



# Utvärdering av provruta vid inventering av stormusslor

**Titel:** Utvärdering av provruta vid inventering av stormusslor.

**Utgiven av:** Länsstyrelsen i Södermanlands län

**Utgivningsår:** 2019

**Kontaktperson:** Helena Herngren

**Författare:** Carin Kullberg, Ursula Zinko, Claes Vernerback och Peter Ljungberg

**Foto:** Peter Ljungberg

**Diariernr:** 511-6749-2017

**Rapportnr:** 2017:8

**ISSN-nr:** 1400-0792

Rapporten finns på:

[www.lansstyrelsen.se/sodermanland/publikationer](http://www.lansstyrelsen.se/sodermanland/publikationer)

Eller kan beställas hos

Länsstyrelsen i Södermanlands län

611 86 Nyköping

Tel: 010-223 40 00

## Förord

Tjockskalig målarmussla är en hotad och sällsynt sötvattnsstormussla, som finns i vissa åar i sydöstra Sverige. Musslan sitter nedgrävd i botten av ån och lever av små partiklar som den filtrerar ut från vattnet som passerar. Ibland hittas musslan i större åar i nedre delar av avrinningsområden, där åarna rinner genom finkorniga jordarter. Här är ofta vattnet grumligt och åarna djupa. För att kunna inventera och övervaka dessa musselpopulationer behövs en annan inventerings- och övervakningsmetodik tas fram, som är bättre anpassad för djupa och grumliga förhållanden.

Länsstyrelsen i Södermanlands län har i samverkan med Havs- och Vattenmyndigheten (HaV) genomfört en metodutvecklingsstudie för att utvärdera provruta som en alternativ inventerings- och övervakningsmetodik. För uppdraget sattes en referensgrupp ihop, vilken har bidragit med kunskap och granskning av metodutvecklingsarbetet. I referensgruppen ingick Jakob Bergengren (då Havs- och vattenmyndigheten och Länsstyrelsen i Jönköpings län, numera Tekniska Verken), Niklas Wengström (Sportfiskarna och Göteborgs universitet) samt undertecknad, Helena Hergren. För genomförande av inventering samt utvärdering har två konsulter upphandlats, Aquacom och Ecogain. För statistiska analyser anlätades även företaget CKG Beräkning och Bild.

Rapporten visar att provruta kan användas som kompletterande metodik vid övervakning av musslor. Artfördelning och storleksklasser uppskattas bättre med provrutor än med nuvarande övervaknings metodik. Utvärderingen visar dock att populationsstorlek eller musseltäthet inte kan beräknas med en statistiskt användbar säkerhet. Detta beror på att musslorna inte sitter jämt spridda i vattendraget, utan samlas på platser där det är lämpligt habitat. Metoden kan däremot användas till att utvärdera musselpopulationen och eventuella förändringar mellan olika inventeringstillfällen.

Vi ser stora fördelar med att använda provrutsinventering i djupa och grumliga vatten samt när flera stormusselararter förekommer i samma vattendrag, och föreslår därför att provrutsinventering blir en del av undersökningstypen för övervakning av stormusslor.

**Helena Hergren**

Åtgärdsprogram för hotade arter

Länsstyrelsen i Södermanlands län



# Utvärdering av provruta vid inventering av stormusslor

## Sammanfattning

Vid en provrutsinventering där en ram på 1 x 1 m används och musslor plockas upp och räknas återfinns betydligt fler musslor per ruta än med en översiktlig, visuell inventering. Det finns inget enkelt statistiskt samband som gör att värden från en visuell inventering kan räknas om till motsvarande värden vid en provruteinventering. Trots att man finner fler musslor kan populationsstorlek eller musseltäthet inte beräknas med en statistiskt användbar säkerhet, på grund av den mycket stora variationen mellan rutorna.

För att utvärdera musselpopulationen och eventuella förändringar mellan olika inventeringstillfällen måste flera, mer indirekta mått sammanvägas:

- Icke-parametriska test kan visa om det finns skillnader mellan vattendrag och eller inventeringstillfällen, men inte ange hur stora skillnaderna är.
- Medeltäthet och därav beräknad populationsstorlek ger visserligen mycket osäkra mått, men ger ändå en grov skattning av läget.
- Storleksfördelning av musslorna kan användas för att bedöma föryngring av beståndet.
- Fördelningen mellan olika arter kan illustreras med enkla diagram och tabeller, vilket förtydligar resultaten.
- Hur musslorna fördelar sig över en lokal varierar. En stark aggregation kan indikera att endast en mindre del av lokalen uppfyller de miljökrav respektive art har.

**Provrutorna** placeras slumpvis över lokalens hela area, för att sedan kunna göra statistiska analyser. Antalet provrutor per lokal bör vara detsamma vid varje inventeringstillfälle. Den övre gränsen för antal provrutor som kan inventeras per dag bedöms vara 15. Eftersom populationstätheten oftast är ganska låg, med många tomma provrutor, och fler än en lokal behöver hinna inventeras under en arbetsdag bör 15 provrutor per lokal användas.

**Lokalens area** bör bestämmas noggrant, eftersom den är avgörande för bedömning av populationsstorlek. Arean måste bestämmas vid varje inventeringstillfälle, eftersom olika vattenstånd etc. kan påverka den faktiska area där musslor kan finnas. Däremot behöver inte olika lokaler vara lika stora.

# Innehåll

Sammanfattning.....	4
<b>1 Inledning.....</b>	<b>6</b>
1.1 Syfte .....	6
1.2 Bakgrund .....	6
1.3 Frågeställningar.....	7
1.4 Referensgrupp.....	7
<b>2 Metoder.....</b>	<b>8</b>
2.1 Dataunderlag .....	8
2.2 Inventeringsmetodik.....	8
2.3 Beräkning av tidsåtgång.....	9
<b>3 Resultat och Diskussion .....</b>	<b>10</b>
3.1 Sammanfattning av statistik för stormusselinventering .....	10
3.2 Tidsåtgång.....	12
<b>4 Utvärdering av resultaten och förslag till ny metodik.....</b>	<b>13</b>
4.1 Förslag på avgränsning av delsträckor och lokaler .....	13
<b>5 Slutsats.....</b>	<b>15</b>
<b>6 Referenser .....</b>	<b>16</b>
<b>Bilaga 1– Utslumpning av provrutor .....</b>	<b>18</b>
<b>Bilaga 2– Statistisk bakgrund för inventering av stormusslor med provrutor .....</b>	<b>19</b>
Metodjämförelse .....	19
Täthet och populationsstorlek.....	20
Dispersionsindex – Mått på grad av aggregering.....	23
Stickprovsstorlek och förväntad förändring.....	25
Långsiktiga trender i populationsstorlek.....	27
Storleksfördelning av musslor.....	28
Artfördelning av musslor .....	31

# 1 Inledning

## 1.1 Syfte

Syftet med denna rapport är att undersöka om inventering med provruta skulle kunna bli ett komplement till nuvarande övervakningsmetodik "Undersökningstyp: Stormusslor. HaV, Version 2016-11-01", nedan kallat "nuvarande övervakningsmetodik". Inventering med provruta underlättar inventeringen i djupa, breda och grumliga vattendrag. Metodiken kan även vara lämplig om flera musselarter sitter blandade. Därför görs nedan en jämförelse mellan inventeringsresultat från nuvarande övervakningsmetodik och inventering med provruta. Nedan presenteras tester av fem olika frågeställningar som är av betydelse för utvärderingen och utveckling av provruta som en ny övervakningsmetodik.

## 1.2 Bakgrund

Länsstyrelsen i Södermanlands län har fått i uppdrag av Havs- och vattenmyndigheten (HaV) att utveckla och utvärdera en kompletterande metodik för övervakning av stormusslor. Metoden baseras på inventering av provrutor och tas fram främst för djupa och grumliga vatten samt för vattendrag med blandartsbestånd. Metoden ska ingå i Handbok för miljöövervakning - Undersökningstyp Stormusslor.

Nuvarande övervakningsmetodik av stormusslor med fasta övervakningssträckor där samtliga musslor ska räknas men inte tas upp, är svår att tillämpa när lokalerna är djupa och/eller när det är hög grumlighet i vattnet. Det är exempelvis svårt att räkna alla musslor när sikten är mindre än 2 dm eftersom det är lätt att tappa bort sig i det grumliga vattnet, särskilt när vattendjupet är större än 1,5 m. Metodiken innebär även problem när musselbeståndet består av en blandning av olika arter. Musslorna sitter ofta djupt nedgrävda i botten och säker artbestämning kan endast göras när musslorna lyfts upp från substratet. Artfördelningen blir därför en grov skattning utifrån det stickprov som tas upp- eller nedströms övervakningslokalen. I djupa och grumliga vattendrag behöver dessutom dykare anlitas, vilket är kostnadskrävande. Dessa vattendrag är ofta strömmande vilket försvårar inventering med dykare, då det är svårt att hålla positionen i strömt vatten. Djupa vattendrag är ofta även breda, inte sällan upp till 10-talet meter i bredd, vilket gör att även en kort lokal kan få en väldigt stor undersökningsarea. En inventeringslokal kan därför både ta lång tid och kräva stor ansträngning, vilket motiverar framtagandet av en mer kostnadseffektiv metodik.

