



HAVNEOVERVÅGNING AF IKKE- HJEMMEHØRENDE ARTER 2021

Havstrategiens deskriptor 2

Videnskabelig rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi

nr. 534

2023



AARHUS
UNIVERSITET

DCE - NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

HAVNEOVERVÅGNING AF IKKE-HJEMMEHØRENDE ARTER 2021

Havstrategiens deskriptor 2

Videnskabelig rapport fra DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi

nr. 534

2023

Nikolaj R. Andersen¹
Peter A.U. Stæhr¹
Karolina R. Andersen¹
Helle Buur¹
Hans H. Jakobsen¹
Anne Winding²
Rumakanta Sapkota²

¹Aarhus Universitet, Institut for Ecoscience

²Aarhus Universitet, Institut for Miljøvidenskab



AARHUS
UNIVERSITET

DCE – NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

Datablad

Serietitel og nummer:	Videnskabelig rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi nr. 534
Kategori:	Rådgivningsrapporter
Titel:	Havneovervågning af ikke-hjemmehørende arter 2021
Undertitel:	Havstrategiens deskriptor 2
Forfatter(e):	Nikolaj R. Andersen, Peter A.U. Stæhr, Karolina R. Andersen, Helle Buur, Hans H. Jakobsen, Anne Winding, Rumakanta Sapkota
Institution(er):	Aarhus Universitet, Institut for Ecoscience og Institut for Miljøvidenskab
Udgiver:	Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi ©
URL:	http://dce.au.dk
Udgivelsesår:	Februar 2023
Redaktion afsluttet:	Februar 2023
Faglig kommentering:	Jakob Thyrring
Kvalitetssikring, DCE:	Anja Skjoldborg Hansen
Sproglig kvalitetssikring:	Charlotte Hviid
Ekstern kommentering:	https://dce2.au.dk/pub/komm/SR534_komm.pdf
Finansiel støtte:	Miljøministeriet
Bedes citeret:	Andersen, N.R., Stæhr, P.U., Andersen, K.R., Buur, H, Jakobsen, Hans H., Winding, A. & Sapkota, R. 2023. Havneovervågning af ikke-hjemmehørende arter 2021. Havstrategiens deskriptor 2. Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi, 65 s. - Videnskabelig rapport nr. 534. http://dce2.au.dk/pub/SR534.pdf
	Gengivelse tilladt med tydelig kildeangivelse
Sammenfatning:	Rapporten leverer en kvantificering af ikke-hjemmehørende arter i seks udvalgte danske havne (Esbjerg Havn, Hirtshals Havn, Frederikshavn Havn, Aarhus Havn, Fredericia Havn og Københavns Havn) ved anvendelse af konventionelle (skrab, bundprøver og begroningsplader) og eDNA-baserede (qPCR) overvågningsmetoder. I alt blev der fundet 24 ikke-hjemmehørende arter i de seks havne, heraf to helt nye arter for danske farvande. Sammenlignet med baseline undersøgelser i 2017 var der 15 gengangere. Rapporten leverer en række anbefalinger til optimering af den fremtidige havneovervågning.
Emneord:	Ikke-hjemmehørende arter; Havne, eDNA, Konventionelle metoder, Overvågning
Layout:	Peter A.U. Stæhr
Illustrationer:	Nikolaj R. Andersen
Foto forside:	<i>Sinelobus vanhaareni</i> - ny dansk ikke-hjemmehørende art. Foto af Helle Buur
ISBN:	978-87-7156-750-2
ISSN (elektronisk):	2244-9981
Sideantal:	65
Internetversion:	Rapporten er tilgængelig i elektronisk format (pdf) som http://dce2.au.dk/pub/SR534.pdf

Indhold

Forord	5
Sammenfatning	6
Summary	7
1 Introduktion	8
2 Metoder og prøvetagning	11
2.1 Konventionelle metoder	13
2.2 eDNA metode	15
2.3 PCR af ikke-hjemmehørende arter	16
2.4 Kvantitativ PCR	17
2.5 Artsregistrering	18
3 Resultater	19
3.1 Antal ikke-hjemmehørende arter	19
3.2 Beskrivelser af observerede ikke-hjemmehørende arter	23
3.3 Sammenligning af ikke-hjemmehørende arter med MONIS4 (baseline)	32
3.4 Sikkerhed i eDNA bestemmelserne	35
4 Diskussion	38
4.1 Evaluering af metoder	38
4.2 Sammenligning med baselinestudie	41
5 Anbefalinger til fremtidig havneovervågning	42
6 Referencer	43
7 Bilag	48

Forord

Denne rapport leverer nye data for overvågning af ikke-hjemmehørende marine arter i seks større danske havne ved brug af konventionelle prøvetagningsmetoder samt eDNA (qPCR). Rapporten, som er bestilt og kommenteret af Miljøstyrelsen, understøtter NOVANA-monitoringen i de kystnære og åbne farvande med en målrettet overvågning af marine ikke-hjemmehørende arter i hot spots (havne). Dette er en del af Danmarks havstrategi for perioden 2021-2026, hvor ikke-hjemmehørende arter fremadrettet skal overvåges i seks danske havne hvert andet år. Foruden nye data, leverer rapporten en sammenligning med tidligere undersøgelser og en række anbefalinger til fremtidig overvågning af ikke-hjemmehørende arter i danske havne.

Sammenfatning

Denne rapport er en del af det danske marine overvågningsprogram for perioden 2021-2026 og omfatter en kvantificering af ikke-hjemmehørende arter (eng. non-indigenous species (NIS) inkl. kryptogene arter) i 6 udvalgte danske havne (Esbjerg Havn, Hirtshals Havn, Frederikshavn Havn, Aarhus Havn, Fredericia Havn og Københavns Havn). Projektet har til formål at registrere antallet af ikke-hjemmehørende arter ved anvendelse af konventionelle (skrabeprøver, bundprøver og begroningsplader) og eDNA-baserede (qPCR) overvågningsmetoder i løbet af juni til oktober 2021. I alt blev der fundet 24 ikke-hjemmehørende arter (17 med konventionelle og 11 med eDNA metoder, 4 til fælles) i de seks havne, varierende mellem 7 og 14 ikke-hjemmehørende arter i hver havn. To helt nye ikke-hjemmehørende arter for danske farvande, blev registreret (*Schizoporella japonica* og *Sinelobus vanhaareni*) i hhv. Esbjerg og Københavns Havn med konventionelle metoder. Sammenlignet med baseline undersøgelsen af de 6 havne i 2017, hvor man fandt 32 ikke-hjemmehørende arter, fandt vi 24 ikke-hjemmehørende arter. Af disse var der 15 gengangere. Rapporten giver afslutningsvis en række anbefalinger til optimering af den fremtidige havneovervågning.

Summary

This report is part of the Danish marine monitoring program for the period 2021-2026 and involves quantification of non-indigenous species (NIS – including cryptogenic species) in six selected major Danish harbors (Esbjerg, Hirtshals, Frederikshavn, Aarhus, Fredericia and Copenhagen). The project, which is financed by the Danish EPA, aims to register NIS during spring to autumn of 2021, using a suite of conventional techniques (scraping samples, sediment samples, settling plates) and eDNA-based (qPCR) techniques. In total 24 NIS species were found, 17 with conventional and 11 with eDNA methods, four in common for all six monitored harbors. The number of NIS per harbor varied from 7 to 14. Two new NIS for Danish waters were observed (*Schizoporella japonica* and *Sineloebus vanhaareni*) in Esbjerg and Copenhagen ports, respectively. Compared with a baseline study from 2017 for the same six harbors, where 32 NIS species were found, we observed 24 NIS of which 15 were also found previously. The report evaluates the applied methods and provides recommendations for future NIS monitoring in Danish harbors.

1 Introduktion

Marine arters geografiske spredning har altid været en naturlig proces, dog har udbredelsen også altid været begrænset af fysiske og miljøbetingede spredningsbarrierer. Gennem de sidste årtusinder, i takt med en stigende befolkningstæthed, har menneskets aktiviteter, såsom handel og rejser, nedbrudt disse barrierer, hvilket har medført en voldsom stigning i indvandring af arter til nye områder. Klimaforandringer har yderligere bidraget til at fremme indvandring af mere varmeelskende arter (eg. García-Gómez et al. 2020). Denne udveksling af "ikke-hjemmehørende" arter er derfor stigende i takt med globaliseringen og foregår til områder som ligger længere væk end tidligere (Thomsen et al., 2008). Ikke-hjemmehørende terrestriske arter har i mange år været i fokus, og først senere er opmærksomheden blevet rettet mod akvatiske indførsler (Thomsen et al., 2008).

"Ikke-hjemmehørende" defineres som en art, underart eller lavere taxon introduceret udenfor dens naturlige, tidligere eller nuværende udbredelsesområde (dvs. udenfor det område, hvor den forekommer naturligt eller ikke kunne forekomme uden direkte/indirekte menneskelig introduktion), inklusiv en hvilken som helst af følgende dele; kønscelle, frø, æg eller afkom fra en sådan art, som kan overleve og efterfølgende reproducere sig (IUCN, 2000). Visse ikke-hjemmehørende arter klassificeres som kryptogene, dvs. at deres oprindelse er ukendt, og de er muligvis ikke direkte introducerede, men kan være ankommet grundet ændringer i miljøet, såsom opvarmning (Tsiamis et al., 2019). Uanset oprindelsen, kan en ikke-hjemmehørende art sprede og etablere sig og forårsage skadelige effekter på de oprindelige arter og det modtagende økosystem, og defineres i så fald som en invasiv art. Invasive arter kan medføre alvorlige økologiske, økonomiske og helbredsmæssige konsekvenser (Thomsen et al., 2008). Det vurderes, at ikke-hjemmehørende arter sammen med overudnyttelse af jordens ressourcer, klimaforandringer og forurening udgør en af de største trusler mod den biologiske mangfoldighed (WWF, 2022). Når en ikke-hjemmehørende art først har etableret sig i det marine miljø, er det vanskeligt at begrænse eller bekæmpe. De mest omkostningseffektive midler i forhold til begrænsning af ikke-hjemmehørende arter er derfor forebyggelse eller en tidlig indsats (Haubrock et al., 2020). På europæisk plan er der derfor blevet iværksat en række indsatser, såsom lovmæssige foranstaltninger, herunder EU Kommissionens Havstrategirammedirektiv (MSFD) (EUROPA-PARLAMENTETS OG RÅDETS DIREKTIV 2008/56/EF), som har til formål at opnå god økologisk tilstand (Good Environmental Status (GES)). I Kommissionens GES-afgørelse er der fastlagt ét primært og to sekundære kriterier for ikke-hjemmehørende arter, herunder invasive arter: "antallet af nye ikke-hjemmehørende arter" (D2C1 primært); "udbredelse og tæthed af etablerede ikke-hjemmehørende og invasive arter" (D2C2 sekundært) og "negative ændringer som følge af ikke-hjemmehørende og invasive arter" (D2C3 sekundært) (KOMMISSIONENS AFGØRELSE (EU) 2017/848). EU-medlemslandene, herunder Danmark, er forpligtet til at overvåge, vurdere og opnå god økologisk tilstand for disse GES-specificerede kriterier for ikke-hjemmehørende arter. Som følge heraf, har Danmark i regi af det Nationale Overvågningsprogram for Vandmiljø og Natur (NOVANA), noteret ikke-hjemmehørende arter som tillægsinformation siden 2017, under en række af de marine delprogrammer omfattende fytoplankton, zooplankton, makroalger, anden vegetation på blød bund og fauna på blødbund, sandbund og

håndbund (Fossing & Stæhr, 2017). Foruden data fra det marine overvågningsprogram, indsendes data om nye ikke-hjemmehørende arter til Miljøstyrelsen, som står for en regelmæssig opdatering af den samlede danske liste over marine ikke-hjemmehørende arter (<https://mst.dk/natur-vand/natur/invasive-arter/hvilke-arter-er-invasive/> under fanen "Ikkehjemmehørende arter i Danmark").

I Danmark har man i løbet af de seneste årtier ligeledes set en hastig stigning, hvormed nye marine ikke-hjemmehørende arter introduceres til danske farvande (Stæhr & Thomsen, 2012; Stæhr et al., 2016; Stæhr et al., 2020), og der findes i dag over 100 ikke-hjemmehørende marine arter registreret i Danmark (Miljøstyrelsen, 2022). Hvordan arterne er kommet hertil, er ikke altid kendt, men meget tyder på, at de største spredningsveje er gennem fartøjer (ballastvand og skrogbegroning) (Stranga & Katsanevakis, 2021; HELCOM, 2012). Når ballastvand og skrogbegroning spiller de største roller som spredningsveje, er det forventeligt, at havne er hot spots for marine ikke-hjemmehørende arter (Andersen et al., 2014).

De ikke-hjemmehørende arter, som er relevante at monitorere for danske havne, er første gang beskrevet af Jensen (2013) i forbindelse med en risikovurdering af danske havne for "The International Convention For The Control And Management Of Ships' Ballast Water And Sediments", som er en konvention, som blev vedtaget af medlemslandene under International Maritime Organization (IMO) i 2017. Siden har "Monitoring of Non-Indigenous Species in Danish Marine Waters (MONIS)" rapporter, udført af NIVA Danmark (Andersen et al. 2014, Andersen et al. 2016, Andersen et al. 2018), undersøgt ikke-hjemmehørende arters forekomst i de danske farvande samt givet anbefalinger til monitorering af disse arter. Andre danske studier, bl.a. fra Aarhus Universitet, har også undersøgt udbredelsen af marine ikke-hjemmehørende arter (Stæhr & Thomsen, 2012; Stæhr et al., 2016; Stæhr et al., 2020), hovedsageligt baseret på NOVANA programmet. Den seneste og fjerde MONIS rapport (Andersen et al., 2022) er den første og indtil nu eneste landsdækkende undersøgelse af forekomsten af ikke-hjemmehørende arter i danske havne. Resultaterne repræsenterer en baseline for forekomst af ikke-hjemmehørende arter i 16 udvalgte danske havne.

EU Kommissionen har tidligere orienteret Danmark omkring behovet for at iværksætte en målrettet overvågning af marine ikke-hjemmehørende arter i hot spots og spredningsveje (COM/2017/03 final). I det seneste overvågningsprogram for Danmarks havstrategi i 2021-2026 blev det derfor indarbejdet, at ikke-hjemmehørende arter fremadrettet skal overvåges i seks danske havne hvert andet år i både forår og efterår (Miljø- og Fødevarerministeriet, 2020). Det er denne overvågning i forår og efterår 2021 nærværende projekt afrapporterer. Havnene (Esbjerg Havn, Hirtshals Havn, Frederikshavn Havn, Aarhus Havn, Fredericia Havn og Københavns Havn) er udvalgt på baggrund af deres dækningsgrad i forhold til HELCOM og OSPAR's havområder, størrelse og skibstrafik og derved deres potentiale som spredningsveje for ikke-hjemmehørende arter (Hansen et al., 2020).

I nærværende undersøgelse af de seks nævnte havne blev der anvendt konventionelle og molekylære (eDNA-baseret) overvågningsmetoder. De konventionelle metoder er baseret på HELCOM-OSPAR's Joint Harmonized Procedure (JHP) (HELCOM-OSPAR, 2015), og den molekylære metode er baseret på at detektere eDNA i en vandprøve eller på begroingsplader ved hjælp af

qPCR. Denne metode bygger på ekstraktion af miljøDNA (eDNA) fra vandprøver eller begroningsplader efterfulgt af kvantitative PCR (qPCR) detektionssystemer med artsspecifikke primere og prober for 24 udvalgte ikke-hjemmehørende marine arter (Andersen et al., 2018). Både konventionelle og DNA-baserede metoder har fordele og begrænsninger for detektion af ikke-hjemmehørende arter. De konventionelle er begrænset ift. hvor stort et undersøgelsesområde, de afdækker, og den store taksonomisk ekspertise det kræver at identificere de meget forskellige artsgrupper. Men der er til gengæld vished for, at en identificeret art rent faktisk er til stede på lokaliteten. qPCR metoden er meget følsom overfor selv små spor af DNA-materiale, og materiale indsamlet vha. vandprøver forventes at repræsentere materiale fra et større geografisk område. Der er dog ikke vished for at et positivt resultat er ensbetydende med detektion af en levende organisme, da DNA-materialet kan oprinde fra mange, også antropogene, kilder, og ikke nødvendigvis fra en levende organisme i nærområdet. Det anvendte qPCR system omfatter flere fytoplankton arter, fisk og gøpler som de valgte konventionelle metoder ikke omfatter. Herved komplementerer de to tilgange hinanden.

Registreringen af ikke-hjemmehørende arter foregik i juni 2021 og blev gentaget i september/oktober 2021. De resulterende data er efterfølgende blevet indrapporteret til de relevante nationale og regionale dataholdere (Miljøstyrelsen, OSPAR, HELCOM, AquaNIS).

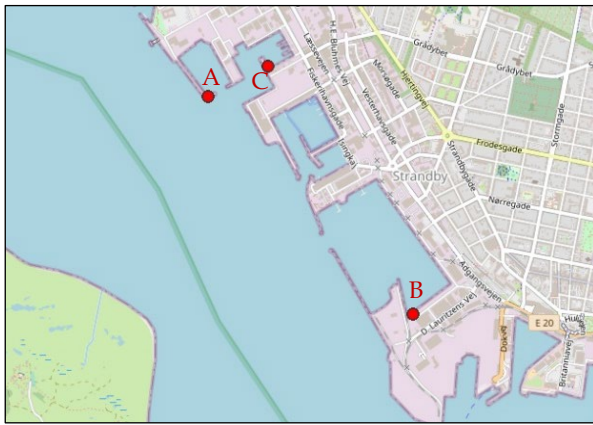
2 Metoder og prøvetagning

Indsamling af feltprøver blev foretaget i juni og september/oktober i 2021. I alle seks havne; Esbjerg Havn, Hirtshals Havn, Frederikshavn Havn, Aarhus Havn, Fredericia Havn og Københavns Havn (Figur 2.1) blev de samme undersøgelsesmetoder anvendt. Indsamlingen blev foretaget på tre stationer i hver havn (Figur 2.2), hvis lokalitet blev udvalgt på baggrund af skibstrafik i samarbejde med de relevante havnemyndigheder.

Figur 2.1. Angivelse af havnelokaliteter. Der blev i alt undersøgt seks havne (Esbjerg, Hirtshals, Frederikshavn, Aarhus, Fredericia og København) med tre stationer i hver havn.



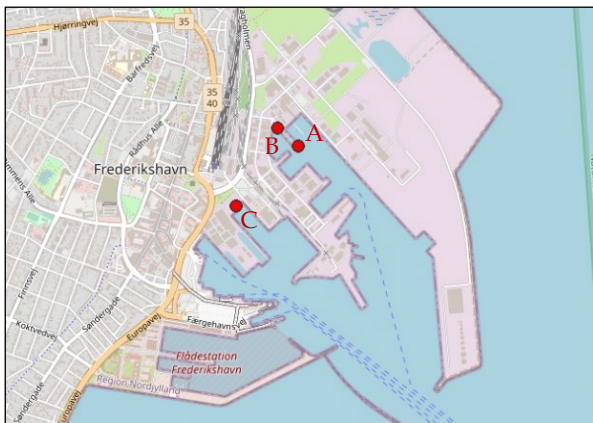
Prøvetagningsmetoderne er opdelt i to hovedgrupper, eDNA og konventionelle metoder. eDNA-metoden indebærer indsamling af vandprøver og materiale fra begrovningsplader i havnene med efterfølgende molekylær analyse i laboratoriet, hvor de konventionelle metoder bestod af indsamling af biologisk materiale ved anvendelse af skrab, bundprøver og ved udsætning af begrovningsplader. Det biologiske materiale indsamlet med de konventionelle metoder blev efterfølgende oparbejdet og artsbestemt af en taksonom i laboratoriet. Der er ikke blevet identificeret arter i felten. Alle prøver, både eDNA og fra de konventionelle metoder, er indsamlet samme dag for hver havn.



