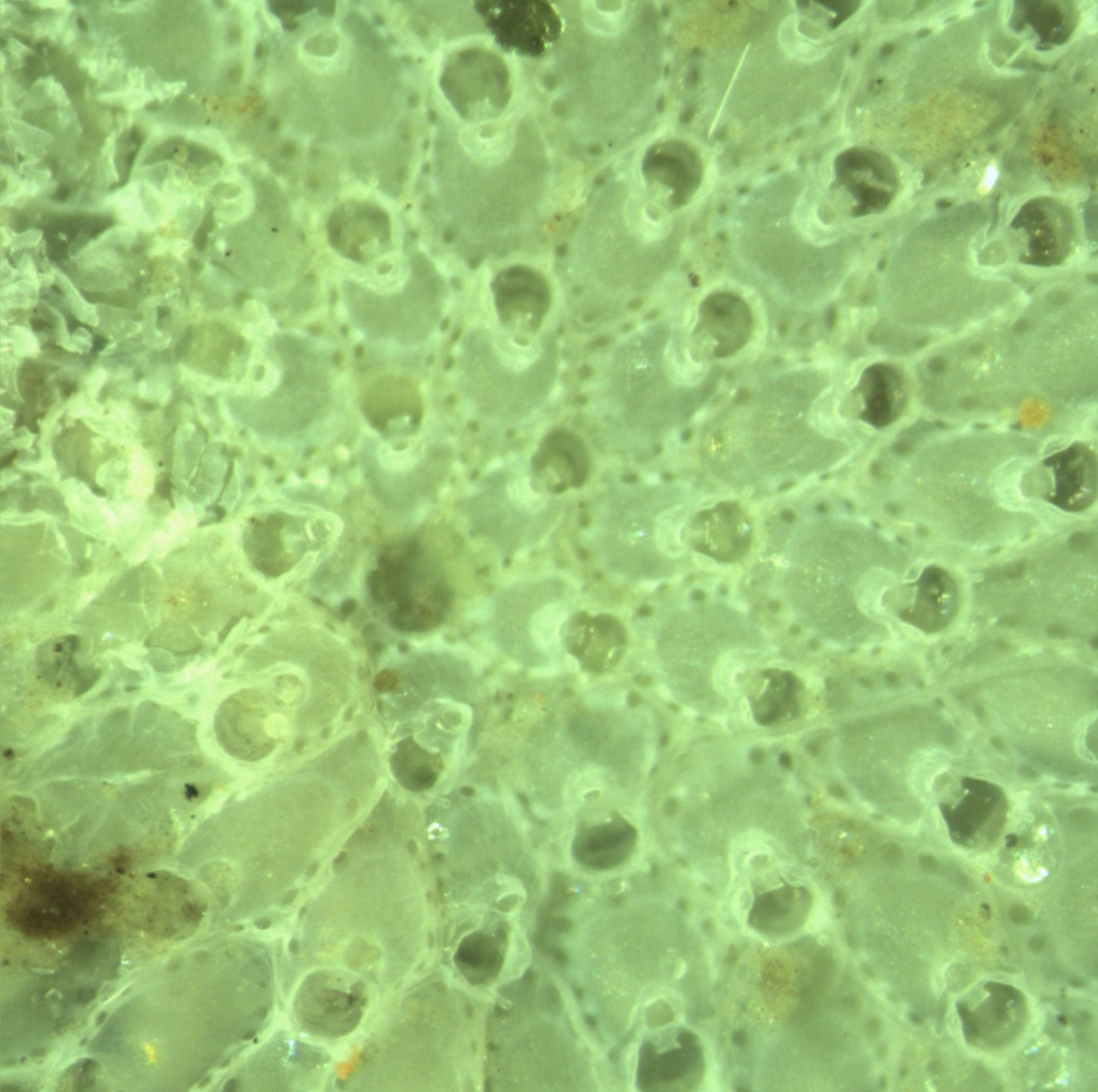




HAVNEOVERVÅGNING AF IKKE-HJEMMEHØRENDE ARTER 2023

Havstrategiens deskriptor 2

Videnskabelig rapport fra DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi

nr. 639

2025



AARHUS
UNIVERSITET

DCE – NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

HAVNEOVERVÅGNING AF IKKE-HJEMMEHØRENDE ARTER 2023

Havstrategiens deskriptor 2

Videnskabelig rapport fra DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi

nr. 639

2025

Peter A.U. Stæhr¹

Helle Buur¹

Sabrina J. Hvid¹

Adam Koziol¹

Louise Feld²

Rumakanta Sapkota²

Anne Winding²

Aarhus Universitet,

¹Institut for Ecoscience

²Institut 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. 639
Kategori:	Rådgivningsrapporter
Titel:	Havneovervågning af ikke-hjemmehørende arter 2023
Undertitel:	Havstrategiens deskriptor 2
Forfatter(e):	Peter A.U. Stæhr, Helle Buur, Sabrina J. Hvid, Adam Koziol, Louise Feld, Rumakanta Sapkota, Anne Winding
Institution(er):	Aarhus Universitet, Institut for Ecoscience og Institut for Miljøvidenskab
Udgiver:	Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi ©
URL:	https://dce.au.dk
Udgivelsesår:	2025
Redaktion afsluttet:	Januar 2025
Faglig kommentering:	Jakob Thyrring
Kvalitetssikring, DCE:	Anja Skjoldborg Hansen
Sproglig kvalitetssikring:	Anne Winding
Ekstern kommentering:	Kommentarerne findes her:
Finansiel støtte:	Miljø og ligestillingsministeriet
Bedes citeret:	Stæhr, P.A.U., Buur, H., Hvid, S.J., Koziol, A., Feld, L., Sapkota, R., Winding, A. 2025. Havneovervågning af ikke-hjemmehørende arter 2023. Havstrategiens deskriptor 2. Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi, 55 s. - Videnskabelig rapport nr. 639
	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, Københavns Havn), samt tre lystbådehavne (Esbjerg, Aarhus og Svanemøllen (København)). Overvågningen fandt sted i sommeren 2023 og omfattede konventionelle metoder (skrab, bundprøver og begroningsplader) og eDNA-baserede (qPCR) overvågningsmetoder. I alt blev der fundet 32 ikke-hjemmehørende arter i de ni havne, heraf to helt nye arter for danske farvande. 20 NIS var gengangere fra 2021 overvågningen hvor der blev fundet 25 NIS.
Emneord:	Ikke-hjemmehørende arter; Havne, eDNA, Konventionelle metoder, Overvågning
Layout:	Peter A.U. Stæhr
Illustrationer:	Rumakanta Sapkota, Peter A.U. Stæhr, Adam Koziol
Foto forside:	Fund af et nyt ikke-hjemmehørende mosdyr (<i>Smittoidea prolifica</i>) i Aarhus havn. Foto af Helle Buur
ISBN:	978-87-7156-921-6
ISSN (elektronisk):	2244-9981
Sideantal:	55

Indhold

Forord	5
Sammenfatning	6
Summary	7
1 Indledning	8
Formål og opgavedefinition	9
2 Metoder og prøvetagning	11
Prøvetagning	11
Metoder	13
Dataanalyse	17
3 Resultater	18
Antal NIS per havn, gruppe, station og sæson	18
Antal ikke-hjemmehørende arter per metode	22
Beskrivelser af observerede ikke-hjemmehørende arter	25
4 Diskussion	35
Generel diskussion af resultater og metoder	35
Sammenligning med 2021 overvågningen	37
5 Perspektivering	38
eDNA metoden	38
Konventionelle metoder	39
6 Referencer	40
7 Bilag	46

Forord

Denne rapport leverer nye data for overvågning af ikke-hjemmehørende marine arter i seks større danske havne samt tre større lystbådehavne, ved brug af konventionelle prøvetagningsmetoder samt eDNA (qPCR). Rapporten, som er finansieret, bestilt og kommenteret af Miljøstyrelsen, understøtter NO-VANA 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 II i perioden 2021-2026, hvor ikke-hjemmehørende arter fremadrettet skal overvåges i de førnævnte danske havne hvert andet år. Foruden nye data, leverer rapporten en sammenligning med en tilsvarende tidligere undersøgelse.

Sammenfatning

Denne rapport er et bidrag til 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 seks udvalgte danske industrihavne (Esbjerg Havn, Hirtshals Havn, Frederikshavn Havn, Aarhus Havn, Fredericia Havn og Københavns Havn) samt tre større lystbådehavne (Esbjerg, Aarhus og Svanemøllen). Projektet har til formål at registrere antallet af ikke-hjemmehørende arter ved anvendelse af konventionelle (skrab, bundprøver og begroningsplader) og eDNA-baserede (qPCR) overvågningsmetoder i løbet af juni til september 2023. I alt blev der fundet 32 ikke-hjemmehørende arter (25 med konventionelle og 11 med eDNA metoder, fire til fælles) i de ni havne, varierende mellem 9 og 16 ikke-hjemmehørende arter i hver havn. To helt nye ikke-hjemmehørende arter for danske farvande blev registreret (*Smittidea prolifica* og *Tricellaria inopinata*). De er begge mosdyr og blev fundet i hhv. Aarhus Havn og Frederikshavn Havn med konventionelle metoder. Hvor der i de seks industrihavne, blev fundet 25 NIS i 2021, blev der i 2023 undersøgelsen registreret 27 ikke-hjemmehørende arter. Af disse var der 20 gengangere og 12 de kun blev fundet i en af undersøgelserne. Det totale antal ikke-hjemmehørende arter for de to havneundersøgelser er nu oppe på 32 (industrihavnene) og 37 (industri samt lystbådehavne). Rapporten evaluerer anvendte metoder og indsamlingsdesign og giver afslutningsvis anbefalinger til optimering af den fremtidige havneovervågning.

Summary

This report is a contribution to 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 industrial harbors (Esbjerg, Hirshals, Frederikshavn, Aarhus, Fredericia, and Copenhagen) and three larger marinas (Esbjerg, Aarhus, and Svanemøllen). The project, which is ordered and financed by the Danish EPA, aims to register NIS during June to September 2023, using a suite of conventional techniques (scrapings, sediment samples, and settling plates) and eDNA-based (qPCR) techniques. In total 32 NIS species were found, 25 with conventional and 7 with eDNA methods, four in common for all nine monitored harbors. The number of NIS per harbor varied between 9 and 16 species. Two new NIS species for Danish waters were observed (*Smittoidea prolifica* and *Tricellaria inopinata*). They are both bryozoans and were observed with conventional methods in Aarhus and Frederikshavn harbors, respectively. Compared with the previous NIS monitoring in during 2021 for the same six industrial harbors, where 25 NIS species were found, we observed 27 NIS in these in 2023. There was a redundancy of 20 NIS and a difference in 12 species. The total number of NIS for the 2021 and 2023 investigation is now 32 (industrial harbors) and 37 (industrial harbors and marinas). Finally, this report evaluates the applied methods and provides recommendations for future NIS monitoring in Danish harbors.

1 Indledning

De seneste opgørelser viser, at der er registreret 817 ikke-hjemmehørende marine arter i de europæiske farvande (Zenetos et al. 2022), heraf 123 alene i danske farvande, med en årlig øgning på ca. 2 arter (Jensen et al. 2023). Selv om spredning af marine arter er en naturlig proces, er den geografiske udbredelse og spredningshastighed af arter dog begrænset af en række fysiske og miljøbetingede spredningsbarrierer (Thomsen et al. 2008). Dette gælder særligt for arter fra andre kontinenter, som kun kan introduceres ved nedbrydning af disse barrierer. Menneskets aktiviteter, såsom handel og rejser, har i løbet af især det sidste århundrede, medført en voldsom stigning i indvandring af arter til nye områder (Katsanevakis et al. 2023). Klimaforandringer har yderligere bidraget til at fremme indvandring af mere varmeelskende arter, herunder flere ikke-hjemmehørende (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" (Non-indigenous ~NIS på engelsk) defineres således 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 følgende del; kønscelle, frø, æg eller afkom fra en sådan art, som kan overleve og efterfølgende reproducere sig (IUCN, 2000). Visse ikke-hjemmehørende arter kan være kryptogene, dvs. af ukendt oprindelse, som muligvis ikke er direkte introducerede, men kan være ankommet grundet ændringer i miljøet, såsom opvarmning (Tsimamis et al., 2019). Uanset oprindelsen, kan en ikke-hjemmehørende art sprede sig og etablere sig og forårsage skadelige effekter på de oprindelige arter og det modtagende økosystem, og vil i så fald kaldes en invasiv art. Invasive arter kan som følge deraf medføre alvorlige økologiske, men også økonomiske og helbredsmaessige konsekvenser (Katsanevakis et al. 2023). 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, Roy et al. 2023).

Hastigheden, hvormed nye NIS introduceres til danske farvande, har været kraftigt stigende i løbet af de seneste årtier (Stæhr & Thomsen 2012, Stæhr et al. 2016, Stæhr et al. 2020, Jensen et al. 2023). På europæisk plan vurderes de fleste NIS at blive introduceret via ballastvand eller begroning på skibe efterfulgt af akvakultur og sekundær spredning (Katsanevakis et al. 2023). Vores viden om tilførselsveje til danske farvande er desværre sparsom, men det formodes at disse spredningsveje også er vigtige vektorer her (Stæhr et al. 2012, Litehauz 2016). Det er dermed forventeligt at havne med mange tilløb af større oceangående skibe, er hot spots for marine ikke-hjemmehørende arter (Andersen et al., 2014).

De ikke-hjemmehørende arter, som er relevante 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)" rapporterne, udført af NIVA Danmark (Andersen

et al. 2014, Andersen et al. 2016, Andersen et al. 2018) og herefter havneovervågningen udført af DCE (Andersen et al. 2023), systematisk undersøgt forekomsten af ikke-hjemmehørende arter i en række større danske industrihavne samt givet anbefalinger til monitorering af disse arter.

På trods af Danmarks implementering af den internationale ballastvandkonvention i 2017, fortsætter antallet af nye NIS med at være ca. 2 om året. Det er Miljøstyrelsen, som fører tilsyn med overholdelsen af reglerne. De danske myndigheder har derfor stor interesse i at vurdere effekten af implementeringen af ballastvandkonventionen. Danmark er desuden i kraft af Danmarks Havstrategi (Naturstyrelsen 2012) samt regionale havkonventioner (OSPAR og HELCOM) forpligtet til at afrapportere udviklingen i antallet af NIS. Danmark er endvidere af EU Kommissionen (COM/2017/03 final) blevet anbefalet at iværksætte en målrettet overvågning af marine ikke-hjemmehørende arter i hot spots områder og i formodede spredningsveje.

Derfor blev det indarbejdet i det seneste overvågningsprogram for Danmarks havstrategi i 2021-2026 (Miljø- og Fødevareministeriet, 2019), at ikke-hjemmehørende arter fremadrettet skal overvåges i seks danske havne, hvert andet år i både forår og efterår. Sidenhen er der kommet et ønske om overvågning i yderligere tre større lystbådehavne, da introduktion via begroning på lystbåde også vurderes at være en væsentlig spredningsmekanisme. Det er denne overvågning af industrihavne og lystbådehavne, forår og efterår 2023, nærværende projekt præsenterer.

Overvågning af ikke-hjemmehørende arter forhindrer ikke nye arter i at etablere sig. Adskillige studier har vist at når en ikke-hjemmehørende art først har etableret sig i det marine miljø, er den vanskelig at begrænse. 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, så som lov-mæssige foranstaltninger, herunder EU Kommissionens Havstrategiramme-direktiv (MSFD), som har til formål at opnå god økologisk tilstand (Good Environmental Status (GES)). I Kommissionens GES-afgørelse er der fastlagt ét primær 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). 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 hårbund (Fossing & Stæhr, 2017).

Formål og opgavedefinition

Formålet med nærværende projekt er at registrere antallet af ikke-hjemmehørende arter i seks danske industrihavne (Esbjerg Havn, Hirtshals Havn, Frederikshavn Havn, Aarhus Havn, Fredericia Havn og Københavns Havn) samt i tre større lystbådehavne (Esbjerg Havn, Aarhus Havn, og Svanemøllen Havn). Disse havne er udvalgt på baggrund af deres dækningsgrad i forhold

til HELCOM og OSPAR's havområder, størrelse og skibstrafik og derved deres relative potentiale som spredningsveje for ikke-hjemmehørende arter.

I undersøgelsen af de ni havne er 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 ved hjælp af qPCR. Denne metode bygger på artsspecifikke primere og prober for 19 udvalgte ikke-hjemmehørende marine arter (Andersen et al., 2018, Knudsen et al. 2020b).