Vid inventeringar där alla musslor tagits upp längs en sträcka, exempelvis inför biotopvårdande åtgärder (Ljungberg 2015 b), har det visat sig att musslor ofta sitter i kluster med flera individer under varandra och därmed inte synliga vid en visuell skattning. Inventering med utslumpade provrutor (0,25 m<sup>2</sup> eller 1 m<sup>2</sup>), där alla musslor inom rutan räknas och tas upp för artbestämning, skulle kunna vara en kompletterande metod för djupa och grumliga förhållanden samt i vatten med blandartsbestånd. Metoden har tidigare testats vid flera inventeringar (Svensson m.fl. 2015, Ljungberg 2016, Ljungberg & Svensson 2016) men ingen jämförelse mellan metoder har gjorts. Detta utvecklingsprojekt har därför haft fokus på att jämföra den nuvarande övervakningsmetodiken, med

inventering med provruta, både gällande inventeringsresultat och tidsåtgång (kostnad) för att ge underlag till ny kompletterande metodik.

## 1.3 Frågeställningar

Frågeställningar kopplade till metodutvärderingen var:

- **Metodjämförelse**  
Hur skiljer sig antalet musslor som kan räknas visuellt inom en provruta jämfört med när man letar igenom och plockar upp musslorna? Med nuvarande metodik ska inventeringslokaler endast genomsökas visuellt. Dock är det troligt att musslor sitter i kluster och att alla individer inte är synliga enbart med visuell undersökning.
- **Täthet**  
Möjlighet till beräkning av skillnader i täthet mellan olika vattendrag eller år med provrutemetoden. Vi tar också upp frågan om hur pass aggregerat musslorna sitter och visar på möjligheter att få ett mått på detta.
- **Stickprovsstorlek och förväntad förändring**  
Hur många provtagningspunkter behövs för att få ett bra underlag för statistiska analyser? Med underlag från faktiska tätheter beräknas hur stort sampel som behövs för att detektera en viss populationsförändring.
- **Förändring mellan storleksklasser fraktioner**  
Hur kan man göra statistiska beräkningar av förändringar mellan storleksklasser hos musselpopulationer?
- **Tidsåtgång**  
Hur skiljer sig tidsåtgången vid inventering med de två olika metoderna?
- **Lokal och provrutor**  
Hur bör avgränsning av lokal och slumpvis urval av provrutor gå till?

## 1.4 Referensgrupp

Inventeringsmetodiken har arbetats fram av en referensgrupp bestående av sakkunniga inom stormusselinventering. Referensgruppen bestod av: Jakob Bergengren (då HaV och Länsstyrelsen i Jönköpings län, numera Tekniska verken), Niklas Wengström (Sportfiskarna), Helena Herngren (Länsstyrelsen i Södermanlands län) och Peter Ljungberg (Aquacom). Inventeringar genomfördes 2016 av Peter Ljungberg med kollegor för att testa metodiken. Hösten 2018 fick Ecogain i uppdrag att slutföra denna rapport. Den statistiska bearbetningen och analysen av data från tidigare genomförda inventeringar har gjorts av Carin Kullberg (CKG Beräkning och Bild). Sammanställning och textbearbetning av rapport har gjorts av Ursula Zinko och Claes Vernerback (Ecogain). Bristanalys har gjorts av Carin K, Ursula Z och Claes V.

## 2 Metoder

### 2.1 Dataunderlag

Vid jämförelse mellan nuvarande övervakningsmetod och inventering med provruta användes data från inventering på två lokaler i Södermanlands län, Sibro ned dämnet i Nyköpingsån och Stora Lida i Kilaån.

För beräkning av täthet, grad av aggregering användes data från inventeringar som utfördes 2016 just för att utveckla inventeringsmetodik baserat på provrutor. Inventeringen gjordes på befintliga övervakningslokaler som ingår i det nationella övervakningsprogrammet (NMÖ) i Södermanlands län i följande vattensystem: Ålbergaån, Vedaån och Nyköpingsån (Sibro). Även data från en NMÖ-lokal i Gårdvedaån i Kalmar län användes i beräkningarna (Ljungberg opubl, **Tabell 1**. De lokaler som ingick i undersökningen, antalet provrutor per lokal samt lokalens längd, bredd och area.). Dessa totalt 8 lokaler kallas nedan provrutsinventeringen.

**Tabell 1.** De lokaler som ingick i undersökningen, antalet provrutor per lokal samt lokalens längd, bredd och area.

Vattendrag	Lokal	Antal provrutor	Längd (m)	Bredd (m)	Area (m <sup>2</sup> )
Vedaån	Vedaån ned E4	31	300	2,5	750
Vedaån	Vedaån upp E4	10	350	3,5	1225
Nyköpingsån	Sibro ned dämnet	15	100	20,5	2050
Nyköpingsån	Sibro upp dämnet	15	50	21	1050
Kilaån	Golfbanan Åby	5	75	7	525
Kilaån	Stora Lida	15	200	5,5	1100
Kilaån	Ålbergaån	40	1300	4	5200
Gårdvedaån	Upp bron	15	130	7,5	975

Eftersom musseltätheten var mycket låg för flera arter i de ovan nämnda 8 lokalerna, kompletterades materialet med data från rutininventerade lokaler i Södermanlands, Östergötlands och Örebros län från år 2017 (Wengström & Ljungberg 2018). Detta utökade dataunderlag användes för beräkning av aggregering av olika arter och beräkning av stickprovsstorlek. Totalt ingick 381 provrutor, fördelade på 27 lokaler och 15 vattendrag.

Urvalet av lokaler är inriktat mot lokaler som antas ha en hög mångfald och/eller förekomst av hotade arter, framför allt tjockskalig målarmussla, *Unio crassus*. Av de 2626 musslor som registrerades vid metodiklokalerna var 1196, 46%, tjockskalig målarmussla. Eftersom olika arter måste förväntas ha olika miljökrav kan urvalet ha stor betydelse för t ex artsammansättning och populationstäthet vid lokalerna.

### 2.2 Inventeringsmetodik

För att jämföra resultat från inventeringsmetoderna 1) nuvarande övervakningsmetodik (HaV 2016) och 2) inventering med provruta lades provrutor ut på lokaler som där inventering enligt nuvarande övervakningsmetodik ändå skulle genomföras. Inventeringen genomförde Peter Ljungberg med dykteam. I de provrutor som lades ut räknades först alla synliga musslor i en provruta på 1 x 1 m enligt nuvarande övervakningsmetodik. Därefter arbetades provrutan genom noggrant, musslor plockades upp, sediment "viftades" bort och rutan gick igen igen varpå eventuella nya musslor plockades upp. Det sker ingen grävning med händerna i provytan, utan alla musslor som hittades



okulärt plockades upp. För jämförelse av metoderna gjordes denna typ av inventering på två lokaler i Södermanlands län, Sibro ned dämnet i Nyköpingsån och Stora Lida i Kilaån.

Övriga inventeringar med provyta gjordes på motsvarande sätt om ovan beskrivet för inventering med provruta för jämförelse mellan inventeringsmetoderna.

## 2.3 Beräkning av tidsåtgång

För att ge en indikation på hur tidsåtgången kan påverkas beroende på metodik som används sammanställdes hur lång tid undersökningen av en lokal tog beroende på om den inventerades med rutor eller som avgränsad sträcka. Underlaget ger inga exakta tider då de extrapolerats från hur många lokaler som hanns med under en arbetsdag. Vidare måste även transporter, ställtider och lunch/rast vägas in i den totala tidsåtgången, men underlaget ger en uppskattning om hur lång tid det tar att inventera en lokal respektive en ruta.

## 3 Resultat och Diskussion

### 3.1 Sammanfattning av statistik för stormusselinventering

Vid en provrutsinventering återfinns betydligt fler musslor per ruta än med en översiktlig, visuell inventering. Det finns inget enkelt statistiskt samband som gör att värden från en visuell inventering kan räknas om till motsvarande värden vid en provruteinventering. Trots att man finner fler musslor kan populationsstorlek eller musseltäthet inte beräknas med en statistiskt användbar säkerhet, på grund av den mycket stora variationen mellan rutorna.

För att utvärdera musselpopulationen och eventuella förändringar mellan olika inventeringstillfällen måste flera, mer indirekta mått sammanvägas:

- Icke-parametriska test kan visa om det finns skillnader mellan vattendrag och eller inventeringstillfällen, men inte ange hur stora skillnaderna är.
- Medeltäthet därav beräknad populationsstorlek ger visserligen mycket osäkra mått, men ger ändå en grov skattning av läget.
- Storleksfördelning av musslorna kan användas för att bedöma föryngring av beståndet.
- Fördelningen mellan olika arter kan lätt illustreras med enkla diagram och tabeller, vilket förtydligar resultaten.
- Hur musslorna fördelar sig över en lokal varierar. En stark aggregation kan indikera att endast en mindre del av lokalen uppfyller de miljökrav respektive art har.

#### Provrutornas fördelning

Provrutorna placeras slumpvis över lokalens hela area, för att sedan kunna göra statistiska analyser (Bilaga 1 ). Antalet provrutor per lokal bör vara detsamma vid varje inventeringstillfälle. Den övre gränsen för antal provrutor som kan inventeras per dag bedöms vara 15. Eftersom populationstätheten oftast är ganska låg, med många tomma provrutor, behövs ett relativt stort antal rutor för att få en relevant överblick av lokalens status. Samtidigt behöver fler än en lokal hinna inventeras per dag på grund av begränsade resurser. Därför bör 15 provrutor per lokal användas, vilket dock är av praktiska och inte statistiska skäl.

