

## Andra nordisk-baltiska interkalibreringen av kiselalgsanalys - 2009

Maria Kahlert, Inst. för Vatten & Miljö SLU, och Amelie Jarlman, Jarlman Konsult AB Lund

### Syfte

Syftet med denna kiselalgsinterkalibreringen 2009 var att fortsätta kvalitetssäkringsarbetet av artbestämningen och räkningen av kiselalgsskal från pilotstudien 2006 och den första nordisk-baltiska kiselalgsinterkalibreringen 2007, med fokus på i första hand Sverige och i andra hand de nordiska länderna. Även denna gång fick vi deltagare från de baltiska länderna och även Polen och Tyskland, eftersom inga liknande övningar anordnas där. 23 personer deltog i interkalibreringen – varav 10 från Sverige och 8 från Finland (Bilaga 1). Både SWEDAC (Svenska Styrelsen för Ackreditering och Teknisk Kontroll) och Naturvårdsverket ser positivt på denna verksamhet (kontaktpersoner: [liselotte.larsson@swedac.se](mailto:liselotte.larsson@swedac.se); [Annika.Norling@swedac.se](mailto:Annika.Norling@swedac.se), [Ulrika.Stensdotter@naturvardsverket.se](mailto:Ulrika.Stensdotter@naturvardsverket.se), [Mikaela.Gonczi@naturvardsverket.se](mailto:Mikaela.Gonczi@naturvardsverket.se)).

### Praktiskt genomförande av interkalibreringen

Under våren 2009 fick samtliga deltagare ett färdigt kiselalgspreparat samt tre kiselalgsprov från Sverige fixerade i etanol. Av de sistnämnda proven framställde deltagarna sina preparat själva. Detta var förändringar som vi beslutade om efter kiselalgsinterkalibreringen 2007, dels för att kontrollera preparatframställningen och dels för att spara arbete för arrangörerna. Alla preparat var obligatoriska att räkna. Kiselalgsanalysen utfördes enligt ”Påväxt i rinnande vatten – kiselalgsanalys”,Handledning för miljöövervakning: Sötvatten, Version 3:1: 2009-03-13 och SIS (2003) SS-EN 14407. Water quality - Guidance standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters (= Vattenundersökningar - Vägledning för identifiering och utvärdering av prover av bentiska kiselalger från vattendrag). En sammanställning av vattenkemiska data och dominerade kiselalgstaxa finns i Bilaga 3.

Var och en skrev in sina resultat i en standardiserad artlista och skickade denna till Maria Kahlert, som sammanställde resultaten, räknade ut index samt utvärderade resultaten enligt Kelly, M. (2001): Use of similarity measures for quality control of benthic diatom samples. Wat. Res. Vol. 35 (11), 2784-2788. Två auditorer (Amelie Jarlman och Bernt Sandell) användes denna gång som ”facit”, för att inkludera variationen mellan preparat. Resultaten redovisas i Bilaga 2. Båda auditorerna har lång erfarenhet av kiselalgsanalys och de använder sig av den svenska metoden, vilket inkluderar nyare bestämmingslitteratur som t.ex. ”Diatoms of Europe”. De arbetar praktiskt som konsulter inom miljöövervakningen och har därigenom insikt i praktiska problem inom fältet. Amelie Jarlman har dessutom erfarenhet av den europeiska interkalibreringsprocessen och framställer just nu tillsammans med Bart van de Vijver (kiselalgstaxonom från Belgien) en kiselalgstaxa för Sverige.

Ingen workshop hölls denna gång i anslutning till interkalibreringen. Istället diskuterades artlistor och identifiering individuellt per email mellan Amelie och deltagarna. På grund av den stora efterfrågan planeras dock ett möte i Finland under våren 2010 för att diskutera interkalibreringsresultaten och harmoniseringen, i samarbete med Satu-Maaria Karjalainen, SYKE, FIN. Vi planerar att där fortsätta diskussionerna om problematiska arter/varieteter och uppdatera tidigare sammanställda rekommendationer hur vi ska angripa dessa.

## Utvärdering av interkalibreringen

Utvärderingen enligt Kelly, M. (2001) baseras på en jämförelse av deltagarnas resultat med ett audit-resultat. Detta har beräknats som ett medelvärde mellan A. Jarlmans och B. Sandells resultat (auditorerna). Ett likhetsindex (Bray-Curtis similarity index, BC) beräknas (med PAST 1.97), och kan ligga mellan 0 och 100, där 100 betyder att de två jämförda proven är exakt likadant räknade. Ett värde av 100 är dock osannolikt, eftersom redan två olika preparat av samma prov avviker ungefär 5 % (Kahlert, Andren & Jarlman 2007). Enligt Kelly (2001) m.fl. anses två prov vara lika när BC är över 60. När provet har en mycket låg diversitet (diversitetsindexet Hill's N2 är under 3), måste BC vara minst 70 för att proven ska räknas som lika (Kelly 2001).

Innan uträkningen genomfördes gjordes en justering gällande taxon AMIN (*Achnanthes minutissima*) för att uppnå en rättvis jämförelse mellan deltagarna. Det finns tre olika varianter av denna grupp i den svenska artlistan: AMI1, AMI2 och AMI3. AMI1 har ett medelvärde för skalbredden under 2,2 µm och förekommer i mycket oligotrofa vatten. AMI3 har ett medelbredd över 2,8 µm och förekommer i eutrofa vattendrag. För AMI2 ligger medelbredden och förekomsten mellan dessa två. Enligt metodiken skall man mäta 10-20 skal och utgå från den beräknade genomsnittsbredden när man anger vilket taxon samtliga AMIN-skal tillhör. I prov 4 låg medelbredden nära gränsen mellan två grupper (AMI1/2), och därför räknades båda dessa som AMI2, vilket stämmer med auditorernas resultat och medelvärdet för alla deltagare. Några av deltagarna hade missförstått sättet att bestämma AMIN-gruppen. Alla gavs emellertid per e-post tillfälle att korrigera sina värden, och för de som gjorde detta ändrades värdena.