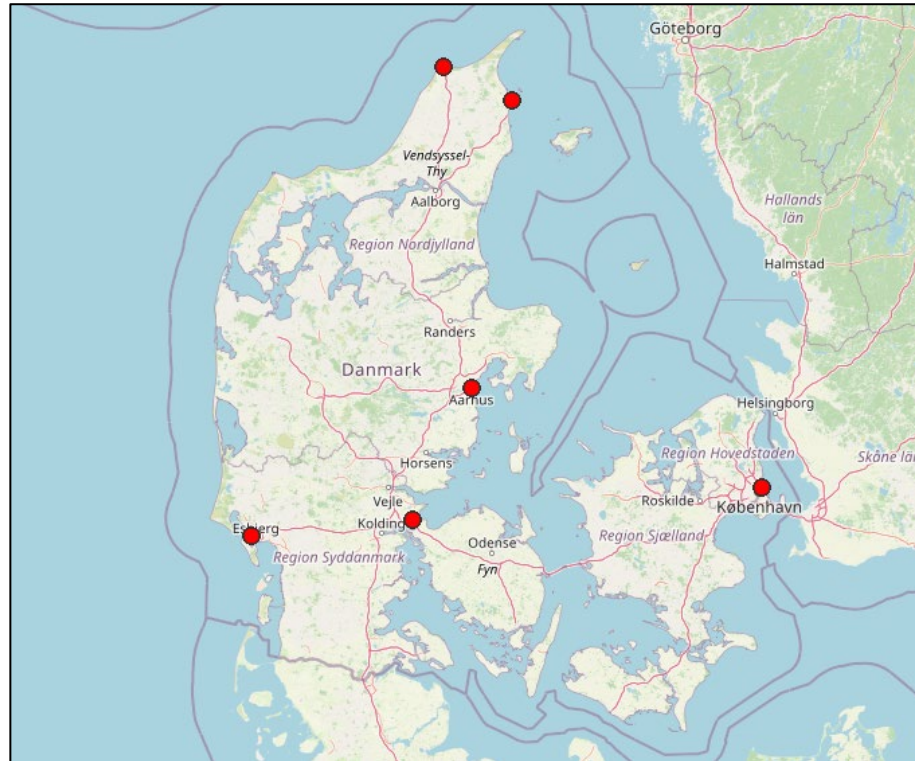
Registreringen af ikke-hjemmehørende arter foregik i perioden juni til september 2023. De resulterende data vil blive indrapporteret til de relevante nationale og regionale dataholdere (Miljøstyrelsen, OSPAR, HELCOM, AquaNIS og EASIN).

2 Metoder og prøvetagning

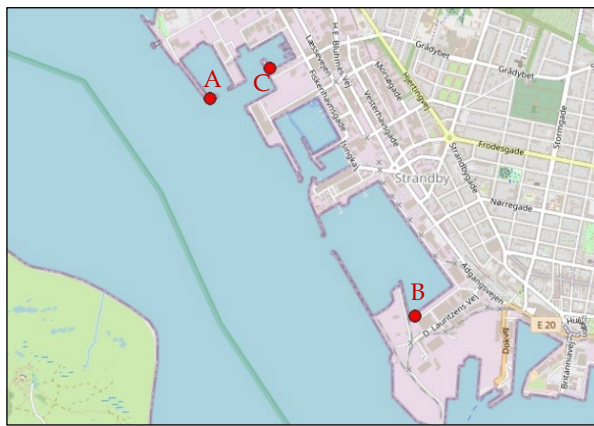
Prøvetagning

Indsamling af feltprøver blev foretaget i juni og september i 2023. I alle ni havne; seks industrihavne: Esbjerg Havn, Hirtshals Havn, Frederikshavn Havn, Aarhus Havn, Fredericia Havn og Københavns Havn (Figur 2.1) og tre lystbådehavne: Esbjerg, Aarhus og København (Svanemøllen) blev de samme undersøgelsesmetoder anvendt, dog med færre stationer i lystbådehavnene.

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. Hertil er der indsamlet prøver fra tre lystbådehavne (Esbjerg, Aarhus og København (Svanemøllen)).



I hver industrihavn blev der placeret tre stationer, resulterende i samlet 18 stationer (Figur 2.2). For at optimere prøvetagningen i lystbådehavnene og sikre god dækning af prøverne, indsamledes prøver fra tre indsamlingssteder i hver lystbådehavn (Figur 2.3) (vand til eDNA, skrabe og bundprøver). Disse tre prøver blev efterfølgende puljet til én prøve for hver lystbådehavn for at optimere prøveopbejdningen, og hver lystbådehavn repræsenteres således af én puljet prøve. Desuden blev der på tre steder udsat begroningsplader i hver lystbådehavn, dog kun med en plade på hver lokalitet. Dette er begrundet i den lavere dybde i lystbådehavnene og ud fra et ønske om at opnå god rumlig dækning i havnene.



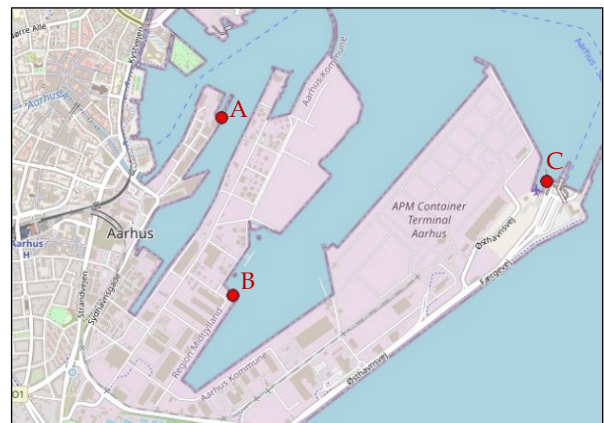
Esbjerg



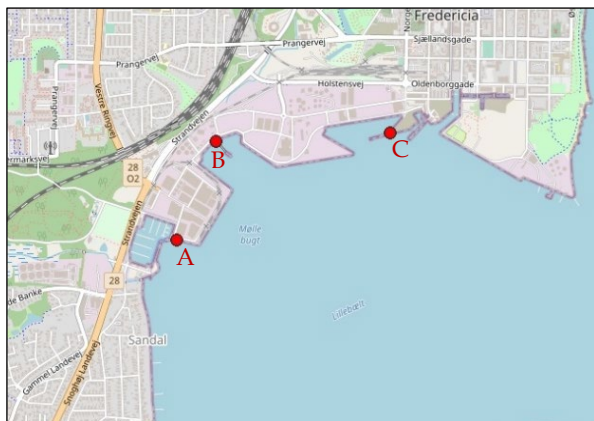
Hirtshals



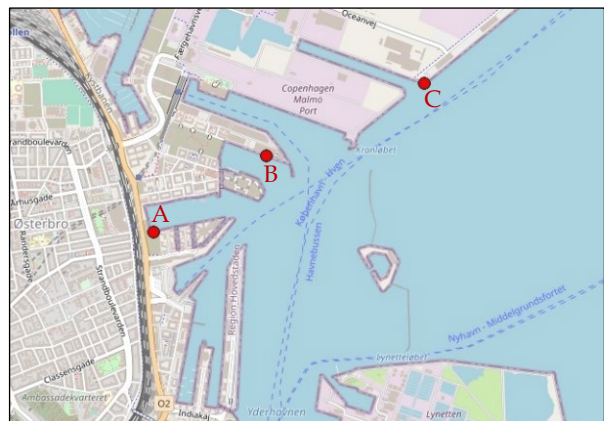
Frederikshavn



Aarhus



Fredericia



København

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



Figur 2.3. Indsamling i tre større lystbådehavne til overvågning af NIS. De røde prikker angiver indsamlingsstederne og placering af begroningsplader.

Indsamlingen i juni og september omfattede begge eDNA vandprøver, mens de konventionelle prøver samt begroningspladerne kun blev indsamlet i september. For eDNA metoden er det derfor muligt at vurdere betydningen af årstiden i antallet af ikke-hjemmehørende arter i hver havn.

Metoder

Prøvetagningsmetoderne er opdelt i to hovedgrupper, eDNA og konventionelle metoder. eDNA-metoden indebærer indsamling af vandprøver 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 begroningsplader. Det biologiske materiale indsamlet med disse 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.

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 udelukkende brugt til at fastsætte indsamlingsdybden for eDNA prøverne, ifølge gældende tekniske anvisninger (Fossing & Stæhr, 2017) og ikke afleveret i denne rapport. Alle prøver blev indsamlet fra molerne/broerne i havnene, og der er ikke brugt båd i dette projekt.

2.1.1 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 2023 i havnene og indhentet i slutningen af september 2023. 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. I industrihavnene blev pladerne fordelt ligeligt i vandsøjlen (1 m over bund, midt i vandsøjlen og 1 m under

overfladen) med ottetalsknob på et 10 mm reb, fastgjort til molen. I lystbådehavnene udsattes kun en plade midt i vandsøjlen for hver af de tre delstationer. For at holde rebet udstrakt og lodret i vandsøjlen, var der bundet en mursten for enden af rebet, som hvilede på bunden (Figur 2.4).

Figur 2.4. Begroningsplader anvendt i havnene. I lystbådehavnene blev der grundet den lave dybde, kun anvendt en plade per station.



Ved hjemtagelse blev begroningspladerne taget forsigtigt ud af vandet, og for hver station (3 stk.) blev disse konserveret, fastlåst på en 10 mm bolt med afstandsmøtrikker for at skåne dyr og planter, i 96 % ethanol til en slutkoncentration på 70 % i en plastbeholder. 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.

Bundprøver

Denne feltmetode er 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 2014). Prøverne blev taget med en håndholdt Van Veen grab (0,025 m²), og der blev taget én bundprøve per station (Figur 2.5). Prøven blev sigtet gennem en 1 mm sigte på havnen, og al materiale tilbageholdt blev konserveret med 96 % ethanol til en slutkoncentration på 70 %.

Figur 2.5. Håndholdt Van Veen grab og sigte anvendt i fbm. 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 2.6). Der blev skrabet fra 1 m under overfladen til overfladen (ca. 0,1 m²) per skrab. Det afskrabede materiale blev konserveret med 96 % ethanol til en slutkoncentration på 70 %, og arterne blev efterfølgende identificeret i laboratoriet ved brug af stereolup og mikroskop med tilhørende fotodokumentation (af de fundne NIS arter).

Figur 2.6. Skrabere som anvendes i havnene til indsamling af skrabepøver.



2.1.2 eDNA metode

Indsamling af vandprøver

Indsamling af vand til eDNA vandprøver foregik 1 m under overfladen og ellers efter forskrifterne i teknisk anvisning, TA 30 (Knudsen et al., 2020a), med en 2 L Van Dorn vandhenter fra firmaet KC Denmark A/S. For hver prøve blev der filtreret mellem 550 og 1500 ml havvand alt sammen over minimumskravet på 250 ml.

DNA ekstraktion fra ikke-hjemmehørende arter

DNA blev i fbm. havneovervågningen afleveret i 2023, ekstraheret fra alle de 19 arter som anvendes i den nærværende overvågning (se Bilag 1). Metoden er beskrevet i Andersen et al. (2023). Dette genomiske DNA anvendes som positiv kontrol i standardkurver og til estimering af kopiantal i en PCR reaktion til standardkurve og dette qPCR produkt anvendes til som positiv kontrol ved qPCR til kontrol af amplificering af rette DNA sekvens samt til beregning af kopiantal.

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.

2.1.3 PCR af ikke-hjemmehørende arter

Genomisk DNA fra de ikke-hjemmehørende arter blev PCR amplificeret med de specifikke primere angivet i Andersen et al. (2018) og Knudsen et al. (2020b, 2022) til at udarbejde standardkurver og som positiv kontrol. Efter aftale med Miljøstyrelsen, anvendtes kun detektionssystemer for 19 arter. Se Bilag 1 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.

2.1.4 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. (2020b og 2022) og i overensstemmelse med Havneovervågningen i 2021 (Andersen et al. 2023). TaqMan qPCR blev brugt til påvisning og delvis kvantificering af ikke-hjemmehørende arter i DNA ekstraheret fra vandprøver. 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 19 ikke-hjemmehørende arter (Se Bilag 2 i Andersen et al. 2023). Totalvolumen i PCR reaktionen var 25 µl, bestående af 3 µl eDNA template (1-10 ng µl⁻¹), 1 µl af hver 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 standardkurver 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. eDNA prøverne blev fortyndet til 1-5 ng eDNA µl⁻¹.

Til beregning af kopianantal blev serielle fortyndinger af oprensede PCR-produkter brugt til standardkurver. Standardkurver blev opnået ved hjælp af plots af kritisk tærskel (Ct) versus logaritmen af en 10 gange seriel fortynding af DNA-produkter. DNA-genkopinumrene blev beregnet ud fra standardkurven af Bio-Rad CFX manager 3.1 (Bio-Rad, Hercules, USA) ved hjælp af DNA-koncentrationer af de serielle fortyndinger.

Sikkerheden i detektionen af NIS med qPCR kan estimeres 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 replikater, Limit of Quantification (LOQ), som er laveste koncentration med positivt signal i alle tre tekniske replikater, og endelig de prøver, hvor en eller flere tekniske replikater er over LOQ (Andersen et al. 2022). Ifølge Merkes et al. (2019) kan data over LOQ anvendes til kvantitativ forekomst, mens data under LOQ eller LOD er kvalitative. Ved værdier under LOD er sandsynligheden for at detektere target DNA lav og afhænger af antal replikater. I nærværende undersøgelse er der anvendt tre tekniske replikater (ifølge Knudsen et al. 2020a) til fortolkning af data og estimering af forekomst. Bilag 2 viser sikkerheden i NIS detektionen med qPCR i denne undersøgelse.

Dataanalyse

Arter er medtaget som ikke-hjemmehørende, hvis de optræder på den danske NIS-bruttoliste, som omfatter både ikke-hjemmehørende og kryptogene arter. Desuden anvendtes en NIS-bruttoliste for Europæiske farvande (beskrevet i Stæhr et al. 2023) til at sammenholde fund af nye arter for danske farvande. For alle ikke-hjemmehørende arter (både registreret ved konventionelle metoder og qPCR) har vi anvendt nyeste taksonomiske litteratur og klassifikation i fht. WORMS for at anvende det aktuelle artsnavn.

For arter observeret ved brug af qPCR, har vi accepteret disse, når en ikke-hjemmehørende art blev registreret i to ud af tre tekniske replikater. (Bilag 2).

3 Resultater

Der er i alt blevet observeret 32 ikke-hjemmehørende arter ved undersøgelse af de seks havne og tre lystbådehavne, som indgik i projektet. Heraf to nye observationer, som aldrig før er set i Danmark. De 2 nye arter er begge mosdyr (*Smittoidea prolifica* og *Tricellaria inopinata*) og blev fundet i hhv. Aarhus industrihavn og Frederikshavn Havn.

Prøver fra alle ni havne i projektet (seks industrihavne: Esbjerg Havn, Hirtshals Havn, Frederikshavn Havn, Aarhus Havn, Fredericia Havn og København Havn samt tre lystbådehavne: Esbjerg Havn, Aarhus Havn og København Havn (Svanemøllen) blev indsamlet med fire identiske metoder. Disse omfatter en molekylær metode (eDNA vandprøver) og tre konventionelle metoder (sedimentprøve, skrabeprobe og begroningsplader). I lystbådehavnene blev de indsamlede prøver dog puljet for at optimere prøveopbevaringen, (se afsnit 2). Anvendelse af samme metoder og sammenlignelige indsamlingsdesign gør, at resultaterne kan sammenlignes havnene imellem. Der er dog enkelte undtagelser: På nogle stationer (se Bilag 3) var havbunden meget stenet, hvilket besværliggjorde indsamling af sedimentprøver med Van Veen Grab. Desuden manglede begroningspladerne på nogle af stationerne ved efterårets indsamling (Bilag 3). De konventionelle detektioner af NIS kan derfor være underrepræsenteret i nogle af havnene.

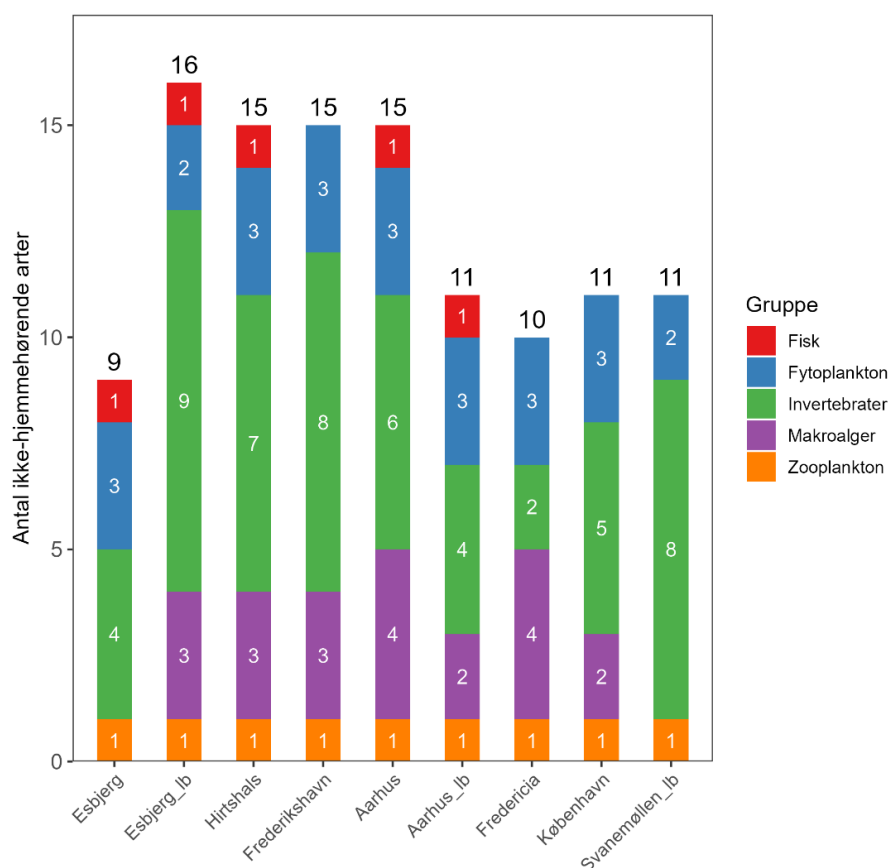
Følgende resultatafsnit er opdelt i to hovedsektioner. Afsnit 3.1, som udelukkende omhandler antallet af ikke-hjemmehørende arter fundet i hver havn, efterfulgt af afsnit 3.2, som opgør antallet af ikke-hjemmehørende arter fundet per metode. Dette skaber et godt sammenligningsgrundlag på tværs af havne og metoder, i forhold til hvor mange ikke-hjemmehørende arter, der er observeret i projektet. Afsnit 3.3 giver afslutningsvist en mere detaljeret beskrivelse af fund af nye ikke-hjemmehørende arter for danske farvande.