Esbjerg



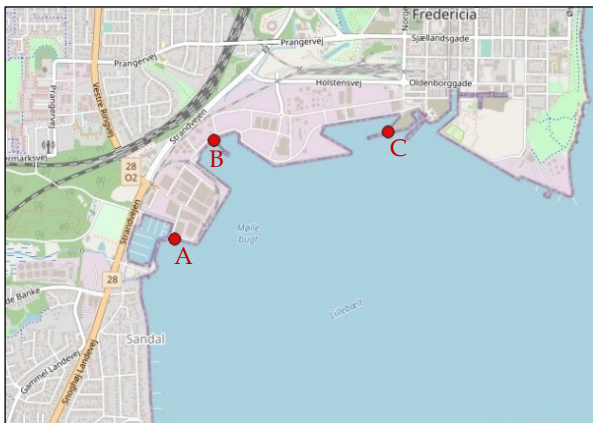
Hirtshals



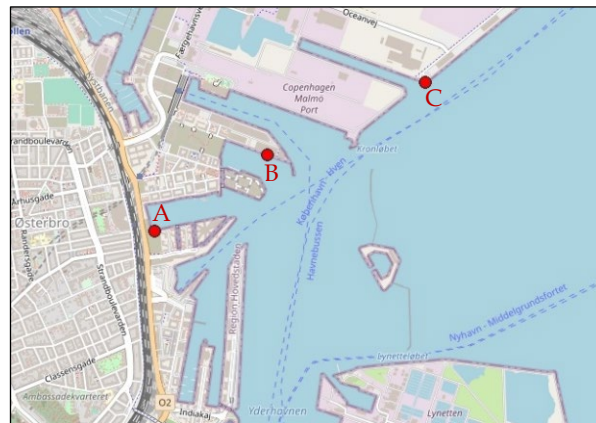
Frederikshavn



Aarhus



Fredericia



København

Figur 2.2. Stationslokaliteter i hver havn. Der blev undersøgt tre stationer i hver af de seks havne København, Fredericia, Esbjerg, Aarhus, Frederikshavn og Hirtshals. Stationerne er i hver havn navngivet A – C.

Indsamlingen af prøver i juni og september/oktober var identisk. Den eneste prøvetagningsmetode, som ikke er indbefattet af dette, er begroningspladerne, som blev udsat i juni og indsamlet i september/oktober, og derved også eDNA fra begroningsplader. Den ellers identiske prøvetagning muliggør derfor ikke kun en sammenligning mellem de seks havne, men også en sammenligning af årstiden i antallet af ikke-hjemmehørende arter i hver havn. Vi benævner alle individer "arter" gennem rapporten, selvom nogle få individer kun er bestemt til højere taxonomisk niveau.

Ved ankomst til hver station blev der målt vandtemperatur, salinitet og dybde vha. en håndholdt CTD (YSI-professional plus) med interval på 1 m, og vejrforholdene blev noteret, før arbejdet med indsamling af prøver gik i gang. Dette blev gjort for at kunne overholde den tekniske anvisning for eDNA-baseret overvågning af ikke-hjemmehørende marine arter, som foreskriver at vandindsamling altid skal foregå over en evt. lagdeling (Knudsen et al., 2020a). CTD-data er ikke afrapporteret i denne rapport, men kun brugt til at kunne overholde gældende tekniske anvisninger på de enkelte stationer. Salinitetsdata er dog medtaget i forbindelse med indberetning til HELCOM og OSPAR. Alle prøver blev indsamlet fra molerne/broerne i havnene, og der er ikke anvendt båd i dette projekt.

2.1 Konventionelle metoder

Begroningsplader

Denne feltmetode baserede sig på HELCOMs "Guidelines for non-indigenous species monitoring by extended Rapid Assessment Survey (eRAS)" (HELCOM, 2017). Begroningspladerne udsættes i forår/tidlig sommer og efterlades i havnen i 3-4 måneder. I nærværende projekt blev begroningspladerne placeret i juni 2021 i havnene og indhentet i slutningen af september – begyndelsen af oktober 2021. De anvendte plader er af PVC med dimensionerne 150 x 150 x 5 mm. I hver plade blev der boret et hul i centrum, og de blev herefter slebet let med korn 120 sandpapir for at øge vedhæftningen for dyr og planter. Pladerne blev fordelt i vandsøjlen, så den nederste var 1 m over bund, den øverste 1 m under overfladen (ift. minimumsvandstand) og den midterste med samme afstand til den øverste og nederste plade. Dette blev gjort med ottetalsknob på et 10 mm reb fastgjort til molen. For at holde rebet udstrakt og lodret i vandsøjlen var der bundet en mursten for enden af rebet, som hvilede på bunden (Figur 2.3).

Figur 2.3. Begroningsplader anvendt i havnene.



Ved hjemtagelse blev begroningspladerne taget forsigtigt ud af vandet, og for hver station (3 stk.) blev disse konserveret i 96 % ethanol til en slutkoncentration på 70 % i en plastbeholder, hvor de blev fastlåst på en 10 mm bolt med afstandsmøtrikker for at skåne dyr og planter. I laboratoriet blev der efterfølgende taget fotos af både over- og underside af pladerne, og alle arter blev herefter bestemt til lavest mulige taksonomiske niveau ved brug af stereolup og mikroskop. Efterfølgende blev der taget prøver fra pladerne til DNA-ekstraktion (se 2.2.4).

Bundprøver

Denne feltmetode var baseret på Joint HELCOM/OSPAR Guidelines on the granting of exemptions under the International Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water and Sediments, Regulation A-4 (HELCOM, 2013) samt Teknisk Anvisning M19 (Hansen & Josefson, vers.3 2020). Prøverne blev taget med en håndholdt Van Veen grab (0,025 m²), og der blev taget én bundprøve per station (Figur 2.4). Prøven blev sigtet gennem en 1 mm sigte på havnen, og al materiale tilbageholdt over 1 mm blev konserveret i 96 % ethanol til en slutkoncentration på 70 %.

Figur 2.4. Håndholdt Van Veen grab og sigte anvendt i forbindelse med indsamling af bundprøver.



Skrabepøver

Denne feltmetode baserer sig på Joint HELCOM/OSPAR Guidelines on the granting of exemptions under the International Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water and Sediments, Regulation A-4 (HELCOM, 2013). Skrabene blev foretaget på hårde strukturer i havnen, typisk mole-/spunsvæggen, hvor dette var muligt. Der blev taget tre skrab per station med ca. 10 m imellem hvert skrab. Skraberen er 10 cm bred, og det afskrabede materiale blev opfanget i et net med maskestørrelse på 1 mm (Figur 2.5). Der blev skrabet fra 1 m under overfladen til overfladen (ca. 0,1 m²) per skrab. Det afskrabede materiale blev konserveret i 96 % ethanol til en slutkoncentration på 70 %, og arterne blev efterfølgende identificeret i laboratoriet ved brug af stereolup og mikroskop med tilhørende fotodokumentation.

Figur 2.5. Skraber som anvendes i havnene til indsamling af skrabeprøver.



2.2 eDNA metode

Indsamling af vandprøver

Indsamling af vand til eDNA vandprøver foregik 1 m under overfladen og efter forskrifterne i teknisk anvisning (Knudsen et al., 2020a) med en 2 L Van Dorn vandhenter fra firmaet KC Denmark A/S. For hver prøve blev der filteret op til 1500 ml og altid over 550 ml havvand henover et Sterivex filter. For at minimere risikoen for DNA-kontaminering, blev udstyret skyllet grundigt mellem hver station.

DNA-ekstraktion fra ikke-hjemmehørende arter

De 24 forskellige ikke-hjemmehørende arters detektionssystemer blev verificeret ved at ekstrahere DNA fra de individuelle arter og amplificere dette DNA ved en artsspecifik PCR. Disse ikke-hjemmehørende arters specifikke PCR-produkter fungerede som positive kontroller og for udarbejdelse af standarddrækker i de specifikke qPCR detektionssystemer. For enkelte ikke-hjemmehørende arter modtog vi PCR-produkter fra P. Thomsen, AU, men for langt de fleste ikke-hjemmehørende arter indsamlede vi arten enten selv eller via videnskabelige netværk og ekstraherede DNA fra disse (Bilag 1).

Planktoniske ikke-hjemmehørende arter i kultur blev centrifugeret (7000 rpm i 10 min) for at opkoncentrere cellerne. Væv fra større ikke-hjemmehørende dyrearters væv blev skåret ud, idet materiale fra tarm, mund og overflade blev undgået. Fra ikke-hjemmehørende alger blev en del af algen ligeledes udskåret. Efterfølgende blev materialet formalet i en morter under flydende kvælstof. Derefter blev DNA ekstraheret med DNeasy Blood & Tissue kit (Qi-AGEN) efter producentens protokol, bortset fra at prøverne blev behandlet

med 10 µl proteinase K (20 mg ml⁻¹) (Promega) i mindst tre timer ved 56 °C og 1000 rpm før homogenisering med beads. DNA-koncentrationen blev

kvantificeret i et Qubit 4.0-fluorometer. Ekstraheret DNA blev fordelt i flere 1,5 ml Eppendorf-rør og opbevaret ved -20 °C. Alt arbejdet blev udført under sterile forhold i en flowbænk.

DNA-ekstraktion fra Sterivex filtre

DNA-ekstraktion fra Sterivex filtre blev udført ved hjælp af DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen) med 'spin-kolonner' efter producentens protokol med følgende modificeringer: 80 µL proteinase K (20 mg ml⁻¹) blev tilsat sammen med 720 µL ATL-buffer til filtret, som derefter blev inkuberet på en rotor i et varmeskab ved 55 °C (± 1 °C) i 4 til 24 timer, så filtratet var helt lyseret. Yderligere trin i ekstraktionen fulgte producentens protokol. DNA-koncentrationen blev kvantificeret i et Qubit 4.0-fluorometer. Ekstraheret DNA blev fordelt i flere 1,5 ml Eppendorf-rør og opbevaret ved -20 °C, indtil det blev brugt til kvantitativ PCR (qPCR). Alt arbejdet blev udført under sterile forhold i en flowbænk.

DNA-ekstraktion fra begroningsplader

Indtil DNA-ekstraktion blev begroningspladerne opbevaret i plastikbokse med 70 % ethanol. DNA blev ekstraheret fra over- og underside separat. Begroningsplader blev forsigtigt fjernet fra plastikboksen. Fra fem tilfældige steder på overfladen af hver begroningsplade blev materialet skrabet af og opsamlet i et 50 ml rør. Prøverne blev centrifugeret ved 3000 rpm i 5 minutter for at fjerne mest muligt ethanol. Derefter blev prøverne lufttørret i 1-2 timer ved stuetemperatur for at afdampe de sidste rester af ethanol. Efterfølgende blev prøverne opbevaret ved -20 °C. Ved selve DNA-ekstraktionen blev prøverne frysetørret i 24 timer og derefter formalet i en Bead Beater (Bead Ruptor Elite, Omni International) med 10-15 metal beads (ø 2,4 mm) i 3 gange 30 sekunder ved 4 m sek⁻¹. Efter formalingen blev DNA ekstraheret fra 250 mg prøve ved hjælp af DNeasy PowerLyzer PowerSoil kit (QIAGEN) ifølge producentens protokol. DNA-koncentrationen blev kvantificeret i et Qubit 4.0-fluorometer. Ekstraheret DNA blev fordelt i flere 1,5 ml Eppendorf-rør og opbevaret ved -20 °C, indtil det blev brugt til kvantitativ PCR. Alt arbejdet blev udført under sterile forhold i en flowbænk.

2.3 PCR af ikke-hjemmehørende arter

DNA eller deres PCR-produkter fra de ikke-hjemmehørende arter blev PCR amplificeret med de specifikke primere angivet i Andersen et al (2018) og Knudsen et al. (2018 og 2020b, 2022). Se Bilag 2 for detaljer om anvendte detektionssystemer. En PCR-reaktionsblanding på 25 µl indeholdt 4 µl af DNA-template (1-10 ng/ul), 0,5 µl af hhv forward og reverse primere (10 µM stamopløsning), 14,25 µl vand og 5 µl PCRBio HiFi-buffer med PCR BIO HiFi Polymerase (2U/µl) (PCR Biosystems). PCR-cyklus bestod af en indledende denaturering ved 95 °C i 1 minut efterfulgt af 35 cykler på 95 °C i 30 sek, 60 °C i 45 sek og 72 °C 60 sek og final elongation ved 72 °C i 5 min. Succesfuld amplifikation blev testet ved kørsel af 1,5 % agarosegel før PCR-produkterne blev oprenset ved hjælp af et QIAquick PCR-purification Kit (Qiagen, katalognummer 28104). For PCR-produkter, der er mindre end 100 bp, blev Gel- og PCR-oprensningsskolonne (Macherey-Nagel) anvendt.

2.4 Kvantitativ PCR

Den kvantitative PCR (qPCR) til detektion af ikke-hjemmehørende arter fulgte protokollen og detektionssystemerne i Andersen et al (2018) og Knudsen et al. (2018, 2020b og 2022). TaqMan qPCR blev brugt til påvisning og kvantificering af kopiantal af ikke-hjemmehørende arter i eDNA fra vandprøver og begroningsplader. Før detektionen med qPCR blev alle TaqMan-baserede detektionssystemer kontrolleret for deres specificitet ved qPCR amplifikation af 10 x serielle fortyndinger af arternes DNA eller PCR-produkter. Ligeledes blev Applied Biosystems TaqMan Environmental Mastermix 2.0 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, United States) sammenlignet med Bio Probe Mix LoRox (PCR Biosystems) i reaktioner med eDNA. Da sidstnævnte udviste samme følsomhed og er langt billigere, blev dette anvendt fremadrettet. Alle PCR amplifikationer blev udført i et BioRAD Real-time PCR-system (Life Technologies) med mikrotiterplader med 96 brønde. Primere og prober, der tidligere er beskrevet og udviklet af Andersen et al. (2018) og Knudsen et al. (2020b og 2022), blev anvendt til påvisning og kvantificering af kopiantal af 24 ikke-hjemmehørende arter (Bilag 1). Totalvolumen i PCR-reaktionen var 25 µl, bestående af 3 µl eDNA template (1-10 ng µl⁻¹), 1 µl af henholdsvis forward og reverse primer (10 µM stamopløsning), 0,5 µl probe (5 µM stamopløsning), 7 µl sterilt vand og 12,5 µl qPCRBio Probe Mix Lo Rox-Cobio (PCR Biosystems). I negative kontrolprøver var DNA template erstattet med sterilt vand. Til standardrækker blev anvendt 3 µl 10x serielle fortyndinger af ekstraheret DNA eller PCR-produkter. qPCR reaktionen bestod af en indledende denaturering ved 95 °C i 10 minutter efterfulgt af 50 cykler ved 95 °C i 30 s og 60 °C i 45 s. Der blev anvendt tre tekniske replikater for hver prøve. Indledningsvist blev ikke-hjemmehørende arter detekteret ved qPCR med ekstraheret DNA som positive kontroller og til standardrækker.

Til beregning af kopiantal blev serielle fortyndinger af oprensede PCR-produkter anvendt som positive kontroller og til standardrækker. Disse blev beregnet ved hjælp af plots af kritisk tærskel (Ct) versus logaritmen af en ti gange seriel fortynding af PCR-produkter. DNA-genkopiantal blev beregnet ud fra standardrækken af Bio-Rad CFX-manager 3.1 (Bio-Rad, Hercules, USA) ved hjælp af DNA-koncentrationer af de serielle fortyndinger af PCR-produkter.

Sikkerheden i detektionen af ikke-hjemmehørende arter med qPCR kan estimeres ud fra standardrækken og Ct værdier (Cycle threshold value: værdi over baggrundsstøj, dvs hvor der er PCR-produkt). Limit of Detection (LOD) er det laveste fortyndingsniveau i standardrækken med positivt signal (der gav produkt) i minimum en ud af tre tekniske replikater, og Limit of Quantification (LOQ) er det laveste fortyndingsniveau med positivt signal i alle tre tekniske replikater (Knudsen et al. 2020). For hver enkelt standardrække beregnes LOD og LOQ, hvorefter miljøprøvernes Ct værdier evalueres ift. disse værdier:

- Hvid baggrund: alle tre tekniske replikater uden PCR produkt
- **Gul** baggrund: 1-3 replikater med produkt under LOD og dermed svage spor af target DNA
- **Orange** baggrund: 1-3 replikater med produkt over LOD men under LOQ og dermed svage spor af target DNA
- **Rød** baggrund: 1-2 replikater over LOQ og dermed target DNA detekteret

- **Mørkegrå** baggrund: alle tre replikater over LOQ og dermed høje koncentrationer af target DNA med mulighed for kvantificering.

De orange, røde og mørkegrå celler er altså de detektioner med højst sikkerhed, og disse detektioner er talt som positiv forekomst, mens fund med gul baggrund er mindre sikre og ikke er talt med som positiv forekomst (ifølge Knudsen et al. 2020a).

Vi analyserede først alle prøver med standardrække baseret på direkte ekstraheret DNA fra målorganismene. De positive prøver (hvor der blev fundet PCR produkt) blev derefter analyseret med standardrække baseret på PCR produkter som positive kontroller og til estimering af kopiantal. Derved er de positive prøver blevet analyseret to gange.

2.5 Artsregistrering

Arter er medtaget som ikke-hjemmehørende, hvis de optræder på den danske "NIS"-bruttoliste, som omfatter både ikke-hjemmehørende og kryptogene arter. Desuden har vi konsulteret internationale lister over ikke-hjemmehørende arter for nye fund observeret ved den konventionelle prøvetagning ([World Register of Introduced Marine Species \(WRiMS\)](#)). For alle ikke-hjemmehørende (både registreret ved konventionelle metoder og qPCR) har vi anvendt nyeste taksonomiske litteratur og klassifikation ift. WORMS for at anvende aktuelle artsnavn.

For arter observeret ved brug af qPCR har vi accepteret disse som forekommende, når en ikke-hjemmehørende art blev registreret i en eller flere af de tekniske replikater med en værdi over LOD, også selvom prøven var under LOQ (Knudsen et al. 2020). I enkelte tilfælde var der uoverensstemmelse mellem detektion i første qPCR med positive kontrolprøver af vævs-DNA i forhold til ingen detektion i den anden qPCR med oprensede PCR-produkter som positiv kontrol. I disse få tilfælde blev værdier ved første PCR medtaget.

3 Resultater

Der er i alt observeret 24 ikke-hjemmehørende arter, ved undersøgelse af de seks havne, som indgik i projektet. Heraf to nye observationer, som aldrig før er set i Danmark. De to nye arter er *Schizoporella japonica* og *Sinelobus vanhaareni*.

Følgende resultat afsnit er opdelt i to hovedsektioner. Afsnit 3.1 omhandler antallet af ikke-hjemmehørende arter fundet i hver havn ved hver indsamlingsmetode. Dette skaber et godt sammenligningsgrundlag på tværs af havne og metoder i forhold til hvor mange ikke-hjemmehørende arter, der er observeret i projektet. Afsnit 3.2 inkluderer en mere detaljeret beskrivelse af de enkelte arter samt i hvilke havne de blev fundet.

