



Titel: Blødbundsfauna			
Dokumenttype: Teknisk anvisning	TA nr.: M19	Version: 2	Oprettet: 03.02.2014
Forfattere: Jørgen L.S. Hansen, Alf Josefson	Gyldig fra: 18.06.2019		
	Sider: 13		
	Sidst ændret: 18.06.19		
TA henvisninger			

Indhold

1 Indledning.....	2
2 Metode.....	3
2.1 Tid, sted og periode.....	3
2.2 Udstyr.....	3
2.3 Procedurer.....	3
2.3.1 Procedurer i felten.....	3
2.3.2 Procedurer i laboratoriet.....	5
2.4 Særlige forholdsregler - faldgruber.....	6
3 Databehandling.....	7
4 Kvalitetssikring.....	7
4.1 Kvalitetssikring af metode.....	7
4.2 Kvalitetssikring af data og dataaflevering.....	7
5 Referencer.....	8
6 Bilag.....	9
6.1 Bestemmelseslitteratur.....	9
6.2 Faktorer i kvalitetssikring.....	12
7. Oversigt over versionsændringer.....	13

1 Indledning

Denne tekniske anvisning beskriver overvågningen af faunaen på blød bund og omfatter undersøgelser af artsdiversitet, artssammensætning, individtæthed og biomasse af blødbundsfaunaen i kystnære og åbne havområder. Artsdiversiteten og artssammensætningen indgår i beregningen af det danske kvalitetsindeks, DKI, som beskriver miljøtilstanden bestemt ud fra faunasamfundet.

2 Metode

2.1 Tid, sted og periode

Prøvetagningen skal foregå i perioden 1. marts - 31. maj. Dette gælder dog ikke, hvis prøvetagning er en fortsættelse af et tidligere overvågningsprogram, hvor prøvetagningen er foretaget på et andet tidspunkt. I dette tilfælde opretholdes prøvetagningstidspunktet og må kun ændres efter aftale med M-FDC.

Hvis prøvetagningen er en fortsættelse af et tidligere overvågningsprogram, foretages prøvetagningen på de tidligere stationer. I nye områder udvælges stationerne (antallet afhænger af prøvetagningsudstyret) inden for et relativt homogent område mht. dybde og sedimentforhold på en sådan måde, at det sikres, at det er muligt at udtage velegnede bundfaunaprøver til kvantitativ bestemmelse af bunddyrene (se 2.3.1 Procedure i felten).

2.2 Udstyr

I felten:

- Kernebundhenter (HAPS) med diameter 13,5 cm (areal: 0,0143 m²) skal anvendes, hvor det overhovedet er muligt.
- Grab (VanVeen; areal 0,1 m²) anvendes kun, hvor det er umuligt at optage kvantitative prøver med kernebundhenter eller på stationer, hvor grab hidtil har været anvendt, og hvor tidsserien fortsættes (grabben skal veje mindst 35 kg).
- Smørstikke og kajakrør med indre diameter 10,4 cm (areal: 0,0085 m²) eller 10,0 cm (areal: 0,0079 m²) kan anvendes i lavvandede områder efter aftale med M-FDC.
- Sigte med maskevidde på 1 mm.
- 96 % ethanol.

I laboratoriet:

- Sigte med maskevidde på 0,5 mm
- Sigte med maskevidde på 4 mm

2.3 Procedurer

2.3.1 Procedurer i felten

Inden for et homogent område, hvor DKI-indekset skal beregnes, indsamles sedimentprøverne repræsentativt for området, så de udgør et samlet areal på 0,6 m². Med en HAPS kernebundhenter med et prøveareal på 0,0143 m² svarer dette til 42 prøver, med en Van Veen grab med et prøveareal på 0,1 m² svarer det til 6 prøver. Med smørstikke og kajakrør med et prøveareal på 0,0085 m² indsamles der 72 prøver, og anvendes en smørstikke med et prøveareal på 0,0079 m², indsamles der 78 prøver, idet det samlede prøveareal holdes på 0,6 m, således at den nuværende metode til beregning af DKI kan opretholdes med 6 replikater på hver station.