Antal NIS per havn, gruppe, station og sæson

3.1.1 Antal per havn

Blandt industrihavnene varierede antallet af ikke-hjemmehørende arter mellem 9 (Esbjerg havn) og 15 (Hirtshals, Frederikshavn og Aarhus Havn). Til sammenligning blev der fundet 16 (Esbjerg), 11 (Aarhus) og 11 (Svanemøllen) ikke-hjemmehørende arter i de tre lystbådehavne (Figur 3.1). Det lave antal ikke-hjemmehørende arter i Esbjerg Havn mod 16 i den tilstødende lystbådehavn indikerer, at udfordringerne ved indsamling af sedimentprøverne i industrihavnen (se Bilag 3) medførte en underestimering af NIS antallet i Esbjerg industrihavn.

Figur 3.1. I nærværende overvågning er der i alt blevet fundet 32 ikke-hjemmehørende arter. I hver af de seks industrihavne, som indgik i projektet, er der undersøgt tre stationer, mens der blev analyseret én puljet prøve i hver lystbådehavn. Figuren viser det samlede antal ikke-hjemmehørende arter fundet i hver havn.



3.1.2 Antal per gruppe

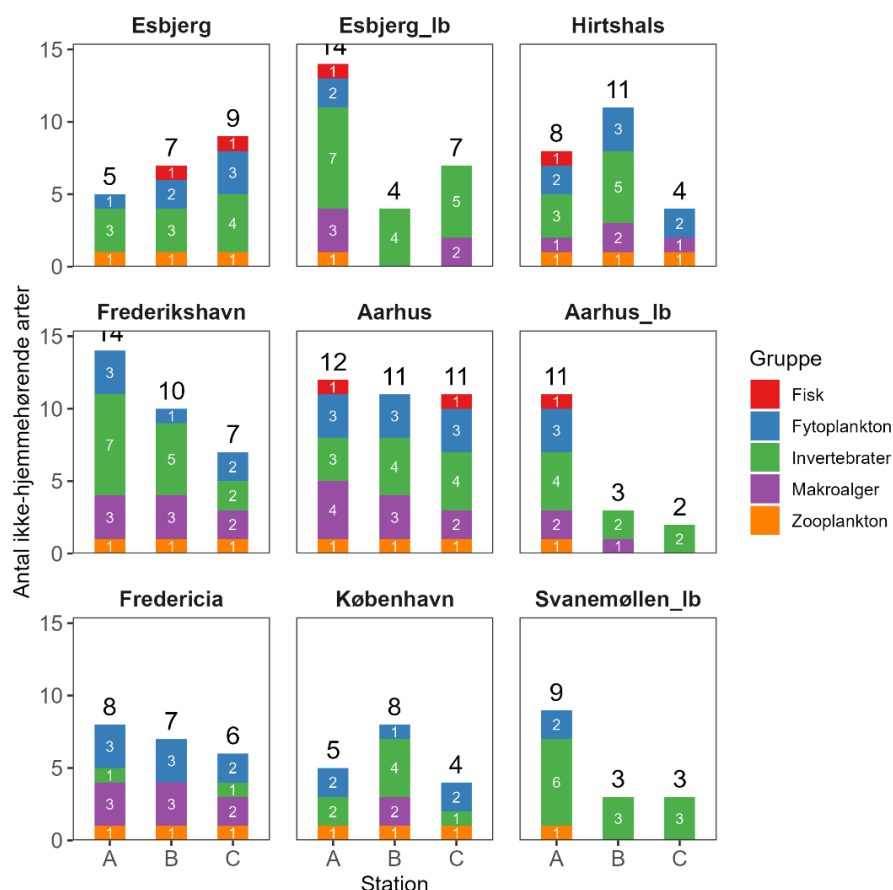
Fordelingen af NIS er overordnet: fisk (5%), fytoplankton (24%), invertebrater (45%), makroalger (18%) og zooplankton (9%). Fordeling mellem grupperne varierer dog betydeligt havnene imellem. Makroalger udgør f.eks. 40% i Fredericia men 0% i Esbjerg og Svanemøllen havn. Og invertebrater udgør 73% i Svanemøllen men kun 14% i Hirtshals. Det er desuden værd at bemærke, at der ikke blev observeret ikke-hjemmehørende fisk i Fredericia, Frederikshavn, København og Svanemøllen Havn. I absolutte tal blev der fundet 1 fisk, 3 fytoplankton og 1 zooplankton NIS i næsten alle havnene vha. eDNA metoden, hvilket understreger, at eDNA systemet er sensitivt samt at arterne på qPCR listen er landsdækkende.

3.1.3 Antal per station

På nær Aarhus Havn og Fredericia Havn fandt vi generelt en høj variation i antallet af ikke-hjemmehørende arter stationerne imellem (Figur 3.2). Dette indikerer en heterogen fordeling af NIS arterne indenfor havnene, hvilket indikerer, at miljøgradienter (fra indre til ydre havn) påvirker arternes chance for at etablere sig, samt at arter, som NIS, der typisk forekommer i lave tætheder, kan være svære at detektere. Manglende prøver (tab af begroingsplader og besvær med at tage gode sedimentprøver) kan også have bidraget til variation mellem stationerne i de enkelte havne. Men selv i havne med få manglende prøver (f.eks. Fredericia Havn) er variationen på niveau med havne, hvor der var problemer med nogle af metoderne (fx Esbjerg og Hirtshals Havn). Samplingsdesignet med færre antal replikate stationer i lystbådehavnene kan også være en medvirkende årsag til at den høje variation i NIS antallet her. I havne hvor det var svært at tage en vellykket sedimentprøve

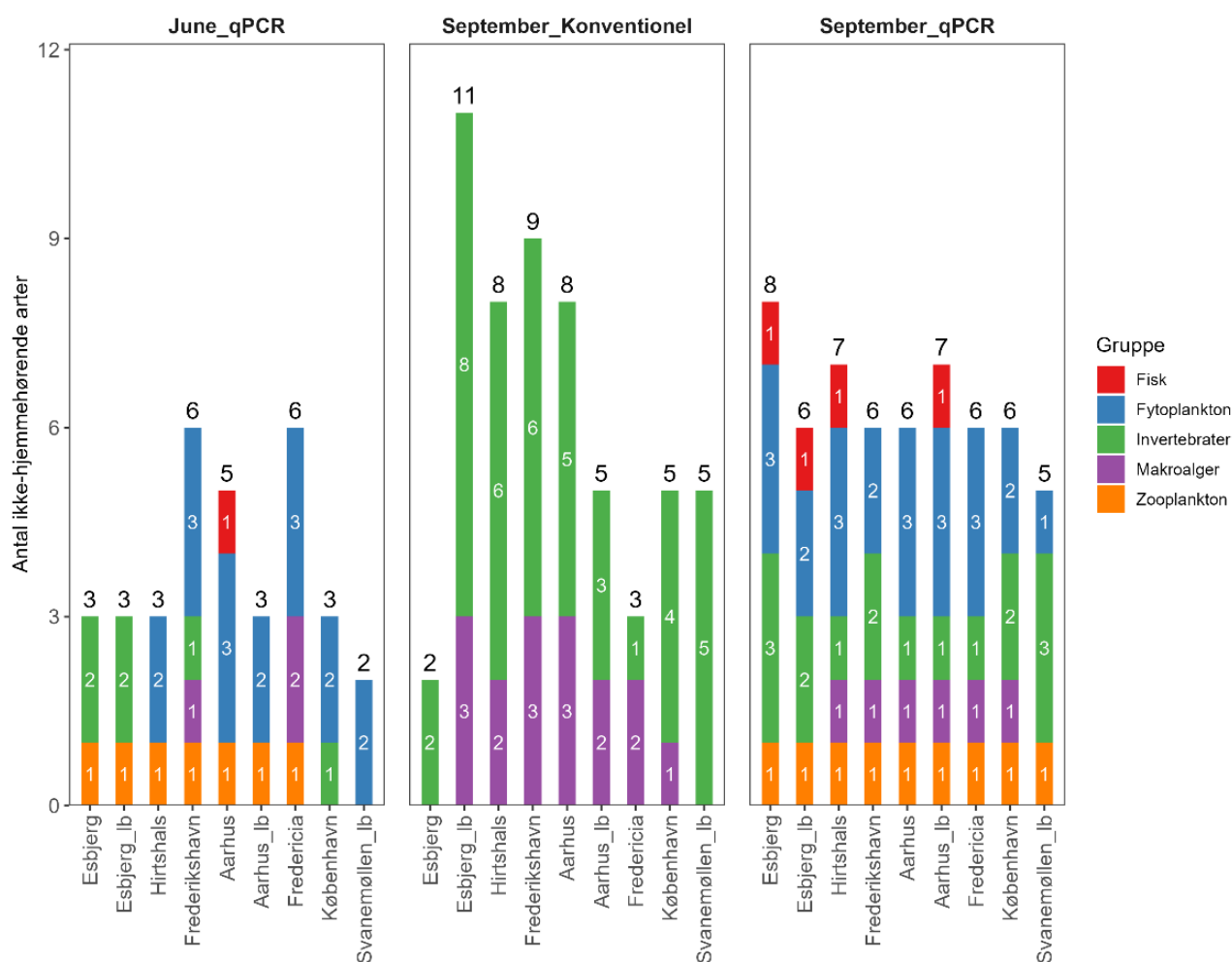
(Esbjerg og Hirtshals), er det sandsynligt at blødbundsfaunaen, – som generelt udgør en stor del af de fundne ikke-hjemmehørende invertebrater, blev underrepræsenteret. Derved blev NIS antallet med stor sandsynlighed også underrepræsenteret her. I nogle af havnene (fx Esbjerg havn) er størstedelen af NIS således fundet vha. eDNA teknikken, og disse er primært fyto- og zooplankton samt fisk (se Tabel 3.1). Dvs. grupper som de konventionelle prøver ikke adresserer. Det er desuden værd at bemærke, at det samlede antal arter (ikke-hjemmehørende og hjemmehørende) fundet ved visuel gennemgang af prøverne kun var 14 i Esbjerg havn (beskrevet senere), hvilket er markant lavere end de andre havne (34 til 68 arter) og den nærtliggende lystbådehavn (35 arter). Det lavere antal ikke-hjemmehørende arter i Esbjerg industrihavn er således påvirket af utilstrækkelig konventionel prøvetagning her.

Figur 3.2. Samlet antal af ikke-hjemmehørende arter fundet på hver station i både juni og september, i de seks industrihavne og tre lystbådehavne (lb) undersøgt i projektet.



3.1.4 Sæsonvariation

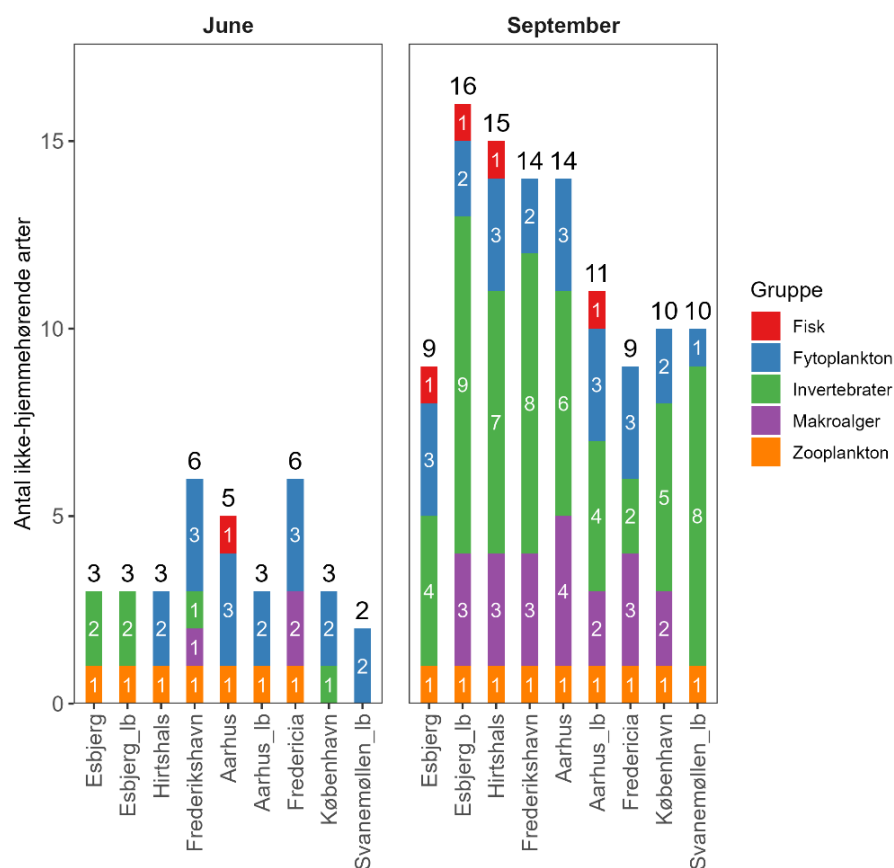
Indsamlingen af prøver i juni omfattede kun eDNA vandprøver, mens de konventionelle prøver (skrab, sediment og begroningsplader) også blev gennemført i september indsamlingen (Figur 3.3). På nær tre havne (Frederikshavn, Aarhus og Fredericia havn) detekterede eDNA (qPCR) systemet ca. dobbelt så mange NIS arter i september sammenlignet med juni indsamlingen. Af de i alt 11 NIS arter som eDNA systemet detekterede, blev alle både fundet i juni og september, dog med flere enkelte observationer i september.



Figur 3.3. Det samlede antal ikke-hjemmehørende arter observeret i hhv. juni og september ved anvendelse af eDNA (qPCR) detektion og ved oparbejdning af konventionelle (skrab, sediment og begroningsplader) prøver. eDNA vandprøverne blev indsamlet i både juni og september, mens de konventionelle prøver kun blev indsamlet i september. Der var i alt 4 NIS arter, som blev detekteret med både eDNA og konventionelle prøver.

Som eksempel herpå, blev der i alt detekteret fire arter (*Hemigrapsus takanoi*, *Magallana gigas*, *Bonnemaisonia hamifera* og *Rhithropanopeus harrisi*), med både eDNA og konventionelle prøver. Enkelte arter, fx *Bonnemaisonia hamifera* blev desuden detekteret to gange med både eDNA og konventionelle i hhv. Frederikshavn Havn, og i Aarhus lystbådehavn (Tabel 3.2). Der var således mange NIS som kun blev observeret med konventionelle metoder, hvorfor der samlet blev observeret betydeligt flere (ca. tre gange så mange) NIS i september indsamlingen (Figur 3.4).

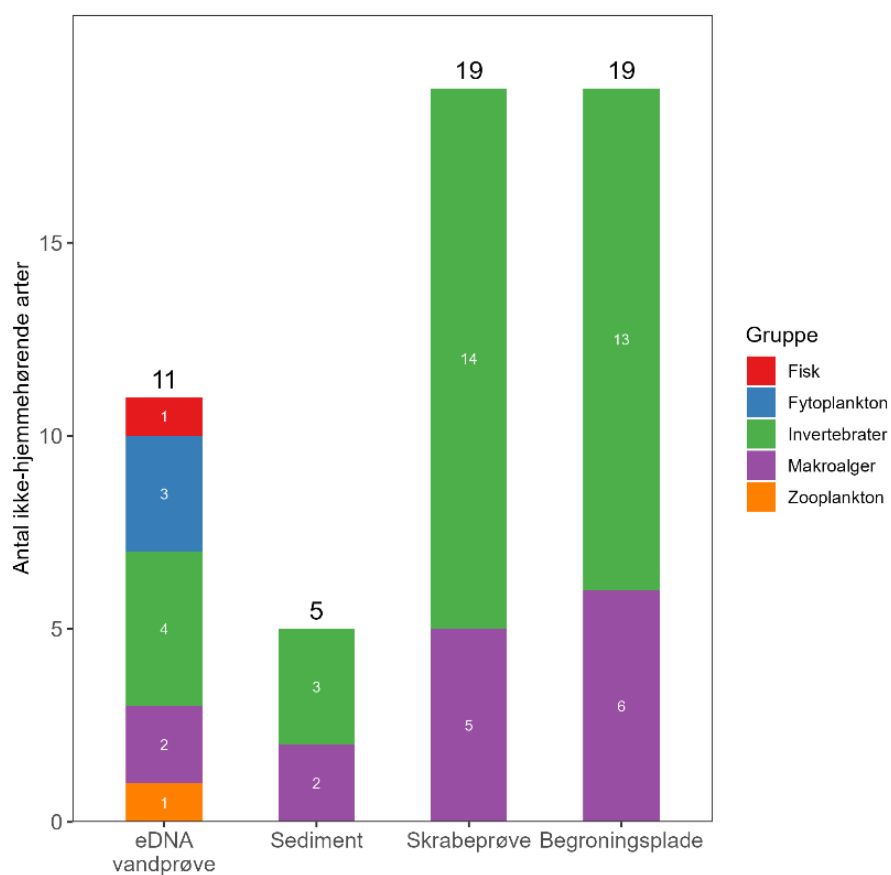
Figur 3.4. Antallet af NIS indsamlet i hhv. juni og september 2023 ved brug af både eDNA (qPCR – både juni og september) og konventionelle prøver (kun september).



