

Programområde:

**Kust och Hav**

Undersökningstyp:

**Mjukbottenfauna,  
kartering**

### **Mål och syfte med undersökningstypen**

- A) Skatta föroreningsinducerade förändringars geografiska utbredning i bottenfaunasamhället inom ett kustområde.
- B) Inventering av enskilt område ur natur- eller produktionssynpunkt.

### **Att tänka på**

Mjukbottenfauna är lämplig och beprövad som övervakningsinstrument pga dess känslighet för belastning av organiskt material, metaller och miljögifter (se t ex sammanställningen av Pearson & Rosenberg 1978, samt artiklar och referenser i temanumret av Australian journal of Ecology 1993 (18) som handlar om miljöövervakning i marin miljö). Genom att följa tillståndet hos den relativt stationära och långlivade mjukbottenfaunan (makrofaunan) möjliggörs en koppling till förändringar av lokala förhållanden.

Föroreningar adsorberas till stor del på finfraktionen av suspenderat material vilket ansamlas på ackumulationsbottnar. De tidigaste effekterna på bottenfaunan får man således på dessa bottnar. Speciellt hög organisk belastning får man i s. k. tröskelfjordar, av vilka vi har ett flertal längs den svenska kusten. I dessa vikar är vattenutbytet nedanför tröskeldjupet litet under stora delar av året, varför ett val av endast sådana stationer kan ge en snedvriden bild av miljösituationen längs kusten. För att åskådliggöra den allmänna miljösituationen i ett område bör emellertid inte enbart ackumulationsbottnar väljas, enär man då erhåller en förvrängd bild. I stället måste stationerna spridas över hela området. De rörliga arterna av makrofaunan flyr ofta från områden med "höga" föroreningskoncentrationer, dvs det är inte enbart dödlighet som orsakar frånvaro av djur. Den typen av undvikandebeteende förekommer även på andra bottentyper än ackumulationsbottnar.

### **Strategi**

Det behövs uppgifter om både geografisk och tidsmässig variation för att kunna koppla eventuella förändringar i ett specifikt område till antropogen verksamhet i området. Storleken på den naturliga variationen är avgörande för möjligheterna att kunna påvisa förändringar,

samt att kunna finna den nivå där de faktiska förändringarna sker. Låg varians ökar möjligheterna till korrekta slutsatser. Eftersom en viss del av variansen orsakas av antalet replikat i kombination med antalet referensområden är det viktigt att inte introducera större varians än nödvändigt i samband med val av provtagningsstrategi.

Syftet med provtagningen är avgörande för vilken provtagningsstrategi som skall tillämpas. För karteringsändamål bestäms ett antal strata som är intressanta för undersökningen. Lämpliga stratifieringsaspekter är djup och bottenyp. Ett djup som alltid bör inkluderas som avskiljare mellan två strata är termoklinens maximala djup. I djupa områden med utvecklad haloklin bör haloklinen utgöra en gräns. Vad gäller bottenyp görs lämpligen stratifieringen utifrån klassificering enligt erosions-, transport- respektive ackumulationsbotten. Om syftet med undersökningen dessutom är att jämföra resultaten från det aktuella undersökningsområdet med andra områden krävs dels tillgång till data från fler än ett referensområde samt att det finns resultat från flera tillfällen (år). Data från regionala mjukbottenfaunaprogram kan vara lämpliga för detta ändamål.

Syftet med undersökningen avgör hur stratifieringen bör göras. Om målsättningen är undersöka eventuell påverkan från antropogen verksamhet stratifieras lämpligen efter avstånd från utsläppspunkten (förväntad påverkansgrad), bottenyp och djup. För andra ändamål med karteringen, tex för områdesskattningar, utgår avståndsaspekten ur stratifieringen. Huggen slumpas ut i geografiska koordinater (latitud/longitud) inom respektive stratum. Om tidigare utslumpade stationer finns inkluderas lämpligen dessa.

