



Biologisia seurantamenetelmiä turvemaiden käytön vesistövaikutusten arviointiin – kirjallisuusselvitys

BioTar-projektin raportti

Minna Kuoppala ja Satu Maaria Karjalainen

21.8.2013

POHJOIS-POHJANMAA
Council of Oulu Region



Elinkeino-, liikenne- ja
ympäristökeskus

Vipuvoimaa
EU:lta
2007–2013

Sisältö

1. Johdanto	3
1.1 Kirjallisuusselvityksen tausta.....	3
1.2 Prosessin kuvaus	3
2. Menetelmien kuvaus.....	5
2.1 VPD yhteensopivat ja standardoidut menetelmät	5
2.2 Muut standardoidut menetelmät.....	5
2.3 Muut menetelmät	5
2.4 Kehitteillä olevat menetelmät	5
2.5 Yhteenveto pehmeäpohjaisille uomille sopivista menetelmistä	12
3. BioTar-osatehtävässä testattavat menetelmät	13
3.1 Perusteet valinnalle.....	13
3.2 Menetelmien kuvaukset	15
Kirjallisuus.....	22

1. Johdanto

1.1 Kirjallisuusselvityksen tausta

Projektin ”Biologisten tarkkailumenetelmien kehittäminen turvemaiden käytön vaikutusten arviointiin (BioTar)” tavoitteena on ollut tunnistaa ja kehittää turvetuotannon ja turvemetsätalouden biologiseen tarkkailuun kuormitusta herkimmin kuvaavat ja kustannustehokkaat menetelmät. Projektissa kerätään lisäksi tietoa orgaanisen kiintoaineen ja sedimentin ominaisuuksista sekä lähteistä ja arvioidaan tämän tiedon mahdollisuuksia tukea biologista tarkkailua.

Osatehtävän 1 tavoitteena on ollut löytää parhaiten turvetuotannon ja turvemetsätalouden biologiseen vesistötarkkailuun soveltuvat menetelmät painottaen niiden herkkyyttä turvetuotannosta ja turvemetsätaloudesta tuleville kuormitteille sekä huomioiden näytteenoton ja näytteen käsittelyn luotettavuus ja kustannustehokkuus. Tätä tavoitetta varten on tähän kirjallisuusselvitykseen koottu tieto käytössä olevista biologisista menetelmistä sekä uusista menetelmistä. Sopivimmat menetelmät on valittu testattavaksi BioTar-projektissa.

1.2 Prosessin kuvaus

Kirjallisuusselvityksessä haettiin tietoa käytössä olevista ja kehitteillä olevista biologisista seurantamenetelmistä, jotka ovat herkkiä ammoniumtyypelle, fosforille, happamuudelle, orgaaniselle kiintoaineelle, raudalle ja humukselle. Tietoa haettiin sekä seisovien että virtaavien vesien menetelmistä.

Menetelmistä haettavia tietoja olivat:

- mille edellä mainituista kuormitteista menetelmä on herkkä
- millaisiin olosuhteisiin menetelmä sopii
- vesistötyyppi
 - järvissä habitaatti, joessa virtaamaolosuhteet
 - pohjan laatu
 - näytteenottoajankohta
- tarvittava otos
- esim. yksilömäärä tai otokseen tarvittavan alueen laajuus alueen laajuus esim. sähkökalastuksessa
- näytteenottoon, esikäsittelyyn, määrittelyyn, analysointiin ja tulosten tulkintaan menevä aika
- kustannukset menetelmän käytöstä (näytteenotto, laitteet, määrittely jne.)
- muita mahdollisia tarvittavia tietoja

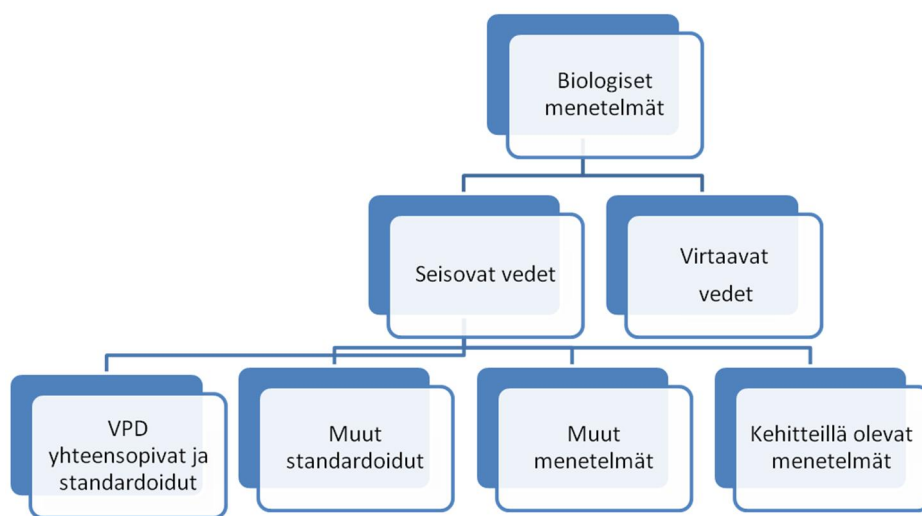
Kerättyjen tietojen perusteella määriteltiin rajoitteet menetelmän käytölle turvemetsätalouden ja turvetuotannon alapuolisissa vesistöissä. Tässä otettiin huomioon muun muassa:

- menetelmän näytteenottoaikan sijainti suhteessa kuormituslähteeseen
- mahdollisuudet tarvittavan otoksen saamiseksi menetelmällä
- menetelmäkustannukset näytettä kohti
- ammattitaitoisten osaajien määrä (esim. määrittelyksen osalta)
- menetelmän valmiusaste, onko kyseessä
 - VPD yhteensopiva ja standardoitu menetelmä

- muu standardoitu menetelmä
- muu valmis menetelmä
- kehitteillä oleva menetelmä
- muita mahdollisia huomioon otettavia seikkoja

Lähestymistapaa kuvaava menetelmien jaottelu on esitetty kuvassa 1.

Edellä kerätyistä tiedoista laadittiin taulukko, jonka pohjalta arvioitiin kunkin menetelmän soveltuvuus biologiseen tarkkailuun turvemetsätalouden ja turvetuotannon alapuolisissa vesistöissä. Lopuksi valittiin BioTar-hankkeessa testattavaksi kolme virtaavien vesien pehmeille pohjille soveltuvaa menetelmää. Näistä menetelmistä laadittiin kirjallisuuden perusteella tarkemmat menetelmäkuvaukset BioTar-hankkeen menetelmätestauksia varten.



Kuva 1. Aiheen lähestymistapa kaaviona.

2. Menetelmien kuvaus

2.1 VPD yhteensopivat ja standardoidut menetelmät

Tässä selvityksessä tarkasteltuja Suomessa ekologisessa luokittelussa käytettyjä (VPD yhteensopivia) ja standardoituja menetelmiä ovat kasviplanktonmenetelmä (järvet), pohjaeläinmenetelmät (järvien litoraalin ja profundaali sekä joet), piilevämenetelmä (järvet, luonnonalustat; joet, luonnonalustat) ja vesikasvimenetelmä (järvet).

Menetelmien viitteet ja herkkyys eri kuormitteille on esitetty taulukossa 2. Taulukossa on myös esitetty millaisiin ympäristötyyppeihin (järvi/joki) menetelmä sopii sekä arvioitu sen sopivuus pehmeille uomille.

Taulukossa 3 on esitetty samojen menetelmien näytteenottoajankohdat, näytteenoton laajuus, näytekohtaiset kustannukset sekä arvioitu menetelmän eri vaiheisiin tarvittavan ajan määrää järveä tai jokipaikkaa kohden.

2.2 Muut standardoidut menetelmät

Muita tässä selvityksessä tarkasteltuja standardoituja menetelmiä, joita ei käytetä Suomessa vesistöjen ekologisessa luokittelussa, ovat jokien vesikasvi-, bakteeri-, eläinplankton-, pärfytonmentelmät sekä surviaissääsken kotelonahkamenetelmä, perustuotanto ja myrkyllisyydestit (joista osa standardoitu). Taulukoissa 4 ja 5 on esitetty vastaavat tiedot kuin edellisessä luvussa mainituista menetelmistä.

Kasviplanktonmenetelmää käytetään jokiuomissa ekologisessa luokittelussa kuitenkin mm. Saksassa (Birk ym. 2011) ja CPET-menetelmää järvien ekologisessa luokittelussa Isossa Britanniassa (Birk ym. 2011, Ruse 2010).

2.3 Muut menetelmät

Muut tarkastellut menetelmät on esitetty vastaavasti taulukoissa 6 ja 7.

2.4 Kehitteillä olevat menetelmät

Jyväskylän toimipaikassa on selvitetty kuoriameebojen käyttöä turvemaiden käytön vaikutuksen arvioinnissa.