Hvis der anvendes prøvetagningsudstyr med andre diametre end dem, der er angivet i 2.2, justeres prøveantallet, så det samlede areal af prøverne er 0,6 m². Hvis der fx grundet tidsserier eller underopdeling af området m.m. indsamles et mindre samlet prøveareal (må ikke være mindre end 0,3 m²), skal antallet af Hapsprøver (0,0143 cm²) være deleligt med 7 og antallet af smørstikkeprøver skal være deleligt med 12 eller 13. Positionerne samt dybderne for de hhv. 42, 6, 72 eller 78 prøver skal noteres prøvevis, og prøverne tages på de samme positioner hvert år. De enkelte prøver behandles, analyseres og indrapporteres altid hver for sig.

Prøver med en kernedybde under 15 cm undersøges nøje for at se, om prøven når ned under dyrenes gravedybde. Er dette ikke tilfældet, skal prøven kasseres. For hver sedimentkerne noteres sedimentoverfladens farve, dybden af det oxiderede overfladelag, lugt af svovlbrinte samt en kort beskrivelse af sedimenttypen.

På HELCOM-stationer og stationer, der tidligere har været overvåget i de åbne farvande, udtages der henholdsvis 10 og 5 delprøver på samme position afhængigt af det antal delprøver, der er taget på de respektive stationer under de tidligere overvågningsprogrammer. På HELCOM-stationerne i de åbne farvande anvendes der HAPS bundhenter.

Prøven sigtes gennem 1 mm sigte umiddelbart efter prøvetagningen for at fjerne det finkornede materiale. Ved sigtningen skal man være opmærksom på følgende:

- Hver prøve skal sigtes, opbevares og mærkes separat.
- Prøven opslemmes forsigtigt inden sigtning med henblik på at minimere den tid, prøven er i sigten, og dermed minimere skader på bundfaunaen.
- Man skal undgå at beskadige dyrene ved for kraftig vandstrålepåvirkning eller anden hårdhændet behandling.
- Sigtningen skal ske under vand. Det er vigtigt, at der ikke sker overløb ud over sigtekanten, da specielt krebsdyr ofte flyder på vandfilmen og derved vil gå tabt. Sigten skylles og ses igennem efter hver brug for at undgå, at dyr fejlagtigt bliver henført til den forkerte prøve.

Efter at prøven er sigtet, konserveres den med 96 % ethanol til en slutkoncentration på 70 %.

2.3.2 Procedurer i laboratoriet

Ethanolkonserverede prøver skal opbevares i mindst 3 måneder, inden biomasserne bestemmes. Sortering må gerne foretages i løbet af denne periode. Oparbejdningen skal være afsluttet efter senest 12 måneders konservering (Hansen & Fossing 2015).

Sortering

Ethanol hældes meget forsigtigt fra prøven igennem en 0,5 mm sigte. Sigten undersøges grundigt for dyr. Der hældes herefter vand på prøven, så sigteresten er vanddækket. Sorteringen skal omfatte hele prøven og foregå under vanddække, da individerne ellers kan klæbe sig fast til sigterester som fx tomme muslingskaller. Sigteresten sorteres under stereolup i små portioner, så der kun er et lag materiale under stereoluppen ad gangen, og materialet gennemgås systematisk for dyr. Hvis sorteringen ikke kan gennemføres inden for 24 timer, skal prøven igen fikseres med 96 % ethanol til en slutkoncentration på 70 %, indtil sorteringen genoptages.

Prøver med stor sigterest (skaller, grus, dødt ålegræs mv.) deles i tre fraktioner. Den første fraktion er den, som man sigter fra ved gentagen forsigtig "skvulping" af prøven, og hvor vaskevandet først hældes ud i en hvid bakke, hvorfra dyrene sorteres. Herefter hældes vaskevandet gennem en sigte med maskevidden 0,5 mm, og sigten undersøges igen for dyr. Denne fraktion, der indeholder hovedparten af ormene og krebsdyrene samt en del andre dyr, der ikke er tungere end vand, sorteres under stereolup.

Den tilbageværende del af prøven deles i to fraktioner ved forsigtigt at sigte prøven gennem to sigter oven på hinanden med maskevidder på 4 mm og 0,5 mm, hhv. øverst og nederst. Fraktionen i den øverste sigte kan sorteres uden brug af stereolup.