Antal ikke-hjemmehørende arter per metode

I projektet er der blevet anvendt fire indsamlingsmetoder, hvor den ene baserer sig på molekylær identifikation (eDNA fra vandprøve) og tre baseres på konventionelle metoder (sediment, skrabprøve og begroningsplader). Antallet af ikke-hjemmehørende arter var højest i to af de konventionelle prøver (skrab og begroningsplader), hvor der hver især blev fundet 19 ikke-hjemmehørende arter. I sedimentprøverne blev der kun observeret fem ikke-hjemmehørende arter. Til sammen observeredes 25 NIS med de konventionelle typer af prøveindsamling mod 11 NIS med eDNA vandprøverne. Der var i alt fire arter som blev detekteret med både eDNA og konventionelle prøver. I Figur 3.5 sammenlignes antal fundne NIS med de forskellige metoder.

Figur 3.5. Samlet antal ikke-hjemmehørende arter fundet med hver indsamlingsmetode i projektet. Vær opmærksom på, at den molekulære metode (eDNA vandprøve) kun analyserer for 19 forud definerede arter, og at f.eks. fisk, zoo- og fytoplankton ikke indgår i de konventionelle metoder (sediment, skrabeprov og begroningsplade).



eDNA på vandprøver detekterede 11 NIS i både 2021 og 2023 undersøgelsen. Der var i alt otte gengangere og tre nye artsregistreringer med metoden i 2023. qPCR systemet har således i alt registreret 14 NIS i løbet af de to monitoringsår. Forskellene kan til dels forklares i de valgte reduktioner i qPCR artslisten i 2023 (19 arter mod 24 arter i 2021) se Tabel 3.1.

Tabel 3.1. NIS detektionssystemer og artsfund ved qPCR i 2021 (vand og begroningsplader) og 2023 (kun vandprøver) undersøgelserne. "qPCR" kolonnerne angiver om der blev anvendt et qPCR system det pågældende år. Kolonnerne "Fundet" angiver om detektionssystemet fandt NIS dette år.

NIS Latinsk navn	Dk navn	Gruppe	qPCR 2021	qPCR 2023	Fundet 2021	Fundet 2023
<i>Acipenser baerii</i>	Sibirisk Stør	Fisk	X	X		
<i>Acipenser ruthenus</i>	Sterlet	Fisk	X	X		
<i>Acipenser spp./ guelden.</i>	Diamantstør	Fisk	X	X		
<i>Carassius auratus</i>	Sølvkarusse	Fisk	X			
<i>Cyprinus carpio</i>	Karpe	Fisk	X			
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Regnbueørred	Fisk	X	X		X
<i>Oncorhynchus gorboscha</i>	Pukkellaks	Fisk	X	X		
<i>Karenia mikimotoi</i>	Dinoflagellat	Fytoplankton	X	X	X	X
<i>Prorocentrum cordatum</i>	Dinoflagellat	Fytoplankton	X	X	X	X
<i>Pseudochattonella farcimen</i>	Heterokont flagellat	Fytoplankton	X		X	
<i>Pseudochattonella verruculosa</i>	Heterokont flagellat	Fytoplankton	X	X	X	X
<i>Homarus americanus</i>	Amerikansk hummer	Hummer	X	X		
<i>Callinectes sapidus</i>	Blå Svømmekrabbe	Krabbe	X	X		
<i>Eriocheir sinensis</i>	Uldhåndskrabbe	Krabbe	X	X		
<i>Hemigrapsus sanguineus</i>	Asiatisk strandkrabbe	Krabbe	X	X		X
<i>Hemigrapsus takanoi</i>	Pensel-Klippekrabbe	Krabbe	X	X	X	X
<i>Paralithodes camtschaticus</i>	Kamtjatka-krabbe	Krabbe	X			
<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	Brakvandskrabbe	Krabbe	X	X		X
<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	Rødtot	Makroalge	X	X	X	X
<i>Colpomenia peregrina</i>	Østerstiv	Makroalge	X	X	X	X
<i>Magallana gigas</i>	Stillehavsøsters	Musling	X	X	X	X
<i>Mya arenaria</i>	Alm Sandmusling	Musling	X		X	
<i>Cordylophora caspia</i>	Brakvandskøllepolyp	Polypdyr	X	X	X	
<i>Mnemiopsis leidyi</i>	Dræbergople	Zooplankton	X	X	X	X
sum			24	19	11	11

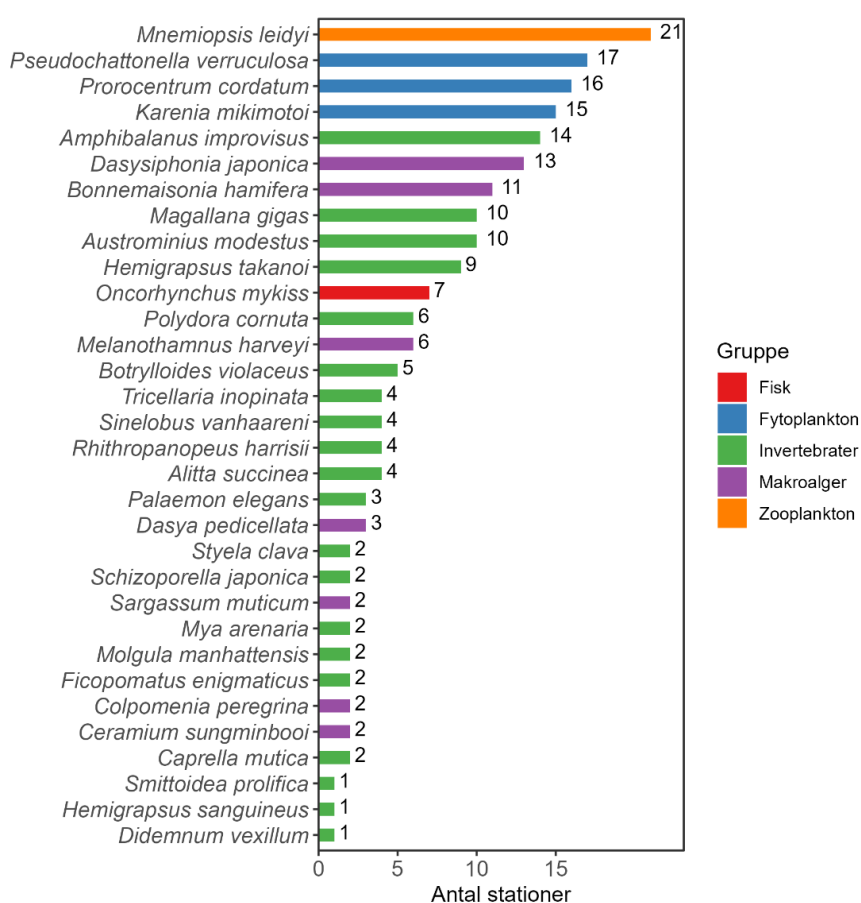
Således blev der i 2023 ikke screenet for *Pseudochattonella farcimen* (fytoplankton) og *Mya arenaria* (sandmusling), som blev detekteret i 2021 vha eDNA. Til gengæld detekteredes *Oncorhynchus mykiss* (Regnbueørred) i fem af de ni havne i 2023 mod ingen havne i 2021. Endelig blev den asiatiske strandkrabbe, *Hemigrapsus sanguineus*, detekteret vha eDNA i 2023, mod ingen detektioner i 2021 (Tabel 3.1). I 2021 undersøgelsen, blev der også screenet for NIS vha eDNA ekstraheret fra begroningspladerne. Den eneste forskel mellem NIS listerne baseret på hhv eDNA fra vandprøver og eDNA fra begroningsplader i 2021 var brakvandskrabben, *Rhithropanopeus harrisi*, som kun blev fundet vha eDNA fra begroningsplader i Københavns havn. I 2023 undersøgelsen blev det eneste fund af *Rhithropanopeus harrisi* gjort i Københavns havn med eDNA fra vandprøver.

Beskrivelser af observerede ikke-hjemmehørende arter

3.1.5 Arternes fordeling i havnene

I projektet blev der samlet observeret 32 ikke-hjemmehørende arter på de i alt 21 undersøgte stationer (tre stationer i hver af de seks industrihavne og en samlet station i hver af de tre lystbådehavne). Udbredelsen af disse 32 arter på 21 stationer fremgår af Figur 3.6. Hvis man tager både juni og september indsamlingen i betragtning, er fire planktonarter fundet med eDNA metoden de hyppigst forekommende. Zooplanktonarten *Mnemiopsis leidyi* er således fundet på alle 21 stationer fulgt af fytoplanktonarterne *Pseudochattonella verruculosa* (17), *Prorocentrum cordatum* (16) og *Karenia mikimotoi* (15). De mindst udbredte ikke-hjemmehørende-arter er fundet med de konventionelle visuelle metoder og omfatter mosdyret *Smittoidea prolifica*, krabben *Hemigrapsus sanguineus* og søpungen *Didemnum vexillum*, som kun er fundet på én station hver.

Figur 3.6. Antal stationer de 32 ikke-hjemmehørende arter fundet i projektet er observeret på. Der indgik i alt 21 stationer i projektet, tre stationer i hver af de seks industrihavne og en puljet station i hver af de tre lystbådehavne.



3.1.6 Korte artsbeskrivelser

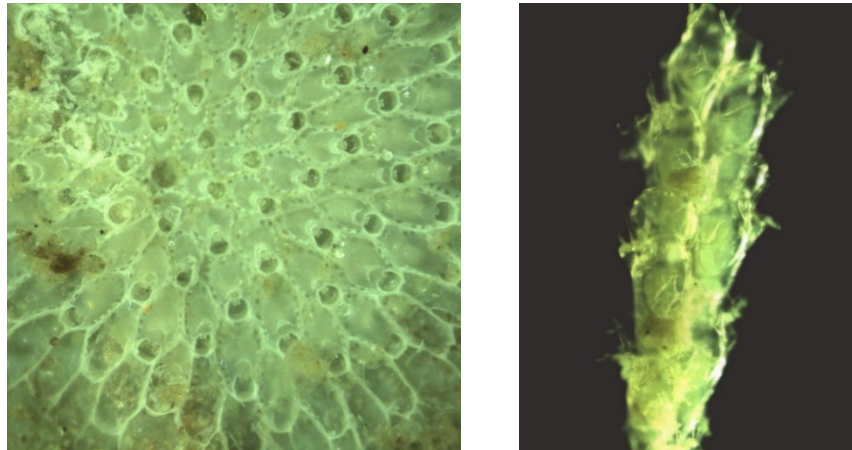
I denne rapport fremhæves nye NIS arter for danske farvande, samt eksempler på NIS arter som blev fundet i fbm. indsamlingen i 2023, og som ikke er beskrevet i afrapporteringen af 2021 overvågningen (Andersen et al. 2023).

I 2023 blev der registeret to nye Bryozoa (mosdyr) arter for Danmark (Figur 3.7).

Smittoidea prolifica (Figur 3.7a) er et belægningsdannende mosdyr og blev registeret i Aarhus havn. Arten er bl.a. kendt fra tyske Nordsø havne, som er karakteriseret ved meget international skibsaktivitet og den hollandske del af Vadehavet, hvor dyret blev registeret for første gang i 1995. Spredning af arten diskuteres stadigt, den kan være blevet introduceret med Stillehavsøsters opdræt, via større skibe eller på forskellig drivende materiale som makroalger, plastik, liner etc., da den er meget lidt substrat specifik (Markert et al 2015).

Tricellaria inopinata (Figur 3.7b) blev fundet i Frederikshavn havn. Det er et opret voksende buskagtigt mosdyr, der først blev fundet i Venedig lagune i 1980'erne, hvor arten fortrængte mange hjemmehørende mosdyrsarter. Det har siden spredt sig over hele Europa og ses ofte i lystbådehavne. Arten har en høj tolerance overfor store gradienter i salinitet og temperatur og kan reproducere sig året rundt (Cook et al. 2013).

Figur 3.7. Fund af to nye arter af mosdyr: *Smittoidea prolifica* (a) og *Tricellaria inopinata* (b). Foto: Helle Buur.



Foruden to nye NIS for danske farvande, beskrives i det følgende andre registrerede arter, som ikke blev fundet og beskrevet i 2021.

Caprella mutica, japansk skeletreje (Figur 3.8) er en art, der har bredt sig i de danske farvande, siden den første gang blev observeret på vindmøllerne ved Horns rev i 2005. Den ses ofte på menneskeskabte strukturer og spredes sandsynligvis som blind passager på skibe, da den ikke har en planktonisk fase.

Den er større og mere aggressiv end den hjemmehørende *Caprella linearis*, almindelige skeletreje, og om den kan udkonkurrere arten eller de kan sameksistere, er endnu uklart (Miljøstyrelsen Faktaark 2022).

Arten blev i forbindelse med denne undersøgelse registeret i Hirtshals og Frederikshavn havne.

Figur 3.8. Japansk skeletreje (*Caprella mutica*), fundet i Hirschholm havn. Foto: Helle Buur



Ficopomatus enigmaticus, australsk kalkrørsorm stammer sandsynligvis fra det indiske ocean/Australien og blev introduceret til Europa i 1900-tallet ved skibstrafik. Arten er blevet almindelig i Københavns Havn og betegnes som en økosystemingeniør, da den kan danne mindre biogene rev. Den kan overleve i såvel brakvand som saltvand op til 40 ‰, og den trives bedst i beskyttede områder med højt næringsstofindhold (Miljøstyrelsen Faktaark 2022).

Figur 3.9. Australsk kalkrørsorm (*Ficopomatus enigmaticus*) blev fundet på en begroningsplade i Svanemøllen Havn (København). Foto: Helle Buur.



I forbindelse med havneovervågningen i 2023 blev der registreret fire forskellige ikke-hjemmehørende arter af søpunge (Figur 3.10). Søpunge er en gruppe, der har vist sig at spredes hurtigt på verdensplan og med stigende frekvens, hvilket ofte understøttes af menneskelige aktiviteter. Der er identificeret ca. 80 arter søpunge på verdensplan, som karakteriseres som ikke-hjemmehørende. Det er dog ofte komplekst at forstå og kortlægge, da nyere studier af mange invaderende søpunge viser, at det drejer sig om artskomplekser, der består af morfologisk kryptiske arter, som på genetisk niveau er forskellige arter. Kendte invasive effekter af søpunge introduktioner er et fald i biodiversiteten i det angrebne område. Som så mange andre succesfulde invasive arter har søpunge generelt meget brede tolerancer overfor de abiotiske forhold (bl.a. salinitet, temperatur, men også forurening) samt høj fekunditet (Zhan 2015)

Styela clava, østasiatisk søpung blev registreret i Danmark i Limfjorden for første gang i 1980 og er formentligt introduceret med østersyngel. Den forekommer i Limfjorden i tætte bestande med op til 1200 individer pr. m². I Danmark findes den i den sydlige Nordsø, Limfjorden og Kattegatområdet. Påvirkning af hjemmehørende arter er vurderet til høj, da østasiatisk søpung bl.a. sidder på hæftere af sukkertang og overgror f.eks. blåmuslinger og hestemuslinger (Miljøstyrelsens Faktaark 2022).

Molgula manhattensis, lodden søpung er en drueformet enlig søpungeart, der har en lodden kuticula. Arten har vist sig at være særlig problematisk i forbindelse med østersopdræt, hvor den over vokser østers. Man mener oprindeligt, den er hjemmehørende langs den nordamerikanske østkyst. En anden mulighed kunne også være, at den er hjemmehørende i Europa og så er blevet genintroduceret, hvilket genetiske undersøgelser peger i retning af (Nemesis).

Botrylloides violaceus blev for første gang registreret i de danske farvande i Vadehavet 2022 (Stæhr et al. 2023) og blev i 2023 undersøgelsen registreret i tre havne Esbjerg, Hirtshals og Frederikshavn. Arten er kendt som en hurtigspredende invasiv art kolonidannende søpung, der har spredt sig til store dele af verden, og vokser som store belægnings hen over andre organismer. Arten, der oprindeligt stammer fra det Nordvestlige Stillehav, er sandsynligvis introduceret til Europa via østers eller skibstransport før 1998. Arten minder om den hjemmehørende art *Botrylloides leachii*, lille lædersøpung, men er mere ensartet i farven. En sikker artsgenkendelse kræver, at man kigger nærmere på den indre anatomi og larvestørrelse (VLIZ 2020). I den hollandske del af Vadehavet blev den registreret for første gang i 2009, og den har siden spredt sig til bl.a. lystbådehavne i Nordsøområdet (Gittenberger et al. 2019).

Der blev registreret en ny art kolonidannende søpung for Danmark i Esbjerg i forbindelse med denne undersøgelse, nemlig den hvide "tæppesøpung" *Didemnum vexillum*. Arten klassificeres som invasiv, da den har spredt sig i store dele af verden og kan danne tykke belægnings, der kan danne udhæng på op til 1m fra eks. pontoner (Gibson-Hall & Bilewitch, 2018). Arten blev registreret i Holland i 1991, og i den hollandske del af Vadehavet for første gang i 2008 (Gittenberger et al. 2019).