Kuoriameebojen on arvioitu olevan erittäin potentiaalinen eliöryhmä mm. kaivosten aiheuttaman vesien/sedimentin likaantumisen tutkimisessa (Kihlmann & Kauppila 2007) ja niiden on todettu soveltuvan veden laadun indikaattoreiksi erityisesti kaupunkialueilta tulevan ravinne- ja tiesuolakuormituksen suhteen (Roe ym. 2010). Kuoriamebat soveltuvat mahdollisesti myös jokien happamoitumisen indikaattoreiksi (Foissner 1994).

Taulukko 2. VPD-yhteensopivien biologisten seurantamenetelmien viitteet, herkkyys eri kuormitteille ja menetelmien sopivuus eri olosuhteisiin.

Menetelmä	Menetelmäviitteet	Luokiteltu (VPD)	Paine	Herkkyys eri kuormitteille							Sopivuus eri olosuhteisiin			
				NH ₄	P	pH	orgaaninen kiintoaine	Fe	humus	Mahdolliset muut kuormitteet	järvi/joki	habitaatti	pohjan laatu	Pehmeä-pohjainen jokiuoma
Kasviplankton; järvet	Meissner ym. 2012	kyllä	rehevöityminen	x	x						järvet			Ei
Piilevät; luonnonalustat (kivet); joet;	Meissner ym. 2012, Eloranta ym. 2007, Eloranta 2004, SFS-EN 13946:2003	kyllä	rehevöityminen, happamoituminen, yleinen pilaantuminen	(x, orgaaninen tyyppi)	x	x	x, helposti hajoava orgaaninen aines				joet	virta	kivikko	Ei, mutta voidaan käyttää siirrettäviä kivikoreja
Piilevät; luonnonalustat (kivet); järvet ; kivikkorannat	Meissner ym. 2012, Eloranta ym. 2007, SFS-EN 13946:2003	kyllä	rehevöityminen, happamoituminen, yleinen pilaantuminen	(x, orgaaninen tyyppi)	x	x	x, helposti hajoava orgaaninen aines				järvet	litoraali, avoimet kivikkorannat	kivikko	Ei
Pohjajeläimet: joet	Meissner ym. 2012, SFS 5077:1989	kyllä	yleinen pilaantuminen								joet	koski	karkea kivikko, pikkukivikko/ soraikko, hienojakoinen aines	Ei
Pohjajeläimet: järvien litoraali	Meissner ym.2012, SFS-EN 28265:1994, SFS 5077:1989	kyllä	yleinen pilaantuminen								järvet	litoraali	kivikko	Ei
Pohjajeläimet: järvien profundaali	Meissner ym. 2012, SFS 5076:1989, SFS 5730:1992	kyllä	yleinen pilaantuminen								järvet	profundaali	pehmeä pohja/hienojakoinen sedimentti	Ei
Vesikasvit, järvet	Meissner ym. 2012, Kuoppala ym. 2008, SFS-EN 1546:2008	kyllä	yleinen pilaantuminen, rehevöityminen	x	x						järvet	puoliavoimet ja keskikaltevat sekä suojaisat ja loivat rannat	kovat ja pehmeät pohjat	Ei

Taulukko 3. VPD-yhteensopivien biologisten seurantamenetelmien näytteenottoajankohdat, näytteenoton laajuus, näytekohtaiset kustannukset sekä arviointi menetelmän eri vaiheisiin tarvittavan ajan määrästä yhdellä jokipaikalla tai järvellä. Muuttajat Vuoren ym. 2009 ja Aroviita ym. (2012) mukaan. Aikasarakkeen asteikko: 1 = vähän työaikaa (≤ 1 h), 2 = jonkin verran työaikaa (1 h – 1 henkilötyöpäivä), 3 = paljon työaikaa (≥ 1 henkilötyöpäivä). Työajan arvioinnissa ei ole huomioitu ajomatkoja. Näytekohtaiset kustannukset Vuoren ym. (2008) mukaisia. Kustannukset ovat kuitenkin nousseet, ja ovat nykyisin taulukossa mainituista arviolta 10–20% korkeampia. Kustannuksissa on huomioitu lähinnä palkka- ja matkakustannukset, ei laitekustannuksia.

Menetelmä	Näytteenotto- ajankohta	Tarvittava otos	Muuttajat tms.	Aika / järvi tai joki				Seurannan/ tarkkailun kustannukset (€/näyte)
				Näytteen- otto	Esikäsittely labora- toriossa	Määrittäminen laboratori- ossa	Tulosten tulkinta	
Kasviplankton; järvet	touko-syyskuu	Näytteenottojen määrä vaihtelee seurannan mukaan (intensiivinen seuranta /vuosittainen seuranta /rotaatioseuranta). 0-2 m:n kokoomanäytettä varten 3-5 rinnakkaisista noutimellista vettä.	kasviplanktonin kokonaisbiomassa tuoremassana, α -klorofylli, haitallisten sinilevien prosenttiosuus kokonaisbiomassasta, TPI (planktontrofiaindeksi)	1		2-3	2	145
Piilevät; luonnonalustat (kivet); joet;	avovesikausi	20-50 m pitkältä koskijaksolta viideltä kiveltä	TT (tyyppiominaiset taksonit), PMA (prosenttinen mallinkaltaisuus), ekologiset jakaumat, IPS, TDI, TI, ym. indeksit	1	2	2	2	106
Piilevät; luonnonalustat; järvet (kivet); kivikkorannat	avovesikausi (syksy)	kolmelta eri kivikkorannalta eri puolilta järveä; yksi näyte/ranta, näyte: 5-10 kiveltä	TT (tyyppiominaiset taksonit), PMA (prosenttinen mallinkaltaisuus), ekologiset jakaumat, IPS, TDI, TI, ym. indeksit	2	2	2	2	106
Pohjaeläimet: joet	syyskuun loppupuoliskolla	kullakin koskijaksolla 3 paikkaa, pienissä joissa 2 rinnakkaisnäytettä/paikka, suurissa ja erittäin suurissa: 3 rinnakkaisnäytettä/paikka	tyyppilajien lkm, tyyppi-EPT-heimojen lkm, PMA (prosenttinen mallinkaltaisuus)	1	2	2	2	168
Pohjaeläimet: järvien litoraali	kevät/syksy	3 kivikkorantaa, suositus 5 rinnakkaisnäytettä (minimi 3)	TT (tyyppiominaiset taksonit), PMA (prosenttinen mallinkaltaisuus)	2	2	2	2	168
Pohjaeläimet: järvien profundaali	syys-lokakuu	vähintään 6 rinnakkaisnäytettä	PICM (Profundal Invertebrate Community Metric), PMA (prosenttinen mallinkaltaisuus)	1	2	2	2	166
Vesikasvit, järvet	heinäkuu-syyskuun alku	0,5-10 km ² järvet: 8-15 linjaa, suuremmissa 20-25 linjaa	TT50SO (tyyppilajien suhteellinen osuus) RI (rehevyyssindeksi) PMA (prosenttinen mallinkaltaisuus)	3		1-2	2	1781*

* vesikasvien osalta kyseessä järvi-kohtaiset kustannukset (€/järvi)

Taulukko 4. Muiden standardoitujen biologisten seurantamenetelmien viitteet, herkkyys eri kuormitteille ja menetelmien sopivuus eri olosuhteisiin.

Menetelmä	Menetelmäviitteet (lyhyt)	Luokiteltu (VPD)	Paine	Herkkyys eri kuormitteille							Sopivuus eri olosuhteisiin			
				NH4	P	pH	orgaaninen kiintoaine	Fe	humus	Mahdolliset muut kuormitteet	järvi/joki	habitaatti	pohjan laatu	Pehmeä-pohjainen jokiuoma
Vesikasvit, joet	Meissner ym. 2012, Rääpysjärvi 2012, SFS-EN 14184:2003	Alustava luokittelu kehitteillä.	yleinen pilaantuminen, rehevöityminen	x	x						joet	kosket ja suvannot	kovat ja pehmeät pohjat	Sopii, mutta lajisto voi olla niukkaa.
Perustuotanto, bakteeri/ levä	SFS 3049:1977	ei	rehevöityminen?	x?	x?						joet ja järvet	ei merkitystä	ei merkitystä	Sopii
Eläinplankton: järvet	SFS-EN 15110:2006, Sarvala 2002, Rahkola-Sorsa 2008	ei	rehevöityminen, happamoituminen			x				myrkylliset kemikaalit	järvi	sekä pelagiaali että litoraali (< 1 m)	ei merkitystä	Ei?
Perifyton	Mäkelä ym. 1992, Herve & Heinonen 2004a, SFS-EN 15708:2010	ei	rehevöityminen	x	x						joet ja järvet	jokivesissä muut kuin kovan virtauksen paikat, järvissä pelagiaali ja litoraali	ei merkitystä	Sopii
Surviaissääskien kotelonahkamenetelmät Chironomid Pupal Exuvial Technique, CPET	Raunio 2008, Raunio 2009, Birk ym. 2010, Wilson & Ruse 2005, SFS-EN 15196:2006	Ei Suomessa. Isossa Britanniassa luokittelu järville.	rehevöityminen, happamoituminen	x	x	x					joet ja järvet	Jokivesissä kosket ja suvannot. Näyte on yhdistelmä eri mikrohabitaattien surviaissääskistä.	kovat ja pehmeät pohjat	Sopii

Taulukko 5. Muiden standardoitujen biologisten seurantamenetelmien näytteenottoajankohdat, näytteenoton laajuus, näytekohtaiset kustannukset sekä arviointi menetelmän eri vaiheisiin tarvittavan ajan määrästä yhdellä jokipaikalla tai järvellä. Aikasarakkeen asteikko: 1 = vähän työaikaa (≤ 1 h), 2 = jonkin verran työaikaa (1 h – 1 henkilötyöpäivä), 3 = paljon työaikaa (≥ 1 henkilötyöpäivä). Työajan arvoinnissa ei ole huomioitu ajomatkoja.

