupe - et pilotstudie i tre områder på Østlandet. NINA Rapport 1216. Norsk institutt for naturforskning.
- Odden, J. 2020. SCANDCAM - oversikt over gjennomførte aktiviteter 2019/2020. NINA Prosjektnotat 278. Norsk institutt for naturforskning
- Oliverio, A.M., Gan, H., Wickings, K. & Fierer, N. 2018. A DNA metabarcoding approach to characterize soil arthropod communities. *Soil Biology and Biochemistry* 125: 37-43.
- Ottosson, E., Kubartová, A., Edman, M., Jönsson, M., Lindhe, A., Steinlid, J. & Dahlberg, A. 2015. Diverse ecological roles within fungal communities in decomposing logs of *Picea abies*. *FEMS Microbiology Ecology* 91: fiv012.
- Ovaskainen, O., Nokso-Koivisto, J., Hottola, J., Rajala, T., Pennanen, T., Ali-Kovero, H., Miettinen, O., Oinonen, P., Auvinen, P., Paulin, L., Larsson, K.-H. & Mäkipää, R. 2010. Identifying wood-inhabiting fungi with 454 sequencing - what is the probability that BLAST gives the correct species? *Fungal Ecology* 3: 274-283.
- Ovaskainen, O., Schigel, D., Ali-Kovero, H., Auvinen, P., Paulin, L., Nordén, B. & Nordén, J. 2013. Combining high-throughput sequencing with fruit body surveys reveals contrasting life-history strategies in fungi. *The ISME Journal* 7: 1696-1709.
- Pace, N.R. 1997. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science* 276: 734-740.
- Pagnucco, K.S., Paszkowski, C.A. & Scrimgeour, G.J. 2011. Using cameras to monitor tunnel use by long-toed salamanders (*Ambystoma macrodactylum*): an informative, cost-efficient technique. *Herpetological Conservation and Biology* 6: 277-86.
- Pauvert, C., Buée, M., Laval, V., Edel-Hermann, V., Fauchery, L., Gautier, A., Lesur, I., Vallance, J. & Vacher, C. 2019. Bioinformatics matters: the accuracy of plant and soil fungal community data is highly dependent on the metabarcoding pipeline. *Fungal Ecology* 41: 23-33.
- Pesenti, E. & Zimmermann, F. 2013. Density estimations of the Eurasian lynx (*Lynx lynx*) in the Swiss Alps. *Journal of Mammalogy* 94: 73-81.
- Pfeffer, S.E., Spitzer, R. A., Andrew, M., Hofmeester, T.R., Ericsson, G., Widemo, F., Singh, N.J. & Cromsigt, J.P.G.M. 2018. Pictures or pellets? Comparing camera trapping and dung counts as methods for estimating population densities of ungulates. *Remote sensing in Ecology and Conservation* 4: 173-183.
- Piaggio, A.J., Engeman, R.M., Hopken, M.W., Humphrey, J.S., Keacher, K.L., Bruce, W.E. & Avery, M.L. 2014. Detecting an elusive invasive species: a diagnostic PCR to detect Burmese python in Florida waters and an assessment of persistence of environmental DNA. *Molecular Ecology Resources* 14: 374-380.
- Pickles, R.S.A., McCann, N.P. & Holland, A.P. 2011. Mammalian and avian diversity of the Rewa Head, Rupununi, Southern Guyana. *Biota Neotropica* 11: 237-251

- Pietramellara, G., Ascher, J., Borgogni, F., Ceccherini, M.T., Guerri, G. & Nannipieri, P. 2009. Extracellular DNA in soil and sediment: fate and ecological relevance. *Biology and Fertility of Soils* 45: 219-235.
- Pommeresche, R. & Fjellberg, A. 2011. Spretthaler - jordas små kaniner. *Bioforsk TEMA* Nr. 15 - November 2011.
- Porazinska, D.L., Giblin-Davis, R.M., Faller, L., Farmerie, W., Kanzaki, N., Morris, K., Powers, T.O., Tucker, A.E., Sung, W. & Thomas, W.K. 2009. Evaluating high-throughput sequencing as a method for metagenomic analysis of nematode diversity. *Molecular Ecology Resources* 9: 1439-1450.
- Pornon, A., Andalo, C., Burrus, M. & Escaravage, N. 2017. DNA metabarcoding data unveils invisible pollination networks. *Scientific Reports* 7: 16828.
- Port, J.A., O'Donnell, J.L., Romero-Maraccini, O.C., Leary, P.R., Litvin, S.Y., Nickols, K.J., Yamahara, K.M. & Kelly, R.P. 2016. Assessing vertebrate biodiversity in a kelp forest ecosystem using environmental DNA. *Molecular Ecology* 25: 527-541.
- Porter, T.M. & Hajibabaei, M. 2018. Automated high throughput animal CO1 metabarcoding classification. *Scientific Reports* 8: 4226.
- Rees, H.C., Bishop, K., Middleditch, D.J., Patmore, J.R.M., Maddison, B.C. & Gough, K.C. 2014. The application of eDNA for monitoring of the Great Crested Newt in the UK. *Ecological Evolution* 4: 4023-4032.
- Reeves, L.E., Gillett-Kaufman, J.L., Kawahara, A.Y. & Kaufman, P.E. 2018. Barcoding blood meals: new vertebrate-specific primer sets for assigning taxonomic identities to host DNA from mosquito blood meals. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 12: e0006767.
- Reinhardt, T., van Schingen, M., Windisch, H.S., Nguyen, T.Q., Ziegler, T. & Fink, P. 2019. Monitoring a loss: detection of the semi-aquatic crocodile lizard (*Shinisaurus crocodilurus*) in inaccessible habitats via environmental DNA. *Aquatic conservation-marine and freshwater ecosystems* 29: 353-360.
- Riaz, T., Shehzad, W., Viari, A., Pompanon, F., Taberlet, P. & Coissac, E. 2011. ecoPrimers: inference of new DNA barcode markers from whole genome sequence analysis. *Nucleic Acids Research* 39: e145.
- Richardson, A.D. 2019. Tracking seasonal rhythms of plants in diverse ecosystems with digital camera imagery. *New Phytologist* 222: 1742-1750.
- Richardson, A.D., Hufkens, K., Milliman, T., Aubrecht, D.M., Chen, M., Gray, J.M., Johnston, M.R., Keenan, T.F., Klosterman, S.T., Kosmala, M., Melaas, E.K., Friedl, M.A. & Frohling, S. 2018. Tracking vegetation phenology across diverse North American biomes using PhenoCam imagery. *Scientific Data* 5: 180028.
- Robinson, J.W., Forcey, G.M. & Hooton, L.A. 2015. Developing an automated risk management tool to minimize bird and bat mortality at wind facilities. *Ambio* 44: 557-571.
- Rodgers, T. W., Giacalone, J., Heske, E. J., Janecka, J. E., Phillips, C. A. & Schooley, R. L. 2014. Comparison of noninvasive genetics and camera trapping for estimating population density of ocelots (*Leopardus pardalis*) on Barro Colorado Island, Panama. *Tropical Conservation Science* 7: 690-705.
- Rodgers, T.W. & Mock, K.E. 2015. Drinking water as a source of environmental DNA for the detection of terrestrial wildlife species. *Conservation Genetics Resources* 7: 693-696.
- Rodgers, T.W., Xu, C.C.Y., Giacalone, J., Kapheim, K.M., Saltonstall, K., Vargas, M., Yu, D.W., Somervuo, P., McMillan, W.O., Jansen, P.A. 2017. Carrion fly-derived DNA metabarcoding is an effective tool for mammal surveys: Evidence from a known tropical mammal community. *Molecular Ecology Resources* 17: e133-145.
- Rovero, F. & Zimmermann, F. 2016. Camera trapping for wildlife research. Pelagic Publishing.
- Rovero, F., Zimmermann, F., Berzi, D. & Meek, P.D. 2013. "Which camera trap type and how many do I need?" A review of camera features and study designs for a range of wildlife research applications. *Hystrix – Italian Journal of Mammalogy* 24: 148-156.
- Royle, J. A., Chandler, R. B., Sollmann, R. & Gardner, B. 2013. Spatial capture-recapture. Academic Press.
- Rämä, T., Davey, M.L., Nordén, J., Halvorsen, R., Błaalid, R., Mathiassen, G., Alsos, I.G. & Kause-  
rud, H. 2016. Fungi sailing the Arctic Ocean: Species communities in North Atlantic driftwood as revealed by high-throughput amplicon sequencing. *Microbial Ecology* 72: 295-304.
- Saine, S., Ovaskainen, O., Somervuo, P. & Abrego, N. 2020. Data collected by fruit body- and DNA-based survey methods yield consistent species-to-species association networks in wood-inhabiting fungal communities. *Oikos* 129: 1833-1843.

- Saitoh, S., Aoyama, H., Fujii, S., Sunagawa, H., Nagahama, H., Akutsu, M., Shinzato, N., Kaneko, N. & Nakamori, T. 2016. A quantitative protocol for DNA metabarcoding of springtails (Collembola). *Genome* 59: 705-723.
- Sakamoto, T., Gitelson, A.A., Nguy-Robertson, A.L., Arkebauer, T.J., Wardlow, B.D., Suyker, A.E., Verma, S.B. & Shibayama, M. 2012. An alternative method using digital cameras for continuous monitoring of crop status. *Agricultural and Forest Meteorology* 154: 113-126.
- Sasso, T., Lopes, C.M., Valentini, A., Dejean, T., Zarnudio, K.R., Haddad, C.F.B. & Martins, M. 2017. Environmental DNA characterization of amphibian communities in the Brazilian Atlantic forest: potential application for conservation of a rich and threatened fauna. *Biological Conservation* 215: 225-232.
- Secondi, J., Dejean, T., Valentini, A., Audebaud, B. & Miaud, C. 2016. Detection of a global aquatic invasive amphibian, *Xenopus laevis*, using environmental DNA. *Amphibia-reptilia*. 37: 131-136
- Seeber, P.A., McEwen, G.K., Lober, U., Forster, D.W., East, M.L., Melzheimer, J. & Greenwood, A.D. 2019. Terrestrial mammal surveillance using hybridization capture of environmental DNA from African waterholes. *Molecular Ecology Resources* 19: 1486-1496.
- Shehzad, W., McCarthy, T.M., Ponpanon, F., Purejav, L., Coissac, E., Riaz, T. & Taberlet, P. 2012. Prey preference of snow leopard (*Panthera uncia*) in south Gobi, Mongolia. *PLoS One* 7: e32104.
- Šigut, M., Kostovčík, M., Šigutová, H., Hulcr, J., Drozd, P. & Hrček, J. 2017. Performance of DNA metabarcoding, standard barcoding, and morphological approach in the identification of host-parasitoid interactions. *PLoS One* 12: e0187803.
- Singer, G.A.C., Fahner, N.A., Barnes, J.G., McCarthy, A. & Hajibabaei, M. 2019. Comprehensive biodiversity analysis via ultra-deep patterned flow cell technology: a case study of eDNA metabarcoding seawater. *Scientific Reports* 9: 5991.
- Skog og landskap 2008. Landsskogstakseringens feltinstruks 2008. Håndbok fra Skog og landskap 05/2008.
- Solberg, E.J., Strand, O., Veiberg, V., Andersen, R., Heim, M., Rolandsen, C.M., Langvatn, R., Holmstrøm, F., Solem, M.I., Eriksen, R., Astrup, R. & Ueno, M. 2012. Hjortevilt 1991-2011 – Oppsummeringsrapport fra Overvåkingsprogrammet for hjortevilt. NINA Rapport 885. Norsk institutt for naturforskning.
- Solberg, E.J., Strand, O., Veiberg, V., Andersen, R., Heim, M., Rolandsen, C. M., Solem, M.I., Holmstrøm, F., Jordhøy, P., Nilsen, E.B., Granhus, A. & Eriksen, R. 2017. Hjortevilt 1991–2016: oppsummeringsrapport fra Overvåkingsprogrammet for hjortevilt. NINA Rapport 1388. Norsk institutt for naturforskning.
- Somervuo, P., Koskela, S., Pennanen, J., Nilsson, R.H. & Ovaskainen, O. 2016. Unbiased probabilistic taxonomic classification for DNA barcoding. *Bioinformatics* 32: 2920-2927.
- Sonnentag, O., Hufkens, K., Teshera-Sterne, C., Young, A.M., Friedl, M., Braswell, B.H., Milliman, T., O'Keefe, J. & Richardson, A.D. 2012. Digital repeat photography for phenological research in forest ecosystems. *Agricultural and Forest Meteorology* 152: 159-177.
- Suchan, T., Talavera, G., Sáez, L., Ronikier, M. & VilaPollen, R. 2018. Metabarcoding as a tool for tracking long-distance insect migrations. *Molecular Ecology Research* 19: 149-162.
- Symes, C.T. 2017. Notes on the flowering and pollination of the endemic grassland *Aloe reitzii* var. *reitzii* (Asphodelaceae). *Bothalia* 47: a2215.
- Tabak, M.A., Norouzzadeh, M.S., Wolfson, D.W., Sweeney, S.J., Vercauteren, K.C., Snow, N.P., Halseth, J.M., Di Salvo, P.A., Lewis, J.S., White, M.D., Teton, B., Beasley, J.C., Schlichting, P.E., Boughton, R.K., Wight, B., Newkirk, E.S., Ivan, J.S., Odell, E.A., Brook, R.K., Lukacs, P.M., Moeller, A.K., Mandeville, E.G., Clune, J. & Miller, R.S. 2019. Machine learning to classify animal species in camera trap images: applications in ecology. *Methods in Ecology and Evolution* 10: 585-590.
- Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L. & Coissac, E. 2018. Environmental DNA: for biodiversity research and monitoring. Oxford University Press, Oxford.
- Taberlet, P., Prud'Homme, S.M., Campione, E., Roy, J., Miquel, C., Shehzad, W., Gielly, L., Rioux, D., Choler, P., Clement, J.C., Melodelima, C., Pompanon, F. & Coissac, E. 2012. Soil sampling and isolation of extracellular DNA from large amount of starting material suitable for metabarcoding studies. *Molecular Ecology* 21: 1816-1820.
- Tedersoo, L., Bahram, M., Pölme, S., Kõljalg, U., Yorou, N.S., Wijesundera, R., Ruiz, L.V., Vasco-Palacios, A.M., Thu, P.Q., Suija, A., Smith, M.E., Sharp, C., Saluveer, E., Saitta, A., Rosas, M., Riit, T., Ratkowsky, D., Pritsch, K., Põldmaa, K., Piepenbring, M., Phosri, C., Peterson,



