

## Innsamling og bearbeiding av bunndyrprøver – hva vi kan enes om

Zlatko Petrin, Knut Andreas E. Bækkelie, Terje Bongard, Trond Bremnes, Tor Erik Eriksen, Gaute Kjærstad, Svein Jakob Saltveit, Ann Kristin Schartau, Gaute Velle



## **NINAs publikasjoner**

### **NINA Rapport**

Dette er en elektronisk serie fra 2005 som erstatter de tidligere seriene NINA Fagrapport, NINA Oppdragsmelding og NINA Project Report. Normalt er dette NINAs rapportering til oppdragsgiver etter gjennomført forsknings-, overvåkings- eller utredningsarbeid. I tillegg vil serien favne mye av instituttets øvrige rapportering, for eksempel fra seminarer og konferanser, resultater av eget forsknings- og utredningsarbeid og litteraturstudier. NINA Rapport kan også utgis på annet språk når det er hensiktsmessig.

### **NINA Kortrapport**

Dette er en enklere og ofte kortere rapportform til oppdragsgiver, gjerne for prosjekt med mindre arbeidsomfang enn det som ligger til grunn for NINA Rapport. Det er ikke krav om sammendrag på engelsk. Rapportserien kan også benyttes til framdriftsrapporter eller foreløpige meldinger til oppdragsgiver.

### **NINA Temahefte**

Som navnet angir behandler temaheftene spesielle emner. Heftene utarbeides etter behov og serien favner svært vidt; fra systematiske bestemmelsesnøkler til informasjon om viktige problemstillinger i samfunnet. NINA Temahefte gis vanligvis en populærvitenskapelig form med mer vekt på illustrasjoner enn NINA Rapport.

### **NINA Fakta**

Faktaarkene har som mål å gjøre NINAs forskningsresultater raskt og enkelt tilgjengelig for et større publikum. De sendes til presse, ideelle organisasjoner, naturforvaltningen på ulike nivå, politikere og andre spesielt interesserte. Faktaarkene gir en kort framstilling av noen av våre viktigste forskningstema.

### **Annen publisering**

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

# Innsamling og bearbeiding av bunndyrprøver – hva vi kan enes om

Zlatko Petrin, Knut Andreas E. Bækkeli, Terje Bongard, Trond Bremnes,  
Tor Erik Eriksen, Gaute Kjærstad, Svein Jakob Saltveit, Ann Kristin  
Schartau, Gaute Velle

Petrin, Z., Bækkelie, K.A.E., Bongard, T., Bremnes, T., Eriksen, T.E., Kjærstad, G., Saltveit, S.J., Schartau, A.K. & Velle, G. 2016. - Innsamling og bearbeiding av bunndyrprøver – hva vi kan enes om. NINA Rapport 1276. 41 s.

Trondheim, juni 2016

ISSN: 1504-3312

ISBN: 978-82-426-2937-1

RETTIGHETSHAVER

© Norsk institutt for naturforskning

Publikasjonen kan siteres fritt med kildeangivelse

TILGJENGELIGHET

Åpen

PUBLISERINGSTYPE

Digitalt dokument (pdf)

KVALITETSSIKRET AV

Bjørn Mejdell Larsen

ANSVARLIG SIGNATUR

Forskningsjef Odd Terje Sandlund (sign.)

OPPDRAUGSGIVER(E)/BIDRAGSYTER(E)

Miljødirektoratet

OPPDRAUGSGIVERS REFERANSE

M-583|2016

KONTAKTPERSON(ER) HOS OPPDRAGSGIVER/BIDRAGSYTER

Steinar Sandøy

FORSIDEBILDE

Bunndyrprøvetaking i Nidelva. Foto: Knut Andreas E. Bækkelie, NINA

NØKKEWORD

Trøndelag, Trondheim, bunndyr, makroinvertebrater, metodeutvikling, sparkeprøve, Surberprøve, Homla, Trollbekken, Nidelva, Sagelva, arts mangfold, antall arter, abundance, funksjonelle grupper.

KEY WORDS

Northern Europe, Central Norway, Trondheim, macro invertebrates, methodology testing, kick-sampling, Surber-sampling, Homla, Trollbekken, Nidelva, Sagelva, species diversity, density, abundance, functional traits.

KONTAKTOPPLYSNINGER

**NINA hovedkontor**

Postboks 5685 Sluppen  
7485 Trondheim  
Telefon: 73 80 14 00

**NINA Oslo**

Gaustadalléen 21  
0349 Oslo  
Telefon: 73 80 14 00

**NINA Tromsø**

Framsenteret  
9296 Tromsø  
Telefon: 77 75 04 00

**NINA Lillehammer**

Fakkeltgården  
2624 Lillehammer  
Telefon: 73 80 14 00

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

## Sammendrag

Petrin, Z., Bækkelie, K.A.E., Bongard, T., Bremnes, T., Eriksen, T.E., Kjærstad, G., Saltveit, S.J., Schartau, A.K. & Velle, G. 2016. - Innsamling og bearbeiding av bunndyrprøver – hva vi kan enes om. NINA Rapport 1276. 41 s.

Forskrift om rammer for vannforvaltningen (vannforskriften) pålegger en økologisk tilstandsvurdering og klassifisering av alle ferskvannsøkosystemer, inkludert rennende vann. Vurdering av økologisk tilstand bygger på en rekke indekser utviklet for ulike miljøpåvirkninger på økologisk integritet. Indeksene stiller ulike krav til oppløsningen og hva som er nødvendig av primærdata. Hittil har innsamlingen av primærdata basert seg på metodiske tilnærminger som har vært tolket på ulikt vis av ulike forskere, noe som åpner for at vurderingen av økologisk tilstand kan påvirkes av den eller de som utfører arbeidet. Hvilke konsekvenser det har på økologisk tilstandsvurdering er på det nåværende tidspunkt ukjent.

Implementeringen av vannforskriften baseres på ulike biologiske kvalitetselementer, blant annet bunndyr (hvirvelløse dyr). Vi har utført en spørreundersøkelse blant forskere som arbeider med bunndyr i implementeringen av vannforskriften for å identifisere generelle holdninger og foretrukne metodiske tilnærminger. De foretrukne verktøyene for innsamling av bunndyr var semi-kvantitativ innsamling ved bruk av sparkehåv, og til en viss grad kvantitativ innsamling ved bruk av et Surber-nett. I det neste steget ble vi enige om å teste en standardisert felt- og laboratorieprosedyre for innsamling av bunndyr fra fire vannforekomster i Midt-Norge. Feltstudien ble gjennomført som en dobbel blindtest for å kunne analysere effektene av feltarbeider, laboratorium og ulike miljøparametere på innsamlede data om artsmangfold, bunndyrs preferanse for vannhastighet, to indekser brukt i vurderingen av økologisk tilstand og nivået av taksonomisk bestemmelse.

Vi fant signifikante effekter av feltarbeider og vannforekomst, men størst var effekten av laboratorium. Vi lister opp en rekke anbefalinger som prøver å ta hensyn til effektene av at ulike personer utfører datainnsamlingen og som dermed bidrar til et bedre grunnlag for en troverdig vurdering av økologisk tilstand i rennende vann i Norge. Anbefalingene inkluderer blant annet behovet for en akkreditering eller godkjenning av feltarbeidere og laboratorier, innføring av en standardisert taksonomisk liste og bruk av semi-kvantitative sparkeprøver fremfor kvantitative Surberprøver i implementeringen av vannforskriften.

Zlatko Petrin<sup>1,a</sup>, Knut Andreas E. Bækkelie<sup>1,b</sup>, Terje Bongard<sup>1,c</sup>, Trond Bremnes<sup>2,d</sup>, Tor Erik Eriksen<sup>3,e</sup>, Gaute Kjærstad<sup>4,f</sup>, Svein Jakob Saltveit<sup>2,g</sup>, Ann Kristin Schartau<sup>5,h</sup>, Gaute Velle<sup>6,7,i</sup>

<sup>1</sup> Norsk institutt for naturforskning, Postboks 5685 Sluppen, 7485 Trondheim

<sup>2</sup> Laboratorium for ferskvannsøkologi og innlandsfiske, Naturhistorisk museum, Universitetet i Oslo, Postboks 1172 Blindern, 0318 Oslo

<sup>3</sup> Norsk institutt for vannforskning, Gaustadalléen 21, 0349 Oslo

<sup>4</sup> Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet, Vitenskapsmuseet, 7491 Trondheim

<sup>5</sup> Norsk institutt for naturforskning, Gaustadalléen 21, 0349 Oslo

<sup>6</sup> Uni Research Environment, Nygårdsgaten 112, 5008 Bergen, Norway

<sup>7</sup> Department of Biology, University of Bergen, Thormøhlensgate 53, 5006 Bergen, Norway

<sup>a</sup>zlatko.petrin@nina.no

<sup>b</sup>knut.andreas.eikland.baekkelie@nina.no

<sup>c</sup>terje.bongard@nina.no

<sup>d</sup>trond.bremnes@nhm.uio.no

<sup>e</sup>tor.erik.eriksen@niva.no

<sup>f</sup>gaute.kjarstad@ntnu.no

<sup>g</sup>s.j.saltveit@nhm.uio.no

<sup>h</sup>ann.schartau@nina.no

<sup>i</sup>gaute.velle@uni.no

## Abstract

Collection and processing of benthic macroinvertebrate samples – what we can agree upon – NINA Report 1276. 41 pp.

The Water Framework Directive (WFD) requires the assessment of the ecological status of fresh-water bodies including lotic ecosystems. Ecological status assessment relies on a number of indices that have been developed to indicate various types of environmental stress on ecological integrity. The indices require different types of data including different levels of resolution also influencing the method of data acquisition. The methodological approaches that have been used in data acquisition have, however, been interpreted differently by researchers suggesting that the operator may influence the results. We presently lack information on the consequences of operator effects on ecological status assessment. The implementation of the WFD relies on biological quality components including benthic macroinvertebrates. We have used a questionnaire to identify general views and the preferred methodological approaches that have been used by benthologists at Norwegian research institutions in the implementation of the WFD. Semi-quantitative sampling using a kick net and to a smaller degree quantitative sampling using a Surber net were the tools that were chosen for the collection of benthic macroinvertebrates in the scope of the implementation of the WFD. In the next step, we standardized field and laboratory procedures for the acquisition of benthic macroinvertebrate data from four Central Norwegian water-courses. We performed a double-blind field study to analyse and test the effects of the field-worker and freshwater laboratory on the results regarding species diversity, benthic macroinvertebrate current preferences, two indices of ecological status, and the taxonomic level of identification. We found significant effects of fieldworkers and freshwater laboratories across the different types of response variables. In particular, the identity of the freshwater laboratory in addition to the identity of the watercourse proved influential for the results. We list a number of recommendations in order to minimize operator effects. The recommendations should supposedly contribute to a more reliable assessment of ecological status in lotic freshwater ecosystems in Norway. The recommendations include, but are not limited to, calibration of fieldworkers and freshwater laboratories, the introduction of a standardized taxonomic list and the use of semi-quantitative sampling using a kick net rather than quantitative sampling using a Surber net in the scope of the implementation of the WFD.

Zlatko Petrin<sup>1,a</sup>, Knut Andreas E. Bækkelie<sup>1,b</sup>, Terje Bongard<sup>1,c</sup>, Trond Bremnes<sup>2,d</sup>, Tor Erik Eriksen<sup>3,e</sup>, Gaute Kjærstad<sup>4,f</sup>, Svein Jakob Saltveit<sup>2,g</sup>, Ann Kristin Schartau<sup>5,h</sup>, Gaute Velle<sup>6,7,i</sup>

<sup>1</sup>Norwegian Institute for Nature Research, P.O. Box 5685 Sluppen, 7485 Trondheim, Norway

<sup>2</sup>Freshwater Ecology and Inland Fisheries Laboratory, Natural History Museum, University of Oslo, Postboks 1172 Blindern, 0318 Oslo, Norway

<sup>3</sup>Norwegian Institute for Water Research, Gaustadalleen 21, 0349 Oslo, Norway

<sup>4</sup>Norwegian University of Science and Technology, University Museum, 7491 Trondheim, Norway

<sup>5</sup>Norwegian Institute for Nature Research, Gaustadalléen 21, 0349 Oslo, Norway

<sup>6</sup>Uni Research Environment, Nygårdsgaten 112, 5008 Bergen, Norway

<sup>7</sup>Department of Biology, University of Bergen, Thormøhlensgate 53, 5006 Bergen, Norway

<sup>a</sup>zlatko.petrin@nina.no

<sup>b</sup>knut.andreas.eikland.baekkelie@nina.no

<sup>c</sup>terje.bongard@nina.no

<sup>d</sup>trond.bremnes@nhm.uio.no

<sup>e</sup>tor.erik.eriksen@niva.no

<sup>f</sup>gaute.kjarstad@ntnu.no

<sup>g</sup>s.j.saltveit@nhm.uio.no

<sup>h</sup>ann.schartau@nina.no

<sup>i</sup>gaute.velle@uni.no

# Innhold

<b>Sammendrag</b> .....	<b>3</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>4</b>
<b>Innhold</b> .....	<b>5</b>
<b>Forord</b> .....	<b>6</b>
<b>1 Innledning</b> .....	<b>7</b>
<b>2 Metoder</b> .....	<b>9</b>
2.1 Kartlegging av metoder .....	9
2.2 Prosedyrer i felt.....	10
2.3 Bearbeidelse på laboratoriet.....	10
2.4 Dataanalyse.....	12
<b>3 Resultater</b> .....	<b>14</b>
3.1 Spørreundersøkelse .....	14
3.2 Feltstudie .....	15
<b>4 Diskusjon</b> .....	<b>25</b>
<b>5 Anbefalinger</b> .....	<b>30</b>
5.1 Forslag til tiltak.....	30
<b>6 Referanser</b> .....	<b>33</b>
<b>8. Vedlegg</b> .....	<b>36</b>
<i>Vedlegg 1</i> .....	36
<i>Vedlegg 2</i> .....	40

## Forord

NINA ble spurt av Miljødirektoratet om, i samarbeid med andre norske fagmiljøer, å bidra til en enighet om metodikk for innsamling og bearbeidelse av bunndyrprøver (makroinvertebrater) i rennende vann. Prosjektet har hatt som mål å komme frem til et omforent forslag til hvordan vanddirektivet skal iverksettes mht. metodikk for innsamling og bearbeidelse av bunndyrprøver i rennende vann. Vi skulle også analysere om feltarbeideren som samler inn prøver eller laboratoriet som bearbeider prøven, kan påvirke resultatene. I denne rapporten vil vi presentere funnene fra dette prosjektet.

Vi vil takke Miljødirektoratet for deres støtte til prosjektet. Spesielt vil vi takke vår kontaktperson i Miljødirektoratet, Steinar Sandøy, som i flere år har vært opptatt av å forbedre metodikken i forbindelse med datainnsamling i forbindelse med implementeringen av vannforskriften.

Samarbeidspartnerne i dette prosjektet dekker bredden av de store aktørene i forskning og overvåkning av ferskvannssystemer i Norge. Flere personer i tillegg til rapportens forfattere har i stor grad bidratt med verdifull ekspertise underveis i prosjektet. Følgende personer takkes for et hyggelig og konstruktivt samarbeid:

Fra Vitenskapsmuseet ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet har Jo Vegar Arnekleiv deltatt med viktig erfaring i innledningen av prosjektet og Anette Grimsrud Davidsen med bearbeidelse av innsamlede prøver. Fra Uni Research Miljø har Torunn Svanevik Landås og Arne Johannessen bidratt med bearbeidelse av innsamlede prøver. Fra Norsk institutt for vannforskning (NIVA) har Torleif Bækken og Nikolai Friberg deltatt med erfaring og viktige innspill i begynnelsen av prosjektet. Fra Norsk institutt for naturforskning (NINA) har Odd Terje Sandlund utfyllt en viktig rolle som prosjektkoordinator i perioden da prosjektleder hadde permisjon. Vi vil også takke Ruth Bergmann, Frode Thomassen Singsaas og Siri Aashaug Sæther ved biblioteket ved NINA for verdifull assistanse i litteraturarbeidet.

Trondheim, juni 2016

Zlatko Petrin, PhD  
Prosjektleder

Knut Andreas E. Bækkelie  
Assisterende prosjektleder



# 1 Innledning

EUs vanndirektiv, ratifisert i Forskrift om rammer for vannforvaltningen (heretter kalt vannforskriften), krever at det skal gjennomføres økologisk vurdering og klassifisering av europeiske ferskvannsøkosystemer (European Communities 2000, Miljøverndepartementet 2006). Ved klassifiseringen av rennende vann benyttes de biologiske kvalitetselementene bentiske alger, bunndyr (makroinvertebrater) og fisk (European Communities 2000, Miljøverndepartementet 2006). Den biologiske informasjonen samles i indekser for å sikre objektivitet (Veileder 02:2013 - revidert 2015). Det benyttes fem tilstandsklasser og det stilles lovmessige krav til tiltak om den økologiske tilstanden er lavere enn god (Miljøverndepartementet 2006, Veileder 02:2013 - revidert 2015). Man kan anta at innsamlingsmetoder og laboratorieprosedyrer bør være standardiserte for at klassifiseringen av de biologiske kvalitetselementene skal være sammenlignbare og troverdige. Bunndyr har vist seg å være et spesielt verdifullt kvalitetselement på grunn av deres artsmangfold, funksjonelle responser, tetthet og vidstrakte geografiske utbredelse (Hellawell 1988, Rosenberg & Resh 1993). Et første steg i arbeidet med å utarbeide et felles, entydig system for innsamling og analyser av bunndyr vil være å standardisere metoder og kvantifisere usikkerheten knyttet til disse. Standarder for innsamling av bunndyr eksisterer (NS 4718: 1988, NS 4719: 1988, NS-EN ISO 10870: 2012), men disse standardene tillater en viss grad av fleksibilitet for å kunne benyttes under ulike forhold i elvene. En strengere standardisert protokoll for innsamling av bunndyr og bearbeiding av prøver fra rennende vann anses derfor som nødvendig. Det er likevel slik at en individuell tolkning av metodene i vannforskriften ikke nødvendigvis er negativt, det kan til og med være påkrevd i enkelte tilfeller. Vassdragene som skal klassifiseres etter vannforskriften er ikke ensartede og lokal tilpasning av vannforskriften kan være nødvendig (Ferraro et al. 1994, Bunn 1995, Diamond et al. 1996). Innsamling og videre bearbeiding av materiale kan derfor variere og begrense sammenlignbarheten av dataene, men det har vært uklart i hvilken grad dette slingringsrommet i metodene påvirker resultatene.

Metodene som nå benyttes til vurdering av økologisk tilstand og klassifisering av ferskvannforekomster er utformet slik at de gir rom for tolkning. Vi kan ut ifra det trekke to motstående konklusjoner: (1) Det er nødvendig å implementere en strengere standardisert protokoll for innsamling av bunndyr og bearbeiding av prøver fra rennende vann i iverksettelsen av vannforskriften og (2) En individuell tolkning kan ha høy grad av relevans og være påkrevd siden vassdragene som skal klassifiseres etter vannforskriften sjelden er ensartede. Lokal tilpasning av vannforskriften kan da være nødvendig.

Det har i løpet av de siste årene blitt utarbeidet indekser for klassifisering av økologisk tilstand i norske vannforekomster (Veileder 02:2013 - revidert 2015). Disse indeksene, samt relevante statistiske betraktninger, setter i ulik grad krav til dataene som samles inn, enten det er mengden av data eller kvaliteten til dataene (Veileder 02:2013 - revidert 2015). Dette har betydning for valget av felt- og laboratorieprosedyrer.