En annan justering, som gjordes innan uträkningen, var att slå ihop alla *Fragilaria capucina* grupper (med undantag av *Fragilaria capucina* var. *capucina* Desmazieres). Det var tydligt att deltagarna tolkat de fyra grupperna i den svenska artlistan olika. Förslaget att skilja ut dessa grupper är nytt och oprövat. Denna åtgärd hade framförallt betydelse för prov 4, där deltagarna efter sammanslagningen kunde jämföras mera rättvist.

Det gavs även tillfälle för alla deltagarna att före uträkningen klara upp eventuella andra missförstånd genom mejlkontakt med A. Jarlman.

Till följd av denna mejlkonversation gjordes några småjusteringar genom att vissa taxa slogs ihop (antalen räknade skal var få, så betydelsen av dessa justeringar var begränsad): *Gomphonema parvulum* var. *parvulum* och *G. parvulum* f. *saprophilum* slogs ihop till *Gomphonema parvulum*; *Gomphonema clavatum* s.l., *G. clavatum* s.str. och *G. montanum* slogs ihop till *Gomphonema clavatum* s.l.; *Gomphonema capitatum* slogs ihop med *G. truncatum*; *Pinnularia perirrorata* och *P. silvatica* slogs ihop till *P. cf. perirrorata*.

Diversiteten (Hill's N2) och antalet räknade arter för proverna i kiselalgsinterkalibreringen 2009 beräknades som medelvärdet av auditorernas resultat. Antalet räknade arter blir då högre än för bara en auditor, men diversiteten behöver inte påverkas, eftersom den visar hur jämn fördelningen är mellan de olika taxa. Även likheten mellan auditorerna beräknades (similarity index Bray-Curtis BC).

## Resultat

Resultaten av beräknade BC similarities visade ett par oförutsedda problem. För det första innehöll prov 1 en relativ hög andel *Eunotia formica* Ehrenberg (EFOR) (medelabundans auditorer:  $7,4 \pm 6,7$  %), en ganska stor kiselalg som förekommer i långa bandkolonier. Enstaka deltagare räknade mycket högre andel EFOR än auditorerna (upp till 70 %), men å andra sidan fanns det deltagare som inte hittade ett enda skal. Resultatet diskuterades mellan A. Jarlman och M. Kahlert. Vi hoppas att problemet inte beror på att vissa deltagare räknade mest stora alger och underskattade mindre taxa. Troligtvis beror skillnader i antalet EFOR mest på fel i prepareringsprocessen. Därför vill vi betona vikten av att noggrant följa prepareringsinstruktionerna, framförallt att säkerställa en fullständig uppslutning av råmaterialet och en homogen fördelning av provet genom hela processen. Eftersom provberedningen ingick i interkalibreringen borde alla deltagare ha ungefär samma andel EFOR och därför jämfördes BC-index för prov 1 där EFOR ingår. En uträkning av BC-index gjordes emellertid även utan att ta med EFOR (övriga taxa räknades då upp så att summan blev 100 %) och proverna räknades som lika om  $BC > 60$  % även utan EFOR.

Det andra problemet var förekomsten av *Diatoma problematica* Lange-Bertalot i prov 2 (medelabundans auditorer:  $2,6 \pm 0,5$  %). *D. problematica* finns inte med i den nödvändiga, utan bara i den rekommenderade litteraturen i den svenska litteraturlistan, och många deltagare hade därför svårt att identifiera detta taxon. För interkalibreringsresultatet slogs därför alla *Diatoma*-arter ihop till *Diatoma* sp. och BC beräknades utifrån detta.

Ett tredje problem visade sig vara den höga diversiteten i prov 2 (Hill's N2: 16,2). T.o.m. auditorerna hade endast ett BC av 66 % sinsemellan. Kelly (2001) har bara testat sambandet mellan BC och Hill's N2 upp till 12, och därför är det osäkert om 60 % som gräns för likartad kiselalgräkning kan användas i detta fall. Gränsvärdet för likhet sattes därför istället till BC 55 % pga. den höga diversiteten.

Sammanfattningsvis kan BC-uträkningen (Bilaga 2) tolkas på följande sätt: alla deltagare som vid jämförelse med auditorernas sammanvägda resultat nådde ett BC-index högre än 60 % i proverna 1 (exklusive EFOR), 3 och 4 samt 55 % i prov 2 kan antas använda sig av samma metod för kiselalgräkningen och -identifiering enligt Kelly (2001) (minimikrav). Deltagare som nådde ett resultat av  $\geq 59$  % (proverna 1, 3, 4) eller  $\geq 54$  % (prov 2) kan i detta fall också räknas in i denna grupp. Resultaten för deltagarna 3, 5, 6, 9, 13, 14, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25 kan alltså anses som replikater enligt Kelly (2001). Deltagare som hade ett BC-index högre än 60 % i samtliga prov 1-4, inklusive EFOR, hade en ännu högre grad av likhet mellan sina räkningar och auditorernas (högre krav).

Sju av de åtta svenska deltagarna (auditorerna borträknade) nådde minimikravet, enligt ovan, för att kunna anses att använda sig av samma metod och deras resultat av kiselalgräkningen och -identifieringen kan anses som replikater enligt Kelly (2001). Alla dessa deltagare klarar dessutom det högre kravet, nämligen att komma över BC 60 % i alla fyra proven, även om EFOR inkluderas. Deras resultat når en hög grad av likhet, även i det komplicerade prov 2.