- M., Parts, K., Pärtel, K., Otsing, E., Nouhra, E., Njouonkou, A.L., Nilsson, R.H., Morgado, L.N., Mayor, J., May, T.W., Majuakim, L., Lodge, D.J., Lee, S.S., Larsson, K.-H., Kohout, P., Hosaka, K., Hiiesalu, I., Henkel, T.W., Harend, H., Guo, L., Greslebin, A., Grelet, G., Geml, J., Gates, G., Dunstan, W., Dunk, C., Drenkhan, R., Dearnaley, J., De Kesel, A., Dang, T., Chen, X., Buegger, F., Bearley, F.Q., Bonito, G., Anslan, S., Abell, S. & Abarenjov, K. 2014. Global diversity and geography of soil fungi. *Science* 346: 1256688.
- Thomsen, P.F. & Willerslev, E. 2015. Environmental DNA – an emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation* 183: 4-18.
- Thomsen, P.F., Kielgast, J., Iversen, L.L., Møller, P.R., Rasmussen, M. & Willerslev, E. 2012. Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples. *PLoS ONE* 7: e41732.
- Thomsen, P.F., Kielgast, J., Iversen, L.L., Wiuf, C., Rasmussen, M., Gilbert, M.T.P., Orlando, L. & Willerslev, E. 2011. Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Molecular Ecology* 21: 2565-2573.
- Thomsen, P.F. & Sigsgaard, E.E. 2019. Environmental DNA metabarcoding of wild flowers reveals diverse communities of terrestrial arthropods. *Ecology and Evolution* 9: 1665-1679
- 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. NINA Rapport 1642. Norsk institutt for naturforskning.
- Tourani, M., Broste, E., Bakken, S., Odden, J. & Bischof, R. 2020. Sooner, closer, longer: detectability of mesocarnivores at camera traps. *Journal of Zoology*: doi:10.1111/jzo.12828
- Trolliet, F., Huynen, M., Vermeulen, C. & Hambuckers, A. 2014. Use of camera traps for wildlife studies. A review. *Biotechnologie Agronomie Societe Et Environnement* 18: 446-454.
- Ueno, M., Solberg, E.J., Iijima, H., Rolandsen, C.M. & Gangsei, L.E. 2014. Performance of hunting statistics as spatiotemporal density indices of moose (*Alces alces*) in Norway. *Ecosphere* 5: 1-20.
- Ushio, M., Fukuda, H., Inoue, T., Makoto, K., Kishida, O., Sato, K., Murata, K., Nikaido, M., Sado, T., Sato, Y., Takeshita, M., Iwasaki, W., Yamanaka, H., Kondoh, M. & Miya, M. 2017. Environmental DNA enables detection of terrestrial mammals from forest pond water. *Molecular Ecology Resources* 17: e63-e75.
- van Cleemput, O. & Samatar, A. 1996. Nitrite in soils: accumulation and role in the formation of gaseous N compounds. *Fertilisation Research* 45: 81-89.
- Valentin, R.E., Fonseca, D.M., Nielsen, A.L., Leskey, T.C. & Lockwood, J.L. 2016. Early detection of invasive exotic insect infestations using eDNA from crop surfaces. *Frontiers in Ecology and the Environment* 16: 265-270.
- Valentini, A., Taberlet, P., Miaud, C., Civade, R., Herder, J., Thomsen, P.F., Bellemain, E., Besnard, A., Coissac, E., Boyer, F., Gaboriaud, C., Jean, P., Poulet, N., Roset, N., Copp, G.H., Geniez, P., Pont, D., Argillier, C., Baudoin, J.-M., Peroux, T., Crivelli, A.J., Olivier, A., Acquerberge, M., Le Brun, M., Møller, P.R., Willerslev, E. & Dejean, T. 2016. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology* 25: 929-942.
- Valsecchi, E., Bylemans, J., Goodman, S.J., Lombardi, R., Carr, I., Castellano, L. Galimberti, A. & Galli, P. 2020. Novel universal primers for metabarcoding environmental DNA surveys of marine mammals and other marine vertebrates. *Environmental DNA early view*: e72.
- Vervoort, M.T.W., Vonk, J.A., Mooijman, P.J.W., Van den Elsen, S.J.J., Van Megen, H.H.B., Veenhuizen, P., Landeweert, R., Bakker, J., Mulder, C. & Helder, J. 2012. SSU ribosomal DNA-based monitoring of nematode assemblages reveals distinct seasonal fluctuations within evolutionary heterogeneous feeding guilds. *PLoS ONE* 7: e47555.
- Vimercati, G., Labadesse, M., Dejean, T. & Secondi, J. 2020. Assessing the effect of landscape features on pond colonisation by an elusive amphibian invader using environmental DNA. *Freshwater Biology* 65: 502-513.
- Wang, Q., Garrity, G.M., Tiedje, J.M. & Cole, J.R. 2007. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology* 73: 5261-5267.
- Wearn, O.R. & Glover-Kapfer, P. 2019. Snap happy: camera traps are an effective sampling tool when compared with alternative methods. *Royal Society Open Science* 6: 181748.
- Weingarth, K., Heibl, C., Knauer, F., Zimmermann, F., Bufka, L. & Heurich, M. 2012. First estimation of Eurasian lynx (*Lynx lynx*) abundance and density using digital cameras and capture-

- recapture techniques in a German national park. *Animal Biodiversity and Conservation* 35: 197-207.
- Weingarth, K., Zeppenfeld, T., Heibl, C., Heurich, M., Bufka, L., Daniszová, K. & Müller, J. 2015. Hide and seek: extended camera-trap session lengths and autumn provide best parameters for estimating lynx densities in mountainous areas. *Biodiversity and Conservation*: 1-18.
- Welbourne, D.J., MacGregor, C., Paull, D. & Lindenmayer, D.B. 2015. The effectiveness and cost of cameratraps for surveying small reptiles and critical weight range mammals: a comparison with labour-intensive complementary methods. *Wildlife Research* 42: 414-425.
- Westergaard, K.B., Endrestøl, A., Hanssen, O., Often, A., Åström, J., Fossøy, F., Majaneva, M.A.M., Davey, M., Brandsegg, H. & Staverløkk, A. 2020. Overvåking av spredningsveien planteimport – sluttrapport for 2019. NINA Rapport 1738. Norsk institutt for naturforskning.
- White, G.C. 2008. Closed population estimation models and their extensions in Program MARK. *Environmental and Ecological Statistics* 15:89–99.
- White, T.J., Bruns, T.D., Lee, S. & Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. & White, T.J., (eds.) *PCR protocols: A guide to methods and applications*. Academic Press: San Diego, CA, USA, pp. 315–322.
- Wiig, Ø., Swenson, J.E., Bjørge, A., Syvertsen, P.O. & Kovacs, K. 2015. Pattedyr. I Henriksen S. & Hilmo O. (red.) *Norsk rødliste for arter 2015*. Artsdatabanken, Norge.
- Willerslev, E., Hansen, A.J., Binladen, J., Brand, T.B., Gilbert, M.T.P., Shapiro, B., Bunce, M., Wiuf, C., Gilichinsky, D.A. & Cooper, A. 2003. Diverse plant and animal genetic records from Holocene and Pleistocene sediments. *Science* 300: 791-795.
- Wix, N. & Reich, M. 2019. Time-triggered camera traps versus line transects - advantages and limitations of multi-method studies for bird surveys. *Bird Study* 66: 207-223.
- Yang, C., Wang, X., Miller, J.A., de Blécourt, M., Ji, Y., Yang, C., Harrison, R.D. & Yu, D.W. 2014. Using metabarcoding to ask if easily collected soil and leaf-litter samples can be used as a general biodiversity indicator. *Ecological Indicators* 46: 379-389.
- Yoccoz, N.G., Bråthen, K.A., Gielly, L., Haile, J., Edwards, M.E., Goslar, T., Stedingk, H.V., Bryisting, A.K., Coissac, E., Pompanon, F., Sønstebo, J.H., Miquel, C., Valentini, A., Bello, F.D., Chave, J., Thuiller, W., Wincker, P., Cruaud, C., Gavory, F., Rasmussen, M., Gilbert, M.T.P., Orlando, L., Brochmann, C., Willerslev, E. & Taberlet, P. 2012. DNA from soil mirrors plant taxonomic and growth form diversity. *Molecular Ecology* 21: 3647-3655.
- Yu, D.W., Ji, Y., Emerson, B.C., Wang, X., Ye, C., Yang, C. & Ding, Z. 2012. Biodiversity soup: metabarcoding of arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring. *Methods in Ecology and Evolution* 3: 613-623.
- Zeale, M.R., Butlin, R.K., Barker, G.L., Lees, D.C. & Jones, G. 2011. Taxon-specific PCR for DNA barcoding arthropod prey in bat faeces. *Molecular Ecology Resources* 11: 236-44.
- Zielinska, S., Kidawa, D., Stempniewicz, L., Los, M. & Los, M.J. 2017. Environmental DNA as a valuable and unique source of information about ecological networks in Arctic terrestrial ecosystems. *Environmental Reviews* 25: 282-291.
- Zimmermann, F., Breitenmoser-Wursten, C., Molinari-Jobin, A. & Breitenmoser, U. 2013. Optimizing the size of the area surveyed for monitoring a Eurasian lynx (*Lynx lynx*) population in the Swiss Alps by means of photographic capture-recapture. *Integrative Zoology* 8: 232-243.
- Zimova, M., Barnard, L.S., Davis, B.M., Kumar, A.V., Lafferty, D.J.R. & Mills, L.S. 2020a. Using remote cameras to measure seasonal molts. *Ecosphere* 11: e03084.
- Zimova, M., Sirén, A.P.K., Nowak, J.J., Bryan, A.M., Ivan, J.S., Morelli, T.L., Suhrer, S.L., Whittington, J. & Mills, L.S. 2020b. Local climate determines vulnerability to camouflage mismatch in snowshoe hares. *Global Ecology and Biogeography* 29: 503-515.
- Åström, J., Birkemoe, Dahle, S., T., Davey, M., Ekrem, T., Endrestøl, A., Fossøy, F., Nystad Handberg, Ø., Hanssen, O., Magnussen, K., Majaneva, M.A.M., Navrud, S., Staverløkk, A., Sverdrup-Thygeson, A., Ødegaard, F. 2020a. Forslag til nasjonal insektovervåking - erfaringer fra et pilotforsøk samt en nytte-kostnadsanalyse. NINA rapport 1725. Norsk institutt for naturforskning.
- Åström, J., Birkemoe, T., Davey, M., Ekrem, T., Fossøy, F., Hanssen, O., Laugsand, A., Staverløkk, A., Sverdrup-Thygeson, A. & Ødegaard, F. 2020b. Insektovervåking på Østlandet 2020 – rapport fra første feltsesong. NINA Rapport 1878. Norsk institutt for naturforskning.
- Åström, J., Birkemoe, T., Ekrem, Endrestøl, A., T., Fossøy, F., Sverdrup-Thygeson, A. & Ødegaard, F. 2019a. Nasjonal overvåking av insekter. Behovsanalyse og forslag til overvåkingsprogram. NINA Rapport 1549. Norsk institutt for naturforskning.