I samband med undersökning av påverkansgränser behövs även data från referensområden. För detta ändamål kan data från trendövervakningen (regionala program) användas, förutsatt att dessa stationer är initialt utslumpade, samt att karteringen genomförs samma årstid som trendövervakningen, dvs under våren. I de fall det är önskvärt med sensommarkartering pga intresset för syreförhållanden i bottenvattnet, etc, kan inte trendmaterialet utnyttjas utan dessa stationer måste då besökas på nytt.

## **Statistiska aspekter**

Antalet provpunkter (=replik) per stratum är beroende av områdets storlek, heterogenitet och önskad upplösning för fastställandet av påverkansgränserna. Ett hugg per provpunkt är det normala vid karteringar. En pilotstudie kan behövas för att beräkna hur många provpunkter som behövs inom respektive stratum. För att erhålla likartad procentuell säkerhet i medelvärdesskattningen för respektive stratum beräknas antalet prov per stratum ( $N_i$ ) enligt:

$$N_i = \left( \frac{CV_i}{D} \right)^2,$$

där D anger önskad precision. Ett lågt D-värde är önskvärt och  $D < 0.2$  bör eftersträvas, vilket innebär att SE utgör mindre än 20 % av medelvärdet. Tidigare har det hävdats att denna form av provtagning skulle kräva ett orimligt stort antal prover, senare har dock undersökningar visat att så inte behöver vara fallet (Saila et al. 1976, Cuff & Coleman 1979). För skattning av totalbiomassan uppdelat enbart på strata över, respektive under termoklinen torde krävas minst 20-30 prov inom varje stratum för att uppnå en godtagbar säkerhet i medelvärderna. Om däremot målsättningen med undersökningen är att fastställa påverkansgränser kan det räcka med något färre antal prov per stratum, 10-20 st, eftersom det då är aktuellt att använda sig av den totala informationen i bottenfaunadatat vid analysen. Även om variationen är relativt stor

mellan replikat uppvägs detta av skillnaden mellan de olika påverkansnivåerna, förutsatt att det finns någon effekt av utsläppen.

## Variabler

Insamlad makrofauna bestäms normalt till art. För vissa grupper där oklarheter råder rörande artbegreppet bestäms djuren till lägsta möjliga taxonomisk nivå.

Vid bottenfaunaundersökningarna räknas varje taxon som två variabler, en för abundans (individtäthet) och en för biomassa (våtvikt av formalinkonserverade djur). Enligt BMP rekommenderas torrsvikt och askfri torrsvikt, men precisionsökningen motsvarar inte merkostnaden för dessa variabler. Dessutom räknas den totala abundansen och biomassan (medelvärde av summan av alla individer per m<sup>2</sup> som egna variabler. Vid utvärderingen av resultaten kan taxa aggregeras i olika grupper beroende på deras födosätt, taxonomisk gruppstillhörighet eller föroreningskänslighet. Dessa grupper utgör då nya, sekundära variabler.

Antalet taxa som erhålls i ett område/stratum utgör en variabel. Observera dock att man vid jämförelse mellan områden/strata där olika antal provpunkter tagits måste räkna ut medelantalet taxa per provpunkt, för att få en korrekt jämförelse, eftersom chansen att erhålla sällsynta arter ökar med antalet replikat. Observera att vid den multivariata analysen (MDS) inkluderas samtliga arter.

Eventuell förekomst av svavelväte (lukt av ruttna ägg) i sedimentet noteras vid provtagningen. Förekomst av det giftiga svavelvätet indikerar syrebrist i sedimentet och förklarar frånvaron av makrofauna på sådana bottenar.