Anvendelse af samme indsamlingsdesign og brug af metoder gør, at resultaterne kan sammenlignes direkte havnene imellem. Der er dog få undtagelser som gør sig gældende:

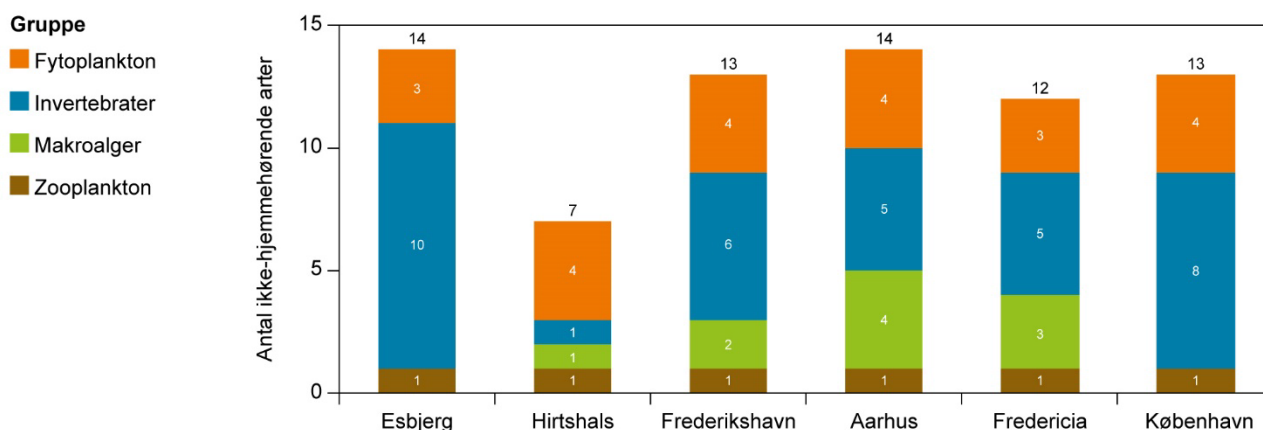
- På station **A** og **B** i Hirtshals var havbunden meget stenet, hvilket besværliggjorde indsamling af sedimentprøver med Van Veen Grab. Prøven på Station A blev kasseret. Prøven på Station B blev analyseret, men indeholdt et meget lille sedimentvolumen.
- På station **A** og **B** i Fredericia, station **C** i København og Station **A** i Hirtshals manglede begroningspladerne ved efterårets indsamling.

Disse fem stationer kan derfor være underrepræsenteret i forhold til antallet af ikke-hjemmehørende arter observeret.

3.1 Antal ikke-hjemmehørende arter

Antal per havn

Samlet set var Esbjerg og Aarhus Havn de havne med flest observationer af ikke-hjemmehørende arter (14 i hver havn) og Hirtshals Havn den med færrest (7). I Frederikshavn Havn, Fredericia Havn og Københavns Havn blev der fundet hhv. 13, 12 og 13 ikke-hjemmehørende arter (Figur 3.1). Hirtshals Havn skiller sig ud ved, at der er observeret noget lavere antal ikke-hjemmehørende arter end i de 5 andre havne. Der var udfordringer med indsamling af sedimentprøver på to stationer i Hirtshals Havn, som umiddelbart ville kunne forklare det lave antal observationer af ikke-hjemmehørende arter. Det samlede antal arter (ikke-hjemmehørende og hjemmehørende) fundet ved visuel gennemgang af prøverne var 67 i Hirtshals Havn, hvilket var på højde med de andre havne. Det lavere antal ikke-hjemmehørende arter i Hirtshals Havn lader således ikke til at skyldes utilstrækkelig konventionel prøvetagning. Der blev dog ikke fundet nogle ikke-hjemmehørende arter ved de to andre konventionelle indsamlingsmetoder, begroningsplader og skrabeprøver, hvilket derfor indikerer, at der reelt var færre ikke-hjemmehørende arter i Hirtshals Havn.



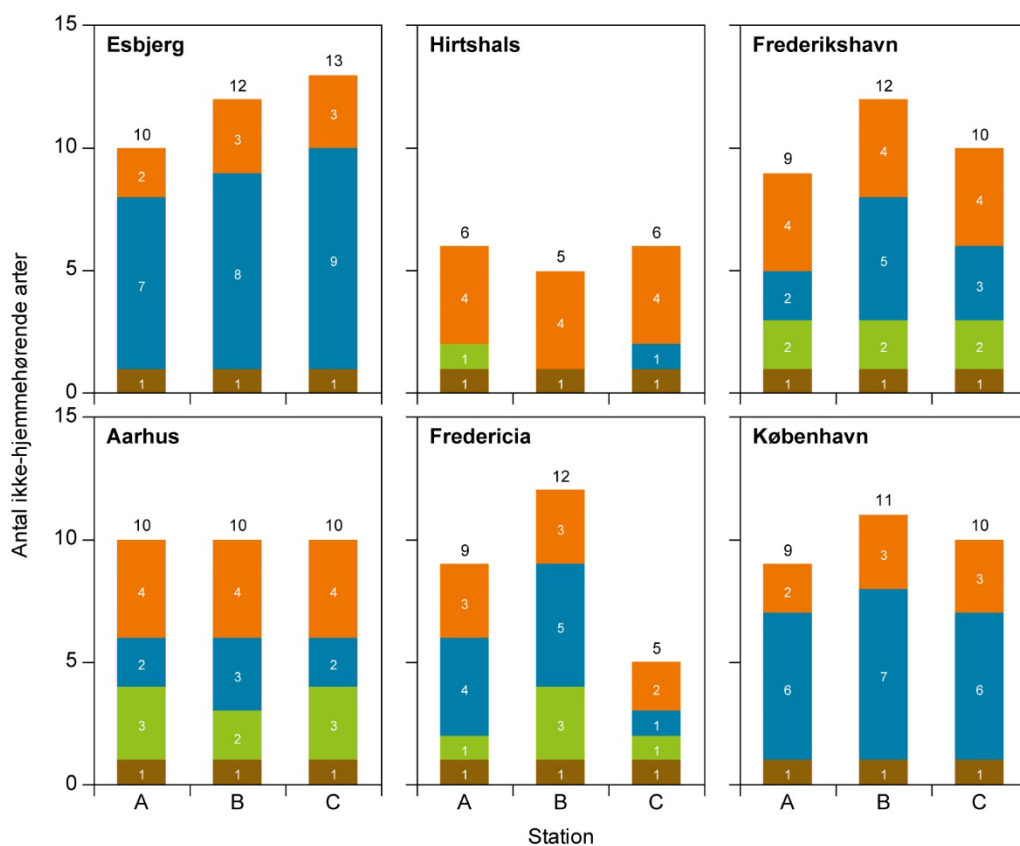
Figur 3.1. Det samlede antal ikke-hjemmehørende arter fundet på alle tre stationer i hver havn i både juni og september/oktober.

Antal per gruppe

Vi har opdelt de ikke-hjemmehørende arter i fire grupper; fytoplankton, invertebrater, makroalger, og zooplankton. Fordeling i antal ikke-hjemmehørende arter baseret på grupperne varierer havnene imellem. Makroalger udgør f.eks. 29 % i Aarhus, hvorimod gruppen slet ikke er repræsenteret i Esbjerg og København. Invertebrater udgør 71 % i Esbjerg men kun 14 % i Hirtshals. Det lave antal invertebrater observeret i Hirtshals Havn hænger igen sammen med, at indsamlingen af sedimentprøverne på to stationer i denne havn var besværliggjort af stenet bund både ved juni og september/oktober indsamlingen, hvorved invertebrater i den bløde bund er underrepræsenteret.

Antal per station

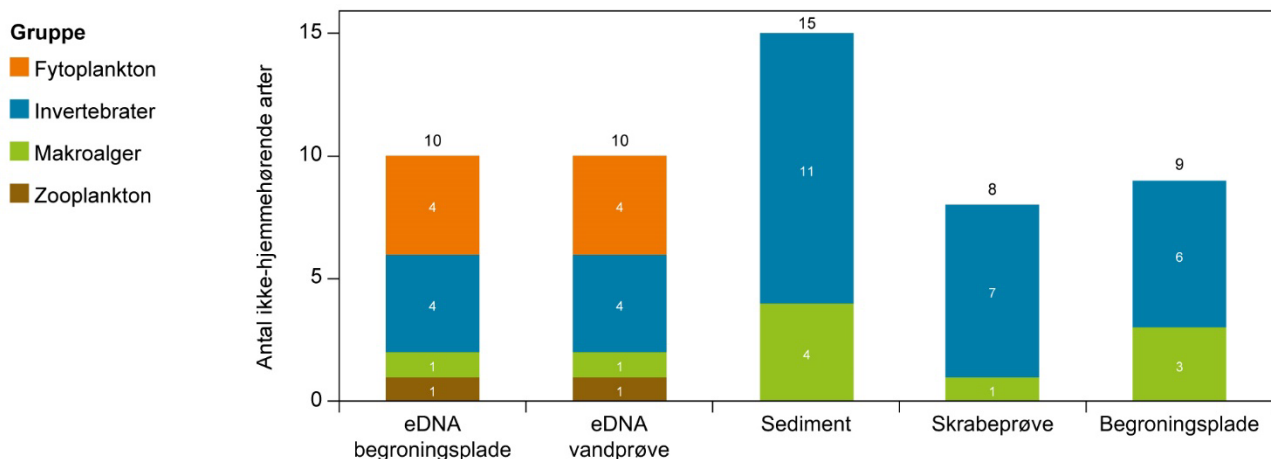
Indenfor hver havn fandt vi generelt en lav variation i antallet af ikke-hjemmehørende arter stationerne imellem (Figur 3.2). En undtagelse var Fredericia Havn, hvor antallet af ikke-hjemmehørende arter varierede mellem 5 og 12 per station. Det er værd igen at bemærke, at der på ingen stationer i Hirtshals Havn blev fundet ikke-hjemmehørende arter vha. de konventionelle metoder. Alle blev fundet vha. eDNA-teknikken, og disse arter er primært fyto- og zooplankton (Tabel 3.1), dvs. grupper som de konventionelle metoder ikke adresserer.



Figur 3.2. Det samlede antal af ikke-hjemmehørende arter fundet på hver station i både juni og september/oktober i de seks havne undersøgt i projektet.

Antal per metode

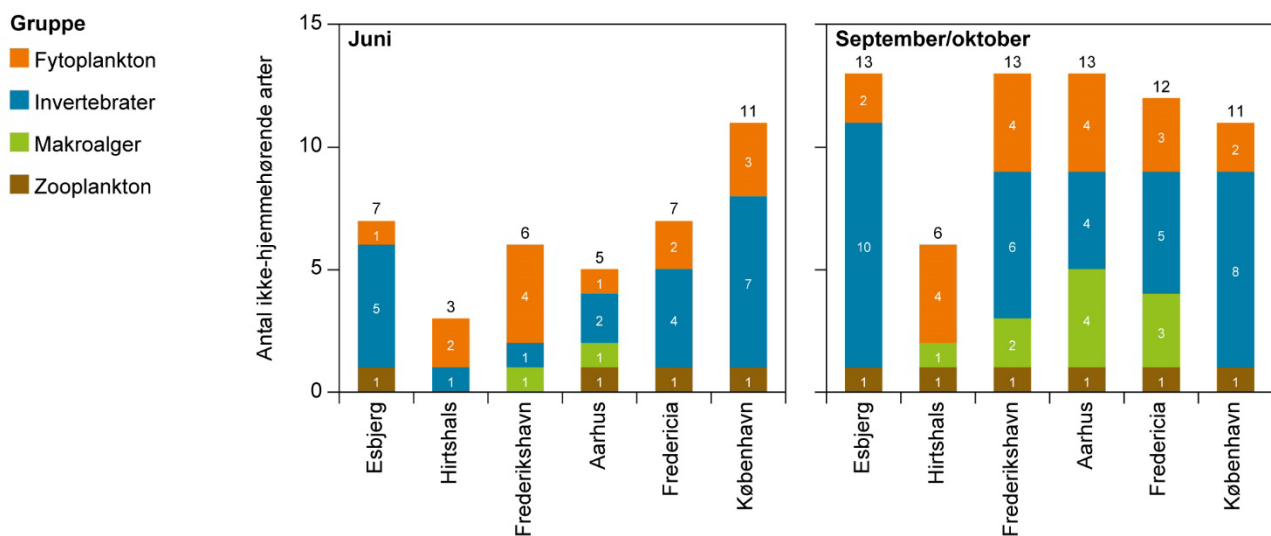
I projektet er der blevet anvendt fem indsamlingsmetoder, hvor to baserer sig på molekylær identifikation (eDNA fra begroningsplader og eDNA fra vandprøver), og tre baserer sig på konventionelle metoder (sediment, skrabeprøve og begroningsplader). Antallet af ikke-hjemmehørende arter var højst i sedimentprøverne, hvor der i alt blev fundet 15 ikke-hjemmehørende arter. I skrabeprøverne blev der observeret otte ikke-hjemmehørende arter, hvilket er ca. halvdelen af, hvad der blev fundet i sedimentprøverne. For de resterende metoder fordeler antal af observationer sig med 10, 10 og 9 ikke-hjemmehørende arter i hhv. eDNA begroningsplade, eDNA vandprøve og begroningsplader (Figur 3.3). Opdelt mellem eDNA og konventionelle metoder fandt vi samlet 11 arter med eDNA og 17 med konventionelle metoder. Af disse fandt vi fire arter med begge metoder.



Figur 3.3. Det samlede antal ikke-hjemmehørende arter fundet ved hver indsamlingsmetode i projektet. Vær opmærksom på, at de to molekylære metoder (eDNA begroningsplade og eDNA vandprøve) kun analyserer for 24 foruddefinerede arter, og at f.eks. fisk, zoo- og fytoplankton ikke indgår i de konventionelle metoder (sediment, skrabeprøve og begroningsplade).

Sæsonvariation

I alle havne, på nær Københavns Havn, blev der fundet flere ikke-hjemmehørende arter ved indsamlingen i september/oktober end ved indsamlingen i juni (Figur 3.4). I Københavns Havn blev det samme antal observeret i både juni og september/oktober.



Figur 3.4. Det samlede antal ikke-hjemmehørende arter observeret i hhv. juni og september/oktober. Vær opmærksom på at de to metoder, eDNA begroningsplader og begroningsplader, kun blev indsamlet i efteråret. Disse to metoder forklarer dog kun omkring 13 % af den gennemsnitlige forøgelse på 89 % i antallet af observerede ikke-hjemmehørende arter ved indsamling i hhv. juni og september/oktober.

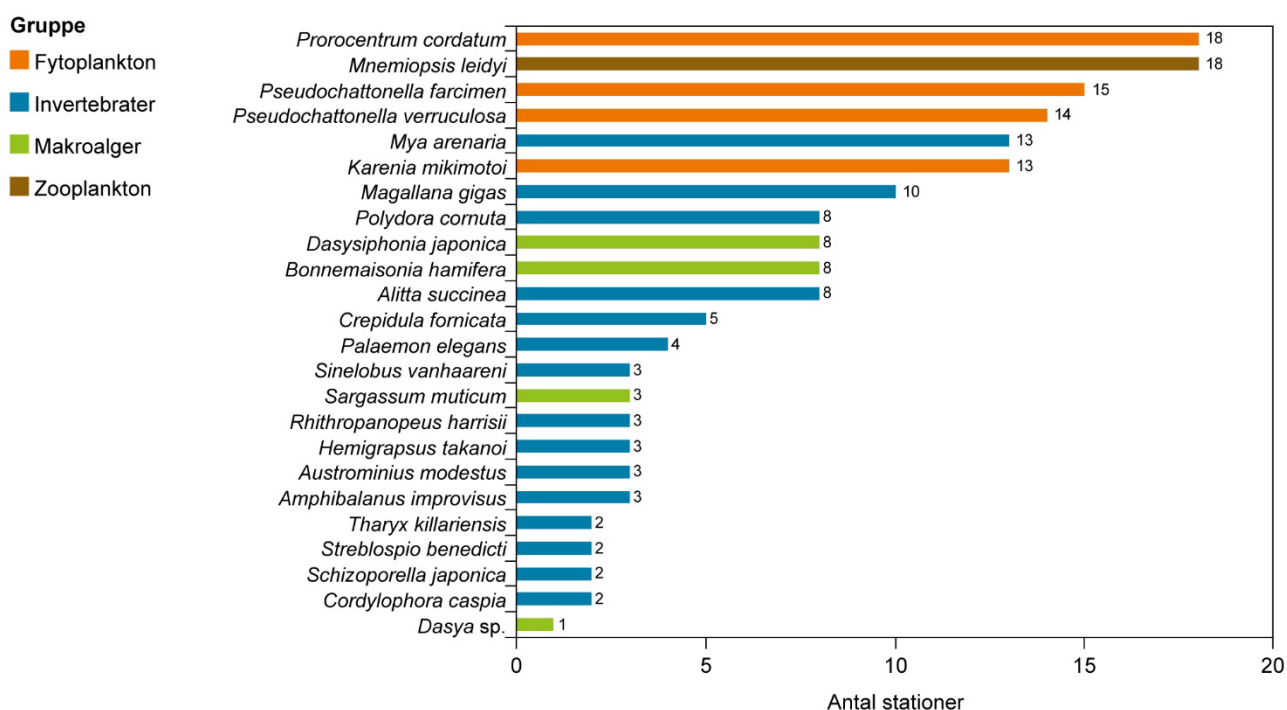
Det er dog ikke nødvendigvis de samme arter, der bliver fundet i juni og september/oktober i hver havn. Det betyder, at få arter ikke ville blive observeret, hvis man f.eks. kun indsamlede i september/oktober. Helt præcist ville man ikke finde *Pseudochattonella verruculosa* i Esbjerg Havn, *Mya arenaria* i Hirtshals Havn, *Alitta succinea* i Aarhus Havn og *Pseudochattonella verruculosa* og *P. farcimen* i Københavns Havn. I Frederikshavn og Fredericia Havn, blev alle arter observeret i juni også observeret ved september/oktober indsamlingen. Da begroningsplader kun bliver indsamlet og analyseret i september/oktober, er det ikke muligt at sammenligne detekterede arter på begroningsplader med juni indsamlingen.

Den gennemsnitlige forøgelse for alle seks havne af observationer af ikke-hjemmehørende arter er 89 % ved sammenligning af september/oktober i forhold til indsamling i juni. En del af grunden til det højere antal observationer i efteråret er som tidligere nævnt, at eDNA begroningsplader og begroningsplader kun bliver medtaget i analysen for september/oktober. Hvis man fjerner disse to metoder fra analysen, bliver der stadig fundet 76 % flere arter i alle havne ved indsamling i september/oktober i forhold til indsamling i juni.

3.2 Beskrivelser af observerede ikke-hjemmehørende arter

Arternes fordeling i havnene

I projektet blev der samlet observeret 24 ikke-hjemmehørende arter på de i alt 18 undersøgte stationer (tre stationer i hver af de seks havne). Udbredelsen af disse 24 arter på 18 stationer fremgår af Figur 3.5. Hvis man tager både juni og september/oktober indsamlingen i betragtning, er fytoplanktonarten *Prorocentrum cordatum* samt zooplanktonarten *Mnemiopsis leidyi* fundet på alle 18 stationer. Den mindst udbredte ikke-hjemmehørende-art er makroalgen *Dasya sp.*, som kun er fundet på én station.