- Åström, S., Åström, J., Bøhn, K., Gjershaug, J.O., Staverløkk, A., Dahle, S. & Ødegaard, F. 2019b. Nasjonal overvåking av dagsommerfugler og humler i Norge. Oppsummering av aktiviteten i 2018. NINA Rapport 1670.
- Åström, J., Åström, S., Bøhn, K., Gjershaug, J.O., Staverløkk, A. & Ødegaard, F. 2016. Nasjonal overvåking av dagsommerfugler og humler i Norge. Oppsummering av aktiviteten i 2015. NINA Rapport 1230. Norsk institutt for naturforskning.
- Åström, S., Åström, J., Bøhn, K., Gjershaug, J.O., Staverløkk, A. & Ødegaard, F. 2017. Nasjonal overvåking av dagsommerfugler og humler i Norge. Oppsummering av aktiviteten i 2016. NINA Rapport 1328.
- Åström, S., Åström, J., Bøhn, K., Gjershaug, J.O., Staverløkk, A. & Ødegaard, F. 2018. Nasjonal overvåking av dagsommerfugler og humler i Norge. Oppsummering av aktiviteten i 2017. NINA Rapport 1480.

# Vedlegg 1. Feltprotokoll for jord- og vedprøvetaking

## Utstysliste

- Jordbor (2 cm)
- Sprayflaske med etanol
- Flaskebørste
- Gassbrenner med gass
- Målebånd
- Tommestokk
- Kjøleelement
- Kniv
- Klut
- Drill med batteri og lader
- Stålbørste
- Lynlåsposer
- Plastposer
- Kompass
- GPS
- Tusjpenner, penner og blyant
- Vannfast papir
- Feltskjemaer (skrevet ut på vannfast papir)

## Etablering av flaten

En flate på 250 m<sup>2</sup> etableres med midtpunktet 1 m vest for ANO 1 m<sup>2</sup> ruten. Lokalitetsnavnet består av hovednaturtype (SK: skog, SM: semi-naturlig mark) og et nummer fra 1 til 10.

## Jordprøvetaking

### *Innsamling av jord*

Totalt fire jordprøver (bestående av flere delprøver) skal samles inn fra hver lokalitet. For å samle inn en delprøve, fjern vegetasjon og strø fra et område på 5 cm i diameter og ta en boreprøve med jordboret. Delprøvene skal samles inn i to grupper:

#### 1) Prøvesett A:

Ta boreprøver fra seks tilfeldig 3×3 m sektorer innenfor 8,92 m radius fra flatens sentrumspunktet (**Figur A**, se feltskjema). Diagrammet på feltskjema brukes som retningslinjer for hvor prøvene tas. Dersom en tilfeldig valgt sektor inkluderer stein og prøvetaking derfor ikke er mulig, velg en ny sektor. Diagrammet på feltskjemaet brukes som retningslinje for hvor prøvene tas. Hvis mulig skal jordprøvene kun tas i dominerende vegetasjonstyper i flaten. På hvert punkt tas 2 boreprøver: en til 5 cm dybde og en så dypt som mulig. Alle de «korte» boreprøvene (5 cm) samles i en plastpose markert med lokalitetsnavn-AK (eks. SM1-AK). Alle de «lange» boreprøve samles i en plastpose markert med lokalitetsnavn-AL (eks. SK1-AL). En lapp med prøvenavn skrevet på vannfast papir skal også ligge i plastposen. Husk å måle boreprøvelengde for alle de lange boreprøvene og notere om det inkluderer mineraljord (se feltskjema).

#### 2) Prøvesett B:

Ta boreprøver fra 25 punkter innenfor 8,92 m radius fra flatens sentrum langs linjer i de åtte himmelretningene (**Figur A**):

- a. I sentrum av flaten
- b. To steder langs linjer mot N, Ø, S, V: 3,15 m, og 6,31 m fra sentrumspunktet
- c. To steder langs linjer mot NØ, SØ, SV, NV: 4,46 m og 8,92 m fra sentrumspunktet

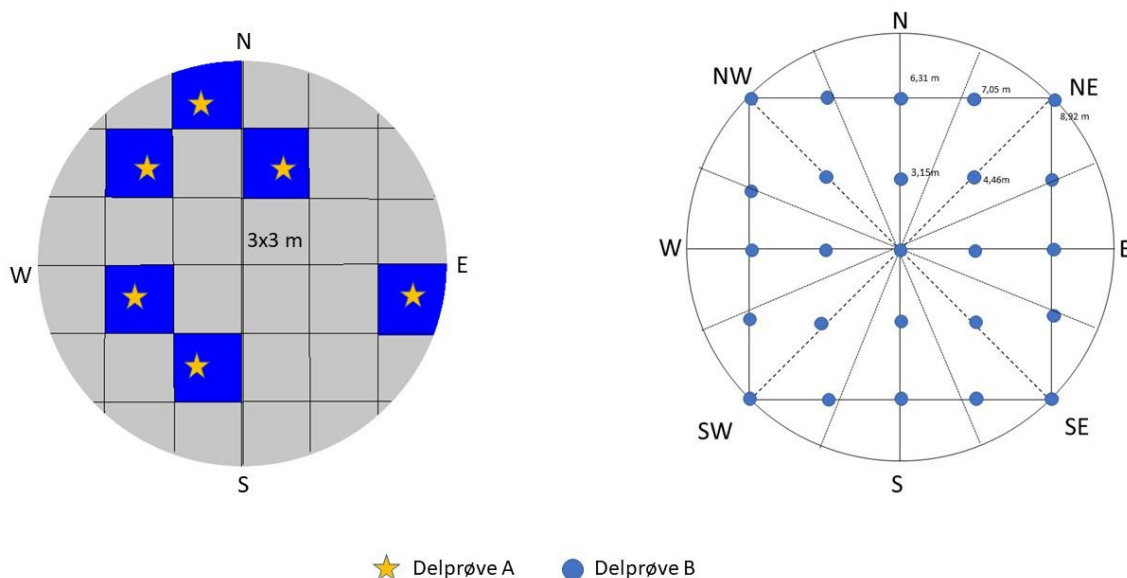
På hvert punkt tas 2 boreprøve: en til 5 cm dybde og en så dypt som mulig. Alle de «korte» boreprøvene (5 cm) samles i en plastpose markert med lokalitetsnavn-BK (eks. SM1-BK). Alle de «lange» boreprøve samles i en plastpose markert med lokalitetsnavn-BL (eks. SK1-BL). En lapp med prøvenavn skrevet på vannfast papir skal også ligge i plastposen. Husk å måle boreprøvelengde for alle de lange boreprøvene og notere om det inkluderer mineraljord (se feltskjema).

### Jordborsterilisering

Jordboret må steriliseres mellom hver lokalitet. Bruk etanolsprayflasken, kluten og flaskebørsten for å vaske jordboret. Brenn jordboret med blåselampen.

### Lagring av jordprøvene

Jordprøvene bør holdes kjølig. Det er ikke nødvendig å kjøle jordprøvene hvis lufttemperaturen i felt er under 20°C. Hvis lufttemperaturen er over 20°C, lagres jordprøvene i en ryggsekk med et kjøleelement. Pass på at prøveposene ikke ligger i direkte sollys. Frys prøvene på -20°C så snart som mulig, helst innen 24 timer.



**Figur A.** Prøvetakingsdesign for tilfeldig (A, til venstre) og systematisk prøvetaking (B, til høyre) av jord. Midtpunktet i den store sirkelen tilsvare lokalitetens midtpunkt. I delfigur A er sektorer for prøvetaking markert med blått, og stjerner viser hvor delprøvene tas. Utvalget av sektorer er tilfeldig og vil variere fra lokalitet til lokalitet. I delfigur B markerer de blå punktene hvor delprøvene skal tas.

### Registrering av død ved

På hver lokalitet registreres alle døde stokker som er helt innenfor eller har rotenden innenfor 250 m<sup>2</sup> flaten etablert for jordprøvetaking (**Figur A**). Minstemål for registrering er 1 m lengde og 10 cm diameter i den tykkeste enden. Hver død stokke skal klassifiseres av stående/liggende, treslag, lengde, diameter på 1,3 m og nedbrytingstadium (se **Tabell A**).

**Tabell A. Nedbrytningsstadier for død ved (Skog og landskap 2008).****Nedbrytningsstadium** **Definisjon**

L1 - Lite nedbrutt	Fra nylig dødt virke til stokker der veden begynner å mykne i ytre lag pga. råte
L2 - Mye nedbrutt	Fra råtten i ytre lag til helt nedbrutt. Fra det stadium der veden i ytre lag lett kan plukkes fra hverandre med kniv til fragmenter og konturer under vegetasjonen.

**Prøvetaking av død ved***Boreprøvetaking*

Boreprøver tas av opptil tre døde stokker innenfor 25,2 m radius av sentrum av flaten etablert for jordprøvetaking. Velg ut de stokkene med rotenden nærmest sentrum av lokaliteten i følgende kategorier: 1) liggende, nedbrytningstadium 1, 2) liggende, nedbrytningstadium 2, 3) stående, nedbrytningstadium 1. For hver stokk registreres de samme variablene som for dødvedregistrering. Ta 5 boreprøver fra med batteridrill fra hver stokk: en i toppenden, en i rotenden, en i midten, en mellom midtpunktet og toppenden, og en mellom midtpunktet og rotenden. For gadd hvor det er ikke mulig å ta prøver fra toppenden, ta kun tre boreprøver: en på 1,5 m høyde, en ved rota (ca. 0,05 m høyde), og en midt imellom (ca. 0,75 m høyde). Bruk en kniv for å fjerne mose, lav, bark og et 1-2 mm lag av ved før boreprøvetaking. Borekjernene fra hver stokke skal blandes sammen i en plastpose markert med lokalitetskode, stokkposisjon og nedbrytningstadium (eks. skogslokalitet 1, liggende, lite nedbrutt = SK1\_L1). Borehullene tettes med bivoks.

*Strøprøvetaking*

Strøprøver tas fra hver stokk utvalgt for boreprøvetaking. Ved siden av hver boreprøve samles inn en 10 cm<sup>2</sup> barkprøve og/eller 10 cm<sup>3</sup> vedstrø fra under/ved siden av stokken. Strø fra hver stokk blandes sammen i en plastpose markert med lokalitetskoden, stokkposisjon og nedbrytningstadium (eks. skogslokalitet 1, liggende, lite nedbrytning = SK1\_L1).

*Sterilisering*

Drillbiten må steriliseres mellom hver stokk. Bruk stålborsten for å fjerne borekjernene fra drillbiten. Brenn drillbiten med blåselampen. Kniven må også steriliseres mellom hver stokk. Bruk etanolsprayflasken og kluten for å vaske kniven. Brenn kniven med blåselampen.

*Lagring av vedprøvene*

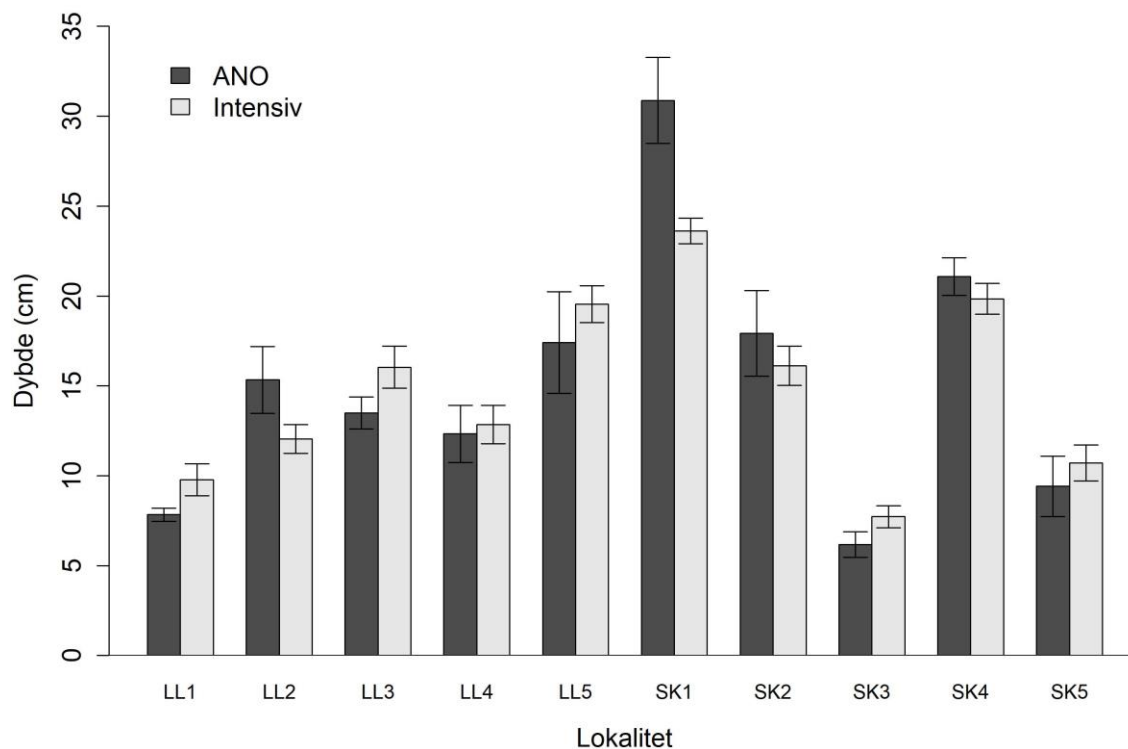
Det er ikke nødvendig å kjøle ned vedprøvene i felt. Frys prøvene på -20°C så snart som mulig, helst innen 24 timer.