Tidligere diskusjoner om standardisering har vist at det er enighet vedrørende foretrukne felt- og laboratorieprosedyrer, men også uenighet om sentrale aspekter i metodisk tilnærming. Uenighetene kan reflektere ulike problemstillinger, ulike forskertradisjoner, ekspertise på ulike organismer og at feltarbeidet utføres under forskjellige hydrologiske og geomorfologiske forhold. Dersom teoretiske betraktninger og forskeres subjektive erfaring danner grunnlaget for fremforhandlede kompromisser for felt- og laboratorieprosedyrer må prosedyrene regnes som foreløpige. Forskere har ulike syn og vil rettmessig forsvare sine meninger som er basert på egen forståelse og erfaring. Likevel kan individuell forståelse ofte reflektere betingende erfaringer som kan stamme fra forskning i ulik kontekst og dermed ha begrenset relevans for implementering av vannforskriften. Etablerte tilnærminger hos naboland vil mest sannsynlig ikke løse denne utfordringen ettersom norske vannforekomster på mange måter er unike og derfor krever metodiske løsninger tilpasset norske forhold (Petersen et al. 2006). Siden det ikke finnes ferdige hylleløsninger og forskere har ulike synspunkter, må vi gjøre mer enn å bare debattere problemet dersom vi skal komme frem til en omforent metodikk. I stedet er det nødvendig å formelt evaluere

og teste de foretrukne tilnærmingene under relevante norske forhold for å kunne ende opp med et forslag alle kan stille seg bak.

Dette prosjektets formål er å presentere en omforent tilnærming for innsamling av bunndyr og bearbeiding av prøver i prosjekter der bunndyr brukes for å fastslå og overvåke økologisk tilstand av rennende vann i Norge. Som grunnlag for dette ble vi enige om en taksonomisk oppløsning for bestemmelser. Deretter sammenlignet vi to prøvetakingsmetoder, en kvalitativ (Surber) og en semi-kvantitativ (spark) metode, og testet usikkerheten som er knyttet til de ulike stegene i innsamlingen og bearbeidingen av bunndyrprøver. Helt konkret testet vi usikkerheten knyttet til personen som foretar innsamlingen (prøvetaker), prøvebearbeiding og artsbestemmelser utført av ulike forskningsinstitusjoner. Dette gjorde vi for å belyse hvilken metode av disse to som er foretrukket i tilstandsklassifisering etter vannforskriften og dermed kunne anbefales for fremtiden. I tillegg ville vi undersøke om en standardisert innsamlings- og laboratorieprosedyre påvirket resultatene.

Prosjektet er gjennomført slik at det startet med, ved hjelp av et spørreskjema, å identifisere hvilken type datamateriale faggruppene anser som nødvendig. Deretter fulgte en vurdering av foreslåtte felt- og laboratorieprosedyrer i form av en feltstudie. Målet med studien var ikke å sammenligne feltarbeidere eller laboratorier. I stedet ønsket vi å oppnå enighet om prosedyren som bør være foretrukket brukt i datainnsamlingen for iverksettelsen av vannforskriften. Da vi testet felt- og laboratorieprosedyrene benyttet vi oss derfor av en dobbel blindtest-tilnærming (Rivers & Webber 1907, Petrie & Watson 2013). Dette gjorde vi for å sikre objektivitet, anerkjennelse av prosjektets resultater og en aksept for de metodiske anbefalingene vi ønsket skulle komme ut av studien. For å kunne gi en pålitelig vurdering av prosedyrene, analyserte vi om vannforekomst, identiteten til feltarbeideren og identiteten til laboratoriet som bearbeidet prøvene hadde en effekt på en rekke responsvariabler som inkluderte antallet bunndyr per prøve, ulike mål på artsmangfold, en utvalgt funksjonell egenskap (preferanse for ulike vannstrømmer) og to utvalgte indekser for økologisk tilstand.

## 2 Metoder

Vi tilnærmet oss studien på to måter. Først ble det gjennomført en spørreundersøkelse for å dokumentere bredden av metodiske tilnærminger som brukes til fremskaffelsen av primærdata. Deretter ble det gjort en feltstudie utført som en dobbelt blindtest for å analysere hvilke effekter feltarbeider og laboratorium kunne ha på artsmangfold, en utvalgt arts-egenskap, to indekser brukt i vurderingen av økologisk tilstand og nivået av taksonomisk bestemmelse.

### 2.1 Kartlegging av metoder

En rekke indekser basert på bunndyr, blant andre ASPT (Average Score Per Taxon), RAMI ((River Acidification Macroinvertebrate Index), Forsuringsindeks 1 og 2 («Raddum-indeks»)), er blitt benyttet i iverksettelsen av vannforskriften (Armitage et al. 1983, Raddum & Fjellheim 1984, Raddum 1999, European Communities 2000, Miljøverndepartementet 2006, Veileder 02:2013 - revidert 2015). Datagrunnlaget som er nødvendig i beregningen av indeksene varierer og har betydning for klassifiseringsmetodene som benyttes (Armitage et al. 1983, Raddum & Fjellheim 1984, Raddum 1999). I tillegg kan nye metoder utvikles i fremtiden som stiller andre krav til dataene (Petrin et al. 2013). De ulike indeksene som så langt er implementert stiller ulike krav til taksonomisk oppløsning i dataene. I dag måles eksempelvis organisk forurensing med data på familienivå mens forsuring måles med data på artsnivå for utvalgte insektordener (Armitage et al. 1983, Raddum & Fjellheim 1984, Raddum 1999, Veileder 02:2013 - revidert 2015). Til tross for dette bør kravet til taksonomisk oppløsning være likt, uavhengig av belastningstype. Det vil derfor være nødvendig å utarbeide en standardisert taksaliste i den videre implementeringen av vannforskriften. Dette gjelder særlig med tanke på utviklingen av fremtidige indekser.

Ved å benytte et spørreskjema er det mulig å innhente ekspertvurderinger fra et bredt utvalg forskere. Vi ønsket å bruke dette til å identifisere generelle trekk ved dagens og fremtidens krav til nødvendige data (**tabell 1**). I tillegg ønsket vi å bruke denne tilnærmingen for å dokumentere ekspertenes formening om taksonomiske utfordringer og bredden av ulike felt- og laboratorieprosedyrer som blir benyttet i Norge i dag. Vi kartla derfor metoder for innsamling og bearbeidelse av bunndyrprøver i rennende vann hos de ulike laboratoriene som er med på studien (**tabell 1**). Siden målet med studien var å komme frem til en bred enighet i Norge, inviterte vi derfor alle de større forskningsinstitusjonene som er involvert i forskning på ferskvannsekologi i Norge om å delta. Alle (Laboratorium for ferskvannsekologi og innlandsfiske ved Universitetet i Oslo, NTNU Vitenskapsmuseet, NINA, NIVA og Uni Research Miljø) ønsket da også å delta.

**Tabell 1.** En oversikt over informasjonen som ble etterspurt i spørreundersøkelsen om nåværende og fremtidige krav til data og foretrukket metode for innsamling og bearbeidelse av bunndyrprøver i rennende vann.

Type informasjon
Nødvendige data: Tettheter av bunndyr, artsrikhet/mengde (tetthet og andeler), artssammensetning (artsidentitet) og arters egenskaper.
Fokus-taksa: Taksa som er avgjørende for bestemmelse av økologisk tilstand.
Et foretrukket nivå for bestemmelse av hvert taksa og en standardisert taksonomisk liste.
Utforming av overvåkningsprogram: Frekvens av prøvetakning, prøvestørrelse (antall vannforekomster), innsamlingstidspunkt (sesong), antall prøver i hver vannforekomst.
Prøveutstyr og maskevidde
Innsamlingsmetoder: sparkeprøve, Surber-prøve
Sted for bearbeidelse av prøver: i felt, i laboratoriet
Utstrekning av prøvebearbeidelse: fullstendig sortering, subsampling, subsampling av utvalgte taksa
Prosedyre for subsampling
Aktuelle steder for en feltstudie

## 2.2 Prosedyrer i felt

Det ble samlet inn semi-kvantitative prøver (sparkeprøver, kvadratisk åpning på håv, areal 625 cm<sup>2</sup>, maskevidde 250 µm) og kvantitative prøver (Surber-nett, rammeåpning på 30 x 30 cm, areal 900 cm<sup>2</sup>, maskevidde 250 µm) (Surber 1937, 1970, Peckarsky 1984, Klemm et al. 1990). Feltarbeiderne var Terje Bongard (NINA), Tor Erik Eriksen (NIVA), Gaute Kjærstad (NTNU Vitenskapsmuseet) og Gaute Velle (Uni Research). Disse tok prøver på samme lokalitet og på samme tidspunkt i hver av de fire vannløpene Nidelva, Homla, Trollbekken og Sagelva, alle i Sør-Trøndelag, i perioden 26. til 28. mai 2015 (**figur 1**). Hver feltarbeider fikk tildelt en seksjon av elvestrekningen i hver vannforekomst der prøvene skulle tas (Needham & Usinger 1956, Pollard 1981). For hver enkelt prøve ble det målt dybde og vannhastighet. I tillegg ble dominerende og sub-dominerende substrattypen registrert ved å skille mellom silt, sand og fin grus (mineralske partikler under 20 mm), grus og småstein (mellom 21 og 120 mm), stein (mellom 121 og 290 mm), stor stein og blokk (over 291 mm) og fast fjell. Hver feltarbeider samlet fem sparkeprøver og fem Surberprøver i hver enkelt vannforekomst.

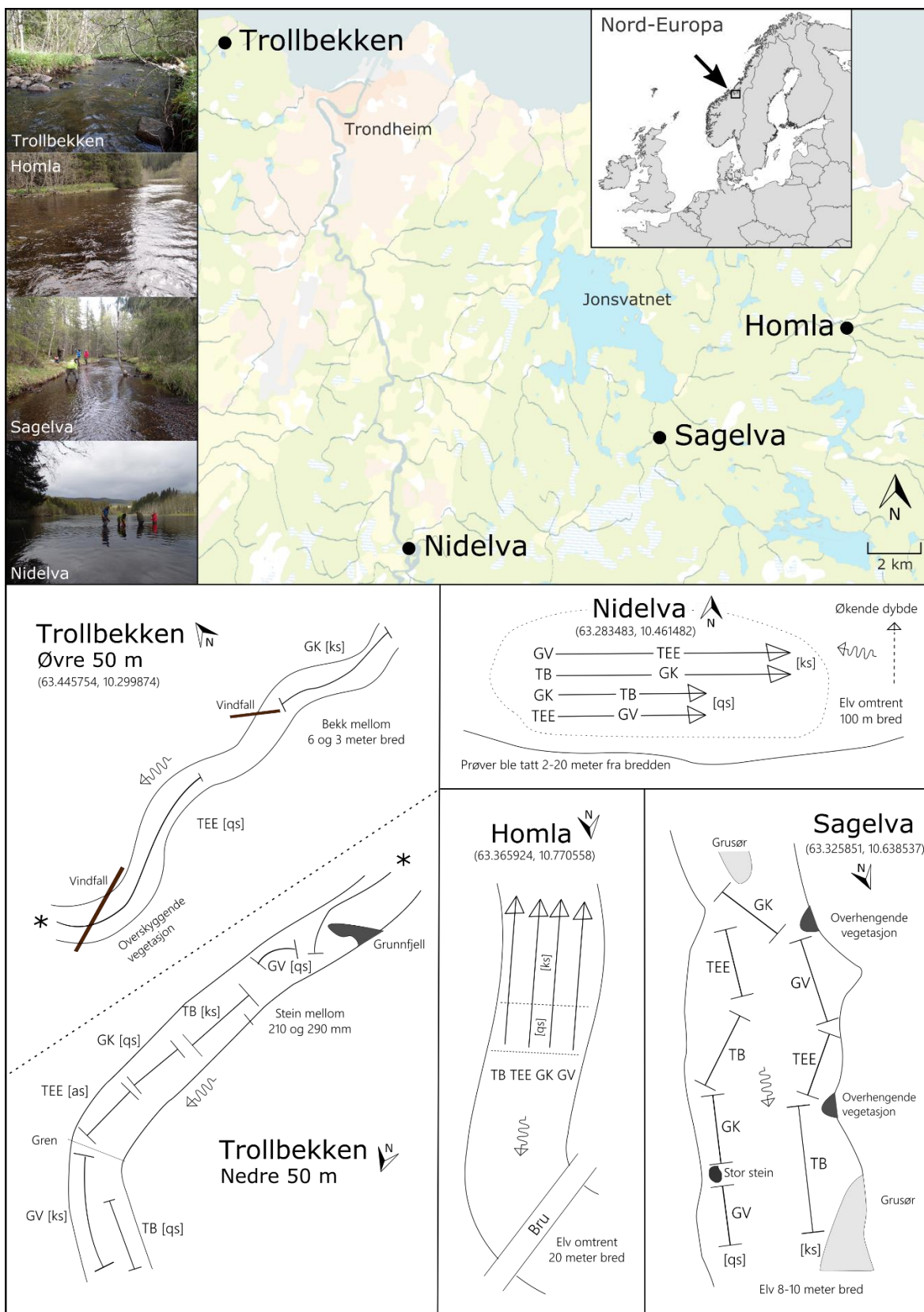
Ved innsamling av sparkeprøver ble en strekning på ca. 3 meter forsert i løpet av ett minutt. Arealet som ble prøvetatt hadde en størrelse på ca. 0,25 m x 3 m = 0,75 m<sup>2</sup>. Substratet ble rotet i, og større mineralske og organiske partikler langs den valgte strekningen ble flyttet på ved å sparke med en fot like oppstrøms åpningen på sparkehåven (Peckarsky 1984, Klemm et al. 1990). Materialet som ble samlet i håven i løpet av hver enkelt prøve ble først overført til en bøtte med vann.

Prøven ble deretter silt gjennom håvduken med 250 µm maskevidde slik at organisk materiale og lettere uorganiske partikler ble fanget opp i duken, mens større uorganiske partikler som grus ble værende i bøtta uten å bli silt. Skyllvannet ble tilbakeført til bøtta med gjenværende prøve-materiale og prosessen med siling ble gjentatt til alt organisk materiale var overført til håven. Gjenværende større mineralske partikler og større organisk materiale som kvister, barkbiter o.l. som ble forkastet fra prøven, ble først sett over av feltarbeideren for mulige bunndyr, som eventuelt ble tatt vare på. Den gjenstående prøven i duken ble til slutt overført til en polyetylenflaske og konserverert i 70 % etanol inntil senere bearbeidelse på et laboratorium.

Ved innsamlingen av Surberprøver presset feltarbeideren rammen til Surber-nettet godt ned i substratet på det utvalgte prøvestedet for å unngå åpning mellom rammen og substratet hvor bunndyr kunne unnsnippe. Feltarbeideren rotet deretter i substratet innenfor rammen med hånden og eventuelt med en pinne ned til en dybde på 5 – 10 cm i ett minutt (Surber 1937, 1970, Peckarsky 1984, Klemm et al. 1990). Dersom vannhastigheten var lav hjalp feltarbeideren til med hendene for å skape en vannstrøm inn mot fangstnettet. Dersom materiale tettet til maskene i Surber-nettet beveget feltarbeideren på spissen av nettet for å sikre god vanngjennomstrømning. Bunndyr som var festet til større steiner eller til nedsenket organisk materiale ble manuelt fjernet og plassert i nettet. Etter innsamlingen ble alt materiale som var samlet i Surber-nettet først overført til en bøtte. Større mineralsk materiale ble først skilt fra resten av prøven og senere fjernet etter gjentatt skylling og filtrering på samme måte som beskrevet for sparkeprøver. Den gjenstående prøven ble så overført til en polyetylenflaske og oppbevart i 70 % etanol inntil senere bearbeidelse på et laboratorium.

## 2.3 Bearbeidelse på laboratoriet

De innsamlede prøvene ble bearbeidet av fem ulike laboratorier. Rett etter innsamling delte en fortløpig medarbeider alle prøvene tilfeldig inn i fem ulike partier ved å anvende lagdeling (stratifikering). Dette ble gjort for å oppnå en balansert fordeling av prøvene og for å unngå systematisk bias (Good 2005). Prøver som representerte ulike innsamlingsmetoder, feltarbeidere og vannforekomster ble dermed likt representert i partiene av prøver. Den fortløpige medarbeideren ga deretter hver prøve en ny kode. På denne måten ble innsamlingsmetoden, feltarbeideren og vannforekomsten skjult for laboratoriene som senere skulle bearbeide prøvene.



**Figur 1.** Studieområdet og fordelingen av prøvestasjoner i de fire vannforekomstene Trollbekken, Nidelva, Sagelva og Homla. Bølgepil viser strømretningen, rette piler viser prøveretningen. Geomorfologiske egenskaper, andre strukturer og ytterligere informasjon er vist direkte i figuren. ks = sparkeprøve tatt med en sparkehåv; qs = Surberprøve; TB = Terje Bongard; TEE = Tor Erik Eriksen; GK = Gaute Kjærstad og GV = Gaute Velle. Foto: Knut Andreas E. Bækkelie, NINA.

Før bearbeiding ble hver enkelt prøve homogenisert og en fjerdedel av hver prøve tatt ut (subsamplet) fra resten av prøven. Subsampelet og den resterende prøven ble deretter bearbeidet hver for seg. Begge fraksjoner ble fullstendig sortert. Alle bunndyr ble sortert og identifisert til et på forhånd bestemt taksonomisk nivå. Døgnfluer, steinfluer, vårfluer, akvatiske biller, øyestikkere, akvatiske teiger, mudderfluer, igler, snegler og flatormer ble bestemt til art. Livsstadiet til akvatiske biller ble også dokumentert. Mangelen av egnet bestemmelseslitteratur gjorde at tidlige stadier av vårfluer av enkelte grupper (spesielt nordlige vårfluer (*Limnephilidae*) og små vårfluer (*Hydroptilidae*)) bare ble bestemt til slekt. Dette gjaldt også akvatiske billelarver fra enkelte slekter som for eksempel *Helophorus* og *Hydroporus*. Muslinger ble bestemt til slekt, larver av tovinger (Diptera) og krepsdyr til familie. Andre taksa, slik som svamper, nesledyr, mosdyr, fåbørstemark, nematoder og akvatiske midd ble ikke bestemt videre.

## 2.4 Dataanalyse

Etter at identiteten til art og individantall var bestemt av hvert av de fem laboratoriene ble dataene sendt til den fortrolige medarbeideren. Denne samlet alle dataene i en fil med omkodet informasjon om innsamlingsmetoder, feltarbeidere, vannforekomst og identiteten til laboratoriet som bearbeidet hver enkelt prøve. De kodede dataene ble deretter sendt til en dataanalytiker som verken hadde deltatt i innsamlingen eller omkodingen og bearbeidelsen av materialet. Målet med studien var ikke å sammenligne de deltagende feltarbeiderne eller laboratoriene, men gi et grunnlag for prosedyrene knyttet til implementeringen av vannforskriften. Identiteten til feltarbeiderne og laboratoriene vil forbli skjult i presentasjonen av resultatene og er kun kjent for den fortrolige medarbeideren. For å gjøre det enklere å lese er koder for feltarbeidere og laboratorier byttet ut med fiktive navn (Feltarbeidere: Jon, Ed, Dev, Al. Laboratorier: AquaLab, BlueLab, CreekLab, RivLab, FreshLab). Det er kun dataanalytikeren som kjenner koblingen mellom kodene og de fiktive navnene brukt på feltarbeidere og laboratorier.