Vad skall mätas	Obligatorisk/ frivillig	Provtagnings- frekvens	Provtagnings- metod	Analysmetod
Antal makrofaunataxa	Obl.	årligen våren	Leonardsson 1997	Leonardsson 1997
Antal av varje makrofaunataxon	Obl.	årligen våren	Leonardsson 1997	Leonardsson 1997
Biomassa av varje makrofaunataxon	Obl.	årligen våren	Leonardsson 1997	Leonardsson 1997
Förekomst av svavelvätedoft	Obl.	årligen våren	Leonardsson 1997	Leonardsson 1997
Sedimentbeskrivning (subjektiv bedömning)	Obl.	årligen våren	Leonardsson 1997	Leonardsson 1997
Storleksfördelning av dominerande makrofaunaarter	Friv.	årligen våren	Leonardsson 1997	Leonardsson 1997

Bottensubstratet har stor betydelse för faunans sammansättning på olika lokaler. En enkel bedömning gjord genom att iaktta och känna på sedimentet säger mycket om vilken fauna

man kan förvänta sig på lokalen. En grov men användbar klassificering av sedimentets hårdhet erhålles från provvolymen i bottenfaunahugget. Denna variabel bör alltid föras in i databasen för att eventuellt utvärderas om faunasammansättningen förändras. Den allmänna sedimentbeskrivningen i fält är också viktig för att avgöra om man befinner sig på samma plats som vid tidigare besök på samma station.

Dominerande taxas storleksfördelning är en mycket användbar variabel för att förklara variationer i abundans och biomassa. Ur denna kan man utläsa förändringar i tillväxten, om djuren fortplantat sig tidigare eller senare än normalt eller t o m hoppat över fortplantningen ett helt år. Tidigarelagd könsmodningsålder förekommer ibland vid ökad födotillgång och kan därför vara ett tecken på ökad organisk belastning. Med hjälp av storleksfördelningarna kan även mortaliteten för en eller flera åldersklasser skattas och användas som en fristående variabel. Mortaliteten kan vara användbar för att upptäcka effekter av toxiska substanser.

## **Metoder**

För provtagning och analys av bentisk makrofauna föreskrives de metoder som anges i "Guidelines for BMP" (HELCOM 1996) och de rekommendationer som utgivits av BMB (Dybern et al. 1976). Relevant information om metoder för insamling och behandling av makrofauna återfinns hos Rumohr (1990). Övervakning av makrofauna vid punktkällor beskrivs av Rees et al. (1991). En detaljerad beskrivning (SOP, Standard Operating Procedures, för bottenfauna) finns tillgänglig vid UMF, Umeå universitet, för de rutiner som följs vid provtagning och analys av bottenfauna inom det nationella programmet (Leonardsson 1997).

## **Bakgrundsinformation**

Vid karteringar som syftar till att undersöka påverkansgränser från antropogen verksamhet krävs att referensdata rörande mjukbottenfauna finns tillgängligt vid analysen. Data från regionala referensområden är lämpliga för sådana ändamål, förutsatt att de är insamlade samma årstid som den aktuella undersökningen.

I samband med bottenfaunaundersökningar bör sedimentets basegenskaper bestämmas (Se Undersökningstyp: Sediment basbeskrivning).

För att tolka resultaten är dessutom tillgång till följande data värdefullt:

Meteorologiska data såsom månadsmedelvärden av lufttemperatur, nederbörd och vindar

- A. Hydrografiska data såsom vattentemperatur, salthalt och syrgashalt på olika djupnivåer under året.
- B. Data rörande pelagisk biologi, t ex planktonbiomassa, klorofyll, primärproduktion och sedimentation.
- C. Data om förändringar i den bottenlevande fiskfaunans sammansättning och mängd, från samma område som bottenfaunastationerna.
- D. Data rörande variationer i föroreningsbelastning till det undersökta området.

## Utvärdering

Precisionen i områdesmedelvärdet erhålles genom att beräkna 95% konfidensintervall kring medelvärdet. Beräkningen av spridningsmått för hela området baserat på stratifierad provtagning finns redovisad i Cochran (1977). I det fall karteringen syftar till en områdesskattning används ANOVA eller motsvarande test för totalabundans och biomassa, samt för de dominerande arterna.