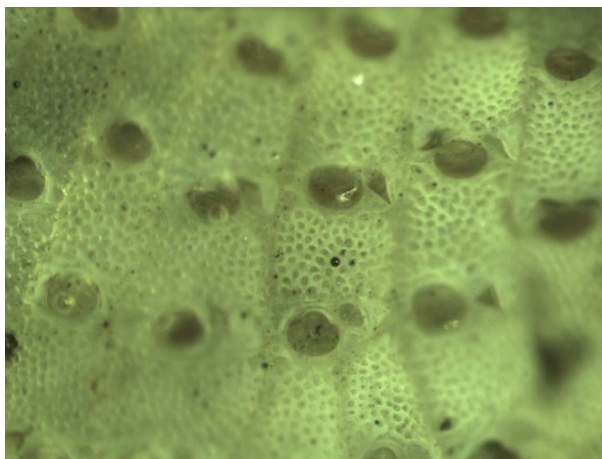


Figur 3.5. Antal stationer hvor de 24 ikke-hjemmehørende arter blev observeret. Der indgik i alt 18 stationer i projektet; tre stationer i hver af de seks havne.

Korte artsbeskrivelser

To nye arter for Danske farvande blev observeret i projektet. Den ene er mosdyret *Schizoporella japonica*, fra det nordøstlige Stillehav, som blev fundet i Esbjerg Havn (Figur 3.6). Den kan danne store orange belægninger på skibe og sten, og den er klassificeret som invasiv. Arten har andre steder spredt sig meget på kort tid og danner store (tykke) belægninger, der overgror andre arter, og derved eksempelvis kan kvæle muslinger (Risk Assessment, 2020).

Figur 3.6. Mosdyret *Schizoporella japonica* fundet i Esbjerg Havn, 2021. Dette er første observation i Danmark. Foto: Helle Buur



Den anden nye art, der er registreret, er en klotanglus *Sinelobus vanhaareni* (Figur 3.7). Den blev fundet i Københavns Havn. Ifølge Kathe Jensen, KU skulle arten allerede være set i Københavns Havn i 2019 af en specialestuderende - dette fund er dog ikke endeligt bekræftet. Arten blev først registreret i Europa i 2006, og undersøgelser fra Østersøen viser, at den har spredt sig langs de finske kyster og optræder i forskellige typer af habitater, så som ålegræsbede, tangskove og i havne/marinaer. Man ved ikke hvor den har sin oprindelse og kun lidt om spredningen til Europa samt mulige invasive effekter (Gagnon et al., 2022).

Figur 3.7. Krebsdyret Klotanglus (*Sinelobus vanhaareni*) fundet i Københavns Havn, 2021. Dette er første bekræftede observation i Danmark. Foto: Helle Buur.



Der optræder i alt seks forskellige ikke-hjemmehørende krebsdyr i havnene. Rur optræder ofte talrigt på sten, muslinger og ikke mindst som uønskede begroinger på skibe. Rurarterne er svære at artsbestemme, og det har kun været muligt med en sikker artsbestemmelse i Esbjerg Havn, hvor der er fundet to ikke-hjemmehørende arter. Rurarten *Amphibalanus improvisus*, også kendt som brakvandsrur, har i over 200 år været en del af den danske fauna og findes i alle danske farvandsområder (Jensen, 2015). En anden rurart som dukkede op i Esbjerg Havn var *Austrominius modestus*, kaldet Firepladet rur på dansk. Arten stammer fra New Zealand og ankom til Europa under 2. Verdenskrig. Den ses nu talrigt i bl.a. Vadehavsområdet. Den beskrives som invasiv og den har en meget bred temperatur- og salinitetstolerance, hurtig vækst, høj reproduktion og en høj tolerance for uklart vand (CABI-Invasive species compendium -*Austrominius modestus*).

Blandt krebsdyrene ses også en velkendt art for de fleste, nemlig *Palaemon elegans*, tangrejen. Tangrejen er opført på listen over ikke-hjemmehørende arter, men er naturligt hjemmehørende langs de europæiske Atlanterhavskyster

og i Middelhavet. I Østersøområdet har den dog ikke tidligere været til stede, og her konkurrerer den bl.a. med *Palaemon adspersus*, Roskilderejen. Det er værd at bemærke, at der er usikkerhed om, hvorvidt *P. elegans* skal behandles som en ikke-hjemmehørende art, da spredningsvektoren for introduktion af arten er ukendt. Det er således uklart, om spredningen af *P. elegans* skal betragtes som en naturlig ekspansion af dens udbredelsesområde fra Atlanterhavskysterne, som beriger vores lokale fauna (CABI-Invasive species compendium -*Palaemon elegans*).

Foruden rur og rejer, optræder der også to ikke-hjemmehørende krabber. *Hemigrapsus takanoi*, Pensel-klippekrabbe og *Rhithropanopeus harrisi*, Østamerikansk brakvandskrabbe (Figur 3.8). *Hemigrapsus*-krabben blev fundet i Esbjerg Havn, og den lille krabbe (maks. 3 cm) er kendt fra området, da de er registeret i stort antal på de nærliggende Stillehavsøstersbanker. Første registrerede fund af *Hemigrapsus*-krabber var på Rømø i 2011 (Tendal & Jensen, 2015).

Den Østamerikanske brakvandskrabbe, *Rhithropanopeus harrisi*, er endnu mindre (ca. 1,5 cm), og den blev fundet i Københavns Havn i nærværende projekt. Forud for indsamlingen blev tre eksemplarer også indsamlet af en medarbejder ved Amager Naturcenter, og identifikationen verificeret af DCE. Det var også i Københavns Havn, at den blev registreret første gang i 1953, og siden 2008 er den begyndt at sprede sig yderligere til det sydøstlige Danmark. Hvordan de tre krabbearter påvirker eksempelvis den hjemmehørende danske strandkrabbe og fødekæderne generelt, er endnu meget lidt belyst (Faktaark invasive arter, 2022).

Figur 3.8. Østamerikansk brakvandskrabbe (*Rhithropanopeus harrisi*) fundet i Københavns Havn.



Der blev også registeret to store markante muslingearter, nemlig den næsten hjemmehørende *Mya arenaria*, Almindelig sandmusling, som har været en del af den danske fauna siden 1300-tallet og som af mange, ikke opfattes som en ikke-hjemmehørende art. Den er udbredt i alle danske farvande (Jensen, 2010) og blev registreret i samtlige seks havne undersøgt i projektet.

Den anden musling er *Magallana gigas*, Stillehavsøsters, som efterhånden også har spredt sig til store dele af de danske farvande. I projektet blev den fundet i samtlige havne med undtagelse af Hirtshals Havn. Stillehavsøsters er en velkendt bioingeniør med stor spredningsevne og klassificeret som invasiv, da den bl.a. konkurrerer med den Europæiske østers og Blåmuslingen om plads og føde. Den vokser hurtigere, gyder flere æg og har ikke naturlige fjender. Et studie viste, at stillehavsøsters havde færre arter tilknyttet end den europæiske østers, hvilket potentielt kunne betyde et fald i biodiversiteten (Tendal & Jensen, 2015).

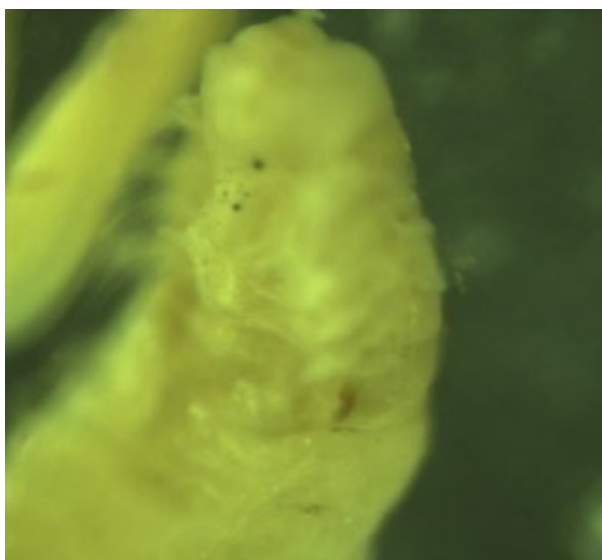
Foruden muslingerne blev der også registeret *Crepidula fornicata*, tøffel-snegl, i Esbjerg Havn og i Frederikshavn Havn. Den specielle snegl med den tynde hvide plade inden for munden er kommet til Danmark med østers-yngel i 1934. Arten har bredt sig til alle danske farvande med undtagelse af østersområdet, hvor saliniteten er for lav. Den kan lokalt danne meget store bestande (Faktaark invasive arter, 2022).

Blandt de registrerede ikke-hjemmehørende arter optræder også fire havbørsteorme, som man klassificerer som kryptogene, dvs. oprindelse ukendt (Miljøstyrelsen, 2022). Det drejer sig om arterne *Alitta succinea* (Figur 3.9), *Polydora cornuta* (Figur 3.10), *Streblospio benedicti* (Figur 3.11) og *Tharyx killariensis* (Figur 3.12). *Alitta succinea* blev registeret i Frederikshavns Havn, Aarhus Havn, Fredericia Havn og Københavns Havn. *Tharyx killariensis* og *Streblospio shrubsolii* blev fundet i henholdsvis Fredericia Havn og Københavns Havn. *Polydora cornuta* var til stede i samtlige havne med undtagelse af Hirtshals Havn.

Figur 3.9. *Alitta succinea* fundet i Frederikshavns Havn, Aarhus Havn, Fredericia Havn og Københavns Havn. Foto: Helle Buur.



Figur 3.10. *Polydora cornuta* fundet i alle havne på nær Hirtshals. Foto: Helle Buur.



Figur 3.11. *Streblospio benedicti* fundet i Københavns Havn. Foto: Helle Buur

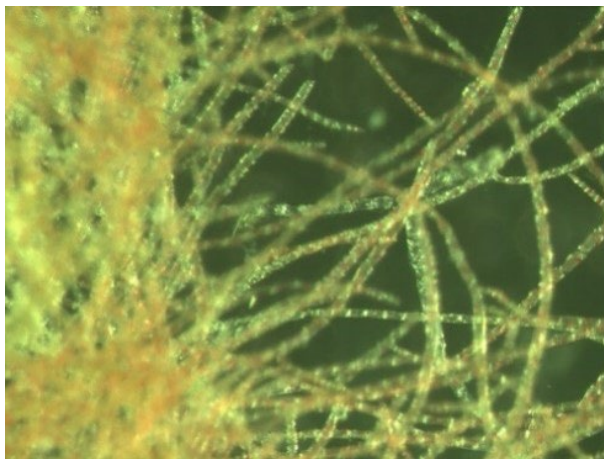


Figur 3.12. *Tharyx killariensis* fundet i Fredericia Havn.

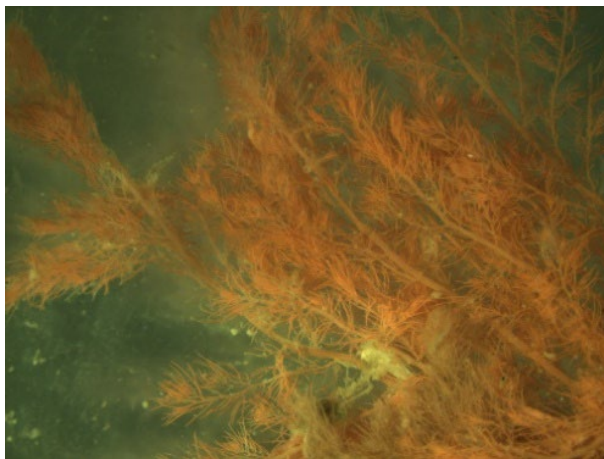


Der blev registreret fem arter af makroalger, tre rødalger og to brunalger. *Bonnemaisonia hamifera*, rødtot-algen, (Figur 3.13) danner fine enradede tråde og bliver kun 1-2 cm. Den vokser bl.a. på andre makroalger og sten. Arten er indvandret til Europa i 1890, og de første fund i Danmark var i Limfjorden i 1901 (Nielsen et al., 2019). I forbindelse med nærværende projekt blev arten registreret i Hirtshals Havn, Frederikshavn Havn, Aarhus Havn og Fredericia Havn. *Dasysiphonia japonica*, Japansk dusklyng, (Figur 3.14) danner også fin-grenede røde buske, men bliver lidt større; op til 17 cm. Den invasive art stammer, som navnet indikerer, også fra Japan som mange af de andre arter, og har spredt sig i Nordatlanten. Algen blev fundet første gang i 2004 i Danmark, har spredt sig meget siden og blev i dette projekt fundet i havnene i Frederikshavn, Aarhus og Fredericia.

Figur 3.13. *Bonnemaisonia hamifera* fundet i Hirtshals Havn, Frederikshavn Havn og Aarhus Havn.



Figur 3.14. *Dasysiphonia japonica* fundet i Frederikshavn Havn, Aarhus Havn og Fredericia Havn. Figur 1.15. Foto: Helle Buur.



Figur 3.16. *Dasya* sp. fundet i Aarhus Havn. Foto: Steffen Lundsteen.



Slægten *Dasya*, dusktang (Figur 3.15), indeholder mange arter, som er svære at skelne. I Danmark referer Dusktang til *Dasya pedicellata* eller *Dasya baillovi-ana*, men i den hollandske del af Vadehavet optræder også *Dasya sessilis* (GiMaRIS, 2019). I nærværende projekt holder vi os derfor til slægtsnavnet *Dasya* sp. Alle *Dasya*-arterne er dog ikke-hjemmehørende i Danmark, og den første løst-drivende alge blev registreret i Storebælt i 1961 (Nielsen et al., 2019). Dusktang kan blive 25-75 cm, og den er meget karakteristisk med dens trinde hovedgrene og små hårs kud, der gør, at algen ser lodden ud (Nielsen et al., 2019). *Dasya* sp. blev fundet i Aarhus Havn.

Brunalgen *Sargassum muticum*, Butblæret sargassotang, der oprindeligt kommer fra Japan, spredte sig sydfra til Danmark. Arten har spredt sig til alle danske farvande med en saltholdighed højere end 16. Butblæret sargassotang kan fortrænge hjemmehørende makroalger (Stæhr et al., 2000). De specielle brunalger, Østerstyre, *Colpomenia peregrina*, er hule klumpede/sækformede alger. De anses for at være en invasiv art i Vesteuropa, og de er første gang registreret i Limfjorden i 1984 (Nielsen & Lundsteen, 2019).

Amerikansk ribbegøple, *Mnemiopsis leidyi*, der stammer fra den amerikanske østkyst, har siden 2005 bredt sig til alle danske farvande (Tendal et al., 2007). Den spiser bl.a. zooplankton og fiskelarver, og man mener, at den kan have stor effekt på det marine økosystem (og konkurrerer bl.a. med den almindelige vandmand, da arten vokser hurtigere og producerer flere æg (Petersen et al., 2018; Faktaark invasive arter, 2022)). Den Amerikanske ribbegøple blev registreret i samtlige havne i undersøgelsen.

De fire fytoplanktonarter *Karenia mikimotoi*, *Prorocentrum cordatum*, *Pseudochattonella farcimen* og *Pseudochattonella verruculosa* blev alle registreret i samtlige havne (med undtagelse af *Pseudochattonella farcimen*, som ikke blev fundet i Esbjerg Havn og *Karenia mikimotoi*, som ikke blev fundet i Fredericia Havn). Problematiske ikke-hjemmehørende fytoplanktonarter kan ofte danne store opblomstringer, der medfører misfarvet vand, og eksempelvis forøget dødelighed hos bunddyr, fisk og zooplankton (*Karenia mikimotoi*), skadevirkninger på bunddyr, måske som følge af iltsvindeffekter (*Prorocentrum cordatum*) eller fiskedød (*Pseudochattonella verruculosa* og *P. farcimen*). *K. mikimotoi* og *P. cordatum* blev registreret for første gang i Danske farvande i 1981 (Stæhr et al., 2020), og *P. verruculosa* i 1998 (Per Andersen, personlig kommentar).

En opsamling af, hvor alle de ikke-hjemmehørende arter er fundet og med hvilken metode, er vist i Tabel 3.1. Her angives desuden, hvor mange stationer hver art er fundet på i en given havn. Foruden de 17 ikke-hjemmehørende arter, identificerede vi vha. konventionelle metoder i alt 174 arter. Alle konventionelt bestemte arter er listet i Bilag 4.

Tabel 3.1. Alle ikke-hjemmehørende arter fundet i de seks havne fordelt på havn og indsamlingsmetode. Værdien (1-3) ud for hver art, angiver hvor mange stationer ud af tre, som arten er fundet på i hver havn. Bemærk at i Fredericia Havn blev kun 1 begroningsplade og i Hirtshals Havn 2 begroningsplader undersøgt.

Ikke-hjemmehørende art	Gruppe	Esbjerg Havn			Hirtshals Havn			Frederikshavn Havn			Aarhus Havn			Fredericia Havn			Københavns Havn			
		eDNA begroningsplade	eDNA vandprøve	Skrabeprøve Sediment	Begroningsplade	eDNA begroningsplade	eDNA vandprøve	Skrabeprøve Sediment	Begroningsplade	eDNA begroningsplade	eDNA vandprøve	Skrabeprøve Sediment	Begroningsplade	eDNA begroningsplade	eDNA vandprøve	Skrabeprøve Sediment	Begroningsplade	eDNA begroningsplade	eDNA vandprøve	Skrabeprøve Sediment
<i>Alitta succinea</i>	Invertebrater							2			1	1			2				3	
<i>Amphibalanus improvisus</i>	Invertebrater			3	3	3														
<i>Austrominius modestus</i>	Invertebrater			3	3	3														
<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	Makroalger						1		3	1	2		1	3	1	1			1	
<i>Cordylophora caspia</i>	Invertebrater	1											1							
<i>Crepidula fornicata</i>	Invertebrater				3							2								
<i>Dasya sp.</i>	Makroalger											1		1						
<i>Dasysiphonia japonica</i>	Makroalger							3		2			2	2	1		2	1	1	
<i>Hemigrapsus takanoi</i>	Invertebrater	1	3																	
<i>Karenia mikimotoi</i>	Fytoplankton		3			3			3	3			1	3					1	
<i>Magallana gigas</i>	Invertebrater	3	3		3				2				1	1			1		2	1
<i>Mnemiopsis leidyi</i>	Zooplankton	3	3			3			3	3			3	3		1	3		3	
<i>Mya arenaria</i>	Invertebrater	2	3				1		1				1	2	1		1	3	2	
<i>Palaemon elegans</i>	Invertebrater				1						1									2
<i>Polydora cornuta</i>	Invertebrater				2					1		1			1			2		1
<i>Prorocentrum cordatum</i>	Fytoplankton	1	3			3			1	3			3	2		1	3		2	3
<i>Pseudochattonella farcimen</i>	Fytoplankton					3			1	3			3	3			3			3
<i>Pseudochattonella verruculosa</i>	Fytoplankton		2			3			2	3			1	3			2			1
<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	Invertebrater																		1	2
<i>Sargassum muticum</i>	Makroalger												1				2			
<i>Schizoporella japonica</i>	Invertebrater			2																
<i>Sinelobus vanhaareni</i>	Invertebrater																		1	3
<i>Streblospio benedicti</i>	Invertebrater																		2	
<i>Tharyx killariensis</i>	Invertebrater															2				

3.3 Sammenligning af ikke-hjemmehørende arter med MONIS4 (baseline)

I forbindelse med MONIS4 projektet blev der i løbet af 2017 indsamlet prøver i 16 danske havne, hvoraf de seks, som undersøges her, også indgik. I de følgende seks tabeller sammenlignes hver enkelt havn (Esbjerg Havn Tabel 3.2, Hirtshals Havn Tabel 3.3, Frederikshavn Havn Tabel 3.4, Aarhus Havn Tabel 3.5, Fredericia Havn Tabel 3.6 og Københavns Havn Tabel 3.7) ift. antallet af observationer af ikke-hjemmehørende arter mellem MONIS4 og nærværende undersøgelse. Bemærk at i MONIS4 blev Esbjerg og Aarhus Havn undersøgt mere intensivt end de resterende havne i projektet, og det forventes derfor, at MONIS4 finder flere ikke-hjemmehørende arter i de to havne end de resterende, som blev undersøgt med et reduceret program. Yderligere skal det bemærkes, at artsnavne fra MONIS4 projektet, brugt til sammenligningen i dette afsnit, er opdateret med nyeste accepterede artsnavne i WORMS.