På grunn av tilstedeværelsen av trådformede alger og mengden små dyr i prøvene ble det ikke tid til å bearbeide alle de innsamlede prøvene innenfor prosjektets rammer. Henholdsvis 36 % og 73 % av alle Surberprøver og sparkeprøver er bearbeidet og tilhørende data analysert. Vi analyserte effekten av vannforekomst, feltarbeider og laboratorium på: i) antall individer og antall arter per prøve (henholdsvis relativt- og absolutt antall for sparke- og Surberprøver), ii) antall arter (species richness), iii) jevnhet (evenness), iv) en forsuringsindeks, v) en eutrofieringsindeks, vi) faunasammensetning, vii) preferanse for strømhastighet og viii) det taksonomiske nivået i artsbestemmelsen.

Materiale som ble identifisert på laboratoriene ble bestemt til ulike taksonomiske nivåer, enkelte til art og andre til høyere nivåer avhengig av hva som var mulig og hva det var enighet om på forhånd. Som en forenkling refereres heretter alle taksa, også de som ikke er bestemt til art, som arter.

Bunndyrene i hver prøve ble målt i antall individer. Artsantallet ble bestemt som antall taksa av bunndyr, mens «species richness» ble målt i antall arter i sparkeprøver. «Rarefied species richness» ble regnet ut som «individual based rarefied species richness» (antall arter korrigert for antall individer) for bunndyr samtidig som det ble tatt hensyn til at prøver med flere individer ofte vil ha et større antall taksa (Gotelli & Colwell 2001). Rarefied species richness ble standardisert ved å bruke prøvenes største felles individantall, henholdsvis 62 individer for subsampler (data fra en fjerdedel av prøven) og 283 individer for hele prøver (data fra fjerdedelen og resten av prøven sammenslått) (Gotelli & Colwell 2001). Jevnhet ble kalkulert som sannsynligheten for at to tilfeldig valgte individer tilhører ulike arter (Hurlbert 1971). Videre valgte vi Forsuringsindeks 2 som forsuringsindeks og ASPT (Average Score Per Taxon) som eutrofieringsindeks (Armitage et al. 1983, Raddum & Fjellheim 1984, Raddum 1999). Indeksene ble regnet ut separat for hver sparkeprøve og for hver Surberprøve. Artssammensetning ble analysert ved å bruke Bray-Curtis og Euclidean dissimilarities henholdsvis uten å ta høyde for, og med å ta høyde for felles manglende arter (joint absences) (Anderson et al. 2011). Alle bunndyr ble klassifisert i henhold til

strømningspreferanse (Statzner et al. 1988). I analysene av taksonomisk nivå talte vi antall taksa som ble identifisert til art, slekt, familie og høyere taksonomiske nivåer.

Ved å inkludere to innsamlingsmetoder, fire feltarbeidere, fire vannforekomster og fem laboratorier genererte det en studie av effekter på 160 kombinasjoner av faktorer. På grunn av begrensninger i tid og ressurser ble det ikke mulig å replisere alle kombinasjonene. Siden tre tilfeldige (random) faktorer ble studert (feltarbeider, laboratorier og vannforekomst), var det ikke mulig å teste de direkte effektene på hver enkelt faktor (Underwood 1997). Derfor analyserte vi dataene for hver enkelt metode hver for seg ved å benytte toveis variansanalyse (ANOVA) og multivariat-analyse av varians for tilfeldige (random) effekter. Først studerte vi effekten av feltarbeider, laboratorier og interaksjonen mellom feltarbeider og laboratorium. Videre studerte vi separat effektene av vannforekomst, laboratorium og interaksjonen mellom vannforekomst og laboratorium. For de fleste responsvariablene ble de parametriske forutsetningene brutt. Derfor valgte vi å beregne p-verdier ved bruk av permutasjonstester med 9999 permutasjoner (Anderson 2001a, McArdle & Anderson 2001, Anderson & ter Braak 2003). I hvert tilfelle identifiserte vi, og deretter permuterte, kun de utbyttbare enhetene som er definert av nevnerens middelkvadrat (mean square) som benyttes i F-testen (Anderson & ter Braak 2003). Videre benyttet vi fri permutasjon av rådataene, som er å foretrekke ved lav grad av replikasjon, i motsetning til å regne ut residualene (Anderson 2001b). Heteroskedastisitet, altså variasjon i varians, kan potensielt påvirke resultatene også ved bruk av permutasjonstester. Vi gjorde derfor en tilnærming av fordelingen til F-statistikken ved tilstedeværelsen av ulike varianser ved tester av univariater (en variabel) (Manly & Francis 1999).

Vi gjorde også en direkte analyse av effektene av innsamlingsmetode på responsvariablene ved bruk av lignende analytiske verktøy og dermed benyttet modeller som inkluderte effektene av innsamlingsmetode, vannforekomst og interaksjonen mellom innsamlingsmetode og vannforekomst. Siden vi hadde mer data fra sparkeprøver enn Surberprøver kan dette ha påvirket resultatene. Da vi testet effektene av innsamlingsmetode inkluderte vi derfor tilfeldige subset av data for sparkeprøvene i analysen slik at antallet prøver for sparkeprøver og Surberprøver var lik innenfor den samme vannforekomsten for å sikre sammenlignbarheten.

Enkelte laboratorier rapporterte data med en høyere taksonomisk oppløsning enn andre laboratorier. Vi var bekymret for at variasjonen i taksonomisk nivå kunne forklare den observerte ulikheten i responsvariabelen. Derfor harmoniserte vi dataene ved å justere den rapporterte oppløsningen for de taksa som var klassifisert til et lavere nivå enn vi var enige om. Hvis et laboratorium for eksempel rapporterte funn av *Antocha vitripennis* og *Eloeophila* sp., så ble dataene slått sammen med kategorien Limoniidae siden tovinger kun skulle identifiseres til familie. Likevel var det fortsatt variasjon i taksonomisk nivå for bestemmelse mellom laboratoriene som skyldtes underrapportering, altså en variasjon som skyldes identifikasjon på et høyere taksonomisk nivå enn bestemt på forhånd.

Vi var også bekymret for at effekten av feltarbeiderne og laboratoriene reflekterte variasjon i habitatkvalitet mellom innsamlingspunkter i de ulike vannforekomstene. Derfor analyserte vi om strømningshastighet, dybde og substratsammensetning i tillegg til feltarbeider og laboratorium kunne forklare variasjonen i artssammensetning. Dette ble gjort ved hjelp av redundans-analyse (RDA).

Til slutt benyttet vi en Monte Carlo-metodikk for å analysere effekten av prøvestørrelse på gjennomsnittene av og variasjonen til indeksene av økologisk status. Vi regnet ut Forsuringsindeks 2 og ASPT for subset av individer tilfeldig utvalgt fra de sammenslåtte dataene fra hver vannforekomst. Vi benyttet 10 til 2000 tilfeldig utvalgte individer tusen ganger for hver forøkelse. Prøvestørrelsen ble økt fra 10 til 2000 individer med fem av gangen.

Dataanalysene ble utført ved bruk av R 2.5.13 og pakken vegan (Oksanen et al. 2013, R Development Core Team 2013). Preferanser for strømhastighet ble bestemt ved bruk av ASTERICS 4.04, Oktober 2014. Alle effekter ble testet ved  $\alpha = 0,05$ .

## 3 Resultater

Resultatene som presenteres under er basert på spørreundersøkelsen og feltstudien som ble gjennomført som en dobbelt blindtest.

### 3.1 Spørreundersøkelse

Resultatene fra spørreundersøkelsen antydte at ekspertene mener at de viktigste bunndyr-dataene for karakteriseringen av økologisk tilstand inkluderte arters identitet og relative artsantall. De fleste svarte at data på absolutte artsantall ikke var nødvendig. De spurte var uenige om viktigheten av data for tettheten av bunndyr og fordelingen av funksjonelle grupper. Videre ble det foreslått 250 µm og 500 µm sparkehåver, og 250 µm Surber-nett og 250 µm Hess-sampler som passende innsamlingsutstyr. Respondentenes svar viste ingen bred enighet om foretrukket innsamlingsenhet eller maskevidde, men alle som svarte støttet bruk av sparkeprøver i implementeringen av vannforskriften.

De fleste respondentene argumenterte for å bearbeide prøver i laboratoriet, men enkelte foreslo at prøvene delvis kunne bearbeides i felten. Forskerne var uenige om nødvendigheten av å bearbeide hele prøven. Alle argumenterte for subsampling. Subsampling bør benyttes ved behov, avhengig av prøvestørrelsen og tettheten av bunndyr, fortrinnsvis ved å ta hensyn til alle taksa. Hele prøven bør gjennomgås for å finne hittil uregistrerte taksa. Halvparten av de spurte foreslo at det bør være tilstrekkelig med subsampling av utvalgte, tallrike, taksa – for eksempel døgnfluen *Baetis rhodani*, fjærmygg (Chironomidae) og knott (Simuliidae), mens hele prøven burde gjennomgås for resterende taksa. Alle de spurte ga sterk oppslutning om innføringen av en standardisert taksonomisk oppløsning, og ble enige om listen angitt i **tabell 2**.

Forskernes svar på hvilken overvåkningsfrekvens de ville foreslå varierte mellom ett år og ti år. De fleste av de spurte foreslo likevel gjentatt overvåkning av samme vannforekomst hvert tredje til femte år. De fleste forskerne foreslo prøvetaking en eller to ganger per år og at det skulle tas mellom tre og seks prøver ved hver lokalitet, selv om enkelte også foreslo at en prøve per lokalitet kunne holde.



**Tabell 2.** Liste over standardisert taksonomisk oppløsning. Fokustaksa har en sentral rolle i implementeringen av vannforskriften. Det er likevel fortsatt uklart hvorvidt enkelte taksa bør inngå i fokustaksa. For de fleste fokustaksa er ønsket taksonomisk nivå for bestemmelse familie eller art. For vannlevende biller, fjærmygg og muslinger er foretrukket taksonomisk nivå fortsatt uavklart. De fleste forskerne stilte seg bak denne listen.

Taksa	Fokustaksa	Taksonomisk nivå
<i>Ephemeroptera</i> (Døgnfluer)	Ja	Art
<i>Plecoptera</i> (Steinfluer)	Ja	Art
<i>Trichoptera</i> (Vårfluer)	Ja	Art
<i>Coleoptera</i> (Biller)	Ja	Art/familie
<i>Chironomidae</i> (Fjærmygg)	Ja	Art/familie
<i>Diptera</i> (Tovinger)	Ja	Familie <sup>a</sup>
<i>Gastropoda</i> (Snegler)	Ja	Art
<i>Bivalvia</i> (Muslinger)	Uavklart	Uavklart <sup>b</sup>
<i>Crustacea</i> (Krepsdyr)	Ja	Familie <sup>c</sup>
<i>Oligochaeta</i> (Fåbørstemark)	Ja	Som dette
<i>Hydracarina</i> (Vannmidd)	Ja	Som dette
<i>Odonata</i> (Øyestikkere)	Uavklart	-
<i>Heteroptera</i> (Teger)	Uavklart	-
<i>Megaloptera</i> (Mudderfluer)	Uavklart	-
<i>Neuroptera</i> (Nettvinger)	Uavklart	-
<i>Hirudinea</i> (Iglar)	Uavklart	-
<i>Porifera</i> (Svamper)	Uavklart	-
<i>Hydrozoa</i> (Småmaneter)	Uavklart	-
<i>Plathelminthes</i> (Flatormer)	Uavklart	-
<i>Bryozoa</i> (Mosdyr)	Nei	-
<i>Nematoda</i> (Rundormer)	Nei	-

Noter:

<sup>a</sup> Mange taksa identifiseres raskt og med rutine til art eller slekt av mange taksonomer, for eksempel *Tipula* spp., *Dicranota* spp., *Pedicia* spp. og *Dixa* spp.

<sup>b</sup> Vi antok en underforstått enighet om at i alle fall store individer av elvemusling (*Margaritifera margaritifera*) ville bli bestemt.

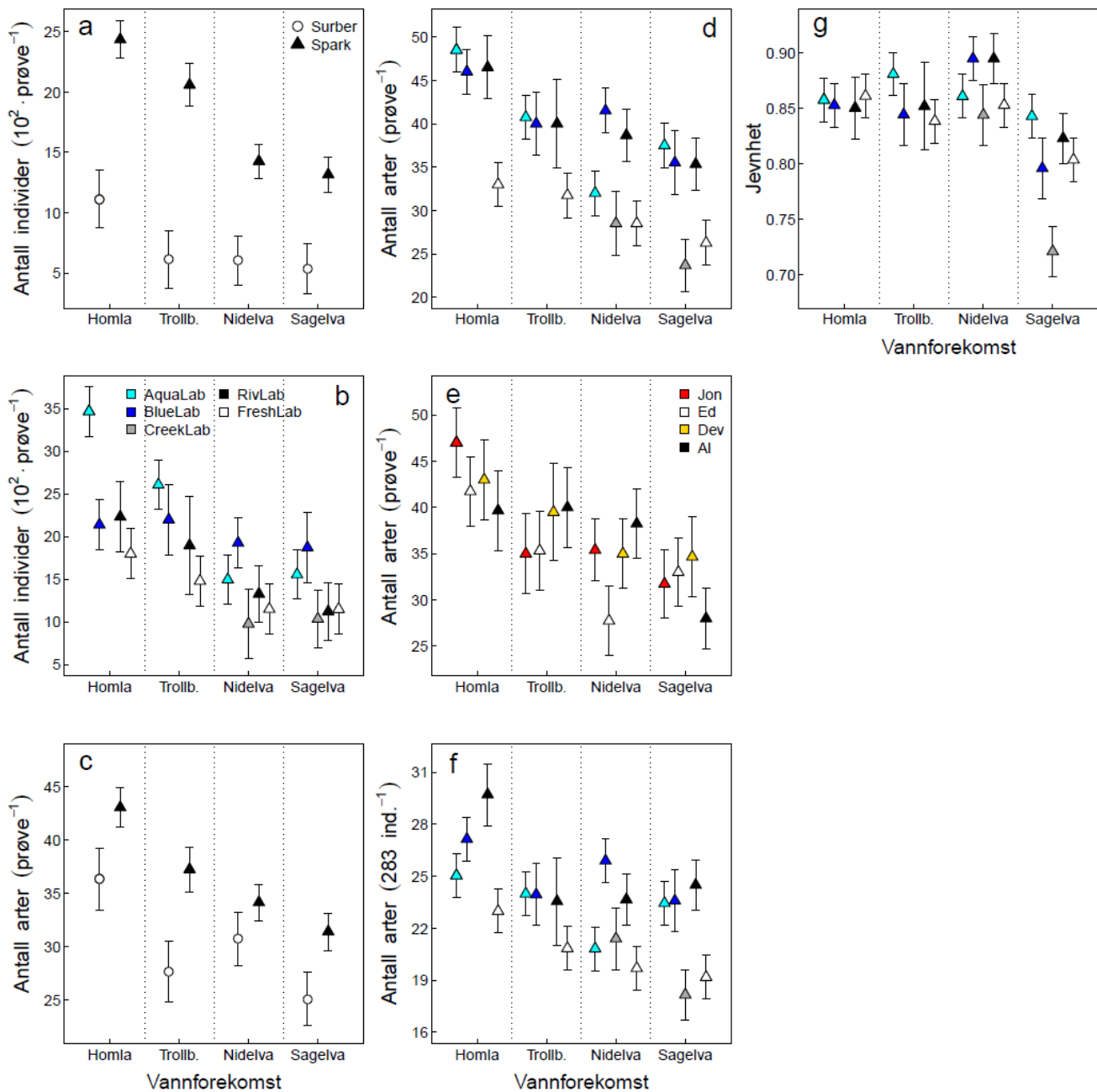
<sup>c</sup> Vi antok en underforstått enighet om at edelkreps (*Astacus astacus*), gråsugge (*Asellus astacus*) og nordlig marflo (*Gammarus lacustris*) skulle bestemmes til art.

## 3.2 Feltstudie

Resultatene fra feltstudien viste at det var variasjon mellom de studerte vannforekomstene, mellom de deltagende laboratoriene og mellom feltarbeiderne (**vedlegg 1**). Effekten av feltarbeider, laboratorier og vannforekomst var størst for taksonomisk oppløsning og for preferanse for strømhastighet (henholdsvis 75,9 % og 70,3 %), middels for artsdiversitet og tettheten av bunndyr (henholdsvis 52,5 % og 50,0 %), og lavest for økologisk tilstand (25,0 %). Det var færre signifikante effekter på Surberprøver enn for sparkeprøver (henholdsvis 41,3 % og 69,2 %). Variasjonen var omtrent den samme for data fra den subsamplede andelen (en fjerdedel) som for hele prøven (henholdsvis 51,9 og 58,7 %). For sparkeprøver viste analysene ingen forskjell på subsampelen eller hele prøven, med unntak av ulikheter i det taksonomiske nivået (**vedlegg 1**).

For Surberprøver ga derimot subsampling utslag på seks av tretten avhengige variabler, blant annet mål på artsmangfold, preferanse for strømhastighet og for det taksonomiske nivået. Ved å sammenligne de to innsamlingsmetodene var det forskjeller i tolv av tretten avhengige variabler (**vedlegg 1**). Resultatene viste målbare forskjeller i de analyserte dataene. Dette skyldtes variasjon både mellom prøvetakere og mellom laboratoriene for begge metoder. Subsampling påvirket ikke resultatet fra sparkeprøvene.

Mål på antall bunndyr var generelt høyere for sparkeprøver enn for Surberprøver, og de var gjennomsnittlig høyest for Homla og lavest for Nidelva og Sagelva, uavhengig av innsamlingsmetoden (**vedlegg 1, tabell 4, figur 2a**). I datamaterialet fra sparkeprøvene rapporterte AquaLab og BlueLab gjennomsnittlig høyere antall bunndyr enn de andre laboratoriene (**tabell 3, figur 2b**). Sparkeprøver ga et høyere antall arter per prøve, men ikke richness sammenlignet med Surberprøver (**tabell 4, figur 2c**). Variasjon mellom vannforekomstene og mellom laboratoriene for sparkeprøver reflekterte forskjeller i det relative antallet arter per prøve og antallet arter (**vedlegg 1, tabell 4, figur 2d, f**). Eksempelvis ble antall arter per prøve og richness målt til å være høyest i Homla og lavest i Sagelva (**figur 2d, f**). For materiale innsamlet i sparkeprøver var antallet arter som ble rapportert av CreekLab og FreshLab lavere enn hva som ble rapportert fra de andre laboratoriene (**figur 2d, f**). Den prosentvise fordelingen av arter i sparkeprøver varierte i tillegg mellom feltarbeidere (**figur 2e**). Målinger av jevnhet (evenness) varierte på samme måte mellom vannforekomst og laboratorium kun for sparkeprøver (**tabell 3, figur 2g**). Jevnhet var lavest i Sagelva, og jevnhet beregnet ut fra data som ble rapportert fra CreekLab var lavere enn jevnhet som ble beregnet fra data rapportert fra de andre laboratoriene (**figur 2g**).