#### Lokalens area

Lokalens area bör bestämmas noggrant, eftersom den är avgörande för bedömning av populationsstorlek. Arean måste bestämmas vid varje inventeringstillfälle, eftersom olika vattenstånd kan påverka den faktiska area där musslor kan finnas. Däremot behöver inte olika lokaler vara lika stora.

#### Populationstäthet

Populationstäthet beräknas som medelvärdet för de 15 provrutorna per lokal. Datamaterialet visar att musslor inte finns jämnt spridda över hela lokalens yta, utan är i olika grad samlade på mindre områden, så kallad aggregerad förekomst. Det gör att antal musslor per provruta inte är normalfördelat. Därmed kan inte de vanliga metoderna för att beräkna konfidensintervall eller

parametriska test som t-test eller ANOVA användas. Eftersom antalet musslor varierar så mycket mellan olika provrutor är beräkning av konfidensintervall meningslösa för enskilda lokaler eftersom de blir mycket vida. De kommer så gott som alltid att stäcka sig från 0 till dubbla eller flerdubbla medelvärdet.

#### Populationsstorlek

Populationsstorlek för lokalen beräknas som populationstätheten  $\times$  lokalens area. För att kunna statistiskt säkerställa en förändring med 20% i populationsstorlek krävs data från ca 600 rutor för att nå 95% säkerhet. Det är alltså i praktiken omöjligt, till och med för stora vattendrag.

Icke-parametriska test som Mann-Whitney kan användas för att göra parvisa jämförelser av populationstäthet och -storlek mellan till exempel olika vattendrag eller två inventeringstillfällen. Däremot bör inte ANOVA-liknande test, såsom Kruskal-Wallis, användas för att jämföra tre eller flera inventeringstillfällen för att till exempel visa på en trend, eftersom de inte kan kompensera för autokorrelation, alltså att populationens storlek vid en inventering också påverkar populationsstorleken vid en eller flera följande inventeringar.

#### Storleksfördelning

Förändringar kan däremot påvisas på andra sätt. Musslornas längd kan användas som ett ungefärligt mått på deras ålder. Genom att analysera längdskillnader mellan populationer och inventeringstillfällen kan man få en viss uppfattning om demografiska förändringar, till exempel om andelen juvenila musslor förändras.

Inte ens mussellängder är normalfördelade, så icke-parametriska test är att föredra, som till exempel Mann-Whitney för parvisa jämförelser och Kruskal-Wallis för jämförelser mellan olika lokaler eller liknande. Komplettera gärna med Box-plottar för att tydliggöra resultaten.

Om längdmåtten delas in i storleksklasser, till exempel juvenila ( $<30$  mm) och adulta ( $\geq 30$  mm), kan  $\chi^2$ -test användas för att utvärdera korstabeller<sup>1</sup>. Det går även att använda fler än två storleksklasser, till exempel juvenila ( $<30$  mm) mellanstora (30-49 mm) och gamla ( $\geq 50$  mm). Med hjälp av dessa klasser kan man utvärdera förändringar i storlek, till exempel om andelen små musslor ökat, vilket tyder på att populationen föryngras, eller om de stora musslorna försvunnit. Båda dessa fall gör ju att medellängden (och medianen) sjunker, men det kan vara viktigt att kunna skilja på orsaken, vilket man inte kan göra utifrån till exempel ett Mann-Whitney-test

Man bör inte dela upp musslorna i allt för många klasser, eller jämföra för många lokaler samtidigt, för då blir antalet musslor i varje klass för litet och testet ogiltigt. Vanliga statistikprogram varnar dock om så sker.

En speciell form av  $\chi^2$ -test är Cochran's  $\chi^2$ -test för linjär trend. Det används för att analysera förändringar i en variabel som bara har två värden, till exempel juvenil/adult, i förhållande till en variabel som har en klar rangordning mellan alternativen, till exempel grumlighet eller årtal.

---

<sup>1</sup> En korstabell är en tabell som redovisar frekvenser i ett datamaterial som har delats in i två eller flera grupper.

## Trendanalys

Trendanalys, dvs långtidsuppföljning av inventeringarna, är komplicerat och kräver både stora datamaterial och avancerad programvara för att vara tillförlitlig. Därför bör sådana analyser helst utföras av en gemensam instans, kanske en nationell datavärd med kvalificerad personal. De långa tidsintervallen, 3 - 6 år, som anges i nuvarande övervakningsmetodik gör dock att den statistiska osäkerheten blir mycket stor, och därmed är värdet av trendanalyser oklart.

## Övrigt

Till sist några mer generella råd. Använd riktiga statistik-program för att utvärdera inventeringar. Gör aldrig sådana test i kalkylbladsprogram som Microsoft Excel eller OpenOffice Calc. Dels kan alla data i ett kalkylblad lätt förstöras av till exempel en oförsiktig sortering av en kolumn istället för en tabell. Dessutom har kalkylbladen ofta märklig hantering av siffran 0, saknade värden med mera, vilket kan få oanade konsekvenser. De begränsade statistiska funktioner som finns är dessutom mycket svåra att anpassa för att ge den slags analys man verkligen vill ha. Men för att "mellanlagra" inventeringsdata fungerar de förstås bra.

En genomgång av de rådata som utgjort underlag för denna rapport visar också på vikten av att kunna kontrollera och understödja datakvalitet vid insamling av data. Inventeringarna registrerar data i fem nivåer; vattendrag, lokal, provruta, art och individ. Förväxlingar av namn mellan lokaler och vattendrag, summeringar av antal som förts till fel art etc är så gott som oundvikliga utan ett stödsystem. Enkla, användarvänliga databaser ger mycket bättre datakvalitet. Även i kalkylblad som Excel finns vissa funktioner för dataverifiering som kan underlätta, men de är mer svåränvända. Dessa filer för dataverifiering kan även innehålla vissa rapportfunktioner, som t ex sammanfattar insamlade data i tabeller och diagram.

En mer utförlig genomgång av olika statistiska analyser, med exempel från de inventeringar som legat till grund för denna rapport finns i bilaga 2 "Statistisk bakgrund för inventering av stormusslor med provrutor".

## 3.2 Tidsåtgång

Att inventera en provruta tar i snitt mellan 10 och 15 minuter, trots att inventeringen innebär att samla in alla musslor i rutan och plocka upp dem. För att inventera en lokal med nuvarande övervakningsmetod, där alla musslor räknas och stickprov tas upp utanför lokalen, är inventeringstiden i snitt 1,5 h. Jämförelsevis tar en lokal som inventeras med provrutor längre tid om man ser till ren inventeringstid. Dock är tanken med provrutsmetodiken att en lokal är betydligt längre och således täcker in en längre åsträcka. Extrapolerat till hur många lokaler som kan inventeras per dag beroende på metod som används blir det 2 till 3 lokaler per dag, vardera innehållandes 15 rutor, med provrutsinventering, medan antalet är 3 till 4 lokaler med den befintliga metoden.

## 4 Utvärdering av resultaten och förslag till ny metodik

Resultaten från denna undersökning visar att provruta kan användas som kompletterande metodik vid övervakning av musslor. Med provrutor uppskattas fördelning av arter och storleksklasser och därmed föryngring bättre jämfört med nuvarande övervaknings metodik. Tidsåtgången är jämförbar med den nuvarande övervakningsmetodik.

En svaghet med metodiken ” *Undersökningstyp: Stormusslor. HaV, Version 2016-11-01* ” är att lokalerna är korta, 3-20 meter. Enligt metodiken ska samma provlokal återbesökas vid återinventering. I vattendrag i mer låglänt terräng med finkorniga jordarter sker en ständig förändring och förflyttning av material genom erosion och deposition. Ett område som vid ena tillfället hyst många musslor kan vid nästa återbesök ha genomgått stora förändringar i habitatet med resultat att musslorna flyttat och sitter strax utanför provlokalen. En å har även ofta flera olika typer av habitat längs olika delar, till exempel höljor och grundare partier, vilka kan ha olika förutsättningar för musselförekomst. Vid övervakning av musslor i en å med sådana förhållanden bör därför många olika miljöer täckas in i övervakningen. Vi föreslår därför att lokalernas längd ökas till mellan 100 och 1000 meter när inventering sker med provruta.

### 4.1 Förslag på avgränsning av delsträckor och lokaler

Vi föreslår att vattendraget först delas in i delsträckor. Vattendragets längd och storlek avgör antalet delsträckor. Delsträckorna kan med fördel avgränsas där förändring sker i vattenmiljön och/eller närmiljön, exempelvis där omgivningen övergår från skog till åker eller vid ett dämme. Eftersom jordart i omgivande mark och bottenstrukturer ofta är korrelerat till markanvändning kan förhållandena för musslor ändras om vattendraget exempelvis går från skog till öppen mark. Likaså får man ofta betrakta musselpopulationer på var sida om ett dämme som separata populationer, om inte fungerande omlöp finns.

Om vattendraget är kort kan hela vattendragets längd utgöra en eller flera delsträckor, vilka då i sin helhet utgör en provlokal. Om vattendraget däremot är långt med långa delsträckor kan lokaler avgränsas inom en delsträcka. En lokal bör vara 100–1000 meter, och aldrig kortare än 50 meter. Provrutsinventering kan även användas vid inventering i sjömiljöer. Då avgränsas istället ytor som provtagningslokaler.