Esbjerg Havn

Tabel 3.2. Antal ikke-hjemmehørende arter fundet i Esbjerg Havn i hhv. nærværende projekt (Havneovervågning 2021) og en baseline undersøgelse fra 2017 (MONIS4).

Art	Havneovervågning 2021	MONIS4 2017
<i>Prorocentrum cordatum</i>	x	x
<i>Magallana gigas</i>	x	x
<i>Mya arenaria</i>	x	
<i>Mnemiopsis leidyi</i>	x	x
<i>Hemigrapsus takanoi</i>	x	
<i>Pseudochattonella verruculosa</i>	x	x
<i>Karenia mikimotoi</i>	x	x
<i>Cordylophora caspia</i>	x	
<i>Amphibalanus improvisus</i>	x	x
<i>Austrominius modestus</i>	x	x
<i>Schizoporella japonica</i>	x	
<i>Palaemon elegans</i>	x	
<i>Crepidula fornicata</i>	x	x
<i>Polydora cornuta</i>	x	x
<i>Acartia (Acanthacartia) tonsa</i>		x
<i>Alitta succinea</i>		x
<i>Diadumene lineata</i>		x
<i>Molgula manhattensis</i>		x
<i>Caprella mutica</i>		x
<i>Melanothamnus harveyi</i>		x
<i>Streblospio benedicti</i>		x
<i>Hypereteone heteropoda</i>		x
<i>Ensis directus</i>		x
<i>Styela clava</i>		x
Antal ikke-hjemmehørende arter i alt	14	19

Hirtshals Havn

Tabel 3.3. Antal ikke-hjemmehørende arter fundet i Hirtshals Havn i hhv. nærværende projekt (Havneovervågning 2021) og en baseline undersøgelse fra 2017 (MONIS4).

Art	Havneovervågning 2021	MONIS4 2017
<i>Pseudochattonella farcimen</i>	x	
<i>Karenia mikimotoi</i>	x	
<i>Mya arenaria</i>	x	
<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	x	
<i>Prorocentrum cordatum</i>	x	
<i>Pseudochattonella verruculosa</i>	x	x
<i>Mnemiopsis leidyi</i>	x	x
Antal ikke-hjemmehørende arter i alt	7	2

Frederikshavn Havn

Tabel 3.4. Antal ikke-hjemmehørende arter fundet i Frederikshavn Havn i hhv. nærværende projekt (Havneovervågning 2021) og en baseline undersøgelse fra 2017 (MONIS4).

Art	Havneovervågning 2021	MONIS4 2017
<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	x	
<i>Prorocentrum cordatum</i>	x	
<i>Pseudochattonella farcimen</i>	x	x
<i>Pseudochattonella verruculosa</i>	x	
<i>Karenia mikimotoi</i>	x	
<i>Magallana gigas</i>	x	
<i>Mya arenaria</i>	x	x
<i>Mnemiopsis leidyi</i>	x	x
<i>Dasysiphonia japonica</i>	x	
<i>Alitta succinea</i>	x	
<i>Polydora cornuta</i>	x	
<i>Palaemon elegans</i>	x	
<i>Crepidula fornicata</i>	x	
Antal ikke-hjemmehørende arter i alt	13	3

Aarhus Havn

Tabel 3.5. Antal ikke-hjemmehørende arter fundet i Aarhus Havn i hhv. nærværende projekt (Havneovervågning 2021) og en baseline undersøgelse fra 2017 (MONIS4).

Art	Havneovervågning 2021	MONIS4 2017
<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	x	x
<i>Prorocentrum cordatum</i>	x	
<i>Pseudochattonella farcimen</i>	x	x
<i>Pseudochattonella verruculosa</i>	x	x
<i>Karenia mikimotoi</i>	x	
<i>Magallana gigas</i>	x	
<i>Mya arenaria</i>	x	
<i>Mnemiopsis leidyi</i>	x	x
<i>Cordylophora caspia</i>	x	
<i>Dasysiphonia japonica</i>	x	x
<i>Alitta succinea</i>	x	x
<i>Dasya sp.</i>	x	
<i>Sargassum muticum</i>	x	x
<i>Polydora cornuta</i>	x	
<i>Heterosigma akashiwo</i>		x
<i>Acartia (Acanthcartia) tonsa</i>		x
<i>Penilia avirostris</i>		x
<i>Polydora aggregata</i>		x
<i>Diadumene lineata</i>		x
<i>Molgula manhattensis</i>		x
<i>Amphibalanus improvisus</i>		x
<i>Austrominius modestus</i>		x
<i>Caprella mutica</i>		x
<i>Hemigrapsus sanguineus</i>		x
<i>Ensis directus</i>		x
Antal ikke-hjemmehørende arter i alt	14	18

Fredericia Havn

Tabel 3.6. Antal ikke-hjemmehørende arter fundet i Fredericia Havn i hhv. nærværende projekt (Havneovervågning 2021) og en baseline undersøgelse fra 2017 (MONIS4).

Art	Havneovervågning 2021	MONIS4 2017
<i>Prorocentrum cordatum</i>	x	
<i>Mya arenaria</i>	x	
<i>Mnemiopsis leidyi</i>	x	x
<i>Pseudochattonella farcimen</i>	x	x
<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	x	
<i>Pseudochattonella verruculosa</i>	x	
<i>Alitta succinea</i>	x	
<i>Polydora cornuta</i>	x	
<i>Tharyx killariensis</i>	x	
<i>Sargassum muticum</i>	x	
<i>Magallana gigas</i>	x	
<i>Dasysiphonia japonica</i>	x	
Antal ikke-hjemmehørende arter i alt	12	2

Københavns Havn

Tabel 3.7. Antal ikke-hjemmehørende arter fundet i Københavns Havn i hhv. nærværende projekt (Havneovervågning 2021) og en baseline undersøgelse fra 2017 (MONIS4).

Art	Havneovervågning 2021	MONIS4 2017
<i>Prorocentrum cordatum</i>	x	x
<i>Mya arenaria</i>	x	x
<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	x	
<i>Pseudochattonella farcimen</i>	x	x
<i>Pseudochattonella verruculosa</i>	x	
<i>Mnemiopsis leidyi</i>	x	x
<i>Karenia mikimotoi</i>	x	
<i>Magallana gigas</i>	x	x
<i>Sinelobus vanhaareni</i>	x	
<i>Alitta succinea</i>	x	
<i>Streblospio benedicti</i>	x	
<i>Palaemon elegans</i>	x	
<i>Polydora cornuta</i>	x	
<i>Neogobius melanostomus</i>		x
Antal ikke-hjemmehørende arter i alt	13	6

3.4 Sikkerhed i eDNA bestemmelserne

Sikkerheden ved eDNA bestemmelserne med qPCR metoden er afhængig af flere faktorer:

Det er helt essentielt, at detektionssystemet med specifikke primere og prober udelukkende rammer målorganismen, altså den specifikke ikke-hjemmehørende art. Ifølge Andersen et al., (2021) har der vist sig udfordringer med systemet for sortmundet kutling (*Neogobius melanostomus*), og ifølge aftale med MST er detektionssystemet for denne art derfor ikke medtaget i nærværende studie. Desuden er detektionssystemet ikke i stand til at adskille de tre stør-arter (*Acipenser* spp.) som hybridiserer (Knudsen et al., 2022; Andersen et al., 2021). Da der ikke blev detekteret eDNA spor fra disse fiskearter, påvirker det ikke fortolkningen af resultaterne fra denne overvågning.

Risikoen for såvel falsk positive som falsk negative er uundgåelig og bør altid håndteres. For at sikre imod falsk positive blev negative kontroller, hvor der ikke er tilsat eDNA, altid medtaget. Ved qPCR kørsler til kvantificering af kopiantal blev der endvidere inkluderet en eDNA prøve, som ved tidligere qPCR ikke viste tegn på forekomst af målorganismen. Ligeledes blev der altid medtaget positive kontroller, altså prøver med DNA fra mål-organismen, og disse var altid positive (gav produkt).

Indledningsvist blev alle eDNA prøver testet for DNA fra målorganismen i qPCR kørsler med med vævsDNA som positiv kontrol og standarddrække. Efterfølgende blev qPCR reaktionerne for eDNA prøver, der gav produkt i første kørsel, gentaget med kendte antal kopier af PCR produkter fra målorganismen som positiv kontrol og til standarddrækker. Derved kan antal kopier af target DNA kvantificeres, og dette vil blive afrapporteret i separat excel-fil til MST. Derudover kan denne forfinede analyse bidrage til at antyde sikkerheden i detektionen ud fra Limit of Detection (LOD), som er den laveste koncentration i standarddrækken med positivt signal (der gav produkt) i minimum en ud af tre tekniske replikater. Hertil kommer Limit of Quantification (LOQ), som er laveste koncentration med positivt signal i alle

tre tekniske replikater i standardrækken. Baseret på LOD og LOQ værdier bestemt ud fra standardrækken for hver enkelt qPCR kørsel blev resultaterne af eDNA prøverne evalueret som antal tekniske replikater: uden produkt, under LOD, over LOD og under LOQ, eller over LOQ (Andersen et al., 2022). Disse resultater er angivet i Bilag 3A-C for alle stationer i alle havne for hhv. A) vandprøver i juni, B) vandprøver i september og C) begroningsplader. For seks ikke-hjemmehørende arter var der udelukkende tale om fund med værdier under LOD, og disse seks arter er omtalt nedenunder, da vi vurderer, at det er hensigtsmæssigt at have opmærksomhed på disse DNA spor.

På baggrund af denne analyse af qPCR resultaterne kan det bemærkes at:

1. *Bonnemaisonia hamifera* er fundet i vandprøver i fire havne (Hirtshals, Frederikshavn, Aarhus og Fredericia) og på begroningsplader i to af disse havne: Frederikshavn og Aarhus.
2. *Karenia mikimotoi* er fundet i alle havne undtagen Fredericia Havn. På trods af at det er en fytoplankton, er arten fundet på begroningsplader i Frederikshavn og Aarhus Havn.
3. *Prorocentrum cordatum* blev fundet i alle havne i vandprøver og, på nær i Hirtshals Havn, også på alle begroningsplader.
4. *Pseudochattonella farcimen* blev fundet i vandprøver fra alle havne undtagen Esbjerg Havn, hvor der dog blev fundet spor af arten (<LOD) på to stationer i september.
5. *Pseudochattonella verriculosum* blev fundet i vandprøver i alle havne og på begroningsplader i Frederikshavn Havn og Aarhus Havn.
6. *Mnemiopsis leidyi* blev fundet i vandprøver i alle havne og på begroningsplader i alle havne undtagen Hirtshals Havn og Københavns Havn. I Hirtshals Havn var der dog spor af arten (<LOD) på en begroningsplade.
7. *Cordylophora caspia* blev fundet i vandprøver i Esbjerg Havn og Aarhus Havn på en enkelt station i hver havn ved indsamlingen i september. Desuden blev der fundet spor (<LOD) i Hirtshals Havn i en enkelt prøve i september. I juni blev der fundet spor (<LOD) på tre stationer i Aarhus Havn og en station Frederikshavn Havn.
8. *Magallana gigas* blev detekteret med stærkt eDNA signal i Esbjerg både i vandprøver både juni og september og på begroningsplader. Derudover blev arten detekteret i havnene i Frederikshavn, Aarhus og København, mens der blev fundet spor i Hirtshals og Fredericia Havn. I alle undersøgte havne er arten således detekteret, eller der er fundet spor af den.
9. *Mya arenaria* blev fundet i alle seks havne i både vandprøver og på begroningsplader; dog blev arten ikke fundet på begroningsplader i Hirtshals Havn og heller ikke i vandprøver i Frederikshavn Havn.
10. *Rhithropanopeus harrisii* er detekteret i Københavns Havn på en af begroningspladerne. Der er ikke fundet spor af arten i andre havne eller i vandprøver.
11. *Hemigrapsus takanoi* blev detekteret i Esbjerg Havn på begroningsplader og i vandprøver i juni og september. I september blev der desuden fundet spor af arten i Hirtshals og Aarhus Havn.
12. For seks ikke-hjemmehørende arter blev der udelukkende fundet spor af qPCR produkt (<LOD), og fundene er derfor ikke at betragte som positiv detektion. Fundene er markeret med gul baggrund i Bilag 3A-C. Detektionen kan skyldes tilførsel af DNA fra andre miljøer som ballast- eller spildevand, fiskeredskaber eller affald, eller med havstrømme, men kan også være en første indikation af, at arten faktisk kan forekomme. De fire arter er:
 - *Acipenser gueldenstaedtii*: der er fundet spor af på en begroningsplade i Aarhus Havn

- *Colpomenia perergrina*, østerstyv: der er fundet spor i vandprøver fra Københavns Havn i juni og september
- *Cyprinus caprio*, karpe: der er fundet spor i en enkelt vandprøve fra Fredericia i september. Karpe er en relativ sjælden ferskvandsfisk i Danmark, men er dog fundet langs kyster i Danmark (Naturbasen.dk)
- *Hemigrapsus sanguineus*, asiatisk strandkrabbe: der er fundet spor på både begroningsplader og vandprøver i Esbjerg Havn og Københavns Havn (Figur 3.16).

Figur 3.17. Asiatisk strandkrabbe (*Hemigrapsus sanguineus*) fundet spor af i Esbjerg Havn og Københavns Havn. Figur 1.18. Foto: Jean-Paul Vanderperren



- *Oncorhynchus mykiss*, regnbueørred: der er fundet spor i alle havne undtagen Frederikshavn Havn. Regnbueørred blev indført til opdræt i dambrug i Danmark i 1894, og i havet blev arten første gang registreret i 1899 (Carl & Rasmussen, 2019). Der er sidenhen jævnligt sket udslip af regnbueørred fra dambrug. Regnbueørreden kan konkurrere med den hjemmehørende ørred om føde og plads (Carl & Rasmussen, 2019).
- *Paralithodes camtschaticus*, kamtjatkakrabbe: der er fundet spor på en begroningsplade i Hirtshals Havn og i vandprøver fra Hirtshals Havn og Frederikshavn Havn.

4 Diskussion

4.1 Evaluering af metoder

Hurtig og effektiv detektion af nye ikke-hjemmehørende arter, enten introduceret direkte eller via sekundær spredning, er af stor vigtighed for myndighedernes evne til effektivt at reducere den videre spredning af ikke-hjemmehørende arter gennem udryddelse og forskellige kontrolforanstaltninger (Harvey et al., 2009). Konventionelle metoder, som fx anvendt her (skrab, bundprøver, begroningsplader), kan anses for at være tidskrævende (Muirhead et al., 2008), med resultater som er meget afhængige af den taksonomiske kyndighed (Fitzpatrick et al., 2009) og behæftet med store usikkerheder for arter med lave og meget spredte populationer, som jo typisk er tilfældet for nye etablerede ikke-hjemmehørende arter. Der er derfor et ønske om at fremme brugen af metoder som reducerer disse usikkerheder og fremmer en hurtig og sikker detektion af ikke-hjemmehørende arter (Harvey et al., 2009). Her er det blevet fremhævet, at DNA-teknikker har et stort potentiale (Dejean et al., 2012) især pga. en større sikkerhed ved artsbestemmelse, som gør det muligt at skelne mellem nært beslægtede arter og vurdere, om en art er kryptogen eller ikke-hjemmehørende.

Observation af en art ud fra et DNA baseret detektionssystem er dog ikke nødvendigvis en sikkerhed for, at arten faktisk eksisterer på den pågældende lokalitet, da DNA-materialet kan stamme fra fæces, afkastede celler, gameter og døde organismer, være transporteret til lokaliteten med vandstrømme afhængig af vejrlig og strømforhold, eller være introduceret i vandmiljøet fra andre kilder som spildevand eller ballastvand (Sassoubre et al., 2016; Thomsen & Willerslev, 2015). Denne usikkerhed i DNA'ets oprindelse anses dog for at være mindre ved indsamling af DNA fra en blandet miljøprøve (fx fra en begroningsplade) sammenlignet med DNA fra en vandprøve (Deiner et al., 2017).

De konventionelle metoder er et udbredt værktøj til indsamling og identifikation af arter. Der er dog som sagt også flere begrænsninger, som overordnet vedrører den førnævnte afhængighed af taksonomisk ekspertise til genkendelse af mange og meget forskellige artsgrupper. Hertil kommer usikkerheden ved et meget begrænset prøvetagningsareal af arter med typisk lavt antal. Til sammenligning er begrænsninger og muligheder i qPCR metoden fundamentalt anderledes. En opgørelse af fordele og ulemper ved qPCR metoden til artsdetektion i marine miljøer (Harper et al., 2018; Knudsen et al. 2022) fremhæver følgende:

1. qPCR metoden er meget følsom og derfor i stand til at detektere sjældne arter, som ikke-hjemmehørende arter ofte er, med stor sikkerhed, samt give et rimeligt sikkert estimat af mængden af DNA fra organismen, og dermed organismens abundans.
2. Udarbejdelsen af et detektionssystem baseret på qPCR for en specifik ikke-hjemmehørende art er krævende, da det forudsætter kendskab til alle nærtbeslægtede arter og *in vitro* test af systemets specificitet mod ekstraheret DNA fra disse.
3. Når først et qPCR testsystem er udviklet og valideret for en art, anses det for at være relativt billigt og nemt at køre qPCR analyserne. Yderligere kan omkostningerne reduceres ved at anvende prober mærket med forskellige fluorochromer samt anvende nyudviklede ofte billigere polymeraser. Dog

stiller kørsel af mange qPCR detektionssystemer krav om relativt meget ekstraheret eDNA, hvilket kan kræve DNA ekstraktion fra store vandvolumener eller større mængde materiale fra begroningsplader.

Sikkerheden i artsbestemmelsen med qPCR er høj og uafhængig af den personlige taksonomiske ekspertise. Usikkerhed ved eDNA detektion af forekomst af ikke-hjemmehørende arter ligger i oprindelse i vandmiljøet af eDNA, der som nævnt kan være tilført andetsteds fra og ikke er et bevis for forekomst af en levende organisme. Tillige er detektionen afhængig af antal stationer og mængde (vandvolumen eller areal af begroningsplade) DNA er ekstraheret fra. Baseret på nylig litteratur (e.g. Klymus et al. 2019) og Knudsen et al. (2020a) vurderes detektion af ikke-hjemmehørende arter på basis af antal kopier af målorganismens DNA opnået ved qPCR med de tidligere nævnte detektions- og kvantifikationsgrænser.

Som med de konventionelle metoder fandt vi flere ikke-hjemmehørende arter i vandprøver i september (86 detektioner) end i juni (52 detektioner), hvilket må tilskrives højere forekomst af ikke-hjemmehørende arter i efteråret. På begroningspladerne blev der fundet færre ikke-hjemmehørende arter (50 detektioner) i september, hvilket kan forklares med, at ikke alle ikke-hjemmehørende arter forventes at settle, og i forhold til en vandprøve er prøven mindre homogeniseret og muligvis mindre repræsentativ. Vi fandt dog de fire ikke-hjemmehørende fytoplankton-arter i eDNA fra begroningsplader, om end på færre stationer end i vandprøverne. Dette kan forklares med et nedfald af plankton på begroningspladerne. Omvendt blev rødtotalge, *Bonnemaisonia hamifera* og stillehavsøster, *Magallana gigas* oftere detekteret på begroningsplader. Generelt var der i vandprøver fra september flere stationer, hvor der var spor af ikke-hjemmehørende arter med værdier under LOD, altså hvor der er fundet spor af ikke-hjemmehørende arter med qPCR, men hvor det ikke er talt som positiv detektion. Samlet kan resultaterne af ikke-hjemmehørende arters detektioner indikere, at eDNA fra vandprøver detekterer et mere diversst samfund end eDNA fra begroningsplader.