**Figur 2.** Bunndyranalyser i vannforekomstene Homla, Trollbøkken (Trollb.), Nidelva, og Sagelva vist som antall individer per prøve (a, b), antall arter per prøve (c-e), antall arter per prøve justert mot prøven med færrest individer (rarefied) (f), og jevnhet (PIE) (g). Prøvene ble samlet inn ved bruk av Surber-nett og sparkehåv, vist henholdsvis som sirkler og trekanter. Vi fant signifikant variasjon i antall individer per prøve (a) og antall arter av bunndyr per prøve mellom vannforekomster og mellom innsamlingsmetoder (c). For materiale fra sparkeprøver fant vi signifikant variasjon blant laboratoriene i antall individer per prøve (b), antall arter per prøve (d), antall arter justert mot prøven med færrest individer (rarefied) (f), og jevnhet i tillegg til variasjon mellom vannforekomster (g). I dette materialet fant vi også variasjon i antall arter samlet inn av feltarbeidere (e) i tillegg til variasjonen som ble forklart av vannforekomster. Antall individer ( $10^2 \cdot \text{prøve}^{-1}$ ) = antall individer per prøve; Antall arter ( $\text{prøve}^{-1}$ ) = antall arter i hver prøve; Antall arter (283 ind.  $\text{ind.}^{-1}$ ) = individual-based rarefied taxonomic richness (antall arter i prøve justert for minste prøvestørrelse (283 individer)); Jevnhet (andel) = evenness. Variasjon er vist som gjennomsnittets standardfeil. Navnet på laboratoriene og feltarbeiderne er anonymisert og gitt fiktive navn i figuren.

Sammensetningen av arter varierte med innsamlingsmetode og mellom vannforekomster. Den reflekterte også variasjon mellom laboratorier for sparkeprøver og variasjon mellom feltarbeidere for Surberprøver (**vedlegg 1, vedlegg 2, figur 3**). Sparkeprøver og Surberprøver ga ulike artssammensetninger og antall arter i Trollbekken og Nidelva, men ikke i Homla og Sagelva (**figur 3a, g**). De fire vannforekomstene var klart karakterisert av ulik artssammensetning (**figur 3b, c, h, i**). De ulike laboratoriene rapporterte data som kunne skilles tydelig fra hverandre basert på artssammensetning, uavhengig av forskjellene som ble funnet for vannforekomst (**figur 3d, e, j, k**).

For sparkeprøver var variasjonen som ble funnet i artssammensetning mellom ulike laboratorier avhengig av vannforekomsten (**vedlegg 1**). Vi fant også en skjevhet som skyldtes feltarbeider. Jon, som fikk sine prøver bearbejdet av ulike laboratorier og som samlet prøver i alle vannforekomstene, virket å ha samlet prøver som inkluderte andre taksa (**figur 3f**) og med ulikt absolutt antall i tillegg variasjon i antall arter (**figur 3l**) enn i prøver samlet av Dev og Ed da de tok Surberprøver.

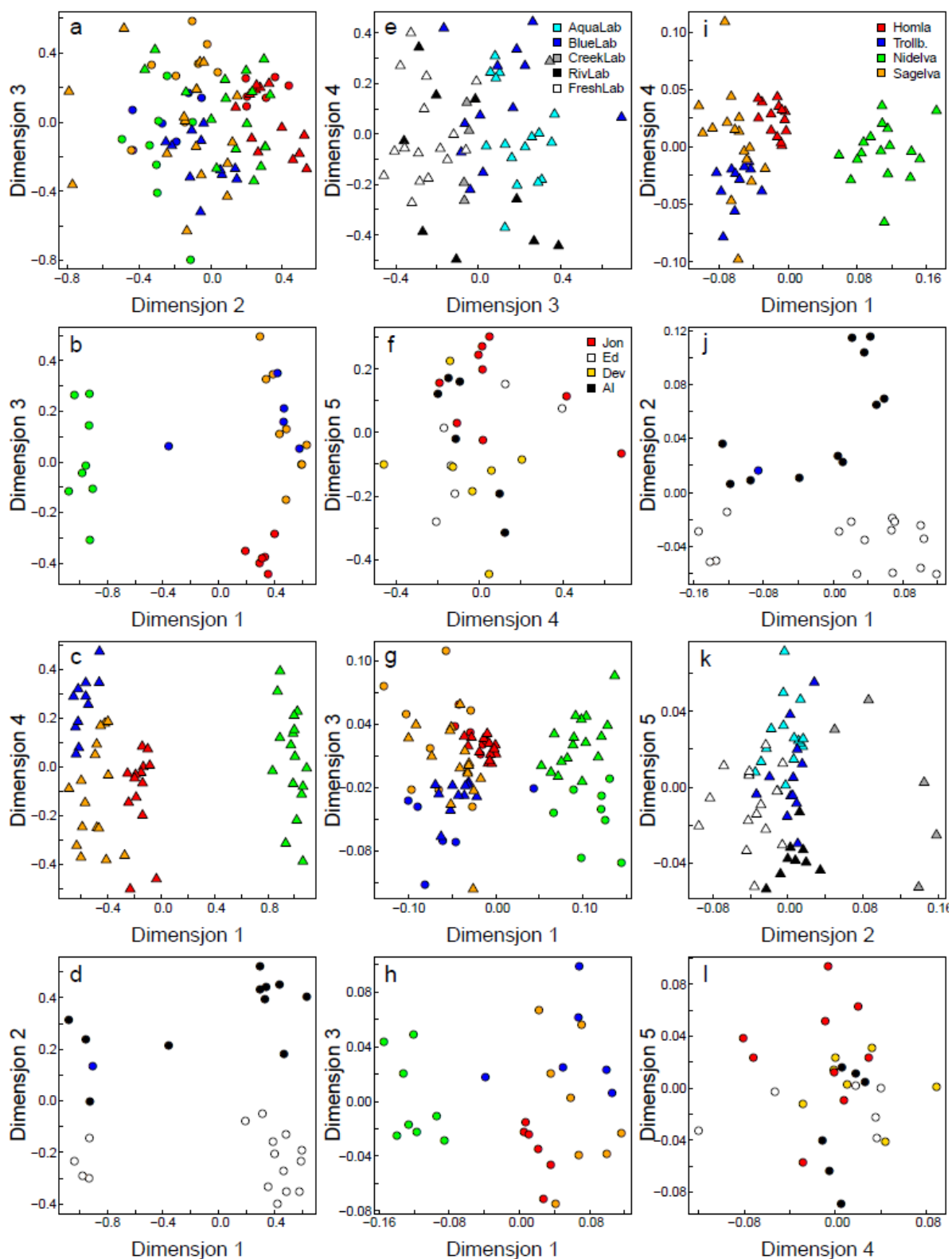
Bunndyrs preferanse for strømhastighet varierte mellom vannforekomstene (**vedlegg 1, figur 4a, b**). Forskjellene for Surberprøver mellom laboratorier (**vedlegg 1, figur 4c, d**) og mellom feltarbeidere (**vedlegg 1, figur 4e**) kunne forklare deler av variasjonen i den dokumenterte preferansen for strømhastighet.

Effekten på de to valgte indeksene for å karakterisere økologisk tilstand, Forsuringsindeks 2 og ASPT, ble analysert. I Trollbekken var det en signifikant forskjell i Forsuringsindeks 2 mellom de to innsamlingsmetodene uten at det hadde noen konsekvens for vurderingen av økologisk tilstand i dette tilfellet (**vedlegg 1, figur 5a**). For sparkeprøver fra Trollbekken påvirket laboratoriene Forsuringsindeks 2, mens for de andre vannforekomstene var verdiene lik hverandre. Heller ikke i dette tilfellet hadde det noen konsekvens for vurderingen av økologisk tilstand i Trollbekken (**vedlegg 1, figur 5b**). For Trollbekken viste data fra FreshLab og RivLab henholdsvis de høyeste og laveste verdiene av Forsuringsindeks 2 (**figur 5b**). ASPT var lavere i Nidelva enn i de andre vannforekomstene i data fra sparkeprøver (**vedlegg 1, figur 5c**). Ifølge data fra CreekLab ble Nidelva klassifisert til moderat tilstand (klassegrense: 6.0), mens data fra de resterende laboratoriene ga god økologisk tilstand. Varierende klassifisering ble også rapportert fra Trollbekken og Sagelva (klassegrensen mellom god tilstand og svært god tilstand: 6.8). Feltarbeider og laboratorium virket likevel ikke å ha en signifikant effekt på resultatene av ASPT-verdiene (**vedlegg 1**). En troverdig vurdering av økologisk tilstand basert på Forsuringsindeks 2 og ASPT kunne oppnås ved å benytte 100 individer fra de fleste vannforekomstene (**figur 6**). Stabile indeksverdier ble i de fleste tilfellene først oppnådd ved å benytte 400 individer (**figur 6**). I Sagelva derimot måtte det benyttes minst 600 individer for at eutrofieringsstatusen skulle stabiliseres, og omtrent 2000 individer før indeksen flatet ut (**figur 6h**).

Det taksonomiske nivået for identifisering varierte mellom vannforekomstene og mellom laboratoriene. For sparkeprøver varierte det også mellom feltarbeidere (**vedlegg 1, figur 7**).

Vannforekomsten forklarte en større del av variasjonen i responsvariablene enn laboratorier (1,7 og 5,6 ganger større middelkvadrat(mean square)-verdier) for henholdsvis Surberprøver og sparkeprøver (**vedlegg 1**). Effekten av feltarbeideren var svakest med gjennomsnittlig 1,6 og 3,9 ganger større middelkvadrat-verdier for laboratorier enn for feltarbeider for henholdsvis Surberprøver og sparkeprøver.

Ved å sammenligne effektene av feltarbeider, laboratorium, strømhastighet, dybde og substratsammensetning ble det funnet at laboratorium hadde en signifikant effekt på artssammensetningen på tvers av vannforekomster (**tabell 5**). Strømhastighet påvirket kun artssammensetningen i Sagelva. Det ble ikke vist en effekt av feltarbeider, dybde og substrattypen på artssammensetning i noen av vannforekomstene (**tabell 5**).

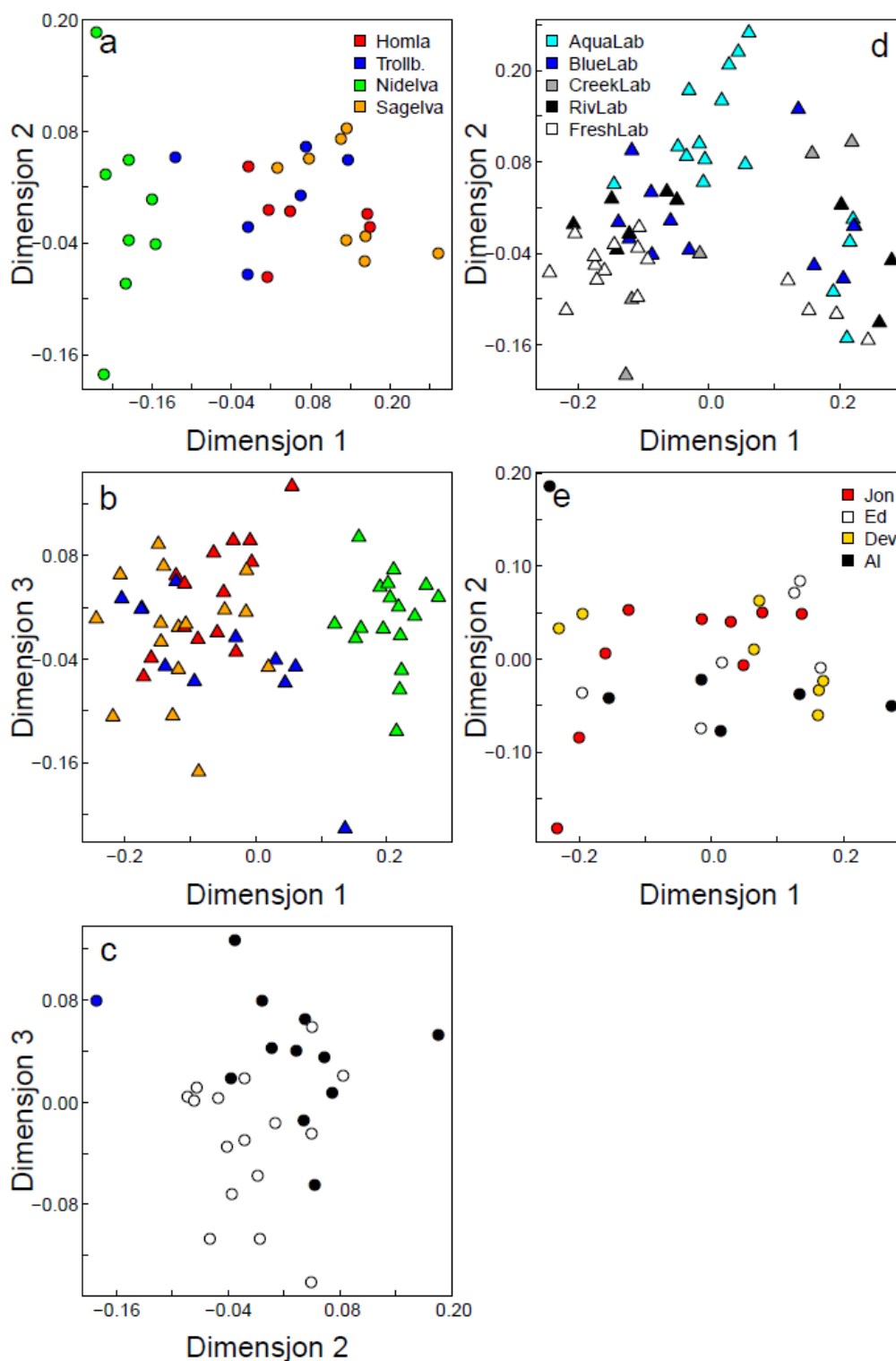


**Figur 3.** Analyse av sammensetningen av bunndyr i prøver fra ulike vannforekomster (Homla, Trollbekken (Trollb.), Nidelva, og Sagelva), tatt av ulike feltarbeidere og bearbeidet av ulike laboratorier. Det er benyttet nonmetric multidimensional scaling og kun utvalgte dimensjoner er vist. De ulike dimensjonene viser fordelingen av prøvene etter hvor like eller ulike prøvene er. Vi brukte Bray-Curtis dissimilarities til å illustrere effektene av artssammensetning uten å ta hensyn til arter som ikke var tilstede i felles prøver (joint absences), og Euclidean dissimilarities for å

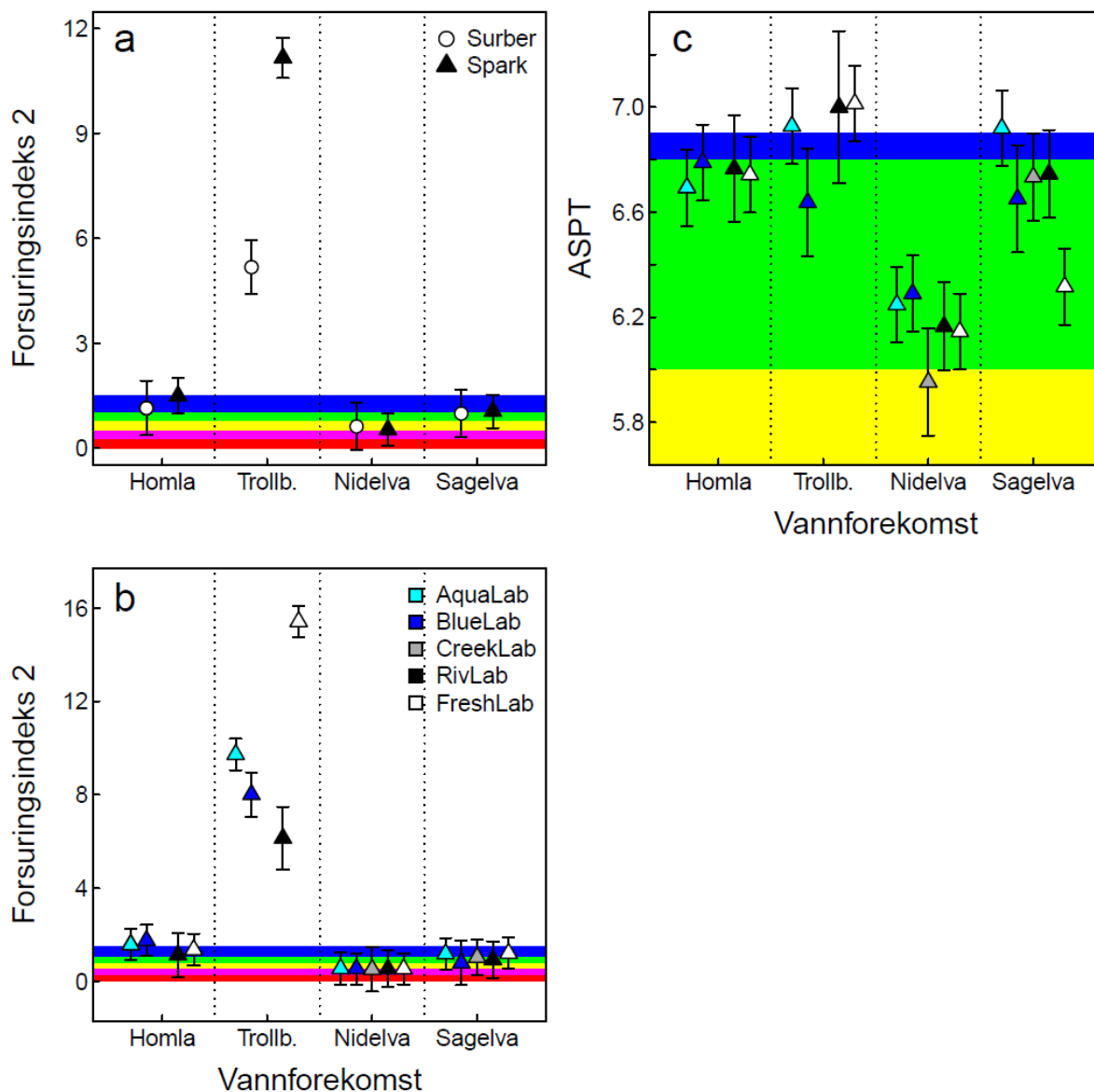
illustrere effektene ved å ta hensyn til arter som ikke var tilstede i felles prøver (joint absences). Sparkeprøver og Surberprøver er vist som henholdsvis trekanter og sirkler. Vi fant signifikant variasjon i artssammensetning og relativt antall arter mellom innsamlingsmetoder i Trollbekken og Nidelva, men ikke i Homla og i Sagelva (a, g). For Surberprøver fant vi i tillegg signifikant variasjon blant vannforekomster (b, h), laboratorier (d, j) og feltarbeidere (f, l). For sparkeprøver fant vi også signifikant variasjon blant vannforekomster (c, i) og laboratorier (e, k). Navnene på prøvetakere og laboratorier er anonymisert og erstattet av fiktive navn.

**Tabell 5.** Redundans-analyse (RDA) av effektene av feltarbeider, laboratorium og habitat representert ved målinger av strømhastighet, dybde og substrattype i vannforekomstene Homla, Trollbekken, Nidelva, og Sagelva. Analysene er gjort med en sammenslåing av alle tilgjengelige data etter at det ble testet og ikke funnet noen effekt av innsamlingsmetode. P-verdiene er beregnet ved bruk av permutasjonstester med 9999 permutasjoner.  $F$  = F-statistikk;  $p$  = p-verdi ( $^+ = 0.050 \leq p < 0.100$ ;  $* = 0.010 \leq p < 0.050$ ;  $** = p < 0.010$ ). Strøm = strømhastighet og dybde = dybdemål for hver prøve.