Hälften av de finska deltagarna kan också räknas in i gruppen som använder den svenska kiselalgsmetoden på samma sätt som auditorerna, eftersom deras resultat nådde minimikravet. Även två av de resterade fem deltagarna från andra länder klarade minimikravet för att deras resultat skall kunna anses som replikater enligt Kelly (2001). Faktumet att de svenska deltagarna (förutom en) hade en högre grad av harmonisering sinsemellan beror troligtvis på att

många regelbundet träffar varandra, diskuterar och harmoniserar sitt sätt att hantera problematiska kiselalgstaxa. Men en av de svenska deltagarna har inte varit med på dessa möten utan hade istället tagit till sig våra rekommendationer och diskussioner från den förra kiselalgsinterkalibreringen 2007. Denna deltagare blev inte godkänd 2007, men blev det nu med god marginal. Detta visar att det är möjligt att nå en större harmonisering när kiselalgsexperter är villiga att komma överens och dra lärdom av diskussioner samt följer slutsatserna som tagits tillsammans. Även andra deltagare som hade flitig mejlkonversation med A.Jarlman och/eller M.Kahlert, och/eller tog till sig informationen om interkalibreringsresultat 2007 och de föreslag vi gjorde angående problematiska taxa där, hade en högre grad av jämförbarhet med auditorerna än de deltagarna som mest verkade följa sina invanda laboratorie- och kiselalgsidentifieringsrutiner. Därför är det fortfarande väldigt viktigt att ha regelbundna möten och diskussioner och på det viset säkerställa att resultat kan jämföras inom och mellan länderna.

Angående de deltagare som hade kiselalgsresultat som åtminstone i ett prov hade ett BC-index lägre än 54 % fanns det flera orsaker för detta. För de som även var med i interkalibreringen 2007 inklusive workshop var det anmärkningsvärt att några tydligen inte hade tagit till sig de rekommendationer vi kom fram till efter diskussioner under workshopen (se [www.norbaf.net](http://www.norbaf.net)). ”Nya” deltagare har kunnat ta del av informationen, eftersom hänvisningen till publikationen fanns med i inbjudan.

Ett problem, som även var med i interkalibreringen 2007 (prov 5), fanns 2009 i prov 3 där *Eunotia rhomboidea* Hustedt (ERHO) dominerade *Eunotia*-samhället. ERHO utgjorde  $52,1 \pm 9,4$  %, medan *Eunotia incisa* W. Smith & W. Gregory (EINC), som den ofta förväxlades med, endast fanns med  $5,7 \pm 4,6$  %, dvs. förhållandet mellan dem var ca 10:1. Problemet är utförligt diskuterat med bilder i Kahlert et al. (2008): “Suggestions to solve identification problems” ([http://www.norbaf.net/courses/suggestions\\_final.pdf](http://www.norbaf.net/courses/suggestions_final.pdf)), och är också nämnt i artikeln som publicerades om interkalibreringen 2007 (Kahlert et al. 2009). Tre deltagare från 2007 och en ny deltagare har antingen missat ERHO helt eller delvis, eller förväxlat den med EINC eller bara bestämt till släkte.

Ett annat ”problemtaxon”, som fanns redan med i interkalibreringen 2007 (prov 3), var *Achnanthes abundans* Manguin (AABU) som 2009 fanns i prov 1 med  $8,8 \pm 0,2$  %. Detta taxon diskuteras utförligt i Kahlert et al. (2008, 2009), men missades helt av fyra deltagare från 2007 och tre nya samt underskattas av ytterligare två deltagare som var med 2007.

Vidare skapade olika taxa inom gruppen *Fragilaria capucina* s.l. problem i prov 4. *Fragilaria gracilis* Østrup hade en andel av  $28,7 \pm 4,1$  %, *Fragilaria capucina* group (alla klasser inkluderade) hade  $19,5 \pm 7,6$  %, och *Fragilaria* cf. *capucina* var. *rumpens* (Kützing) Lange-Bertalot  $3,1 \pm 3,7$  %. Samma taxagrupp ingick i interkalibreringen 2007 (prov 2 och 4). Kiselalglitteraturen ang. denna grupp är inte entydig och de olika arterna kan vara svåra att separera. För att försäkra sig om att alla utförare gör på samma sätt, för att kunna jämföra prover med denna grupp, diskuterades den utförligt under interkalibreringen 2007. Förslag till lösningar lades fram och publicerades i artikeln och på hemsidan (Kahlert et al. 2008, 2009). Tyvärr verkar några deltagare inte ha följt de publicerade rekommendationerna, och de får därigenom större olikheter än de andra deltagarna, även om man slår ihop alla fyra *Fragilaria capucina*-grupperna. Fyra deltagare från 2007 använde tydligen inte rekommendationerna och även två nya deltagare hade annorlunda fördelning än auditorerna mellan olika *Fragilaria*-taxa.

Deltagare med låga BC-index hade problem med de flesta eller alla av ovanstående taxa, men även med andra arter, bl.a. inom släktena *Gomphonema*, *Encyonema* och *Achanthes* s.l.

En annan sak som bör påpekas var att vissa deltagare inte hade angivit ett enda taxon med "cf." (confer = jämför) eller som bara släkte. En del la heller inte till ett enda taxon till standardlistan. Är man inte helt säker på en art, ska man undvika s.k. "force fitting", dvs. att man bestämmer kiselalgen som en art som redan finns med i standardlistan, fast inte måtten eller utseendet stämmer. Trots noggranna mätningar och utförliga studier av litteraturen hittar även en seriös kiselalgsexpert emellanåt kiselalgsskal som är svåra att bestämma och det är i så fall viktigt att ange den som osäker (cf.), eller som släkte.

Ett annat problem, som också diskuterades under interkalibreringen 2007, är att små kiselalgstaxa förbises eller underskattas, vilket prov 2 är ett bra exempel på. Här räknade auditorerna  $15,2 \pm 10,4$  % av små *Navicula* s.l. (mest *Fistulifera saprophila* Lange-Bertalot (FSAP), *Navicula minima* Grunow och *N. seminulum* Grunow). En orsak kan vara att den optiska kvaliteten av mikroskopet inte är tillräckligt bra för att upptäcka dessa små skal. Men eftersom vi vet att några deltagare hade bra optik och ändå inga FSAP i sina listor kan det också vara så att provberedningen spelar in. T.ex. om preparaten görs för täta kan dessa små taxa vara svåra att se.

Med tanke på provberedningen så varnar vi också för kontaminering av proven vid prepareringen. Några av deltagarna har noterat taxa i sina prov som bör komma från ett av de andra proven. Eftersom artsammansättning i t.ex. prov 3 skiljer sig markant från de andra, och lokalen dessutom har analyserats under flera år, misstänker vi kontaminering. T.ex. kan en provberedning i öppna bägare som står nära varandra under kokningen med  $H_2O_2$ , leda till att kiselalgsskal "stänker över" från en bägare till en annan. Därför rekommenderar vi användning av kärl med lock under hela provberedningen. Även detta diskuterades under workshopen 2007 och är publicerat som rekommendation.