Menetelmä	Näytteenotto- ajankohta	Tarvittava otos	Muuttujat tms.	Aika				Seurannan/ tarkkailun kustannukset euroa/näyte
				Näytteen- otto	Esikäsittely labora- toriossa	Määrittäminen laboratori- ossa	Tulosten tulkinta	
Vesikasvit, joet	heinäkuu-syyskuun alku	1-2 100 m:n jokijaksoa ja 10 sammalnäytealaa/kohde (jos 2 jaksoa, niin eri habitaateille),	PMA (prosenttinen mallinkaltaisuus), O/E indeksi (havaittujen taksonien suhde odotettuihin taksoneihin)	2		2	2	300
Perustuotanto, bakteeri/ levä	avovesikausi?	useista eri syvyyksistä, esim. 0,2, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, ja 10 m.	mg hiiltä /m ² d tai mg/m ³ d	2	1	1	1	
Eläinplankton: järvet	jäiden sulamisesta loppukesään	3 näytettä: keväällä, keskikesällä ja loppukesällä tai 2 näytettä: keväällä ja keski-/loppukesällä. Näytteessä tulisi olla vähintään 200 yksilöä.		2	2	2-3	2	
Perifyton	avovesikausi	kahdelta keinoalustalta näytteet: toinen kuormituksen alapuolelta ja toinen yläpuolelta	a-klorofylli mg/cm ³ , haihdutusjäätös eli kuivapaino, hehketushäviö eli orgaaninen aines	2	1	1	1	
Surviaissääskien kotelonahkamenetelmät Chironomid Pupal Exuvial Technique, CPET	avovesikausi	>200 kotelonahkaa/näyte	rehevystaso: (A)ol/(C)eu/(B)ind ilmentäjälajit--> surviaissääski-indeksi ekologinen tila: Sørensenin etäisyysindeksi orgaanisen kuormituksen voimakkuus: Chironomini-ryhmään kuuluvien lajien saprobia-luokitus	1	2	2	2	tarkentuu

Taulukko 6. Muiden biologisten seurantamenetelmien viitteet, herkkyys eri kuormitteille ja menetelmien sopivuus eri olosuhteisiin.

Menetelmä	Menetelmäviitteet	Paine	Herkkyys eri kuormitteille							Sopivuus eri olosuhteisiin			
			NH4	P	pH	orgaaninen kiintoaine	Fe	humus	Muut kuormitteet	järvi/joki	habitaatti	pohjan laatu	Pehmeä-pohjainen jokiuoma
Havas-menetelmä	Herve & Heinonen 2004b, Heinonen ym. 1984	rehevöityminen		x						järvet	Tutkittavana olevan järven verkkokalastuspaikat. Ei soveltu kovin matalille järville.	-	Ei
Koristelevät	Bijkerk, R.	rehevöityminen, yleinen pilaantuminen	x	x	x					järvet			Ei
Vesisammalmenetelmät	Vuori 2002, Vuori 2004, Vuori & Helisten 2010, Helisten 2009	metallikuormitus					x		metallipitoisuudet, orgaaniset myrkyt, radioaktiiviset aineet	joet	virtapaikka		Sopii (siirto-istutukset)
Vesiperhostoukkamenetelmät: bioakkumulaatio	Vuori 2002, Vuori 2004	haitta-ainekuormitus					x		haitta-aineet, esim. raskasmetallit tai orgaaniset yhdisteet	joet ja järvet	järvet: tyrskyrantojen rantakivikot joet: kosket	kivikko	Ei?
Vesiperhostoukkamenetelmät: morfologisten poikkeamien tutkimus	Vuori 2002, Vuori 2004	haitta-ainekuormitus							haitta-aineet, esim. raskasmetallit tai orgaaniset yhdisteet	joet ja järvet	järvet: tyrskyrantojen rantakivikot joet: kosket	kivikko	Ei?
Vesiperhostoukkamenetelmät: pyyntiverkon rakennevirheet	Vuori 2002, Vuori 2004	haitta-ainekuormitus							haitta-aineet, esim. raskasmetallit tai orgaaniset yhdisteet	joet	kosket	kivikko	Ei?
Surviaissääskien toukkien epämuodostumat	Anttila-Huhtinen 2010, Vuori ym. 2009, Hämäläinen 1998, Meregalli 2001, Vermeulen 1998, Honkanen 1999	haitta-ainekuormitus							haitta-aineet, esim. raskasmetallit tai orgaaniset yhdisteet	joet ja järvet	joet: suvannot.	pehmeät pohjat	Sopii
Karikepussimenetelmä	mm. Gessner & Chauvet 2002	rehevöityminen, pH, haitta-ainekuormitus		x	x		x		haitta-aineet, mm. metallit	Joet	virtapaikka	-	

Taulukko 7. Muiden biologisten seurantamenetelmien näytteenottoajankohdat, näytteenoton laajuus, näytekohtaiset kustannukset sekä arviointi menetelmän eri vaiheisiin tarvittavan ajan määrästä yhdellä jokipaikalla tai järvellä. Aikasarakkeen asteikko: 1 = vähän työaikaa (≤ 1 h), 2 = jonkin verran työaikaa (1 h – 1 henkilötyöpäivä), 3 = paljon työaikaa (≥ 1 henkilötyöpäivä). Työajan arvioinnissa ei ole huomioitu ajomatkoja.

Menetelmä	Näytteenotto- ajankohta	Tarvittava otos	Muuttujat tms.	Aika				Seurannan/ tarkkailun kustannukset euroa/näyte
				Näytteenotto, muut maasto- työvaiheet	Esikäsittely laboratoriossa	Määritys/ analysointi	Tulosten tulkinta	
Havas-menetelmä	kesä	Tarvitaan vähintään 3 verkkoa, lisäksi ainakin yksi vertailuhavas.	Klorofylli a ja kiintoaine. Tulokset ilmoitetaan havasgrammaa ja vuorokautta kohti (a-klorofylli mg/g x vrk, kiintoaine mg/g x vrk). Voidaan määrittää myös lajisto.	2	2	2-3 riippuen siitä määritetäänkö lajisto	2	
Koristelevät	touko-syyskuu?		Eri herkkyysasteisiin kuuluvan lajiston esiintyminen järvellä. (Lajiston jako 4 luokkaan sen mukaan miten herkkiä ne ovat ympäristön laadun heikkenemiselle). → ekologinen luokittelu (huono-erinomainen)	1		2-3	3?	145 (ks. taulukko 3: järvien kasviplankton)
Vesisammalmenetelmät	Kasvukausi	Siirtokohteissa on käytetty kolmea sammaltuppoa, tilavuus 1 l (Vuori 2002).	metallipitoisuus (mg/kg kuivapainoa)	1 (siirtoistutuksia tehtäessä 2)	2	1	2	
Vesiperhostoukkamenetelmät: bioakkumulaatio	loppukevät, alkukesä tai syksy	vähintään 30 toukkaa / tutkimuskohde	metallipitoisuus	2	2	1	2	
Vesiperhostoukkamenetelmät: morfologisten poikkeamien tutkimus	loppukevät		Kiduspoikkeamat, HYI-indeksi (kidustupsujen luokitteluun perustuva menetelmä), anaalipapillien poikkeamia omaavien yksilöiden %-osuus. Jos kyseessä on altistussarja, voidaan laskea EC ₅₀ -arvo	2	1	3	2	
Vesiperhostoukkamenetelmät: pyyntiverkon rakennevirheet		25-30 pyyntiverkkoa/kohde	HYNET-indeksi (5-luokkainen verkon rakenteellista virheellisyyttä kuvaava indeksi)	2	2	3	2	
Surviaissääskien toukkien epämuodostumat	syksy?	Kymijoki: 100 toukkaa / näyteasema Kokkola: 5 30-50 toukan rinnakkaisnäytettä/ havaintopaikka → yhteensä 150-250 yksilöä / havaintopaikka	epämuodostumien esiintymisfrekvenssi	1	2-3 Surviaissääsken toukkien erillinen kerääminen epämuodostuma tutkimukseen on koettu Kymijoen alaosan pohjaeläintarkka ilussa työlääksi.	3	2	
Karikepussimenetelmä	syksy (kevät?)	5-10 karikepussia per kohde	Lehtikarikkeen hajoamisnopeus, hajottajasienten biomassassa (ergosterol), hajottajasienten lajisto (DNA-menetelmä).	1-2 (karikepussien täyttäminen vie eniten aikaa)	2	2-3, riippuu määritetäänkö sienilajisto (DNA-sekvenssoinnin avulla)	2	

2.5 Yhteenvedo pehmeäpohjaisille uomille sopivista menetelmistä

Pehmeäpohjaisille uomille soveltuviksi menetelmiksi katsottiin taulukossa 8 mainitut menetelmät.