Figur 3.10. De fire ikke hjemmehørende søpunge arter registreret i Nis i havneprojektet 2023. Øverst TV. *Botrylloides violaceus*-Foto Esbjerg lystbådehavn, Helle Buur. Øverst TH. *Didemnum (vexillum)*-Foto Esbjerg lystbådehavn, Helle Buur. Nederst TV. *Molgula manhattensis*-Foto Hirtshals, Helle Buur. Nederst TH. *Styela clava*, Foto beachexplorer.org.

Der blev registret i alt syv arter af makroalger i projektet (fem rødalger og to brunalger). To af de registrerede rødalgearter er ikke tidligere fundet i forbindelse med NIS overvågning i havnene, nemlig;

Ceramium sungminbooi (Figur 3.11), der er en art klotang, som først blev beskrevet fornyelig (2016), da den før blev identificeret som *C. cimbricum* i Danmark. Genetiske analyser viser, at den sandsynligvis stammer fra Stillehavet og ikke er en hjemmehørende art i de europæiske farvande. Arten bliver ca. 3-8 cm høj og er i Europa set i nærheden af muslingebrug (Østers) (Nielsen et al. 2019, Nemesis- 852).

Figur 3.11. Klotangarten *Ceramium sungminbooi* fundet i Esbjerg lystbådehavn. Foto: Helle Buur.



Melanothamnus harveyi, gennemsigtig ledtang (Figur 3.12) er en lille rigt grenet buskformet rødalge, der bliver op til ca. 11 cm. Arten kan kendes på de gennemsigtige pericentralceller, som skyldes placeringen af kloroplasterne. Den stammer sandsynligvis oprindeligt fra Japan og anses som en invasiv art i Nordsøen. Første fund var i Limfjorden i 1980 (Nielsen et al. 2019).

Arten blev registreret på tre lokaliteter: Esbjerg, Hirtshals og Frederikshavn, hvilket ikke skal ses som et udtryk for hurtig spredning, men nærmere at den blev overset/fejlbestemt ved havneundersøgelsen i 2021.

Figur 3.12. Gennemsigtig ledtang (*Melanothamnus harveyi*) i Esbjerg lystbådehavn. Foto: Helle Buur.



En oversigt over, hvor alle de ikke-hjemmehørende arter er fundet og med hvilken metode, er vist i Tabel 3.2. Her angives desuden, hvor mange stationer hver art er fundet på i en given havn. Foruden de i alt 32 NIS arter, identificerede vi ved konventionelle metoder i alt 150 hjemmehørende arter (Bilag 4).

Tabel 3.2. Alle ikke-hjemmehørende arter fundet i de seks industrihavne og lystbådehavne, 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 manglende observationer på begroningsplader i Esbjerg og i Hirtshals skyldes tab af disse.

		Esbjerg			Esbjerg_lb			Hirtshals			Frederikshavn			Aarhus			Aarhus_lb			Fredericia			København			Svanem_lb		
		eDNA vandprøve	Begroningsplade Skrabeprøve	Sediment	eDNA vandprøve	Begroningsplade Skrabeprøve	Sediment	eDNA vandprøve	Begroningsplade Skrabeprøve	Sediment	eDNA vandprøve	Begroningsplade Skrabeprøve	Sediment	eDNA vandprøve	Begroningsplade Skrabeprøve	Sediment	eDNA vandprøve	Begroningsplade Skrabeprøve	Sediment	eDNA vandprøve	Begroningsplade Skrabeprøve	Sediment	eDNA vandprøve	Begroningsplade Skrabeprøve	Sediment			
Ikke-hjemmehørende art	Gruppe																											
<i>Alitta succinea</i>	Invertebrater					1							1	1			1			1								
<i>Amphibalanus improvisus</i>	Invertebrater					3					2		2	3			3	1				1	1	1		1	2	
<i>Austrominius modestus</i>	Invertebrater		3			2	2					3																
<i>Bonnemaïsonia hamifera</i>	Makroalger							1				3	1	2	3			1		1	3							
<i>Botrylloides violaceus</i>	Invertebrater					3						1																
<i>Caprella mutica</i>	Invertebrater											1																
<i>Ceramium sungminbooi</i>	Makroalger					2	1													1								
<i>Colpomenia peregrina</i>	Makroalger																			1								
<i>Dasya pedicellata</i>	Makroalger													1						1								
<i>Dasysiphonia japonica</i>	Makroalger					1					2			3	3			1	2	1	3	1						
<i>Didemnum vexillum</i>	Invertebrater					1																						
<i>Ficopomatus enigmaticus</i>	Invertebrater																									2		
<i>Hemigrapsus sanguineus</i>	Invertebrater	1																										
<i>Hemigrapsus takanoi</i>	Invertebrater	3				1	1		1		1						1			1					1			
<i>Karenia mikimotoi</i>	Fytoplankton	1						3			2			3			1			3			1		1			
<i>Magallana gigas</i>	Invertebrater	3	1			1					2			1								1			1			
<i>Melanothamnus harveyi</i>	Makroalger					2	1					3	2															
<i>Mnemiopsis leidyi</i>	Zooplankton	3				1			3		3			3			1			3			3		1			
<i>Molgula manhattensis</i>	Invertebrater																									1		
<i>Mya arenaria</i>	Invertebrater																					1				1		
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Fisk	2				1		1					2				1											
<i>Palaemon elegans</i>	Invertebrater					1								2														
<i>Polydora cornuta</i>	Invertebrater													2	2				3									
<i>Prorocentrum cordatum</i>	Fytoplankton	2				1		1			1			3			1			3			3		1			
<i>Pseudochattonella verruculosa</i>	Fytoplankton	3				1		3			3			3			1			2			1					
<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	Invertebrater																				3	1			1			
<i>Sargassum muticum</i>	Makroalger													1	1													
<i>Schizoporella japonica</i>	Invertebrater									2																		
<i>Sinelobus vanhaareni</i>	Invertebrater																					1	1	1		1	2	
<i>Smittoidea prolifica</i>	Invertebrater													1														
<i>Styela clava</i>	Invertebrater					2																						
<i>Tricellaria inopinata</i>	Invertebrater											2	2															

3.1.7 Sammenligning med 2021 undersøgelsen

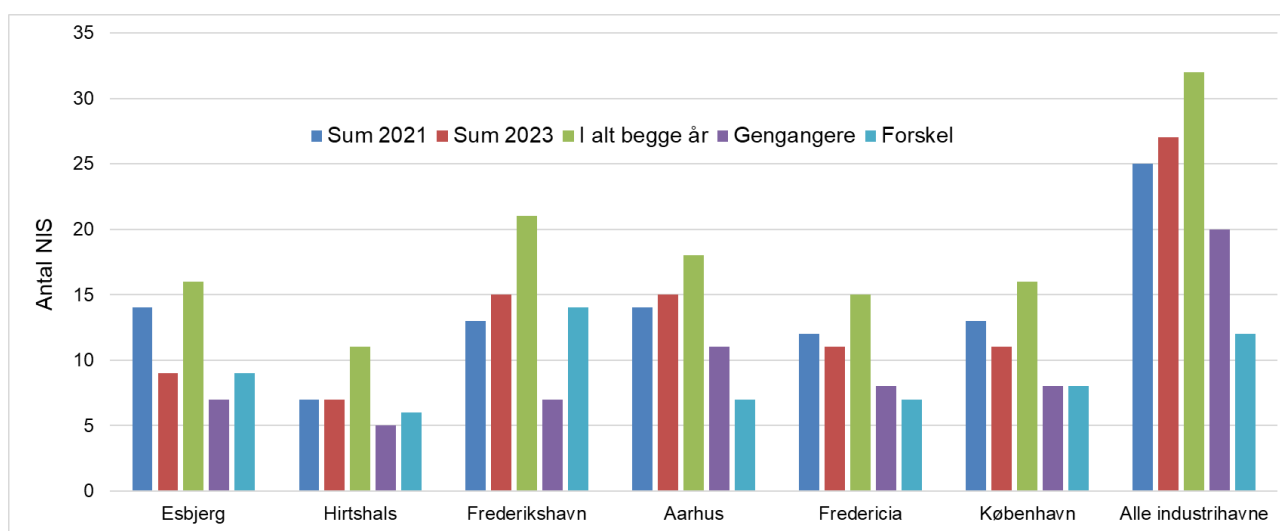
Havneundersøgelsen i 2023 var næsten identisk med havneundersøgelsen i 2021. Begge år blev der indsamlet prøver i de samme seks udvalgte industrihavne, og metoderne var næsten identiske. Prøveindsamlingen i 2023 adskilte sig dog ved at have en mindre reduktion i antallet af arter som qPCR systemet screenede for i 2023 (19 arter) mod 24 arter i 2021. Desuden anvendtes qPCR kun på vandprøver i 2023, mens 2021 indsamlingen også testede qPCR på skrab fra begroningspladerne. Endelig blev der kun taget skrabe og bundprøver i september i 2023. Til gengæld blev der i 2023 indsamlet prøver fra tre større lystbådehavne. I Tabel 3.3 sammenlignes NIS observationerne.

Tabel 3.3. Detektioner af NIS i industrihavnene (enkeltvis og for alle) i 2021 og 2023 samt tre lystbådehavne (LB) i 2023. Tal i () omfatter *Pseudochattonella farcimen*, som kun indgik i qPCR systemet i 2021 og derfor ikke kunne detekteres i 2023. Farvekoderne angiver særlige artsfund.

Ikke-hjemmehørende art	Gruppe	Esbjerg		Hirtshals		Frederikshavn		Aarhus		Fredericia		København		Alle industrihavne		Esbjerg_LB	Aarhus_LB	Svanem_LB
		2021	2023	2021	2023	2021	2023	2021	2023	2021	2023	2021	2023	2021	2023	2023	2023	2023
Alitta succinea	Invertebrater					x		x	x	x	x	x		x		x	x	
Amphibalanus improvisus	Invertebrater	x					x		x				x	x	x	x		x
Austrominius modestus	Invertebrater	x	x				x							x	x	x		
Bonnemaisonia hamifera	Makroalger			x	x	x	x	x	x	x	x			x	x		x	
Botrylloides violaceus	Invertebrater						x								x			
Caprella mutica	Invertebrater						x								x			
Ceramium sungminbooi	Makroalger															x		
Colpomenia peregrina	Makroalger										x	x	x	x	x			
Cordylophora caspia	Invertebrater	x						x						x				
Crepidula fornicata	Invertebrater	x				x								x				
Dasya pedicellata	Makroalger							x	x		x		x	x	x			
Dasysiphonia japonica	Makroalger					x	x	x	x	x	x			x	x		x	
Didemnum vexillum	Invertebrater															x		
Ficopomatus enigmaticus	Invertebrater																	x
Hemigrapsus sanguineus	Invertebrater		x												x			
Hemigrapsus takanoi	Invertebrater	x	x		x		x				x			x	x	x	x	x
Karenia mikimotoi	Fytoplankton	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x		x	x
Magallana gigas	Invertebrater	x	x			x	x	x	x	x		x	x	x	x	x		x
Melanothamnus harveyi	Makroalger						x								x			
Mnemiopsis leidyi	Zooplankton	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Molgula manhattensis	Invertebrater																	x
Mya arenaria	Invertebrater	x		x		x		x		x		x	x	x	x			x
Oncorhynchus mykiss	Fisk		x		x				x					x	x	x	x	
Palaemon elegans	Invertebrater	x				x			x			x		x	x	x		
Polydora cornuta	Invertebrater	x				x		x	x	x		x		x	x		x	
Prorocentrum cordatum	Fytoplankton	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Pseudochattonella farcimen	Fytoplankton			x		x		x		x		x		x				
Pseudochattonella verruculosa	Fytoplankton	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	
Rhithropanopeus harrisi	Invertebrater											x	x	x	x			x
Sargassum muticum	Makroalger							x	x	x				x	x			
Schizoporella japonica	Invertebrater	x					x							x	x			
Sinelobus vanhaareni	Invertebrater											x	x	x	x			x
Smittoidea prolifica	Invertebrater								x						x			
Styela clava	Invertebrater															x		
Tricellaria inopinata	Invertebrater						x								x			
Streblospio benedicti	Invertebrater											x		x				
Tharyx killariensis	Invertebrater									x				x				
Kun 2023	Sum per år	14	9	6 (7)	7	12(13)	15	13(14)	15	11(12)	10	12(13)	11	24(25)	27	16	11	11
Kun 2021	I alt begge år	16		9		21		18		16		16		32				
Kun qPCR i 2021	Gengangere	7		5		7		11		6		8		20				
Kun i lystbådehavne i 2023	Forskel	9		4		14		7		10		8		12				

Ud af de i alt 32 NIS, som blev observeret på tværs af alle ni havne i 2023, blev 27 fundet i industrihavnene og 24 i lystbådehavnene, med et overlap på 19 NIS og en forskel på 14 arter. Fem NIS blev kun fundet i lystbådehavnene. Disse omfattede *Ceramium sungminbool* (klotangart), *Didemnum vexillum* (søpung), *Ficopomatus enigmaticus* (australsk kalkrørsorm), *Molgula manhattensis* (lodden søpung) og *Styela clava* (østasiatisk søpung).

I 2023 blev der samlet fundet 27 NIS i industrihavnene mod 25 fund i 2021. Det totale antal NIS i industrihavnene for de to undersøgelser var 32, med 20 gengangere og 12 forskelle. En sammenfatning af det totale antal NIS observationer for de enkelte år, gengangere og forskelle mellem 2021 og 2023 undersøgelsen, fremgår af Figur 3.13.



Figur 3.13. Antallet af NIS arter observeret i 2021 og 2023 i de seks industrihavne. Ud af de i alt 32 NIS er observeret på tværs af alle havnene, er 20 fundet begge år. Foruden industrihavne er der observationer i tre lystbådehavne i 2023 (ikke vist).

I det følgende gennemgås hver enkelt havn, hvor tallene angiver antallet af ikke-hjemmehørende arters observationer i forrige undersøgelse (i 2021) / denne undersøgelse (i 2023).

Esbjerg havn (14/9)

I denne undersøgelse blev der registeret i alt 9 forskellige ikke-hjemmehørende arter mod 14 NIS i 2021. Af de 9 fund i 2023 blev otte detekteret ved brug af eDNA: stillehavsøsters, amerikansk ribbegøple, asiatisk strandkrabbe, pensel-klippe krabbe (*Hemigrapsus takanoi*), regnbueørred og de tre fytoplankton arter, der er registret i samtlige havne. Til sammenligning blev der observeret fem NIS med eDNA i 2021. I alt var der fire gengangere med eDNA metoden og fem forskelle (*Pseudochattonella verruculosa* og *Karenia mikimotoi* (fytoplankton), *Oncorhynchus mykiss* (regnbueørred), *Mya arenaria* (sandmusling) og *Hemigrapsus sanguineus* (asiatisk strandkrabbe)). Ingen af disse forskelle skyldes ændringer i de anvendte eDNA systemer. Ved gennemgang af prøverne fra sediment, skrab og begroningsplader blev der i 2023 desuden fundet én ikke-hjemmehørende art, firpladet rur (*Austominius modestus*). I alt for begge år, er der observeret 16 NIS, hvoraf syv er gengangere og ni er forskellige (Tabel 3.2). Der blev registeret i alt 14 taxa ved konventionelle metoder i Esbjerg havn i 2023 mod 42 taxa i 2021.

Hirtshals havn (7/7)

I både 2021 og 2023 overvågningen blev der fundet 7 ikke-hjemmehørende arter. Alle NIS detektionerne blev i 2023 fundet med eDNA analysen (Tabel 3.2). Ligeledes blev alle 8 NIS fundet i 2021 observeret med eDNA metoden (Andersen et al. 2023, Tabel 3.1). Ved sammenligning fandt vi seks gengangere med eDNA metoden og tre forskelle (*Pseudochattonella farcimen*, *Mya arenaria* og *Hemigrapsus takanoi*), hvoraf de to første skyldes fravalg i de anvendte eDNA systemer i 2023. I alt for begge år, er der observeret 10 NIS, hvoraf fem er gengangere, og fem er forskellige (Tabel 3.2). De konventionelle metoder fandt i alt 47 forskellige taxa i havnen i 2023 mod 67 i 2021.

Frederikshavn havn (13/15)

Af de 15 NIS, der blev observeret i 2023, blev 7 NIS fundet med eDNA metoden. Til sammenligning blev 6 ud af de i alt 13 NIS observeret i 2021 fundet med eDNA metoden på vandprøver. I alt var der 5 gengangere med eDNA metoden og 3 forskelle (*Pseudochattonella farcimen*, *Magallana gigas* og *Hemigrapsus takanoi*), hvoraf den første skyldes fravalg i de anvendte eDNA systemer. I alt for begge år, er der observeret 21 NIS, hvoraf kun 7 er gengangere, og 14 er forskellige (Tabel 3.2). De fleste forskelle skyldes således konventionelle observationer. Frederikshavn er en artsrig havn, hvor konventionel artsbestemmelse registrerede i alt 58 taxa i 2023 mod 80 taxa i 2021 undersøgelsen.