<b>Feltskjema - Jordprøver</b>				
<b>Lokalitet:</b>		<b>Feltpersonnel:</b>		
<b>Koordinater:</b>		<b>Dato:</b>		
<b>Del-prøve</b>	<b>Dybde (cm)</b>	<b>Mineral (J/N)</b>	<b>Kommentar</b>	
A1				
A2				
A3				
A4				
A5				
A6				
B1				
B2				
B3				
B4				
B5				
B6				
B7				
B8				
B9				
B10				
B11				
B12				
B13				
B14				
B15				
B16				
B17				
B18				
B19				
B20				
B21				
B22				
B23				
B24				
B25				

<b>Feltskjema – Dødvvedprøver</b>						
<b>Lokalitet:</b>				<b>Dato:</b>		
<b>Koordinater:</b>				<b>Feltpersonnel:</b>		
<b>Stokk</b>	<b>Type</b> (L: løvtrær, B: bartrær)	<b>Art</b>	<b>Diameter på 1,3 m (cm)</b>	<b>Lengde (m)</b>	<b>Kommentar</b>	
L1						
L2						
S1						
<b>Feltskjema – Dødvvedregistrering</b>						
<b>Lokalitet:SK1</b>				<b>Dato:</b>		
<b>Koordinater:</b>				<b>Feltpersonnel:</b>		
<b>Stokk</b>	<b>Posisjon</b> (S: stående, L: liggende)	<b>Type</b> (L: løvtrær, B: bartrær)	<b>Art</b>	<b>Diameter på 1,3 m (cm)</b>	<b>Lengde (m)</b>	<b>Nedbrytningstadium (1:Lite, 2: Mye)</b>
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						



## Vedlegg 2. Dybde jordprøvetaking



**Figur V2.1.** Dybde (cm) for jordprøvetaking på de ulike lokalitetene i skog (SK) og semi-naturlig mark (LL). Figuren viser gjennomsnittlig dybde per lokalitet  $\pm 95\%$  konfidensintervall for prøvetaking i henhold til ANOs feltinstruks (Tingstad et al. 2019) og intensiv, systematisk prøvetaking.

## Vedlegg 3 Protokoll for isolering av miljø-DNA

### Prøvebehandling før isolering

Bruk hansker til enhver tid ved håndtering av prøver.

#### Jordprøver

1. Ta prøvene ut av fryseren minst 3 timer før prosessering. De kan også legges til tining over natten.
2. Sikt prøven ved å presse den gjennom en 2 mm sikt og ned i en plastpose. Fjern posen fra sikten og bland jorda grundig.
3. Merk et 50 mL rør (både korken og selve røret) med FastDNA™ Garnet Matrix (MP Biomedicals) med prøvenummer
4. Merk en 500 mL flaske med prøvenummer.
5. Vei rør og flaske og registrer vekt av tomt rør og tom flaske.
6. Overfør jord til røret til et maksimalt volum på 30 mL.
7. Vei røret på nytt og registrer vekt av fullt rør.
8. Overfør jord til flasken til en maksimal vekt på 100 g.
9. Vei flasken på nytt og registrer vekt av full flaske.
10. Legg prøven tilbake i fryseren.
11. Vask vekk jord og desinfiser arbeidsplassen med etanol mellom hver prøve.
12. Vask vekk jord fra sikten, spray med etanol og la tørke mellom hver prøve.

#### Vedprøver

1. Merk et 50 mL rør (både kork og selve røret) med Lysing Matrix A (MP Biomedicals) med prøvenummer.
2. Fjern omtrent halvparten av de keramiske kulene i røret.
3. Vei røret og registrer vekt av tomt rør.
4. Overfør treflis eller strø til røret til et maksimalt volum på 30 mL.
5. Vei røret på nytt og registrer vekt av fullt rør.
6. Legg prøven tilbake i fryseren.

### Isolering av DNA fra jord

Ekstraksjon med «kit» (alle prøvene i 50 mL rør)

1. Isolér DNA isolasjon 50mL MP Soil Kit i henhold til standard-protokollen.

Ekstraksjon med fosfatbuffer (alle prøvene i 500mL flask)

1. Lag mettet fosfatbuffer: 1,97g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 14,7g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1L DNA-fritt vann. Buffer må lages samme dag som prøvene isoleres.
2. Tilsett samme volum buffer som jord.
3. Rist i 20 minutter.
4. Ta 700 uL og isolér som normalt med MP Soil Kit, begynne med PPS og binding.

### Isolering av DNA fra død ved

1. Tilsett 1 mL sterilt vann til 50 mL røret som inneholder vedprøven.
2. Homogeniser vedprøven (4,5 Hz, 30 s).
3. Bruk en engangsspatula for å ta ut en delprøve på cirka 700 uL av homogenisert materiale og tilsett det i et 2 mL lysisrør til 2 mL MP Soil Kit.
4. Bruk MP Soil Kit med standard-protokoll videre.

## Vedlegg 4. Protokoll for analyse av næringsstoffer i jord

### Uorganiske stoffer

Sikt tre representative replikater av hver jordprøve gjennom en 2 mm sil for å fjerne småstein og ikke-representativt organisk materiale.

#### *Ekstraksjonsprotokoll A og AF*

Ikke-tørkede replikat-prøver ekstraheres med enten en 1:1 (ekstraksjon A) eller 1:2 (ekstraksjon AF) CaCl<sub>2</sub>-løsning (10 ml CaCl<sub>2</sub> i 1 liter destillert vann). Først blandes CaCl<sub>2</sub>-løsningen med jord. 1:1-løsningen ristes i 2 minutter, står deretter i ro i 15 minutter, og filtreres så gjennom et filterpapir klasse medium (320 mm, MN616 ¼) for å lage ekstraksjon A. 1:2-løsningen ristes i 5 minutter og står i 15 minutter, og filtreres deretter for å lage ekstraksjon AF. Ekstraksjon A brukes for visuell bestemmelse av NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ved bruk av QUANTOFIX nitrat/nitritt teststrimler. Ekstraksjon AF brukes for å måle pH (inoLab benkeplate pH-7110 med RS 206-3738 digitalt termometer) og for fotometrisk bestemmelse av NO<sub>3</sub><sup>-</sup> og NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Macherey-Nagel, PF-3 Soil), ved hjelp av følgende protokoller:

- Fotometrisk bestemmelse av nitrater: Nullmålingen logges i PF-3en med en blank prøve. Fem dråper av reagens NO3-1 (m-fenylendiammonium diklorid og sitronsyre) tilsettes 5 ml prøveekstrakt, og løsningen ristes. Deretter tilsettes 1 g reagens NO3-2 (sinkpulver), og løsningen ristes godt i 1 minutt. Titreringer måles med PF-3en etter fem minutter, ved bølgelengde 365 nm.
- Fotometrisk bestemmelse av ammonium: Nullmålingen logges i PF-3en med en blank prøve. Ti dråper av reagens NH4-1 (natriumhydroksid og tri-natriumcitratopløsning) tilsettes 5 ml prøveekstrakt, og løsningen ristes. 1 g reagens NH4-2 (diklorisocyanursyre) tilsettes, og blandingen ristes til pulveret er oppløst. Etter fem minutter tilsettes 4 dråper reagens NH4-3 (natriumnitroprussid, etanol, tymol), og blandingen ristes. Etter fem minutter måles titreringene med PF-3en (bølgelengde 660 nm) ved bruk av forhåndsprogrammerte metoder: 5082 (0,1-2,0 mg/L NH<sub>4</sub>-N) eller 5086 (0,2-4,0 mg/L N/kg jord) avhengig av nivået.

#### *Ekstraksjonsprotokoll B*

Replikat-prøvene tørkes i keramiske digler ved 110°C over natten (Termaks varmeskap T-430), og 10 g tørket jord blandes med 200 ml CAL løsning. CAL-løsningen lages av 100 ml 0,05 mol/dm<sup>3</sup> kalsiumacetat-laktat i 0,4 liter destillert vann. Dette blandes deretter godt, og ytterligere 800 ml destillert vann tilsettes. Prøven med 10 g tørket jord + 200 ml CAL løsning ristes kraftig i 5 minutter, får stå i ro til fast stoff har lagt seg på bunnen og filtreres deretter gjennom et filterpapir av medium klasse (320 mm, MN616 ¼) for å lage ekstraksjon B. Ekstraksjon B brukes for fotometrisk bestemmelsen av PO<sub>4</sub><sup>-</sup> og K<sup>+</sup> ved hjelp av følgende protokoller:

- Fotometrisk bestemmelse av fosfor: Nullmålingen logges i PF-3en med en blank prøve. Seks dråper reagens PO4-1 (ammoniumheptamolybdat, svovelsyre < 5%) tilsettes prøveekstraktet og ristes. Deretter tilsettes seks dråper reagens PO4-2 (natriumdisulfat), og prøven ble ristes igjen. Titreringer måles med PF-3en etter 10 minutter, der bølgelengde 660 nm og den forhåndsprogrammerte metoden 5841 (0,2-5,0 mg / L PO<sub>4</sub>) benyttes.
- Fotometrisk bestemmelse av kalium: Nullmålingen logges i PF-3en med en blank prøve. 15 dråper reagens K-1 (natriumhydroksid) tilsettes til 10 ml prøveekstrakt og ristes. Deretter tilsettes 1 g reagens K-2 (natriumtetrafenylborat) og blandes til pulveret er oppløst. Titreringer måles med PF-3en, der bølgelengde 660 nm og den forhåndsprogrammerte metoden 5321 (2-15 mg/L K jord) benyttes.

## **Organiske stoffer**

### *Organisk karbon i jord (SOC) og jordfuktighet*

Replikat-prøvene plasseres i forhåndsveide keramiske digler, veies og deretter tørkes til konstant vekt ved 110°C (Termaks varmeskap T-430) (12-15 timer). De veies deretter igjen for å fastslå vanntap og dermed fuktighetsinnhold. Gjennomsnittet for replikatene beregnes for å angi prosent jordfuktighet per jordprøve. De tørkede replikat-prøvene plassert deretter i en muffelovn (Scandiaovnen IW-105 med ATR902 syklusregulator) i 4 timer ved 550°C for å forbrenne organisk materiale. Etter avkjøling i ovnen veies de igjen for å fastslå prosent organisk karbon per prøve, på samme måte som jordfuktighet.

### *Total karbon (TC) og nitrogen (TN)*

Replikat-prøver siktes gjennom en 2 mm sil for å fjerne småstein og ikke-representativt organisk materiale. Jorden tørkes ved 110°C over natten i keramiske digler og males deretter til et fint pulver i en keramisk morter. To replikater på 20 mg fra hver prøve plasseres i en tinnkapsel og forsegles gasstett. Prøvene analyseres deretter for total karbon og nitrogen ved hjelp av elementanalyser (Elementar Vario EL cube).

## Vedlegg 5. Næringsinnhold i jord

Høyere jordfuktighet, lavere pH og høyere innhold av organisk karbon i jorda (SOC) på skogslokalitetene er ikke overraskende gitt at noen av lokalitetene hadde innslag av myr. Skogslokalitetene hadde også lavere nitrat-nivåer ( $\text{NO}_3^-$ ) og høyere kalium-nivåer ( $\text{K}^+$ ), noe som i stor grad skyldes én prøve med tydelig myrpreg (**Tabell V5.1**). Myrer har ofte høye kalium-nivåer og vanligvis lave ammonium- ( $\text{NH}_4^+$ ) og fosfat-nivåer ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) (Hayati & Proctor 1991), noe som i dette tilfellet kan skyldes den sandige jorden i mange av skogsprøvene. Den lokale berggrunnen er sandstein rik på feltspat og kvartsitt, hvor sistnevnte kan ha høyt innhold av glimmer. Den fysiske forvitringen av både feltspat og glimmer vil være en stor kilde til kalium i dette habitatet, spesielt med tanke på den sure jorda, og kan forklare den heterogene fordelingen av kalium i jorda på skogslokalitetene, særlig der det er innslag av myr.