Taulukko 8. Pehmeille pohjille sopivat biologiset tarkkailumenetelmät ja niiden käytön rajoitteet.

Menetelmä	Rajoitteet
kasviplankton	joen koko rajoittaa menetelmän käyttöä, sillä näytteenotto on vaikeaa matalissa uomissa
piilevät	- näytteenotto sedimentin pinnalta voi olla haastavaa erodoituissa uomissa - paikalle vietävien keinoalustojen (esim. kivikori (luokittelu), nailonköysi) käyttö näytteenottoalustana, vaatii kaksi käyntiä asennusvuonna
perifyton	- vaatii kaksi käyntiä: viennin ja haun - keinoalustan inkubointiolosuhteet vesistössä oltava samat vertailualueella ja kuormituksen alla
CPET (surviaissääsken kotelonahkamenetelmät)	- kapeissa uomissa edustavan 200 kotelonahkaa käsittävän näytteen kerääminen voi olla vaikeaa tai jopa mahdotonta - näytteenoton ajoittaminen on hankalaa, sillä toukkien aikuistuminen ja siten myös kotelonahkojen esiintyminen edellyttää 1-2 päivän poutajaksoa ennen näytteenottoa - seurannassa ei välttämättä ole mahdollista mennä kohteelle montaa kertaa näytteenottokauden aikana (eri aikoina kuorittu eri lajeja)
kuoriamemat	tutkittu lähinnä järvien kuoriamematoja, jokien osalta tutkimukset ovat niukkoja
surviaissääsken toukkien epämuodostumat	työläs?
vesisammalet, bioakkumulaatio	- siirtoalustojen käyttö - vaatii kaksi käyntiä - epänormaali vesitilanne voi haitata siirtoistutusten onnistumista - edellyttää sellaisia vertailujokia, jotka - sijaitsevat riittävän lähellä tutkimuskohdetta - joissa kasvaa riittävä määrä isonäkinsammalta (<i>Fontinalis antipyretica</i>)
vesikasvit	lajisto voi olla pienissä pehmeäpohjaisissa uomissa niukkaa

3. BioTar-osatehtävässä testattavat menetelmät

3.1 Perusteet valinnalle

Tarkastelluista menetelmistä valittiin BioTar-hankkeessa testattaviksi CPET, vesisammalten bioakkumulaatio ja jokien piilevämenetelmä. Piilevänäytteet otetaan pääsääntöisesti sedimentin pinnalta ja kiviakareja käytetään intensiivikohteissa resurssien mukaisesti.

Nämä menetelmät valittiin, koska ne

- reagoivat turvemetsätalous ja -tuotantoalueilta tuleviin paineisiin (taulukko 9)
- soveltuvat pehmeäpohjaisille uomille
- ovat kustannustehokkaita (etenkin piilevä- ja CPET-menetelmä)

Taulukossa 10 on esitetty tarkemmin testattavien menetelmien edut ja kehityskohteet.

Taulukko 9. Testattavien menetelmien herkkyys eri kuormitteille.

Menetelmä	NH ₄	P	pH	Org. kiintoaine	Fe
piilevät	x	¹ x	x	x	
CPET (surviaissääsken kotelonahkamenetelmä)	² x	x	x?		
vesisammalet, bioakkumulaatio					x

Taulukko 10. Testattavien menetelmien edut ja ongelmat/kehityskohteet.

Menetelmä	Edut	Kehityskohteet
Piilevät	• Kustannustehokas: käsittelyaika samaa luokkaa kuin CPET-menetelmässä • Luotettavampi kuin perinteinen keinoalustamenetelmä • Soveltuu kaikenlaisiin vesistöihin • Lajisto reagoi nopeasti vedenlaadun muutoksiin	• Pienissä peratuissa joissa ei usein ole soveltuvaa kivikkoa → käytettävä joko kivikoria tai keinoalustaa, jonka vertailtavuus referenssiolojen yhteisöihin selvítettävä • Rehevyyttä ja saprobiaa kuvaavat piileväindeksit eivät ole herkkiä hitaasti hajoavalle orgaaniselle aineelle (turvesuot) • Piilevämäärittäjien interkalibrointi tärkeää
CPET (surviaissääsken kotelonahkamenetelmä)	• Kustannustehokas: näytteen käsittelyaika n. 2-4 h (vrt. potkuhaavinäytteet) • Määrittäminen kotelonahoista helppoa, etenkin sukutasolle (opeteltavissa parissa viikossa) • Signaali-häiriö suhde parempi kuin syväne- tai koskien potkuhaaviaineistoissa • Soveltuu lähes kaiken tyyppisiin vesistöihin ja on riippumaton pohjasedimentin laadusta ja vaihtelusta • Näytteet kuvaavat laajan alueen eri pienelinympäristöjen ja syvyyksien lajistoa	• Pienissä puroissa joskus vaikea saada riittävää otosta • Pienet latvavedet ovat vaikeita ennustettavia ja tulokset vaikeita tulkita surviaissääsken osalta, koska pienten purojen olosuhteet vaihtelevat paljon • Surviaissääsken vastetta kuormitukseen ei tunneta turvemaiden osalta • Purojen lähdevaikutteisuus näkyy lajistossa • Huonosti tunnettu → vähän osaajia, toisaalta sukutasolle määrittämisen oppii verrattain nopeasti • Vertailuolosten lajistosta vähän tietoa • Tulosten tallentaminen tietokantoihin?
Vesisammalet, bioakkumulaatio	• Sammalten tuoreet versonosat keräävät metalleja lehtisolukoihinsa nopeasti ja kohonneet pitoisuudet säilyvät niissä useita päiviä → kykenevät ilmentämään lyhytkestoisikin kuormitushuippuja • Sammalten metallipitoisuus tuoreissa versonosissa ilmentää hyvin jokiveden liukoisen ja biologisesti saatavilla olevan metallifraktion määrää ja laatua • Sammalia on suhteellisen helppo kerätä ja siirtää	• edellyttää, että kohtuullisen välimatkan päästä tutkittavia kohteita löytyy tutkimuksessa käytettävää sammallajia kasvava kohde, jossa on matalat metallipitoisuudet • vaatii kaksi käyntiä tutkittavalla kohteella

3.2 Menetelmien kuvaukset

3.2.1 Piilevämenetelmä

Piileviä on kauan käytetty eri puolilla maailmaa veden laadun seurannassa sekä vesistö- ja paleolimnologisissa tutkimuksissa. Suomessa piilevämenetelmää on kehitelty jokivesien tilan arviointia varten 1990-luvulta lähtien ja ympäristöhallinnon seurannoissa sitä on käytetty vuodesta 2007 lähtien. Piileviä käytetään myös vesipuitedirektiivin makrofytyt ja fytoENTOS -laatu-teki-jässä jokivesien ja järvien ekologisen tilan arvioinnissa. Piilevien käyttö jokivesissä on standardoitu (SFS-EN 13946, SFS-EN 14407, SFS-EN 15110).

Piilevälajien ja -yhteisöjen pohjalta on kehitetty useita indeksejä kuvaamaan vesistön tilaa. Osa menetelmistä pohjautuu sedimentillä kasvaviin yhteisöihin, osa pinnoilla (esimerkiksi kivillä tai kasveilla) kasvaviin piileviin. Piilevistä tunnetaan useita erilaisia ympäristöolosuhteita kuvaavia lajeja sekä lajiryhmiä. Koska piileviä esiintyy runsaasti ja niiden lajilukumäärä on suuri, voidaan muun muassa piilevien lajisuhteiden perusteella arvioida vesistön ominaisuuksia suhteellisen hyvin. Piilevien elinkierto on nopea, joten ne reagoivat muuttuviin olosuhteisiin nopeasti.