Til sammenligning er artsbestemmelsen af de konventionelle prøver forsøgt optimeret ved at anvende relevante nøgler og litteratur samt ved sammenligning med eksisterende lister over ikke-hjemmehørende arter i Danmark og nabolande. Hertil kommer et fagligt skøn af, om arten er sandsynlig på den pågældende lokalitet set ift. dens biologi (marin, brak, fersk) og kendte udbredelse.

Det skal fremhæves, at vi i dette studie ikke har anvendt information om de observerede arters mængde detekteret med qPCR. Det bør også nævnes, at de konventionelle metoder frembragte ganske omfattende artslistor (Bilag 4) med angivelse af de enkelte arters mængde i form af enten individtæthed eller dækningsgrad i procent (ikke vist i denne rapport). Såfremt denne type information (arternes mængde og relative hyppighed ift. det samlede antal af observerede arter) havde været påkrævet, kunne qPCR metoden ikke have leveret de nødvendige data. I vores evaluering, sammenligner vi således to meget forskellige metodiske tilgange (konventionel detektion vs. qPCR baseret detektion), som på mange måder ikke muliggør en 1:1 sammenligning. Det giver derfor mest mening at vurdere i hvilket omfang, de to metodiske tilgange supplerer hinanden.

Samlet blev der i vores indsamling observeret 24 ikke-hjemmehørende arter, hvoraf to arter (fundet med konventionelle metoder) er nye for danske farvande. Af disse 24 arter blev 17 fundet vha. konventionelle metoder og 11 vha.

qPCR (udviklet til 24 arter). Kun fire af arterne blev fundet ved brug af begge metoder. Dette angiver dog ikke nødvendigvis noget om, hvorvidt den ene tilgang er bedre end den anden, da der ligger nogle naturlige begrænsninger i valget af metoder. F.eks. har vores valg af konventionelle metoder (skrab, bundprøver og begroning på plader) ikke gjort det muligt at observere hverken planktoniske arter eller fisk. Derudover har vi ikke fokuseret på mobile dyr som f.eks. krabber. Til sammenligning er qPCR systemet udviklet for et nøje udvalgt af arter, hvoraf flere (4) er planktoniske, fisk (8) og mobile (7) dyr (krabber). Man vil derfor ikke forvente en stor overensstemmelse i de lister over ikke-hjemmehørende arter som metoderne frembringer.

Følgende erfaringer med den konventionelle prøvetagning blev gjort:

- Bundprøvetagningen af havnesediment var afhængig af en forholdsvis blød bund, hvilket viste sig at være en udfordring i Hirtshals Havn. Fund af ikke-hjemmehørende arter var højest i sedimentprøverne (Figur 3.3), og det er ved denne metode, at man får blødbundsfaunaarterne repræsenteret, som eksempelvis havbørsteorme. Denne udfordring kunne løses ved brug af båd i havnen, så man har større mulighed for at finde blød bund længere væk fra molesiden.
- Fund af fauna og alger fra skrab fra moler og på begroningsplader supplerer hinanden. Som det ses i (Tabel 3.1) er det nemlig ikke altid de samme ikke-hjemmehørende arter, der registreres ved de to metoder. På begroningspladerne er det muligt at kvantificere fundene af de mest dominerende arter, og arterne er som udgangspunkt intakte, hvilket kvalificerer artsbestemmelsen. På skrab fra moler er det som udgangspunkt et mere udviklet biologisk samfund, man monitorer, dvs. der er bedre chance for at få større makroalger repræsenteret og eksempelvis de krebsdyrsamfund, der lever der. Prøverne fra skrab er dog svære at kvantificere, og der er en større risiko for at organismer bliver beskadiget.
- Antallet af ikke-hjemmehørende arter fundet stationerne imellem i hver havn (station A, B og C) varierer meget lidt, på nær i Fredericia Havn (Figur 3.2). En lav variation stationerne imellem indikerer, at ikke-hjemmehørende arter er forholdsvis ensartet fordelt i havnene.
- Analyse af sæsonvariationen imellem forårs- og efterårsindsamlingen viser, at man finder flest arter ved efterårsindsamlingen. Dette gælder også eDNA metoden udført på vandprøver.
- Der var stor generel variation af fauna og vegetation på de enkelte begroningsplader, afhængig af deres placering i havnen og i vandsøjlen.
- I skrab fra de forskellige havne sås en tendens til, at forskellige krebsdyr, mobile snegle og makroalger var bedre repræsenterede her end på begroningspladerne.
- Forskellige søpunge, særligt lædersøpungarterne, var meget oftere repræsenteret på begroningspladerne end ved skrab.
- Makroalgearterne var primært repræsenteret på den øverste begroningsplade eller på siderne af pladerne (sandsynligvis pga. lysforholdene).
- I Københavns Havn var blåmuslinger meget dominerende på begroningsplader og ved skrab; det sås tydeligt, at andre arter havde svært ved at få plads og derfor var underrepræsenterede.

4.2 Sammenligning med baselinestudie

I forbindelse med MONIS4 projektet blev der indsamlet eDNA (forår og efterår) til analyse af 18 udvalgte arter og monitoreret fiskearter vha. net og snorkling. Alle undersøgte havne i nærværende projekt, blev også undersøgt i MONIS4 projektet. Derudover blev der i MONIS4 i to udvalgte havne, Esbjerg og Aarhus Havn, foruden eDNA indsamlet arter med udgangspunkt i 10 forskellige konventionelle metoder som her omfattede; fyto-og zooplankton, mobil epifauna, blødbundsfauna, epifauna på sediment, epifauna ved skrab, epifauna på pontoner og lign., begroningsplader og brug af fiskenet samt snorkling til monitorering af fiskearter. Selv om MONIS programmet var mere omfattende mht. valg af konventionelle metoder for disse to havne, var der alligevel god overensstemmelse i de observerede ikke-hjemmehørende arter med nærværende projekt. Af de i alt 24 ikke-hjemmehørende arter observeret i dette studie, var 15 tidligere fundet i MONIS overvågningen, som i alt fandt 32 ikke-hjemmehørende arter i de samme seks havne. Trods det lavere antal ikke-hjemmehørende arter observeret i dette projekt fandt vi flere ikke-hjemmehørende arter i de fire havne, som blev undersøgt med reduceret program i MONIS4. I Esbjerg Havn og Aarhus Havn, som MONIS4 undersøgte med fuldt program, fandt vi færre ikke-hjemmehørende arter. Taget i betragtning af vores let reducerede konventionelle program, hvor nogle organismegrupper er underrepræsenterede (plankton, fisk og krabber), fandt vi således et sammenligneligt antal ikke-hjemmehørende arter med MONIS4 undersøgelsen.

Til sammenligning med MONIS4 undersøgelsen fra 2017 hvor valg af metoder varierede mellem havnene, gennemførtes vores undersøgelsesprogram i 2021 med anvendelse af samme program i alle havnene. Begge undersøgelser udtog eDNA fra vandprøver i både forår og efterår, hvor vi supplerede med eDNA fra begroningsplader indsamlet om efteråret. Disse forskelle i prøvetagning har utvivlsomt indvirkning på sammenligningen med MONIS4, og forskelle i antallet af ikke-hjemmehørende arter fundet i de to studier skal derfor tages med forbehold.

5 anbefalinger til fremtidig havneovervågning

De følgende anbefalinger beror udelukkende på erfaringer ved anvendelsen af de forskellige metoder og deres tilknyttede styrker og svagheder observeret i vores studie. Anbefalingerne er således ikke baseret på en systematisk cost-benefit-analyse.

1. Artsdetektion med qPCR virker som et godt supplement til de konventionelle metoder. Dette gælder særligt ift. observationer af de qPCR udvalgte ikke-hjemmehørende planktonarter og mobile arter, som krabber og fisk, som de anvendte konventionelle metoder ikke er målrettet imod.
2. Zoo, -fytoplankton fisk og krabber monitoreres dog kun i begrænset omfang af qPCR. Hvis disse skal monitoreres grundigt, bør antallet af qPCR detektionssystemer udvides markant, da det lave antal ikke-hjemmehørende arter, som qPCR metoden er udviklet imod, svækker anvendeligheden til den fremadrettede ikke-hjemmehørende arter overvågning. Det anbefales derfor at lave en grundig vurdering af metabarcoding som eDNA metode til at detektere flere ikke-hjemmehørende arter som supplement til de konventionelle metoder.
3. Da langt de fleste ikke-hjemmehørende arter observeres i efterårsprøverne, anbefales det at reducere dele af prøveindsamlingen til én årlig efterårsindsamling. Dog bør man fortsætte med at udsætte begroningsplader om foråret, så disse kan stå tre måneder som i det nuværende program.
4. I forhold til efterårsindsamlingen, bør tidspunktet optimalt være august-september, da makroalgerne begynder at forvitre i efteråret og derfor kan være svære at artsbestemme.
5. For at fremme den konventionelle prøvetagning bør det overvejes at udsætte fælder med madding, som gør det muligt at observere mobile organismer som krabber og nogle fisk.
6. Det bør overvejes, om man skulle udskifte en af stationerne med en placering i en nærliggende lystbådehavn, hvor forureningen med f.eks. oliestoffer og antibegroningsmidler forventes mindre, og vi derfor forventer, at der kan findes andre/flere ikke-hjemmehørende arter.

6 Referencer

Andersen J.H., Kallenbach E., Kjeldgaard M.B., Knudsen S.W., Eikrem W., Fagerli C., Oug E., Dahle T., Thaulow J., Gitmark J., Hobæk A., Green N., Hesselsøe M., Bekkevold D., Jacobsen L.M.W., Kuhn J., Støttrup J., Møller P.R., Olesen C.Aa, Carl H. & Stuer-Lauridsen F. (2022). A baseline study of the occurrence of non-indigenous species in Danish harbours. NIVA Danmark Report, 83 pp. ISBN 978-82-577-7505-6. No 7769-2022

Andersen, J.H., E. Kallenbach, J. Thaulow, M. Hesselsøe, S.W. Knudsen, D. Bekkevold, B.K. Hansen, L.M.W. Jacobsen, P.R. Møller & C.Aa. Olesen (2018). Development of species-specific eDNA-based test systems for monitoring of non-indigenous species in Danish marine waters. NIVA Denmark Report, 87 pp.

Andersen, J.H., E. Kallenbach, M. Hesselsøe, S.W. Knudsen, P.R. Møller, D. Bekkevold, B.K. Hansen & J. Thaulow (2016). Steps toward nation-wide monitoring of non-indigenous species in Danish marine waters under the Marine Strategy Framework Directive. NIVA Denmark Report, 123 pp.

Andersen, J.H., Knudsen, S.W., Murray, C., Carl, H., Møller, P.R., Hesselsøe, M. (2021). Ikke-hjemmehørende arter i marine områder. NIVA Danmark rapport 7658-2021.

Andersen, J.H., S.A. Pedersen, J. Thaulow, F. Stuer-Lauridsen & S. Cochrane (2014). Monitoring of non-indigenous species in Danish marine waters. Background and proposals for a monitoring strategy and a monitoring network. Danish Nature Agency. 55 pp.

CABI-Invasive species compendium (*Austrominius modestus*)
<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.109096>

CABI-Invasive species compendium (*Palaemon elegans*) <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.70617>

Carl, H. & Rasmussen, G.R. (2019). Regnbueørred. I: Carl, H. & Møller, P.R. (red.). Atlas over danske saltvandsfisk. Statens Naturhistoriske Museum. Online-udgivelse.

COM/2017/03 final. REPORT FROM THE COMMISSION TO THE EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL assessing Member States' monitoring programmes under the Marine Strategy Framework Directive

EUROPA-PARLAMENTETS OG RÅDETS DIREKTIV 2008/56/EF af 17. juni 2008 om fastlæggelse af en ramme for Fællesskabets havmiljøpolitiske foranstaltninger (havstrategirammedirektivet).

Deiner, K., Bik, H. M., Mächler, E., Seymour, M., Lacoursière-Roussel, A., Altermatt, F., Creer, S., Bista, I., Lodge, D. M., & de Vere, N. (2017). Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities. *Molecular Ecology*, 26(21), 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(4), 953-959.

Fitzpatrick, M. C., Preisser, E. L., Ellison, A. M., & Elkinton, J. S. (2009). Observer bias and the detection of low-density populations. *Ecological applications*, 19(7), 1673-1679.

Fossing H. & Stæhr P.A., (2017). TA M30 Ikke-hjemmehørende marine arter. Aarhus Universitet, DCE-Nationalt Center for Miljø og Energi, pp. 12.

Gagnon K, Herlevi H, Wikström J, Nordström MC, Salo T, Salovius-Laurén S, Rinne H. (2022). Distribution and ecology of the recently introduced tanaidacean crustacean *Sinelobus vanhaareni* Bamber, 2014 in the northern Baltic Sea. *Aquatic Invasions* 17(1):57-71.

García-Gómez, J.C., Sempere-Valverde, J., González, A.R., Martínez-Chacón, M., Olaya-Ponzzone, L., Sánchez-Moyano, E., Ostalé-Valriberas, E. and Megina, C. (2020). From exotic to invasive in record time: The extreme impact of *Rugulopteryx okamurae* (Dictyotales, Ochrophyta) in the strait of Gibraltar. *Science of the Total Environment* 704, 135408.

GiMaRIS (2019). Gittenberger, A, Rensing, M., Veer, H.W. van der, Philippart, C.J.M, Hoorn, B. van der, D'Hont, A. Wesdorp K.H. Schrieken, N.; Klunder, L., Kleine-Schaars, L., Holthuijsen, S. & H. Stegenga, 2019. Native and non-native species of the Dutch Wadden Sea 2018. Commissioned by Office for Risk Assessment and Research, The netherlands Food and consumer Product Safety Authority of the Ministry of Agriculture, Nature and Food Quality. GiMaRIS rapport 2019_09:128pp

Hansen, F.T., Gabellini, A.P. & Christensen, A. (2020). Ranking of Danish ports according to shipping activities and to the potential of natural dispersal of non-indigenous species. DTU Aqua-rapport nr. 369-2020. National Institute of Aquatic Resources, Technical University of Denmark. 62 pp. + appendices

Hansen, J.L.S. & Josefsen, A. (2014). Teknisk Anvisning M19, Blødbundsfauna.

Hansen, J.W., Staehr, P.A., Mohn, C. & Thomsen, M.S. (2012). Evaluation of ballast water risk assessment. Research note from DCE - Danish Centre for Environment and Energy. Department of Bioscience

Hansen, J.W. (red.) (2013). Marine områder 2012. NOVANA. Aarhus Universitet, DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi, 162 s. - Videnskabelig rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi nr. 77.

Harper, L. R., Lawson Handley, L., Hahn, C., Boonham, N., Rees, H. C., Gough, K. C., Lewis, E., Adams, I. P., Brotherton, P., & Phillips, S. (2018). Needle in a haystack? A comparison of eDNA metabarcoding and targeted qPCR for detection of the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Ecology and evolution*, 8(12), 6330-6341.

Harvey, C. T., Qureshi, S. A., & MacIsaac, H. J. (2009). Detection of a colonizing, aquatic, non-indigenous species. *Diversity and Distributions*, 15(3), 429-437.

Haubrock PJ, Turbelin AJ, Cuthbert RN, Novoa A, Taylor NG, Angulo E, Bal-
lesteros-Mejia L, Bodey TW, Capinha C, Diagne C, Essl F, Golivets M, Ki-
richenko N, Kourantidou M, Leroy B, Renault D, Verbrugge L, Courchamp F
(2020). Economic costs of invasive alien species across Europe In: Zenni RD,
McDermott S, García-Berthou E, Essl F (Eds) The economic costs of biological
invasions around the world. *Neobiota* 67: 153–190.
<https://doi.org/10.3897/neobiota.67.58196>

HELCOM (2012). Observed non-indigenous and cryptogenic species in the
Baltic Sea. HELCOM Baltic Sea Environment Fact Sheets. Online 14 May 2018.
[http://www.helcom.fi/baltic-sea-trends/environment-fact-sheets/biodiver-
sity/observed-non-indegenous-and-cryptogenic-species-in-the-baltic-sea](http://www.helcom.fi/baltic-sea-trends/environment-fact-sheets/biodiversity/observed-non-indegenous-and-cryptogenic-species-in-the-baltic-sea)

HELCOM (2013). Joint HELCOM/OSPAR Guidelines on the granting of ex-
emptions under the International Convention for the Control and Manage-
ment of Ships' Ballast Water and Sediments, Regulation A-4.

HELCOM (2017). Guidelines for non-indigenous species monitoring by ex-
tended Rapid Assessment Survey (eRAS), Helsinki, Finland, HELCOM, 4pp.
DOI: <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-1801>

HELCOM/OSPAR (2015). Joint Harmonised Procedure for the Contracting
Parties of HELCOM and OSPAR on the granting of exemptions under Inter-
national Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water
and Sediments, Regulation A-4, 51 pages. Amended by HELCOM HOD 48-
2015 (June) and OSPAR Agreement 2015-01.

HELCOM-OSPAR (2015). Joint Harmonised Procedure for the Contracting
Parties of OSPAR and HELCOM on the granding of exemptions under Inter-
national Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water
and Sediments, Regulation A-4

IUCN (2000). IUCN Guidelines for the Prevention of Biodiversity Loss caused
by Alien Invasive Species. Fifth Meeting of the Conference of the Parties to
the Convention on Biological Diversity. Nairobi, Kenya 15–26 May 2000.
<https://portals.iucn.org/library/efiles/documents/Rep-2000-052.pdf>

Jensen, K.R. (2013). Selection of target species for risk assessment of Danish
ports in connection with The International Convention For The Control And
Management Of Ships' Ballast Water And Sediments. Report for the Danish
Nature Agency

Jensen, Kathe R. (2010). NOBANIS – Invasive Alien Species Fact Sheet – *Mya
arenaria* – From: Identification key to marine invasive species in Nordic waters
– NOBANIS www.nobanis.org.

Jensen, Kathe R. (2015). NOBANIS – Invasive Alien Species Fact Sheet – *Am-
phibalanus improvisus* – From: Identification key to marine invasive species in
Nordic waters – NOBANIS www.nobanis.org, Date of access 11/11/2022.

Knudsen, S.W., Andersen, J.H., Bekkevold, D., Hesselsøe, M., Jensen, S.K.S,
Møller, P.R., (2020a). Tekniske anvisninger for eDNA-baseret overvågning af
ikke-hjemmehørende marine arter. NIVA Danmark rapport. ISBN:978-82-
577-7190-4. [Tekniske anvisninger for eDNA-baseret overvågning af ikke-
hjemmehørende marine arter \(researchgate.net\)](https://www.researchgate.net/publication/354111111)

Knudsen, S.W., Andersen, J.H., Møller, P.R., (2020b). Development of species-specific eDNA-based test systems for monitoring of non-indigenous Decapoda in Danish marine waters. NIVA. NIVA Report No. 7544 – 2020.

Knudsen, S.W., Hesselsøe, M., Thaulow, J., Agersnap, S., Hansen, B.K., Jacobsen, M.W., Bekkevold, D., Jensen, S.K.S., Møller, P.R., Andersen, J.H., (2022). Monitoring of environmental DNA from nonindigenous species of algae, dinoflagellates and animals in the North East Atlantic. *Sci. Total Environ.* 821. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153093>

KOMMISSIONENS AFGØRELSE (EU) 2017/848 af 17. maj 2017 om fastlæggelse af kriterier og metodiske standarder for god miljøtilstand i havområder samt specifikationer og standardmetoder for overvågning og vurdering og om ophævelse af afgørelse 2010/477/EU.