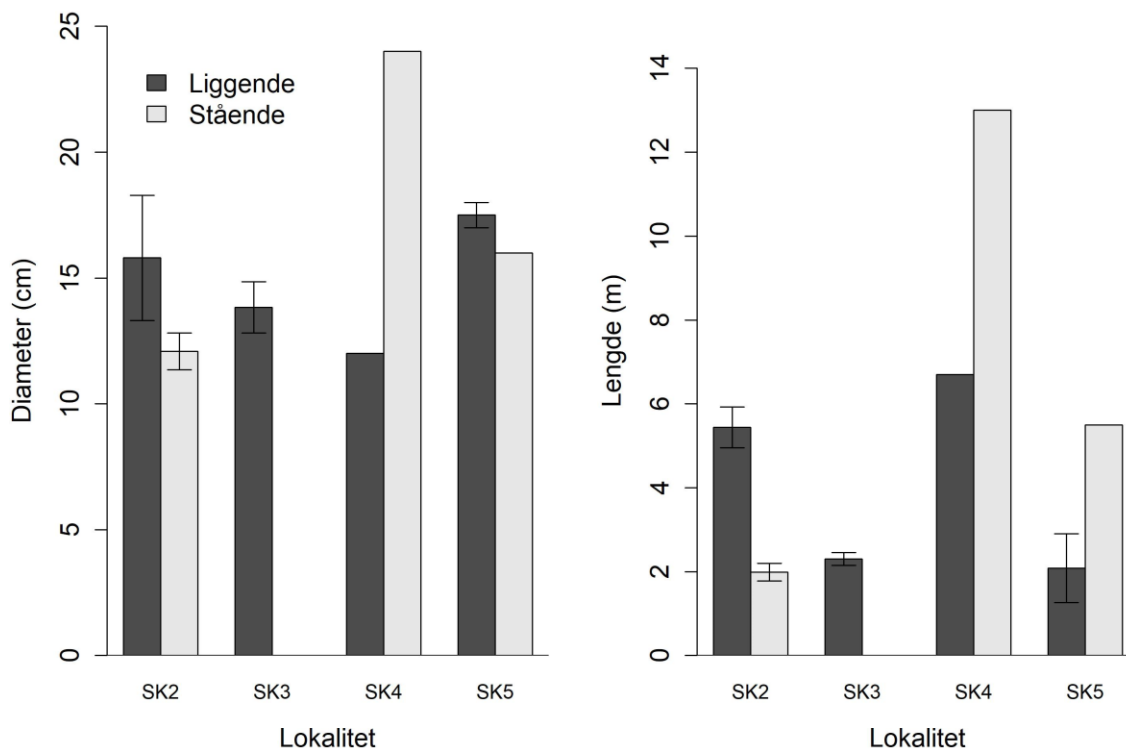
Nitritt- ( $\text{NO}_2^-$ ) og fosfatnivåer kunne ikke påvises med vårt nåværende utstyr, med nivåer under henholdsvis 1 mg/l og 0,2 mg/l. Dette er ikke uventet da nitritt er et veldig ustabil stoff, og verdier under 0,1 mg/l anses som typiske for jordsmonn (van Cleemput & Samater 1996). Under sure forhold ( $\text{pH} < 5,5$ ) vil nitritt spontant brytes ned til lystgasser ( $\text{NO}$  og  $\text{N}_2\text{O}$ ) og kan ikke akkumuleres i jorda. Fosfor i form av fosfat har en tendens til å akkumuleres bare i de øvre jordlagene, da organisk materiale er en viktig faktor som kontrollerer tilgjengeligheten av fosfor, og selv da er det ofte i svært små mengder som må måles i ppm («parts per million»). I motsetning til nitrogen reduseres tilgjengelig fosfor med tiden, og lageret bygger seg ikke opp i jord. Ettersom fosfor tas raskt opp av planter eller reagerer umiddelbart med uorganiske jordforbindelser, er et viktig aspekt ved å måle jordens fosfor-status å evaluere hvor raskt jorden kan tilføres fosfor. Vanligvis skjer dette gjennom mineralisering eller gjødsling, og det er derfor vanskelig å oppdage uten et spesifikt eksperimentelt oppsett som muliggjør inkubering av jord. Optimal pH for fosfor er mellom 6 og 7, der sure jordtyper noen ganger reduserer mengden påviselig fosfor, delvis ved å hemme mikrobiell aktivitet, som spiller en viktig rolle i tilgjengeligheten av fosfor. Noen av jordprøvene våre inneholdt mye sand (skog), noe som øker fosfor-avrenningen, mens andre inneholdt mer leire (semi-naturlig mark), som fører til opphoping av fosfor, men nivåene var fortsatt for lave til å påvises i begge tilfellene ( $< 0,2$  mg/l), sannsynligvis på grunn av lav pH og tynne organiske horisonter på disse lokalitetene.

Som nevnt kunne noen stoffer, som nitritt og fosfat, samt ammonium og stedvis kalium, ikke påvises med metodene vi benyttet. Bruk av forbedrede analysemetoder vil kunne påvise nøyaktige nivåer av flere av disse stoffene, som fosfat og ammonium. I tillegg hadde en bedre oppløsning på næringsprofilen i jorda på de ulike lokalitetene vært mulig å oppnå ved å dele opp jordprøvene etter dybde og analysere de forskjellige dybdeprofilene individuelt. På denne måten vil man kunne studere gradienten fra organiske horisonter til mineraljord. Dette vil muliggjøre en bedre sammenligning av påvirkningen av for eksempel strø og gjødsel i organiske jordtyper og deres bevegelse og potensielle lagring i dypere mineralag eller utvasking. Dette vil imidlertid kreve mer laboratorietid, da dette vil minimum doblet den nødvendige arbeidsmengden. Det er best å inkludere så mye av jordprofilen som mulig, og ikke bare det øvre organiske laget, da dette er den beste måten å etablere karbonlagre i et habitat, i tillegg til å analysere hele innholdet av stabile og ustabile næringsstoffer.

**Tabell V5.1.** Jordanalysedata for de ulike lokalitetene, hvor LL er semi-naturlig mark og SK er skog. Resultatene vises som gjennomsnittet av replikat-prøver ( $n = 3$ ) +/- SEM. Nitritt ( $\text{NO}_2^-$ ) og fosfor ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) var under minimum deteksjonsnivå. Flere av lokalitetene hadde verdier  $> 4 \text{ mg/L}$   $\text{NH}_4^+$  (over deteksjonsnivået for fotometri) og rapporteres derfor som  $4 \text{ mg/L}$ , men kan være høyere.

Lokalitet	Kommentar	Prøvedybde (cm)	Jordfuktighet (%)	SOC (g)	SOC (%)	$\text{NO}_3$ (mg/L)	$\text{NO}_2$ (mg/L)	$\text{NH}_4$ (mg/L)	C:N	$\text{PO}_4$ (mg/L)	K (mg/L)	$\text{H}_3\text{O}^+$ (M)	pH
LL1	Dyrket mark	14,83 (2,82)	21,17 (0,02)	0,27 (0)	27,06 (0,02)	1,77 (0,03)	<1	0,1	8:1	<0,2	2,67 (0,03)	3,6E-06	5,45 (0,02)
LL2	Dyrket mark, kantvegetasjon	19 (0,97)	23,77 (0,04)	0,27 (0)	27,44 (0,09)	6,00 (0)	<1	0,2	8:1	<0,2	3,67 (0,03)	1,5E-06	5,83 (0,02)
LL3	Beiteområde	16,5 (3,50)	33,81 (0,21)	0,43 (0,02)	43,05 (2,49)	<1 (0)	<1	1,3	8:1	<0,2	<2 (0)	1,8E-06	5,76 (0,06)
LL4	Grunn jord	22,42 (1,24)	58,24 (0,68)	0,58 (0,04)	58,24 (3,73)	<1 (0)	<1	>4	13:1	<0,2	2 (0)	2,1E-06	5,68 (0,03)
LL5	-	19,9 (0,71)	24,92 (0,03)	0,32 (0,07)	31,77 (7,24)	1,03 (0,03)	<1	2,1	12:1	<0,2	<2 (0)	2,3E-07	6,63 (0,01)
SK1	Furumo med mose	26 (0)	22,53 (0,20)	0,26 (0)	25,81 (0,29)	<1 (0)	<1	0,1	9:1	<0,2	<2 (0)	5,4E-05	4,27 (0)
SK2	Våt myr	24 (0,93)	86,53 (0,64)	0,99 (0)	98,54 (0,07)	<1 (0)	<1	>4	9:1	<0,2	10 (0)	2,8E-04	3,55 (0)
SK3	Grunn, steinete jord	7,9 (1,07)	28,01 (0,10)	0,34 (0)	33,73 (0,14)	<1 (0)	<1	<0,1	17:1	<0,2	2 (0)	1,1E-06	5,97 (0)
SK4	Våtmyr, lite mineraljord	34,7 (1,33)	62,11 (1,11)	0,69 (0,01)	68,68 (1,15)	<1 (0)	<1	>4	11:1	<0,2	<2 (0)	1,8E-06	5,74 (0,01)
SK5	Veldig steinete, lite mineraljord	5,9 (0,66)	64,95 (1,51)	0,82 (0,02)	82,11 (2,39)	1,83 (0,07)	<1	0,2	na	<0,2	7 (0)	6,6E-04	3,18 (0)

## Vedlegg 6. Dimensjoner død ved



**Figur 6.1.** Diameter (cm, målt 1,3 m fra rota) og lengde (m) på stående og liggende døde stokker registrert innenfor 250 m<sup>2</sup> flaten etablert for jordprøvetaking på de ulike lokalitetene i skog (SK). Figuren viser gjennomsnittlig diameter og lengde per lokalitet  $\pm 95\%$  konfidensintervall. På én lokalitet, SK1, ble det ikke registrert død ved, og denne er derfor ikke inkludert i figuren. På lokalitet SK3 ble det ikke registrert stående død ved. Der kun én stokk ble registrert av stående og/eller liggende død ved, er det ikke angitt konfidensintervall.

## Vedlegg 7. Antall deteksjoner

**Tabell V7.1.** Antall deteksjoner av forskjellige arter av sopp i jord og død ved fra henholdsvis fire (to prøvetakingsdesign og to ekstraksjonsmetoder) og seks (boreprøver og strøprøver i tre typer død ved) typer prøver på ti og fem lokaliteter i Norge, 2020.

Gruppe	Antall påvisninger deteksjoner i antall typer prøver						Sum antall
	1	2	3	4	5	6	
<b>Sopp i jord</b>							
<i>Skog</i>							
Ascomycota	244 (48,9%)	105 (21,0%)	72 (14,4%)	78 (15,6%)	---	---	499
Basidiomycota	201 (46,5%)	111 (25,7%)	52 (12,0%)	68 (15,7%)	---	---	432
Zygomycota	51 (38,3%)	23 (17,3%)	13 (9,8%)	46 (34,6%)	---	---	133
Totalt skog	496 (46,6%)	239 (22,5%)	137 (12,9%)	192 (12,9%)			1064
<i>Semi-naturlig</i>							
Ascomycota	269 (45,2%)	126 (21,2%)	76 (12,8%)	124 (20,8%)	---	---	595
Basidiomycota	221 (47,0%)	126 (26,8%)	52 (11,1%)	71 (15,1%)	---	---	470
Zygomycota	103 (45,4%)	45 (19,8%)	23 (10,1%)	56 (24,7%)	---	---	227
Totalt semi-nat.	593 (45,9%)	297 (23,0%)	151 (11,7%)	251 (19,4%)			1292
<b>Sopp i død ved</b>							
Ascomycota	319 (52,8%)	123 (20,4%)	65 (10,8%)	49 (8,1%)	30 (5,0%)	18 (3,0%)	604
Basidiomycota	110 (52,4%)	56 (26,7%)	23 (11,0%)	13 (6,2%)	7 (3,3%)	1 (0,5%)	210
Zygomycota	31 (57,4%)	10 (18,5%)	7 (13,0%)	2 (3,7%)	4 (7,4%)	0	54
Totalt	460 (53,0%)	189 (21,8%)	95 (10,9%)	64 (7,4%)	41 (4,7%)	19 (2,2%)	868



## Vedlegg 8. Modellseleksjon

**Tabell V8.1.** Modellvalg for «closed capture models» i et rammeverk for betinget sannsynlighet der artsrikdom ble beregnet som en avledet parameter ( $\hat{N}$ ). Parametere ble estimert separat for tre taksonomiske grupper (kun sopp) og fire, seks og fem typer prøver for henholdsvis sopp og leddormer i jord, sopp i død ved og planter. Flere alternative modeller ble inkludert for å ta høyde for heterogenitet i deteksjonssannsynlighet. For både sopp, planter og leddormer i jord og sopp i død ved omfattet dette: ingen heterogenitet der alle taksa var like («ingen») og «finite mixture»-modeller med to diskrete grupper med henholdsvis høy og lav deteksjonssannsynlighet (H2). For sopp og leddormer inkluderte vi i tillegg modeller med gjennomsnittlig proporsjonal abundans (PA) på tvers av alle prøvene, og for sopp i død ved også modeller med «continuous random effects» (RE).