	Homla		Trollbekken		Nidelva		Sagelva	
Gradientlengde	1.3		1.7		1.5		1.2	
Eigenverdi akse 1	112788		90603		33291		63684	
Eigenverdi akse 2	46946		13996		14605		7612	
Effekt	F	p	F	p	F	p	F	p
Feltarbeider	2.4	0.080 <sup>+</sup>	0.8	0.557	2.0	0.066 <sup>+</sup>	2.6	0.064 <sup>+</sup>
Laboratorium	3.1	0.014 <sup>*</sup>	3.2	0.044 <sup>*</sup>	2.3	0.023 <sup>*</sup>	1.0	0.420
Strøm	1.3	0.280	2.4	0.124	0.4	0.824	10.4	0.002 <sup>**</sup>
Dybde	1.1	0.346	3.1	0.080 <sup>+</sup>	2.7	0.052 <sup>+</sup>	0.9	0.402
Substrattype	1.3	0.322	1.4	0.296	1.0	0.357	1.5	0.204

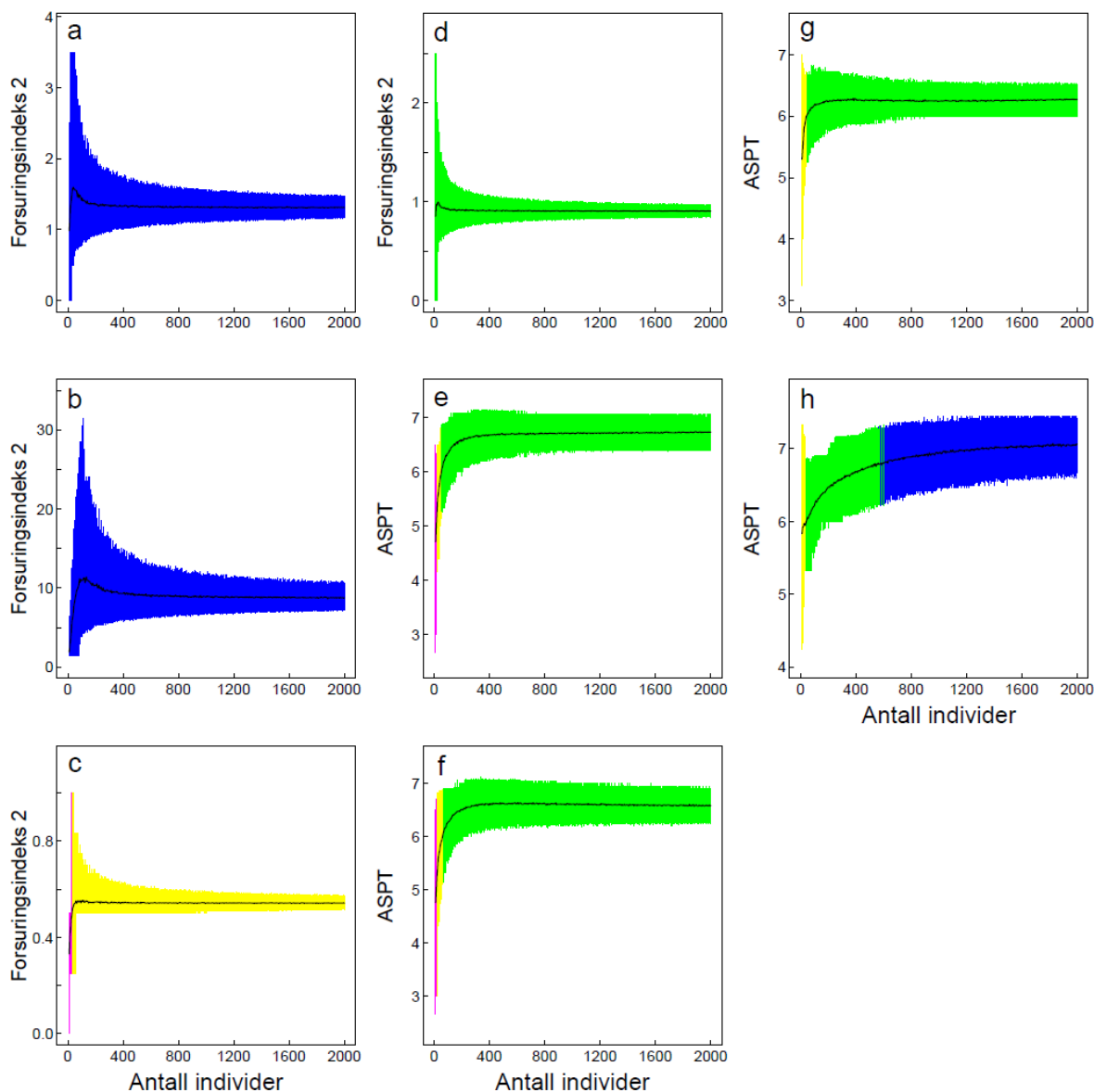


**Figur 4.** Analyse av fordelingen av preferanse for strømhastighet hos bunndyr i prøver blant ulike vannforekomster, feltarbeidere og laboratorier. Det er benyttet nonmetric multidimensional scaling og kun utvalgte dimensjoner er vist. De ulike dimensjonene viser fordelingen av prøvene langs ulike miljøgradienter etter hvor like eller ulike prøvene er. Panelene a-e viser preferanse for strømhastighet i vannforekomstene Homla, Trollbekken (Trollb.), Nidelva, og Sagelva. Sparkeprøver og Surberprøver er vist som henholdsvis trekanter og sirkler. For Surberprøver fant vi en signifikant variasjon blant vannforekomst (a), feltarbeider (e) og laboratorier (c). For sparkeprøver fant vi signifikant variasjon blant vannforekomst (b) og laboratorium (d). Navnene på prøvetakere og laboratorier er anonymisert og erstattet av fiktive navn.

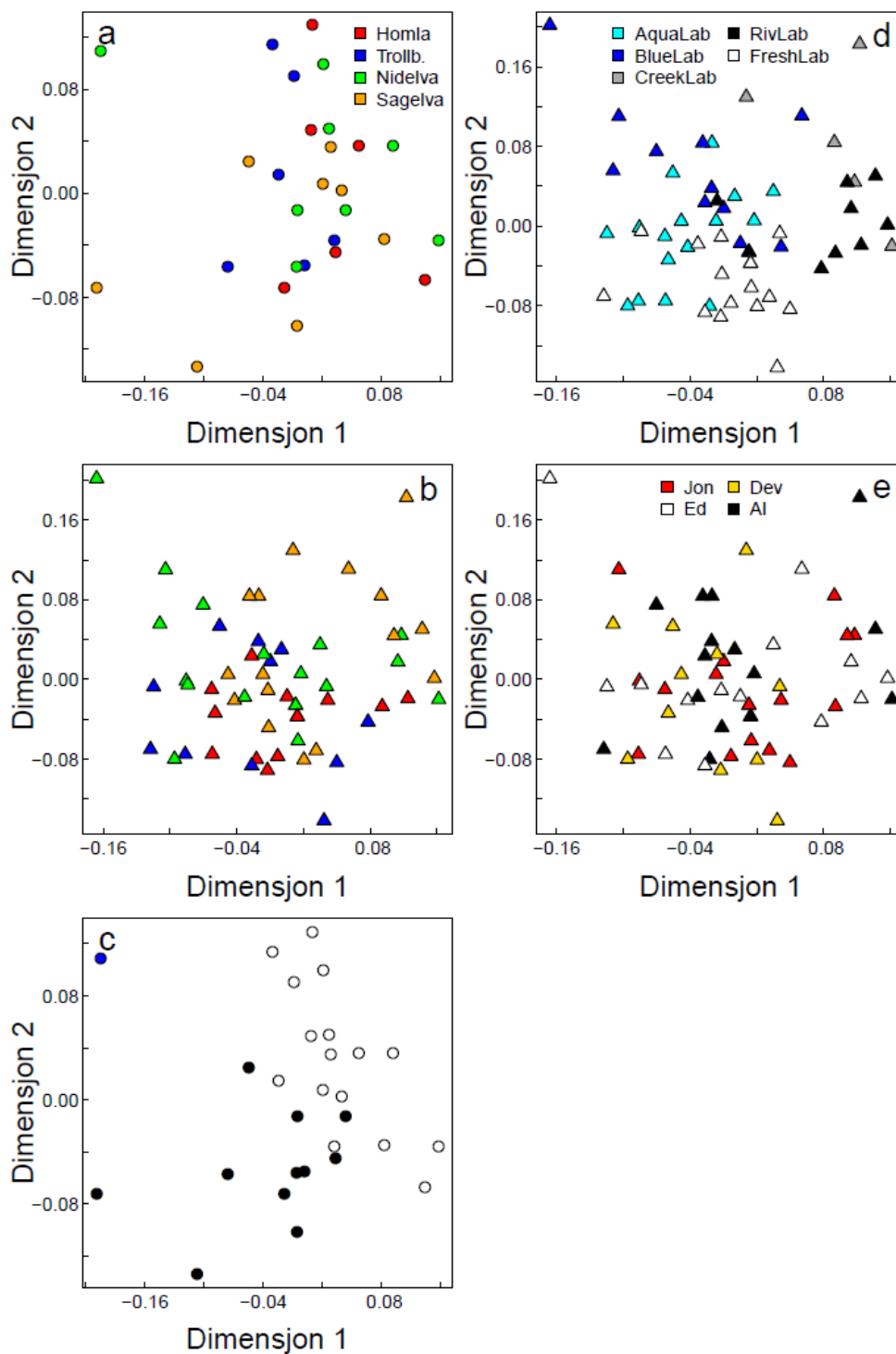


**Figur 5.** Beregning av indekser for vurdering av økologisk tilstand ved bruk av Forsuringsindeks 2 (a, b) og ASPT (Average Score Per Taxon) (c) i vannforekomstene Homla, Trollbekken (Trollb.), Nidelva, og Sagelva. Sparkeprøver og Surberprøver er vist med henholdsvis trekkanter og sirkler. Vi fant signifikant variasjon i Forsuringsindeks 2 mellom ulike prøvemethoder i Trollbekken (a). For sparkeprøver fant vi også en signifikant variasjon i Forsuringsindeks 2 mellom laboratorier for prøver fra Trollbekken (b). Videre fant vi signifikant variasjon i ASPT blant vannforekomster ved bruk av sparkeprøver (c). Variasjon er vist som gjennomsnittets standardfeil. Navnet på laboratoriene er anonymisert og gitt fiktive navn i figuren. Tilstandsklassene svært god, god, moderat, dårlig og svært dårlig indikeres med blå, grønn, gul, magenta og rød bakgrunnsfarge. Verdier lavere enn svært dårlig er ikke definert. Svært god tilstand er angitt opp til referanseverdien. Alt over dette er vist på hvit bakgrunn.





**Figur 6.** Forsuringsindeks 2 og ASPT (Average Score Per Taxon) i Homla (a, e), Trollbekken (b, f), Nidelva (c, g) og Sagelva (d, h). Vi benyttet Monte Carlo-metodikk for å trekke tilfeldige subset av individer fra sammenslåtte data som ble samlet inn i hver vannforekomst. For hvert subset av individer ble det regnet ut Forsuringsindeks 2 (a-d) og ASPT (e-h) for å vurdere forsurings- og eutrofieringsstatusen til vannforekomstene. Indeksene ble regnet ut for 10 til 2000 tilfeldig utvalgte individer der antall individer økte med fem for hver simulering. De sorte linjene viser gjennomsnittlig indeksverdi som en funksjon av antall individer. De fargede feltene viser fordelingen av verdier innenfor et 95 %-konfidensintervall. For hver forøkelse ble det trukket ut 1000 tilfeldige subset. Blå, grønn, gul og magenta viser til henholdsvis høy, god, moderat og dårlig økologisk tilstand. Kurvene for Forsuringsindeks 2 stabiliserte seg ved intermedieære verdier av økende individantall mens kurvene for ASPT økte asymptotisk med unntak av Trollbekken hvor ASPT-verdiene sank med økende antall individer. Forsuringsindeks 2 stabiliserte seg ved 100 eller færre individer i de fleste vannforekomstene. Indeksverdiene for ASPT stabiliserte seg ved 400 eller færre individer. Sagelva skilte seg ut ved at eutrofieringsstatusen først ble stabilisert ved minst 600 individer mens ASPT kun så ut til å stabilisere seg ved omtrent 2000 individer.



**Figur 7.** Analyse av oppløsningen av taksonomisk bestemmelse. Fordeling av individer i ulike taksonomiske kategorier (art, slekt, familie og høyere) er analysert i prøver fra ulike vannforekomster samlet inn av ulike feltarbeidere og bearbeidet av ulike laboratorier. Det er benyttet nonmetric multidimensional scaling for å vise resultatene og kun utvalgte dimensjoner er vist. De ulike dimensjonene indikerer fordelingen av prøvene langs ulike miljøgradienter etter hvor like eller ulike prøvene er. Sparkeprøver og Surberprøver er vist med henholdsvis trekkanter og sirkler. For Surberprøver fant vi signifikant variasjon blant vannforekomster (a) og laboratorier (c). For sparkeprøver fant vi signifikant variasjon blant vannforekomster (b), laboratorier (d) og feltarbeidere (e). Navnene på prøvetakere og laboratorier er anonymisert og erstattet av fiktive navn.

## 4 Diskusjon

I spørreundersøkelsen som ble gjennomført la forskerne størst vekt på de strukturelle komponentene for bunndyrsamfunnene når de skulle vurdere økologisk tilstand i rennende vann innenfor rammen gitt av vannforskriften. Funksjonelle komponenter slik som arters egenskaper ble vurdert som lite interessant, eller det ble uttrykt usikkerhet rundt deres viktighet. Bunndyrspesialistene la dermed mer vekt på tradisjonelle mål fremfor nyere målparametere på økologisk forandring eksemplifisert ved funksjonelle grupper (McGill et al. 2006, Loreau 2010). Dette til tross for at vannforskriften krever at det skal tas hensyn til både strukturelle og funksjonelle komponenter i vurderingen av bunndyrsamfunnene (European Communities 2000, Miljøverndepartementet 2006). Vi har i dag ingen indekser som fokuserer spesielt på funksjonelle komponenter, men det er mulig at dette vil bli utviklet i fremtiden (Petrin et al. 2013). Uenighet om viktigheten av data på tettheter av bunndyr kan reflektere det faktum at endringer i relativt antall alene ikke trenger å være bevis på endret økologisk tilstand, mens andre kan anta at data på tettheter, sammen med ytterligere data, kan bidra til å informere om økologiske endringer. Respondentenes eksplisitte støtte til semi-kvantitativ innsamlingsmetodikk var i stor overensstemmelse med det foreslåtte behovet for relative data, mens tilbakemeldinger rundt egnetheten til kvantitativ innsamlingsmetodikk i implementeringen av vannforskriften var delte (Carter & Resh 2001). Forskerne var enige om behovet for å fokusere taksonomisk arbeid på utvalgte tallrike og funksjonelt viktige taksa inkludert EPT-taksa, akvatiske biller, larver av tovinger, bløtdyr og krepsdyr. Alle de spurte ga sterk oppslutning om en standardisering av taksonomisk arbeid ved å benytte en liste som har en definert taksonomisk oppløsning. Forskerne tok generelt til orde for å benytte subsampling for også å kunne registrere sjeldne taksa, og til (delvis) å telle og estimere antallet hos vanlige og tallrike taksa. Tilbakemeldingene på spørreundersøkelsen viste at det var behov for å innføre en standardisert homogenisering- og oppdelingsteknikk. De fleste ønsket klarere retningslinjer i arbeidet med implementeringen av vannforskriften, samtidig som de ønsket en viss frihet i feltprosedyrene.

Mangelen på signifikante interaksjonseffekter mellom de uavhengige variablene indikerte at de rapporterte effektene i stor grad var additive. Den viktigste uavhengige variabelen var identiteten til vannforekomsten. Identiteten til feltarbeideren var mindre viktig, men signifikant, mens identiteten til laboratoriet var signifikant og generelt viktig. Dermed viste dataene at identiteten til feltarbeideren kan påvirke resultatene. Effekten av feltarbeider kom til uttrykk på tross av en høy grad av standardisering i prosjektet både når det gjaldt innsamling i felt og bearbeidelse på laboratoriet. Det ble ikke testet om forskerens påvirkning også kan utvides til å gjelde andre deler av et prosjekt, slik som dataanalysen. Siden utvalget av analytiske tilnærminger og verktøy som er tilgjengelige for forskerne er stor, kan vi ikke utelukke denne muligheten (Letovsky et al. 2012).

Effektene av feltarbeider og laborant kan reflektere individuelle forskjeller i hvordan en behandler innsamlingsutstyret, ulikheter i prøvetatt mikrohabitat, ulikheter i laboratorieprosedyrer, variasjon i affinitet for enkelte taksonomiske grupper og ulikheter i det taksonomiske nivået av bestemmelse (Needham & Usinger 1956, Mackay et al. 1984, Growns et al. 1997). Mikrohabitatforskjeller kan forklare deler av forskjellene mellom feltarbeiderne siden det ikke går an å ta gjentatte representative prøver fra samme prøvested (Needham & Usinger 1956). Dersom habitatvariasjon kan oversettes til en korresponderende skjev (biased) fordeling av prøvene som ble levert til de ulike laboratoriene, kan dette også forklare ulikhetene mellom laboratoriene. Det er imidlertid flere grunner til at ulikhetene i mikrohabitat typer kun spilte en underordnet rolle for vårt funn av en signifikant feltarbeidereffekt:

(1) Det var ingen interaksjonseffekter av feltarbeider med andre variabler som vi tok hensyn til. Det betyr at effekten av feltarbeider var konsistent på tvers av vannforekomst og var uavhengig av laboratoriene som bearbeidet de innsamlede prøvene. Et lignende argument gjelder for effekten av laboratorium.

(2) Vi kan ikke utelukke ulikheter i potensielt ubevisste preferanser som den enkelte feltarbeideren kan ha for en viss type mikrohabitat. Men vi forventer at det kun vil spille en underordnet rolle

i dette prosjektet fordi feltarbeiderne ble henvist til bestemte områder, og ikke selv fikk velge fritt (Needham & Usinger 1956, Pollard 1981). Vi anerkjenner likevel muligheten for at feltarbeideren kunne velge stedene hvor hver enkelt prøve ble tatt innenfor deres anviste område og at dette kan ha resultert i, kanskje ubevisst, en individuell forskjell i mikrohabitatpreferanse.

(3) Hvis ulikt mikrohabitat var skyld i variasjonen mellom feltarbeidere, ville sterkere signifikante effekter av feltarbeideren ved bruk av Surberprøver enn ved bruk av sparkeprøver være forventet. Dette fordi innsamling av en sparkeprøve innebærer innsamling av et større areal og dermed et større utvalg mikrohabitater (Mackay et al. 1984, Stark 1993). Analyser av hvilke effekter mikrohabitatulikheter mellom feltarbeidere kunne ha på artssammensetning viste ingen effekt av innsamlingsmetoden. Dataene ble derfor slått sammen før videre analyse av kombinerte effekter av feltarbeiderens identitet og habitatkvalitet.