Aarhus havn (14/15)

I 2023 overvågningen blev der fundet 15 ikke-hjemmehørende arter, sammenlignet med 14 i 2021 undersøgelsen. 7 af NIS detektionerne i 2023 blev fundet med eDNA analysen (Tabel 3.1) mod 9 i 2021. Ved sammenligning af de to undersøgelser fandt vi seks gengangere med eDNA metoden og fire forskelle (*Pseudochattonella farcimen*, *Mya arenaria*, *Oncorhynchus mykiss* og *Cordylophora caspia*), hvoraf de to første skyldes fravalg i de anvendte eDNA systemer i 2023 undersøgelsen. I alt for begge år er der observeret 18 NIS, hvoraf 11 er gengangere, og 7 er forskellige (Tabel 3.2). De konventionelle artsbestemmelser identificerede i alt 68 forskellige taxa i havnen i 2023 mod 67 i 2021.

Fredericia havn (12/10)

Af de 10 NIS der blev observeret i 2023, blev 7 NIS fundet med eDNA metoden. Tilsvarende blev 7 ud af de i alt 12 NIS observeret i 2021 fundet med eDNA metoden på vandprøver. I alt var der fire gengangere med eDNA metoden og seks forskelle (*Pseudochattonella farcimen*, *Mya arenaria*, *Magallana gigas*, *Karenia mikimotoi*, *Hemigrapsus takanoi* og *Colpomenia peregrina*), hvoraf de to første skyldes fravalg i de anvendte eDNA systemer. I alt for begge år er der observeret 16 NIS, hvoraf kun 6 er gengangere, og 10 er forskellige (Tabel 3.3). Forskellene skyldes således både eDNA og konventionelle observationer. Fredericia er en artsrig havn, hvor den konventionelle artsbestemmelse registrerede i alt 65 taxa i 2023 mod 85 taxa i 2021 undersøgelsen.

Københavns havn (13/11)

I Københavns havn blev der i forbindelse med 2023 undersøgelsen registreret 11 forskellige NIS mod 13 i 2021. Ved brug af eDNA på vandprøver var det muligt at detektere 7 arter i begge undersøgelser, hvoraf fem var gengangere og fire forskellige (*Rhithropanopeus harrisi*, *Pseudochattonella verruculosa*, *Pseudochattonella farcimen* og *Mya arenaria*). De sidste to forskelle skyldes fravalg af disse i eDNA systemet for 2023 undersøgelsen. I alt for begge år er der observeret 16 NIS, hvoraf kun 8 er gengangere, og 8 er forskellige (Tabel 3.3). Der blev registreret i alt 46 taxa ved konventionel artsbestemmelse i 2023 mod 57 i 2021.

4 Diskussion

Generel diskussion af resultater og metoder

4.1.1 Prøveindsamling og metoder

Samlet blev der i vores indsamling observeret 32 ikke-hjemmehørende arter, hvoraf to (detekteret med konventionelle metoder) er nye for danske farvande: mosdyrene *Smittodea prolifica* og *Tricellaria inopinata*. Af disse 32 arter blev 25 fundet vha. konventionelle metoder og 11 vha. eDNA. Kun fire af arterne blev fundet ved brug af begge metoder (*Bonnemaisonia hamifera*, *Hemigrapsus takanoi*, *Rhithropanopeus harrisi* og *Magallana gigas*).

Resultaterne viste en stor variation mellem stationerne inden for en havn. Variationen var særlig stor i havne, hvor prøvetagningen var ufuldstændig, enten pga. tab af begroningsplader eller problemer med at indsamle blødbundprøver i havnene. Der var tilsvarende erfaringer i 2021 undersøgelsen (Andersen et al. 2023).

Indsamling af prøver i tre større lystbådehavne viste, at antallet af NIS i disse havne er på niveau med eller endda højere (Esbjerg) end de nærliggende industrihavne. Fordelingen af NIS arter mindede en del om de nærliggende havne, men der var også forskelle. F.eks. var der én NIS (*Ficopomatus enigmaticus*, australsk kalkrørsorm), som kun blev fundet i en lystbådehavn (Svanemøllen). Variationen i NIS antallet mellem stationerne var generelt større i lystbådehavnene, hvilket kan skyldes, at antallet af prøver indenfor disse var mindre end i industrihavnene.

Havneundersøgelsen kombinerede konventionelle visuelle metoder (skrab, bundprøver, begroningsplader) samt et kvantitativt qPCR detektionssystem (~eDNA) udviklet til at detektere udvalgte ikke-hjemmehørende arter (Knudsen et al., 2022). Den valgte kombination af metoder og design af prøveindsamlingen blev besluttet ud fra erfaringerne med NIS overvågningen i 2021 (Andersen et al. 2023). De konventionelle metoder blev valgt ud fra et hensyn om, at havneovervågningen skulle kunne sammenlignes med andre europæiske lande samt at resultaterne skulle kunne indrapporteres til de regionale havkonventionsdatabaser. Det artsspecifikke eDNA system er ganske unikt for danske farvande, da de fleste andre lande anvender metabarcoding til at screene for ikke-hjemmehørende arter (Katsanevakis et al. 2023). En sammenligning af det artsspecifikke detektionssystem og detektion vha. metabarcoding blev gennemført som et supplement til havneovervågningen i 2021 (Sapkota et al. 2023). Dette indikerede et behov for at optimere metabarcoding som et værktøj til detektion af NIS, hvorfor MST bibeholdt qPCR systemet til 2023 overvågningen af NIS i havne.

Resultaterne fra 2023 overvågningen understøtter tidligere erfaringer med, at det artsspecifikke eDNA system og konventionelle metoder skal ses som et supplement til at observere NIS i havne. Der er som nævnt af gode grunde et lille overlap (fire NIS) mellem konventionelle metoder og eDNA, hvilket skyldes, at hver metode har nogle naturlige begrænsninger, hvilket også er konstateret i andre biodiversitetsundersøgelser (f.eks. Stæhr et al. 2024). De anvendte konventionelle metoder (skrab, bundprøver og begroning på plader) gør det f.eks. ikke muligt at observere hverken planktoniske arter eller fisk. Derudover har de konventionelle metoder ikke fokuseret på mobile bunddyr

som f.eks. krabber. Alligevel fandt vi to ikke-hjemmehørende krabber, *Hemigrapsus takanoi* og *Rhithropanopeus harrisi*, begge ved skrabepøverne. Til sammenligning er eDNA systemet udviklet for et nøje udvalg af arter (se Tabel 3.1), hvoraf flere (4) er planktoniske, fisk (5) og mobile (6) dyr (krabber). Som forventeligt finder vi derfor en lille overensstemmelse (fire arter) mellem metodernes fund. Foruden de to førnævnte krabber, blev makroalgen rødtot og Stillehavsøsters fundet med både eDNA og konventionelle metoder.

Konventionelle metoder anses generelt for at være mere tidskrævende end eDNA metoder (Muirhead et al., 2008) med resultater, som er meget afhængig af den taksoniske kyndighed (Fitzpatrick et al., 2009). Desuden kan konventionelle metoder være forbundet med store usikkerheder for arter med lave og meget spredte populationer, som jo typisk er tilfældet for nye etablerede ikke-hjemmehørende arter (Hablützel et al. 2023).

Med henblik på at reducere usikkerheder og fremme en hurtig og sikker detektion af ikke-hjemmehørende arter (Harvey et al., 2009) blev eDNA metoden derfor inddraget i havneovervågningen (Andersen et al. 2023). Et andet argument er, at DNA-teknikker (især qPCR) har stor artssikkerhed (Dejean et al., 2012), hvilket gør det muligt at skelne mellem nært beslægtede arter og vurdere, om en art er kryptogen eller ikke-hjemmehørende. Det indsamlede DNA-materiale kan stamme fra fæces, afkastede celler, gameter og døde organismer, hvilket gør, at DNA-metoden ikke med garanti dokumentere forekomsten af en levende organisme (Sassoubre et al., 2016; Thomsen & Willerslev, 2015). Af denne årsag anvendes eDNA i de fleste lande udelukkende til at screene for NIS, hvor en sikker dokumentation kræver detektion med konventionelle metoder. En anden og nok større begrænsning i anvendelsen af det artsspecifikke qPCR baserede eDNA system er, at det kun er udviklet til et mindre antal arter. Det vil derfor ikke kunne detektere helt nye NIS for danske farvande. Metabarcoding er en anden eDNA metode, som i princippet både registrerer fastsiddende, mobile og planktoniske organismer, den er nem og billig at gennemføre og gør det muligt at detektere helt nye NIS for danske farvande. Dog er der et behov for at standardisere og optimere bioinformatik pipelines, og ligeledes bør referencedatabaserne for marine arter i danske farvande optimeres (Sapkota et al. 2023, Jensen et al. 2024).

Der er også flere begrænsningerne ved de konventionelle metoder, som overordnet vedrører en afhængighed af stor taksonomisk ekspertise fordelt over mange taksonomiske grupper. Denne usikkerhed vurderes dog at være lav i dette studie. Der anvendes konsekvent relevante nøgler og litteratur, og alle observationer sammenlignes 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 i iht. dens biologi (marin, brak, fersk) og kendte udbredelse. I tvivlstilfælde har vi kontaktet relevante taksonomiske eksperter for råd. Vores taksonom har herigennem opnået stor ekspertise i identifikation af NIS over de seneste år. En anden usikkerhed ved konventionelle prøver er, at disse generelt repræsenterer et meget begrænset prøvetagningsareal set i fht., at man leder efter arter, som typisk er sjældne og derfor forekommer i lave tætheder. Det skal fremhæves, at de konventionelle metoder foruden ikke-hjemmehørende arter frembragte ganske omfattende artslistes (se Bilag 4), som gør det muligt at vurdere den relative hyppighed af NIS i fht. ikke hjemmehørende arter, hvilket har potentiale til at kunne anvendes som en simpel indikator for NIS påvirkning (impact) (Staehr et al. 2020).

Sammenligning med 2021 overvågningen

Undersøgelsen i 2023 omfattede både seks industrihavne og tre lystbådehavne, som ikke blev undersøgt i 2021. Den følgende sammenligning omfatter derfor primært de seks industrihavne.

Antallet af NIS i 2023 (9 til 16 NIS) var generelt på niveau med 2021 indsamlingen (7 til 14 NIS). Esbjerg havde dog betydeligt færre NIS i 2023 (9 mod 14 NIS i 2021), mens Hirtshals havn havde betydeligt flere NIS i 2023 (15 mod 7 NIS i 2021). Disse forskelle var sammenfaldende med ufuldstændige sedimentprøvetagninger i Esbjerg i 2023 og Hirtshals i 2021.

Udfordringer med ufuldstændig prøvetagning, enten pga. besværighed med blødbundssedimenter og/eller tab af begroningsplader, var større i 2023 indsamlingen. Dette har højest sandsynligt medført, at variationen i antal NIS indenfor havnene var større i 2023. Problemer med prøveindsamlingen i 2023 har desuden medført, at nogle havne (f.eks. Esbjerg Havn) var underrepræsenteret, både hvad angår NIS og det totale antal arter. Desto færre prøver man tager, desto færre arter kan man forvente at finde (Staehr et al. 2020).

På trods af et større tab af konventionelle prøver i 2023 indsamlingen, blev der overordnet observeret flere NIS i 2023 (32 mod 25 NIS i 2021), hvoraf 20 NIS var gengangere. Fem af de 32 fundne NIS i 2023 blev dog kun observeret i lystbådehavnene, og ingen af disse var ikke tidligere fundet i 2021 undersøgelsen af industrihavne. Ved at sammenligne observationer i de seks industrihavnene som blev undersøgt begge år, fandt vi næsten samme antal NIS (25 og 27 NIS i hhv 2021 og 2023), men overlappet var kun på 20 NIS og med forskelle (12 NIS), som både skyldtes forskelle i arter detekteret med konventionelle og eDNA metoder. Foruden de overordnede forskelle viste sammenligningen også en del forskelle mellem NIS listerne for de enkelte havne. Ved at kombinere NIS listerne for de to undersøgelsesår ses både for de enkelte havne samt overordnet, at der opnås en længere NIS artsliste ved at slå de to undersøgelsesår sammen. Dette understreger, at jo flere prøver man tager i havnene, desto flere ikke-hjemmehørende arter finder man.

I fht. det samlede antal arter (NIS og hjemmehørende) observeret med konventionelle metoder, fandt vi generelt flere arter i 2021 undersøgelsen (191 mod 175 arter i 2023). Umiddelbart var det forventet at artsantallet ville være større i 2023 da undersøgelsen var udvidet med tre lystbådehavne. En forklaring kan være at der i 2021 både blev identificeret arter ved skrab og bundprøver om foråret og efteråret, mens 2023 undersøgelsen havde færre prøver, da der kun blev hentet prøver om efteråret. Så det samlede antal konventionelle prøver var alligevel større i 2021. Denne forskel i de to undersøgelses sæsonmæssige prøveindsamling, er hovedårsagen til at der i 2023 blev fundet en meget større sæsonvariation sammenlignet med 2021 undersøgelsen.

5 Perspektivering

Baseret på erfaringer og resultater fra denne rapport og den forrige NIS i havneundersøgelse (Andersen et al. 2023) har vi en række overvejelser omkring prøveindsamlingen og de anvendte metoder.

eDNA metoden

Det artsspecifikke eDNA system virker, men detekterer kun 11 ud af de 19 valgte arter i 2023 og 11 ud af 24 valgte arter i 2021. De arter, som systemet detekterer, forekommer desuden i mange havne. qPCR metoden virker derfor som en god måde at få et overblik over udvalgte arters geografiske udbredelse. Spørgsmålet er dog, om dette dækker behovet i fbm. monitoring af NIS i danske farvande, som pt primært har til formål at levere data til deskriptor D2C1 under havstrategidirektivet og de marine havkonventioner HELCOM og OSPAR. Kortlægning af enkelte arters udbredelse er mere relevant for deskriptor D2C2, som omhandler spredning af problematiske NIS. Det bør derfor overvejes at udvide NIS i havne undersøgelsens formål til også at omfatte vurdering af kendte NIS arters geografiske spredning.

En tidligere direkte sammenligning mellem qPCR og metabarcoding påviste, at sammenfaldet i artsdetektion steg, jo flere prøver man sammenlignede (Sapkota et al. 2023). Desuden blev der identificeret flere oplagte muligheder for at optimere artsdetektionen vha. metabarcoding. Disse omfatter standardisering og optimering af bioinformatikken, inddragelse af flere primere og forbedring af referencedatabaserne for marine arter i danske farvande. Baseret på disse erfaringer samt begrænsningerne i den anvendte artsspecifikke qPCR metode vurderes det, at metabarcoding har et stort potentiale til at kunne berige NIS detektionen foretaget med konventionelle metoder og qPCR detektionssystemet. Metabarcoding er således den eneste metode, som både gør det muligt at detektere helt nye NIS for et farvandsområde og registrerer fastsiddende, mobile og planktoniske organismer samtidig med, at den er nem og billig at gennemføre (Hablützel et al. 2023). Der er dog behov for yderligere optimering, før fuld tilpasning kan finde sted. Optimeringen vedrører styrkelse af referencesekvenser for NIS-arter, valg af biologiske materiale (vand eller skrab) til NIS-detektion (Koziol et al. 2019; Holman et al. 2019), valg af primere (Alberdi et al. 2017), samt optimering af bioinformatikpipelines. Samlet vil disse optimeringer forventeligt øge tilliden (confidence) til artsbestemmelserne generere (Sapkota et al. 2023, Jensen et al. 2024).

For D2C1 bør man derfor overveje muligheden for at udbygge og forbedre anvendelsen af metabarcoding til NIS overvågning. Der er efterhånden en del lande, som inddrager metabarcoding i NIS monitoring (Hablützel et al. 2023, Katsanevakis et al. 2023, Wood et al. 2024), og metoden er tidligere anvendt med succes i kortlægning af NIS i Vadehavet (Stæhr et al. 2023) og testet i overvågningen af NIS i danske havne (Sapkota et al. 2023). Desuden vil der med metabarcoding foruden NIS, blive indsamlet data for de øvrige arter. Dette gør det muligt at lave simple effekt vurderinger (impact assessment), som er relevante i fhft D2C3 - NIS impact (se Stæhr et al. 2020). I betragtning af disse fordele virker det oplagt at investere i yderligere test og optimering af metabarcoding til den fremtidige NIS overvågning.

Konventionelle metoder

Det har været en udfordring i flere af havnene at indsamle blødbundsprøver (Bilag 3). Ufuldstændige bundprøver medfører at blødbundsfauna-arterne underrepræsenteres, herunder havbørsteormene. Data fra fauna og makroalger bestemt i sedimentprøverne viste generelt, at der er en vis spredning af artsfund på de tre delprøver, så det vurderes, at delprøverne højner chancen for at finde flere ikke-hjemmehørende arter. Det anbefales derfor at tage flere sedimentprøver i havne, hvor prøvetagningen er udfordrende.

I 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 f.eks. de krebsdyrsamfund, der lever der. Prøverne fra skrab er dog svære at identificere, og der er en større risiko for, at organismer går tabt eller bliver beskadiget. I skrab fra de forskellige havne var der desuden en tendens til, at forskellige krebsdyr, mobile snegle og makroalger var bedre repræsenterede her end på begroningspladerne. Det anbefales at tage flere skrabprøver.

Der er en reel risiko for at miste begroningsplader. Ved tab kan pladerne enten være helt manglende eller delvist ødelagte. Det anbefales derfor at anvende kraftigere udstyr og optimere placeringen af pladerne.