Slutsatsen är att vissa av deltagarna, som var med redan 2007, tyvärr inte har tagit till sig all information. Innan de har visat att de följer givna rekommendationer bör de inte få utföra kiselalgsundersökningar enligt den svenska metoden. Deras artlistor och räkneresultat kommer inte att vara direkt jämförbara med de som analyseras av personer som ligger över minimikravet för jämförbarhet i denna interkalibrering.

För att knyta ett deltagarnummer till en viss deltagare och dennes resultat, var god kontakta deltagarna själva (bilaga 1).

## **Resultat kiselalgsindex**

Precis som vi har visat i första interkalibreringen (Kahlert et al. 2009) är det viktigt att bara experter som är godkända vid interkalibreringen deltar i den svenska övervakningsverksamheten. Variationen för både IPS (Indice de Polluo-sensibilité Spécifique, Cemagref 1982) och ACID (ACidity Index for Diatoms (Andrén & Jarlman 2008) minskar med stigande krav för jämförelse mellan resultat (figur 1, 2 i bilaga 4). Om bara deltagare som uppfyllde minimikravet jämförs så undviker man outliers i kiselalgsindex (figur 1, 2) och spridningen ligger ungefärliga inom felmarginalen för IPS och ACID (Kahlert, Andren & Jarlman 2007). Om bara deltagare jämförs som helt uppfyllde även det strängare högre kravet så blir spridningen ännu lägre, detta gäller både IPS och ACID. Spridningen för kiselalgsindexen i interkalibreringen

2009 är lägre än för 2007, vilket kan bero på urval av proverna, men också på att de flesta deltagare följde våra rekommendationer från 2007 vilka fokuserar just på taxa som kan ha ett stort inflytande på kiselalgsindexen.

### **Vidare kvalitetssäkring**

Vi hoppas att det kommer att vara möjligt att fortsätta med både interkalibreringsövningar och workshops framöver. Det är ett mycket bra sätt att kontrollera kvaliteten på de kiselalgsanalyser som utförs, framför allt i Sverige men även i våra nordiska och baltiska grannländer. Detta kommer också att underlätta framtida arbete inom Nordic GIG och CB GIG. Framförallt hoppas vi att alla deltagare känner sig manade att fortsätta delta i interkalibreringsverksamheten, eftersom endast sådana övningar tillsammans med påföljande diskussioner kan säkerställa att våra resultat är harmoniserade och direkt jämförbara.

### **Referenser**

Andrén, C. and Jarlman, A. (2008) Benthic diatoms as indicators of acidity in streams. *Fundam. Appl. Limnol. (Arch. Hydrobiol.)*, 173: 237-253.

Cemagref (1982) Etude des méthodes biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux.: 218. Q.E. Lyon-A.F.Bassion Rhône-Méditerranée-Corse.

Jarlman, A. Diatom preparation [online] (2007) Available from: [http://www.ma.slu.se/ShowPage.cfm?OrgenhetSida\\_ID=8374](http://www.ma.slu.se/ShowPage.cfm?OrgenhetSida_ID=8374) [2010-02-12]

Kahlert, M., Andrén, C. and Jarlman, A. (2007): Bakgrundsrapport för revideringen 2007 av bedömningsgrunder för Påväxt – kiselalger i vattendrag (in Swedish), Institutionen för miljöanalys, SLU, Rapport 2007:23 (in Swedish), 32pp. (<http://info1.ma.slu.se/IMA/Publikationer/internserie/2007-23.pdf>)

Kahlert, M., Dept of Aquatic Sciences and Assessment, SLU Second Nordic-Baltic diatom intercalibration/harmonization exercise 2009 [online] (2009) Available from: [http://www.ma.slu.se/ShowPage.cfm?OrgenhetSida\\_ID=11164](http://www.ma.slu.se/ShowPage.cfm?OrgenhetSida_ID=11164) [2010-02-12]

Kahlert M., Albert R.-L., Anttila E.-L., Bengtsson R., Bigler C., Eskola T., Gälman V., Gottschalk S., Herlitz E., Jarlman A., Kasperoviciene J., Kokociński M., Luup H., Miettinen J., Paunksyte I., Piirsoo K., Quintana I., Raunio R., Sandell B., Simola H., Sundberg I., Vilbaste S., Weckström J. (2009): Harmonization is more important than experience—results of the first Nordic–Baltic diatom intercalibration exercise 2007 (stream monitoring). *J. Appl. Phycology*. 21(4): 471-482 DOI 10.1007/s10811-008-9394-5

Kelly, M.G. (2001): Use of Similarity Measures for Quality Control of Benthic Diatom Samples. *Wat. Res.* 35(11): 2784–2788.

Naturvårdsverket Påväxt i rinnande vatten – kiselalgsanalys [online] (2009) Available from: [http://naturvardsverket.se/upload/02\\_tillstandet\\_i\\_miljon/Miljoovervakning/undersokn\\_typ/sotvatten/pavaxt.pdf](http://naturvardsverket.se/upload/02_tillstandet_i_miljon/Miljoovervakning/undersokn_typ/sotvatten/pavaxt.pdf) [2010-02-12]

NorBAF Welcome to NorBAF - the Nordic-Baltic Network for Benthic Algae in Freshwater! [online] (2009) Available from: [www.norbaf.net](http://www.norbaf.net) [2010-02-12]

including:

Kahlert M., Albert R.-L., Anttila E.-L., Bengtsson R., Bigler C., Eskola T., Gälman V., Gottschalk S., Herlitz E., Jarlman A., Kasperoviciene J., Kokociński M., Luup H., Miettinen J., Paunksnyte I., Piirsoo K., Quintana I., Raunio R., Sandell B., Simola H., Sundberg I., Vilbaste S., Weckström J. Suggestions to solve identification problems [online] (2009) Available from: [http://www.norbaf.net/courses/suggestions\\_final.pdf](http://www.norbaf.net/courses/suggestions_final.pdf) [2010-02-12]

SIS. 2003. SS-EN 13946. Water quality. Guidance standard for the routine sampling and pre-treatment of benthic diatoms from rivers (= Vattenundersökningar. Vägledning för provtagning och förbehandling av bentiska kiselalger i vattendrag).