LITEHAUZ (2016). Non-indigenous species from hull fouling in Danish marine waters. Rapport fra Naturstyrelsen, 70 pp.

Miljø- og Fødevarerministeriet (2019). Danmarks Havstrategi II Første del. God miljøtilstand Basisanalyse Miljømål.

Miljø- og Fødevarerministeriet (2020). Danmarks Havstrategi II Anden del. Overvågningsprogram.

Faktaark invasive arter (2022). Miljøstyrelsen. In print.

Miljøstyrelsen (2022) "Excel-ark over ikkehjemmehørende marine arter (senest opdateret d. 19. juli 2022)". <https://mst.dk/natur-vand/natur/invasive-arter/hvilke-arter-er-invasive/>

Muirhead, J. R., Gray, D. K., Kelly, D. W., Ellis, S. M., Heath, D. D., & Macisaac, H. J. (2008). Identifying the source of species invasions: sampling intensity vs. genetic diversity. *Molecular Ecology*, 17(4), 1020-1035.

Nielsen, R., Lundsteen, S., Mols-Mortensen, A., Wegeberg, S. Danmarks Havalger Bind 1. Rødalger (Rhodophyta). Det Kongelige Danske Videnskabernes selskab 2019.

Nielsen, R. & Lundsteen, S. (2019). Danmarks Havalger Bind 2. Brunalger (Phaeophyceae) og Grønalger (Chlorophyta). Det Kongelige Danske Videnskabernes selskab

Petersen, J. K., Holm, A. P. S., Christensen, A., Krekoukiotis, D., Jakobsen, H., Sanderson, H., ... & Hansen, J. W., Andreassen, H., Gislason, H., Strand, J., Behrens, J., Hansen, J.W., Svendsen, J.C., Timmermann, K., Møller, L.F., Bach, L., Larsen, M.L., Zrust, M., Nielsen, M.M., Eigaard, O.R., Nielsen, P., Stæhr, P.A., Høgslund, S., and Nielsen, T.G. (2018). Menneskeskabte påvirkninger af havet–Andre presfaktorer end kvælstof og klimaforandringer. DTU Aqua-rapport nr. 336-2018. Institut for Akvatiske Ressourcer, Danmarks Tekniske Universitet. 118 pp. + bilag

Risk Assessment 2020, *Schizoporella japonica*: European Commission, Directorate-General for Environment, *Study on invasive alien species: development of risk assessments to tackle priority species and enhance prevention: final report, executive summary and annexes*, Publications Office, <https://data.europa.eu/doi/10.2779/56374>)

Sassoubre, L. M., Yamahara, K. M., Gardner, L. D., Block, B. A., & Boehm, A. B. (2016). Quantification of environmental DNA (eDNA) shedding and decay rates for three marine fish. *Environmental science & technology*, 50(19), 10456-10464.

Stæhr, P.A., Jakobsen, H.H., Hansen, J.L.S., Andersen, P., Christensen, J., Göke, C., and Thomsen, M.S. (2020). Trends in records and contribution of non-indigenous species to marine communities in Danish waters. Potential indicators for assessing impact. *Aquatic Invasions*. 15 (2): 217-244

Stranga, Y. & S. Katsanevakis. (2021). Eight years of Bio-Invasions Records: patterns and trends in alien and cryptogenic species records. *Management of Biological Invasions* 12/2: 221-239. DOI: 10.3391/mbi.2021.12.2.01, ISSN: 19898649.

Stæhr, P.A., Pedersen M.F., Thomsen M.S., Wernberg T. and Krause-Jensen D. (2000). Invasion of *Sargassum muticum* in Limfjorden (Denmark) and its possible impact on the indigenous macroalgal community. *Marine Ecology Progress Series*. 207:79-88.

Stæhr, P.A. & M.S. Thomsen (2012) Opgørelse over rumlig udbredelse, tidlig udvikling og tæthed af ikke-hjemmehørende arter i danske farvande. Note, Aarhus University, DCE - Danish Centre for Environment and Energy, 14 pp.

Stæhr, P.A., H.H. Jakobsen, J.L.S. Hansen, P. Andersen, M. Storr-Paulsen, J. Christensen, S. Lundsteen, C. Göke & M.-C. Carausu (2016) Trends in records and contribution of non-indigenous species (NIS) to biotic communities in Danish marine waters. Aarhus University, DCE - Danish Centre for Environment and Energy, 45 pp.

Tendal, O.S., Jensen, K.R. and Riisgård, H.U. 2007. Invasive ctenophore *Mnemiopsis leidyi* widely distributed in Danish waters. *Aquatic Invasions* 2(4): 455-460

Tendal, O.S. & Jensen, K.R. (2015). De seneste 85 års nye arter af krabber i den danske fauna. Statens Naturhistoriske Museum (Zoologisk Museum), Københavns Universitet.

Tsiamis, K., A. et al. (2019). Non-indigenous species refined national baseline inventories: A synthesis in the context of the European Union's Marine Strategy Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin* 145: 429-435. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2019.06.012, ISSN: 0025326X.

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 M.S., Stæhr P.A., Wernberg T., Krause-Jensen D., Josefson A.B. & Tendal O.S. (2008) Introducerede dyr og planter i Danmark. *Naturens Verden* 6:10-18.

WWF (2022) Living Planet Report 2022 - Building a naturepositive society. Almond, R.E.A., Grooten, M., Juffe Bignoli, D. & Petersen, T. (Eds). WWF, Gland, Switzerland. https://wwflpr.awsassets.panda.org/downloads/lpr_2022_full_report.pdf

7 Bilag

Bilag 1. De 25 ikke-hjemmehørende målarter ifølge Andersen et al. (2018) og Knudsen et al. (2020a og b) med information om tilvejebringelse af vævsmateriale til positiv kontrol (NIS = Non-Indigenous Species).

NIS	Latinsk navn	Dansk navn	Tilvejebringelse af NIS eksemplar/DNA
1	<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	Rødtot	Egen indsamling
2	<i>Prorocentrum minimum (caudatum)</i>	Dinoflagellat	NIVA Norge
3	<i>Pseudochattonella farcimen</i>	Heterokont flagellat ²⁾	Bente Edvardsen, Oslo Universitet, Norge
4	<i>Pseudochattonella verruculosum</i> ¹⁾	Heterokont flagellat ²⁾	Sarah Challenger, Cawthron Institute, Nelson, New Zealand
5	<i>Karenia mikimotoi</i>	Dinoflagellat	Sarah Challenger, Cawthron Institute, Nelson, New Zealand
6	<i>Carassius auratus</i>	Sølvkarusse	Philip Thomsen, AU
7	<i>Cyprinus carpio</i>	Karpe	Philip Thomsen, AU
8	<i>Colpomenia peregrina</i>	Østerstyv	Peter Søndergaard Schmedes, DTUAqua
9	<i>Neogobius melanostomus</i>	Sortmundet kutling ³⁾	Philip Thomsen, AU
10	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Regnbueørred	Philip Thomsen, AU
11	<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	Pukkellaks	Philip Thomsen, AU
12	<i>Crassostrea gigas / Magallana gigas</i>	Stillehavssøsters	Benni W Hansen, RUC
13	<i>Mya arenaria</i>	Almindelig sandmusling	M. Christodoulou, Senckenberg Gesellschaft für Naturforschung, D
14	<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	Østamerikansk brakvandskrabbe	Freja Elbrønd, Amager Naturcenter
15	<i>Paralithodes camtschaticus</i>	Kamtjatka-krabbe ⁴⁾	Indkøbt i detailhandel
16	<i>Eriocheir sinensis</i>	Kinesisk uldhåndskrabbe	M. Christodoulou, Senckenberg Gesellschaft für Naturforschung, D
17	<i>Homarus americanus</i>	Amerikansk hummer	Indkøbt i detailhandel
18	<i>Cordylophora caspia</i>	Brakvands-køllepolyp	Arjan Gittenberger, GiMaRis, NL
19	<i>Mnemiopsis leidyi</i>	Amerikansk ribbegople	Øresundsakvariet, Helsingør, KU
20	<i>Acipenser baerii</i>	Sibirisk stør ⁵⁾	Indkøbt i detailhandel
21	<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>	Diamant stør ⁵⁾	Indkøbt i detailhandel
22	<i>Acipenser ruthenus</i>	Sterlet ⁵⁾	Philip Thomsen, AU
23	<i>Callinectes sapidus</i>	Blå svømmekrabbe	Jeremy Testa, Uni. Maryland, USA
24	<i>Hemigrapsus sanguineus</i>	Asiatisk klippekrabbe	Kurt Thomas, AU
25	<i>Hemigrapsus takanoi</i>	Pensel klippekrabbe	Kurt Thomas, AU

1) Artsnavnet er en fejl i kilden, det korrekte artsnavn er "*verruculosa*"

2) Detektionssystemet rammer samme gen region og PCR primere er ens. Adskillelse er udelukkende baseret på forskelle i interne prober (Knudsen et al. 2022)

3) I følge Andersen et al. (2021) fungerer detektionssystemet ikke optimalt og er derfor ikke anvendt.

4) I følge Andersen et al. (2021) kan dette detektionssystem også detektere *Pagurus* spp. (eremitkrebs).

5) Detektionssystemerne kan ikke adskille disse tre arter, da de hybridiserer (Knudsen et al. 2022; Andersen et al. 2021).

Bilag 2. Anvendte detektionssystemer angivet efter art (NIS = Non-Indigenous Species). For hver art er angivet 'F': forward primer; 'R': reverse primer; 'P': probe. *). Detektionssystemerne kan ikke adskille disse tre arter, da de hybridiserer (Knudsen et al. 2022; Andersen et al. 2021). Art nummer 9 *Neogobius melanostomus* er udeladt, da den ikke er monitoreret i dette studie.

No	NIS	Primer og probe navn	Sekvens af primere og probe	PM 5'-end	PM 3'-end
01	<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	Bon_ham_rbcL_F02	CAATTACTAGATTACCTGGGCAAT	FAM	BHQ-1
		Bon_ham_rbcL_R02	CTTCTTTTACAAAGTCCCGACCT		
		Bon_ham_rbcL_P01	TCGTGCCATAACCATAGACTCTAAAGCC		
02	<i>Procoentrum minimum</i>	Pro_min_28S_F03	CTTGGCAAGATTGTCGGGT	FAM	BHQ-1
		Pro_min_28S_R03	TATCACTCACCCATAGACGA		
		Pro_min_28S_P03	ACACACAAGGCAAGAGACGATCAAGC		
04	<i>Pseudochattonella verruculata</i>	PseverF	GGGAGAAGTCCTTTGGAACAAGG	FAM	BHQ-1
		PseverR	GCAACTCGACTCCATTAGC		
		PseP	TCAGAGAGGGTGACAATCCCGTCT		
05	<i>Karenia mikimotoi</i>	KarmikF3	CCGAGTGACTGAATGTCCTC	FAM	BHQ-1
		KarmikR3	GATCGCAGGCAAGCACATGA		
		KarmikP3	GCAGTGCTACCAGACACACAGAG		
06	<i>Carassius auratus</i>	Caraur_COI_F01	TTCTTCCCCATCATTCTGT	FAM	BHQ-1
		Caraur_COI_R01	GTATACTGTCCATCCGGAGG		
		Caraur_COI_P02	TAGCTTCTCTGGTGTGAAGCCGGAG		
07	<i>Cyprinus carpio</i>	CccytbF	CTAGCACTATTCTCCCCTAACTTAC	FAM	TAMRA
		CccytbR	ACACCTCCGAGTTTGTGGGA		
		CccytbP	CCCTCTAGTTACACCACC		
08	<i>Colpomenia peregrine</i>	Col_per_COX_3_F01	GCAAGCTTTTGAATATGCTAATG	FAM	TAMRA
		Col_per_COX_3_R01	CAGCTAAAAATATTGTACCGATT		
		Col_per_COX_3_P01	TTCAGTTTTTTACATGGCTACAGGCTTC		
10	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Onc_myk_CytB_F01	ACCTCCAGCCATCTCTCAGT	FAM	BHQ-1
		Onc_myk_CytB_R01	AGGACGGGGAGGGAAAGTAA		
		Onc_myk_CytB_P01	TGAGCCGTGCTAGTTACTGCTGTCCTT		
11	<i>Oncorhynchus gorboscha</i>	Oncgor_CO1_F09	TCCTTCCTCCTCCTCTTC	FAM	BHQ-1
		Oncgor_CO1_R06	TGGCCCCTAAAATTGATGAG		
		Oncgor_CO1_P06	CAGGGGCATCCGTGACTTAACAT		
12	<i>Magallana gigas</i>	Cragig_CO1_F07	TTGAGTTTTGCCAGGGTCTC	FAM	BHQ-1
		Cragig_CO1_R09	ACCAGCAAGGTGAAGGCTTA		
		Cragig_CO1_P06	AACATTGTAGAAAACGGAGTTGGGGC		
13	<i>Mya arenaria</i>	Mya_are_CO1_F01	CCCTCCGTTGTCGAGAAATA	FAM	BHQ-1
		Mya_are_CO1_R02	ACGCATGTTACCCCAAGTTC		
		Mya_are_CO1_P06	TATCCCTTCATATTGGAGGGCTTCAT		
14	<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	Rhihar_co1_F03	GTCAACCTGGTACTCTCATTGGT	FAM	BHQ-1
		Rhihar_co1_R03	ACGAGGAAATGCTATATCAGGGG		
		Rhihar_co1_P03	TGTTGTAGTAACAGCTCACGCCTTTGT		
15	<i>Paralithodes camtschaticus</i>	Parcam_co1_F02	GGGCTTGAGCTGGAATAGTG	FAM	BHQ-1
		Parcam_co1_R05	CAATTTCCAAACCCTCCAAT		
		Parcam_co1_P02	ATTGAGCTGAACTAGGACAACCAGGT		

No	NIS	Primer og probe navn	Sekvens af primere og probe	PM 5'-end	PM 3'-end
16	<i>Eriocheir sinensis</i>	Erisin_cytb_F02	ACCCCTCCTCATATCCAACCA		
		Erisin_cytb_R02	AAGAATGGCCACTGAAGCGG		
		Erisin_cytb_P02	TTTGCTTACGCTATTTTACGATCAATTCCT	Fam	BHQ-1
17	<i>Homarus americanus</i>	Homame_co1_F06	TTACAGCAGTTCTTTACTACTCTCG		
		Homame_co1_R08	ACTGGGTCTCCACCTCCAG		
		Homame_co1_P08	TCGAAATTTAAATACTTCATTCTTCGATCCA	FAM	BHQ-1
18	<i>Cordylophora caspia</i>	Cor_cas_COI_F01	TCATCTGTACAAGCACATTCTGG		
		Cor_cas_COI_R01	TTGAAGAAGCTCCTGCACAGT		
		Cor_cas_COI_P01	CCTTCTGTAGACATGGCTATATTTAGTC	FAM	BHQ-1
19	<i>Mnemiopsis leidyi</i>	Mnelei_its2_F04	ACGGTCCCTTGAAGTAGAGC		
		Mnelei_its2_R06	TCTGAGAAGGCTTCGGACAT		
		Mnelei_its2_P06	GTGCCTCTCGGTGTGGTAGCAATATCT	FAM	BHQ-1
20	<i>Acipenser baerii</i>	Acibae_CR_F02	CAGTTGTATCCCCATAATCAGCC		
		Acibae_CR_R03	TTATTCATTATCTCTGAGCAGTCGTGA		
		Acibae_CR_P01	ATGCCGAGAACCCCATCAACATTTGGT	FAM	BHQ-1
21+22*)	<i>Acipenser spp./ gueldenstedeni</i>	Acibae_cytb_F11	TTCCACCCGTACTIONTCTCATAC		
		Acibae_cytb_R16	GGCGTAGGCGAAGAGAAAGTA		
		Acibae_cytb_P16	CCTAATGCTAGTCGGACTCACCTCCGT	FAM	BHQ-1
23	<i>Callinectes sapidus</i>	Calsap_co1_F01	5'-GGGCCTCAGTTGATCTTGGT-3'		
		Calsap_co1_R01	5'-GTAGAGAACAGGGTCGCCTC-3'		
		Calsap_co1_P01	5'-FAM-ATACCTCATTCTTCGACCCAGCTGGAG- BHQ1-3'	FAM	BHQ-1
24	<i>Hemigrapsus sanguineus</i>	Hemsan_COI_F01	5'-CCTGGGCCGGTATAGTAGGT-3'		
		Hemsan_COI_R01	5'-GGGGCTCCGAGTATAAGTGG-3'		
		Hemsan_COI_P01	5'-FAMCGAGCAGAATTAAGACAACCAGGAAGC- BHQ1-3'		
25	<i>Hemigrapsus takanoi</i>	Hemtak_co1_F05	5'-AGGTTTTGACTTCTTCCTCCTTCT-3'		
		Hemtak_co1_R05	5'-CTGCGAGTGGAGGGTAAACG-3'		
		Hemtak_co1_P05	5'-FAM-TAGAAAGAGGTGTAGGTACAGGATGGA- BHQ1-3'	FAM	BHQ-1

Bilag 3A-C. Detaljeret opgørelse af de molekylære data baseret på qPCR med tre tekniske replikater og med standardrækker baseret på PCR produkter. Tallene adskilt med skråstreg angiver antal tekniske replikater, der gav: ingen Cq, /under LOD / over LOD men, under LOQ / over LOQ. Farvekode: hvid: ingen Cq, altså ingen amplifikation i nogen af prøverne; gul: amplifikation i min. 1 < LOD; orange: min 1 prøve > LOD, men < LOQ; rød: min. 1 prøve > LOQ; mørkegrå: alle prøver > LOQ. LOD: Limit of detection; LOQ: Limit of quantification (Andersen et al., 2022). Art nummer 9 Neogobius melanostomus er udeladt, da den ikke er monitoreret i dette studie.