Piileviä esiintyy kaikkialla, missä valoa ja kosteutta on tarpeeksi levien kasvuun, joten niitä esiintyy vesistöissä ympäri vuoden. Vesistöstä otettavasta piilevänäytteestä tehdään piileväpreparaatti lajimääritystä varten. Tämä preparaatti säilyy käytännössä ikuisesti.

Menetelmän vaiheiden kuvaus

Tässä kuvataan lyhyesti menetelmävaiheet. Piilevämenetelmästä on laadittu ohjeistus suomalaisiin olosuhteisiin (Eloranta ym. 2007). Ohjeistus perustuu menetelmästandardeihin (SFS-EN 13946, SFS-EN 14407).

Maastotyövaiheet

Piilevänäyte tulee aina ottaa valaistussa kerroksessa ja veden alla olevalta pinnalta. Sedimentiltä piilevänäytettä otettaessa vedetään puhdasta pipettä sedimentin pinnassa ja tyhjennetään pipetin sisältö näytepurkkiin. Kivien pinnoilta otettavaan piilevänäytteeseen kerätään noin 10–15 cm kokoisia kiviä. Virtausnopeuden tulisi olla kohtalainen tai nopeahko ($0,2\text{--}0,5\text{ m s}^{-1}$), jotta kivien pinnoille ei olisi sedimentoinut kiintoainetta. Kerättävien kivien tulisikin olla yläpinnaltaan mahdollisimman paljaita, myös vailla tiheää sammal- tai rihmaleväpeitettä. Niiden on myös tullut olla veden alla vähintään näytteenottoa edeltävät 6 viikkoa. Kivet kerätään puhtaaseen muoviasiastaan kiven yläpinta ylöspäin ja yläpinnat harjataan seuraavasti: astiaan lisätään pieni määrä vettä, johon puhdas hammasharja kastetaan. Kivi kerrallaan harjataan voimakkaasti hammasharjalla välillä harjaa vedessä hujutellen, jolloin piilevät siirtyvät harjasta näyteveteen. Kiveä pidetään näyteastian yläpuolella, jotta pohjassa olevat kuolleet piilevät eivät siirtyisi näytteeseen. Näyte kaadetaan muoviasiasta näytepurkkiin.

Näyte säilötään etanolilla, lugolilla tai pakastetaan. Piilevänäytteet säilötään mieluiten jo maastossa tai sitä säilytetään kylmässä ja pimeässä ennen säilöntäaineen lisäämistä tai pakastamista. Näytepurkkiin merkitään vähintään näytteenottopaikan nimi, koordinaatit, näytteenottopäivämäärä ja kasvualusta. Näytepaikkatiedot sekä kaikki poikkeukset näytteenotossa (esim. sopivien alustojen vähyys) tulisi kirjata maastohavaintolomakkeelle, jollaisen voi tulostaa Suomen ympäristökeskuksen Internet-sivuilta.

Taulukko 10. Piilevänäytteenotossa tarvittavat välineet.

- näytepurkit
- maalarinteippiä ja lyijykyniä
- muoviasiasta
- hammasharjoja
- maastolomakkeet
- GPS
- kohdekartat
- säilöntäaine esim. etanoli

Näytteiden käsittely laboratoriossa

Näytteet käsitellään laboratoriossa eloperäisen aineksen poistamiseksi näytteestä, jolloin piilevien kuorien lajituntomerkit tulevat paremmin näkyviin. Näytteiden märkäpoltossa voidaan käyttää vetyperoksidikäsittelyä, mutta näytteet voi myös puhdistaa happokäsittelyllä (kts. Eloranta ym. 2007). Käsittelyissä käytettävät hapetuskemikaalit on poistettava riittävän monilla peräkkäisillä sentrifugoinneilla tai laskeutuksilla. Puhdistettu näyte säilötään etanoliin.

Näytepreparaatin valmistuksessa pisara puhdistettua näytettä pannaan alkoholilla pestylle peitinlasille kuivumaan huoneenlämmössä. Kuivuneelle näytteelle tipautetaan pisara petaushartsia, jonka taitekerroin on $>1,6$ (esimerkiksi Naphrax) ja peitelasi käännetään objektilasille tai ylösalaisin käännetty objektilasi lasketaan kevyesti peitinlasin päälle, jolloin peitinlasi tarttuu objektilasiin. Hartsin sisältämä liuotin haihdutetaan keittolevyllä näytettä kuumentaan.

Näytteistä tulee aina tehdä useampia rinnakkaisia preparaatteja. Koska preparaatit ovat periaatteessa ikuisesti säilyviä, niiden etikettien on oltava kestäviä ja riittävät tiedot sisältäviä.

Määrittäminen

Piilevien lajimääritys vaatii asiantuntemusta ja kokemusta. Lajitunnistuksessa tarvitaan faasikontrastilla tai DIC:llä varustettu valomikroskooppi, jolla saadaan 1000–1500-kertainen suurennus. Yleensä piileväpreparaatista lasketaan 400–500 piilevien valvua eli kuoren puolikasta.

Tulokset

Piilevistä laskettavia indeksejä ovat muun muassa

- Suomen ympäristöhallinnon käyttämät indeksit tyyppiominaiset taksonit (TT) ja suhteellinen mallinkaltaisuus (PMA) kivipinnoilta otetuille piilevänäytteille kuvaamaan eroa vertailuolosuhteista otettuun piileväyhteisöön
- IPS, jota käytetään paljon Euroopassa kuvaamaan vesistön rehevöitymistä ja orgaanista pilaantumista (Coste: Cemagref 1982)
- sedimentin piileville kehitettyjä fysikaalisia häiriöitä kuvaavia NNS’-, NH/NA(NNS’)- ja NNS-indeksit (Gallo ym.2013)

3.2.2 CPET

Surviaissääsken kotelonahkamenetelmää (Chironomid Pupal Exuvial, CPET) on käytetty Kymijoen ylä- ja alaosan tarkkailussa (Raunio 2009), mutta muuten menetelmä on Suomessa vielä varsin vähän käytetty. Sen käyttö pohjaeläintutkimuksissa on yleisempää Keski-Euroopassa ja Pohjois-Amerikassa. Esimerkiksi Isossa Britanniassa menetelmää käytetään vesipuitedirektiivin mukaisissa seurannoissa järvillä (Birk ym. 2010, Ruse 2010). CPET-menetelmää on kuitenkin myös suomalaisten tutkimusten perusteella esitetty vaihtoehtoiseksi tai täydentäväksi menetelmäksi perinteisten menetelmien rinnalle (Raunio 2008). Menetelmä on standardoitu (SFS-EN 15196:2006).

Kotelonahkanäytteet tarjoavat kokonaisemman kuvan surviaissääskilajistosta kuin perinteiset näytteenottomenetelmät, koska surviaissääsket muodostavat merkittävän osan pohjaeläimistöstä ja perinteisessä pohjaeläinnäytteenotossa surviaissääskien tunnistustaso jää hyvin karkealle tasolle. CPET-menetelmä on todettu myös kustannustehokkaaksi (Raunio 2008). Menetelmässä hyödynnetään tuulen ja virtauksen kotelonahkoja kokoavaa vaikutusta. Virtavesillä kotelonahkoja kerääntyy mm. paikkoihin, jossa on vedenpinnan yläpuolelle ulottuvaa kasvillisuutta, virtaus on hitaampaa kuin muualla joessa tai esiintyy akanvirtoja. Näytteenotto tapahtuu haavimalla em. paikoilta käsihaavilla kunnes koossa on vähintään 200 kotelonahkaa.

Surviaissääsken aikuistuminen alkaa Etelä-Suomessa huhti-toukokuun vaihteessa ja alkaa vähetä syyskuun puolivälissä. Eniten aikuistumista tapahtuu heinäkuun loppupuoliskolla, mikä onkin paras aika näytteenottoon, jos on mahdollista ottaa vain yksi näyte kultakin näytepisteeltä (Raunio 2008). Näyte koostuu viimeisen kahden vuorokauden aikana aikuistuneiden surviaissääskien kotelonahoista (Coffman 1973, Wilson & Ruse 2005).

Menetelmän vaiheiden kuvaus

Kuvaus perustuu suomalaisiin CPET-tutkimuksiin (Raunio 2008, 2009, 2012), menetelmäohjeisiin (Wilson & Ruse 2005) sekä menetelmästandardiin (SFS-EN 15196:2006).