Det skal bemærkes, at enhver håndtering i forbindelse med fraktioneringen kan beskadige dyrene og besværliggøre den efterfølgende artsbestemmelse.

Alle udsorterede prøver skal ledsages af etiketter.

Bestemmelse og tælling

Dyrene bestemmes til artsniveau eller undtagelsesvist til slægt for arter, der er særligt vanskelige at bestemme eller er beskadiget ved prøvetagningen. En oversigt over bestemmelsesværker findes i bilag 6.1. og hjælp til nomenklatur kan bl.a. findes i WoRMS (www.marinespecies.org). I tvivlstilfælde og ved arter, hvor der erfaringsmæssigt er problemer, angives hvilken bestemmelseslitteratur, der har været benyttet i bemærkningsfeltet.

Individerne tælles artsvis og prøvevis. Alle bestemmelser skal vedlægges etiketter artsvis og prøvevis.

Biomassemåling

Biomassebestemmelsen skal ske separat for hver art i hver prøve og bestemmes ved enten vådvægt eller tørvægt, dog således at vådvægt skal prioriteres, da tørring ødelægger dyrene og umuliggør efterfølgende kontrol af artsbestemmelsen. Bemærk, at på stationer, hvor tidsserier fortsættes, må proceduren for biomassebestemmelsen (dvs. vægtangivelsen 'tør' eller 'våd')

ikke ændres. Hvis nogle arter har meget lille biomasse, dvs. < 0,1 mg og derfor ikke kan vejes, sættes biomassen til 0,1 mg.

Vådvægt. Dyrene vejes med en nøjagtighed på 0,1 mg straks efter, at al overskudsvæske er fjernet.

Væsken fjernes ved at lægge (og eventuelt vende) dyrene på filterpapiret, indtil man ikke mere kan iagttage vådt på overfladen. Denne proces tager blot få sekunder for mindre dyr, men mindst 20 sekunder for større dyr.

Skalbærende dyr vejes med skaller. De skal derfor åbnes og stilles på højkant for at fjerne overskudsvæsken.

Tørvægt. Tørrede dyr vejes med en nøjagtighed på 0,1 mg efter at dyrene er tørret i varmeskab ved 60 °C til konstant vægt (normalt 18-24 timer).

2.4 Særlige forholdsregler - faldgruber

Konservering i ethanol kan desværre medføre, at fx polychaeter kan gå i opløsning efter længere tids opbevaring, hvilket besværliggør identifikationen og forringer datakvaliteten. Oparbejdning skal derfor ske hurtigst muligt og senest inden 12 mdr. for prøver, der er konserveret med ethanol.

Biomassen ændrer sig over tid, efterhånden som de fedtholdige strukturer går i opløsning. Biomassen vil derfor generelt være lavere, når prøverne fikseres med alkohol allerede i felten og dermed oftest henstår i alkohol i længere tid. I tidsserier, hvor der er anvendt både formalin og ethanol som konservering, vil man derfor ofte finde lidt lavere biomasser i de data, der repræsenterer alkoholfiksering.

Fragmenter af dyr skal kun tælles som individer, hvis deres hoveder er med (polychaeter og krebsdyr) eller hængsler med påhæftet stykker væv eller intakt umbo (muslinger), hvis centrum (madreporen) er med for søpindsvin og skiven for slangestjerner. Bagender og andet skal medregnes i biomassen for den pågældende art. Hvis der kun findes en bagende for den pågældende art, skal observationen indgå med en biomasse og en abundans på 0.

Visse orme (eksempelvis *Phoronis*, *Pygospio*, *Owenia* og *Galathowenia*) er oftest yderst vanskelige at trække ud af deres rør. Disses biomasse bestemmes ved at veje den del af røret, hvori ormen ligger. Det angives, om biomassen er "inkl. rør".

Der henvises til Hansen & Josefson (2004), hvor værdifulde 'tips and tricks' kan læses som supplement til denne tekniske anvisning, særligt for de brugere der ikke har specialistviden om indsamling af blødbundsfauna.