A: eDNA fra vandprøver, juni 2021

No	Art	Esbjerg A	Esbjerg B	Esbjerg C	Fredericia A	Fredericia B	Fredericia C	Frederikshavn A	Frederikshavn B	Frederikshavn C	Hirtshals A	Hirtshals B	Hirtshals C	København A	København B	København C	Aarhus A	Aarhus B	Aarhus C
1	<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	0/3/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
2	<i>Prorocentrum cordatum</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/3/0	0/0/3/0	1/1/1/0	0/0/3/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/0/3	0/1/0/2	0/0/3/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
3	<i>Pseudochattonella farcimen</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/3/0	3/0/0/0	2/1/0/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3
4	<i>Pseudochattonella verruculosa</i>	0/3/0/0	0/1/1/1	0/0/0/3	0/3/0/0	0/3/0/0	0/3/0/0	0/3/0/0	0/2/1/0	0/3/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	2/1/0/0	0/3/0/0	0/3/0/0	0/2/1/0	0/3/0/0	0/3/0/0	0/3/0/0
5	<i>Karenia mikimotoi</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/1/2/0	0/0/3/0	3/0/0/0	0/0/0/3	0/0/3/0	0/1/2/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
6	<i>Carassius auratus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
7	<i>Cyprinus carpio</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
8	<i>Colpomenia perergrina</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
10	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	2/1/0/0	1/2/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	0/3/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
11	<i>Oncorhynchus gorboscha</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
12	<i>Magallana gigas</i>	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
13	<i>Mya arenaria</i>	0/0/0/3	0/0/3/0	0/0/3/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	2/1/0/0	2/1/0/0	0/3/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/2/1/0	0/3/0/0	0/0/0/3	0/0/0/3	1/2/0/0	0/0/0/3	0/3/0/0
14	<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
15	<i>Paralithodes camtschaticus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
16	<i>Eriocheir sinensis</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
17	<i>Homarus americanus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
18	<i>Cordylophora caspia</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/3/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
19	<i>Mnemiopsis leidyi</i>	3/0/0/0	2/0/1/0	2/1/0/0	0/0/3/0	0/0/0/3	0/0/3/0	0/3/0/0	0/3/0/0	0/3/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/3/0/0	0/1/0/2	0/2/1/0	0/0/3/0	2/0/1/0	0/0/0/3
20	<i>Acipenser baerii</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
21	<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
22	<i>Acipenser ruthenus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
23	<i>Callinectes sapidus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
24	<i>Hemigrapsus sanguineus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
25	<i>Hemigrapsus takanoi</i>	2/1/0/0	3/0/0/0	1/0/2/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0

B: eDNA fra vandprøver, september 2021

No	Art	Esbjerg A	Esbjerg B	Esbjerg C	Fredericia A	Fredericia B	Fredericia C	Frederikshavn A	Frederikshavn B	Frederikshavn C	Hirtshals A	Hirtshals B	Hirtshals C	København A	København B	København C	Aarhus A	Aarhus B	Aarhus C	
1	<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	2/0/1/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/2/1/0	3/0/0/0	1/0/2/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	1/1/1/0
2	<i>Procoentrum cordatum</i>	0/0/3/0	0/0/3/0	0/0/3/0	0/0/0/3	0/0/3/0	0/3/0/0	0/0/3/0	0/1/2/0	0/0/3/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/3/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/3/0/0	0/0/2/1	0/0/3/0	
3	<i>Pseudochattonella farcimen</i>	2/1/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	0/0/0/3	0/0/0/3	2/1/0/0	2/1/0/0	0/0/3/0	0/1/2/0	0/3/0/0	0/0/3/0	0/2/1/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	
4	<i>Pseudochattonella verruculosa</i>	1/2/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	0/0/3/0	0/1/2/0	3/0/0/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	
5	<i>Karenia mikimotoi</i>	0/0/2/1	0/0/3/0	0/0/2/1	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	3/0/0/0	0/0/3/0	2/1/0/0	0/0/3/0	0/0/0/3	0/0/0/3	
6	<i>Carassius auratus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
7	<i>Cyprinus carpio</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
8	<i>Colpomenia perergrina</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	2/1/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
10	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
11	<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
12	<i>Magallana gigas</i>	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/1/2	3/0/0/0	0/2/1/0	3/0/0/0	0/0/0/3	3/0/0/0	
13	<i>Mya arenaria</i>	1/1/1/0	0/3/0/0	1/2/0/0	2/1/0/0	0/1/2/0	0/3/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	1/2/0/0	0/0/3/0	3/0/0/0	0/0/3/0	0/0/0/3	
14	<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
15	<i>Paralithodes camtschaticus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
16	<i>Eriocheir sinensis</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
17	<i>Homarus americanus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
18	<i>Cordylophora caspia</i>	3/0/0/0	2/0/1/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/2/1/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
19	<i>Mnemiopsis leidyi</i>	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/3/0/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/3/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3
20	<i>Acipenser baerii</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
21	<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
22	<i>Acipenser ruthenus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
23	<i>Callinectes sapidus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
24	<i>Hemigrapsus sanguineus</i>	1/2/0/0	1/2/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
25	<i>Hemigrapsus takanoi</i>	0/0/3/0	0/1/2/0	0/1/2/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0

C: eDNA fra begroningsplader, september 2021

	Art	Esbjerg A	Esbjerg B	Esbjerg C	Fredericia C	Frederikshavn A	Frederikshavn B	Frederikshavn C	Hirtshals B	Hirtshals C	København A	København B	Aarhus A	Aarhus B	Aarhus C
1	<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/3/0	0/0/3/0	0/0/0/3
2	<i>Prorocentrum cordatum</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/2/1	0/0/1/2	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/2/1	1/2/0/0	1/2/0/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/2/1	1/0/1/1	0/0/2/1
3	<i>Pseudochattonella farcimen</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/3/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	1/0/2/0	1/0/2/0	0/0/3/0
4	<i>Pseudochattonella verruculosa</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	1/2/0/0	1/1/1/0	0/2/0/1	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	1/2/0/0	3/0/0/0	0/2/1/0
5	<i>Karenia mikimotoi</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	1/2/0/0	0/3/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	0/3/0/0	1/2/0/0	0/1/2/0
6	<i>Carassius auratus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
7	<i>Cyprinus carpio</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
8	<i>Colpomenia perigrina</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
10	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
11	<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
12	<i>Magallana gigas</i>	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	3/0/0/0	0/0/0/3	0/0/0/3	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/0/3
13	<i>Mya arenaria</i>	1/0/2/0	3/0/0/0	0/0/0/3	0/0/3/0	3/0/0/0	0/0/3/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/3/0	0/0/0/3	3/0/0/0	0/1/2/0	1/2/0/0
14	<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/0/3	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
15	<i>Paralithodes camtschaticus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
16	<i>Eriocheir sinensis</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
17	<i>Homarus americanus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
18	<i>Cordylophora caspia</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
19	<i>Mnemiopsis leidyi</i>	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/0/3	0/0/0/3	0/0/0/3
20	<i>Acipenser baerii</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
21	<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	2/1/0/0	3/0/0/0
22	<i>Acipenser ruthenus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
23	<i>Callinectes sapidus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
24	<i>Hemigrapsus sanguineus</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	0/3/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0
25	<i>Hemigrapsus takanoi</i>	3/0/0/0	3/0/0/0	0/0/0/3	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0	3/0/0/0

Bilag 4. Arter identificeret ved hjælp af konventionelle metoder. Arter fremhævet med gult er enten ikke-hjemmehørende eller kryptogene arter og er alle medtaget i vores opgørelse af ikke-hjemmehørende arter.

ID	Art	TAXA	Status
1	<i>Abietinaria abietina</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
2	<i>Abra alba</i>	Mollusca	Hjemmehørende
3	<i>Abra nitida</i>	Mollusca	Hjemmehørende
4	<i>Acrochaetium sp.</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
5	<i>Aetea truncata</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
6	<i>Aglaothamnion bipinnatum</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
7	<i>Aglaothamnion tenuissimum</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
8	<i>Alcyonidium gelatinosum</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
9	<i>Alitta succinea</i>	Annelida	Kryptogen
10	<i>Amathia imbricata</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
11	<i>Amathia sp.</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
12	<i>Amphibalanus improvisus</i>	Crustacea	Kryptogen
13	<i>Anthozoa indet.</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
14	<i>Asciacea indet.</i>	Asciacea	Hjemmehørende
15	<i>Asciella aspersa</i>	Asciacea	Hjemmehørende
16	<i>Asterias rubens</i>	Echinodermata	Hjemmehørende
17	<i>Aurelia aurita (schyphistoma)</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
18	<i>Austrominius modestus</i>	Crustacea	Ikke-hjemmehørende
19	<i>Balanidae</i>	Crustacea	Hjemmehørende
20	<i>Bittium reticulatum</i>	Mollusca	Hjemmehørende
21	<i>Bivalvia indet.</i>	Mollusca	Hjemmehørende
22	<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	Algae (Rhodophyta)	Ikke-hjemmehørende
23	<i>Botrylloides leachii</i>	Asciacea	Hjemmehørende
24	<i>Botryllus schlosseri</i>	Asciacea	Hjemmehørende
25	<i>Bougainvillia muscus</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
26	<i>Bryopsis hypnoides</i>	Algae(Chlorophyta)	Hjemmehørende
27	<i>Buccinum undatum</i>	Mollusca	Hjemmehørende
28	<i>Bugula sp.</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
29	<i>Callithamnion corymbosum</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
30	<i>Capitellidae</i>	Annelida	Hjemmehørende
31	<i>Caprella linearis</i>	Crustacea	Hjemmehørende
32	<i>Carcinus maenas</i>	Crustacea	Hjemmehørende
33	<i>Celleporella hyalina</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
34	<i>Ceramium sp.</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
35	<i>Cerastoderma edule</i>	Mollusca	Hjemmehørende
36	<i>Cerastoderma glaucum</i>	Mollusca	Hjemmehørende
37	<i>Chaetomorpha melagonium</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
38	<i>Chaetopteris plumosa</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
39	<i>Chamelea gallina</i>	Mollusca	Hjemmehørende
40	<i>Chironomus sp.</i>	Arthropoda	Hjemmehørende
41	<i>Chone dumeri</i>	Annelida	Hjemmehørende
42	<i>Chorda filum</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
43	<i>Ciona intestinalis</i>	Asciacea	Hjemmehørende
44	<i>Cladophora sp.</i>	Algae (Chlorophyta)	Hjemmehørende
45	<i>Clava multicornis</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
46	<i>Clytia hemisphaerica</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
47	<i>Conopeum reticulum</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
48	<i>Corophium crassicorne</i>	Crustacea	Hjemmehørende
49	<i>Corophium sp.</i>	Crustacea	Hjemmehørende
50	<i>Coryne pusilla</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
51	<i>Cradoscrupocellaria reptans</i>	Bryozoa	Hjemmehørende

52	<i>Crepidula fornicata</i>	Mollusca	Ikke-hjemmehørende
53	<i>Cribrilina annulata</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
54	<i>Crisia sp.</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
55	<i>Crustacea indet.</i>	Crustacea	Hjemmehørende
56	<i>Cryptosula pallasiana</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
57	<i>Cyrellia linearis</i>	Mollusca	Hjemmehørende
58	<i>Cystoclonium purpureum</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
59	<i>Dasya sp.</i>	Algae (Rhodophyta)	Ikke-hjemmehørende
60	<i>Dasysiphonia japonica</i>	Algae (Rhodophyta)	Ikke-hjemmehørende
61	<i>Derbesia marina</i>	Algae (Chlorophyta)	Hjemmehørende
62	<i>Desmarestia aculeata</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
63	<i>Desmarestia viridis</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
64	<i>Dodecaceria concharum</i>	Annelida	Hjemmehørende
65	<i>Dynamena pumila</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
66	<i>Echinoidea</i>	Echinodermata	Hjemmehørende
67	<i>Ecrobia ventrosa</i>	Mollusca	Hjemmehørende
68	<i>Ectocarpus penicillatus</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
69	<i>Ectocarpus siliculosus</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
70	<i>Einhornia crustulenta</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
71	<i>Elachista fucicola</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
72	<i>Electra pilosa</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
73	<i>Erichthonius brasiliensis</i>	Crustacea	Hjemmehørende
74	<i>Eteone longa</i>	Annelida	Hjemmehørende
75	<i>Euchone papillosa</i>	Annelida	Hjemmehørende
76	<i>Eudendrium arbuscula</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
77	<i>Eulalia viridis</i>	Annelida	Hjemmehørende
78	<i>Eumida sanguinea</i>	Annelida	Hjemmehørende
79	<i>Fucus serratus</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
80	<i>Fucus spiralis</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
81	<i>Fucus vesiculosus</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
82	<i>Gammaridae indet.</i>	Crustacea	Hjemmehørende
83	<i>Gammarus salinus</i>	Crustacea	Hjemmehørende
84	<i>Gastropoda indet.</i>	Mollusca	Hjemmehørende
85	<i>Gobius niger</i>	Pisces	Hjemmehørende
86	<i>Halichondria panicea</i>	Porifera	Hjemmehørende
87	<i>Harmothoe imbricata</i>	Annelida	Hjemmehørende
88	<i>Hediste diversicolor</i>	Annelida	Hjemmehørende
89	<i>Heteromastus filiformis</i>	Annelida	Hjemmehørende
90	<i>Hiatella arctica</i>	Mollusca	Hjemmehørende
91	<i>Hincksia ovata</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
92	<i>Hincksia sp.</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
93	<i>Hyale vitrea</i>	Mollusca	Hjemmehørende
94	<i>Hydractinia echinata</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
95	<i>Hydrallmania falcata</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
96	<i>Hydrozoa indet.</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
97	<i>Idotea balthica</i>	Crustacea	Hjemmehørende
98	<i>Jaera albifrons</i>	Crustacea	Hjemmehørende
99	<i>Kurtiella bidentata</i>	Mollusca	Hjemmehørende
100	<i>Lacuna pallidula</i>	Mollusca	Hjemmehørende
101	<i>Lacuna sp.</i>	Mollusca	Hjemmehørende
102	<i>Leucosolenia botryoides</i>	Porifera	Hjemmehørende
103	<i>Liljeborgia pallida</i>	Crustacea	Hjemmehørende
104	<i>Littorina littorea</i>	Mollusca	Hjemmehørende
105	<i>Magallana gigas</i>	Mollusca	Ikke-hjemmehørende
106	<i>Malacoceros fuliginosus</i>	Annelida	Hjemmehørende

107	<i>Marshallora adversa</i>	Mollusca	Hjemmehørende
108	<i>Membranipora membranacea</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
109	<i>Microdeutopus gryllotalpa</i>	Crustacea	Hjemmehørende
110	<i>Modiolus modiolus</i>	Mollusca	Hjemmehørende
111	<i>Molgula sp.</i>	Ascidacea	Hjemmehørende
112	<i>Musculus subpictus</i>	Mollusca	Hjemmehørende
113	<i>Mya arenaria</i>	Mollusca	Ikke-hjemmehørende
114	<i>Mysidae indet.</i>	Crustacea	Hjemmehørende
115	<i>Mytilus edulis</i>	Mollusca	Hjemmehørende
116	<i>Nematoda indet.</i>	Nematoda	Hjemmehørende
117	<i>Nemertini indet.</i>	Nemertea	Hjemmehørende
118	<i>Nephtys ciliata</i>	Annelida	Hjemmehørende
119	<i>Nephtys hombergii</i>	Annelida	Hjemmehørende
120	<i>Nereis pelagica</i>	Annelida	Hjemmehørende
121	<i>Nereis sp.</i>	Annelida	Hjemmehørende
122	<i>Nudibranchia indet.</i>	Mollusca	Hjemmehørende
123	<i>Nymphon sp.</i>	Arthropoda	Hjemmehørende
124	<i>Obelia dichotoma</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
125	<i>Obelia geniculata</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
126	<i>Obelia longissima</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
127	<i>Obelia sp.</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
128	<i>Oligochaeta indet.</i>	Annelida	Hjemmehørende
129	<i>Opercularella lacerata</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
130	<i>Ophiothrix fragilis</i>	Echinodermata	Hjemmehørende
131	<i>Palaemon elegans</i>	Crustacea	Kryptogen
132	<i>Parvicardium exiguum</i>	Mollusca	Hjemmehørende
133	<i>Parvicardium sp.</i>	Mollusca	Hjemmehørende
134	<i>Pectinaria koreni</i>	Annelida	Hjemmehørende
135	<i>Pedicellina sp.</i>	Entoprocta	Hjemmehørende
136	<i>Peringia ulvae</i>	Mollusca	Hjemmehørende
137	<i>Petalonia fascia</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
138	<i>Phycodrys rubens</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
139	<i>Phyllodoce maculata</i>	Annelida	Hjemmehørende
140	<i>Platyhelminthes</i>	Platyhelminthes	Hjemmehørende
141	<i>Platynereis dumerilii</i>	Annelida	Hjemmehørende
142	<i>Pododesmus patelliformis</i>	Mollusca	Hjemmehørende
143	<i>Polychaeta indet.</i>	Annelida	Hjemmehørende
144	<i>Polydora ciliata</i>	Annelida	Hjemmehørende
145	<i>Polydora cornuta</i>	Annelida	Kryptogen
146	<i>Polynoidae indet.</i>	Annelida	Hjemmehørende
147	<i>Polyplacophora indet.</i>	Mollusca	Hjemmehørende
148	<i>Polysiphonia stricta</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
149	<i>Porifera indet.</i>	Porifera	Hjemmehørende
150	<i>Prionospio fallax</i>	Annelida	Hjemmehørende
151	<i>Pterothamnion plumula</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
152	<i>Pygospio elegans</i>	Annelida	Hjemmehørende
153	<i>Pylaiella littoralis</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
154	<i>Rhithropanopeus harrisii</i>	Crustacea	Ikke-hjemmehørende
155	<i>Rissoa parva</i>	Mollusca	Hjemmehørende
156	<i>Rissoa sp.</i>	Mollusca	Hjemmehørende
157	<i>Saccharina latissima</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
158	<i>Sargassum muticum</i>	Algae (Ochrophyta)	Ikke-hjemmehørende
159	<i>Scagelothamnion pusillum</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
160	<i>Schizonema</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
161	<i>Schizoporella japonica</i>	Bryozoa	Ikke-hjemmehørende

162	<i>Scoloplos armiger</i>	Annelida	Hjemmehørende
163	<i>Scruparia ambigua</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
164	<i>Scrupocellaria scruposa</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
165	<i>Sertularia cupressina</i>	Cnidaria	Hjemmehørende
166	<i>Sinelobus vanhaareni</i>	Crustacea	Ikke-hjemmehørende
167	<i>Spermothamnion repens</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
168	<i>Sphacelaria cirrosa</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
169	<i>Sphaceloderma caespitulum</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
170	<i>Sphaerosyllis sp.</i>	Annelida	Hjemmehørende
171	<i>Spio filicornis</i>	Annelida	Hjemmehørende
172	<i>Spirobranchus triqueter</i>	Annelida	Hjemmehørende
173	<i>Spirorbinae indet.</i>	Annelida	Hjemmehørende
174	<i>Spisula subtruncata</i>	Mollusca	Hjemmehørende
175	<i>Spongonema tomentosum</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
176	<i>Stenothoe sp.</i>	Crustacea	Hjemmehørende
177	<i>Streblospio benedicti</i>	Annelida	Kryptogen
178	<i>Sycon ciliatum</i>	Porifera	Hjemmehørende
179	<i>Syllidia armata</i>	Annelida	Hjemmehørende
180	<i>Terebellidae indet.</i>	Annelida	Hjemmehørende
181	<i>Tharyx killariensis</i>	Annelida	Kryptogen
182	<i>Tritia reticulata</i>	Mollusca	Hjemmehørende
183	<i>Tubificoides benedii</i>	Annelida	Hjemmehørende
184	<i>Ulothrix sp.</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
185	<i>Ulva sp.</i>	Algae (Ochrophyta)	Hjemmehørende
186	<i>Urothoe sp.</i>	Crustacea	Hjemmehørende
187	<i>Varicorbula gibba</i>	Mollusca	Hjemmehørende
188	<i>Verruca stroemia</i>	Crustacea	Hjemmehørende
189	<i>Vertebrata fucoides</i>	Algae (Rhodophyta)	Hjemmehørende
190	<i>Walkeria uva</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
191	<i>Zostera marina</i>	Magnoliophyta	Hjemmehørende

HAVNEOVERVÅGNING AF IKKE-HJEMMEHØRENDE ARTER 2021

Havstrategiens deskriptor 2

Rapporten leverer en kvantificering af ikke-hjemmehørende arter i seks udvalgte danske havne (Esbjerg Havn, Hirtshals Havn, Frederikshavn Havn, Aarhus Havn, Fredericia Havn og Københavns Havn) ved anvendelse af konventionelle (skrab, bundprøver og begroningsplader) og eDNA-baserede (qPCR) overvågningsmetoder. I alt blev der fundet 24 ikke-hjemmehørende arter i de seks havne, heraf to helt nye arter for danske farvande. Sammenlignet med baseline undersøgelser i 2017 var der 15 gengangere. Rapporten leverer en række anbefalinger til optimering af den fremtidige havneovervågning.