Maastotyövaiheet

Haavitaan käsihaavilla (havas < 250 µm) rannalta käsin veden pinnalla kelluvia surviaissääsken kotelonahkoja niiden kerääntymispaikoilla (esim. sisävirran puolelta uomaa ja puunrunkojen luota). Tällaisille paikoille on usein kertynyt myös vaahtoa ja muuta kelluvaa kariketta.

Haavinnan jälkeen haavin sisältö tyhjennetään näytteenottopaikan vedellä täytettyyn sankoon. Poistetaan sangosta isoimmat roskat ja arvioidaan silmämääräisesti kotelonahkojen lukumäärää. Aines kaadetaan siivilän (havas <250 µm) läpi, ja seulontajäännös kaadetaan näyterasiaan (esim. 0,5 l) ja säilötään 70 %:een etanoliin. Näytteen voi tarvittaessa siivilöidä ennen 250 µm:n haavia karkeammalla esim. 4 mm:n haavilla poimintatyön helpottamiseksi.

Haavintaa jatketaan, kunnes on saatu vähintään 200 kotelonahkaa. Seuraavan haavinnan tulos yhdistetään samaan näytepurkkiin. Riittävän kotelonahkamäärän haavimiseen menee yleensä 10-30 min puosta ja kerääntymispaikkojen runsaudesta riippuen. Haavinta-aikaa ei ole rajattu, koska vain kotelonahkojen määrä on ratkaiseva.

Näytteiden käsittely laboratoriossa

Näyteastiaa sekoitetaan ja siitä kaadetaan pieni osanäyte poiminta-alustalle. Osanäytteestä poimitaan ja lasketaan kaikki kotelonahat. Jos osanäytteen kotelonahkojen määrä jää alle 200, kaadetaan poiminta-alustalle uusi osanäyte, josta poimitaan samoin kaikki kotelonahat. Vastaavasti, jos osanäytteessä on selvästi liian paljon kotelonahkoja, otetaan pienempi osanäyte. Poimitut kotelonahat säilötään edelleen vähintään 70%:een etanoliin.

Määrittäminen

Suomalaisissa tutkimuksissa näytteet on määritetty pääasiassa lajilleen. Suurin osa tunnistamisesta voidaan tehdä käyttäen binokulaarimikroskooppia. Osa näytteistä vaatii tunnistamista tarkemmalla mikroskoopilla objektilasilta.

Taulukko 11. CPET-näytteenotossa tarvittavat välineet

- käsihaavi (havas < 250 µm)
- siivilät/seulat
- valkoinen muovisanko
- näyterasia, jossa on vesitiivis kansi
- paperia/tarroja ja kyniä näytepurkkien merkitsemiseen
- lomakkeet
- GPS
- kohdekartat

Tulokset

Surviaissääskiaineistoista laskettavia muuttujia ovat (esim. Raunio 2009):

- Rehevystaso: (A)ol/(C)eu/(B)ind ilmentäjälajit surviaissääski-indeksin arvo
- Ekologinen tila: Sørensenin etäisyysindeksi
- Orgaanisen kuormituksen voimakkuus: Chironomini-ryhmään kuuluvien lajien saprobia-luokitus

3.2.3 Vesisammalet, bioakkumulaatio

Vesisammalten hyvän metalliensitomiskyvyn vuoksi niitä on käytetty paljon metallikuormituksen seurannassa eri puolilla Eurooppaa. Useat vesisammallajit kasvavat uoman pohjalla kiinteillä pinnoilla, etenkin koskikivillä muodostaen tiheitä kasvustoja. Ne kuvaavat hyvin pohjan myötäistä kuormitusta ja joen ekologista tilaa (Vuori 2004). Vesisammaliin kertyy metalleja nopeasti, jo muutamassa päivässä. Metallien vapautuminen on puolestaan hidasta ja kestää kuukausia (Cenci 2000). Nopeita kuormitushuippuja voidaan mitata versojen kärkien nuorista osista (Mouvet ym. 1993, Vuori 2002). Pitkäkestoista metallikuormitusta ilmentämään käytetään koko versosta mitattuja pitoisuuksia (Say & Whitton 1983, Vuori 2002, Vuori & Helisten 2010, Vuori ym. 2003).

Vesisammalten metallipitoisuuksia voidaan mitata joko luonnonalustoilla kasvavista sammalista tai niiltä kerätystä ja siirtoistutetuista sammalista. Koska pehmeöpohjaisissa uomissa vesisammalia kasvaa niukasti tai ei lainkaan, käytetään tässä tutkimuksessa sammalten siirtoistutusmenetelmää. Vuori (2002) on laatinut siirtoistutuskokeiden tarkat menetelmäohjeet, joissa on huomioitu virhetekijöiden minimointi. Menetelmäohjeet on tehty kovapohjaisille ja virtaukseltaan vuolaille kohteille, mutta niitä voidaan soveltaa myös pehmeöpohjaisille uomille.

Metallipitoisuuksien ilmentäjänä on etenkin siirtoistutuskokeissa käytetty yleisesti näkinsammalia (*Fontinalis* spp.), erityisesti isonäkinsammalta (*Fontinalis antipyretica*). Se kasvaa koko Suomessa, ja on runsain kirkasvetisissä järvissä ja joissa (Koponen ym. 1995). Laji on helppo tunnistaa kolmirivisistä lehdistään. Isokokoisena ja kookkaana sammaleena sen kärkiosat on helppo preparoida erilleen ilman, että mukaan tulee vanhempia lehtiä (Vuori & Helisten 2010).

Menetelmän vaiheiden kuvaus

Siirtoistutukset ja näytteenotto

Tutkittaviin kohteisiin siirrettävät vesisammalet siirretään koepaikoille alueilta, jossa metallipitoisuudet ovat pienet eikä kuormittajia ole tai kuormitus on mahdollisimman vähäistä. Näytteiden taustapitoisuuksien pitää olla mahdollisimman samankaltaiset.

Siirtoistutukset voidaan tehdä esim. muoviverkkoaitaan, joka kiinnitetään seipäiden varaan tai ankkuroidaan, kuvassa 3 esitetyn kaltaisiin telineisiin tai tiiliskiviin. Siirtoistutusalustaksi tulee kuitenkin valita materiaali, joka ei sisällä rautaa.

Alla esitetty kuvaus noudattaa pääosin Vuoren (2002) laatimaa ohjetta.

1. Ennalta valitaan alkuperäiseltä kasvupaikalta, yleensä koskesta, alue, jonka sisältä sammalet kerätään virtausoloiltaan mahdollisimman samankaltaisilta paikoilta. Jos mahdollista, sammalet kerätään samalta syvyysalueelta hieman keskivedentason alapuolelta.
2. Sammalten kerääminen aloitetaan kosken alaosasta. Kahlaamissuunta on ylävirtaan päin. Jokaisella poiminnalla pyritään saamaan noin litran suuruinen määrä sammalta. Mittana voidaan käyttää happopestyä pakastuspurkkia. Sammaltuppo ravistellaan huolellisesti veden alla (10x) ja siirretään happopestyyn kuljetusastiaan, jonka pohjalla on reilusti

joesta otettua vettä. Lisäksi kerätään kolme ylimääräistä tupasta happopestyyn pakastusrasiaan tai muovipussiin pakastamista ja metallimääritystä varten (astiaan merkitään päivämäärä ja paikka).

3. Kuljetusastiat siirretään hyvin suojattuina siirtoistutuskohteisiin. Kuljetusastioiden lämpötila pidetään mahdollisimman lähellä jokiveden lämpötilaa (esim. kylmävaraajien avulla). Sammalten kuljetusmatkat siirtopaikkoihin suunnitellaan mahdollisimman lyhyiksi.
4. Siirtokohteissa otetaan kolme litran suuruista sammaltupasta ja kiinnitetään ne siirtoistutusalustaan esimerkiksi nippusiteillä. Astia, josta tupas otetaan, arvotaan joka kerta erikseen. Tuppaat kiinnitetään muoviverkon yläosaan tasaisin välein (esim. noin 15 cm). Jos kiinnittäminen edellyttää uomassa kävelemistä, pysytellään koko ajan siirtoalustan alavirran puolella.



Kuva 3. Siirtoistutusteline.

5. Mitataan virtausnopeudet kunkin siirtoistutetun tuppaan yläpuolelta ja lisäksi siirtoistutuspaikan syvyys. Merkitään ylös pohjanlaatu.
6. Määrätyn ajan, esim. viikon kuluttua sammaleet kerätään siirtoistutettuihin happopestyihin pakastusrasioihin. Kerääminen aloitetaan siitä kohteesta, johon sammat ensimmäiseksi siirrettiin koetta perustettaessa. Kädet suojataan kertakäyttöhansikoilla ja koko ajan pysytellään siirtoistutusalustan alavirran puolella. Nippusiteet katkaistaan leikkurilla tai puukolla, mutta varotaan koskettamasta sillä sammalta. Ravistellaan tupas huolellisesti samoin kuin edellä. Puristetaan liika vesi pois ja siirretään sammaltupas kannelliseen pakastusastiaan. Astiaan merkitään päivämäärä ja paikka. Näytteet kuljetetaan mahdollisimman hyvin viilennettyinä laboratorioon pakastettavaksi.
7. Kokeen purkamispäivänä tai viimeistään seuraavana päivänä käydään keräämässä samalla tavalla myös noin kolme litraa sammalten alkuperäiseltä kasvupaikalta. Tämä näyte pakastetaan ja sitä käytetään vertailunäytteenä, kun määritellään kokeen lopussa vallinneita taustapitoisuuksia.