Om syftet är att fastställa gränserna för påverkan är av intresse finns några olika varianter att välja på. Konturplottar för området utifrån enskilda arters abundans och biomassa ger en första bild av eventuella påverkansgränser. En mer komplett analys inkluderar samtliga arter och deras abundanser i en multivariat analys (MDS, Multi Dimensional Scaling) (Clarke 1993). För detta ändamål beräknas en "disimilarity" matris enligt Bray & Curtis (1957) utifrån fjärderot-transformerade abundansvärden för samtliga arter och stationer. Även biomassadata kan användas. Särskild programvara finns framtagen för beräkning och ordination av den här typen av data (PRIMER 1996, Clarke 1993). Ordinationen i MDS-analysen roteras för att placera "de mest påverkade stationerna", förutsatt att de skiljer ut sig från övriga i analysen, till vänster i figuren samt centreras med avseende på dimension 2. På så sätt garanteras att eventuell föroreningsgradient fångas upp av den första dimensionen i ordinationen. De enskilda stationernas värden för dimension 1 förs sedan över till en tabell med stationskoordinaterna. Genom att göra en konturplott för området utifrån de justerade värdena för dimension 1 erhålls en mera komplett bild av samhällsstrukturens förändringar i området, jämfört med om totalabundans eller totalbiomassa skulle använts.

De undersökta strata kan även testas statistiskt i en tvåfaktors ANOVA med område och stratum som faktorer. I de fall homogen variansen ej kan erhållas efter relevant transformering används icke-parametriska tester som t ex Mann-Whitney U-test eller Wilcoxon signed-rank test (Clarke 1980). Eftersom ett flertal tester kan behövas för den icke-parametriska analysen justeras signifikansgränsen för antalet test som görs genom att dividera signifikansgränsen med antalet test.

Utöver den beskrivna proceduren med traditionell ANOVA finns även en metod beskriven av Mantel (1967), se även Legendre (1993). Den rör analys av spatiella data och kallas partiellt Mantel-test (Legendre 1993). En sådan analys kan användas för att avgöra utsläppens påverkan på bottenfaunasamhället samt avgöra om ändrade utsläppsförhållanden återspeglas i bottenfaunan. För denna analys behövs, förutom bottenfaunadata från flera tillfällen (år), koordinaterna för respektive stratum samt avstånd till utsläppskällan, djup, omvärldsdata, samt förändringar i utsläppsförhållanden. För att kunna använda de enskilda stationerna i analysen krävs att flera replikat tagits på varje enskild station. Om endast ett replikat finns per position hanteras varje stratum som ett stickprov, vilket innebär att precisionen i analysen blir sämre.

## Kvalitetssäkring

Kvalitetssäkringsarbetet bedrivs dels genom att strikt följa standardiserad metodik, genom internkontroller på laboratoriet, genom att i utvärderingsarbetet identifiera sk "outliers" (värden som starkt avviker från de förväntade), samt genom att delta i nationella och internationella interkalibreringar. Standard Operating Procedures för detaljerad beskrivning av de procedurer som följs vid mjukbottenfaunaprovtagning vid UMF, Umeå universitet, kommer inom snar framtid att finnas tillgängliga. Här nämns några aspekter som bör beaktas.

Kontinuitet hos personalen är av stort värde t. ex. för:

- kriterier för stationslokalisering,
- sedimentbeskrivning
- kriterier för godkänt prov,
- sållningsprocedur
- vägningsprocedurer
- o dyl.

För arbetet med att bestämma djuren är det av stor vikt att man har tillgång till personer med god kännedom om Östersjöns bottenfaunataxonomi. Internkontroller av sorteringspersonalens effektivitet kan göras genom att sållresterna sparas och gås igenom av annan person än den som sorterat. Alternativt gås hela provet igenom, djuren räknas och återförs därefter till sållresterna, varefter provet sorteras av annan person. Dessa kontroller utförs givetvis i form av stickprovskontroller.