Der var generelt stor variation af fauna og vegetation på de enkelte begroningsplader, som virkede til at afhænge af pladernes placering i havnen og i vandsøjlen. I nogle havne medfører kraftigt nedslag af f.eks. blåmuslinger på begroningsplader at mindre arter, herunder NIS, underrepræsenteres. Det bør overvejes, om der skal sættes flere begroningsplader ud i hver havn, og om artsdetektionen efterfølgende skal udføres på delprøver fra pladerne.

Trods muligheden for tab af begroningsplader, leverer disse meget værdifuld viden. Forskellige søpunge, særligt arter af lædersøpunge, er meget bedre repræsenteret på begroningspladerne end ved skrab. Ligeledes er pladerne en effektiv måde at detektere makroalger, samt større og hårde individer af arter som Stillehavssøsters og tøffelsnegle. Så selv om der er risiko for at miste begroningsplader, leverer disse meget værdifulde oplysninger om NIS, og bør fortsat indgå i NIS overvågningen.

6 Referencer

Alberdi A., Aizpurua, O., Gilbert, MTP & Bohmann, K. (2017). Scrutinizing key steps for reliable metabarcoding of environmental samples. *Methods in Ecology and Evolution*. 9, 134:147

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.

Andersen, N.R., Stæhr, P.A.U., Andersen, K.R., Buur, H., Jakobsen, H.H., Winding, A. & Sapkota, R. (2023). Havneovervågning af ikke-hjemmehørende arter 2021 - Havstrategiens deskriptor 2. Videnskabelig rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi nr. 534. [Havneovervågning af ikke-hjemmehørende arter 2021 - Havstrategiens deskriptor 2 \(au.dk\)](#)

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

Cook, E.J., Stehlikova, J., Beveridge, C.M., Burrows, M.T., Blauwe, H.D. & Faasse, M. (2013). Distribution of the invasive bryozoan *Tricellaria inopinata* in Scotland and a review of its European expansion. *Aquatic Invasions*. 8 (3): 281-288.

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.

García-Gómez, J.C., Sempere-Valverde, J., González, A.R., Martínez-Chacón, M., Olaya-Ponzone, 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.

Gibson-Hall, E & Bilewitch, J. 2018. *Didemnum vexillum* The carpet sea squirt. In Tyler-Walters H. and Hiscock K. Marine Life Information Network: Biology and Sensitivity Key Information Reviews, [on-line]. Plymouth: Marine Biological Association of the United Kingdom. [cited 01-10-2024]. Available from: <https://www.marlin.ac.uk/species/detail/2231>

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

Hablützel P., Martínez P. A., Bilsen A., Christodoulou M., Delacauw S., De-neudt K., Khodami S., Lagaisse R., Heynderickx H., Obst M., Sapkota R., Sundberg P., Uhler C., Stæhr P. A. U., Winding A. (2023). DNA-based monitoring of Non-Indigenous Species DNA-based monitoring of Non-Indigenous Species. [DNA-based monitoring of Non-Indigenous Species](#)

Hansen, J.L.S og Josefson, A. (2020) Blødbundsfauna. Teknisk Anvisning M19. DCE – Nationalt Center For Miljø og Energi, Aarhus Universitet. Ver.3.Gyldig fra 19.10.2020.

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 (2013). Joint HELCOM/OSPAR Guidelines on the granting of exemptions 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 extended 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 International 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.

Holman L.E., de Bruyn, M., Creer, S., Carvalho G., Robidart, J & Rius, M. (2019). Detection of introduced and resident marine species using environmental DNA metabarcoding of sediment and water. *Scientific Reports*. 9, 11559.

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, K. R., Andersen, P., Andersen, N. R., Bruhn, A., Buur, H., Carl, H., Jakobsen, H., Jaspers, C., Lundgreen, K., Nielsen, R., Strandberg, B. & Stæhr, P. A. (2023). Reviewing Introduction Histories, Pathways, Invasiveness, and Impact of Non-Indigenous Species in Danish Marine Waters. *Diversity*, 15(3), 434. <https://doi.org/10.3390/d15030434>

Jensen, M.R., Agersnap, S., Sigsgaard, E.E., Ávila, M.d.P., Glenner, H., Wisz, M.S., & Thomsen, P.F. (2024). The Core of the Matter – Importance of Identification Method and Biological Replication for Benthic Marine Monitoring. *Ecology and evolution*, 14, e70556

Katsanevakis, S., Olenin, S., Puntilla-Dodd, R., Rilov, G., Stæhr, P. A., Teixeira, H., ... & Tidbury, H. J. (2023). Marine Invasive Alien Species (IAS) in Europe: nine years after the IAS Regulation. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1271755.

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.

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>

Koziol A., Stat, M., Simpson, T., Jarman, S., DiBattista, J.D., Harvey, E.S., Marnane, M., McDonald, J & Bunce, M. (2019). Environmental DNA metabarcoding studies are critically affected by substrate selection. *Molecular Ecology Resources*. 19. 366:376.

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

Markert, A., Matsuyama, K., Rohde, S., Schupp, P. og Wehrmann A. (2015). First record of the non-native Pacific bryozoan *Smittoidea prolifica* Osburn, 1952 at the German North Sea coast. *Marine biodiversity*.

Merkes, C. M., Klymus, K. E., Allison, M. J., Goldberg, C., Helbing, C. C., Hunter, M. E., ... & Richter, C. (2019). Generic qPCR limit of detection (LOD)/limit of quantification (LOQ) calculator. R Script. US Geological Survey code release.

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

Miljøstyrelsen 2022. Faktaark for invasive arter-Australsk kalkrørsorm (*Ficopomatus enigmaticus*). Opdateret november 2022.

Miljøstyrelsen 2022. Faktaark for invasive arter-Japansk skeletreje (*Caprella mutica*). Opdateret november 2022.

Miljøstyrelsen 2022. Faktaark for invasive arter-Østasiatisk søpung (*Styela clava*). Opdateret november 2022.

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.

Naturstyrelsen (2012). Danmarks Havstrategi: Basisanalysen, afsnit 2.3.9:Forekomst, tæthed og rumlig udbredelse af ikke hjemmehørende arter Basisanalysen, afsnit 3.7.2: Indførsel af ikke hjemmehørende arter.

Nemesis (Smithsonian Environmental Research Centers National Estuarine and Marine Exotic Species Information System)-Species summary. https://invasions.si.edu/nemesis/species_summary/

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

Roy, H., Pauchard, A., Stoett, P., Renard Truong, T., Bacher, S., Galil, B., ... & Vandvik, V. (2023). Summary for Policymakers of the Thematic Assessment Report on Invasive Alien Species and their Control. IPBES Invasive Alien Species Assessment, 1-56. DOI 10.5281/zenodo.7430692

Sapkota, R., Winding, A., Stæhr, P.A.U., Andersen, N.R., Buur, H., Hablutzel, P. (2023). Use of metabarcoding to detect non-indigenous species in Danish harbours: Methods comparison. Aarhus University, DCE - Danish Centre for Environment and Energy, 30 pp. Technical Report No. 267 <https://dce2.au.dk/pub/TR267.pdf>

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

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.

Stæhr, P.A.U., Andersen, N.R., Andersen, K.R., Buur, H., Jakobsen, H.H., Larsen, J., Maar, M., Sapkota, R., Schourup-Kristensen, V., Zimmer, K., & Winding, A. (2023). Identification, dispersal, and possible mitigation responses for non-indigenous species in the Danish Wadden Sea area. Aarhus University, DCE – Danish Centre for Environment and Energy, 72 pp. Scientific Report No. 547. [SR547.pdf \(au.dk\)](#)

Stæhr, P.A.U., Buur, H., Dahl, K., Bach, L., Winding, A., Sapkota, R. (2024). Bentisk biodiversitet ved Taarbæk rev. Forundersøgelse ved dykker, haps og eDNA prøver. Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi, 30 s. - Teknisk rapport nr. 304. https://dce.au.dk/fileadmin/dce.au.dk/Udgivelser/Tekniske_rapporter_300-349/TR304.pdf

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.

Thomsen, P. F., & Willerslev, E. (2015). Environmental DNA—An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation*, 183, 4-18.

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.

VLIZ Alien Species Consortium (2020). *Botrylloides violaceus* – Chain tunicate. Non-indigenous species in the Belgian part of the North Sea and adjacent estuaries anno 2020. Flanders Marine Institute (VLIZ). 6 pp

Wood, L. E., Clarke, S. A., Murphy, D., Davison, P. I., Thrush, M. A., Bass, D., ... & Tidbury, H. J. (2024). Monitoring of non-indigenous marine species for legislative and policy goals in the UK. *Marine Policy*, 162, 106027.

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

Zenetos, A. et al. (2022). Status and Trends in the Rate of Introduction of Marine Non-Indigenous Species in European Seas. *Diversity*. 14, 1077. <https://doi.org/10.3390/d14121077>

Zhan, A., Briski, E., Bock, D.G, Ghabooli, S., MacIsaac, H.J. Ascidiarians as models for studying invasion success. *Marine Biology* (2015) 162: 2449-2470.

7 Bilag

Bilag 1.

Anvendte detektionssystemer angivet efter art. 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).

No	NIS	Primer og probe navn	Sekvens af primere og probe	PM 5'-end	PM 3'-end
1	<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	Bon_ham_rbcL_F02	CAATTACTAGATTACCTGGGCAAT	FAM	BHQ-1
		Bon_ham_rbcL_R02	CTTCTTTTACAAAGTCCCGACCT		
		Bon_ham_rbcL_P01	TCGTGCCATAACCATAGACTCTAAAGCC		
2	<i>Prorocentrum cordatum</i>	Pro_min_28S_F03	CTTGGAAGATTGTCGGGT	FAM	BHQ-1
		Pro_min_28S_R03	TATCACTCACCCATAGACGA		
		Pro_min_28S_P03	ACACACAAGGCAAGAGACGATCAAGC		
3	<i>Pseudochattonella verruculata</i>	PseverF	GGGAGAAGTCCTTTGGAACAAGG	FAM	BHQ-1
		PseverR	GCAACTCGACTCCATTAGC		
		PseP	TCAGAGAGGGTGACAATCCCGTCT		
4	<i>Karenia mikimotoi</i>	KarmikF3	CCGAGTGACTGAATGTCCTC	FAM	BHQ-1
		KarmikR3	GATCGCAGGCAAGCACATGA		
		KarmikP3	GCAGTGCTACCAGACACACAGAG		
5	<i>Colpomenia peregrine</i>	Col_per_COX_3_F01	GCAAGCTTTTGAATATGCTAATG	FAM	TAMRA
		Col_per_COX_3_R01	CAGCTAAAAATATTGTACCGATT		
		Col_per_COX_3_P01	TTCAGTTTTTTACATGGCTACAGGCTTC		
6	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Onc_myk_CytB_F01	ACCTCCAGCCATCTCTCAGT	FAM	BHQ-1
		Onc_myk_CytB_R01	AGGACGGGGAGGGAAAGTAA		
		Onc_myk_CytB_P01	TGAGCCGTGCTAGTTACTGCTGTCCTT		
7	<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	Oncgor_CO1_F09	TCCTTCTCTCTCTCTTTC	FAM	BHQ-1
		Oncgor_CO1_R06	TGGCCCTAAAATTGATGAG		
		Oncgor_CO1_P06	CAGGGGCATCCGTCGACTTAACAT		
8	<i>Magallana gigas</i>	Cragig_CO1_F07	TTGAGTTTTGCCAGGGTCTC	FAM	BHQ-1
		Cragig_CO1_R09	ACCAGCAAGGTGAAGGCTTA		
		Cragig_CO1_P06	AACATTGTAGAAAACGGAGTTGGGGC		
9	<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	Rhihar_co1_F03	GTCAACCTGGTACTCTCATTGGT	FAM	BHQ-1
		Rhihar_co1_R03	ACGAGGAAATGCTATATCAGGGG		
		Rhihar_co1_P03	TGTTGTAGTAACAGCTCACGCCTTTGT		
10	<i>Eriocheir sinensis</i>	Erisin_cytb_F02	ACCCCTCTCATATCCAACCA	Fam	BHQ-1
		Erisin_cytb_R02	AAGAATGGCCACTGAAGCGG		
		Erisin_cytb_P02	TTTGCTTACGCTATTTTACGATCAATTCCT		
11	<i>Homarus americanus</i>	Homame_co1_F06	TTACAGCAGTTCTTTACTACTCTCG	FAM	BHQ-1
		Homame_co1_R08	ACTGGGTCTCCACCTCCAG		
		Homame_co1_P08	TCGAAATTTAAATACTTCATTCTCGATCCA		
12	<i>Cordylophora caspia</i>	Cor_cas_COI_F01	TCATCTGTACAAGCACATTCTGG	FAM	BHQ-1
		Cor_cas_COI_R01	TTGAAGAAGCTCCTGCACAGT		
		Cor_cas_COI_P01	CCTTCTGTAGACATGGCTATATTAGTC		

No	NIS	Primer og probe navn	Sekvens af primere og probe	PM 5'-end	PM 3'-end
13	<i>Mnemiopsis leidyi</i>	Mnelei_its2_F04	ACGGTCCCTTGAAGTAGAGC		
		Mnelei_its2_R06	TCTGAGAAGGCTTCGGACAT		
		Mnelei_its2_P06	GTGCCTCTCGGTGTGGTAGCAATATCT	FAM	BHQ-1
14	<i>Acipenser baerii</i>	Acibae_CR_F02	CAGTTGTATCCCCATAATCAGCC		
		Acibae_CR_R03	TTATTCTATTCTCTGAGCAGTCGTGA		
		Acibae_CR_P01	ATGCCGAGAACCCCATCAACATTTGGT	FAM	BHQ-1
15+16*)	<i>Acipenser spp./ guelden. Acipenser ruthenus</i>	Acibae_cytb_F11	TTCCACCCGTA CTCTCATAC		
		Acibae_cytb_R16	GGCGTAGGCGAAGAGAAAGTA		
		Acibae_cytb_P16	CCTAATGCTAGTCGGA CTCTCCGT	FAM	BHQ-1
17	<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
18	<i>Hemigrapsus sanguineus</i>	Hemsan_COI_F01	5'-CCTGGGCCGGTATAGTAGGT-3'		
		Hemsan_COI_R01	5'-GGGGCTCCGAGTATAAGTGG-3'		
		Hemsan_COI_P01	5'-FAMCGAGCAGAATTAAGACAACCAGGAAGC-BHQ1-3'		
19	<i>Hemigrapsus takanoi</i>	Hemtak_co1_F05	5'-AGGTTTTGACTTCTCTCTCTCT-3'		
		Hemtak_co1_R05	5'-CTGCGAGTGGAGGGTAAACG-3'		
		Hemtak_co1_P05	5'-FAM-TAGAAAGAGGTGTAGGTACAGGATGGA-BHQ1-3'	FAM	BHQ-1

Bilag 2.

Detaljeret opgørelse af de molekylære data baseret på qPCR med tre tekniske replikater og med standardkurver baseret på PCR produkter. Tallene adskilt med skråstreg angiver antal tekniske replikater der gav: Ingen C_q / under LOD / over LOD men under LOQ / over LOQ. Farvekode: hvid: ingen C_q, altså ingen ampifikation 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).

A: eDNA fra vandprøver, juni 2023.

Species	Esbjerg harbor_A1	Esbjerg harbor_B1	Esbjerg harbor_C1	Esbjerg lb_1	Hirtshals harbor_A1	Hirtshals harbor_B1	Hirtshals harbor_C1	Frederikshavn harbor_A1	Frederikshavn harbor_B1	Frederikshavn harbor_C1	Aarhus lb_1	Aarhus harbor_A1	Aarhus harbor_B1	Aarhus harbor_C1	Fredericia harbor_A1	Fredericia harbor_B1	Fredericia harbor_C1	Svanemøllen lb_1	Copenhagen harbor_A1	Copenhagen harbor_B1	Copenhagen harbor_C1
<i>Bonnemaia hamifera</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	2/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Prorocentrum cordatum</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
<i>Pseudochattanooga verruculosa</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	1/2/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Karenia mikimotoi</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	2/1/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	2/0/0	3/0/0	3/0/0	0/0/0	3/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	0/0/0
<i>Colpomenia peregrina</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	1/0/0	3/0/0	2/1/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	2/1/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	2/0/0	3/0/0	2/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Magallana gigas</i>	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	0/0/0	2/1/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	2/1/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	2/1/0	0/0/0	0/0/0
<i>Eriocheir sinensis</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Homarus americanus</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Cardiophora caspia</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Mnemiopsis leidyi</i>	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	2/1/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	0/0/0	3/0/0
<i>Acipenser baeri</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Acipenser ruthenus</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Callinectes sapidus</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Hemigrapsus sanguineus</i>	1/1/0	3/0/0	2/1/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Hemigrapsus takanoi</i>	2/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	2/1/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0

B: eDNA fra vandprøver, september 2023.