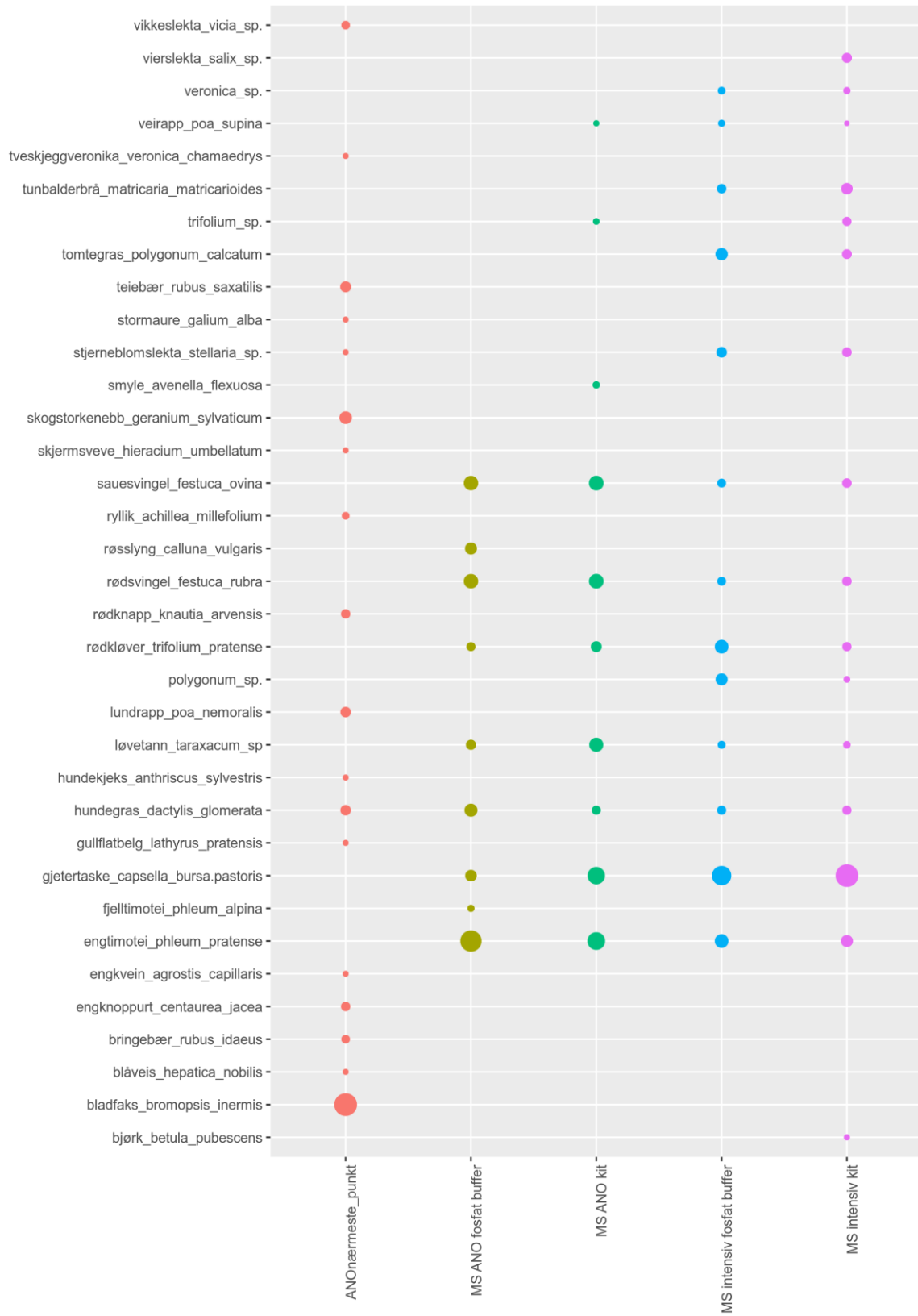
Modell for deteksjonsprosess		Modellparametere				
Parametere	Heterogenitet	K	-2log(L)	AICc	$\Delta AICc$	$w_i \leq$
<b>Sopp i død ved</b>						
$p(\text{gruppe} \times \text{prøve})$	PA	36	5168,2	5240,7	0,0	1,000
$p(\text{gruppe})$	PA	6	5467,1	5479,1	238,3	0,000
$p(\text{gruppe} \times \text{prøve})$	RE	21	5841,2	5883,4	642,7	0,000
$p(\text{gruppe} \times \text{prøve})$	H2	39	5810,6	5889,2	648,5	0,000
$p(\text{gruppe})$	H2	9	6039,7	6057,7	817,0	0,000
$p(\text{gruppe})$	RE	6	6068,1	6080,1	839,3	0,000
$p(\text{gruppe} \times \text{prøve})$	Ingen	18	6156,9	6193,0	952,3	0,000
$p(\text{gruppe})$	Ingen	3	6361,9	6367,9	1127,2	0,000
<b>Sopp i jord</b>						
<i>Skog</i>						
$p(\text{gruppe} \times \text{prøve})$	PA	24	3967,8	4016,1	0,0	1,000
$p(\text{gruppe})$	PA	6	4326,1	4338,1	322,0	0,000
$p(\text{gruppe} \times \text{prøve})$	H2	27	4938,4	4992,8	976,7	0,000
$p(\text{gruppe})$	H2	9	5273,8	5291,8	1275,7	0,000
$p(\text{gruppe} \times \text{prøve})$	Ingen	12	5439,1	5463,2	1447,1	0,000
$p(\text{gruppe})$	Ingen	3	5717,5	5723,5	1707,4	0,000
<i>Semi-naturlig mark</i>						
$p(\text{gruppe} \times \text{prøve})$	PA	24	5043,6	5091,8	0,0	1,000
$p(\text{gruppe})$	PA	6	5096,8	5108,8	17,0	0,000
$p(\text{gruppe})$	H2	9	6380,2	6398,2	1306,4	0,000
$p(\text{gruppe} \times \text{prøve})$	H2	27	6347,5	6401,8	1310,0	0,000
$p(\text{gruppe} \times \text{prøve})$	Ingen	12	6947,6	6971,6	1879,8	0,000
$p(\text{gruppe})$	Ingen	3	6973,8	6979,9	1888,0	0,000
<b>Planter</b>						
$p(\text{naturtype})$	H2	6	620,4	632,5	0,0	0,873
$p(\cdot)$	H2	3	630,3	636,4	3,9	0,125
$p(\text{prøve})$	H2	11	622,2	644,8	12,2	0,002
$p(\text{naturtype} \times \text{prøve})$	H2	22	610,1	656,1	23,6	0,000
$p(\cdot)$	Ingen	1	714,3	716,3	83,8	0,000
$p(\text{naturtype})$	Ingen	2	712,9	716,9	84,4	0,000
$p(\text{prøve})$	Ingen	5	708,3	718,4	85,9	0,000

$p(\text{naturtype} \times \text{prøve})$	Ingen	10	705,5	725,9	93,4	0,000
<b>Leddormer</b>						
$p(\text{prøve})$	H2	9	249,6	268,4	0,0	0,9988
$p(\text{naturtype} \times \text{prøve})$	PA	16	248,1	282,4	14,0	0,0009
$p(\text{naturtype} \times \text{prøve})$	H2	18	246,3	285,2	16,8	0,0002
$p(\text{naturtype})$	PA	4	281,0	289,2	20,8	0,0001
$p(\text{naturtype})$	Ingen	4	283,5	291,7	23,3	0,0001
$p(\text{naturtype} \times \text{prøve})$	Ingen	8	278,8	295,3	27,0	0,0001

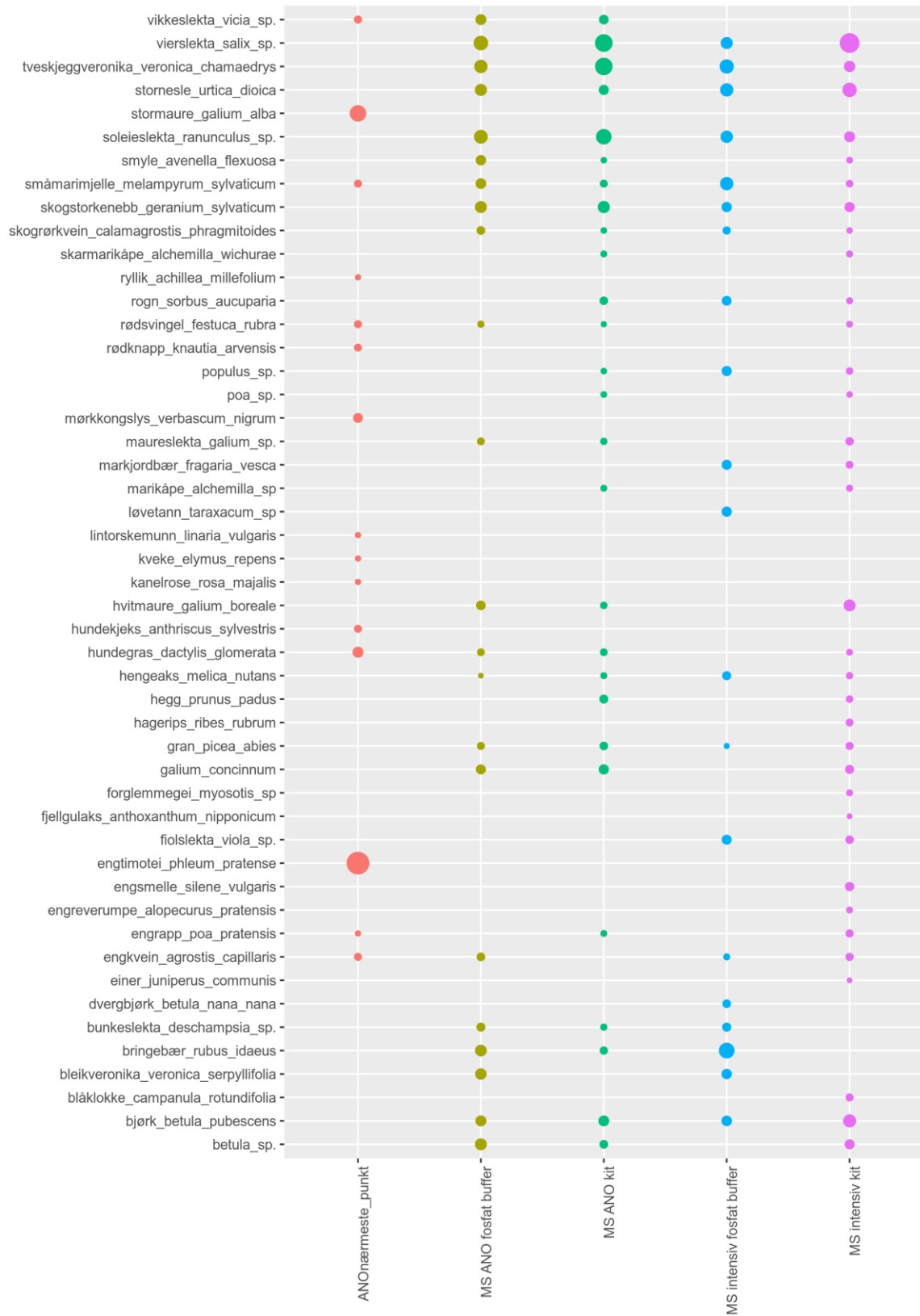
## Vedlegg 9. Sammenligning av resultater for planter

Her gir vi en direkte sammenligning art for art av tradisjonelle rute-baserte vegetasjonsanalyser i henhold til ANOs feltinstruks (Tingstad et al. 2019) og de ulike metodevalgene for miljø-DNA, for hver av de ti lokalitetene, fem i seminaturlig mark og fem i skog (**Figur V9.1-V9.10**). En farget sirkel angir at en art er funnet ved hjelp av en spesifikk metode, og størrelsen på sirkelen angir den relative mengden av arten. For ANO-kartlegging angir dette prosentvis dekning, mens for miljø-DNA data er dette relativt antall DNA-sekvenser for hver art. For både seminaturlig mark og skog sammenlignet vi resultatene fra miljø-DNA med den nærmeste ANO-ruten kartlagt på konvensjonelt vis. For skog, kunne vi også sammenligne miljø-DNA data med ANO-kartlegging av landskapet, som inkluderer mange ANO-ruter i et område. Dette datasettet inneholder naturligvis svært mange arter, men vi inkluderer denne informasjonen da vi kan bekrefte om DNA-treff som ikke finnes i den nærmeste ANO-ruten finnes i landskapet jordprøven ble samlet fra. På x-aksen angir MS at dette er meta-strekkoding data, altså miljø-DNA data, der ANO er den tilfeldige prøvetakingen og intensiv er den systematiske prøvetakingen. Resultatene kan inneholde noen feil-identifiseringer med hensyn til referansedatabasen, og vi ser for eksempel at *Galium concinnum* og hvitløk ikke er arter som man skal forvente i norske lokaliteter. Miljø-DNA dataene viser en sterk sammenheng med antall DNA-sekvenser per prøve, og vi anbefaler at markøren for planter blir kjørt om igjen på en NovaSeq maskin. En slik omkjøring vil mest sannsynlig gi mange flere arter og mer konsistente resultater.