(4) Vi ville forventet at habitatkvalitet ville være viktigere enn feltarbeideren dersom det var variasjonen i kvaliteten i mikrohabitat som var viktig for forskjeller mellom feltarbeidere. Det var imidlertid identiteten til laboratoriet som viste seg å ha størst betydning, mens identiteten til feltarbeideren var mindre, men like viktig som strømhastighet og dybde. Substratsammensetning hadde imidlertid ingen effekt på artssammensetningen.

(5) Prøvene ble fordelt tilfeldig (randomisert) mellom de ulike laboratoriene før bearbeidelse (Good 2005). Derfor var det lite sannsynlig at en eventuell klumpvis fordeling av prøvene mht. mikrohabitat ville bli videreført til de ulike laboratoriene. Dette antyder at effekten av laboratorier bør være mindre enn effekten av feltarbeiderne, men det motsatte var tilfelle.



**Figur 9.** To ulike måter å bevege seg foran sparkehåven, ryggende oppstrøms og spark fra siden. Foto: Knut Andreas E. Bækkelie, NINA.

Vi kan ikke utelukke muligheten for at effektene av feltarbeider reflekterte ulikheter i mikrohabitat som ikke ble målt, og en eventuell romlig aggregering av bunndyr (Needham & Usinger 1956, Resh 1979, Mackay et al. 1984). Hvis en betydelig variasjon i dataene ikke kan forklares med ulikheter i mikrohabitat må andre faktorer stå for den signifikante variasjonen mellom feltarbeiderne. Eksempelvis kan feltarbeideren, ved innsamling av sparkeprøver, ha valgt å bevege seg enten foran sparkehåven eller ved siden av håven (**figur 9**). Det er også mulig at feltarbeideren

gravde ulikt ned i substratet. Både for prøver tatt med Surber-nett og sparkehåv kan feltarbeideren ha valgt enten å ta prøvene bare i substratoverflaten eller ved å grave dypere ned i substratet.

Ulikheter i bruk av teknikker for homogenisering og subsampling, tiden som investeres i sortering av prøver, ulik taksonomisk spesialisering, graden av spesialisering til lokal bunndyrfauna og bruk av ulik bestemmelseslitteratur er et utvalg faktorer som kan forklare laboratoriers effekt på ulike responsvariabler. Bunndyr kan karakteriseres ved varierende tettheter og ved at enkelte taksa ved bearbeiding tenderer til å synke ned på bunnen av bakken mens andre flyter opp til overflaten. Enkelte taksa har en tendens til å feste seg på plastikk, mens andre gjør det ikke. Dersom ulike laboratorier har forskjellige teknikker for homogenisering og subsampling som medfører en skjevhet for eller mot taksa med høye eller lave tettheter, med en tendens til å feste seg til utstyret som brukes i subsamplingen, eller noe annet, så er det fare for at delprøver består av ulike taksa i ulike laboratorier. I alle fall ulike proporsjoner av taksa. Vi forsøkte å standardisere laboratorie-prosedyrene innenfor snevre rammer før studien startet. Likevel kan materiale ha blitt prosessert på ulike måter i de ulike laboratoriene (Carter & Resh 2001). Dette kan være en feilkilde for, eller mot enkelte taksonomiske grupper. Videre er det kommet frem at forskere ved ulike laboratorier investerer ulik tid i sortering og bearbeiding av bunndyrprøver, noe som åpner for muligheten av at prøver bearbeides mer omhyggelig og mer uttømmende ved enkelte laboratorier enn ved andre. Hurtig sortering kan introdusere en skjevhet mot små individer, særlig om prøven bearbeides av utrente laboranter (Gowns et al. 1997). Det er også slik at skadde individer kan behandles på ulike måter i forskjellige laboratorier (Carter & Resh 2001). Uttømmende sortering av prøver vil oftere gi større antall av bunndyr. Jo flere individer som samles inn, desto større er sannsynligheten for å dokumentere flere arter (Gotelli & Colwell 2001). Dessuten vil økende prøvestørrelser øke andelen av små individer, kanskje tidlige stadier av de samme artene, men også potensielt innslag av tidlige individer av taksa som først utvikler seg senere i sesongen. Forskere har utvilsomt forkjærlighet for ulike taksonomiske grupper (Carter & Resh 2001). For eksempel vil eksperter på fjærmygg kanskje ha større oppmerksomhet rettet mot sortering av fjærmygglarver enn forskere som foretrekker å arbeide med nymfer av døgnfluer og steinfluer. I tillegg vil ulike forskere kunne bestemme taksa til ulike taksonomiske nivåer (Resh & Unzicker 1975). Dette var tilfelle i vårt studium til tross for at vi hadde standardisert hvilket taksonomisk nivå ulike taksa skulle bestemmes til. Siden vi harmoniserte datasettet før dataanalysen kan forskjeller ikke skyldes identifikasjon til et lavere taksonomisk nivå enn hva som var avtalt, men heller til et høyere nivå eller uenighet om identiteten til ulike taksa.

Mange forskere arbeider av naturlige grunner mest med lokal bunndyrfauna, og denne vil de kjenne veldig godt. I denne studien deltok laboratorier fra ulike geografiske regioner i Norge. Det førte til at deler av prøvene ble bearbeidet i nærheten av hvor de var tatt, mens andre deler ble bearbeidet av laboratorier i andre deler av landet. Dette kan ha resultert i at laborantene i de ulike laboratoriene kan ha hatt ulik erfaring med faunaen fra studiestedene. Det er også mulig at forskere ved ulike laboratorier bruker ulik litteratur i bestemmelsen av bunndyr. Dette kan skyldes forskerens forkjærlighet for enkelte taksonomiske grupper. Men det kan også skyldes at det finnes litteratur som er utarbeidet med materiale fra begrensede, geografiske regioner (Solem 1985). Bunndyrs kjennetegn kan imidlertid variere betydelig i hele utbredelsesområdet, noe som kan resultere i at enkelte bestemmelsesnøkler fungerer godt i enkelte regioner, og potensielt dårligere for samme taksa i andre regioner. Det kan også variere i hvor stor grad forskere klarer å bruke bestemte taksonomiske kjennetegn. Eksempelvis kan enkelte taksonomer foretrekke å bruke antall børster (setae), andre fargen på utvalgte kroppsdelene, kroppsproporsjoner, eller en kombinasjon av disse. Dette er med på å introdusere ytterligere variasjon i nøyaktigheten til bestemmelsene.

Selv om vi ikke eksplisitt testet om skjevhet hos feltarbeiderne har påvirket vurderingen av økologisk tilstand, fant vi bevis for en forskereffekt på indeksene som ble brukt. Dette indikerer at økologisk tilstand også kan bli påvirket av forsker (Letovsky et al. 2012). Det er også verdt å merke seg at de indekser som ble benyttet i denne studien er basert på relativt enkle og grove



beregninger (Armitage et al. 1983, Raddum & Fjellheim 1984, Raddum 1999). Vi vet ikke hvordan effektene av forsker ville påvirket indekser basert på mer komplekse beregninger av økologisk tilstand som benytter mer variert informasjon. Derimot antyder resultatene at selv om et lavt antall individer kan være nok til å oppnå stabile indeks-estimater i de fleste tilfeller, vil det i andre tilfeller være behov for et langt større antall individer for å oppnå stabile estimater av indeksene. I vårt tilfelle gjaldt dette vannforekomsten med færrest innsamlede individer. Et annet viktig poeng er at våre beregninger er basert på sammenslåtte data og ikke data fra en enkelt prøve slik tilfellet ofte er. Siden forsker påvirker det relative artsantallet kan vi ikke utelukke muligheten for mulige effekter av forsker på indeksene og dermed økologisk tilstand. Størrelsen på vannforekomsten kan ha spilt en rolle ettersom den minste vannforekomsten i denne studien, Trollbekken, ga avvikende verdier for Forsuringsindeks 2. Derfor kunne konklusjonene våre vært annerledes dersom vi kun hadde studert elver og ikke bekker. Dersom vi kun studerte elver, kan det tenkes at våre resultater ville vist en høyere tillit til beregningene av økologisk tilstand basert på de innsamlede dataene.



**Figur 10.** Måling av strømhastighet og dybde. Foto: Knut Andreas E. Bækkelie, NINA.

Det er lagt ned mye arbeid og kreativitet i utvikling av teknikker for innsamling av bunndyr. Noen eksempler på dette er ulike semi-kvantitative sparkeprøve-tilnærminger, kvantitative tilnærminger med en fast kvadratisk ramme, kunstige substrater med et utvalg ulike partikkelstørrelser, drift-nett og teknikker som bruker elektrisk strøm (Peckarsky 1984, Klemm et al. 1990, Barbour et al. 1999, Taylor et al. 2001). I overvåkningsøyemed virker bruk av semi-kvantitativ prøvetaking med sparkehåv å være mest utbredt, selv om utstyr med en fast, kvadratisk, ramme og delvis også kunstige substrat, regelmessig har vært benyttet (Carter & Resh 2001). De valgte metodenes kvalitet og egnethet for bruk i overvåkning er ofte lite dokumentert, noe som understreker behovet for en undersøkelse av metodenes evne til å levere representative resultater og å utvikle en optimal protokoll for innsamling (Ferraro et al. 1994, Diamond et al. 1996). Små forskjeller i innsamlingssteknikk, variasjon i håndteringen av innsamlingsutstyret blant innsamlerne og bearbeidelse av data kan overføres til resultater og konklusjoner i overvåkningsprogrammer (Letovsky et al. 2012). Innsamlingsutstyret kan være lite effektivt, slik som når vann får passere ved siden av oppsamlingsnettingen. Dette er vist ved tilførsel av farge rett foran nettingåpningen (Morgan & Egglshaw 1965). Romlig heterogenitet (aggregering) i vannforekomstene øker variasjonen mellom prøver (Resh 1979). Derfor vil økt innsamlingsinnsats ofte resultere i likere artsammensetning, særlig innad i en vannforekomst eller lokalitet. Dette støtter observasjonen av

at innsamlingsmetodene er til dels lite effektive. Dersom en sammenligner med andre vannforekomster vil økende innsamlingsinnsats øke likheten, men i noe svakere grad (Cao et al. 2005). Innsamlingen av bunndyr kan derfor kreve stratifisert prøvetaking av habitater (Resh 1979). Prøvetaking vil også tjene på å være tilpasset studieorganismenes biologi og livshistorie (Resh 1979). Generelt vil økt innsamlingsinnsats medføre funn av flere sjeldne arter (Metcalf-Smith et al. 2000, Bongard et al. 2011). Innsamlingsutstyret er i ulik grad selekterende og vil kunne introdusere skjevhet i dataene og potensielt i konklusjonene av undersøkelsene (Whitehurst 1991). Ett eksempel på dette kan vi finne i en sammenligning av prøver samlet inn med Surber-nett og driftnett i en tropisk bekk hvor en rekeart nesten utelukkende ble samlet inn ved bruk av driftnett (Pringle & Ramírez 1998). Uttømmende prøvetaking, altså gjentakende innsamling på samme sted, ga høyere relative antall og mer konsistente resultater sammenlignet med både sparkeprøver og Surberprøver, noe som reflekterer variasjon i hvor enkelt-taksa fanges eller om de rømmer (Carle & Maughan 1980, Raleigh & Short 1981). Maskevidde kan også introdusere bias (Nalepa & Robertson 1981). Dette er imidlertid ikke nødvendigvis et problem, for dersom biasen er systematisk vil det være mulig å relatere data samlet inn med en teknikk med data samlet inn med en annen teknikk (Wu & Legg 2009). Flere studier har undersøkt effektiviteten og hvor godt ulikt innsamlingsutstyr fungerer i forhold til hverandre. Men resultatene er motstridende om hvorvidt det er fordelaktig å benytte flere ulike metoder og fremgangsmåter (Bunn 1995).

Sparkeprøver er i sammenligninger av innsamlingsmetoder, med noen unntak, vist å være bedre enn de fleste andre tilnærminger, inkludert Surberprøver (Crossman & Cairns 1974). For eksempel er det funnet at sparkeprøver kan gi flere taksa enn Surberprøver, og at dette trolig skyldes at sparkeprøvene består av mer materiale og dekker et større antall mikrohabitater (Mackay et al. 1984, Stark 1993, Buss & Borges 2008). En sparkeprøve kan være tilstrekkelig for å dokumentere 60 % av bunndyrene, og så få som tre sparkeprøver er vist å kunne dokumentere opptil 90 % av artsmangfoldet (Frost et al. 1971). Sparkeprøver har derfor blitt sett på som mer effektivt for rutinemessig overvåkning som er avhengig av mangfold, artssammensetning og andel vanlige taksa (Hornig & Pollard 1978, Storey et al. 1991, Gillies et al. 2009). Det er også slik at sparkeprøver er en mer allsidig metode sammenlignet med Surberprøver (Hornig & Pollard 1978). Sparkeprøver blir i tillegg ansett som bedre i sammenligning med tilnærminger basert på kunstige substrater dersom en ser på relative antall (abundance) og antall arter (Letovsky et al. 2012). I motsetning til dette krever Surberprøver et høyt antall paralleller for å oppnå et nøyaktig mål på biomasse og tettheter. Det er likevel slik at de fleste vanlige taksa vil kunne dokumenteres ved å ta mellom to og tre prøver (Needham & Usinger 1956). Det også vist at færre Surber- enn sparkeprøver kan være nødvendig for å oppnå troverdige mål på antall individer, men at dette ikke nødvendigvis gjelder antall arter (Chiasson 2009). I tillegg til det som er presentert ovenfor, finnes det også forskning som motsier disse funnene. For eksempel er det vist at sparkeprøver ikke klarer å fange opp alle taksa som fanges i Surberprøver og dermed kan innføre en systematisk feilkilde (da Silva et al. 2005, Gillies et al. 2009). Selv om materiale fra Surberprøver kan bestå av færre individer enn fra sparkeprøver kan de inkludere flere taksa, noe som kan bety at Surberprøver kan være mer egnet for å finne sjeldne taksa under visse forhold (Storey et al. 1991). Surber er bedre egnet enn sparkeprøver for å finne tettheter av dyr og estimere produksjon og biomasse av bunndyr (Chiasson 2009).

Dersom mange forskere eller medarbeidere er involvert i et prosjekt bør det ikke utelukkes at identiteten til forskerne eller medarbeiderne kan påvirke resultatet (Carter & Resh 2001). Mens enkelte studier har dokumentert konsistente resultater uavhengig av forskere (Armitage et al. 1974), har andre studier rapportert at prøvetaker kan påvirke resultatene både når det gjelder sparkeprøver og Surberprøver (Needham & Usinger 1956, Furse et al. 1981, Pollard 1981). Signifikante effekter av prøvetaker på artsrikhet kan være avhengig av prøvested (Furse et al. 1981), eller få utslag i form av innsamling av ulike taksa og variere med kjønnen til feltarbeider (Mackay et al. 1984). Variasjon mellom prøver som er samlet inn av ulike feltarbeidere har også vært tilegnet ulik habitatkvalitet (**figur 10**) (Needham & Usinger 1956). Forskerskjevhet kan videre gå utover selve prøvetakingen og bearbeidingen av prøver, for eksempel selektering på størrelse i sorteringen av bunndyr på grunn av manglende erfaring hos laboranter (Growth et al. 1997).

## 5 Anbefalinger

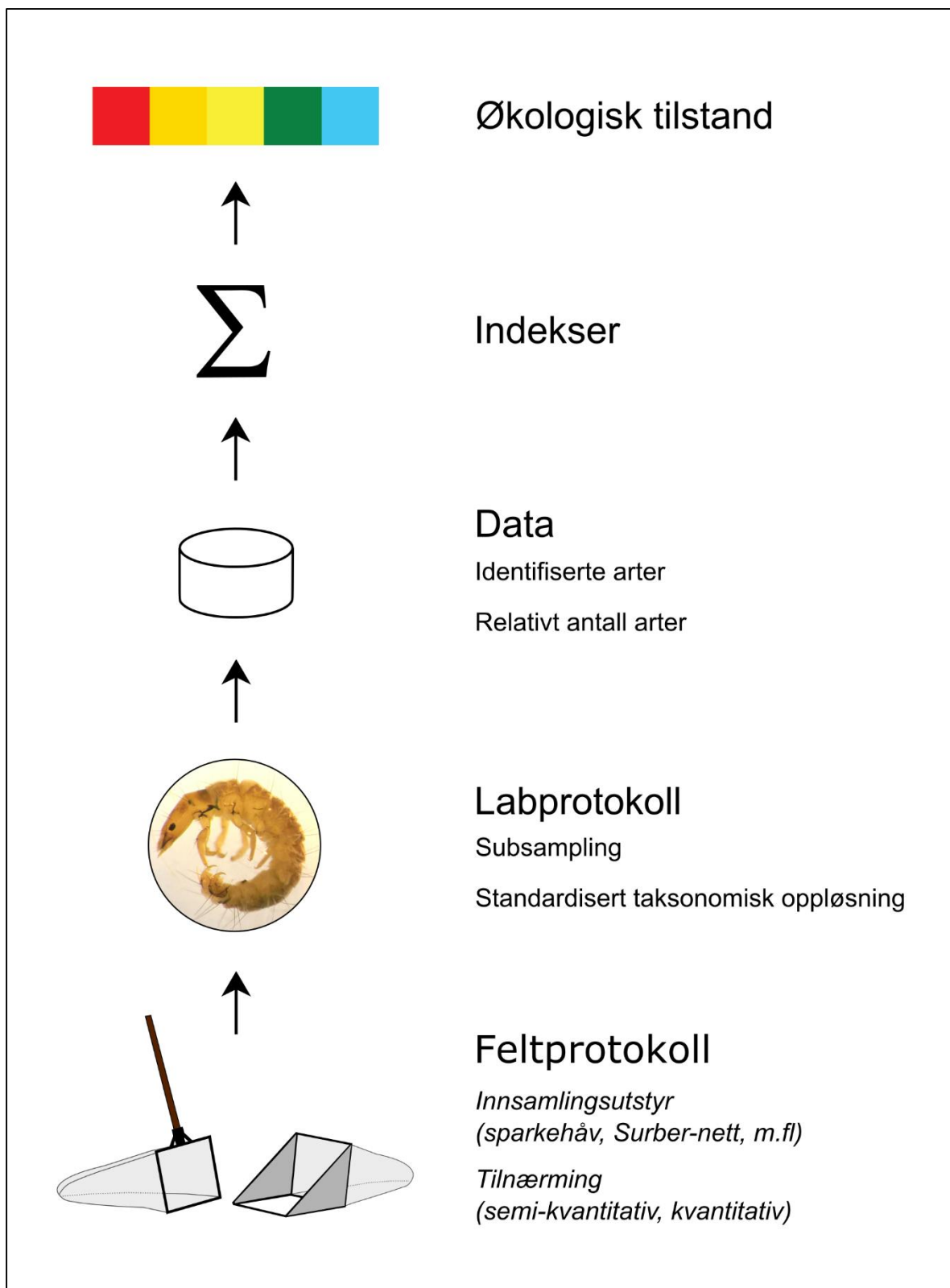
Implementeringen av vannforskriften består av flere faser (fra nederst til øverst, **figur 8**). Studien som er gjennomført viser at prøvetaking, sortering og analyse kan påvirke resultatene signifikant og derved klassifiseringen av økologisk tilstand ved implementeringen av vannforskriften. I særlig grad gjaldt det laboratoriearbeidet, dvs. sortering og videre bearbeiding av prøvene. Det betyr at man ikke kan regne med sammenlignbare resultater selv om samme metode og prosedyre for bearbeiding benyttes. Det er ukjent hvordan resultatene av den gjennomførte studien ville vært uten en standardisert felt- og laboratorieprosedyre som ville tillatt ulike rutiner for feltarbeid og bearbeidelse. Studien viser at det kan argumenteres for at en standardisering av ulike prosedyrer vil redusere variasjonen mellom forsker/laboratorier i hvert steg av en undersøkelse etter som standardiseringen gir mindre rom for individuell praktisk gjennomføring og prosedyrer ved bearbeiding, og begrenser muligheter for individuell tolkning av resultater. Videre peker resultatene på fordeler ved at forskere og laboratorier blir testet og akkreditert for hver av fasene i implementeringen av vannforskriften. Mest fokus bør her legges på arbeidet i de ulike laboratoriene. Vi anbefaler derfor en rekke tiltak.