3 Databehandling

En udførlig beskrivelse af databehandlingen findes i den datatekniske anvisning knyttet til denne tekniske anvisning.

4 Kvalitetssikring

4.1 Kvalitetssikring af metode

Kvalitetssikring af bundfaunaanalyser baserer sig på anbefalingerne fra HELCOM og OSPAR-COM (OSPAR 1997). OSPARCOM fremhæver en række kritiske QA-(Quality Assurance)faktorer på forskellige niveauer af undersøgelserne. Som det fremgår af bilag 6.2, er det mange steder i prøveindsamlingen, prøvebearbejdningen og databehandlingen, at der kan opstå fejlkilder.

I forbindelse med laboratoriarbejdet er det vigtigt, at man tilstræber, at det er de samme personer, der forestår udsortering af prøver. Det skal altid være en og samme person, der skal være ansvarlig for artsidentifikation på alle prøver på en station (dvs. delprøver fra en punktstation og fra et stationsområde) det pågældende år.

Erfaringsmæssigt viser det sig, at skift af personale kan give anledning til forskellig analyse af resultaterne. Det er vigtigt, at man sikrer et overlap, så nye personer får en grundig oplæring, og at sortering af prøver kontrolleres af erfarent personale i starten. For yderligere at højne kvaliteten er det af stor vigtighed, at personer, der medvirker i overvågningen af blødbundsfaunaen, mødes med jævne mellemrum for at tolke indsamlede resultater samt diskutere og verificere artskenndskab.

Herudover anbefales det:

- jævnligt at foretage gensortering af en del af de indsamlede prøver, hvor en sigterest undergår en gentagen udsortering af en anden person.
- at der opbygges en lokal referencesamling af alle indsamlede arter samt en billede-referencesamling, så det senere er muligt at kontrollere tvivlsomme artsbestemmelser.

4.2 Kvalitetssikring af data og dataaflevering

For en udførlig beskrivelse af datakvalitetssikring og dataaflevering henvises til den tilhørende datatekniske anvisning.

5 Referencer

Borja, A., Franco, J. & Perez, V. 2003: A marine biotic index to different impact sources affecting soft-bottom benthic communities along European coasts. *Marine Pollution Bulletin* 46: 835-845.

Borja, A, Josefson, A.B., Miles, A., Muxika, I., Olsgaard, F., Phillips, G., Rodríguez, J.G. & Rygg, B. 2007: An approach to the intercalibration of benthic ecological status assessment in the North Atlantic eco-region, according to the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin* 55: 42-52.

Hansen, J.L.S. & Fossing, H. 2015: Undersøgelse af vægttab ved alkoholkonservering af bundfauna. Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi, 24 s. -Teknisk rapport nr. 71.

Hansen, J.L.S & Josefson, A.B. 2004: NOVANA Teknisk anvisning for marin overvågning. 4.1 Blødbundsfauna, 28 s.

Josefson, A.B., Blomkvist, M., Hansen, J.L.S., Rosenberg, R. & Rygg, B. 2009: Assessment of marine benthic quality change in gradients of disturbance: comparison of multi-metric indices. - *Marine Pollution Bulletin* 58: 1263-1277.

Magurran, A.E. 2004: *Measuring biological diversity*, Blackwell Publishing.

OSPAR 1997: JAMP Eutrophication Monitoring Guidelines: Benthos. OSPAR Commission Monitoring Guidelines 1997-6.

6 Bilag

6.1 Bestemmelseslitteratur

Bamber, R. N. 2010: Sea-Spiders (Pycnogonida) of the north-east Atlantic. *Synopses of the British Fauna (New Series)*, 5 (Second Edition): 1-249.

Bondesen, P. 1975: Danske havsnegle – Natur og Museum. Naturhistorisk Museum, Århus. 16, 3-4: 1-30.

Bondesen, P. 1984: Danske havmuslinger - Natur og Museum. Naturhistorisk Museum, Århus. 23, 2: 1-31.

Bondesen, P. 1994: Danske havsnegle – Natur og Museum. Naturhistorisk Museum, Århus. 33, 2: 1-31.