När lokalen har avgränsats ska 15 provrutor slumpas ut. Lämpligen genomförs utslumpningen i enlighet med Strayer & Smith (2003) - enkel slumpad sampling (Simple random sampling). Metoden innebär att rutorna slumpas ut inom lokalens avgränsning, med begränsningen att de inte överlappar varandra. Vid återinventering av lokal används övre och nedre avgränsning, varpå nya rutor slumpas ut enligt samma metodik. Beskrivning av hur slumpningen går till visas i exemplet nedan.

Inventeringen börjar vid lokalen och provrutan som ligger längst nedströms och fortsätter uppåt. Efter att lokalens nedre startpunkt identifierats påbörjas musselundersökningen. Provrutan läggs ut enligt den utslumpade planen och musslorna inom rutan plockas upp, artbestäms och längdmäts. Om inventeringsmetodik används för övervakning av vandrarmussla, eller annan art som sitter fast på underlaget, ska musslorna ej plockas upp utan endast räknas.

Vi föreslår att musselförekomsten, med artbestämning och längdmätning, kompletteras med uppgifter om djup, bottenstrukt, detritus och död ved för varje provruta. Detta ger goda möjligheter att analysera och att prediktera vilken typ av botten som är lämpliga för en art inom ett vattendrag.

Vid inventeringen används med fördel en provruta i metall där rutans tyngd håller den på plats. En repförsedd boj knyts fast på rutan, detta för att undvika att inventeraren inte hittar tillbaka till rutan om hen går upp till ytan. Markeringen med boj hjälper även dykledare/landbaserad personal att ha översyn över inventerarens placering i vattnet.

Vid höga musseltätheter (mer än 100 individer/m<sup>2</sup>) kan rutans storlek behöva minskas för att effektivisera inventeringen. Rutan kan då krympas till 0,25m<sup>2</sup> (0,5 m \* 0,5 m). Rutan ska standardiseras läggas i till exempel övre högra hörnet av den utslumpade 1 m<sup>2</sup> rutan. Om den kvadranten markant avviker för att det till exempel ligger en låga eller ett block över den kvadranten, flyttas den mindre rutan motsols till nästa representativa kvadrant. Innan detta tas med i som en standard i undersökningstypen behöver kontroll göras vad det innebär för jämförelse med artfördelning. Om vissa musselarter sitter mindre aggregerat än andra kan en mindre provruta leda till bias.

Resultatet från samtliga rutor och lokaler i vattendraget eller sjön ger tillsammans underlag för att beräkna populationsstorlek, bedöma rekryteringen/andelen unga musslor och skyddsvärdet för populationen.

## 5 Slutsats

Vi föreslår att inventering med provruta blir en kompletterande standardiserad metodik för övervakning av stormusslor.

Anledningarna till detta är en avgränsad yta som 1 m<sup>2</sup> är behövs vid följande tillfällen:

- Vid blandartbestånd behöver musslor plockas upp för att identifiera vilken art varje mussla är
- I djupa och/eller grumliga vatten behöver musslor plockas upp för att identifiera vilken art varje mussla är.
- För att bedöma storleksklasser och därmed föryngring behöver musslor plockas upp.

### **Ytterligare undersökningar**

Vid höga musseltätheter kan även en provyta på 1 m<sup>2</sup> innehålla alltför många musslor för att kunna mäta alla av ren resursbrist. Vi föreslår att provytan då kan minskas till 0,25 m<sup>2</sup>. Kompletterande undersökning behövs för att jämföra om någon art riskerar att bli över- respektive underrepresenterad vid minskad provyta eller beroende på var i ett vattendrag, provytan ligger. Vissa musselarter har en tendens att sitta mer på kanten än andra.

## 6 Referenser

- Artdatabanken. 2015. *Rödlistade arter i Sverige 2015*. Artdatabanken, SLU, Uppsala.
- Bergengren, J. 2008. *Metodstudie: Dykning och fotografering/filmning med undervattenskamera – ett komplement till undersökningstypen: övervakning av stormusslor*. Länsstyrelsen i Jönköpings län. Publ. nr. 2008:12.
- Bergengren, J., von Proschwitz, T. & Lundberg, S. 2010. *Undersökningstyp: Övervakning av stormusslor*. Naturvårdsverket. Handbok för miljöövervakning.
- Bimali M., Usset J, Fridley BL. 2015. RSPS: RNA-Seq Power Simulation. R package version 1.0. <https://CRAN.R-project.org/package=RSPS>
- Bland, J.M. & Altman, D.G. 1986. *Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement*. The Lancet 327, nr 8476: 307–10.
- Bogaart P., van der Loo M. & Pannekoek J. 2018. Package 'rtrim'. rtrim: Trends and Indices for Monitoring Data. R package version 2.0.6. <https://CRAN.R-project.org/package=rtrim>
- Dransfield R, Brightwell R. 2013. Avoid and detect statistical malpractice: Design and analysis for biologists, with R [Hyperbook]. InfluentialPoints. <http://influentialpoints.com>
- HaV 2016. Undersökningstyp: Stormusslor. Version 1:3: 2016-11-01. Havs- och vattenmyndigheten.
- Krebs C.J. 1999. *Ecological Methodology*. 2nd ed. Benjamin/Cummings.
- Ljungberg, P. 2012. *Inventering av stormusslor på djupa lokaler inom Örebro län 2012*. Länsstyrelsen i Örebro län. Publ. nr. 2012:36.
- Ljungberg, P. 2016 a. *Översiktsinventering stormusslor Södermanlands län 2015*. Länsstyrelsen i Södermanlands Län. *In press*.
- Ljungberg, P. 2016 b. *Stormusselinventering Uc4life+ i Södermanlands län 2013 och 2015*. Länsstyrelsen i Södermanlands Län. *In press*.
- Ljungberg, P. Opubl. *Stormusslor i Södermanlands län och Kalmar län 2016 - Inventering med provruta med fokus på djupa och grumliga lokaler*. Länsstyrelsen i Södermanlands län.
- Ljungberg, P. & Svensson, M. 2012. *Miljöövervakning av tjockskalig målarmussla, Inventering av övervakningslokaler 2010-2011*. Länsstyrelsen i Södermanlands Län. Publ. nr. 2012:13.
- Ljungberg, P. & Svensson, P. 2016. *Stormusselinventering i Mörrumsån 2015*. Länsstyrelsen i Blekinge län. Publ. nr. 2016:04.
- Pannekoek J. & van Strien A. 2005. *TRIM 3 Manual (TRends & Indices for Monitoring data)*. Statistics.
- R Core Team. 2018. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Siegel S. & Castellan N.J.J. 1988. *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. 2nd ed. McGraw-Hill International Editions.



Svensson, M., Dahl, J., & Östberg, H. 2015. Stormusslor i Helge å – en dykinventering. Biosfärkontoret Kristianstads Vattenrike. Rapport 2015:03.

Vävare, S. 2006. Undersökningstyp: "Lokalbeskrivning" Version 1:6. 2006-04-26 - Naturvårdsverket. Handbok för miljöövervakning: Programområde: Sötvatten.

Wengström, N. & Ljungberg, P. 2018. Dykinventering av stormusslor 2017 - En översiktlig dykinventering i Södermanlands-, Östergötlands och Örebro län. Länsstyrelsen i Södermanlands län. Publ. nr. 2018:9.



## Bilaga 2 – Statistisk bakgrund för inventering av stormusslor med provrutor

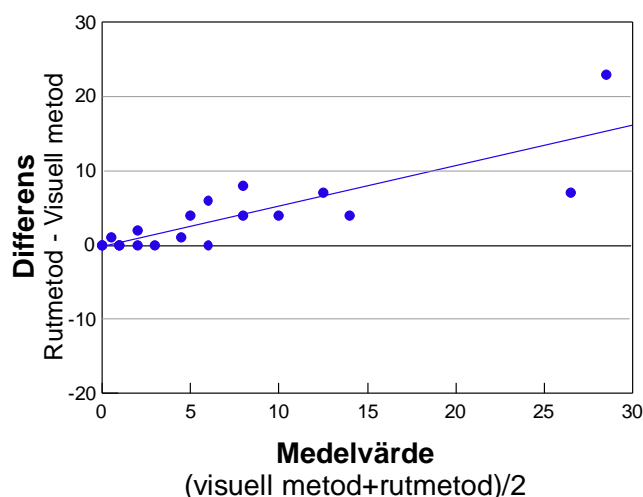
### Metodjämförelse

Enligt metodiken för "Undersökningstyp: Stormusslor. HaV, Version 2016-11-01" uppskattas tätheten utifrån antalet musslor som återfinns vid en okulär inspektion av lokalen.

Vid två lokaler, Sibro ned dämmet (Nyköpingsån) och i Stora Lida (Kilaån), gjordes en metodjämförelse. I totalt 19 rutor räknades först antalet synliga musslor, och sedan undersöktes rutorna med provrutemetodik.

Skillnaden mellan metoderna kan tydliggöras med hjälp av en Bland-Altman-graf (Bland, 1986). I Figur 1 visas hur mycket metoderna skiljer sig åt i relation till medelvärdet för respektive ruta. I detta fall ser man att differensen alltid är större eller lika med noll, det vill säga rutmetoden ger konsekvent samma eller högre värde än den visuella, vilket också är logiskt. Vid lågt antal musslor per ruta överensstämmer metoderna någorlunda, men ju fler musslor, desto större blir skillnaden mellan metoderna. Mätvärdena sprider sig dock ganska mycket kring en regressionslinje, vilket tydliggör att det inte går att använda resultat från den visuella uppskattningen för att räkna fram ett rimligt motsvarande värde för rutininventering.