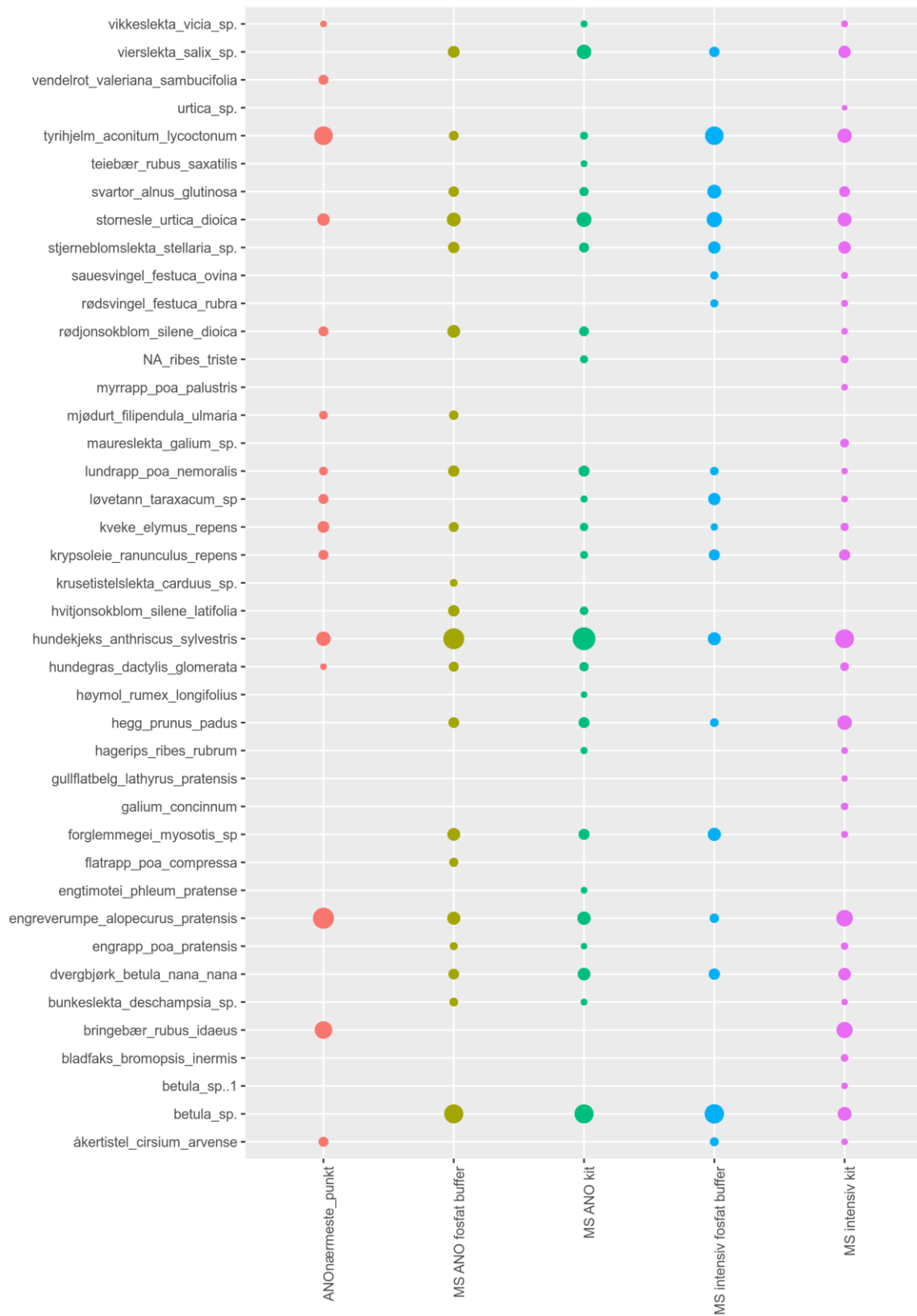
Figur V9.1. Seminaturlig mark 1.



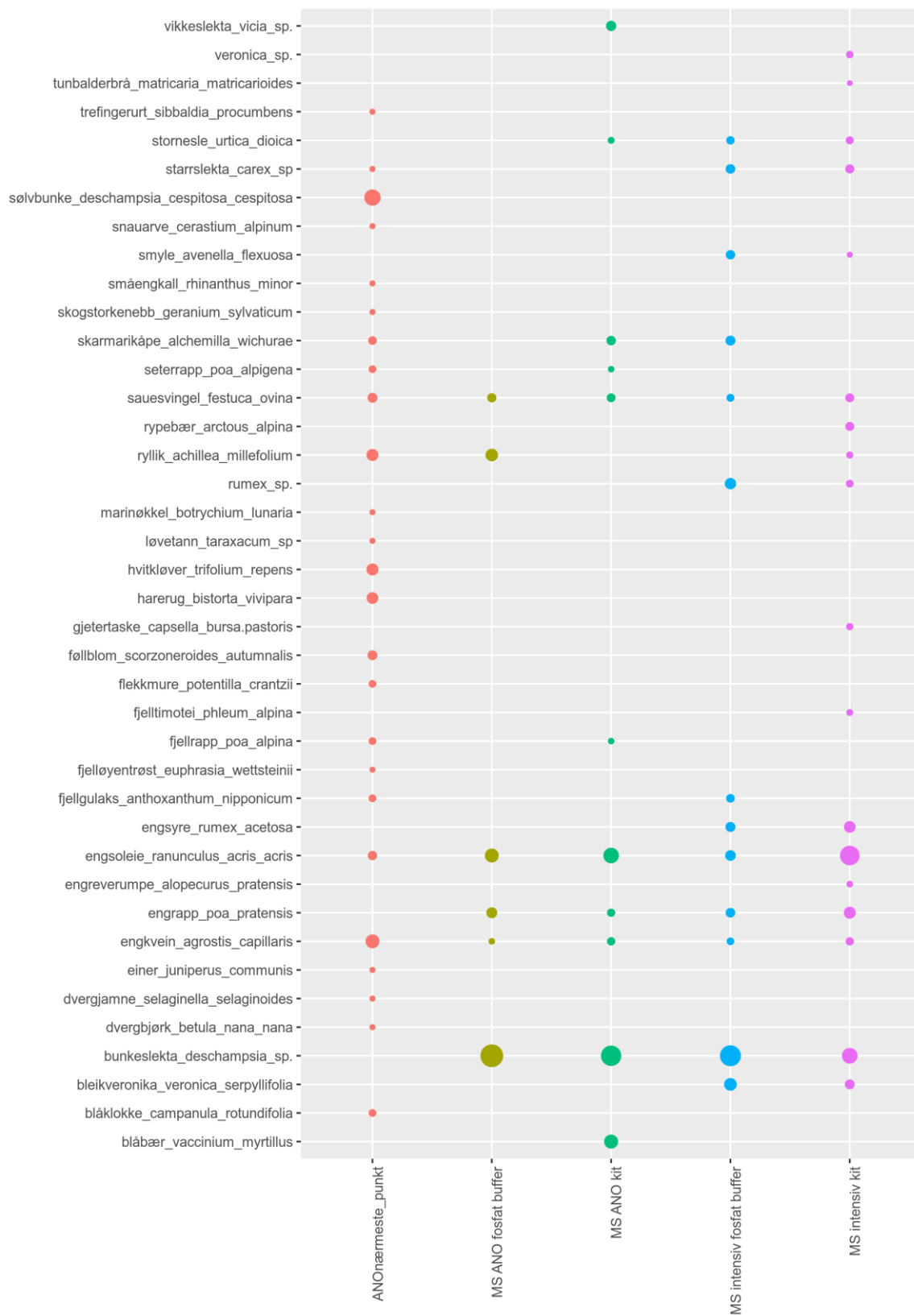
Figur V9.2. Seminaturlig mark 2.



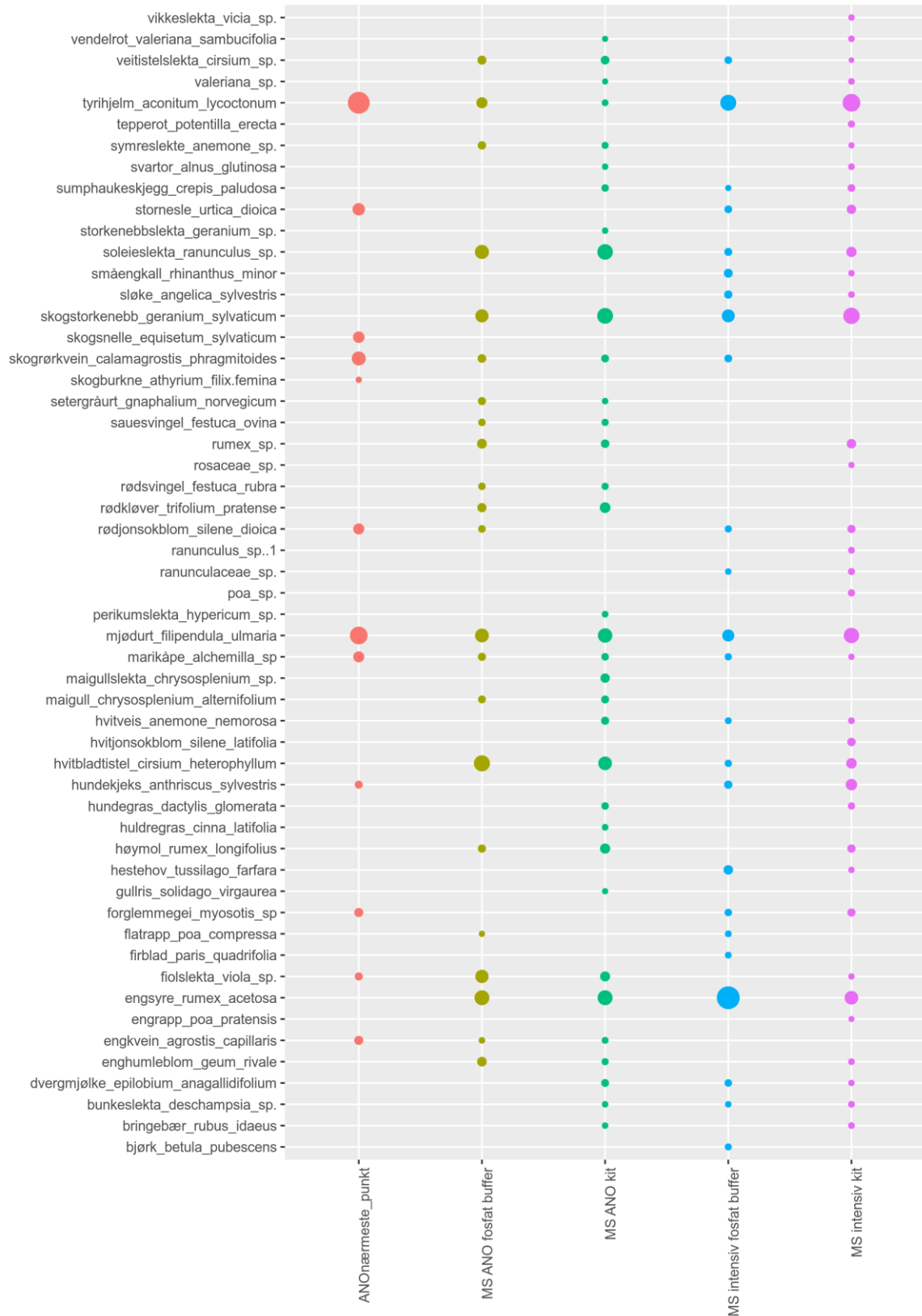
Figur V9.3. Seminaturalig mark 3.



Figur V9.4. Seminaturlig mark 4.



Figur V9.5. Seminaturlig mark 5.





Figur V9.6. Skog 1.



Figur V9.7. Skog 2.



Figur V9.8. Skog 3.



Figur V9.9. Skog 4.



Figur V9.10. Skog 5.



## Vedlegg 10. Utvidet sammendrag

Olsen, S.L., Bartlett, J., Davey, M., Fossøy, F., Linnell, J.D.C., Nordén, J., Odden, J., Sandercock, B. & Thorsen, N.H. 2021. Kartlegging og overvåking av biologisk mangfold med ny teknologi: miljø-DNA og kamerafeller. NINA Rapport 1962. Norsk institutt for naturforskning.

Gjennom nasjonal lovgivning og internasjonale konvensjoner har Norge forpliktet seg til å stanse tap av biologisk mangfold. Å ivareta det biologiske mangfoldet krever imidlertid kunnskap om hvor artene befinner seg. For mange arter har vi god kunnskap om utbredelse og bestandsstørrelse, mens for andre arter er dette dårlig kjent. Det gjelder blant annet arter som lever skjult i jord og død ved, og sjeldne, sky og mobile arter med lav tetthet. De siste tiårene har ny teknologi som bruk av miljø-DNA og kamerafeller, åpnet for deteksjon av «skjult» biologisk mangfold, samt kostnadseffektiv kartlegging av andre artsgrupper.

For å kunne utnytte ny teknologi i kartlegging og overvåking av biologisk mangfold, er det imidlertid nødvendig å identifisere de beste og mest kostnadseffektive metodene. Vi har derfor testet ut ulike metoder for bruk av ny teknologi i kartlegging av terrestrisk biologisk mangfold i Norge. Dette omfatter inventering av artsmangfold i jord og død ved hjelp av miljø-DNA og artsmangfold og fenologi hos pattedyr ved hjelp av kamerafeller. I tillegg har vi gjennomgått eksisterende litteratur for å sammenfatte kunnskapen om bruk av miljø-DNA og kamerafeller i kartlegging og overvåking av biologisk mangfold.