Carlgren, O. 1945: Polypper (Coelenterata) III, Koraldyr. *Danmarks Fauna*, 51: 1-168.

Christensen, J.M., Larsen, S., Nyström, B. O. 1978: Havmuslinger. *Gyldendals grønne håndbøger*. Gyldendalske Boghandel, Nordisk Forlag, A/S København: 1-125.

Christiansen, M.E. 1969: Crustacea Decapoda Brachyura. *Marine Invertebrates of Scandinavia*, 2, Scandinavian University Books: 1-143.

Enckell, P.H. 1980: Kräftdjur. AiO Tryk as, Odense: 1-685.

Graham, A. 1971: British prosobranch and other operculate gastropod molluscs – *Synopses of the British Fauna (New Series)*. 2: 1-662.

Hartmann-Schröder, G., 1971: Annelida, Borstenwürmer, Polychaeta. *Die Tierwelt Deutschlands* 58: 1-594.

Hayward, P.J. & Ryland J.S (Eds.) 1990: *The marine fauna of the British Isles and North-West Europe*. Clarendon Press, Oxford: 1-996.

Ingle, R. ., Christiansen, M.E. 2004: Lobsters, Mud Shrimps and Anomuran Crabs. *Synopses of the British Fauna (New Series)*, 55: 1-271.

Jensen, A.S. & Spärck, R. 1934: Bløddyr II, Saltvandsmuslinger - *Danmarks Fauna* 40: 1-208.

Jones, A.M., Baxter, J.M. 1937: Molluscs: Caudofoveata, Solenogastres, Polyplacophora and Scaphopoda. *Synopses of the British Fauna (New Series)*, 37: 1-123.

Jones, N.S. 1976: British Cumaceans, Arthropoda: Crustacea. *Synopses of the British Fauna (New Series)*, 7: 1-66.

Kirkegaard, J.B. 1992: Havbørsteorme I. *Danmarks Fauna* 83: 1-416.

Kirkegaard, J.B. 1996: Havbørsteorme II. *Danmarks Fauna* 86: 1-451.

- Kramp, P.L. 1935: Polypdyr (Coelenterata) I. Ferskvandspolypper og goplepolypper. Danmarks Fauna 41: 1-207.
- Køie, M., Kristiansen, Aa. & Weitemeyer, S. 2000: Havets dyr og planter. Gads Forlag, København: 1-351.
- Laubitz D.R. 1972. The caprellidae (Crustacea, Amphipoda) of Atlantic and Arctic Canada. National Museums of Canada, Publications in Biological Oceanography 4: 1-82.
- Lincoln, Roger J. 1979: British marine amphipoda: Gammaridea. - London: British Museum: 1-657.
- Lützen, J.G. 1967: Sækdyr. Danmarks Fauna 75: 1-267.
- Madsen, F.J. & Hansen, B. 1994: Echinodermata Holothurioidea. – Marine Invertebrates of Scandinavia Number 9. Scandinavian University Press: 1-141.
- Manuel, R.L. 1988: British Anthozoa (Coelenterata: Octocorallia & Hexacorallina) – Synopses of the British Fauna (New Series) 18: 1-241.
- Marcus, E.M. 1940: Mosdyr (Bryozoa eller Polyzoa). Danmarks Fauna 46: 1-401.
- Millar, R.H. 1966: Tunicata, Ascidiacea. Marine Invertebrates of Scandinavia Number 1, Scandinavian University Books: 1-123.
- Mortensen, T. 1924: Pighude (Echinodermer). Danmarks Fauna 27: 1-274.
- Muus, B.J. 1959: Skallus, Søtænder, Blæksprutter. Danmarks Fauna 65: 1-239.
- Naylor, E. 1972: British Marine Isopods. Synopses of the British Fauna (New series), 3: 1-90.
- Sars, G.O. 1895: An account of the Crustacea of Norway, 1, Amphipoda: 1-711, 248 plates.
- Sars, G. O., 1900: An account of the Crustacea of Norway, 3, Cumacea: 1-115, 72 plates.
- Schellenberg, A. 1942: Krebstiere oder Crustacea IV: Flohkrebse oder Amphipoda. Die Tierwelt Deutschlands, 40: 1-252
- Southward, A.J. 2008: Barnacles. Synopses of the British Fauna (New Series), 57: 1-140, 3 plates.
- Southward, E.C. & Campbell, A.C. 2006: Echinoderms. Synopses of the British Fauna (New Series), 56: 1-272.
- Stephensen, K. 1910: Storkrebs. I. Skjoldkrebs. Danmarks Fauna 9: 1-193.
- Stephensen, K. 1928: Storkrebs. II. Ringkrebse. 1. Tanglopper (Amfipoder). Danmarks Fauna 32: 1-399.
- Stephensen, K. 1933: Havedderkopper (Pycnogonida) og Rankefødder (Cirripedia). Danmarks Fauna 38: 1-158.