Den visuella metoden underskattar kraftigt och systematiskt antalet musslor vid högre tätheter och vid kraftig aggregation av musslor. Tyvärr bygger jämförelsen på bara 19 rutor och jämförelser för täta bestånd saknas. Det finns dock ingen anledning att tro att metoderna skulle överensstämma bättre vid högre täthet, snarare tvärt om. Man kan också anta att den sk. visuella metoden i större utsträckning underskattar antalet små musslor.



Figur 1. Bland-Altman-graf. X-axeln visar medelvärdet för skattningarna med respektive metod, och Y-axeln skillnaden i skattning mellan metoderna för respektive provpunkt. Om rutan inte innehåller några musslor ger givetvis båda metoderna värdet 0, men ju fler musslor det finns i en ruta desto större andel av musslorna förblir oupptäckta om man bara använder den visuella metoden.

Slutsats:

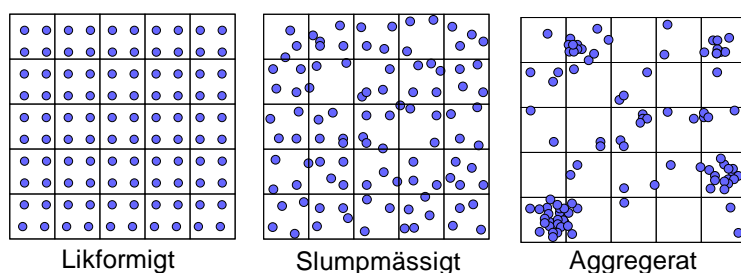
- Den visuella metoden underskattar systematiskt antalet musslor vid högre tätheter och vid kraftig aggregation av musslor.

## Täthet och populationsstorlek

Beräkningarna i detta avsnitt baseras på data från de totalt 8 lokalerna i Vedaån, Nyköpingssån, Kilaån och Gårdvedaån som inventerades 2016 (Tabell 1).

Eftersom populationsstorlek räknas ut genom att multiplicera lokalens area med den uppskattade populationstätheten diskuteras i huvudsak populationstäthet nedan.

Musslorna fördelar sig inte jämnt över inventeringslokalerna, utan sitter ofta i större eller mindre grupper, omgivna av områden helt utan eller med bara ett fåtal musslor (**figur 2**). Att fördelningen av individer är aggregerad betyder inte nödvändigtvis att själva den studerade organismen sitter i kluster, men att den är ojämnt fördelat över det studerade området. Om det beror på dess levnadssätt, på miljöfaktorer eller andra faktorer kan vara intressant ur ekologisk synvinkel, men orsaken är av mindre betydelse för den statistiska hanteringen.



**Figur 2.** Samma antal musslor kan vara fördelade på olika sätt. Då de sitter aggregerade, det vill säga många tillsammans, kan många provrutur ha mycket låg täthet, medan det i några rutur finns ett stort antal individer.

Ett statistiskt tecken på att populationer är aggregerade, är att variansen är större än medelvärdet för antal musslor per ruta. Det innebär också att det *inte* är en normalfördelad variabel. Vattendragen i provruturinventeringen har samtliga större varians än medelvärde (Tabell 2).

**Tabell 2.** Antal rutur och antal musslor per ruta (alla arter tillsammans). Medelvärde och varians beräknade enligt aritmetisk metod, det vill säga variansen är inte korrigerad för negativ binomialfördelning.

		Vedaån	Kilaån	Nyköpingsån	Gårdvedaån
Antal musslor/m <sup>2</sup>	Min	0	0	0	14
	Max	71	31	45	408
	Median	3	2,5	6	119
	Medelvärde	10,9	5,6	9,2	140,6
	Varians	276,4	63,0	126,4	9909,3
Antal rutur		41	60	30	15

Ofta följer aggregerade populationsvärden negativ binomialfördelning (nedan kallat NB). Den karakteriseras av att den är tydligt skev, med fler mycket höga värden än vad som kunde förväntas om värdena hade varit normalfördelade. Det stora antalet rutor utan eller med enstaka musslor gör också att olika slags transformeringar av data inte går att tillämpa för att få normalfördelade värden.

Icke-parametriska test kan användas för att analysera icke normalfördelade data. Dock baseras Mann-Whitney-test, Kruskal-Wallis-test med flera på rankning av värden, vilket innebär att alla rutor med samma antal musslor får samma rank. I de flesta vattendrag både i underlaget för denna rapport och vid rutininventeringarna i Södermanlands, Östergötlands och Örebros län 2017 är musseltätheten ganska låg, vilket ger många tomma rutor, eller rutor med bara enstaka musslor. Därmed får många rutor samma rankingsvärde och resultatet av testen kommer därför att avgöras huvudsakligen av de få höga värdena. Därför kommer rankingsbaserade test att vara ganska okänsliga för skillnader i populationer med låg täthet och stark aggregering.

För att få en bättre uppskattning av glesa, aggregerade populationers storlek används ibland så kallad anpassad kluster-metodik (eng: *adaptive cluster sampling*). Då lottas först ett antal stickprov, det vill säga provrutor från lokalen. När man finner minst en individ i en ruta kontrolleras även de 4 angränsade rutorna. Finner man då fler exemplar fortsätter man tills hela klustret kartlagts. Metoden finns utförligt beskriven i Krebs (1999). De inventeringar som utgjort underlaget för denna rapport har dock visat så stor variation i populationstäthet att metoden inte kan vara ett förstahandsval. Den kan vara av intresse om man vill undersöka vissa arter med låg täthet med större noggrannhet.

Distributionstest visar att data från de fyra inventerade vattendragen 2016 (Ljungberg opublicerad) kan beskrivas med hjälp av negativ binomialfördelning, NB. Medelvärdet för ett antal stickprov påverkas inte av val av statistisk fördelning. Däremot påverkar distributionen av värden beräkning av varians, och därmed standardavvikelse och konfidensintervall (CI). Variansen för NB beror på antal stickprov, medelvärde och k-värdet. Parametern k kallas i en del statistikprogram för "size" eller "shape" och är ett mått på graden av aggregering. Det finns dock flera sätt att beskriva NB matematiskt, vilket kan vara förvirrande.

Att beräkna exakta konfidensintervall för NB kräver speciell statistikprogramvara, såsom R. Flera approximativa metoder finns, men även de är svårhanterliga, kräver oftast ett mycket stort antal stickprov och kan ofta inte hantera data med många noll-värden. I praktiken kommer man inte att kunna inventera så många provpunkter vid varje lokal att det är meningsfullt att beräkna konfidensintervall för täthet eller populationsstorlek. Se vidare under rubriken "*Stickprovantal och förväntad förändring*" nedan.

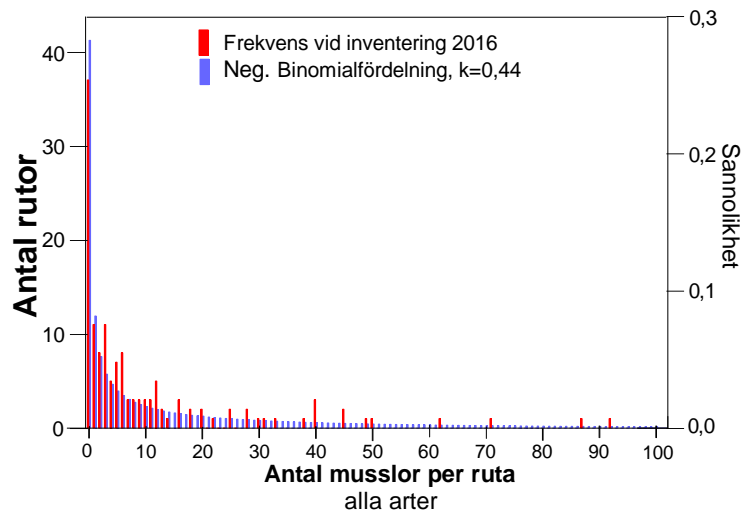
De flesta av de vattendrag som ingått i underlaget har relativt låg populationstäthet. Gårdvedaån utgör det stora undantaget, med extremt hög täthet. Som ett exempel på hur antal musslor/ruta varierar kan data från de tre vattendragen Kilaån, Vedaån och Nyköpingsån användas (Tabell 3). De har alla ungefär samma täthet, och data har därför slagits samman för att få ett lite större statistiskt underlag. Exemplet baseras på totalt antal musslor per ruta, dvs alla arter tillsammans. Vid inventeringar kommer man förstås snarare att göra motsvarande beräkningar för enskilda vattendrag, och för enskilda arter. Just för dessa tre vattendrag var nästan två tredjedelar av

musslorna tjockskalig målarmussla (691 av 1059 musslor, 65%), och därför borde det fungera som ett ganska verklighetsnära räkneexempel.

**Tabell 3.** Frekvenstabell för totalt antal musslor per ruta i Kilaån, Vedaån och Nyköpingsån. Hela 28% av rutorna var helt tomma. Trots att medelvärdet är ca 8, innehöll 7 rutor 40 eller fler musslor.