### 5.1 Forslag til tiltak

For implementeringen av vannforskriften foreslås, basert på utvalget av metoder som er vurdert, at sparkeprøver benyttes fremfor Surberprøver ved innsamling av bunndyr. Dette fordi sparkeprøver gir flere individer og arter i hver prøve, noe som er viktig for å oppnå en troverdig økologisk tilstandsvurdering. Dette også fordi et absolutt artsantall (tetthet fra f.eks. Surber-sampling) ikke er nødvendig for beregningen av de ulike indeksene benyttet i tilstandsvurderingen. I tillegg var resultatene, både når det gjelder subsamplet materiale og hele prøver, mer konsistente for sparkeprøver enn for Surberprøver. Vi kommer derfor med følgende anbefalinger:

1. I vurderingen benyttes sparkeprøver. Det skal tas tre (3) prøver ved hver lokalitet. Det brukes en håndholdt håv med åpning 25 x 25 cm og maskevidde på 250 µm. Hver enkelt sparkeprøve utføres ved at ni (9) meter substrat forseres i løpet av tre (3) minutter (ca. 20 sekunder for hver meter). For hvert minutt tømmes håven for å hindre at materiale tetter duken. Dersom det samles mye materiale i håven bør den tømmes oftere. Er det lite materiale eller mistanke om få individer i hver prøve bør flere 3-minuttersprøver tas. Det er viktig at disse holdes hver for seg og merkes godt, for på denne måten å kunne justere for innsamlingsinnsats. Alt materiale i håven skylles ned i bunnen. Håven vrenses deretter og prøven helles over i en bakke eller en bøtte. Uorganisk materiale vaskes bort ved å helle vann i bakken/bøtten og deretter tilbake i håven flere ganger. Tas annet materiale ut fra prøven, må man være sikker på at dette er uten dyr. Prøven konserveres med etanol slik at det totalt er 70-80 % etanol i prøven.
2. Feltarbeidere må trenes og akkrediteres før innsamlingen. Trening må omfatte bruk av prøveutstyr og en kalibrering til forskjellige vannforekomster for å redusere variasjon mellom feltarbeidere fra ulike institusjoner og derved systematiske skjevheter mellom feltarbeidere. Vadebukser skal brukes i prøvetakingen.





**Figur 8.** De ulike fasene i implementeringen av vannforskriften for økologisk tilstandsvurdering av bunndyr i rennende vann. Indeksene som er nødvendige for vurderingen av økologisk tilstand definerer behovet for data. Behovet for data definerer videre felt- og laboratorieprotokollene som er nødvendig for datainnsamlingen.

3. Prosedyrer på laboratoriet bør standardiseres nøye. Nøkkeltregene i bearbeiding av prøver på laboratoriet består av i) sortering av prøver, ii) prosedyre for subsampling og iii) identifikasjon av bunndyr til familie/slekt/ art. Dersom bearbeiding av hver enkelt prøve forventes å ta betydelig mer enn en time bør en benytte subsampling for disse prøvene. Subsampling benyttes kun for tallrike taksa. Hele prøven skal gjennomgås for alle andre taksa. Prosedyre for subsampling er angitt nedenfor:
  - a. Homogenisering av prøven.
  - b. Fyll en petriskål (14 cm er å foretrekke) med et tynt lag av prøven.
  - c. Gjenta steg b. inntil prøven er fullstendig sortert (se nedenfor for sortering).
  - d. Ved plukking, del prøven i fjerdedeler ved å bruke ferdigmerkede petriskåler.
  - e. Plukk ut alle bunndyrene i fjerdedelen av prøven.
  - f. Dersom det er få bunndyr skal halvparten av prøven bearbeides.
  - g. Gjenta deretter den samme subsamplingen til prøven er tom.
4. De personer som sorterer må trenes tilstrekkelig og laboratoriene som gjennomfører sorteringsarbeidet må være akkreditert.  
Ideelt sett burde det gjennomføres en kalibrering (ringtest) minst en gang annethvert år som tillater en statistisk kalibrering av laboranter. Dette for å begrense variasjon og systematisk skjevhet mellom laboranter og laboratorier. En slik kalibrering må omfatte sortering, inkludert prosedyre for subsampling og spesielt identifikasjon av bunndyr ved å bruke en rekke ulike prøver fra ulike vannforekomster. I motsetning til feltarbeidere, som ikke kan ta samme prøve på samme sted gjentatte ganger for kalibrering, kan ulike laboranter bearbeide de samme prøvene flere ganger. Metoder for en slik interkalibrering er allerede utarbeidet i Norge (se f. eks Fjellheim et al. 2011). Går det lang tid mellom hver gang laboranter bestemmer materiale kan tidligere bearbeidet materiale med ferdige artslistor benyttes for kalibrering før et prosjekt.
5. Det anbefales bruk av standardiserte taksonomiske lister, tilsvarende «Den operative artslistan» som brukes i Sverige, for alle bunndyr-taksa, ikke bare fokustaksa. Da vil det aldri være tvil om hvilket taksonomisk nivå som skal være gjeldende i vannforskriftrelaterte prosjekter.
6. Vi anbefaler å harmonisere datasettene i henhold til den standardiserte taksonomiske listen før beregning av indekser for økologisk tilstand for å unngå den delen av variasjonen som skyldes ulikheter i taksonomiske nivå.
7. For økologisk tilstandsvurdering basert på Forsuringsindeks 2 og ASPT, som ble undersøkt i dette prosjektet, må dataene som benyttes møte bestemte kriterier. Tilstandsvurdering skal helst ikke utarbeides for datasett med færre enn 400 individer. Dataene bør bli analysert for å vise at indeksene for økologisk tilstand faktisk er stabile før resultatet av den økologiske tilstanden aksepteres. Denne anbefalingen gjelder kun vannforekomster med et relativt antall bunndyr på minst 1500 individer per sparkeprøve.

De fleste av anbefalingene følger direkte fra funnene i dette prosjektet, men en del må anses som midlertidige. Studiene antyder også en effekt av forskeren på økologisk tilstandsvurdering som ikke ble undersøkt i dette prosjektet direkte. Men det finnes en forskereffekt på indeksverdier som er med på å danne grunnlaget for økologisk tilstandsvurdering. En undersøkelse av forskerens effekt på økologisk tilstandsvurdering ligger utenfor omfanget til dette prosjektet. I tillegg kan det gjøres en studie av forskereffekt på et bredere utvalg av indekser slik som komplekse multimetriske indekser. Videre kan allerede bearbeidet materiale fra prosjektet bli brukt til å kalibrere forskernes laboratorieprosedyrer, inkludert artsbestemmelser, for på den måten å oppnå et mer direkte, statistisk gyldig og kvantitativt mer troverdig estimat av effekten av forsker. Det er også mulig å bearbeide det som gjenstår av innsamlet materiale slik at det blir mulig å analysere et balansert datasett med de statistiske fordelene det gir, blant annet for vurdering av effektene av ulike prøvestørrelser på fastsettelse av økologisk tilstand.

## 6 Referanser

- Anderson, M. J. 2001a. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology* **26**:32-46.
- Anderson, M. J. 2001b. Permutation tests for univariate or multivariate analysis of variance and regression. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **58**:626-639.
- Anderson, M. J., T. O. Crist, J. M. Chase, M. Vellend, B. D. Inouye, A. L. Freestone, N. J. Sanders, H. V. Cornell, L. S. Comita, K. F. Davies, S. P. Harrison, N. J. B. Kraft, J. C. Stegen, & N. G. Swenson. 2011. Navigating the multiple meanings of beta diversity: a roadmap for the practicing ecologist. *Ecology Letters* **14**:19-28.
- Anderson, M. J., & C. J. F. ter Braak. 2003. Permutation tests for multi-factorial analysis of variance. *Journal of Statistical Computation and Simulation* **73**:85-113.
- Armitage, P. D., A. M. Machale, & D. C. Crisp. 1974. A survey of stream invertebrates in the Cow Green basin (Upper Teesdale) before inundation. *Freshwater Biology* **4**:369-398.
- Armitage, P. D., D. Moss, J. F. Wright, & M. T. Furse. 1983. The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water Research* **17**:333-347.
- Barbour, M. T., J. Gerritsen, B. D. Snyder, & J. B. Stribling. 1999. Rapid Bioassessment Protocols for use in streams and wadeable rivers: Periphyton, benthic macroinvertebrates and fish. U.S. Environmental Protection Agency; Office of Water, Washington, D.C.
- Bongard, T., O. H. Diserud, O. T. Sandlund, & K. Aagaard. 2011. Detecting invertebrate species change in running waters: An approach based on the sufficient sample size principle. *The Open Environmental & Biological Monitoring Journal* **4**:72-82.
- Bunn, S. E. 1995. Biological monitoring of water quality in Australia: Workshop summary and future directions. *Australian Journal of Ecology* **20**:220-227.
- Buss, D. F., & E. L. Borges. 2008. Application of Rapid Bioassessment Protocols (RBP) for benthic macroinvertebrates in Brazil: Comparison between sampling techniques and mesh sizes. *Neotropical Entomology* **37**:288-295.
- Cao, Y., C. P. Hawkins, & A. W. Storey. 2005. A method for measuring the comparability of different sampling methods used in biological surveys: implications for data integration and synthesis. *Freshwater Biology* **50**:1105-1115.
- Carle, F. L., & O. E. Maughan. 1980. Accurate and efficient estimation of benthic populations: a comparison between removal estimation and conventional sampling techniques. *Hydrobiologia* **71**:181-187.
- Carter, J. L., & V. H. Resh. 2001. After site selection and before data analysis: sampling, sorting, and laboratory procedures used in stream benthic macroinvertebrate monitoring programs by USA state agencies. *Journal of the North American Benthological Society* **20**:658-682.
- Chiasson, A. 2009. Bootstrapping to investigate the effect of number of macroinvertebrate samples on confidence limits of the mean. *Environmental Monitoring and Assessment* **149**:53-59.
- Crossman, J. S., & J. Cairns. 1974. A comparative study between two different artificial substrate samplers and regular sampling techniques. *Hydrobiologia* **44**:517-522.
- da Silva, L. C. F., L. C. G. Vieira, D. A. Costa, G. F. Lima Filho, M. V. C. Vital, R. A. de Carvalho, A. V. T. da Silveira, & L. C. Oliveira. 2005. Qualitative and quantitative benthic macroinvertebrate samplers in Cerrado streams: a comparative approach. *Acta Limnologica Brasiliensia* **17**:123-128.
- Diamond, J. M., M. T. Barbour, & J. B. Stribling. 1996. Characterizing and comparing bioassessment methods and their results: a perspective. *Journal of the North American Benthological Society* **15**:713-727.
- European Communities. 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official Journal of the European Communities* **L 327**:1-72.
- Ferraro, S. P., R. C. Swartz, F. A. Cole, & W. A. Deben. 1994. Optimum macrobenthic sampling protocol for detecting pollution impacts in the Southern California Bight. *Environmental Monitoring and Assessment* **29**:127-153.
- Fjellheim, A., A. Johannessen, & T. S. Landås. 2011. Biological intercalibration: Invertebrates. ICP Waters report 109/2011.
- Frost, S., A. Huni, & W. E. Kershaw. 1971. Evaluation of a kicking technique for sampling stream bottom fauna. *Canadian Journal of Zoology* **49**:167-173.

- Furse, M. T., J. F. Wright, P. D. Armitage, & D. Moss. 1981. An appraisal of pond-net samples for biological monitoring of lotic macro-invertebrates. *Water Research* **15**:679-689.
- Gillies, C. L., G. C. Hose, & E. Turak. 2009. What do qualitative rapid assessment collections of macroinvertebrates represent? A comparison with extensive quantitative sampling. *Environmental Monitoring and Assessment* **149**:99-112.
- Good, P. 2005. *Permutation, Parametric and Bootstrap Tests of Hypotheses*. Third Edition edition. Springer Science+Business Media, Inc., New York.
- Gotelli, N. J., & R. K. Colwell. 2001. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters* **4**:379-391.
- Growns, J. E., B. C. Chessman, J. E. Jackson, & D. G. Ross. 1997. Rapid assessment of Australian rivers using macroinvertebrates: cost and efficiency of 6 methods of sample processing. *Journal of the North American Benthological Society* **16**:682-693.
- Hellawell, J. M. 1988. Toxic substances in rivers and streams. *Environmental Pollution* **50**:61-85.
- Hornig, C. E., & J. E. Pollard. 1978. Macroinvertebrate sampling techniques for streams in semi-arid regions: Comparison of the Surber method and a unit-effort traveling kick method. United States Environmental Protection Agency, Las Vegas NV.
- Hurlbert, S. H. 1971. The Nonconcept of Species Diversity: A Critique and Alternative Parameters. *Ecology* **52**:577-586.
- Klemm, D. J., P. A. Lewis, F. Fulk, & J. M. Lazorchak. 1990. Macroinvertebrate field and laboratory methods for evaluating the biological integrity of surface waters. United States Environmental Protection Agency, Washington DC.
- Letovsky, E., I. E. Myers, A. Canepa, & D. J. McCabe. 2012. Differences between kick sampling techniques and short-term Hester-Dendy sampling for stream macroinvertebrates. *Bios (Florence)* **83**:47-55.
- Loreau, M. 2010. Linking biodiversity and ecosystems: towards a unifying ecological theory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* **365**:49-60.
- Mackay, A. P., D. A. Cooling, & A. D. Berrie. 1984. An evaluation of sampling strategies for qualitative surveys of macro-invertebrates of rivers, using pond nets. *Journal of Applied Ecology* **21**:515-534.
- Manly, B. F. J., & R. Francis. 1999. Analysis of variance by randomization when variances are unequal. *Australian & New Zealand Journal of Statistics* **41**:411-429.
- McArdle, B. H., & M. J. Anderson. 2001. Fitting multivariate models to community data: A comment on distance-based redundancy analysis. *Ecology* **82**:290-297.
- McGill, B. J., B. J. Enquist, E. Weiher, & M. Westoby. 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution* **21**:178-185.
- Metcalfe-Smith, J. L., J. Di Maio, S. K. Staton, & G. L. Mackie. 2000. Effect of sampling effort on the efficiency of the timed search method for sampling freshwater mussel communities. *Journal of the North American Benthological Society* **19**:725-732.
- Miljøverndepartementet. 2006. Forskrift om rammer for vannforvaltningen. MD, Forurensningsavd., Avd. for naturforvaltning.
- Morgan, N. C., & H. J. Egglshaw. 1965. A survey of the bottom fauna of streams in the Scottish highlands. *Hydrobiologia* **25**:181-211.
- Nalepa, T. F., & A. Robertson. 1981. Screen mesh size affects estimates of macro- and meio-benthos abundance and biomass in the Great Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **38**:1027-1034.
- Needham, P. R., & R. L. Usinger. 1956. Variability in the macrofauna of a single riffle in Prosser Creek, California, as indicated by the Surber sampler. *Hilgardia* **24**:383-409.
- Oksanen, J., F. G. Blanchet, R. Kindt, P. Legendre, P. R. Minchin, R. B. O'Hara, G. L. Simpson, P. Solymos, M. H. H. Stevens, & H. Wagner. 2013. *vegan: Community Ecology Package*. <http://cran.r-project.org/>, <http://vegan.r-forge.r-project.org/>, R package version 2.0-7.
- Peckarsky, B. L. 1984. Sampling the Stream Benthos. Pages 131-160 in J. A. Downing & F. H. Rigler, editors. *A manual on methods for assessing secondary productivity in freshwaters*. Blackwell Scientific Publications.
- Petersen, R. C., G. M. Gíslason, & L. B.-M. Vought. 2006. Rivers of the Nordic countries. Pages 295-341 in C. E. Cushing, K. W. Cummins, & G. W. Minshall, editors. *River and Stream Ecosystems of the World*. University of California Press, Berkeley.
- Petrie, A., & P. Watson. 2013. Avoidance of bias in the assessment procedure. Pages 130-131 *Statistics for Veterinary and Animal Science*. John Wiley & Sons, Ltd, Oxford.

- Petrin, Z., J. E. Brittain, & S. J. Saltveit. 2013. Mayfly and stonefly species traits and species composition reflect hydrological regulation: a meta-analysis. *Freshwater Science* **32**:425-437.
- Pollard, J. E. 1981. Investigator differences associated with a kicking method for sampling macroinvertebrates. *Journal of Freshwater Ecology* **1**:215-224.
- Pringle, C. M., & A. Ramírez. 1998. Use of both benthic and drift sampling techniques to assess tropical stream invertebrate communities along an altitudinal gradient, Costa Rica. *Freshwater Biology* **39**:359-373.
- R Development Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, <http://www.R-project.org/>, Vienna, Austria.
- Raddum, G. G. 1999. Large scale monitoring of invertebrates: Aims, possibilities and acidification indexes. Pages 7-16 in G. G. Raddum, B. O. Rosseland, & J. Bowman, editors. Workshop on biological assessment and monitoring; evaluation and models. October 13<sup>th</sup> 1998, Zakopane, Poland. ICP Waters Programme Centre, Norwegian Institute for Water Research, Oslo.
- Raddum, G. G., & A. Fjellheim. 1984. Acidification and early warning organisms in freshwater in western Norway. *Verhandlungen des Internationalen Vereines für Limnologie* **22**:1973-1980.
- Raleigh, R. F., & C. Short. 1981. Depletion sampling in stream ecosystems: assumptions and techniques. *Progressive Fish-Culturist* **43**:115-120.
- Resh, V. H. 1979. Sampling variability and life history features: basic considerations in the design of aquatic insect studies. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **36**:290-311.
- Resh, V. H., & J. D. Unzicker. 1975. Water Quality Monitoring and Aquatic Organisms: The Importance of Species Identification. *Journal (Water Pollution Control Federation)* **47**:9-19.
- Rivers, W. H. R., & H. N. Webber. 1907. The action of caffeine on the capacity for muscular work. *Journal of Physiology* **36**:33-47.
- Rosenberg, D. M., & V. H. Resh. 1993. *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. Chapman and Hall, New York.
- Solem, J. O. 1985. Norwegian *Apatania* Kolenati (Trichoptera: Limnephilidae): identification of larvae and aspects of their biology in a high-altitude zone. *Entomologica Scandinavica* **16**:161-174.
- Stark, J. D. 1993. Performance of the Macroinvertebrate Community Index: effects of sampling method, sample replication, water depth, current velocity, and substratum on index values. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* **27**:463-478.
- Statzner, B., J. A. Gore, & V. H. Resh. 1988. Hydraulic stream ecology: observed patterns and potential applications. *Journal of the North American Benthological Society* **7**:307-360.
- Storey, A. W., D. H. D. Edward, & P. Gazey. 1991. Surber and kick sampling: a comparison for the assessment of macroinvertebrate community structure in streams of south-western Australia. *Hydrobiologia* **211**:111-121.
- Surber, E. W. 1937. Rainbow Trout and Bottom Fauna Production in One Mile of Stream. *Transactions of the American Fisheries Society* **66**:193-202.
- Surber, E. W. 1970. Procedure in taking stream bottom samples with the stream square foot bottom sampler. *Proceedings of the Conference of the Southeast Association of Game Fish Commission* **23**:587-591.
- Taylor, B. W., A. R. McIntosh, & B. L. Peckarsky. 2001. Sampling stream invertebrates using electroshocking techniques: implications for basic and applied research. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **58**:437-445.
- Underwood, A. J. 1997. *Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Veileder 02:2013 - revidert. 2015. Klassifisering av miljøtilstand i vann: Økologisk og kjemisk klassifiseringssystem for kystvann, grunnvann, innsjøer og elver. Direktoratgruppen for gjennomføring av vanndirektivet:229p.
- Whitehurst, I. T. 1991. The effects of sampling techniques on the *Gammarus:Asellus* ratio. *Water Research* **25**:745-748.
- Wu, D., & D. E. Legg. 2009. Relating values of selected benthic macroinvertebrate metrics from D-net to Surber sampler in two Southeast Wyoming streams. *Journal of the Kentucky Academy of Science* **70**:109-121.