SIS. 2005. SS-EN 14407. Water quality. Guidance standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters (= Vattenundersökningar. Vägledning för identifiering och utvärdering av prover av bentiska kiselalger från vattendrag).

## **Bilagor**

Bilaga 1: Deltagarlista interkalibreringen

Bilaga 2: Utfall av interkalibreringen

Bilaga 3: Interkalibrerade vattendrag – vattenkemi och kiselalgstaxa

Bilaga 4: Kiselalgsindex

Tabell 1: Deltagarlista interkalibreringen

<b>Sverige:</b>								
Amelie	Jarlman	SE	konsult	<a href="mailto:jarlman@mac.com">jarlman@mac.com</a>	Jarlman Konsult AB	Stora Tvär- gatan 33	223 52	Lund
Bernt	Sandell	SE	konsult	<a href="mailto:sandell.bernt.s-v-konsult@telia.com">sandell.bernt.s-v-konsult@telia.com</a>	BS Sötvattenkonsult	Roliasgatan 23B	553 39	Jönköping
Sten	Backlund	SE	konsult	<a href="mailto:sten.backlund@emg.umu.se">sten.backlund@emg.umu.se</a>	Fysiologihuset, plan 4, Umeå universitet		901 87	Umeå
Steffi	Gottschalk	SE	Tekn. Ass.	<a href="mailto:steffi.gottschalk@ma.slu.se">steffi.gottschalk@ma.slu.se</a>	Dep. of Env. Assessment, SLU	Box 7050	750 07	Uppsala
Veronika	Gälman	SE	konsult	<a href="mailto:veronika.galman@emg.umu.se">veronika.galman@emg.umu.se</a>	Diatoma Miljöundersökningar	Flaka- skärsvägen 28	905 82	Umeå
Eva	Herlitz	SE	Tekn. Ass.	<a href="mailto:eva.herlitz@ma.slu.se">eva.herlitz@ma.slu.se</a>	Dep. of Env. Assessment, SLU	Box 7051	751 07	Uppsala
Maria	Kahlert	SE	forskare	<a href="mailto:maria.kahlert@vatten.slu.se">maria.kahlert@vatten.slu.se</a>	Dep. of Aquatic Sciences & Assessment, SLU	Box 7050	750 07	Uppsala
Ylva	Meisner	SE	konsult	<a href="mailto:ylva.meissner@medins-biologi.se">ylva.meissner@medins-biologi.se</a>	Medins Biologi AB	Företags- vägen 2	435 33	Mölnlycke
Isabel	Quintana	SE	Tekn. Ass.	<a href="mailto:isabel.quintana@ma.slu.se">isabel.quintana@ma.slu.se</a>	Dep. of Env. Assessment, SLU	Box 7052	752 07	Uppsala
Irene	Sundberg	SE	konsult	<a href="mailto:irene.sundberg@medins-biologi.se">irene.sundberg@medins-biologi.se</a>	Medins Biologi AB	Företags- vägen 2	435 33	Mölnlycke
<b>Finland:</b>								
Eeva-Leena	Anttila	FIN	konsult	<a href="mailto:eeva-leena.anttila@poyry.com">eeva-leena.anttila@poyry.com</a>	Pöyry Environment Oy	PL 20, Tutkijantie 2A	905 71	Oulu
Raino-Lars	Albert	FIN	konsult	<a href="mailto:raino-lars.albert@ecomonitor.fi">raino-lars.albert@ecomonitor.fi</a>	Ecomonitor Oy	Länsikatu 15	801 10	Joensuu
Tiina	Eskola	FIN	forskare	<a href="mailto:tiina.eskola@oulu.fi">tiina.eskola@oulu.fi</a>	Institution of Geosciences, Uni- versity of Oulu	P.O. Box 3000	900 14	Oulu



Bilaga 1: Deltagarlista interkalibreringen

<b>Finland:</b>								
Juha	Miettinen	FIN	konsult	juha.miettinen@ecomonitor.fi	Ecomonitor Oy	Länsikatu 15	801 10	Joensuu
Arja	Palomäki	FIN	forskare	<a href="mailto:arja.palomaki@ymtk.jyu.fi">arja.palomaki@ymtk.jyu.fi</a>	Institute for Environmental Research, University of Jyväskylä	P.O.Box 35 (YAD)	400 14	Jyväskylä
Janne	Raunio	FIN	forskare	<a href="mailto:janne.raunio@vesiensuojelu.fi">janne.raunio@vesiensuojelu.fi</a>	Water and Environment Association of the River Kymi	Tapiontie 2 C	451 60	Kouvola
Mikko	Tolkkinen	FIN	doktorand	Mikko.Tolkkinen@ymparisto.fi	Suomen ympäristökeskus, Vesistöalueiden integroitu tutkimusohjelma	PL 413	90014	OULUN YLIOPISTO
Jan	Weckström	FIN	forskare	<a href="mailto:jan.weckstrom@helsinki.fi">jan.weckstrom@helsinki.fi</a>	Environmental Change Research Unit (ECRU), Department of Biological and Environmental Sciences, University of Helsinki	P.O. Box 65 (Viikin- kaari 1)	000 14	Helsinki
<b>Estland:</b>								
Sirje	Vilbaste	EE	forskare	<a href="mailto:sirje.vilbaste@emu.ee">sirje.vilbaste@emu.ee</a>	Institute of Agricultural and Environmental Sciences, Estonian University of Life Sciences	181 Riia Str.	510 14	Tartu
<b>Polen:</b>								
Mikolaj	Kokocinski	PL	forskare	kok@amu.edu.pl	Zaklad Hydrobiologii, Collegium Biologicum, Uniwersytet im. A. Mickiewicza	ul. Umultowska 89	616 14	Poznan
Joanna	Picinska-Faltynowicz	PL	forskare	joannapf@wp.pl	Institute of Meteorology and Water Management, Wrocław Branch	Parkowa 30	51-616	Wrocław
Aleksandra	Zgrundo	PL	forskare	oceanzg@univ.gda.pl	University of Gdansk, Institute of Oceanography	Al. Pilsudskiego 46	81-378	Gdynia
<b>Tyskland:</b>								
Petra	Werner	DE	konsult	pw_bln@yahoo.com	Diatomeen als Bioindikatoren	Grainauer Str. 8	10777	Berlin

Tabell 2. Diversitet (Hill's N2) och antal räknade arter (beräknat medelvärde av auditorerna) samt likheten mellan auditorerna (similarity index Bray-Curtis BC) för proverna i kiselalgsinterkalibreringen 2009.