Musslor per ruta	Antal rutor	% av alla rutor
0	37	28,244
1	11	8,397
2	8	6,107
3	11	8,397
4	5	3,817
5	7	5,344
6	8	6,107
7	3	2,29
8	3	2,29
9	3	2,29
10	3	2,29
11	3	2,29
12	5	3,817
13	2	1,527
16	3	2,29
18	2	1,527
20	2	1,527
22	1	0,763
25	2	1,527
28	2	1,527
30	1	0,763
31	1	0,763
33	1	0,763
40	3	2,29
45	2	1,527
49	1	0,763
71	1	0,763
<b>Totalt</b> 2316	<b>131</b>	<b>100,0</b>

Totalt inventerades 131 rutor i Kilaån, Vedaån och Nyköpingsån 2016. Hela 28% av rutorna var helt tomma. Trots att medelvärdet är ca 8, innehöll 7 rutor 40 eller fler musslor. Det innebär att musslorna ofta sitter många tillsammans på relativt små ytor. Kvoten mellan varians och medelvärde är också mycket hög (tabell 4), vilket tyder på aggregering, och att värdena därmed inte är normalfördelade. Frekvensdiagrammet, figur 3, visar att fördelningen av antalet musslor följer NB.



**Figur 3** Frekvensfördelning av totalt antal musslor/ruta i Kilaån, Vedaån och Nyköpingsån. Röda staplar visar antal rutor med ett visst antal musslor per ruta vid inventeringen. Blå staplar visar den teoretiska negativa binomialfördelningen. (Kolmogorov-Smirnov test =0,034, p= 0,998, vilket visar att det *inte* avviker från NB)

**Tabell 4** Antal undersökta rutor, samt min, max, medelvärde och varians för antal musslor/m<sup>2</sup>. Kvoten varians/medel är ett grovt mått på hur aggregerade musslorna är.

		Veda+Kila+Nyköping
Antal musslor/m <sup>2</sup>	Min	0
	Max	71
	Medel	8,09
	Varians	147,47
	Varians/Medel	18,22
Antal rutor		131

Slutsats:

- Antal musslor per provruta inte är normalfördelat. Därmed kan inte de vanliga metoderna för att beräkna konfidensintervall, eller test som t-test eller ANOVA användas.
- Att beräkna musseltäthet eller populationsstorlek från provrutor är i praktiken omöjligt. Att beräkna medelvärden är i och för sig möjligt, men den statistiska osäkerheten gör dem i stort sett meningslösa.
- Icke-parametriska test kan användas för att göra jämförelser av populationstäthet och -storlek mellan till exempel olika vattendrag eller två inventeringstillfällen.

## Dispersionsindex – Mått på grad av aggregering

Hur musslorna fördelar sig över en lokal varierar mycket. Arterna skiljer sig troligen i hur nära de vill vara sina artfränder. Men även olika miljöfaktorer kan påverka grad av aggregering. En stark aggregation kan tyda på att endast en mindre del av lokalen uppfyller de miljökrav respektive art har. Större förändringar kan därför indikera miljöförändringar som påverkar musselbeståndet.

### Mått på aggregering

Flera olika mått på grad av aggregering använd i litteraturen, och det är viktigt att notera att värdena för dessa olika dispersionsindex (eng: *Index of dispersion*) inte ger samma numeriska resultat, och därför inte är direkt jämförbara.

Det enklaste indexet att beräkna är kvoten mellan varians och medelvärde, men det är ett relativt okänt mått. På grund av sin enkelhet används det ändå ofta, och ett värde över 4 anses tyda på stark aggregering.

Flera index baseras på den negativa binomialfördelningen. En NB-fördelad population kan beskrivas av medelvärdet och parametern  $k$  (delvis jämförbart med normalfördelningens medelvärde och standardavvikelse). Värdet för  $k$  beskriver hur skev fördelningen är och är också ett mått på aggregering. Ju lägre  $k$ -värde desto större aggregering. Eftersom  $k$ -värdet är mycket mindre än 1 för aggregerade populationer brukar man ofta ange värdet  $1/k$  eller Lloyd's index of patchiness  $= 1 + (1/k)$ . Dessa båda index kan ses som ett mått på det antal "nära grannar" en individ har.

Om  $k$ -värdet används för att jämföra olika populationer krävs det att de bygger på samma antal stickprov och har samma populationstäthet (Dransfield 2013), vilket minskar dess användbarhet. Minst 50 stickprov, i detta fall provrutor, krävs för att beräkna ett tillförlitligt värde för ett dispersionsindex, och för kraftigt aggregerade populationer behövs omkring 200 stickprov (Krebs 1999).

### Artskillnader i aggregering – exempel från inventeringar

Graden av aggregering brukar variera mellan olika arter, och troligen gäller det även musselarterna. Eftersom flera arter var relativt ovanliga vid de 8 lokaler som ingick i provrutsinventeringen användes även data från de rutininventerade lokalerna år 2017 i Södermanlands, Östergötlands och Örebros län (Wengström & Ljungberg 2017) för att undersöka om det finns artskillnader i aggregering. Data från totalt 381 rutor användes.

Fördelningen av antal musslor av respektive art, liksom alla arter tillsammans följer NB-fördelningen väl (Kolmogorov-Smirnov-test för NB-distribution hade  $p$ -värden  $> 0,5$ , vilket visar att de *inte* avviker från NB).

Som framgår av tabell 5 varierar värdena för  $1/k$  mellan ca 6 och 20 för de olika arterna. Eftersom medelvärdet för antal musslor/ $m^2$  skiljer sig mellan arterna måste jämförelser av dispersionsindex mellan arterna tolkas med försiktighet. Att urvalet av lokaler har inriktats mot tjockskalig målarmussla gör också att lokalerna kan ha varit mindre passande för andra arter.

Att dispersionsindexen för alla arterna tillsammans är lägre än för respektive art kan bero på att alla arter visserligen är aggregerade, men att de inte följer samma mönster, till exempel för att de föredrar lite olika miljöer. Därmed blir det sammantagna mönstret mer utjämnat. Värdena för enskilda arter kan förstås inte tolkas som någon absolut sanning eftersom data kommer från många olika lokaler och många faktorer kan påverka grad av aggregering. Det ger ändå en fingervisning om att det kan finnas artskillnader



**Tabell 5.** Artspecifika värden för max, min och medelvärde, varians, samt två alternativa mått på aggregation.

U.c: Tjockskalig målarmussla, U.p: Åkta målarmussla, U.t: Spetsig målarmussla, P.c: Flat dammussla, A.a: Allmän dammussla, A.c: Större dammussla.

		U.c	U.t	U.p	P.c	A.a	A.c	Alla arter
Antal musslor	Min	0	0	0	0	0	0	0
	Max	163	200	62	7	18	10	408
	Antal av art	1497	3517	526	117	458	138	6253
	Medel	3,929	9,231	1,381	0,307	1,202	0,362	16,412
	Varians	207,098	528,631	38,484	0,892	7,751	1,316	1466,948
	1/k	11,9	7,9	19,6	7,1	6,1	9,4	3,8
	Varians/medel	52,7	57,3	27,9	2,9	6,4	3,6	89,4
Antal rutor		381	381	381	381	381	381	381

Slutsats:

- Dataunderlaget för denna rapport antyder att de 6 olika musselarterna alla sitter aggregat.
- Om grad av aggregering ska beräknas, bör det göras per vattendrag, eftersom det kräver ett ganska stort antal stickprov.

## Stickprovsstorlek och förväntad förändring

En viktig fråga är hur många provytor som behöver inventeras för att man ska kunna upptäcka en förändring i populationen. Detta beror på hur liten förändring man vill kunna upptäcka. Skillnader i populationsstorlek eller täthet kan förstås undersökas med icke-parametriska metoder, men de kan bara ange i vilken riktning skillnaden ligger. För att kunna mäta *hur stor* skillnaden är krävas parametriska metoder.

Som visats tidigare följer fördelningen av musslor negativ binomialfördelning, och beräkningar av antal stickprov (provrutor) som behövs för att belägga skillnader i populationsstorlek måste därför baseras på NB. Det innebär att stickprovsstorleken är beroende både av medeltätheten och hur aggregerad populationen är, dvs k-värdet. I analysen som redovisas i tabell 6 är dispersionsfaktorn (1/k) satt till 3. Stickprovsstorleken beräknades med hjälp av RSPS package, v1.0, för R.

$\alpha$ -fel (Typ I-fel): risken att få ett falskt positivt resultat, alltså att få ett signifikant resultat, trots att det inte finns någon "sann" skillnad ("falskt alarm").

$\beta$ -fel (Typ II-fel): risken att få ett falskt negativt resultat, alltså att missa en verklig skillnad för en slumpvariation.

Tabell 6 visar antal stickprov som behövs för att med 95 % respektive 90 % säkerhet ( $\alpha = 0,05$  respektive  $\alpha = 0,10$ ) belägga en förändring i populationsstorlek mellan 10 och 70 % i populationer med olika antal musslor/m<sup>2</sup>. Som ett komplement beräknades även stickprovsstorlek för  $\alpha = 0,10$  och  $\beta = 0,20$ .

**Tabell 6.** Antal stickprov som behövs för att med 95% ( $\alpha = 0,05$ ) respektive 90% ( $\alpha = 0,10$ ) säkerhet belägga en förändring i populationsstorlek mellan 10 och 70% vid olika populationstäthet, dvs antal musslor/m<sup>2</sup>. Värdena anges för ett  $\beta$ -fel = 90% respektive 80%.