Species	Esbjerg harbor_A1	Esbjerg harbor_B1	Esbjerg harbor_C1	Esbjerg lb_1	Hirtshals harbor_A1	Hirtshals harbor_B1	Hirtshals harbor_C1	Frederikshavn harbor_A1	Frederikshavn harbor_B1	Frederikshavn harbor_C1	Aarhus lb_1	Aarhus harbor_A1	Aarhus harbor_B1	Aarhus harbor_C1	Fredericia harbor_A1	Fredericia harbor_B1	Fredericia harbor_C1	Svanemøllen lb_1	Copenhagen harbor_A1	Copenhagen harbor_B1	Copenhagen harbor_C1
<i>Bonnemaia hamifera</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	2/1/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Prorocentrum cordatum</i>	3/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	1/2/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
<i>Pseudochattanooga verruculosa</i>	1/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	2/1/0	0/0/0	0/0/0	1/2/0	0/0/0	2/1/0	2/1/0
<i>Karenia mikimotoi</i>	3/0/0	3/0/0	0/0/0	3/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	2/1/0	3/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Colpomenia peregrina</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	0/0/0	3/0/0
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	3/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Magallana gigas</i>	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	1/1/0	0/0/0	0/0/0	2/1/0
<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	2/1/0
<i>Eriocheir sinensis</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Homarus americanus</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Cardiophora caspia</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Mnemiopsis leidyi</i>	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0
<i>Acipenser baeri</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Acipenser ruthenus</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Callinectes sapidus</i>	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Hemigrapsus sanguineus</i>	0/0/0	3/0/0	2/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0
<i>Hemigrapsus takanoi</i>	0/0/0	3/0/0	0/0/0	0/0/0	2/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	1/0/0	0/0/0	0/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0	2/0/0	3/0/0	3/0/0	2/0/0	3/0/0	3/0/0	3/0/0

Bilag 3.

Oversigt over indsamlede prøver med de konventionelle metoder

Lokalitet	Station	Sample	Begroningsplade	Begroningsplade	Grab	Skrab
Fredericia Havn	A	FRH A	Nej	Ikke tilstede	Ja	Ja
Fredericia Havn	B	FRH B	Ja	Tilstede	Ja	Ja
Fredericia Havn	C	FRH C	Ja	Tilstede	Ja	Ja
Esbjerg Lystbådehavn	A	EHL A	Ja	Tilstede	Ja	Ja
Esbjerg Lystbådehavn	B	EHL B	Ja	Tilstede		
Esbjerg Lystbådehavn	C	EHL C	Ja	Tilstede		
Esbjerg Havn	A	EH A	Nej	Ikke tilstede	Ja	Ja
Esbjerg Havn	B	EH B	Nej	Ikke tilstede	Ja lidt	Ja
Esbjerg Havn	C	EH C	Nej	Ikke tilstede	Ja lidt	Ja
Århus Havn	A	ÅRH A	Ja	Tilstede	Ja lidt	Nej
Århus Havn	B	ÅRH B	Ja	Tilstede	Ja lidt	Ja
Århus Havn	C	ÅRH C	Ja	Tilstede	Nej	Ja
Århus Lystbådehavn	A	ÅRL A	Ja	Tilstede	Ja	Ja
Århus Lystbådehavn	B	ÅRL B	Ja	Tilstede		
Århus Lystbådehavn	C	ÅRL C	Ja	Tilstede		
Frederikshavn Havn	A	FH A	Ja	Tilstede	Ja	Ja
Frederikshavn Havn	B	FH B	Ja	Tilstede	Ja lidt	Ja
Frederikshavn Havn	C	FH C	Nej	Ikke tilstede	Ja lidt	Ja
Hirtshals Havn	A	HIH A	Nej	Ikke tilstede	Ja lidt	Ja
Hirtshals Havn	B	HIH B	Ja	Tilstede	Ja lidt	Ja
Hirtshals Havn	C	HIH C	Nej	Ikke tilstede	ja	Ja
Københavns Havn	A	KBH A	Ja	Tilstede	Ja lidt	Ja
Københavns Havn	B	KBH B	Nej	Ikke tilstede	ja	Ja
Københavns Havn	C	KBH C	Nej	Ikke tilstede	Ja lidt	Ja
Svanemøllen Lystbådehavn	A	SM A	Ja	Tilstede	Ja	Ja
Svanemøllen Lystbådehavn	B	SM B	Ja	Tilstede		
Svanemøllen Lystbådehavn	C	SM C	Ja	Tilstede		
		sum	28	28	19	19
		mangler	9		1	1

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	Acrochaetium sp.	(Algae)Rhodophyta	Hjemmehørende
2	Aetea truncata	Bryozoa	Hjemmehørende
3	Aglaothamnion bipinnatum	Rhodophyta	Hjemmehørende
4	Aglaothamnion tenuissimum	Rhodophyta	Hjemmehørende
5	Alcyonidium gelatinosum	Bryozoa	Hjemmehørende
6	<i>Alitta succinea</i>	Annelida	Kryptogen
7	Amathia imbricata	Bryozoa	Hjemmehørende
8	Amphiblestrum auritum	Bryozoa	Hjemmehørende
9	<i>Amphibalanus improvisus</i>	Crustacea	Kryptogen
10	Anomiidae	Mollusca	Hjemmehørende
11	Animalia indet.		Hjemmehørende
12	Antithamnionella floccosa	Rhodophyta	Hjemmehørende
13	Antithamnion villosum	Rhodophyta	Hjemmehørende
14	Anthozoa indet.	Cnidaria	Hjemmehørende
15	Aphelochaeta filiformis	Annelida	Hjemmehørende
16	Apohyale prevostii	Crustacea	Hjemmehørende
17	Asciadiacea indet.	Asciadiacea	Hjemmehørende
18	Asciadiella aspersa	Asciadiacea	Hjemmehørende
19	Asciadiella scabra	Asciadiacea	Hjemmehørende
20	Asterias rubens	Echinodermata	Hjemmehørende
21	Aurelia aurita(schyphistoma)	Cnidaria	Hjemmehørende
22	<i>Austrominius modestus</i>	Crustacea	Ikke-hjemmehørende
23	Balanus crenatus	Crustacea	Hjemmehørende
24	Balanidae	Crustacea	Hjemmehørende
25	Barentsia gracilis	Entoprocta	Hjemmehørende
26	Bittium reticulatum	Mollusca	Hjemmehørende
27	<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	Rhodophyta	Ikke-hjemmehørende
28	Botrylloides leachii	Asciadiacea	Hjemmehørende
29	<i>Botrylloides violaceus</i>	Asciadiacea	Ikke-hjemmehørende
30	Botryllus schlosseri	Asciadiacea	Hjemmehørende
31	Bryopsis hypnoides	(Algae)Chlorophyta	Hjemmehørende
32	Buccinum undatum	Mollusca	Hjemmehørende
33	Bugula sp.	Bryozoa	Hjemmehørende
34	Callithamnion corymbosum	Rhodophyta	Hjemmehørende
35	Caprella linearis	Crustacea	Hjemmehørende
36	<i>Caprella mutica</i>	Crustacea	Ikke-hjemmehørende
37	Carcinus maenas	Crustacea	Hjemmehørende
38	<i>Ceramium sungminbooi</i>	Rhodophyta	Ikke-hjemmehørende
39	Ceramium sp.	Rhodophyta	Hjemmehørende
40	Ceramium virgatum	Rhodophyta	Hjemmehørende
41	Chaetopteris plumosa	(Algae)Phaeophyta	Hjemmehørende
42	Chironomus sp.	Arthropoda	Hjemmehørende
43	Chondrus crispus	Rhodophyta	Hjemmehørende
44	Chorda filum	(Algae)Phaeophyta	Hjemmehørende

45	<i>Ciona intestinalis</i>	Ascidacea	Hjemmehørende
46	Cirratulidae	Annelida	Hjemmehørende
47	Cladophora sp.	(Algae)Chlorophyta	Hjemmehørende
48	Clava multicornis	Cnidaria	Hjemmehørende
49	Clytia hemisphaerica	Cnidaria	Hjemmehørende
50	Colaconema nemalii	Rhodophyta	Hjemmehørende
51	Compsothamnion thuioides	Rhodophyta	Hjemmehørende
52	Conopeum reticulum	Bryozoa	Hjemmehørende
53	Corohium sp.	Crustacea	Hjemmehørende
54	Cradoscrupocellaria reptans	Bryozoa	Hjemmehørende
55	Crangon crangon	Crustacea	Hjemmehørende
56	Crassikorophium crassicorne	Crustacea	Hjemmehørende
57	Crustacea indet.	Crustacea	Hjemmehørende
58	Cryptosula pallasiana	Bryozoa	Hjemmehørende
59	<i>Dasya pedicellata</i>	Rhodophyta	Ikke-hjemmehørende
60	<i>Dasysiphonia japonica</i>	Rhodophyta	Ikke-hjemmehørende
61	<i>Didemnum vexillum</i>	Ascidacea	Ikke-hjemmehørende
62	Dexamine spinosa	Crustacea	Hjemmehørende
63	Ecrobia ventrosa	Mollusca	Hjemmehørende
64	Ectocarpus penicillatus	(Algae)Phaeophyta	Hjemmehørende
65	Einhornia crustulenta	Bryozoa	Hjemmehørende
66	Elachista fucicola	(Algae)Rhodophyta	Hjemmehørende
67	Electra pilosa	Bryozoa	Hjemmehørende
68	Fabricia stellaris	Annelida	Hjemmehørende
69	<i>Ficopomatus enigmaticus</i>	Annelida	Ikke-hjemmehørende
70	Flustra foliacea	Bryozoa	Hjemmehørende
71	Fucus serratus	(Algae)Phaeophyta	Hjemmehørende
72	Fucus spiralis	(Algae)Phaeophyta	Hjemmehørende
73	Fucus vesiculosus	(Algae)Phaeophyta	Hjemmehørende
74	Gaillona hookeri	Rhodophyta	Hjemmehørende
75	Gammaridae indet.	Crustacea	Hjemmehørende
76	Gammarus salinus	Crustacea	Hjemmehørende
77	Gonothyrea loveni	Cnidaria	Hjemmehørende
78	Halichondria panicea	Porifera	Hjemmehørende
79	Halidrys siliquosa	(Algae)Phaeophyta	Hjemmehørende
80	Harmothoe imbricata	Annelida	Hjemmehørende
81	Hediste diversicolor	Annelida	Hjemmehørende
82	<i>Hemigrapsus takanoi</i>	Crustacea	Ikke-hjemmehørende
83	Heteromastus filiformis	Annelida	Hjemmehørende
84	Hiatella arctica	Mollusca	Hjemmehørende
85	Hincksia ovata	(Algae)Rhodophyta	Hjemmehørende
86	Hincksia sp.	(Algae)Rhodophyta	Hjemmehørende
87	Hydrozoa indet.	Cnidaria	Hjemmehørende
88	Idotea balthica	Crustacea	Hjemmehørende
89	Idotea chelipes	Crustacea	Hjemmehørende
90	Jaera (Jaera) albifrons	Crustacea	Hjemmehørende
91	Juxtacribrilina annulata	Bryozoa	Hjemmehørende
92	Kurtiella bidentata	Mollusca	Hjemmehørende
93	Lacuna sp.	Mollusca	Hjemmehørende

94	Lagis koreni	Annelida	Hjemmehørende
95	Laomedea flexuosa	Cnidaria	Hjemmehørende
96	Lekanesphaera rugicauda	Crustacea	Hjemmehørende
97	Leptosiphonia fibrillosa	Rhodophyta	Hjemmehørende
98	Ligia oceanica	Crustacea	Hjemmehørende
99	Leucosolenia botryoides	Porifera	Hjemmehørende
100	Littorina littorea	Mollusca	Hjemmehørende
101	<i>Magallana gigas</i>	Mollusca	Ikke-hjemmehørende
102	<i>Melanothamnus harveyi</i>	Rhodophyta	Ikke-hjemmehørende
103	Membranipora membranacea	Bryozoa	Hjemmehørende
104	Metridium senile	Cnidaria	Hjemmehørende
105	Microdeutopus gryllotalpa	Crustacea	Hjemmehørende
106	<i>Molgula manhattensis</i>	Ascidacea	Ikke-hjemmehørende
107	Monocorophium insidiosum	Crustacea	Hjemmehørende
108	Musculus subpictus	Mollusca	Hjemmehørende
109	<i>Mya arenaria</i>	Mollusca	Ikke-hjemmehørende
110	Mysidae indet.	Crustacea	Hjemmehørende
111	Mytilus edulis	Mollusca	Hjemmehørende
112	Mytilus trossulus	Mollusca	Hjemmehørende
113	Nematoda indet.	Nematoda	Hjemmehørende
114	Nemertini indet	Nemertea	Hjemmehørende
115	Nephtys insisa	Annelida	Hjemmehørende
116	Nereididae	Annelida	Hjemmehørende
117	Nereis pelagica	Annelida	Hjemmehørende
118	Notomastus latericeus	Annelida	Hjemmehørende
119	Nudibranchia indet.	Mollusca	Hjemmehørende
120	Nymphon sp.	Arthropoda	Hjemmehørende
121	Obelia dichotoma	Cnidaria	Hjemmehørende
122	Obelia geniculata	Cnidaria	Hjemmehørende
123	Obelia longissima	Cnidaria	Hjemmehørende
124	Oligochaeta indet.	Annelida	Hjemmehørende
125	Palaemon adspersus	Crustacea	Hjemmehørende
126	<i>Palaemon elegans</i>	Crustacea	Kryptogen
127	Parvicardium hauniense	Mollusca	Hjemmehørende
128	Patella pellucida	Mollusca	Hjemmehørende
129	Pedicellina sp.	Entoprocta	Hjemmehørende
130	Peringia ulvae	Mollusca	Hjemmehørende
131	Ectocarpus/Pylaiella lign.	(Algae)Phaeophyta	Hjemmehørende
132	Pholis gunnellus	Pisces	Hjemmehørende
133	Phyllophoraceae	Rhodophyta	Hjemmehørende
134	Platyhelminthes	Platyhelminthes	Hjemmehørende
135	Platynereis dumerilii	Annelida	Hjemmehørende
136	Pododesmus patelliformis	Mollusca	Hjemmehørende
137	Polychaeta indet.	Annelida	Hjemmehørende
138	Polydora ciliata	Annelida	Hjemmehørende
139	<i>Polydora cornuta</i>	Annelida	Kryptogen
140	Polysiphonia stricta	Rhodophyta	Hjemmehørende
141	Porifera indet.	Porifera	Hjemmehørende
142	Pterothamnion plumula	Rhodophyta	Hjemmehørende

143	<i>Psammechinus miliaris</i>	Echinodermata	Hjemmehørende
144	<i>Punctaria tenuissima</i> (<i>Microthallus</i>)	(Algae)Phaeophyta	Hjemmehørende
145	<i>Pygospio elegans</i>	Annelida	Hjemmehørende
146	<i>Rhithropanopeus harrisii</i>	Crustacea	Ikke-hjemmehørende
147	<i>Rhodochorton purpureum</i>	Rhodophyta	Hjemmehørende
148	<i>Rissoa parva</i>	Mollusca	Hjemmehørende
149	<i>Saccharina latissima</i>	(Algae)Phaeophyta	Hjemmehørende
150	<i>Sargassum muticum</i>	(Algae)Phaeophyta	Ikke-hjemmehørende
151	<i>Schizonema</i>	(Algae)Phaeophyta	Hjemmehørende
152	<i>Schizoporella japonica</i>	Bryozoa	Ikke-hjemmehørende
153	<i>Scoloplos armiger</i>	Annelida	Hjemmehørende
154	<i>Scruparia ambigua</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
155	<i>Scrupocellaria scruposa</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
156	<i>Sinelobus vanhaareni</i>	Crustacea	Ikke-hjemmehørende
157	<i>Smittoidea prolifica</i>	Bryozoa	Ikke-hjemmehørende
158	<i>Smittoidea reticulata</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
159	<i>Sphacelaria cirrosa</i>	(Algae)Phaeophyta	Hjemmehørende
160	<i>Sphacelaria</i> sp.	(Algae)Phaeophyta	Hjemmehørende
161	<i>Spionidae</i>	Annelida	Hjemmehørende
162	<i>Spirobranchus triqueter</i>	Annelida	Hjemmehørende
163	<i>Spirorbinae</i> indet.	Annelida	Hjemmehørende
164	<i>Stenothoe</i> sp.	Crustacea	Hjemmehørende
165	<i>Styela clava</i>	Ascidiacea	Ikke-hjemmehørende
166	<i>Tricellaria inopinata</i>	Bryozoa	Ikke-hjemmehørende
167	<i>Tritia reticulata</i>	Mollusca	Hjemmehørende
168	<i>Tubificoides benedii</i>	Annelida	Hjemmehørende
169	<i>Turritellinella tricarinata</i>	Mollusca	Hjemmehørende
170	<i>Ulothrix</i> sp.	(Algae)Chlorophyta	Hjemmehørende
171	<i>Ulva</i> sp.	(Algae)Chlorophyta	Hjemmehørende
172	<i>Verruca stroemia</i>	Crustacea	Hjemmehørende
173	<i>Vertebrata fucoides</i>	Rhodophyta	Hjemmehørende
174	<i>Walkeria uva</i>	Bryozoa	Hjemmehørende
175	<i>Zostera marina</i>	Magnoliophyta	Hjemmehørende

HAVNEOVERVÅGNING AF IKKE-HJEMMEHØRENDE ARTER 2023

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, Københavns Havn), samt tre lystbådehavne (Esbjerg, Aarhus og Svanemøllen (København)). Overvågningen fandt sted i sommeren 2023 og omfattede konventionelle metoder (skrab, bundprøver og begroningsplader) og eDNA-baserede (qPCR) overvågningsmetoder. I alt blev der fundet 32 ikke-hjemmehørende arter i de ni havne, heraf to helt nye arter for danske farvande. 20 NIS var gengangere fra 2021 overvågningen hvor der blev fundet 25 NIS.