	Prov 1	Prov 2	Prov 3	Prov 4
Hill's N2 diversitet	8,8	16,2	3,1	7,1
Antal taxa	85	79	21	50
BC mellan auditorerna	72	66	75	72

Tabell 3a. Resultat av interkalibreringen; beräkning av Bray-Curtis similarity index (BC) enligt Kelly (2001). (Ej samma ordning på deltagarna som i Bilaga 1.)

deltagare	Prov 1	Prov 1 exkl. <i>E. formica</i>	Prov 2	Prov 3	Prov 4	Likhet mellan resultat	
						BC > 60 % i prov 1 (exklusive FOR), 3 och 4 samt BC > 55 % i prov 2 (minimikrav)	BC > 60 % i alla prov (högre krav)
3 Irene Sundberg	0,81	0,80	0,65	0,83	0,72	<b>Ja</b>	Ja
4	0,46	0,59	0,33	0,45	0,48	<b>Nej</b>	Nej
5 Eeva-Leena Anttila	0,45	0,60	0,63	0,78	0,64	<b>Ja*</b>	Nej
6 Juha Miettinen	0,63	0,64	0,55	0,85	0,69	<b>Ja*</b>	Nej
7	0,33	0,27	0,42	0,21	0,35	<b>Nej</b>	Nej
8	0,16	0,15	0,54	0,59	0,68	<b>Nej</b>	Nej
9 Veronika Gälman	0,69	0,70	0,62	0,83	0,72	<b>Ja</b>	Ja
10	0,64	0,61	0,53	0,78	0,50	<b>Nej</b>	Nej
11	0,64	0,62	0,44	0,44	0,69	<b>Nej</b>	Nej
12	0,24	0,36	0,44	0,63	0,63	<b>Nej</b>	Nej
13 Arja Palomäki	0,67	0,70	0,66	0,72	0,60	<b>Ja*</b>	Nej**
14 Petra Werner	0,57	0,59	0,54	0,89	0,76	<b>Ja*</b>	Nej
15	0,38	0,41	0,41	0,22	0,46	<b>Nej</b>	Nej
17	0,35	0,32	0,64	0,60	0,59	<b>Nej</b>	Nej
18 Joanna Picinska-Faltynowicz	0,59	0,60	0,57	0,83	0,71	<b>Ja*</b>	Nej
20 Maria Kahlert	0,66	0,70	0,64	0,86	0,69	<b>Ja</b>	Ja
21 Raino-Lars Albert	0,69	0,67	0,60	0,79	0,72	<b>Ja</b>	Nej**
22 Steffi Gottschalk	0,70	0,71	0,68	0,86	0,68	<b>Ja</b>	Ja
23 Isabel Quintana	0,74	0,73	0,68	0,91	0,70	<b>Ja</b>	Ja
24 Eva Herlitz	0,76	0,74	0,67	0,88	0,66	<b>Ja</b>	Ja
25 Ylva Meisner	0,76	0,77	0,66	0,83	0,73	<b>Ja</b>	Ja

\*  $\geq 59\%$  (prov 1, 3, 4) eller  $\geq 54\%$  (prov 2)

\*\* mycket nära att uppfylla kravet (lägsta BC = 60 %)



Prov 1 (Lillån, Bassakär, Halland 2007) valdes som ett exempel på ett artrikt, oligotroft, svagt surt prov. Deltagarna skulle också visa att de känner igen *Achnanthes* (*Psammothidium*) abundans, eftersom denna taxon förekommer ofta i Nordiska vattendrag men finns inte med i standardlitteraturen. Den diskuterades dock utförligt under interkalibreringen 2007. (Provtagning: Mikael Christensson, Medins Biologi AB)

I Lillån, Bassakär (6273415/1348410, Laholm, avrinningsområde 25 km<sup>2</sup>) togs kiselalgsprov 2007. Vattendraget våtmarks- och sjökalkas sedan 1988, men är fortfarande något surt. Det är inte påverkat av näringsämnen och har ett högt naturvärde. Medel-pH (6 mätningar 2007) var 6,3 och pH-minimum var 5,7. Medelvärdet för NO<sub>2</sub>-N var 203 µg/l, för konduktiviteten 5,4 mS/m och för färgen 155 mg/l Pt.

vanligaste kiselalgstaxa (> 2% relativ abundans)	relativ abundans (%)		
	medel auktorer	± Standardavvikelse	
<i>Achnanthes minutissima</i> grupp II (medelbredd 2,2-2,8µm) =			
<i>Achnanthes minutissima</i>	Kützing	29,9	1,9
<i>Achnanthes abundans</i>	Manguin	8,8	0,2
<i>Eunotia formica</i>	Ehrenberg	7,4	6,7
<i>Frustulia erifuga</i>	Lange-Bertalot & Krammer	4,8	3,0
<i>Tabellaria flocculosa</i>	(Roth) Kützing	3,7	0,7
<i>Gomphonema exilissimum</i>	Lange-Bertalot & Reichardt	3,5	0,6
<i>Eunotia implicata</i>	Nörpel, Lange-Bertalot & Alles	3,3	1,6
<i>Achnanthes helvetica</i>	(Hustedt) Lange-Bertalot	2,5	0,0
<i>Eunotia bilunaris</i>	(Ehrenberg) Mills	2,3	0,7
<i>Eunotia incisa</i>	W. Smith & W. Gregory	2,3	0,8
<i>Fragilaria gracilis</i>	Østrup	2,2	1,7



Prov 2 (Svartån, Turbinbron, Västmanlands län 2007) valdes som ett exempel på ett närings- och föroreningspåverkat prov. Deltagarna skulle också visa att de räknar små *Navicula* s.l. (*Mayamaea*, *Fistulifera*, mm.).