Förväntad effektstorlek, % av medel	Antal/m <sup>2</sup> , medel	Antal stickprov		
		$\alpha = 0,05, \beta = 0,10$	$\alpha = 0,05, \beta = 0,20$	$\alpha = 0,10, \beta = 0,20$
70%	1	44	30	29
	5	27	19	18
	10	29	14	14
	25	29	18	15
	100	27	20	18
	200	25	19	16
50%	1	99	75	63
	5	71	56	43
	10	79	50	47
	25	75	56	53
	100	70	44	44
	200	60	50	37
30%	1	427	264	242
	5	292	186	186
	10	273	184	184
	25	238	221	185
	100	260	184	129
	200	256	210	160
20%	1	760	698	546
	5	627	466	450
	10	598	513	399
	25	538	380	332
	100	535	440	260
	200	574	365	352
10%	1	3528	2436	2105
	5	2662	1119	1448
	10	2552	1597	1313
	25	2458	1563	1275
	100	2223	1416	1315
	200	2525	1886	1341

Poweranalysen visar att för att statistiskt kunna belägga populationsförändringar krävs ett mycket stort antal stickprov. För att med 95% säkerhet belägga en skillnad på 20 % mellan två inventeringar i en population med i medeltal 10 musslor/m<sup>2</sup> skulle det krävas 500-600 provrutor.

Slutsatsen är att i praktiken kan inte förändringar i populationsstorlek eller täthet fastställas med 95% säkerhet för enskilda lokaler baserat på 15 stickprov. För att belägga en halvering av populationen behövs data från ett femtiotal stickprov. Med 15 provrutor per lokal krävs alltså data från minst fyra lokaler. Förändringar i populationsstorlek kan alltså bara analyseras för hela vattendrag, och under förutsättning att det finns tillräckligt många inventerade lokaler med 15 provrutor per lokal.

Problemet accentueras ytterligare om man dessutom försöker uppskatta populationsförändringar för enskilda arter, eftersom vissa arter uppträder mycket sparsamt i materialet. Dock bör man minnas att ett  $\alpha$ -fel på 5% inte är en naturlag som bestämmer vad som är sant eller falskt. Om  $p = 0,1$ , eller man använder ett 90% konfidensintervall för en differens, innebär det trots allt att det i 9 fall av 10 finns en verklig skillnad mellan grupperna.

Slutsats:

- Förändringar av populationsstorlek kräver ett mycket stort antal stickprov (provvrutor) för att kunna beläggas statistiskt. Större förändringar kan möjligen påvisas i större vattendrag, med många inventerade lokaler och rutor.

## Långsiktiga trender i populationsstorlek

Ett av de största problemen när man vill studera förändringar över tid är att mätdata oftast påverkas av autokorrelation. Det innebär att värdet från ett tillfälle påverkar värdet för nästa mätning, och ibland ännu längre fram. En stor population musslor år 1 innebär att det med stor sannolikhet kommer att finnas en stor population även år 2 och troligen även år 3. Det kan vara frestande att använda Kruskal-Wallis eller andra ANOVA-liknande test för att analysera skillnader i populationer mellan olika år. Detta bör man dock avstå från, eftersom dessa analysmetoder inte tar hänsyn till autokorrelation (Siegel, 1988).

Att ha långa inventeringsintervall kan också vara ett problem. Då riskeras drastiska förändringar inte fångas upp förrän många år efter att de har skett, vilket kan göra det svårt att tolka resultaten i nästa inventeringsomgång. Om inventeringsintervallet är 6 år och ett vattendrag nästan helt torkar ut en sommar på grund av torka, fångas denna händelse inte upp om torkan inte råkar infalla just ett år då inventering sker. Vid nästa inventering som kanske sker 4-5 år efter torkan kan det då vara svårt att veta vad som är orsaken till en mycket låg population. Det går inte att veta om musslorna verkligen slogs ut året det var kraftig torka eller om det har hänt något annat i vattendraget som har slagit ut musslorna.

Det finns särskild programvara för att följa populationstrender. De flesta system kräver dock att man registrerar minst ett värde per år för varje lokal, vilket gör dem olämpliga i detta sammanhang

TRIM (Pannekoek 2001, (Bogaart, 2018) är ett ofta använt programpaket för att följa populationstrender inom långsiktiga övervakningsprojekt för olika organismgrupper. Det är ett freeware-program, utvecklat av Wildlife statistics på Statistics Netherlands, den nederländska motsvarigheten till Statistiska Centralbyrån. TRIM är speciellt utformat för att beräkna trender och index för populationsutveckling, genom tidsserieanalyser av stora mängder inventeringsdata, och även hantera saknade observationer.

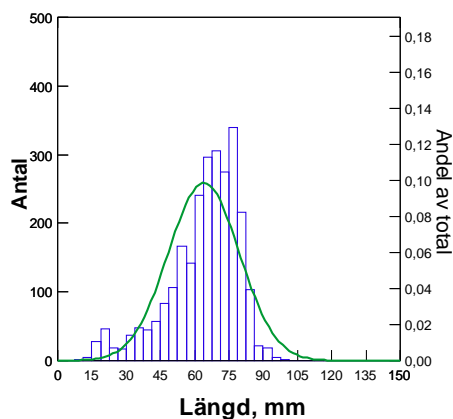
TRIM, eller liknande programvara, kan möjligen användas för att analysera dataserier från musselinventeringar, åtminstone om intervallen mellan inventeringarna är ganska korta. Även om programmet är relativt lätthanterligt krävs att det finns kontinuerlig tillgång på kompetent personal för att hantera inkommande data, göra analyser och återrapportera resultat. Man brukar inte börja analysera trender förrän tidigast efter 3 inventeringar gjorts på varje lokal. I detta fall, med inventeringsintervall på 3-6 år, skulle det innebära 6-12 år för enskilda lokaler och 9-18 år för alla relevanta lokaler inom till exempel ett län.

För att följa trender behöver inventeringsintervallen vara korta. Helst ska inventeringar göras varje år för att fånga upp förändringar. Torkan som drabbade Sverige sommaren 2018 och slog ut vissa populationer av musslor i några vattendrag fångas inte upp på samma sätt om inventering genomfördes 2017 och sedan 2023. Om de dessutom jämförs med lokaler som inventerats 2019 respektive 2025 blir resultaten förvirrande.

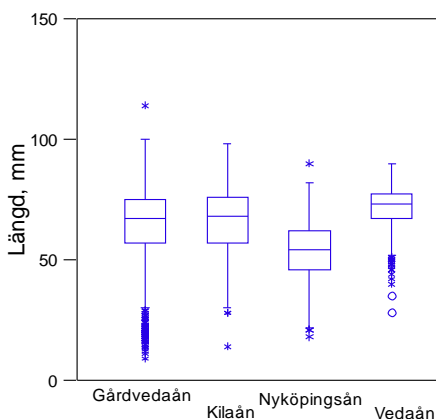
Som nämnts tidigare krävs också ett mycket stort antal stickprov för att statistiskt belägga förändringar i populationsstorlek. Även om det går att beräkna index etc. för enskilda län, och kanske en del större vattendrag, kan man inte förvänta sig att till exempel varje enskild länsstyrelse kan upprätthålla kompetensen att hantera detta slags analyser under så lång tid. Därför bör någon slags samverkan ske, och analysen av data skötas av någon myndighet eller annan institution, till exempel HaV eller SLU.

## Storleksfördelning av musslor

Stormusslornas längd är oftast inte normalfördelad. Beroende på åldersstruktur kan en population innehålla många små, unga musslor om populationen förnygrats, eller domineras av stora, äldre musslor om den inte kunnat föröka sig i någon större omfattning under de senare åren. På grund av svårigheterna att framför allt hitta mycket små musslor finns de allra minsta och därmed yngsta musslorna inte med i inventeringsresultaten.



**Figur 4.** Fördelning av längd på musslor i de fyra vattendragen, alla arter tillsammans. Den gröna linjen motsvarar normalfördelning.



**Figur 5.** Boxplot för fyra vattendrag som visar median, IQR (sträckningen på lådan som markerar den mittersta hälften av observationerna), extremvärden (stjärnor utanför linjen) och outliers (cirklar).

Figur 4 visar fördelning av längd vid inventeringen 2016. Fördelningen är tydligt och statistiskt signifikant skev och mer toppig än normalfördelningen (grön linje). Eftersom den inte är normalfördelad, och dessutom kan variera mellan olika platser, liksom den kan förändras mellan två

olika inventeringstillfällen, bör uttryck som medelvärde och standardavvikelse undvikas, liksom standardfel, konfidensintervall, och parametriska test, såsom t-test. Istället används icke-parametriska test av storleksmått, och redovisas tillsammans med median och kvartilavståndet (avståndet mellan första och tredje kvartilen, IQR).

Boxploten i figur 5 visar förutom median och IQR även extremvärden och outliers, det vill säga ovanligt stora respektive små musslor. Nyköpingsåns musslor är mindre än de andra vattendragens. Ett Kruskal-Wallis-test visar att det finns signifikanta skillnader mellan grupperna ( $p < 0,00001$ ).

En varning är dock nödvändig. Centralmått såsom medel eller median, med deras respektive spridningsmått, kan vara missvisande vid jämförelser mellan olika lokaler eller inventeringstillfällen, oavsett om de baseras på de faktiska värdena eller inbördes ranking. Om en population har 1 cm lägre medianvärde än en annan, betyder det att alla musslor i snitt är 1 cm mindre, eller att fler juvenila musslor tillkommit, eller kanske att de stora musslorna försvunnit? För att kunna beskriva denna typ av förändringar behöver man beskriva både hur antalet musslor varierar, och hur de fördelar sig över två eller flera storleksfraktioner.