Bruk av miljø-DNA ble testet ut ved å analysere jord- og vedprøver på henholdsvis ti og fem lokaliteter i skog og semi-naturlig mark i Sør-Norge. I tillegg benyttet vi et eksisterende datasett fra PATHEXT-prosjektet for å sammenligne kartlegging av sopp på død ved ved bruk av tradisjonelle metoder og miljø-DNA. Bruk av kamerafeller til ulike formål ble demonstrert ved hjelp av billedata innsamlet fra eksisterende kamerafeller i regi av SCANDCAM-prosjektet.

Litteraturgjennomgangen viser at det er stor optimisme knyttet til bruk av ny teknologi til kartlegging og overvåking av biologisk mangfold. Eksisterende kunnskap tilsier at bruk av miljø-DNA kan være kostnadseffektivt i både terrestriske og akvatiske miljøer. Imidlertid er det nødvendig med videreutvikling av forskjellige analyseteknikker og referansedatabaser for å forbedre resultatene. Når det gjelder bruk av kamerafeller viser litteraturgjennomgangen at dette er et pålitelig verktøy for kartlegging og overvåking av mellomstore og store pattedyr. Den store fordelene med bruk av kamerafeller er at datainnsamlingen omfatter mer enn bare forekomst av arter. Til sammen tilsier eksisterende kunnskap at både miljø-DNA og kamerafeller kan være et verdifullt supplement til tradisjonelle overvåkingsmetoder.

I tråd med eksisterende kunnskap viser våre resultater at analyser av miljø-DNA fra relativt enkle jord- og vedprøver kan være et nyttig verktøy for kartlegging og overvåking av biologisk mangfold der flere artsgrupper kan overvåkes gjennom en og samme prøve. I dette studiet har vi bekreftet egnede genetiske markører for planter, sopp og leddormer i jord, samt sopp i død ved. Foreløpige tester av markører for spretthaler, rundormer, edderkoppdyr, insekter og vertebrater resulterte i relativt få arter. For sopp, planter og leddormer fant vi at metoden er robust og fanger opp viktige forskjeller i artssamfunnet mellom natur- og substrattyper uavhengig av prøvetakings- og ekstraksjonsmetode. Sannsynligheten for deteksjon av arter var også relativt lik for ulike metoder. Vi kan derfor anbefale bruk av de enkleste og mest kostnadseffektive metodene.

For planter viste en sammenligning av tradisjonelle metoder i regi av ANO og analyser av miljø-DNA i jordprøver at en stor andel av artene fanges opp med begge metoder, mens noen arter bare fanges opp av enten tradisjonelle metoder eller med miljø-DNA. Analysene av PATHEXT-datasettet på vedlevende sopp (kjuker og barksopp) viste at tradisjonell kartlegging fanget opp flere arter enn bruk av miljø-DNA. Denne forskjellen var særlig tydelig for rødlistede arter, hvor den tradisjonelle metoden alene fanget opp flertallet av rødlistede sopparter som ble påvist. Dette tyder på at dersom målet er å registrere flest mulig arter, og særlig rødlistearter, er trolig

en kombinasjon av tradisjonell kartlegging og bruk av miljø-DNA det beste. Påvisning av sjeldne arter vil også kreve et helt annet prøvetakingsdesign med fokus på hotspot-habitater. Dersom målet isteden er å overvåke artsrikdom eller artssammensetning på generelt nivå, er miljø-DNA en egnet metode.

Vårt arbeid med bruk av kamerafeller til kartlegging og overvåking av store og mellomstore pattedyr bekrefter at dette kan benyttes til en rekke formål, også utover registrering av forekomst. Dette omfatter overvåking av antall og relative tetthet av dyr, utbredelse av både stedegne og fremmede arter, sammensetning av pattedyrsamfunn, sykdom og fenologi. Når det gjelder fenologi, demonstrerer vi anvendbarheten på tre eksempler: vintersøvn hos grevling, pelsskifte hos hare og gevirsyklus hos rådyr. Det er gjenstår fremdeles noe arbeid med å forstå alle faktorer som påvirker kamerafellenes evne til å oppdage dyr, så man kan kontrollere for eventuelle skjevheter i dataene. Bruk av miljø-DNA fanget ikke opp pattedyrarter som ble påvist ved hjelp av kamerafeller, og vi anser derfor kamerafeller som den beste metoden for overvåking av disse dyregruppene.

Videre arbeid med bruk av miljø-DNA bør omfatte valg av riktig sekvensdybde, videre uttesting av genetiske markører for typisk jordlevende organismer slik som spretthaler, insekter og edderkoppdyr, og alternative metoder for innsamling av miljø-DNA, for eksempel i form av utdriving av insekter og spretthaler og prøvetaking i kunstige smågnagertunneler. Utvikling av norske referansedatabaser for aktuelle artsgrupper bør også prioriteres.

Videre arbeid med kamerafeller bør omfatte arbeid med bestandsindekser, inkludert sammenligning av trender med uavhengige data, uttesting av effekten av kameratetthet på estimater av bestandsendringer, og bruk av kamerafeller i forbindelse med kunstige smågnagertunneler hvor det også tas miljø-DNA-prøver. I kombinasjon med de konvensjonelle kamerafellene vil slike modifiserte kameraer for små pattedyr som små mustelider, gnagere og spissmus, gjøre det mulig å overvåke hele pattedyrsamfunnet i stor skala.

Denne rapporten bidrar med viktig kunnskap om hvordan ny teknologi kan inngå i overvåkingen av biologisk mangfold i norsk natur. Dette krever imidlertid en nøye gjennomtenkt strategi med klare mål, både når det gjelder metodikk for overvåking av ulike artsgrupper og valg av overvåkingsdesign (arealrepresentativ eller hotspot-overvåking; ekstensiv eller intensiv prøvetaking), for at resultatet skal bli best mulig. Kombinasjon av en rekke design og metoder, både nye og tradisjonelle, vil være nødvendig for en helhetlig overvåking av biologisk mangfold av ulike artsgrupper.

Siri Lie Olsen ([siri.lie.olsen@nina.no](mailto:siri.lie.olsen@nina.no)), Jenni Nordén ([jenni.norden@nina.no](mailto:jenni.norden@nina.no)), John Odden ([john.odden@nina.no](mailto:john.odden@nina.no)) og Neri Horntvedt Thorsen ([neri.thorsen@nina.no](mailto:neri.thorsen@nina.no)), Norsk institutt for naturforskning (NINA), Sognsveien 68, 0855 Oslo. Jesamine Bartlett ([jesamine.bartlett@nina.no](mailto:jesamine.bartlett@nina.no)), Marie Davey ([marie.davey@nina.no](mailto:marie.davey@nina.no)), Frode Fossoy ([frode.fossoy@nina.no](mailto:frode.fossoy@nina.no)), John D. C. Linnell ([john.linnell@nina.no](mailto:john.linnell@nina.no)) og Brett K. Sandercock ([brett.sandercock@nina.no](mailto:brett.sandercock@nina.no)), Norsk institutt for naturforskning, Postboks 5685 Torgarden, 7485 Trondheim.

## Appendix 11. Extended abstract

Olsen, S.L., Bartlett, J., Davey, M., Fossøy, F., Linnell, J.D.C., Nordén, J., Odden, J., Sandercock, B. & Thorsen, N.H. 2021. Surveying and monitoring biodiversity using new technology: eDNA and camera trapping. NINA Report 1962. Norwegian Institute for Nature Research.

Through national legislation and international conventions Norway has committed itself to halt the loss of biodiversity. However, preserving biodiversity requires knowledge about species distributions. For some species we have good knowledge of distribution and population size, but the vast majority of species are poorly known. For instance, this is the case for species found in soil and dead wood, as well as rare, shy and mobile species with low population densities. New technologies have emerged recently, such as the use of environmental DNA (eDNA) and camera traps, which provide many opportunities for the detection of “hidden” biodiversity as well as cost-effective mapping of other species groups.

To be able to exploit new technology in mapping and monitoring of biodiversity, it is necessary to identify the best and most cost-effective methods, as well as clarify their potential and limitations. We have therefore tested different technologies for surveying terrestrial biodiversity in Norway. This includes recording biodiversity in soil and dead wood using eDNA and community structure and phenology of mammals using camera traps. In addition, we have conducted a literature review of key literature concerning the strengths and limitations of eDNA and camera trapping methodologies.

eDNA was tested using soil and wood samples from ten and five localities, respectively, collected in forest and semi-natural habitats in south Norway. In addition we used existing datasets from the PATHEXT-project to compare eDNA methods for macro-fungi on dead wood with traditional methods. The potential use of camera-trapping data was demonstrated using many years of data collected under the auspices of the SCANDCAM project.

The literature review revealed that there is great optimism concerning the potential use of new technologies to survey and monitor biodiversity. Existing results indicate that eDNA can be used to good effect in both terrestrial and aquatic environments, although there is still much work to be done to optimize analytical techniques and develop complete reference databases. Camera traps have been shown to be robust tools for monitoring medium to large mammals. The advantage of camera trapping is that it conveys more data than just species presence. The survey shows that both eDNA and camera trapping can be important compliments to existing monitoring methods.

In line with existing knowledge our analysis show that analyses of eDNA in relatively simple soil and wood samples is a potentially useful tool for mapping and monitoring of biodiversity of several species groups simultaneously. In this study we confirm the utility of genetic markers for plants, fungi and annelids in soil as well as fungi in dead wood. Preliminary testing of markers for collembola, nematodes, arachnids, insects and vertebrates resulted in relatively few species. For fungi, plants and annelids we show that method is robust and is able to detect important differences in community structure between habitat and substrate types independent of sampling and DNA extraction methods. The probability of detection of species was approximately similar across methodologies. We can therefore recommend using the simplest and most cost-effective methods.

For plants we found that eDNA samples from soil and traditional ANO survey methods produced similar results, although there were species that were only found by the individual methods. Analysis of the PATHEXT dataset for fungi in wood showed that traditional methods detected more species than eDNA, especially for red-list species, where the traditional method alone captured most of the red-listed fungi species identified. This indicates that a combination of traditional methods and eDNA is needed if the goal is to detect the full range of species, including



red-list species. Detection of rare species will also require a different sampling design focusing on hotspot habitats. If the goal is to monitoring species diversity or species composition in general, eDNA is a useful tool.

Our results with camera traps for mapping and monitoring medium to large mammals confirms that the method can be used for multiple purposes in addition to registering species presence. This includes studying density and relative abundance of animals, the distribution of both native and alien species, community structure, diseases and the timing of life history events (phenology) such as winter dormancy in badgers, antler cycles in roe deer, and winter coats in mountain hares. Some work remains before we can understand all factors affecting the ability of camera traps to detect animals, with the aim of controlling for bias in the data. Analyses of eDNA did not capture the mammal species recorded using camera traps, and we therefor consider camera trapping the best method for monitoring of these animal groups.

Further method development is needed with eDNA to find the best choice of sequence depth, further testing of genetic marker and alternative sampling methods (for example finding ways to concentrate insect or small mammal DNA samples). Development of Norwegian reference databases for relevant species groups should also be prioritized.

Further method development with camera traps is needed to optimize field deployments and develop the most robust indices, including a comparison of trends with independent data. In addition, there is a need to test different systems, such as plastic tunnels, that can allow a combination of camera traps and eDNA to monitor smaller mammals such as small mustelids, rodents and shrews. In combination with conventional camera traps such modified cameras will enable a large-scale monitoring of the full mammal community.

This report provides new insights into the way that new technologies can contribute to monitoring the biodiversity associated with Norwegian nature. However, there is a need for a carefully considered strategy with well-defined goals, both concerning methodology (e.g. tailored for different species groups) and design (e.g. monitoring of hot-spots vs. representative plots and extensive vs. intensive sampling), to optimize the results. A diversity of approaches, both new and old, is necessary for a comprehensive monitoring of biodiversity of different species groups. tailored for different species groups.

Siri Lie Olsen ([siri.lie.olsen@nina.no](mailto:siri.lie.olsen@nina.no)), John Odden ([john.odden@nina.no](mailto:john.odden@nina.no)), Jenni Norden ([jenni.norden@nina.no](mailto:jenni.norden@nina.no)) and Neri Horntvedt Thorsen ([neri.thorsen@nina.no](mailto:neri.thorsen@nina.no)), Norwegian Institute for Nature Research (NINA), Sognsveien 68, NO-0855 Oslo. Jesamine Bartlett ([jesamine.bartlett@nina.no](mailto:jesamine.bartlett@nina.no)), Marie Davey ([marie.davey@nina.no](mailto:marie.davey@nina.no)), Frode Fossoy ([frode.fossoy@nina.no](mailto:frode.fossoy@nina.no)), John D. C. Linnell ([john.linnell@nina.no](mailto:john.linnell@nina.no)) and Brett K. Sandercock ([brett.sandercock@nina.no](mailto:brett.sandercock@nina.no)), Norwegian Institute for Nature Research, P.O. Box 5685 Torgarden, NO-7485 Trondheim.





*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: 978-82-426-4741-2

## 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](mailto:firmapost@nina.no)

Organisasjonsnummer 9500 37 687

<http://www.nina.no>



Samarbeid og kunnskap for framtidens miljøløsninger