Stephensen, K. 1948: Storkrebs. IV. Ringrebs. 3. Tanglus (marine isopoder) og tanaider. Danmarks Fauna 53: 1-187.

Tebble, N. 1976: British bivalve seashells, a handbook for identification – Her Majesty's Stationary Office. Edinburgh: 1-212.

Thompson, T.E. & Brown, G.H. 1976: British opisthobranch molluscs. Mollusca: Gastropoda. Synopses of the British Fauna (New Series), 8: 1-203.

Wesenberg-Lund, E., 1939: Pølseorme (Gephyrea). Sipunculider, Priapulider, Echiurider. Danmarks Fauna 45: 1-58.

Ziegelmeier, E. 1957: Die Muscheln (Bivalvia) der deutschen Meeresgebiete. Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen, 6, 1: 1-51.

Ziegelmeier, E., 1966: Die Schnecken (Gastropoda Prosobranchia) der deutschen Meeresgebiete und brackigen Küstengewässer. Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen, 13: 1-61.

6.2 Faktorer i kvalitetssikring

Table 6.1. OSPARCOMs liste over væsentlige kvalitetssikringsfaktorer. Listen er en fri oversættelse af en liste, som er præsenteret som Annex 10 i: Report of the ICES/Ospar Steering Group on Quality Assurance of Biological Measurements related to Eutrophication Effects (SIME (2) 97/3/1-E).

	Kritiske QA-faktorer	QA-procedurer
Indsamling af prøver	Variabel indsamlingseffektivitet afhængig af prøvetagningsudstyr og håndtering. Sigtetype, sigteprocedurer, specielt spulevandstryk.	Sammenligninger af udstyr til søs. Vedtagne minimumsstørrelser af prøvevolumen og kvalitet. Sammenligninger af metoder for prøvehåndtering i felten. Anbefalinger af 'bedste' metode.
Prøveopbejldning	Sorteringseffektivitet. Erfaring i artsbestemmelse. Præcision i biomassebestemmelse.	Uafhængig kontrol af sortering og artsbestemmelse (indenhus eller ekstern). Taksonomisk workshop. Tilgang til opdaterede taksonomiske bestemmelseslitteratur. Standardiserede taksonomiske lister. Ring tests (artsbestemmelse, optælling og biomasse). Lister over biomasse konverteringsfaktorer.
Databehandling	Inkonsistent håndtering af usikre bestemmelse. Afrundingsfejl i forskellige computerprogrammer. Fejl i forbindelse med dataoverførsel.	Standardprocedurer for gruppering/udelukkelse af arter. Sammenligninger af analytiske dataudskrifter af et standard datasæt.

7 Oversigt over versionsændringer

Version	Dato	Emne	Ændring
1	03.02.2014		
2	18.06.2019	Afsnit 2.3.1 - Antal prøver ved brug af smørstikke/kajakrør	Ændret til hhv. 72 og 78.
		Afsnit 2.3.2 - Ethanolkonservering	Opbevaringstid ændret fra 1 til 3 mdr.
		Afsnit 2.3.2 - Afslutning af oparbejdning	Ændret fra 6 til 12 mdr.
		Afsnit 3 - Databehandling	Beskrivelse flyttet til datateknisk anvisning.
		Afsnit 4.1 - Kvalitetssikring	Tilføjelse: Det skal altid være samme person, der skal være ansvarlig for artsidentifikationen på alle prøver på en station det pågældende år.