Sammalten keruussa, kuljetuksessa ja siirtoistutuksessa kulunut aika sekä ajoreitit (järjestys missä kohteilla käyty) kirjataan ylös sekä mahdolliset vaikeudet maastotöiden käytännön toteutuksessa.

Taulukko 12. Vesisammalten siirtoistutuksessa ja näytteenotossa tarvittavat välineet.

1. Siirtoistutus: sammalten haku alkuperäiseltä kasvupaikalta ja istutus tutkittaville kohteille	• kertakäyttöhansikkaita • 1 l suuruinen happopesty pakasterasia • kuljetusastia/-astioita • kylmävaraajia • siirtoistutusluset • nippusiteitä • jotain alustan kiinnittämiseen • GPS • kohdekartta • lomakkeet ja kyniä • kamera • mittakeppi
2. Näytteenotto	• kertakäyttöhansikkaita • happopestyjä kannellisia pakasterasioita • tarroja/paperia ja tusseja näytteiden näyterasioiden merkitsemiseen • puukko • GPS • kohdekartat • kamera

Työvaiheet laboratoriossa

Sammalnäytteiden esikäsittely tehdään Vuoren (2002) esittämällä tavalla:

- sammalnäytteet pestään eli irrotetaan version pinnalle tarttunut aines
- preparoidaan
- homogenisoidaan
- kuivatetaan näyte kylmäkuivurilla
- punnitaan
- märkäpoltetaan näyte
- jäähdytetään ja laimenetaan
- analysoidaan sopivalla tekniikalla

Tulokset

Tulokset ilmoitetaan metallipitoisuuksina (mg/kg kuivapainoa).

Kirjallisuus

- Anttila-Huhtinen, M. 2010. Kymijoen alaosan pohjaeläintarkkailu (pehmeät pohjat) vuonna 2008. Kymijoen vesi ja ympäristö ry:n julkaisu no: 204. 24 s. + liitteet.
- Aroviita, J., Hellsten, S., Jyväsjärvi, J., Järvenpää, L., Järvinen, M., Karjalainen, S. M., Kauppila, P., Keto, A., Kuoppala, M., Manni, K., Mannio, J., Mitikka, S., Olin, M., Perus, J., Pilke, A., Rask, M., Riihimäki, J., Ruuskanen, A., Siimes, K., Sutela, T., Vehanen, T. ja Vuori, K.-M. 2012. Ohje pintavesien ekologisen ja kemiallisen tilan luokitteluun vuosille 2012–2013 – päivitetyt arviointiperusteet ja niiden soveltaminen. Suomen ympäristökeskus. Helsinki. Ympäristöhallinnon ohjeita 7/2012, Ympäristönsuojelu. 144 s.
<http://www.ymparisto.fi/default.asp?contentid=427506&lan=fi>
- Bijkerk, R. Desmids as indicator organisms in the Water Framework Directive.
<http://www.koemanenbijkerk.nl/uploads/poster-sieralg.pdf> . Viitattu 15.10.2012.
- Birk, S., Strackbein, J. & Hering, D., 2010. WISER methods database. Chironomid Pupal Exuvial Technique/United Kingdom. Version: March 2011. <http://www.wiser.eu/results/method-database/>. Viitattu 11.10.2012.
- Birk, S., Strackbein, J. & Hering, D., 2010. WISER methods database. Index Phytoplankton PhytoFluss/Germany. Version: March 2011. <http://www.wiser.eu/results/method-database/>. Viitattu 11.10.2012.
- Cemagref, 1982. Etude des méthodes biologiques quantitatives d'appréciation de la qualité des eaux. Rapport Division Qualité des Eaux Lyon, Agence financière de Bassin Rhone - Méditerranée – Corse, Pierre-Bénite. 218 p.
- Cenci, R. 2000. The use of aquatic moss (*Fontinalis antipyretica*) as monitor of contamination in standing and running waters: limits and advantages. J. Limnol. 60(1):53-61.
- Coffman, W. P. 1973. Energy flow in a woodland ecosystem: II. The taxonomic composition and phenology of the Chironomidae as determined by the collection of pupal exuviae. Archiv für Hydrobiologie 71: 281-322.
- Eloranta, P. 2004. Piilevät. Julkaisussa: Ruoppa, M. & Heinonen P. (toim.) 2004. Suomessa käytetyt biologiset vesitutkimusmenetelmät. Suomen ympäristökeskus. Helsinki. Suomen Ympäristö 682. ss. 26-32.
- Eloranta, P., Karjalainen S.M. ja Vuori, K-M. 2007. Piileväyhteisöt jokivesien ekologisen tilan luokittelussa ja seurannassa – menetelmäohjeet. Ympäristöopas, Pohjois-Pohjanmaan ympäristökeskus, Oulu, 58 s.
- Foissner, W. 1994. High Numbers of Testate Amoebae (Protozoa) in the Benthon of Clean, Acidified Mountain Streams. Limnologica 2:323-331.
- Gallo, L., Battagazzore, M., Corapi, A., de Filippis, A., Mezzotero, A., Lucadamo, L. 2013. Environmental analysis of a regulated Mediterranean stream based on epilithic diatom communities – the Crati River case (southern Italy), Diatom Res. 28, 143-156.
- Gessner, M.O. & Chauvet, E. 2002. A case for using litter breakdown to assess functional stream integrity. Ecological Applications 12:498-510.

- Heinonen, P., Herve, S. & Yli-Karjanmaa, S. 1984. A method for estimation of sliming of nets in lake waters. *Aqua Fennica* 14, 1: 59-64.
- Helisten, H. 2009. Vesisammalet raskasmetallikuormitukset ilmentäjinä Suomen jokivesistöissä. Pro gradu – tutkielma. Oulun yliopisto, Biologian laitos. 63. s.
- Herve, S. & Heinonen, P. 2004a. Perifytonmääritys keinoalustoilta. Julkaisussa: Ruoppa, M. & Heinonen P. (toim.) 2004. Suomessa käytetyt biologiset menetelmät. Suomen ympäristökeskus. Helsinki. Suomen Ympäristö 682. ss. 33-37.
- Herve, S. & Heinonen, P. 2004b. Verkkohavaksen limoittuminen. Julkaisussa: Ruoppa, M. & Heinonen P. (toim.) 2004. Suomessa käytetyt biologiset vesitutkimusmenetelmät. Suomen ympäristökeskus. Helsinki. Suomen Ympäristö 682. ss. 40-42.
- Honkanen, J. 1999. Surviaissääsken (Diptera, Chironomidae) toukkien suuosien epämuodostumien käyttö saastuneiden sedimenttien biomarkkereina, tapaustutkimus Kymijoelta. Joensuun yliopisto. 44 s.
- Hämäläinen, H. 1998. Critical appraisal of the indexes of chironomid larval deformities and their use in bioindication. *Ann. Zool. Fennici* 36: 179-186.
- Kihlman, S. M. & Kauppila, T. 2009. Mine Water-induced gradients in sediment metals and arcellacean assemblages in a boreal freshwater bay (Petkellahti, Finland). *Journal of Paleolimnology* 42, 533-550.
- Koponen, T., Karttunen, K. & Piippo, S. 1995. Suomen vesisammalkasvio. *Bryobrothera* 3. 86 s.
- Kuoppala, M., Hellsten, S. ja Kanninen, A. 2008. Sisävesien vesikasviseurantojen laadunvarmennus. Suomen ympäristö 36. 93 s.
- Meissner, M., Aroviita, J., Hellsten, S., Järvinen, M., Karjalainen, S. M., Kuoppala, M., Mykrä, H. & Vuori, K. M. Jokien ja järvien biologinen seuranta - näyteenotosta tiedon tallentamiseen. 41 s. Versio 24.4.2012.
- Meregalli, G. 2001. Mouthpart Deformities in *Chironomus riparius*: a bioindication of sediment toxicity. - PhD thesis University of Leuven, Belgium.
- Mouvet, C., Morhain, E., Sutter, C. & Counturieux, N. 1993. Aquatic mosses for the detection and follow-up of accidental discharges in surface waters. *Water, Air and Soil Pollution*. 66:333-348.
- Mäkelä, A., Antikainen, S., Mäkinen, I., Kivinen, J. & Leppänen, T. 1992. Vesitutkimusten näyteenottomenetelmät. Vesi- ja ympäristöhallitus. Helsinki. Vesi- ja ympäristöhallinnon julkaisuja B 10. 87 s.
- Rahkola-Sorsa, M. 2008. The structure of zooplankton communities in large boreal lakes and assessment of zooplankton methodology. Väitöskirja. University of Joensuu, PhD Dissertation in Biology No:59. Joensuun yliopisto. 117 s.
- Raunio, J. 2008. The use of Chironomid Pupal Exuvial Technique (CPET) in freshwater biomonitoring: applications for boreal rivers and lakes. Väitöskirja. Acta universitatis ouluensis 500. Oulun yliopisto. 42 s.
- Raunio, J. 2009. Kymijoen alaosan pohjaeläintarkkailu vuonna 2008: surviaissääsken kotelonahkamenetelmän tulokset. Kymijoen vesi- ja ympäristö ry:n julkaisu no 178/2009. 27 s.
- Raunio, J. 2012. Taso-hankkeen surviaissääskitutkimusten tulokset vuodelta 2012. Kymijoen vesi- ja ympäristö ry:n tutkimusraportti no 173/2012. 9s. + liitteet.