I Svartån, Turbinbron (6610689/1541156 S8, ARO 773 km<sup>2</sup>) togs kiselalgsprov under 2007. Vattendraget ligger i mynningen av Svartån till Mälaren, mitt i staden Västerås. Vattendraget är både näringspåverkat och påverkat av urbana föroreningar. Vattenkemi mäts 12 ggr per år. Medelvärden är 127 µg Tot-P/l, 1700 µg Tot-N/l, konduktivitet 14,9 mS/m, färg 193 mg Pt/l (absorbans 0,732) och pH 7,4 (minimum 7,2).

vanligaste kiselalgstaxa (> 2% relativ abundans)	relativ abundans (%)	
	medel auktorer	± Standardavvikelse
<i>Achnanthes minutissima</i> grupp III (medelbredd >2,8µm)	15,7	1,6
<i>Cocconeis placentula</i> incl. varieties Ehrenberg	12,2	7,2
<i>Gomphonema parvulum</i> (incl. var. saprophilum) (Kützing) Kützing	7,0	0,7
<i>Fistulifera saprophila</i> Lange-Bertalot	6,4	5,8
<i>Cyclotella pseudostelligera</i> Hustedt	6,3	1,9
<i>Navicula minima</i> Grunow	4,3	1,6
<i>Achnanthes lanceolata</i> sspecies (Hohn & Hellermann) Lange-Bertalot	3,4	0,6
<i>Navicula cryptocephala</i> Kützing	2,9	0,0
<i>Navicula seminulum</i> Grunow	2,8	0,5
<i>Diatoma problematica</i> Lange-Bertalot	2,6	0,5
<i>Navicula goeppertiana</i> (Bleisch) H.L. Smith, 1874-79	2,4	0,4
<i>Fragilaria capucina</i> cf. var. <i>rum-pens</i> (Kützing) Lange-Bertalot	2,3	2,3



*Prov 3 (Lillån Bosgård, Halland 2008) valdes som exempel på ett surt prov. Deltagarna skulle visa att de kan skilja mellan *Eunotia rhomboidea* och *Eunotia incisa*, vilka utförligt diskuterades under interkalibreringen 2007 och möjligtvis är viktiga för bedömningen av antropogen försurning. (Foto: Bengt-Göran Carlsson, Limo Natur, Mattmar)*

I Lillån, Bosgård (631840/133310, Hallands län, ARO 33 km<sup>2</sup>) togs kiselalgsprov 2008. Vattendraget ingår som okalkad referens i IKEU-programmet (Integrerad KalkningsEffektUppföljning). Vattenkemi mäts 19 ggr/år: Medel-pH var 4,9 och pH-minimum var 4,5. Medelvärdet för NO<sub>23</sub>-N var 173 µg/l, för konduktiviteten 4,7 mS/m och för Tot-P 13 µg/l.

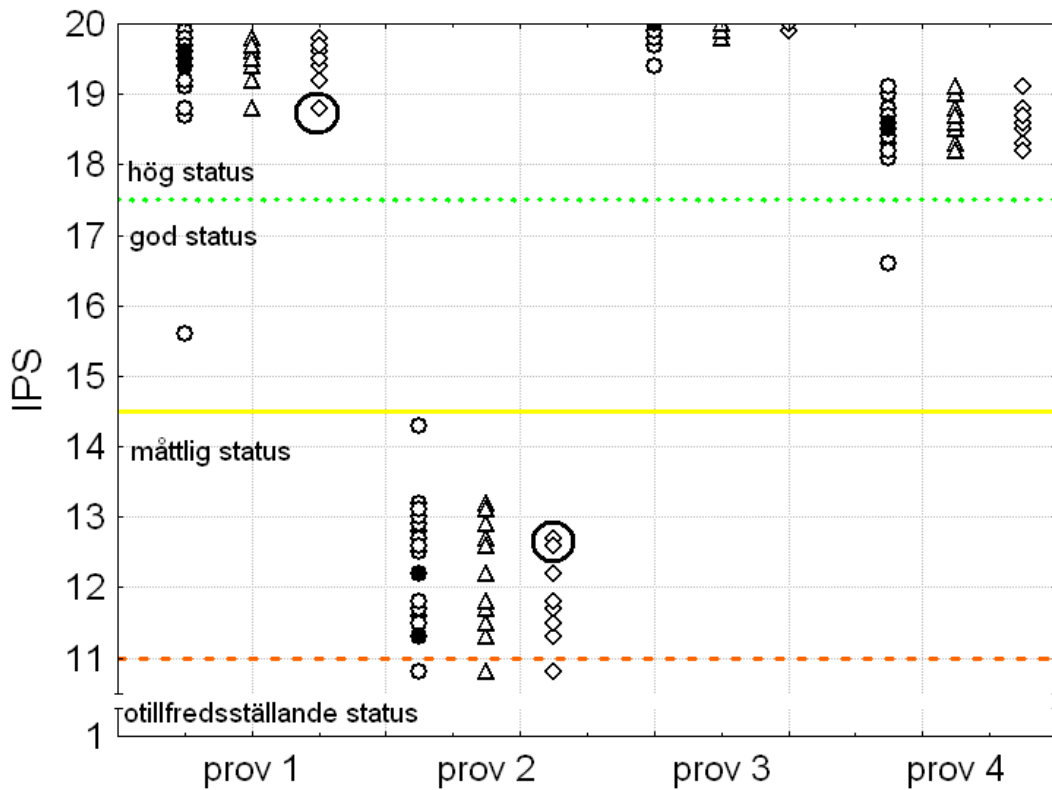
vanligaste kiselalgstaxa (> 2% relativ abundans)		relativ abundans (%)	
		medel auktorer	± Standardavvikelse
<i>Eunotia rhomboidea</i>	Hustedt	52,1	9,4
<i>Eunotia bilunaris</i> var. <i>mucophila</i>	Lange-Bertalot & Nörpel (Brébisson) Lange-Bertalot &	16,4	8,3
<i>Frustulia crassinervia</i>	Krammer	13,4	4,9
<i>Eunotia incisa</i>	W. Smith & W. Gregory	5,7	4,6
<i>Eunotia bilunaris</i>	(Ehrenberg) Mills	4,7	1,0
<i>Tabellaria flocculosa</i>	(Roth) Kützing	2,1	1,2