## 8. Vedlegg

### Vedlegg 1.

Effektene av de tilfeldige faktorene feltarbeider, laboratorium og vannforekomst på relativt antall bunndyr, absolutt antall arter, individual-based species richness, jevnhet, artssammensetning, relativt antallarter, preferanse for strømhastighet, Forsuringsindeks 2, ASPT (Average Score Per Taxon) og nivå for taksonomisk bestemmelse. Analysene er gjort for to datasett: Det første bestående av et subset (25 %) av materialet, det andre bestående av alt (100 %) materiale. To separate analyser ble gjort for Surberprøver og sparkeprøver. Effektene av feltarbeider, laboratorier og vannforekomst ble analysert med toveis variansanalyse. P-verdiene ble beregnet ved å benytte permutasjonstester med 9999 permutasjoner. Df = antall frihetsgrader; MS = estimat av middelkvadrat (mean square); F = F-statistikk; p = p-verdi; 0.050 ≤ p < 0.100; \*, 0.010 ≤ p < 0.050; \*\*, 0.001 ≤ p < 0.010; \*\*\*, p < 0.001.

Effekt	Surberprøve				100 % av materialet				Sparkeprøve				100 % av materialet				
	25 % av materialet							25 % av materialet							100 % av materialet		
	df	MS	F	p	df	MS	F	p	df	MS	F	p	df	MS	F	p	
Relativt antall bunndyr																	
Feltarbeider	3	4161	2.1	0.213	3	52077	1.6	0.294	3	40206	2.5	0.120	3	252651	2.6	0.111	
Laboratorium	2	3557	1.8	0.258	2	33535	1.0	0.413	4	173584	10.9	0.002**	4	2735996	28.4	< 0.001***	
Feltarbeider x																	
Laboratorium	4	2020	0.2	0.961	3	32673	0.3	0.883	11	15915	0.3	0.977	11	96365	0.1	0.998	
Residualer	19	9010			19	114377			39	57181			39	649864			
Vannforekomst																	
Laboratorium	3	34362	29.5	0.010*	3	486455	38.6	0.006**	3	263693	6.9	0.008**	3	3135648	7.3	0.006**	
Laboratorium	2	421	0.4	0.721	2	81993	6.5	0.076 <sup>+</sup>	4	146245	3.8	0.035*	4	1914041	4.4	0.023*	
Vannforekomst x																	
Laboratorium	3	1163	0.3	0.877	3	12591	0.3	0.894	10	38312	1.1	0.386	10	430127	1.3	0.320	
Residualer	20	4259			19	48962			40	33789			40	336361			
Absolutt antall arter																	
Feltarbeider	3	59.3	4.0	0.100	3	28.7	0.8	0.524	3	37.3	1.6	0.266	3	78.4	4.9	0.025*	
Laboratorium	2	53.3	3.6	0.114	2	171.4	4.6	0.110	4	229.0	9.9	0.001**	4	498.5	31.4	< 0.001***	
Feltarbeider x																	
Laboratorium	4	15.0	0.4	0.897	3	37.5	0.9	0.559	11	23.1	0.8	0.548	11	15.9	0.4	0.939	
Residualer	19	41.3			19	43.3			39	28.4			39	42.9			

Vannforekomst	3	174.4	2.6	0.218	3	182.9	4.6	0.110	3	245.4	10.1	0.002**	3	252.1	9.5	0.003**
Laboratorium	2	72.9	1.1	0.446	2	250.2	6.3	0.082 <sup>+</sup>	4	158.4	6.5	0.005**	4	377.8	14.3	< 0.001***
Vannforekomst x Laboratorium	3	66.2	4.4	0.029*	3	40.0	2.2	0.187	10	24.4	2.0	0.078 <sup>+</sup>	10	26.5	1.0	0.520
Residualer	20	15.1			19	18.6			40	12.3			40	26.6		
Individual-based species richness																
Feltarbeider	3	16.4	14.2	0.011*	3	25.1	1.7	0.288	3	5.3	2.5	0.120	3	20.6	3.3	0.069 <sup>+</sup>
Laboratorium	2	8.7	7.5	0.036*	2	71.2	4.7	0.109	4	13.5	6.4	0.007**	4	72.9	11.8	0.001**
Feltarbeider x Laboratorium	4	1.2	0.3	0.929	3	15.0	1.4	0.350	11	2.1	0.8	0.605	11	6.2	0.8	0.521
Residualer	19	3.5			19	10.6			39	2.8			39	7.3		
Vannforekomst	3	10.4	1.6	0.347	3	31.0	2.7	0.197	3	13.8	4.2	0.034*	3	34.0	5.8	0.015*
Laboratorium	2	15.2	2.3	0.237	2	96.4	8.4	0.060 <sup>+</sup>	4	10.1	3.1	0.062 <sup>+</sup>	4	59.3	10.1	0.001**
Vannforekomst x Laboratorium	3	6.6	1.9	0.220	3	11.5	1.1	0.450	10	3.3	1.8	0.122	10	5.9	0.9	0.568
Residualer	20	3.4			19	10.2			40	1.8			40	6.4		
Jevnhet (probability of interspecific encounter)																
Feltarbeider	3	0.0102	5.6	0.051 <sup>+</sup>	3	0.0028	2.2	0.218	3	0.0027	0.7	0.597	3	0.0019	0.8	0.542
Laboratorium	2	0.0057	3.1	0.129	2	0.0035	2.7	0.184	4	0.0162	4.4	0.024*	4	0.0084	3.7	0.045*
Feltarbeider x Laboratorium	4	0.0018	0.5	0.876	3	0.0013	0.3	0.867	11	0.0037	0.9	0.418	11	0.0023	1.1	0.292
Residualer	19	0.0040			19	0.0042			39	0.0041			39	0.0021		
Vannforekomst	3	0.0043	0.6	0.655	3	0.0077	1.4	0.371	3	0.0229	6.7	0.004**	3	0.0119	8.2	0.003**
Laboratorium	2	0.0088	1.2	0.404	2	0.0050	0.9	0.478	4	0.0115	3.4	0.045*	4	0.0061	4.2	0.027*
Vannforekomst x Laboratorium	3	0.0073	1.8	0.227	3	0.0055	2.0	0.216	10	0.0034	1.3	0.251	10	0.0015	0.9	0.496
Residualer	20	0.0040			19	0.0028			40	0.0026			40	0.0015		
Artssammensetning																
Feltarbeider	3	0.136	2.0	0.021*	3	0.130	2.6	0.001**	3	0.118	1.4	0.092 <sup>+</sup>	3	0.108	1.5	0.062 <sup>+</sup>
Laboratorium	2	0.245	3.6	< 0.001***	2	0.191	3.9	0.001**	4	0.376	4.3	< 0.001***	4	0.373	5.1	< 0.001***
Feltarbeider x Laboratorium	4	0.068	0.4	0.998	3	0.049	0.4	0.997	11	0.087	0.4	> 0.999	11	0.073	0.4	> 0.999
Residualer	19	0.156			19	0.139			39	0.199			39	0.198		

Vannforekomst	3	0.552	5.3	< 0.001***	3	0.561	6.9	< 0.001***	3	1.743	16.6	< 0.001***	3	1.820	20.0	< 0.001***
Laboratorium	2	0.185	1.8	0.138	2	0.178	2.2	0.058 <sup>+</sup>	4	0.309	2.9	0.004**	4	0.292	3.2	0.002**
Vannforekomst x Laboratorium	3	0.105	1.3	0.209	3	0.081	1.2	0.226	10	0.105	1.5	0.013*	10	0.091	1.5	0.027*
Residualer	20	0.083			19	0.066			40	0.070			40	0.062		
Relativt antall arter																
Feltarbeider	3	2313	1.9	0.157	3	23608	2.0	0.039*	3	13303	1.1	0.351	3	133816	1.4	0.181
Laboratorium	2	1748	1.4	0.284	2	35856	3.0	0.020*	4	35195	2.8	0.001**	4	382224	4.1	< 0.001***
Feltarbeider x Laboratorium	4	1238	0.5	0.944	3	11787	0.4	0.985	11	12591	0.5	0.991	11	92800	0.3	> 0.999
Residualer	19	2527			19	33230			39	24049			39	293654		
Vannforekomst	3	8092	6.7	0.004**	3	113927	9.7	< 0.001***	3	140147	10.5	< 0.001***	3	2018120	13.4	< 0.001***
Laboratorium	2	1092	0.9	0.583	2	40056	3.4	0.009**	4	31608	2.4	0.020*	4	289421	1.9	0.067 <sup>+</sup>
Vannforekomst x Laboratorium	3	1211	0.8	0.658	3	11744	0.6	0.805	10	13381	1.0	0.524	10	150052	1.1	0.284
Residualer	20	1600			19	18976			40	14052			40	132997		
Preferanse for strømhastighet																
Feltarbeider	3	578	10.8	0.006**	3	401	4.0	0.028*	3	66	0.2	0.955	3	90	0.4	0.879
Laboratorium	2	1074	20.1	0.001**	2	869	8.7	0.008**	4	742	2.7	0.025*	4	468	1.9	0.069 <sup>+</sup>
Feltarbeider x Laboratorium	4	53	0.2	0.973	3	100	0.4	0.812	11	275	0.7	0.829	11	252	0.6	0.900
Residualer	19	269			19	250			39	414			39	432		
Vannforekomst	3	1005	6.0	0.036*	3	770	7.0	0.007**	3	3803	22.4	< 0.001***	3	4744	42.5	< 0.001***
Laboratorium	2	507	3.0	0.127	2	446	4.0	0.036*	4	549	3.2	0.043*	4	355	3.2	0.049*
Vannforekomst x Laboratorium	3	169	1.0	0.431	3	110	0.6	0.674	10	170	1.1	0.378	10	112	1.0	0.483
Residualer	20	177			19	190			40	156			40	114		
Forsuringsindeks 2																
Feltarbeider	3	2.01	1.0	0.474	3	3.83	1.0	0.485	3	1.06	0.3	0.838	3	1.28	0.5	0.709
Laboratorium	2	0.74	0.4	0.745	2	2.11	0.6	0.619	4	17.53	5.3	0.015*	4	24.81	10.0	0.003**
Feltarbeider x Laboratorium	4	1.98	0.6	0.756	3	3.83	0.5	0.761	11	3.30	0.2	0.997	11	2.49	0.1	> 0.999
Residualer	19	3.59			19	7.56			39	20.23			39	25.62		



Vannforekomst	3	17.05	35.5	0.011*	3	27.93	21.0	0.017*	3	226.11	37.9	< 0.001***	3	285.90	28.6	< 0.001***
Laboratorium	2	0.12	0.3	0.786	2	0.55	0.4	0.703	4	3.85	0.6	0.643	4	6.75	0.7	0.629
Vannforekomst x																
Laboratorium	3	0.48	0.3	0.836	3	1.33	0.3	0.870	10	5.96	2.6	0.044*	10	10.00	5.5	0.002**
Residualer	20	1.48			19	4.15			40	2.26			40	1.82		
Average Score Per Taxon (ASPT)																
Feltarbeider	3	0.397	3.4	0.112	3	0.094	0.7	0.550	3	0.200	1.8	0.213	3	0.026	0.2	0.884
Laboratorium	2	0.544	4.7	0.077 <sup>+</sup>	2	0.067	0.5	0.604	4	0.249	2.3	0.139	4	0.090	0.8	0.578
Feltarbeider x																
Laboratorium	4	0.116	0.5	0.875	3	0.134	0.9	0.560	11	0.109	0.7	0.657	11	0.114	0.6	0.747
Residualer	19	0.251			19	0.156			39	0.153			39	0.185		
Vannforekomst	3	0.807	3.0	0.195	3	0.546	4.6	0.113	3	0.916	12.0	0.002**	3	1.406	14.2	0.001**
Laboratorium	2	0.111	0.4	0.687	2	0.008	0.1	0.930	4	0.110	1.4	0.275	4	0.047	0.5	0.740
Vannforekomst x																
Laboratorium	3	0.269	1.7	0.273	3	0.120	1.4	0.367	10	0.076	0.7	0.736	10	0.099	1.2	0.383
Residualer	20	0.159			19	0.087			40	0.106			40	0.084		
Nivå av taksonomisk bestemmelse																
Feltarbeider	3	24.4	3.9	0.014*	3	20.2	1.0	0.486	3	14.0	1.1	0.347	3	47.3	4.5	0.002**
Laboratorium	2	46.4	7.4	0.002**	2	100.8	4.9	0.004**	4	105.8	8.5	< 0.001***	4	211.6	20.0	< 0.001***
Feltarbeider x																
Laboratorium	4	6.2	0.3	0.958	3	20.6	1.1	0.385	11	12.5	0.8	0.672	11	10.6	0.5	0.985
Residualer	19	20.3			19	19.4			39	14.7			39	22.4		
Vannforekomst	3	81.5	3.1	0.051 <sup>+</sup>	3	72.7	5.6	0.002**	3	87.7	6.2	0.001**	3	111.9	5.3	0.002**
Laboratorium	2	47.7	1.8	0.220	2	118.8	9.1	0.001**	4	78.9	5.6	0.001**	4	161.9	7.7	< 0.001***
Vannforekomst x																
Laboratorium	3	26.6	3.3	0.014*	3	13.0	1.1	0.385	10	14.2	1.6	0.053 <sup>+</sup>	10	21.0	1.4	0.130
Residualer	20	8.0			19	12.3			40	8.6			40	14.6		

Noter: Individual-based species richness ble standardisert til det maksimale antallet individer som alle prøver hadde felles. Artssammensetning og det relative antallet arter er basert på henholdsvis Bray-Curtis og Euclidean dissimilarities.

## Vedlegg 2.

Effektene av innsamlingsmetode (fixed factor) og vannforekomst (random factor) på absolutt antall bunndyr, absolutt antall arter, individual-based species richness, jevnhet, artssammensetning, relativt antall bunndyr, preferanse for strømhastighet, forsuringsindeks 2 og ASPT (Average Score Per Taxon). Flere sparkeprøver ble bearbeidet enn Surberprøver. Derfor ble det tilfeldig trukket ut data fra sparkeprøvematerialet slik at antallet data ble det samme for hver innsamlingsmetode innenfor samme vannforekomst. P-verdiene ble beregnet ved å benytte permutasjonstester med 9999 permutasjoner. Metode = innsamlingsmetode; Vf = vannforekomst; MS = estimat av middelkvadrat (mean square); F = F-statistikk; p = p-verdi;  $0.050 \leq p < 0.100$ ; \*,  $0.010 \leq p < 0.050$ ; \*\*,  $0.001 \leq p < 0.010$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .

Effekt	MS	F	p
<i>Absolutt antall bunndyr</i>			
Metode	15427651	31.7	0.013*
Vannforekomst	2014565	8.2	0.001**
Metode x Vf	486176	2.0	0.203
Residualer	244615		
<i>Absolutt antall arter</i>			
Metode	553	17.3	0.034*
Vannforekomst	308	6.6	0.004**
Metode x Vf	32	0.7	0.570
Residualer	46		
<i>Individual-based species richness</i>			
Metode	8.2	1.5	0.362
Vannforekomst	42.6	3.1	0.060*
Metode x Vf	5.5	0.4	0.740
Residualer	13.9		
<i>Jevnhet (probability of interspecific encounter)</i>			
Metode	0.0340	9.7	0.063*
Vannforekomst	0.0111	4.2	0.016*
Metode x Vf	0.0036	1.4	0.277
Residualer	0.0029		
<i>Artssammensetning</i>			
Metode	1.36	4.0	0.003**
Vannforekomst	1.20	14.9	< 0.001***
Metode x Vf	0.34	4.2	< 0.001***
Residualer	0.08		

Effekt	MS	F	p
<i>Relativt antall bunndyr</i>			
Metode	1196762	3.4	0.032*
Vannforekomst	860425	10.7	< 0.001***
Metode x Vf	352831	4.4	< 0.001***
Residualer	81452		
<i>Preferanse for strømhastighet</i>			
Metode	2059	4.9	0.097*
Vannforekomst	3128	18.7	< 0.001
Metode x Vf	416	2.5	0.058*
Residualer	167		
<i>Forsuringsindeks 2</i>			
Metode	25.4	0.9	0.419
Vannforekomst	164.9	44.2	< 0.001***
Metode x Vf	27.3	7.2	0.001**
Residualer	4.1		
<i>ASPT (Average Score Per Taxon)</i>			
Metode	0.012	0.5	0.536
Vannforekomst	1.321	15.5	< 0.001***
Metode x Vf	0.025	0.3	0.785
Residualer	0.085		

Noter: Individual-based species richness ble standardisert til det maksimale antallet individer som alle prøver hadde felles. Artssammensetning og det relative antallet arter er basert på henholdsvis Bray-Curtis og Euclidean dissimilarities. Antall frihetsgrader: Metode – 1, Vannforekomst – 3, Metode x Vannforekomst – 3, Residualer – 48.







*Norsk institutt for naturforskning (NINA) er et nasjonalt og internasjonalt kompetansesenter innen naturforskning. Vår kompetanse utøves gjennom forskning, utredningsarbeid, overvåking og konsekvensutredninger.*

*NINAs primære aktivitet er å drive anvendt forskning. Stikkord for forskningen er kvalitet og relevans, samarbeid med andre institusjoner, tverrfaglighet og økosystemtilnærming. Offentlig forvaltning, næringsliv og industri samt Norges forskningsråd og EU er blant NINAs oppdragsgivere og finansieringskilder.*

*Virksomheten er hovedsakelig rettet mot forskning på natur og samfunn, og NINA leverer et bredt spekter av tjenester gjennom forskningsprosjekter, miljøovervåking, utredninger og rådgiving.*

ISSN:1504-3312  
ISBN: 978-82-426-2937-1

## Norsk institutt for naturforskning

NINA Hovedkontor

Postadresse: Postboks 5685 Sluppen, 7485 Trondheim

Besøks/leveringsadresse: Hogskoleringen 9, 7034 Trondheim

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

E-post: [firmapost@nina.no](mailto:firmapost@nina.no)

Organisasjonsnummer 9500 37 687

<http://www.nina.no>

Samarbeid og kunnskap for framtidens miljøløsninger