- Roe, H. M., Patterson, R. T. & Swindles G. T. 2010. Controls on the contemporary distribution of lake thecamoebians (testate amoebae) within the Greater Toronto Area and their potential as water quality indicators. *Journal of Paleolimnology* 43, 955-975.
- Ruoppa, M. & Heinonen, P. 2004. Suomessa käytetyt biologiset vesitutkimusmenetelmät. Suomen ympäristökeskus. Helsinki. Suomen ympäristö 682. 119 s.
- Ruse, L. 2010. Classification of nutrient impact on lakes using the chironomid pupal exuvial technique. *Ecological Indicators* 10:594-601.
- Rääpysjärvi, J. 2012. Suurkasvillisuus jokien ekologisen tilan arvioinnissa. Pro gradu –tutkielma. Jyväskylän yliopisto. 39 s. + liitteet 15 s.
- Sarvala, J. 2002. Eläinplankton. Teoksessa: Ruoppa, M. & Heinonen, P. (toim.) Suomessa käytetyt biologiset vesitutkimusmenetelmät. Suomen ympäristökeskus. Helsinki. Suomen ympäristö 682. ss. 14-21.
- Say, P. J. & Whitton, B. A. 1983. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses. 1: *Fontinalis antipyretica* Hedw. *Hydrobiologia* 100:245-260.
- SFS 3049:1977. Kasviplanktonin perustuotannon ja perustuotantokyvyn määrittäminen radiohiili (¹⁴C) menetelmällä. Water quality. Estimation of phytoplankton primary production and primary production ability with ¹⁴C tracer technique. Suomen standardisoimisliitto SFS ry, Helsinki. 6 s.
- SFS 5730:1992. Vesitutkimukset. Pehmeiden pohjien pohjaeläimistön ja sedimentin näytteenotto putkinoutimella. Water quality. Sampling of the bottom fauna and sediments on soft bottoms with tube sampler. Suomen standardisoimisliitto SFS ry, Helsinki. 8 s.
- SFS 5076:1989. Vesitutkimukset. Pohjaeläinnäytteenotto Ekman-noutimella pehmeiltä pohjilta. Water quality. Sampling of the bottom fauna on soft bottoms with an Ekman grab. Suomen standardisoimisliitto SFS ry, Helsinki.
- SFS 5077:1989. Water quality. Handnet sampling of the bottom fauna in running waters. Vesitutkimukset. Pohjaeläinnäytteenotto käsihaavilla virtaavissa vesissä. Suomen standardisoimisliitto SFS ry, Helsinki.
- SFS-EN 1546:2008. Water quality – Guidance standard for the surveying of macrophytes in lakes. Suomen standardisoimisliitto SFS ry, Helsinki. 20 s.
- SFS-EN 13946:2003. Veden laatu. Jokivesien piilevien näytteenotto ja esikäsittely. Water quality. Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers. Suomen standardisoimisliitto SFS ry, Helsinki. 12 s.
- SFS-EN 14184. Veden laatu. Ohje vesikasvien tutkimiseksi virtaavissa vesissä. Water quality - Guidance standard for the surveying of aquatic macrophytes in running waters. Suomen standardisoimisliitto SFS ry, Helsinki. 14 s.
- SFS-EN 14407:2005. Water quality. Guidance standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters. Suomen standardisoimisliitto SFS ry, Helsinki. 12 s.
- SFS-EN 15110:2006. Water quality. Guidance standard for the routine sampling of zooplankton from standing waters. Suomen standardisoimisliitto SFS ry, Helsinki. 23 s.
- SFS-EN 15196:2006. Water quality - Guidance on the sampling and processing of pupal exuviae of Chironomidae (Order Diptera) for ecological assessment. Suomen standardisoimisliitto SFS ry, Helsinki. 9 s.

- SFS-EN 15708:2010. Water quality. Guidance standard for surveying, sampling and laboratory analysis of phytobenthos in shallow running water. Suomen standardisoimisliitto SFS ry, Helsinki.
- SFS-EN 28265:1994. Veden laatu. Pohjaeläinten kvantitatiivinen näytteenotto matalilta kivikkopohjilta. Noutimien mallit ja käyttö. Water quality. Design and use of quantitative samplers for benthic macro-invertebrates on stony substrata in shallow freshwaters (ISO 8265:1988). Suomen standardisoimisliitto SFS ry, Helsinki.
- Vermeulen, A. C. 1998. Head capsule deformation in *Chironomus riparius* larvae (Diptera): causality, ontogenesis, and its application in biomonitoring. PhD thesis University Leuven, Belgium.
- Vuori, K.-M. 2002. Vesisammal- ja vesiperhosmenetelmät jokivesistöjen haitallisten aineiden riskinarvioinnissa ja seurannassa. Länsi-Suomen ympäristökeskus. Vaasa. Suomen ympäristö 571. 89 s.
- Vuori, K.-M. 2004. Vesisammalmenetelmät. Teoksessa: Ruoppa, M. & Heinonen, P. (toim.) Suomessa käytetyt biologiset vesitutkimusmenetelmät. Suomen ympäristökeskus. Helsinki. Suomen ympäristö 682. ss. 61-62.
- Vuori, K.-M. 2004. Vesiperhostoukkamenetelmät. Teoksessa Ruoppa, M. & Heinonen, P. (toim.) Suomessa käytetyt biologiset vesitutkimusmenetelmät. Suomen ympäristö 682. Suomen ympäristökeskus, Helsinki. ss. 62-64.
- Vuori, K.-M. & Helisten, H. 2010. The use of aquatic mosses in assessment of metal pollution: appraisal of type specific background concentrations and inter-specific differences in metal accumulation. *Hydrobiologia* 656: 99-106.
- Vuori, K.-M., Hellsten, S., Järvinen, M., Kangas, P., Karjalainen, S. M., Kauppila, P., Meissner, K., Mykrä, H., Olin, M., Rask, M., Rissanen, J., Ruuhijärvi, J., Sutela, T. ja Vehanen, T. 2008. Vesienhoitoalueiden biologisten seurantojen järjestäminen ja määritysten hankinta. Työryhmän ehdotukset seurantaohjelman uudistamista varten. Suomen ympäristökeskus. Helsinki. Suomen ympäristökeskuksen raportteja 35. 74 s.
- Vuori, K.-M., Mitikka, S. ja Vuoristo, H. (toim.) 2009. Pintavesien ekologisen tilan luokittelu. Osa I: Vertailuolot ja tilaluokan määrittäminen. Osa II: Ihmistoiminnan ympäristövaikutusten arviointi. Suomen ympäristökeskus. Helsinki. Ympäristöhallinnon ohjeita 3/2009. 120 s.
- Vuori, K.-M., Siren, O. & Luotonen, H. 2003. Metal contamination of streams in relation to catchment silvicultural practices: a comparative study in Finnish and Russian headwaters. *Boreal Environment research* 8: 61-70.
- Vuori, K.-M., Swanljung, T., Aaltonen, E.-K., Kalliolinna, M. ja Jokela, S. 2009. Kokkolan edustan merialueen sedimenttien toksisuus ja ekologinen riskinarviointi. Suomen ympäristökeskus, Helsinki. Suomen ympäristö 1/2009. 45 s.
- Wilson, R. S. & Ruse, P. R. 2005. A guide to the identification of genera of Chironomid pupal exuviae occurring in Britain and Ireland (including common genera from Northern Europe) and their use in monitoring lotic and lentic fresh waters. Special Publication No 13. Freshwater Biological Association, Ambleside, Cumbria, UK.