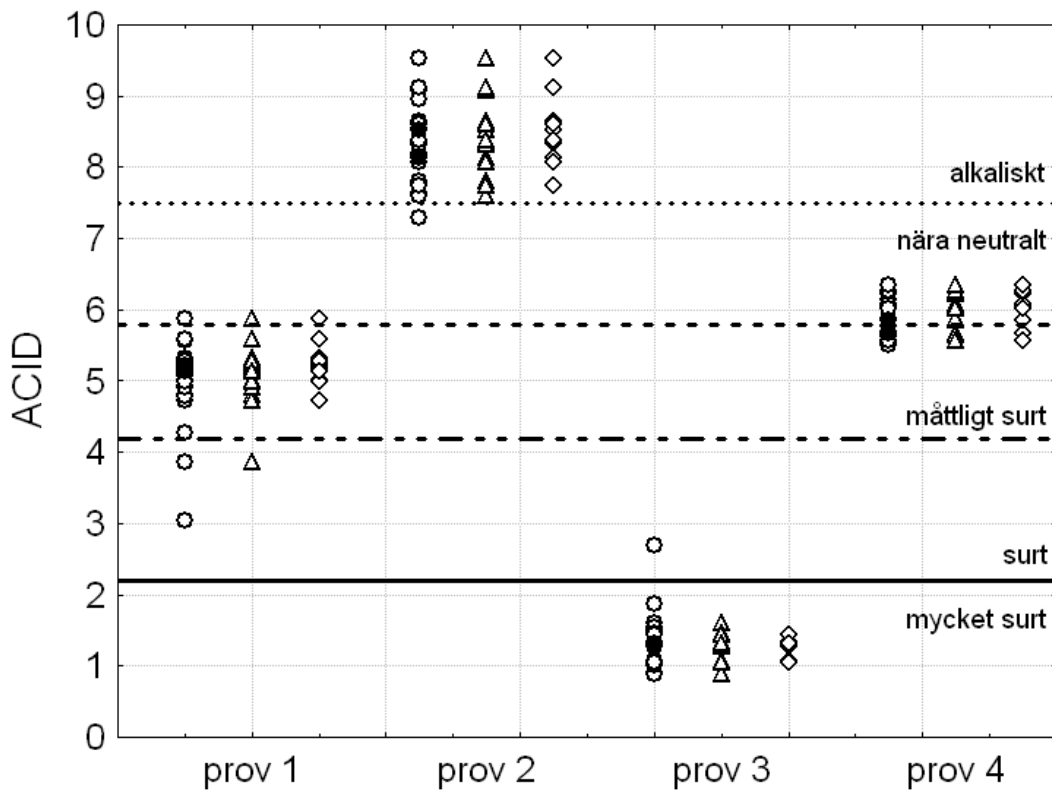
Prov 4 (Ådalsån, Västernorrlands län) valdes för att se hur deltagarna räknar olika arter inom *Fragilaria capucina*-komplexet. Provet ingick också i en nyligen genomförd europeisk interkalibrering (Kahlert et al. inskickat till *Hydrobiologia*) (Foto: Paul Anderson, F:a SBV-analys, Delsbo)

I Ådalsån, Lyckemyran (6960000/1568500, Västernorrlands län, ARO 50 km<sup>2</sup>) togs kiselalgsprov 2008. ARO består huvudsakligen av skog och myrmark. Vattendraget är kalkat och ingår i IKEU-programmet (Integrerad KalkningsEffektUppföljning). Vattenkemi mäts månatligen. Medel-pH var 6,8 och pH-minimum var 6,6. Medelvärdet för Tot-N var 374 µg/l, för konduktiviteten 3,5 mS/m, för Tot-P 9 µg/l och för absorbansen 0,447.

vanligaste kiselalgstaxa (> 2% relativ abundans)		relativ abundans (%)	
		medel auktorer	± Standardavvikelse
<i>Fragilaria gracilis</i>	Østrup	28,7	4,1
<i>Fragilaria capucina</i> group		19,5	7,6
<i>Achnanthes minutissima</i> grupp II (medelbredd 2,2-2,8µm) =			
<i>Achnanthes minutissima</i>	Kützing	10,9	0,3
<i>Achnanthes pusilla</i>	(Grunow) De Toni	4,8	1,5
<i>Fragilaria capucina</i> cf. var. <i>rum-pens</i>	(Kützing) Lange-Bertalot	3,1	3,7
<i>Tabellaria flocculosa</i>	(Roth) Kützing	3,0	0,4
<i>Fragilaria tenera</i>	(W. Smith) Lange-Bertalot	2,6	2,6
<i>Fragilaria species</i>		2,6	1,2
<i>Eunotia minor</i>	(Kützing) Grunow	2,2	0,1
<i>Encyonema minutiforme</i>	Krammer	2,0	0,4
<i>Gomphonema exilissimum</i>	Lange-Bertalot & Reichardt	2,0	1,4



Figur 1. Kiselalgsindex IPS för alla prover.  $\circ$  alla deltagare,  $\Delta$  bara deltagare som uppfyllde minimikravet för provjämförelse,  $\diamond$  bara deltagare som uppfyllde det högre krav (inringat: deltagare som nästan uppnådde detta krav),  $\bullet$  auditorernas resultat (bara visat för första urvalet).



Figur 2. Kiselalgsindex ACID för alla prover.  $\circ$  alla deltagare,  $\Delta$  bara deltagare som uppfyllde minimikravet för provjämförelse,  $\diamond$  bara deltagare som uppfyllde det högre krav,  $\bullet$  auditorernas resultat (bara visat för första urvalet).