Eftersom andel juvenila musslor är av särskilt intresse för att spegla föryngringen av en population kan enkla  $\chi^2$ -test (eng vanl: *Chi-square tests*) användas för att jämföra storleksfördelning och föryngring mellan populationer eller mellan inventeringstillfällen. Om musslornas längd registrerats i till exempel ett Excel-blad är det enkelt att beräkna olika storleksfraktioner. Enklaste varianten är att dela in musslorna i två grupper; juvenila (<30 mm långa) och adulta ( $\geq 30$  mm långa). Exempelvis varierade andel juvenila musslor vid 2016 års inventering mellan 0,2 % och 6,4 % (tabell 8).

**Tabell 7.** Andel juvenila musslor per lokal vid metodikinventeringen.

Vattendrag	Juvenil	Adult	Totalt	% Juvenil
Vedaån	1	447	448	0,2%
Kilaån	3	334	337	0,9%
Nyköpingsån	12	262	274	4,4%
Gårdvedaån	101	1466	1567	6,4%
Totalt	117	2509	2626	4,5%

Skillnader mellan två olika platser (eller två tidpunkter) kan undersökas med en korstabell (tabell 9).

**Tabell 8.** Korstabell för jämförelse av andel juvenila musslor mellan Vedaån och Nyköpingsån. Jämförelsen mellan Vedaån och Nyköpingsån har  $\chi^2$ -värdet 14,34,  $p > 0,0001$ .

Vattendrag	Juvenil	Adult	Totalt
Vedaån	1	447	448
Nyköpingsån	12	262	274
Totalt	13	709	722

Man kan även använda flera storleksklasser vid jämförelsen av vattendrag, till exempel för att även identifiera andelen stora musslor. Här har som förslag musslor  $\geq 80$  mm angetts som "stora". Tabell 10 visar att Nyköpingsån har en andel juvenila musslor nära medelvärdet för vattendragen, men en mycket liten andel stora musslor. Gårdvedaån har lite större andel juvenila musslor, men en markant större andel stora musslor än Nyköpingsån. Vedaån och Kilaån har båda en låg andel juvenila och en stor andel stora musslor.

**Tabell 9.** Jämförelse av andel musslor i 3 olika storleksklasser i fyra år. Pearson  $\chi^2$  för tabellen = 81,  $p < 0,001$ .

	< 30 mm Antal (andel)	30-79 mm Antal (andel)	>=80 mm Antal (andel)	Totalt antal
Gårdvedaån	101 (6,4%)	1273 (81,2%)	193 (12,3%)	1567
Kilaån	3 (0,9%)	277 (82,2%)	57 (16,9%)	337
Nyköpingsån	12 (4,4%)	257 (93,8%)	5 (1,8%)	274
Vedaån	1 (0,2%)	375 (83,7%)	72 (16,1%)	448
Totalt	117 (4,5%)	2182 (83,1%)	327 (12,5%)	2626

Man bör dock undvika att använda allt för många storleksklasser, eller jämföra många platser på detta sätt, eftersom  $\chi^2$ -beräkningar inte blir pålitliga om mer än 1/5 av rutorna i korstabellen har ett förväntat värde lägre än 5. Statistisk programvara brukar varna om så är fallet.

En speciell form av  $\chi^2$ -test,  $\chi^2$  för linjär trend, kan användas för att analysera förändringar i en variabel som bara har två värden, till exempel juvenil/adult, i förhållande till en ordinal<sup>2</sup> variabel, som alltså har en klar rangordning mellan alternativen. Det kan vara en miljövariabel som till exempel grumlighet eller årtal. Det lägsta värdet, till exempel första året, sätts som basvärde och övriga "exponeringsnivåer" jämförs med detta. I tabell 11 testas det linjära sambandet mellan grumlighet vid de 8 lokalerna i rapportunderlaget och fördelningen mellan juvenila och adulta musslor (inom parentes visas de förväntade värdena om fördelningen varit helt jämn).

**Tabell 10.** Jämförelse av andel musslor i 3 olika storleksklasser i fyra år. Cochran's Linear Trend  $\chi^2 = 38,2$ ,  $p < 0,00001$ .

	Klart	Grumligt	Mkt grumligt	Total
Adult	1728 (1759,0)	717 (688,9)	64 (61,1)	2509
Juvenil	113 (82,0)	4 (32,1)	0 (2,9)	117
Total	1841	721	64	2626

Det fanns alltså en signifikant trend att ökad grumlighet var associerad med lägre andel juveniler. I just detta fall bör man dock vara medveten om att det bara var en lokal (Golfbanan, Kilaån) som hade mycket grumligt vatten, och att andra faktorer kan ha inverkat på bristen på juvenila musslor.

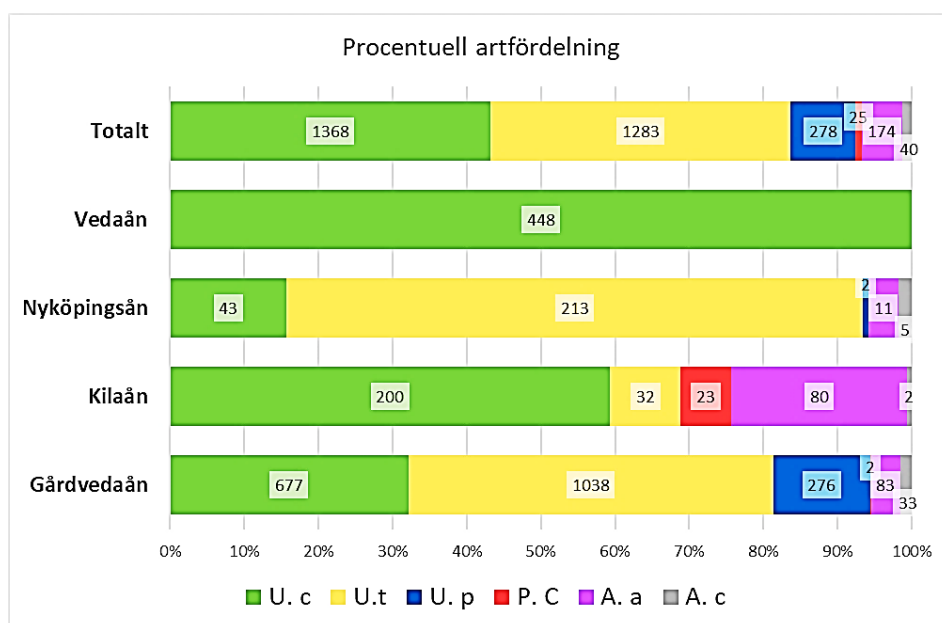
Slutsats:

- För att analysera förändringar i ålderssammansättning kan förändringar mellan olika storleksklasser jämföras mellan olika inventeringar.
- Olika slags  $\chi^2$ -test kan användas för att jämföra storleksfördelning och föryngring mellan populationer eller mellan inventeringstillfällen.
- $\chi^2$  för linjär trend, kan användas för att analysera förändringar i en variabel som bara har två värden, till exempel juvenil/adult i förhållande till en miljövariabel. Miljövariabeln måste ha en klar rangordning mellan alternativen, till exempel grumlighet i tre tydliga klasser.

<sup>2</sup> Data med en bestämd ordningsföljd, men stegen är inte (nödvändigtvis) av jämförbar storlek.

## Artfördelning av musslor

Om det är av intresse att kartlägga fördelning mellan olika arter vid inventeringslokalerna är det relativt enkelt att skapa summerande diagram eller tabeller för artsammansättning vid ett givet tillfälle, som i figur 6 och tabell 12.



**Figur 6.** Summerande diagram över artsammansättning per vattendrag. Siffrorna anger antal musslor av respektive art. U.c: Tjockskalig målarmussla, U.p: Äkta målarmussla, U.t: Spetsig målarmussla, P.c: Flat dammussla, A.a: Allmän dammussla, A.c: Större dammussla.

**Tabell 11.** Fördelning av adulta och juvenila individer av de olika arterna i de fyra undersökta åarna.

Vattendrag	Art	Adulta	Juvenila	Totalt	% juvenila
Gårdvedaån	A.a	57	0	57	0,0%
Gårdvedaån	A.c	25	1	26	3,8%
Gårdvedaån	P.c	2	0	2	0,0%
Gårdvedaån	U.c	431	74	505	14,7%
Gårdvedaån	U.p	205	4	209	1,9%
Gårdvedaån	U.t	746	22	768	2,9%
Kilaån	A.a	81	0	81	0,0%
Kilaån	A.c	3	0	3	0,0%
Kilaån	P.c	23	0	23	0,0%
Kilaån	U.c	195	3	198	1,5%
Kilaån	U.t	32	0	32	0,0%
Nyköpingsån	A.a	11	0	11	0,0%
Nyköpingsån	A.c	5	0	5	0,0%
Nyköpingsån	U.c	40	3	43	7,0%
Nyköpingsån	U.p	2	0	2	0,0%
Nyköpingsån	U.t	204	9	213	4,2%
Vedaån	U.c	447	1	448	0,2%

Slutsats:

- Enkla diagram och/eller tabeller över artfördelning och storleksfördelning kan tydliggöra resultaten, och lätt sammanställas från insamlade data.