Vid undersökningar av bentisk makrofauna torde räkningen av de utsorterade djuren vara en mycket liten felkälla. Däremot har det vid interkalibreringar visat sig att variationerna i våtviktsbestämningen kan vara stora. Det är utomordentligt viktigt att metodbeskrivningen följs minutiöst. Även här kan internkontroller genomföras, genom att samma djur vägs av flera personer. Vid valet av djur bör ej sköra djur som t ex maskar användas, när dessa gärna fragmenterar vid hanteringen. Kräftdjur och musslor är därför att föredra.

Interkalibreringar måste göras nationellt för de laboratorier som arbetar i samma eller angränsande havsområden (t ex alla som arbetar i 1: Bottenviken, 2: Bottenhavet, 3: norra och mellersta egentliga Östersjön samt 4: södra egentliga Östersjön). Dessutom måste interkalibreringar göras mellan de svenska laboratorier som deltar i HELCOM:s "Baltic Monitoring Programme" och de utländska laboratorier som deltar i samma program. Sådan verksamhet organiseras av HELCOM.

## **Rapportering, presentation**

Resultaten från de statistiska analyserna utvärderas och rimligheten i utfallet bedöms utifrån den kringinformation som finns tillgänglig. Argumentationen om resultatens tillförlitlighet skall inkludera kringinformation, om sådan finns, som styrker slutsatserna. Gedigna kunskaper om olika taxas miljökrav, föroreningskänslighet och naturliga variationer krävs för att bedöma rimligheten i tolkningen. En mer detaljerad presentationen av resultaten ges utifrån den stratifiering som gjorts. Om totalbilden av situationen i hela området är av intresse presenteras även de sammanvägda resultaten från samtliga strata. För varje enskilt stratum presenteras således medelvärden och 95% konfidensintervall för:

- Abundans och biomassa, taxon eller gruppvis (för de viktigaste grupperna).
- totalabundans och totalbiomassa,
- antal taxa.

Olika arter/taxa är olika känsliga gentemot föroreningar (för makrofauna se t ex Leppäkoski 1975) och kan indelas i olika grupper efter föroreningskänslighet (se Leppäkoski 1975). Resultaten bör utvärderas mot bakgrund av denna kunskap och kan åskådliggöras i form av kartor där utbredningen av resp. grupp redovisas. Vid utvärderingen utnyttjas ovan nämnda bakgrundsinformation samt kunskaper om den naturliga variationen hos bottenfaunasamhällena.

Vid hög geografisk upplösning av stationsnät, tätt stationsnät, presenteras utbredningskartor för enskilda arter, abundans och/eller biomassa, med konturplottning baserad på lämplig utjämningsfunktion. Motsvarande kartor baserade på MDS-ordinationens 1:a dimension (se utvärderingsavsnittet ovan) presenteras för att åskådliggöra eventuell zonerings i påverkansgrad inom det undersökta området.

Om data finns från tidigare provtagningar presenteras även tidsutvecklingen i diagramform (stapel eller kurvdiagram med spridningsmått inlagda) för relevanta strata och för hela området.

## **Datalagring, datavärd**

Datavärd för denna undersökningstyp saknas eftersom undersökningstypen inte ingår i något av de nationella miljöövervakningsprogrammen. Tillgång till referensdata kan dock finnas hos datavärden, Stockholms marina forskningscentrum, förutsatt att länsstyrelserna rapporterat in resultaten från den regionala trendövervakningen i kustområdena. Bottenfaunadata finns åtminstone från de nationella bottenfaunaprogrammen med ett skärgårdsområde per havsområde; biologiska data från Norrbyområdet i Bottniska viken, Asköområdet i Östersjön och Kristinebergsområdet på västkusten. Dessa data skall finnas tillgängliga hos datavärden.

## **Kostnadsuppskattning**

I genomsnitt drar varje bentiskt makrofaunaprov (taget med 0.1 m<sup>2</sup> van Veen-huggare) 5-10 mantimmar arbetstid (500-1000 kr, f o m provtagning t o m datainlagring).

Materielkostnaderna beräknas f n (jan. 1994) uppgå till ca 440 Kr per hugg (fartygskostnader, utvärderingskostnader och förvaltningspåslag ej inräknat).

## **Övrigt**

I samband med provtagning och sällning grumlas vattnet kring fartyget. Det är därför av vikt att ej mätningar av sedimentationen genomförs i omedelbar närhet av bottenfaunastationerna, eller att sedimentationsfällor inte är utsatta under den tid bottenprovtagningen äger rum.

## **Rekommenderad litteratur**

Andersson, G., U. Jorner & A. Ågren. 1983. Regressions och tidsserieanalys med och utan datorstöd. Studentlitteratur, Lund, 223 s.

Australian Journal of Ecology. 1993. 18:1-. Temanummer om marin miljöövervakning, strategier, statistik, för- och nackdelar med olika typer av organismgrupper.

Bray, J.R., & J.T. Curtis. 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. Ecol. Monogr. 27: 325-349.

Clarke, G. M. 1980. Statistics and Experimental Design. Edward Arnold, London, 188 s.

Clarke, K.R. 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. Australian Journal of Ecology. 18:117-143.

- Cuff, W. & N. Coleman. 1979. Optimal survey design: Lessons from a stratified random sample of macrobenthos. *J. Fish. Res. Board Can.* 36, 351-361.
- Cochran, W.G. 1977. *Sampling techniques*. Wiley International Edition.
- Dybern, B. I., H. Ackefors & R. Elmgren. 1976. Recommendations on methods for marine biological studies in the Baltic Sea. *BMB Publ. No. 1*, 98 s.
- HELCOM, 1988. Guidelines for the Baltic Monitoring Programme for the third stage. Biological Determinands. BSEP No 27D, 91-100.
- HELCOM, 1990. Third Biological Intercalibration Workshop. 27-31 August 1990. Visby, Sweden. BSEP No 38, 153 s.
- Legendre, P. 1993. Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm. *Ecology* 74: 1659-1673.
- Leonardsson, K. 1992. Monitoring of the soft bottom macrofauna at the Swedish coast in the Gulf of Bothnia. Vetenskaplig och statistisk utvärdering av bentosprogrammet presenterat för den internationella referensgruppen vid PMK-utvärderingen 1992. Naturvårdsverket. (Mimeo).
- Leonardsson, K. 1997. MAKROFAUNA - Metodbeskrivning för provtagning och analys av bentisk makrofauna. Standard Operating Procedures (SOP): Soft bottom macrofauna. Umeå Marina Forskningscentrum, Umeå universitet. 16pp.
- Leppäkoski, E. 1975. Assessment of degree of pollution on the basis of macrozoobenthos in marine and brackish-water environments. *Acta Acad. Aboensis, Ser. B, Vol. 35, nr 2*, 90 pp.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* 27: 209-220.
- Pearson, T.H. & R. Rosenberg. 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanogr. mar. Biol. ann. Rev.* 16:229-311.
- PRIMER. 1996. A statistical tool for analysis of marine benthos data. Marine Biological Laboratory, Plymouth, UK. (K.R. Clarke & M. Carr).
- Rees, H.L., Heip, C., Vincx, M. & Parker, M.M. 1991. Benthic communities: use in monitoring point-source discharges. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences No 16*, 70pp.
- Rumohr, H. 1990. Soft bottom macrofauna: collection and treatment of samples. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences No 8*, 18 pp.
- Saila, S. B., R. A. Pikanowski & D. S. Vaughan. 1976. Optimum allocation strategies for sampling benthos in the New York Bight. *Estuarine Coastal Mar. Sci.* 4, 119-128.
- Warwick, R.M. 1988. The level of taxonomic discrimination required to detect pollution effects on marine benthic communities. *Mar. Pollut. Bull.*, 19: 259-268.